



**ΓΕΩΠΟΝΙΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ
ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ & ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ ΤΟΥ ΑΝΘΡΩΠΟΥ
ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΓΕΝΙΚΗΣ ΧΗΜΕΙΑΣ**

**ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ
ΜΕΛΕΤΗ & ΑΞΙΟΠΟΙΗΣΗ ΦΥΣΙΚΩΝ ΠΡΟΪΟΝΤΩΝ**

Μεταπτυχιακή Διπλωματική Εργασία

Συγκριτική μελέτη της χημικής σύστασης φυτικών ειδών
του γένους *Mentha*



Μάρθα Σ. Πεχλιβανίδου

Επιβλέπων Καθηγητής:
Ταραντίλης Πέτρος, Καθηγητής ΓΠΑ

**ΑΘΗΝΑ
2022**

ΓΕΩΠΟΝΙΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ
ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ & ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ ΤΟΥ ΑΝΘΡΩΠΟΥ
ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΓΕΝΙΚΗΣ ΧΗΜΕΙΑΣ

Μεταπτυχιακή Διπλωματική Εργασία

Συγκριτική μελέτη της χημικής σύστασης φυτικών ειδών
του γένους *Mentha*

Comparative study of the chemical composition of plant species
of the genus *Mentha*

Μάρθα Σ. Πεγλιβανίδου

Τριμελής Εξεταστική Επιτροπή:

Ταραντίλης Πέτρος, Καθηγητής ΓΠΑ (επιβλέπων)

Γαρυφαλλιά Οικονόμου, Καθηγήτρια ΓΠΑ

Χρυσανγή Γαρδέλη, Επίκουρη Καθηγήτρια ΓΠΑ

Συγκριτική μελέτη της χημικής σύστασης φυτικών ειδών του γένους *Mentha*

ΠΜΣ Μελέτη & Αξιοποίηση Φυτικών Προϊόντων
Τμήμα Επιστήμης Τροφίμων & Διατροφής του Ανθρώπου
Εργαστήριο Γενικής Χημείας

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η μέντα αναφέρεται σαν ένα από τα πιο γνωστά βότανα στον κόσμο. Το όνομά της στα ελληνικά λέγεται “μίνθη” και στα λατινικά “mentha”. Καλλιεργείται σε πολλές περιοχές της γης, αν και αναφέρεται ότι προέρχεται από την Μεσόγειο και την Ασία. Στην Αρχαία Ελλάδα, όπως και σε άλλες περιοχές, τη χρησιμοποιούσαν κατά της δυσπεψίας, των νευρικών διαταραχών, των ιλίγγων, του βήχα, του κρυολογήματος και του πονόλαιμου. Θεωρούνταν επίσης τονωτική, αναζωογονητική, αντισπασμωδική και φυσικά χρησιμοποιούνταν και στη μαγερική για “νοστιμιά”.

Οι ιδιότητες της μέντας, που θεωρούνται μέχρι και σήμερα πολλές, είναι ο λόγος που είναι ένα φυτό το οποίο μελετάται αρκετά και ελκύει το ενδιαφέρον των επιστημόνων. Στο πείραμα που ακολουθεί μελετήθηκε η μέντα και συγκεκριμένα τρία είδη της: η μέντα (*mentha piperita*), ο δυόσμος (*mentha spicata*) και το φλισκούνη (*mentha pulegium*).

Ειδικά, μελετήθηκε η χημική σύσταση των ειδών αυτών, δηλαδή προσδιορίστηκε η σύσταση των πτητικών και μη πτητικών συστατικών τους. Επιπλέον μελετήθηκαν η αντιοξειδωτική ικανότητα των φυτών αυτών, όπως και η περιεκτικότητα των φαινολικών συστατικών τους. Οι τεχνικές που χρησιμοποιήθηκαν για να πραγματοποιήσουμε τα παραπάνω ήταν: GC-MS / Αέρια χρωματογραφία-φασματομετρία μαζών, HPLC / Υγρή χρωματογραφία υψηλής πίεσης, FTIR / Φασματοσκοπία υπέρυθρου μετασχηματισμού Fourier (για τη σύσταση), DPPH / Δοκιμή του 2,2-διφαινυλο-1-πικρυλυδραζυλίου (για την αντιοξειδωτική ικανότητα) και FOLIN-CIOCALTEU / Δοκιμή προσδιορισμού ολικών φαινολικών με το αντιδραστήριο Folin-Ciocalteu (για την περιεκτικότητα σε φαινολικά συστατικά).

Σκοπός αυτής της εργασίας ήταν η σύγκριση των τριών αυτών ειδών ως προς την χημική τους σύσταση, την αντιοξειδωτική τους ικανότητα και την περιεκτικότητά τους σε φαινολικά συστατικά. Μέσω της αέριας χρωματογραφίας παρατηρήθηκε ότι το φλισκούνη είχε την μεγαλύτερη απόδοση σε αιθέριο έλαιο με κυρίαρχο συστατικό την ισοπουλεγόνη. Στην μέντα, με την αμέσως επόμενη μεγαλύτερη απόδοση σε αιθέριο έλαιο, κυριάρχησε η D-μενθόνη μαζί με την π-μενθαν-1-όλη και την πουλεγόνη και στη συνέχεια στο δυόσμο, με την μικρότερη απόδοση σε αιθέριο έλαιο, κυριάρχησε η καρβόνη. Με τη χρήση της φασματοσκοπίας υπέρυθρου μετασχηματισμού Fourier ταυτοποιήθηκαν όλες οι απαραίτητες χαρακτηριστικές ομάδες των ειδών αυτών, οι οποίες ήταν κοινές και στα τρία είδη *mentha*,

όπως καρβονυλικές ομάδες, εστέρες και αλειφατικές ομάδες. Τέλος, με την υγρή χρωματογραφία υψηλής πίεσης εντοπίσαμε πολλές κύριες μη πτητικές ενώσεις (φαινολικές ενώσεις) στη χημική σύνθεσή τους. Το ροσμαρινικό οξύ, το καφεϊκό οξύ, το βανιλλικό οξύ και το π-κουμαρικό οξύ ήταν κάποια από τα βασικά φαινολικά συστατικά και στα τρία είδη. Η απιγενίνη, η λουτεολίνη και η ναρινγκενίνη επίσης ήταν από τις βασικές ενώσεις, αν και στο φλικούνι δεν εντοπίστηκαν, παρά μόνο στην μέντα και το δυόσμο. Όσον αφορά τις δοκιμές του 2,2-διφαινυλο-1-πικρυλυδραζυλίου και του προσδιορισμού ολικών φαινολικών με το αντιδραστήριο Folin-Ciocalteu, αποδείχθηκε ότι αυτά τα τρία είδη έχουν πολύ καλή αντιοξειδωτική ικανότητα, καθώς και μεγάλη περιεκτικότητα σε φαινολικά συστατικά.

Επιστημονική περιοχή: Φυσικά Προϊόντα

Λέξεις κλειδιά: είδη *mentha*, *mentha piperita*, *mentha spicata*, *mentha pulegium*, GC/MS, HPLC, FTIR, DPPH, FOLIN-CIOCALTEU, χημική σύσταση, πτητικά συστατικά, μη πτητικά συστατικά, αντιοξειδωτική ικανότητα, φαινολικά συστατικά, συγκριτική μελέτη.

Comparative study of the chemical composition of plant species of the genus *Mentha*

MSc Study & Utilization of Natural Products
Department of Food Science & Human Nutrition
Laboratory of Chemistry

ABSTRACT

Mint is mentioned as one of the most famous herbs in the world. Its name in Greek is called "minthi" and in Latin "mentha". It is cultivated in many parts of the world, although it is said to come from the Mediterranean and Asia. In ancient Greece, as in other areas, it was used against indigestion, nervous disorders, dizziness, cough, cold and sore throat. It was also considered tonic, refreshing, antispasmodic and of course used in cooking to make food tastier.

The properties of mint, which are still considered many, is the reason why it is a plant that is widely studied and attracts the interest of scientists. In the following study, mint was studied and specifically its three species: peppermint (*mentha piperita*), spearmint (*mentha spicata*) and pennyroyal (*mentha pulegium*).

Specifically, the chemical composition of these species was studied, or in other words, the composition of their volatile and non-volatile components was determined. In addition, the antioxidant capacity of these plants was studied, as well as the content of their phenolic components. The techniques used to perform the above were: GC-MS / Gas chromatography–mass spectrometry, HPLC / High-performance liquid chromatography, FTIR / Fourier-transform infrared spectroscopy (composition), DPPH / Assay of 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (antioxidant capacity) and FOLIN-CIOCALTEU / Assay for determination of total phenolics with Folin-Ciocalteu reagent (phenolic content).

The purpose of this study was to compare these three species in terms of their chemical composition, their antioxidant capacity and their phenolic content. Through gas chromatography, it was observed that the pennyroyal had the highest yield in essential oil with the predominant ingredient being isopulegone. Peppermint, with the next highest yield in essential oil, was dominated by D-menthone along with p-menthan-1-ol and pulegone and subsequently spearmint, with the lowest yield in essential oil, was dominated by carbon. Using fourier transform infrared spectroscopy, all the necessary characteristic groups of these species were identified, which were common in all three species of *mentha*, such as carbonyl groups, esters and aliphatic groups. Finally, high pressure liquid chromatography identified many major non-volatile compounds (phenolic compounds) in their chemical composition. Rosemarinic acid, caffeic acid, vanillic acid and π -coumaric acid were some of the key phenolic components in all three species. Apigenin, luteolin and naringenin were also among

the key compounds, although they were not found in pennyroyal, except in peppermint and spearmint. Regarding the assays of 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl and the method for determination of total phenolics with Folin-Ciocalteu reagent, it was proved that these three species have a very good antioxidant capacity, as well as a high content of phenolic components.

Scientific Area: Natural Products

Key-words: *mentha* species, *mentha piperita*, *mentha spicata*, *mentha pulegium*, GC/MS, QTOF/MS, FTIR, DPPH, FOLIN-CIOCALTEU, chemical composition, volatile components, non-volatile components, antioxidant capacity, phenolic components, comparative study.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΠΕΡΙΛΗΨΗ	2
ABSTRACT	4
1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ	7
1.1. <i>Mentha</i> genus	7
1.2. Χημική σύσταση γένους <i>mentha</i>	11
1.3. Ιδιότητες του γένους <i>mentha</i>	13
1.4. Αντιοξειδωτικές ιδιότητες	14
2. ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	17
2.1 Παραλαβή δειγμάτων	17
2.2 Προετοιμασία δειγμάτων	17
2.2.1 Υδροαπόσταξη με Clevenger	17
2.2.2 Υδρομεθανολικά εκχυλίσματα	23
2.3 Αέρια Χρωματογραφία/Φασματοσκοπίας Μάζας GC/MS	28
2.4 Υγρή Χρωματογραφία Υψηλής Απόδοσης HPLC	30
2.5 Υπέρυθρος Μετασχηματισμός Fourier, FTIR Φασματοσκοπία	32
2.6 DPPH - Δοκιμή του 2,2-διφαινυλο-1-πικρυλυδραζυλίου για τον προσδιορισμό της αντιοξειδωτικής δράσης	33
2.7 Folin Ciocalteu - Δοκιμή προσδιορισμού ολικών φαινολικών με το αντιδραστήριο Folin-Ciocalteu	35
3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ	37
3.1 GC/MS Αέρια Χρωματογραφία/Φασματοσκοπίας Μάζας	37
3.2 HPLC Υγρή Χρωματογραφία Υψηλής Απόδοσης	41
3.3 FTIR Φασματοσκοπία, Υπέρυθρος Μετασχηματισμός Fourier	45
3.4 DPPH Δοκιμή του 2,2-διφαινυλο-1-πικρυλυδραζυλίου για τον προσδιορισμό της αντιοξειδωτικής δράσης	50
3.5 FOLIN CIOCALTEU Δοκιμή προσδιορισμού ολικών φαινολικών με το αντιδραστήριο Folin-Ciocalteu	52
4. ΣΥΖΗΤΗΣΗ - ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ	55
4.1 GC/MS Αέρια Χρωματογραφία/Φασματοσκοπίας Μάζας	55
4.2 HPLC Υγρή Χρωματογραφία Υψηλής Απόδοσης	56
4.3 FTIR Φασματοσκοπία, Υπέρυθρος Μετασχηματισμός Fourier	57
4.4 DPPH και FOLIN CIOCALTEU Δοκιμή του 2,2-διφαινυλο-1-πικρυλυδραζυλίου για τον προσδιορισμό της αντιοξειδωτικής δράσης και Δοκιμή προσδιορισμού ολικών φαινολικών με το αντιδραστήριο Folin-Ciocalteu	61
5. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	64
6. ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ	71

Με την άδειά μου, η παρούσα εργασία ελέγχθηκε από την Εξεταστική Επιτροπή μέσα από λογισμικό ανίχνευσης λογοκλοπής που διαθέτει το ΓΠΑ και διασταυρώθηκε η εγκυρότητα και η πρωτοτυπία της

1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Τα φαρμακευτικά φυτά και οι παράγωγες ενώσεις τους (φυτοχημικά) θεωρούνταν από την αρχαιότητα ότι ήταν υψίστης φαρμακολογικής σημασίας. Η χρήση των φυτών στην ιατρική χρονολογείται πριν από 60.000 χρόνια, πριν από τη γέννηση του πολιτισμού (Solecki, 1975). Σήμερα, περισσότερο από το 30% όλων των φαρμακευτικών φαρμάκων (και των παραγώγων και των αναλόγων τους) προέρχονται από φυτά και τα φυσικά προϊόντα θα συνεχίσουν να έχουν σημαντική επίδραση στην ιατρική που εφαρμόζεται στον άνθρωπο. Τα περισσότερα συνθετικά βιοδραστικά φάρμακα είναι δομικά παρόμοια με τις παράγωγες ενώσεις των φυτών από τα οποία απομονώθηκαν αρχικά (Nirmal et al., 2013).

Σε πολλές αναπτυσσόμενες χώρες, τα φυτά διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στην πρωτοβάθμια περίθαλψη ή τη θεραπεία ασθενειών. Επιπλέον, λόγω των αντενδείξεων στη χρήση χημικών φαρμάκων, υπάρχει αυξανόμενο ενδιαφέρον για τη χρήση των φαρμακευτικών προϊόντων φυτικής προέλευσης (Anwar et al., 2019), καθώς σε σύγκριση με τα συνθετικά φάρμακα ορισμένα από αυτά τα φυσικά προϊόντα έχουν χαμηλότερη τοξικότητα και υψηλότερη αποτελεσματικότητα (Fabricant & Farnsworth, 2001). Τα αντικαρκινικά φάρμακα, τα αντιβιοτικά, τα αντιφλεγμονώδη φάρμακα, τα ανοσοτροποποιητικά είναι από τα πιο σημαντικά φάρμακα φυτικής προέλευσης (Rates, 2001; Balasubramanian et al., 2005; Petrovska, 2012). Επιπλέον, ορισμένες από τις προαναφερθείσες ενώσεις φυτικής προέλευσης έχουν ευχάριστη γεύση και οσμή και μπορούν να χρησιμοποιηθούν στην γαστρονομία ως αρωματικά, μπαχαρικά και τρόφιμα (Salehi et al., 2018). Μεταξύ των φυτών με παγκόσμια οικονομική και μαγειρική σημασία, η μέντα χρησιμοποιείται παγκοσμίως για την αρωματοποίηση γλυκών και αλμυρών πιάτων και τον αρωματισμό του τσαγιού, πέρα από τη φαρμακολογική της σημασία.

1.1. *Mentha* genus

Η *Mentha* είναι αρωματικό και πολυετές βότανο. Έχει φύλλα επιμήκη ή λογχοειδή, χνουδωτά και οδοντωτά. Τα άνθη της είναι λευκά αλλά μπορούν να είναι και μωβ και ο καρπός της έχει έναν έως τέσσερις σπόρους (εικ.1).

Τα είδη του γένους *Mentha* είναι ευρέως γνωστά και βρίσκονται σε πολλά περιβάλλοντα. Συνήθως τα πιο πολλά είδη της αναπτύσσονται καλύτερα σε υγρά περιβάλλοντα αλλά και υγρά εδάφη (εικ. 2). Οι μέντες μεγαλώνουν περίπου 10–120 cm και μπορούν να απλωθούν σε απροσδιόριστη περιοχή, λόγω της τάσης τους να διαδίδονται ανεξέλεγκτα (Brickell, Christopher; Cole, Trevor, 2002).



Εικόνα 1. *mentha spicata*, ένα γνωστό είδος *mentha*.



Εικόνα 2. Καλλιέργεια *mentha*.

Η *Mentha* είναι ένα γένος που ανήκει στην οικογένεια των *Lamiaceae*, τα φυτά του οποίου είναι από τα πιο αρωματικά και εξαπλώνονται σε ποικίλα περιβάλλοντα παγκοσμίως (Šarić-Kundalić et al., 2009), έχοντας χαρακτηριστικά φύλλα με ευχάριστο άρωμα. Η ταξινόμηση της μέντας είναι πολύ περίπλοκη και περιλαμβάνει περίπου 42 είδη και 15 υβρίδια, με εκατοντάδες υποείδη και ποικιλίες (Sa;ehi et al., 2018). Έντεκα φυσικά υβρίδια έχουν παραχθεί από το είδος *M. arvensis* L., *M. aquatica* L., *M. spicata* L., *M. longifolia* L., και *M. Suaveolens*. Τα περισσότερα υβρίδια είναι στείρα αλλά μπορούν να πολλαπλασιαστούν λόγω του εξαιρετικά επεμβατικού ριζώματος τους (Spencer et al., 1993). Τα φυτά αυτού του γένους είναι πολυετή και χρησιμοποιούνται για την παραγωγή αιθέριων ελαίων, κυρίως στις ΗΠΑ, την Ινδία, την Κίνα και το Ιράν (Lawrence, 2006). Τα νωπά και

αποξηραμένα φυτικά υλικά του είδους *Mentha* χρησιμοποιούνται ευρέως στη βιομηχανία ως μέρος της ζαχαροπλαστικής, των βελτιωτικών της γεύσης, των φαρμακευτικών προϊόντων, των καλλυντικών κ.λπ. (Shaikh et al., 2014) . Στον πίνακα 1 αναφέρονται κάποια από τα πιο συνηθισμένα είδη *Mentha*, και αναφέρεται τόσο η επιστημονική όσο και η κοινή τους ονομασία (Gracindo et al., 2006; Park et al., 2019).

Πίνακας 1. Επιστημονικές ονομασίες και κοινές ονομασίες των ειδών *Mentha*.

Επιστημονικές ονομασίες	Κοινές ονομασίες
<i>M. aquatica</i> L. (Μέντα η υδροχαρής)	Άγρια Μέντα, Μέντα του βουνού
<i>Mentha</i> × <i>rotundifolia</i> (Μίνθη η στρογγυλόφυλλος)	Αγριοδύσμος
<i>M. arvensis</i> L.	Μίνθη η αρουραία
<i>M. canadensis</i> L.	Αμερικανική άγρια μέντα
<i>M. longifolia</i> L. (Μίνθη η μακρόφυλλος)	
<i>M. piperita</i> L. (Μίνθη η πιπερώδης)	Πράσινη μέντα
<i>M. piperita</i> f. Citrate	
<i>M. pulegium</i> (Μίνθη η γλήχων)	Μίνθη η πουλέγιος ή Φλισκούνη
<i>M. spicata</i> L. (Μίνθη η σταχυώδης) <i>syn.</i> <i>Mentha viridis</i>	Βάλσαμο ή δύσμος

Στην παρούσα εργασία τα είδη *mentha* που μελετήθηκαν είναι η μέντα, ο δύσμος και το φλισκούνη (εικ. 3-5).



Εικόνα 3: *Mentha piperita* (Μέντα).



Εικόνα 4: *Mentha spicata* (Δυόσμος).



Εικόνα 5: *Mentha pulegium* (Φλισκούνη).

1.2. Χημική σύσταση γένους *mentha*

Τα είδη της *Mentha* είναι πλούσια σε πολυφαινόλες (R Pereira & M Cardoso, 2013) και, επιπλέον, περιέχουν καφεϊκό οξύ και τα παράγωγά τους καφαρικό οξύ, κινναμωμικό οξύ, φερούλικό οξύ και ολεανολικό οξύ (Benedec et al., 2013; Taamalli et al., 2015; Wu et al., 2019). Διάφορα φλαβονοειδή, συμπεριλαμβανομένης της λουτεολίνης και των παραγώγων της απιγενίνη, ακακετίνη, διοσμίνη, σαλβιγενίνη και θυμονίνη, έχουν επίσης ανιχνευθεί σε αυτά τα φυτά, αντιπροσωπεύοντας περίπου 10-70 ενώσεις από τις συνολικές φαινολικές ουσίες, καθώς και φλαβονόλες όπως η κατεχίνη, η επικατεχίνη και οι κουμαρίνες, συμπεριλαμβανομένης της esculet και scroletin (Kosar et al., 2004; Bimakr et al., 2011; Salin et al., 2011; Fatiha et al., 2015).

Σχετικά με την σύσταση της μέντας, τα αιθέρια έλαια αντιπροσωπεύουν την μερίδα του λέοντος των συστατικών από τα οποία αποτελείται. Τα αιθέρια έλαια είναι άχρωμα, ωχροκίτρινα ή πρασινοκίτρινα (Kubeczka et al., 2020). Οι αλκοόλες, οι κετόνες, οι εστέρες, οι αιθέρες και τα οξείδια είναι τα κύρια συστατικά τους στα είδη *Mentha* (Lawrence, 2006). Η μενθόλη, η μενθόνη, η ισομενθόνη, ο οξικός μενθυλεστέρας, η λιναλοόλη, ο οξικός λιναλυλεστέρας, η λιπιόνη, η πουλεγόνη, η καρβόνη, το οξείδιο πιπεριτενόνης και το εποξείδιο της *cis*-πιπεριτόνης είναι τα κύρια συστατικά των αιθέρων ελαίων που παρασκευάζονται από διαφορετικά είδη μέντας (Maffei & Codignola, 1990; Lawrence, 2006; Sokonić et al., 2009; Moghaddam et al., 2013). Ο πίνακας 2 παραθέτει τις κύριες ενώσεις που απομονώθηκαν από διαφορετικά είδη αυτού του γένους.

Πίνακας 2. Κύριες χημικές ενώσεις που απομονώθηκαν από διαφορετικά είδη *Mentha*.

Όνομα είδους	Συστατικά αιθέριου ελαίου	Άλλες ενώσεις πολυφαινόλης	Βιβλιογραφικές αναφορές
<i>M. spicata</i> L.	Καρβόνη, οξείδιο πιπεριτενόνης, πουλεγόνη, 1,8-κινεόλη, λιμονένιο, οξείδιο cis-πιπεριτόνης, πιπεριτόνη, πιπεριτενόνη, μεντοφουράνιο, καρυοφυλλένιο	Ροσμαρινικό οξύ, σαλβιανολικά οξέα, υδροξυβενζοϊκά οξέα, καφεοϋλοκινικό οξέα, υδροξυκινναμωμικά οξέα, φλαβονόνες και φλαβόνες	(Derwich et al., 2009; Riahi et al., 2013)
<i>M. pulegium</i> L.	Πιπεριτόνη, πιπεριτενόνη, 4-τερπινεόλη, μενθόνη, λιμονένιο, ναρινγενίνη, πουλεγόνη, ισομεθόνη	Ροσμαρινικό οξύ, ελλαγικό οξύ, καφεϊκό οξύ, καφταρικό οξύ, χλωρογενικό οξύ, m-κουμαρικό οξύ, o-κουμαρικό οξύ, π-κουμαρικό οξύ, κρυπτοχλωρογόνο οξύ, ισοχλωρογενικό οξύ, νεοχλωρογενικό οξύ, πρωτοκατεχουϊκό οξύ	(Goudjil et al., 2015; Marwa et al., 2017; Francello et al., 2017)
<i>M. piperita</i> L.	Οξυγονωμένα μονοτερπένια, μενθόλη, μεθύλιο πετροσελινικό, οξικός μενθυλεστέρας, ισοπουλεγόλη, pulegone, carvone, μενθόνη, κινεόλη, μεντοφουράνιο, ισομενθόνη, λιμονένιο, β-πινένιο, α-πινένιο	Ριβοφλαβίνη, οξείδιο cis-carvone, καφεϊκό οξύ, π-κουμαρικό οξύ, φερουλικό οξύ, ροσμαρινικό οξύ, καφταρικό οξύ, χλωρογενικό οξύ, μ-κουμαρικό οξύ, ο-κουμαρικό οξύ,	(Francello et al., 2017; Golparvar et al., 2017; Daneshbakhsh et al., 2018; Teymouri et al., 2018)

1.3. Ιδιότητες του γένους *mentha*

Τα είδη του γένους *mentha* χαρακτηρίζονται από μεγάλη ποικιλία χημικών ενώσεων και αναφέρθηκε ότι περιέχουν έναν αριθμό χημικών ενώσεων υπεύθυνων για φαρμακολογικές ιδιότητες (Πίνακας 3).

Πίνακας 3: Χημικές ενώσεις του γένους *Mentha* και οι φαρμακολογικές τους ιδιότητες.

Φαρμακολογικές ιδιότητες	Χημικές ενώσεις που ευθύνονται για τις φαρμακολογικές ιδιότητες	Βιβλιογραφικές αναφορές
Αντιοξειδωτικές	Ασκορβικό οξύ, ροσμαρινικό οξύ, δ-τερπινένιο, α-τερπινένιο, π-κυμένιο, 1,8-κινεόλη, cis-καρβεόλη, καρβόνη, ροσμαρινικό οξύ, κυναροζίτη, κρυπτοχλωρογενικό οξύ, ναριγκίνη	(Hussain et al., 2010;Al-Okbi et al., 2015; Bardaweel et al., 2018)
Αντιβακτηριακές	Λουτεολίνη, ροσμαρινικό οξύ, καφεϊκό οξύ, γαλλοκατεχίνη, γαλλική επιγαλλοκατεχίνη, κατεχίνες, μενθόνη, ισομενθόνη, εξαδεκανοϊκό οξύ, cis-carveol, καρβόνη, λιμονένιο	(Hussain et al., 2010;Al-Okbi et al., 2015; Anwar et al., 2019)
Αντιμυκητιακές	Λιμονένιο, οξείδιο πιπεριτενόνης, μενθόλη, μενθόνη, καρβόνη, cis-carveol και καρβόνη, πιπεριτόνη, κιτρονελλάλη, καφεϊκό οξύ, ναριγγίνη, κρυπτοχλωρογενικό οξύ, ροσμαρινικό οξύ	(Hussain et al., 2010;Al-Shahbazi, 2015; Anwar et al., 2019)
Αντιϊκές	Μενθόλη, εριοκιτρίνη, ροσμαρινικό οξύ, λουτεολίνη	(de Sousa Barros et al., 2015;Anwar et al., 2019)

	7-0-ρουτινοσίδη, εσπεριδίνη, φυτόλη	
Αντικαρκινικές	Ευγενόλη, καρυοφυλλένιο, τ-καδινόλη, μενθόνη, κροτονική μενθόλη, ναριγγίνη, κρυπτοχλωρογενικό οξύ, ροσμαρινικό οξύ	(Li et al., 2017; Elansary et al., 2020; Yassin et al., 2020)

Η χρήση αιθέριων ελαίων έχει μακρά ιστορία και χρησιμοποιείται ευρέως στις βιομηχανίες τροφίμων, ποτών, ζαχαροπλαστικής και καλλυντικών. Στην παραδοσιακή ιρανική ιατρική, αναφέρεται ότι τα είδη *Mentha* έχουν ιδιότητες αίσθησης δροσιάς, ενισχύουν το στομάχι και είναι αποτελεσματικά για την ανακούφιση από τα πεπτικά συμπτώματα, τα προβλήματα της αναπνευστικής οδού και τις αιμορροΐδες (Kee et al., 2017). Έχει αποδειχθεί ότι το αιθέριο έλαιο της *Mentha spicata* μπορεί να μειώσει τον πόνο που προκαλείται από την καισαρική τομή (Liu et al., 2013; Uritu et al., 2018).

Στην ιατρική της Αγιουρβέδα, ορισμένα είδη *Mentha* χρησιμοποιήθηκαν για τον μετριασμό των δερματικών προβλημάτων και των πονοκεφάλων (Mahboubi, 2021). Μελέτες in vitro έδειξαν ότι το αιθέριο έλαιο μέντας και η μενθόλη δρούσαν ως χαλαρωτικά των λείων μυών μέσω του αποκλεισμού της εισροής Ca^{2+} μέσω των καναλιών Ca^{2+} τύπου L (Grigoleit & Grigoleit, 2005; Amato et al., 2014). Επίσης, ο χυμός μέντας οδήγησε σε μείωση των επιπέδων ολικής χοληστερόλης, των τριγλυκεριδίων και θα μπορούσε να αυξήσει τα επίπεδα HDL στο αίμα των φοιτητών πανεπιστημίου (Barbalho et al., 2011).

1.4. Αντιοξειδωτικές ιδιότητες

Υπάρχει αυξανόμενο ενδιαφέρον για τη χρήση φυσικών αντιοξειδωτικών φυτικής προέλευσης λόγω της ασφαλέστερης φύσης και των φαρμακευτικών πλεονεκτημάτων τους σε σύγκριση με τα συνθετικά σκευάσματα. Από αυτή την άποψη, εκχυλίσματα και αιθέρια έλαια (EOs) από πολλά φαρμακευτικά και διατροφικά βότανα έχουν διερευνηθεί ως πολλά υποσχόμενη πηγή αποτελεσματικών αντιοξειδωτικών παραγόντων (Ceylan et al., 2016) που δείχνουν μια πολύ γνωστή δράση κατά των αντιδραστικών ειδών οξυγόνου και των ελεύθερων ριζών. Μια σειρά in vitro δοκιμών μέτρησης αντιοξειδωτικής ικανότητας, όπως η δοκιμή του 2,2-διφαινυλο-1-πικρυλυδραζυλίου-DPPH και η δοκιμή του 2,2'-αζινοδι-(3-αιθυλβενζοδιαζολινο-6-σουλφονικού οξέος)-ABTS+, η αναστολή της υπεροξειδωσίας του λινολεϊκού οξέος (Nikavar et al., 2008) και δοκιμές μείωσης ισχύος έχουν χρησιμοποιηθεί επιτυχώς από τους ερευνητές για να εξετάσουν τις αντιοξειδωτικές

επιδράσεις των φυτών *Mentha*. Πολλά φαρμακευτικά φυτά, συμπεριλαμβανομένου του γένους *Mentha*, περιέχουν υψηλά επίπεδα αντιοξειδωτικών συμπεριλαμβανομένων φαινολικών ενώσεων, ασκορβικού οξέος και καροτενοειδών που μπορούν να καθυστερήσουν ή να αναστείλουν την οξειδωση διαφορετικών μορίων (Park et al., 2019). Για παράδειγμα, οι φαινολικές ενώσεις δρουν ως σαρωτές ελεύθερων ριζών και αναστέλλουν την υπεροξειδωση των λιπιδίων (Rice-Evans et al., 1997). Συγκεκριμένα, τα προϊόντα οξειδωσης όπως οι ρίζες υδροξυλίου είναι εξαιρετικά αντιδραστικά είδη οξυγόνου (ROS) που αλληλεπιδρούν με όλα τα είδη βιολογικών μορίων στην περιοχή τους και προκαλούν κυτταρικές βλάβες που δυνητικά οδηγούν σε οξείες ή χρόνιες ασθένειες, συμπεριλαμβανομένου του καρκίνου (Dorman et al., 2003; Becker et al., 2004).

Μεταξύ των πολλών μελετών που πραγματοποιήθηκαν για την αντιοξειδωτική ικανότητα των ειδών *Mentha*, οι Park et al. (2019) ανέφεραν ότι από τα εννέα είδη *Mentha*, το *M. longifolia* ήταν το πιο αποτελεσματικό, με 88,6% αντιοξειδωτική δράση σε σύγκριση με το 93,0% του ασκορβικού οξέος σε συγκέντρωση 100 $\mu\text{L}/\text{mL}$, ενώ το *M. suaveolens* «*Variegata*» δεν είχε αντιοξειδωτική δράση (Park et al., 2019). Αντίθετα, σε μια άλλη μελέτη (Nickavar et al., 2008) η σειρά του επιπέδου δραστηριότητας σάρωσης DPPH ήταν η εξής: *M. piperita*, *M. pulegium*, *M. rotundifolia*, *M. spicata* και *M. longifolia*.

Οι διαφορές που παρουσιάζονται στις 2 μελέτες οφείλονται σε διάφορους παράγοντες, όπως για παράδειγμα, μέθοδοι καλλιέργειας έναντι συγκομιδής φυτών που είναι ελεύθερα στην φύση (άγρια), τύπος εργαστηριακών ερευνών ή μέθοδοι εκχύλισης, κ.λπ. Χωρίς τυποποιημένη προσέγγιση δεν είναι δυνατός ο καθορισμός της συνέπειας των συγκρίσεων μεταξύ διαφορετικών εργασιών. Αναφέρθηκε ότι το *M. spicata* έχει την υψηλότερη περιεκτικότητα σε φαινολικά, φλαβονοειδή και τανίνες, καθώς και υψηλότερη αντιοξειδωτική δράση (Benabdallah et al., 2016). Μελέτες *in vitro* έδειξαν ότι το διαλυτό κλάσμα *n*-βουτανόλης που προέρχεται από μεθανολικό εκχύλισμα στα 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ εμφάνισε σημαντική προστατευτική δράση έναντι της βλάβης του DNA που προκαλείται από τις ελεύθερες ρίζες $\bullet\text{OH}$ (Kumar & Chattopadhyay, 2007).

Σε μια άλλη μελέτη, διερευνήθηκε η δραστηριότητα δέσμευσης ριζών υπεροξειδίου διαφορετικών κλασμάτων διαλυτών του *M. spicata*, δείχνοντας ότι ο οξικός αιθυλεστέρας και τα υδατικά κλάσματα του εκχυλίσματος αιθανόλης του *M. spicata* είχαν υψηλότερη δέσμευση ριζών υπεροξειδίου μεταξύ άλλων. Σύμφωνα με τους Anwar et al. (2017), MLEO διαφορετικών χημειοτύπων, που συλλέγονται σε διαφορετικές περιοχές της Σαουδικής Αραβίας, εμφάνισαν λογικά υψηλό βαθμό σάρωσης ελεύθερων ριζών DPPH που συσχετίστηκε κυρίως με τις μεταβλητές πολυφαινόλες και περιεκτικότητα σε καρβόνη των ελαίων που δοκιμάστηκαν (Anwar et al., 2019). Οι Saba & Anwar (2018) αξιολόγησαν την επίδραση των περιοχών συγκομιδής στα φυσικοχημικά και βιολογικά χαρακτηριστικά των φύλλων που έχουν το αιθέριο έλαιο που εκχυλίζονται από υπερκρίσιμο υγρό (*Mentha spicata*

L.). Οι ερευνητές παρατήρησαν ότι τα έλαια εξέτασαν αποτελεσματικά τις ελεύθερες ρίζες DPPH καθώς και ανέστειλαν την υπεροξειδωση του λινολεϊκού οξέος ανάλογα με τη μεταβλητή περιεκτικότητα των συνολικών φαινολικών και φλαβονοειδών. Οι Dhifi et al. (2013), ανέφεραν ότι το αιθέριο έλαιο *Mentha spicata* παρουσίασε υψηλή δράση έναντι του *S. epidermidis* και του *S. aureus*, καθώς και των Gram-αρνητικών κυττάρων του *Salmonella spp.* και *E. coli*. Οι Sokonić et al. (2010) ανέφεραν επίσης ότι η μενθόλη ήταν πιο δραστική από άλλες ενώσεις που εξήχθησαν από δοκιμασμένα φυτά: οξικός λιναλυλεστέρας, λιμονένιο, β-πινένιο, α-πινένιο, καμφορά, λιναλοόλη και 1,8-κινεόλη.

Οι Singh et al. (2015), μέτρησαν την αντιοξειδωτική δράση του *M. Piperita*, αξιολογώντας την αντιοξειδωτική του ικανότητα, σάρωση ελεύθερων ριζών DPPH δραστηριότητα και μείωση της ισχύος. Ένα εκχύλισμα χλωροφορμίου και ένα έλαιο μέντας έδειξαν αντιοξειδωτική ισχύ περίπου 90% και η ελάχιστη δραστηριότητα καταγράφηκε για το υδατικό εκχύλισμα. Η τιμή του IC50 (μg/mL) του ελαίου μέντας με τη χρήση της δοκιμής σάρωσης DPPH βρέθηκε να είναι $15,2 \pm 0,9$. Αν και είναι γνωστό ότι η μέθοδος εκχύλισης, ο χρησιμοποιούμενος διαλύτης και τα εκχυλισμένα κλάσματα που αναλύθηκαν έχουν άμεση επίδραση στη σύνθεση και την αναλογία των ενώσεων, τα αποτελέσματα διαφορετικών μελετών έδειξαν ότι τα είδη *Mentha*, λόγω των σημαντικών αντιοξειδωτικών τους δράσεων, μπορούν να χρησιμοποιηθούν με σιγουριά στη φαρμακευτική, παραγωγή τροφίμων και καλλυντικών όταν χρειάζονται αντιοξειδωτικά αποτελέσματα.

2. ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

2.1 Παραλαβή δειγμάτων

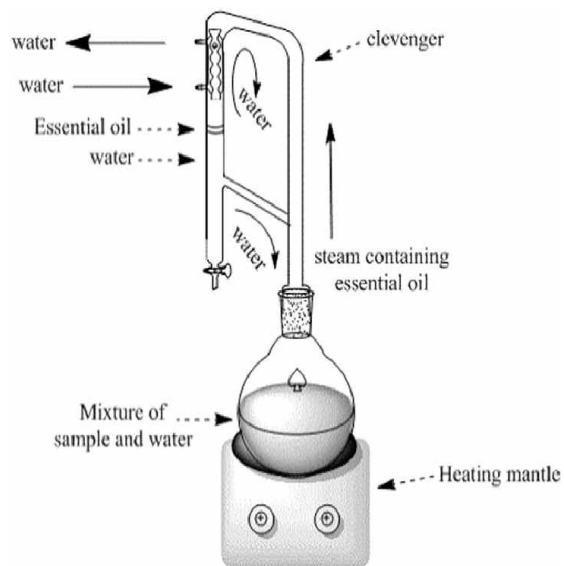
Τα δείγματα που μελετήθηκαν στην παρούσα εργασία ήταν: *Mentha piperita* (μέντα), *Mentha spicata* (δύοσμος) και *Mentha pulegium* (φλισκούνι). Το δείγμα από φλισκούνι είχε καλλιεργηθεί στην Κρήτη και αποτελούνταν από το στέλεχος, τα φύλλα και τα άνθη, ενώ τα δείγματα από μέντα και δύοσμο είχαν καλλιεργηθεί στην Αίγυπτο και αποτελούνταν μόνο από τα φύλλα τους.

2.2 Προετοιμασία δειγμάτων

2.2.1 Υδροαπόσταξη με Clevenger

Πρώτα βήμα ήταν η προετοιμασία των δειγμάτων για τις υδροαποστάξεις με τη συσκευή Clevenger (εικ. 6). Η Clevenger πραγματοποιεί τη διαδικασία απόσταξης με βρασμό, συμπύκνωση και μετάγγιση για να διαχωριστεί το έλαιο. Είναι η πιο συνηθισμένη τεχνική εξαγωγής των συστατικών του αιθερίου ελαίου των φυτών και σαν συσκευή είναι ευρέως γνωστή στα εργαστήρια.

Στην υδροαπόσταξη, το προς απόσταξη φυτικό υλικό, τοποθετείται σε σφαιρική φιάλη με νερό, η οποία συνδέεται με ψυκτήρα και με θερμαντική συσκευή. Θερμαίνουμε τη φιάλη, ρυθμίζουμε το ρυθμό απόσταξης σύμφωνα με το πρωτόκολλο που ακολουθούμε και αφήνουμε τη συσκευή να αποστάζει. Με τη θέρμανση της σφαιρικής φιάλης δημιουργούνται υδρατμοί οι οποίοι συμπαρασύρουν τα πτητικά συστατικά του φυτικού υλικού στον ψυκτήρα, όπου και διαχωρίζονται σε νερό και αιθέριο έλαιο. Ο συνεχής διαχωρισμός γίνεται μέσα στη διαβαθμισμένη κλίμακα από την οποία παραλαμβάνουμε ξεχωριστά το νερό και το αιθέριο έλαιο. Το χαρακτηριστικό της μεθόδου αυτής είναι ότι το νερό και το φυτικό υλικό είναι σε άμεση επαφή και επίσης, πρέπει να αποφεύγεται η υπερθέρμανση του φυτικού υλικού, ώστε να μην συμβαίνει θερμική διάσπαση διαφόρων συστατικών του αιθερίου ελαίου (Γαβρηλίδης, 2015).



Εικόνα 6. Συσκευή Clevenger.



Εικόνα 7. Συσκευή Clevenger.

Στο αυτό το πείραμα, τα δείγματα ήταν τρία για το κάθε είδος *mentha*, καθώς πραγματοποιήθηκαν τρεις υδροαποστάξεις για το καθένα από αυτά (τρεις επαναλήψεις).

Ζυγίστηκαν περίπου 100 g φυτικού υλικού και προστέθηκαν περίπου 1500 mL νερό για κάθε δείγμα σε όλες τις αποστάξεις. Η κάθε απόσταξη διήρκτησε τρεις ώρες.

Συγκεκριμένα, τα δείγματα ήταν τα: 1) **H4, H5, H6 (μέντα)**, 2) **Z4, Z5, Z6 (δυόσμος)** και 3) **E4, E5, E6 (φλισκούνη)**. Όπως αναφέρεται στους παρακάτω πίνακες 4 έως 6 (πιν. 4-6), τα βήματα που ακολουθήθηκαν ήταν τα εξής:

1) **MENTA** (*Mentha piperita*)



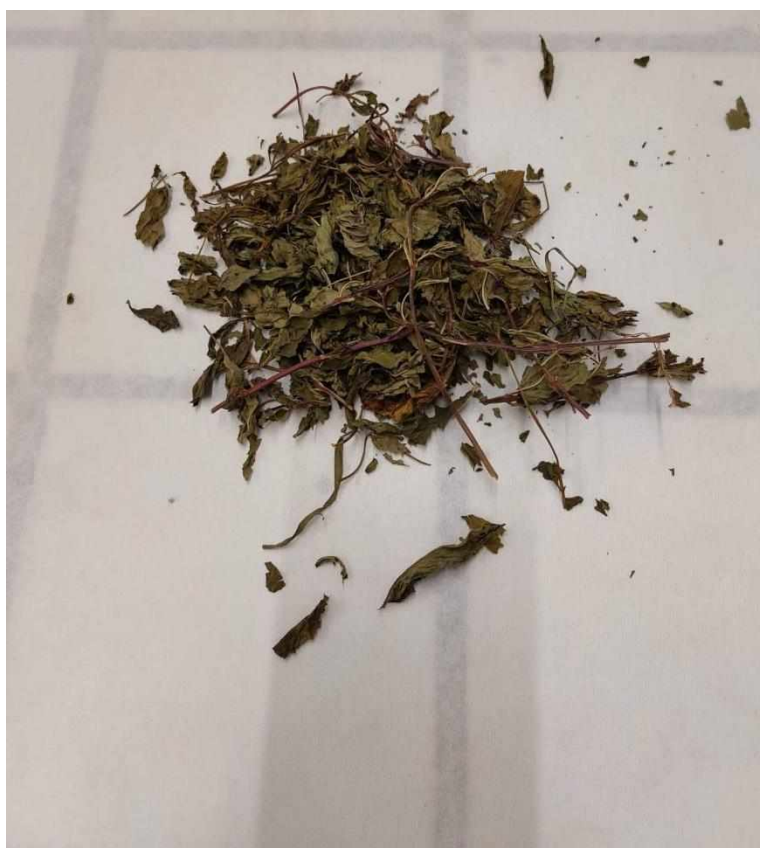
Εικόνα 8. Φύλλα μέντας.

Δείγματα: **H4, H5, H6**

Πίνακας 4. Στοιχεία υδροαπόσταξης για την μέντα.

Δείγματα	Φυτικό υλικό (g)	H ₂ O (mL)	Απόδοση αιθερίου ελαίου (mL)	Απόδοση αιθερίου ελαίου (%)
H4	105,48	1400	1,60	1,52±0,05
H5	101,80	1500	1,60	
H6	101,12	1850	1,50	

2) ΔΥΟΣΜΟΣ (*Mentha spicata*)



Εικόνα 9. Φύλλα δυόσμου.

Δείγματα: **Z4, Z5, Z6**

Πίνακας 5. Στοιχεία υδροαπόσταξης για το δυόσμο.

Δείγματα	Φυτικό υλικό (g)	H ₂ O (mL)	Απόδοση αιθερίου ελαίου (mL)	Απόδοση αιθερίου ελαίου (%)
Z4	103,37	1500	0,80	0,60±0,27
Z5	101,78	1700	0,30	
Z6	105,06	1700	0,80	

Στα δείγματα του δυόσμου πραγματοποιήθηκε στη συνέχεια εκχύλιση υγρού-υγρού για την παραλαβή του αιθερίου ελαίου και την απόκτηση όσο το δυνατόν μεγαλύτερης απόδοσης, καθώς η απόδοση σε αυτά ήταν μικρή. Η παραλαβή των πτητικών συστατικών έγινε με διαιθυλαιθέρα (χωρίς BHT) και η εκχύλιση έγινε δύο φορές για να παραληφθούν όσο πιο πολλά πτητικά γινόταν. Το επόμενο βήμα μετά την εκχύλιση ήταν η συμπίκνωση με άζωτο για να απομακρυνθεί ο διαιθυλαιθέρας, καταλήγοντας σε V_{τελ}=5 mL (5 mL απόδοση από το

καθένα). Έπειτα, πραγματοποιήθηκε η κατάλληλη διαδικασία φιλτραρίσματος προσθέτοντας άνυδρο μαγνήσιο, ώστε να παραληφθεί ένα όσο πιο καθαρό γίνεται αιθέριο έλαιο. Τέλος, έγινε ξανά συμπύκνωση με άζωτο, καταλήγοντας σε απόδοση=2 mL και για τα τρία αυτά δείγματα, οπότε και ήταν δυνατή η συγκρισή τους.

3) ΦΛΙΣΚΟΥΝΙ (*Mentha pulegium*)



Εικόνα 10. Φλίσκουνι πριν το διαχωρισμό, στέλεχος-άνθη-φύλλα.



Εικόνα 11. Φλισκούνι διαχωρισμένο έτοιμο για απόσταξη, φύλλα-άνθη.

Όσον αφορά το φλισκούνι, αρχικά ζυγίστηκε το φυτό όλο μαζί, δηλαδή στέλεχος-άνθη-φύλλα (εικ. 10), και στη συνέχεια διαχωρίστηκε το στέλεχος από τα φύλλα και τα άνθη (εικ. 11) και ζυγίστηκε ξανά για να υπολογιστεί το τελικό βάρος χωρίς το βάρος του στελέχους.

Δείγματα: **E4, E5, E6**

Πίνακας 6. Στοιχεία υδροαπόσταξης για το φλισκούνι.

Δείγματα	Φυτικό υλικό πριν το διαχωρισμό (g)	Φυτικό υλικό μετά το διαχωρισμό (g)	H ₂ O (mL)	Απόδοση αιθερίου ελαίου (mL)	Απόδοση αιθερίου ελαίου (%)
E4	206,09	103,71	1000	4,60	4,40±0,12
E5	208,01	103,20	1000	4,70	
E6	199,25	112,30	1000	4,80	

Το φλισκούνι είχε την μεγαλύτερη με διαφορά απόδοση σε αιθέριο έλαιο. Ακολούθησε η μέντα και τέλος ο δυόσμος.

Μετά την παραλαβή των αιθερίων ελαίων, πραγματοποιήθηκε σε όλα τα δείγματα το κατάλληλο φιλτράρισμα ώστε να είναι ακόμα πιο καθαρό το κάθε αιθέριο έλαιο.

Τέλος, όλα τα παραπάνω δείγματα φυλάχθηκαν σε φιαλίδια στην κατάψυξη, έως ότου χρησιμοποιηθούν για τις αναλύσεις στο GC/MS.

2.2.2 Υδρομεθανολικά εκχύλισματα

Για δημιουργηθούν τα υδρομεθανολικά εκχύλισματα χρησιμοποιήθηκαν για όλα τα δείγματα 5 g φυτικού υλικού και 500 mL MeOH/H₂O σε αναλογία 70:30. Αρχικά, τοποθετήθηκαν στο λουτρό υπερήχων (εικ. 12) για ένα τέταρτο ώστε να πραγματοποιηθεί η εκχύλιση και να συλλεχθεί το υδρομεθανολικό εκχύλισμα. Έπειτα σειρά είχε η συμπύκνωση με το rotary-περιστροφικός εξατμιστής (εικ. 13) για να απομακρυνθεί ο διαλύτης και να παραληφθεί το υδατικό εκχύλισμα. Το υδατικό εκχύλισμα τοποθετούνταν κάθε φορά σε φιάλες στην κατάψυξη για 48 ώρες, ώστε να ακολουθήσει η λυοφιλίωσή του (εικ. 14) για άλλες 48 ώρες και να παραληφθεί στο τέλος το λυοφιλωμένο υλικό, το οποίο θα χρησιμοποιηθεί για τις αναλύσεις στο όργανο HPLC. Οι φιάλες στις οποίες συγκεντρώθηκαν τα υδατικά εκχύλισματα για να τοποθετηθούν στην κατάψυξη, λέγονται φιάλες λυοφιλίωσης (εικ. 15). Όλα τα λυοφιλωμένα δείγματα διατηρήθηκαν στο ψυγείο, έως ότου χρησιμοποιηθούν για το HPLC.

Η εκχύλιση με το λουτρό υπερήχων είναι συχνά προτιμώμενη, καθώς είναι γρήγορη και αποτελεσματική σαν τεχνική εκχύλισης. Τα υπερηχητικά κύματα που δημιουργούνται είναι τόσο υψηλής όσο και χαμηλής πίεσης. Λειτουργούν σε έναν εναλλασόμενο κύκλο κι έτσι δημιουργούν μικροσκοπικά ρεύματα και δίνες υπό πίεση. Με αυτόν τον τρόπο προκαλούν την ταχεία κίνηση των διαλυτών, με αποτέλεσμα να έχουμε μεταφορά μάζας με μεγαλύτερη ταχύτητα αλλά και η εκχύλιση να πραγματοποιείται γρηγορότερα.

Το rotary (rotary evaporator) ή αλλιώς περιστροφικός εξατμιστής είναι μία συσκευή που χρησιμοποιούμε για τη γρήγορη απομάκρυνση των διαλυτών. Πραγματοποιείται εξάτμιση υπό κενό, ενώ ταυτόχρονα αποφεύγεται ο έντονος βρασμός λόγω της περιστροφής που υπάρχει. Οι διαλύτες απομακρύνονται με συγκεκριμένες συνθήκες κάθε φορά οι οποίες θεωρούνται κατάλληλες για το κάθε δείγμα (κενό, ταχύτητα περιστροφής και θερμοκρασίας στο υδατόλουτρο). Έπειτα, στο δοχείο εξάτμισης υπάρχει ένα σύστημα με το οποίο απομακρύνεται ο διαλύτης, που αφού έχει γίνει η συμπύκνωση, συγκεντρώνεται σε ένα δοχείο που ονομάζεται δοχείο συμπυκνώματος.

Η λυοφιλίωση (freeze drying/ lyophilisation) είναι η ξήρανση με κατάψυξη. Χρησιμοποιείται όλο και περισσότερο στη βιομηχανική παραγωγή. Με αυτήν, γίνεται αφύγρανση σε υγρά ή

στερεά προϊόντα με υψηλή υγρασία. Η αφύγρανση γίνεται υπό πολύ χαμηλές θερμοκρασίες και με πίεση χαμηλότερη από 4,58 mm Hg (υψηλό κενό). Η αρχή αυτής της μεθόδου βασίζεται στην εξάχνωση του πάγου από τα προϊόντα. Το νερό μεταβαίνει από την στερεά του κατάσταση (πάγος) στην αέρια (υδρατμός) χωρίς να περάσει από την υγρή. Για να γίνει αυτό (από στερεό σε αέριο) απαιτείται πολλή ενέργεια λόγω της θερμοδυναμικής απαίτησης για την αλλαγή φάσης. Με τη λυοφιλίωση διατηρείται καλύτερα η αξία των προϊόντων και γενικότερα των συστατικών τους.



Εικόνα 12. Λουτρό υπερήχων.



Εικόνα 13. Rotary.



Εικόνα 14. Λυοφιλωτής.



Εικόνα 15. Φιάλες λυοφιλίωσης.

Σε αυτό το κομμάτι του πειράματος δημιουργήθηκαν ξανά τρία δείγματα για το κάθε είδος *mentha*, καθώς έγιναν τρεις επαναλήψεις για το κάθε φυτό. Συγκεκριμένα, τα δείγματα ήταν 1) **H1, H2, H3 (μέντα)**, 2) **Z1, Z2, Z3 (δύσμος)** και 3) **E1, E2, E3 (φλισκούνι)**.

Αναλυτικότερα όπως φαίνεται και στους παρακάτω πίνακες 7 έως 9 (πιν. 7-9), για κάθε είδος ίσχυαν τα εξής:

1) MENTA

Δείγματα **H1,H2,H3**:

Ζυγίστηκαν 5 g φυτικού υλικού και προστέθηκαν 150 mL H₂O και 350 mL MeOH για το κάθε δείγμα. Συλλέχθηκε το υδρομεθανολικό εκχύλισμα από το λουτρό υπερήχων και τοποθετήθηκε **στο rotary, όπου οι συνθήκες που επιλέχθηκαν στο συγκεκριμένο όργανο για την μέντα ήταν: α) περιστροφή 90 rpm (rounds per minute) και β) θερμοκρασία 40 °C**

- Για το H1 συλλέχθηκαν 450 mL υδρομεθανολικού εκχυλίσματος από το λουτρό υπερήχων.
- Για το H2 συλλέχθηκαν 400 mL υδρομεθανολικού εκχυλίσματος από το λουτρό υπερήχων.
- Για το H3 συλλέχθηκαν 400 mL υδρομεθανολικού εκχυλίσματος από το λουτρό υπερήχων.

Πίνακας 7. Στοιχεία υδρομεθανολικών εκχυλισμάτων μέντας.

Δείγματα	Αποτέλεσμα μετά το rotary			Αποτέλεσμα μετά τη λυοφιλίωση			
	Βάρος φιάλης λυοφιλίωσης (g)	Υδατικό εκχύλισμα (mL)	Βάρος υδατικού εκχυλίσματος (g)	Βάρος φιάλης με λυοφιλιωμένο υλικό (g)	Βάρος φιαλιδίου (g)	Βάρος φιαλιδίου και λυοφιλιωμένου υλικού (g)	Βάρος λυοφιλιωμένου υλικού (g)
H1	269,09	150	124,10	269,89	14,82	15,48	0,66
H2	266,88	140	115,06	267,65	17,47	18,02	0,55
H3	269,27	100	68,90	270,16	14,79	15,47	0,68

2) ΔΥΟΣΜΟΣ

Δείγματα **Z1,Z2,Z3**:

Ζυγίστηκαν 5 g φυτικού υλικού και προστέθηκαν 150 mL H₂O και 350 mL MeOH για το κάθε δείγμα. Συλλέχθηκε το υδρομεθανολικό εκχύλισμα από το λουτρό υπερήχων και τοποθετήθηκε στο rotary, όπου οι συνθήκες που επιλέχθηκαν στο συγκεκριμένο όργανο για το δυόσιμο ήταν: α) περιστροφή 90 rpm και β) θερμοκρασία 53 °C

- Για το **Z1** συλλέχθηκαν 400 mL υδρομεθανολικού εκχυλίσματος από το λουτρό υπερήχων.
- Για το **Z2** συλλέχθηκαν 400 mL υδρομεθανολικού εκχυλίσματος από το λουτρό υπερήχων.
- Για το **Z3** συλλέχθηκαν περίπου 400 mL υδρομεθανολικού εκχυλίσματος από το λουτρό υπερήχων.

Πίνακας 8. Στοιχεία υδρομεθανολικών εκχυλισμάτων δυόσιμου.

Δείγματα	Αποτέλεσμα μετά το rotary			Αποτέλεσμα μετά τη λυοφιλίωση			
	Βάρος φιάλης λυοφιλίωσης (g)	Υδατικό εκχύλισμα (mL)	Βάρος υδατικού εκχυλίσματος (g)	Βάρος φιάλης με λυοφιλιωμένο υλικό (g)	Βάρος φιαλιδίου (g)	Βάρος φιαλιδίου και λυοφιλιωμένου υλικού (g)	Βάρος λυοφιλιωμένου υλικού (g)
Z1	263,96	125	95,88	264,66	14,79	15,47	0,68
Z2	269,44	125	47,06	269,99	14,75	15,20	0,45
Z3	264,00	80	59,36	264,68	14,82	15,48	0,66

3) ΦΛΙΣΚΟΥΝΙ

Δείγματα **E1,E2,E3**:

Ζυγίστηκαν 5 g φυτικού υλικού και προστέθηκαν 150 mL H₂O και 350 mL MeOH για το κάθε δείγμα. Συλλέχθηκε το υδρομεθανολικό εκχύλισμα από το λουτρό υπερήχων και

τοποθετήθηκε στο rotary, όπου οι συνθήκες που επιλέχθηκαν στο συγκεκριμένο όργανο για το φλίσκουνι ήταν: α) περιστροφή 90 rpm και β) θερμοκρασία 45 °C

- Για το **E1** συλλέχθηκαν 375 mL υδρομεθανολικού εκχυλίσματος από το λουτρό υπερήχων.
- Για το **E2** συλλέχθηκαν 400 mL υδρομεθανολικού εκχυλίσματος από το λουτρό υπερήχων.
- Για το **E3** συλλέχθηκαν 400 mL υδρομεθανολικού εκχυλίσματος από το λουτρό υπερήχων.

Πίνακας 9. Στοιχεία υδρομεθανολικών εκχυλισμάτων φλίσκουινιού.

Δείγματα	Αποτέλεσμα μετά το rotary			Αποτέλεσμα μετά τη λυοφιλίωση			
	Βάρος φιάλης λυοφιλίωσης (g)	Υδατικό εκχύλισμα (mL)	Βάρος υδατικού εκχυλίσματος (g)	Βάρος φιάλης με λυοφιλιωμένο υλικό (g)	Βάρος φιαλιδίου (g)	Βάρος φιαλιδίου και λυοφιλιωμένου υλικού (g)	Βάρος λυοφιλιωμένου υλικού (g)
E1	269,44	90	73,54	269,91	16,48	16,85	0,37
E2	267,21	125	100,18	267,66	14,83	15,20	0,37
E3	263,94	100	90,69	264,39	14,91	15,20	0,29

Μικρότερη ποσότητα λυοφιλιωμένου υλικού είχαμε από το φλίσκουνι, ενώ η μέντα και ο δυόσμος έδωσαν περίπου ίδια ποσότητα.

Οι συνθήκες στο rotary κρίθηκαν ανάλογα με το δείγμα, μετά από κατάλληλες δοκιμές στο κάθε είδος.

2.3 Αέρια Χρωματογραφία/Φασματοσκοπίας Μάζας GC/MS

Το όργανο αέριας χρωματογραφίας/φασματοσκοπίας μάζας (GC/MS) διαχωρίζει χημικά μείγματα (GC) και προσδιορίζει τα συστατικά σε μοριακό επίπεδο (MS). Θεωρείται ακριβές όργανο. Η αρχή με βάση την οποία λειτουργεί το GC είναι ότι ένα μείγμα θα διαχωριστεί σε μεμονωμένες ουσίες όταν θερμανθεί. Τα θερμαινόμενα αέρια μεταφέρονται μέσω μιας στήλης που περιέχει κάποιο αδρανές αέριο (π.χ. ήλιο, αργό). Οι διαχωρισμένες ουσίες

αναδύονται από το άνοιγμα της στήλης και καθώς γίνεται αυτό, ρέουν στο MS. Η φασματοσκοπία μάζας προσδιορίζει τις ενώσεις από την μάζα του μορίου της αναλυόμενης ουσίας, χρησιμοποιώντας βιβλιοθήκες γνωστών φασμάτων μάζας.

Ο αέριος χρωματογράφος (SCION) που χρησιμοποιήσαμε ήταν συζευγμένος με ανιχνευτή φασματόμετρο μαζών και αυτόματο δειγματολήπτη (CP-8400), της εταιρείας Brucker. Η στήλη του χρωματογράφου που χρησιμοποιήθηκε ήταν Rxi – 5Sil ms cap. Column 30m x0,25 mm, id 0.25 μ m. Ως φέρον αέριο χρησιμοποιήθηκε το ήλιο (He), με ταχύτητα ροής 1,0 mL/min σε σταθερή πίεση. Η θερμοκρασία στον εισαγωγέα ήταν 220°C και στην πηγή ιοντισμού 230°C. Η πηγή λειτούργησε με ηλεκτρική τάση 70 eV. Το πρόγραμμα ανάλυσης, το οποίο είχε διάρκεια 63,33 min, περιλάμβανε άνοδο της θερμοκρασίας της στήλης, η οποία αρχικά ήταν στους 60°C και τελικά αυξανόταν βαθμιαία μέχρι τους 250°C με ρυθμό 3°C/λεπτό. Ο όγκος του προς ανάλυση δείγματος ήταν 1 μ L. Η ταυτοποίηση των πτητικών συστατικών έγινε με σύγκριση των χρόνων συγκράτησης και των φασμάτων μαζών με αυτών της ηλεκτρονικής βιβλιοθήκης NIST που υπάρχουν στο λογισμικό του οργάνου και με δεδομένα της βιβλιογραφίας.



Εικόνα 16. GC/MS.

Για την εισαγωγή των δειγμάτων στο **GC/MS** (εικ. 16) πραγματοποιήθηκαν αραιώσεις στα δείγματα προς ανάλυση. Χρησιμοποιήθηκε η κυκλοεξανόνη σαν πρότυπη ουσία και στα εννέα δείγματα που παραλήφθηκαν από τις αποστάξεις (H4,H5,H6,Z4,Z5,Z6,E4,E5,E6), η οποία μετά και αφαιρέθηκε από την επεξεργασία για να βρεθούν τα ποσοστά % των υπόλοιπων συστατικών. Συγκεκριμένα ακολούθησε μια σπάνια αραιώση που χρησιμοποιείται στο εργαστήριο του πανεπιστημίου:

Για τα δείγματα **E4,E5,E6,H4,H5,H6** χρησιμοποιήθηκαν 10 μL αιθερίου ελαίου και 990 μL διαιθυλαιθέρα (1000 μL= 1mL). Από τα 1000 μL παραλήφθηκαν 30 μL και προστέθηκαν 10 μL κυκλοεξανόνη (εσωτερικό πρότυπο) και 960 μL διαιθυλαιθέρα = 1 mL τελική ποσότητα στα vials που εισήχθη στο GC.

Για τα δείγματα **Z4,Z5,Z6** του δυόσμου χρησιμοποιήθηκαν 50 μL αιθερίου ελαίου και 10 μL κυκλοεξανόνη και 940 μL διαιθυλαιθέρα = 1 mL τελική ποσότητα στα vials για το GC. Πραγματοποιήθηκαν δοκιμές με διαφορετικές αραιώσεις στα δείγματα του δυόσμου, ώστε να επιλεγεί η καταλληλότερη.

2.4 Υγρή Χρωματογραφία Υψηλής Απόδοσης HPLC

Η υγρή χρωματογραφία υψηλής απόδοσης (ή υγρή χρωματογραφία υψηλής πίεσης, HPLC) είναι μια ειδική μορφή χρωματογραφίας στήλης που χρησιμοποιείται στη βιοχημεία και την ανάλυση για τον διαχωρισμό, την αναγνώριση και τον ποσοτικό προσδιορισμό των δραστικών ενώσεων. Το όργανο του HPLC (εικ. 17) χρησιμοποιεί κυρίως μια στήλη που συγκρατεί το υλικό πλήρωσης (στατική φάση), μια αντλία που μετακινεί την κινητή φάση(εις) μέσω της στήλης και έναν ανιχνευτή που δείχνει τους χρόνους κατακράτησης των μορίων. Ο χρόνος κατακράτησης ποικίλλει ανάλογα με τις αλληλεπιδράσεις μεταξύ της στατικής φάσης, των μορίων που αναλύονται και του χρησιμοποιούμενου διαλύτη. Το προς ανάλυση δείγμα εισάγεται σε μικρό όγκο στο ρεύμα της κινητής φάσης και επιβραδύνεται από συγκεκριμένες χημικές ή φυσικές αλληλεπιδράσεις με τη στατική φάση. Η ποσότητα της επιβράδυνσης εξαρτάται από τη φύση της αναλυόμενης ουσίας και τη σύνθεση τόσο της στατικής όσο και της κινητής φάσης. Ο χρόνος κατά τον οποίο μια συγκεκριμένη αναλυόμενη ουσία εκλύεται ονομάζεται χρόνος έκλουσης. Οι κοινοί διαλύτες που χρησιμοποιούνται περιλαμβάνουν συνδυασμούς νερού ή οργανικών υγρών (οι πιο συνηθισμένοι είναι η μεθανόλη και το ακετονιτρίλιο). Ο διαχωρισμός για να διαφοροποιηθεί η σύνθεση της κινητής φάσης κατά τη διάρκεια της ανάλυσης είναι γνωστό ως βαθμιδωτή έκλουση. Η βαθμίδα διαχωρίζει τα μείγματα αναλυόμενης ουσίας ως συνάρτηση της συγγένειας της αναλυόμενης ουσίας για την τρέχουσα κινητή φάση. Η επιλογή των διαλυτών, των προσθέτων και της βαθμίδωσης εξαρτάται από τη φύση της στατικής φάσης και της αναλυόμενης ουσίας (Rishabha, Vvripin, Om Prakash & Pramod, 2010).

Οι δύο πιο γνωστοί τύποι HPLC είναι η χρωματογραφία κανονικής φάσης και η χρωματογραφία αντίστροφης φάσης. Η HPLC κανονικής φάσης (NP-HPLC) διαχωρίζει τις αναλυόμενες ουσίες με βάση την πολικότητα. Χρησιμοποιεί μια πολική στατική φάση και μια μη πολική κινητή φάση. Η πολική αναλυόμενη ουσία αλληλεπιδρά και διατηρείται από την πολική στατική φάση. Οι δυνάμεις προσρόφησης αυξάνονται με την αυξημένη πολικότητα

της αναλυόμενης ουσίας και η αλληλεπίδραση μεταξύ της πολικής αναλυόμενης ουσίας και της πολικής στατικής φάσης αυξάνει τον χρόνο έκλουσης. Η HPLC αντίστροφης φάσης (RP-HPLC ή RPC) έχει μια μη πολική στατική φάση και μια υδατική, μέτρια πολική κινητή φάση. Λειτουργεί με βάση την αρχή των υδρόφοβων αλληλεπιδράσεων, οι οποίες προκύπτουν από απωστικές δυνάμεις μεταξύ ενός πολικού εκλουστικού, του σχετικά μη πολικού αναλύτη και της μη πολικής στατικής φάσης. Η δέσμευση της αναλυόμενης ουσίας με τη στατική φάση είναι ανάλογη με την επιφάνεια επαφής γύρω από το μη πολικό τμήμα του μορίου της αναλυόμενης ουσίας κατά τη σύνδεση με τον συνδέτη στο υδατικό εκλούτη (Rishabha et al., 2010). Άλλοι τύποι HPLC είναι η χρωματογραφία αποκλεισμού μεγέθους, η χρωματογραφία ανταλλαγής ιόντων και η χρωματογραφία βιοσυγγένειας.

Ο τρόπος με τον οποίο γίνονται οι χημικοί διαχωρισμοί βασίζεται στο γεγονός ότι ορισμένες ενώσεις έχουν διαφορετικούς ρυθμούς μετανάστευσης δεδομένης μιας συγκεκριμένης στήλης και κινητής φάσης. Η έκταση ή ο βαθμός διαχωρισμού καθορίζεται κυρίως από την επιλογή της στατικής φάσης και της κινητής φάσης. Κάθε ένωση δείχνει στα χρωματογραφήματα μια χαρακτηριστική κορυφή υπό ορισμένες χρωματογραφικές συνθήκες. (Rishabha et al., 2010).



Εικόνα 17. HPLC.

Τα υδρομεθανολικά εκχυλίσματα αναλύθηκαν με το σύστημα 1100 Agilent HPLC εφοδιασμένο με ανιχνευτή μεταβαλλόμενου μήκους UV- Vis (Diode Array Detector – DAD). Το σύστημα ήταν συνδεδεμένο με ηλεκτρονικό υπολογιστή ο οποίος περιείχε το λογισμικό HP Chemstation για την επεξεργασία των χρωματογραφήματων. Χρησιμοποιήθηκε η τεχνική της ανεστραμμένης φάσης (HPLC – RF) και εφαρμόστηκε η τεχνική της βαθμιδωτής έκλυσης (gradient elution), όπου γίνεται βαθμιαία μεταβολή της κινητής φάσης. Επιλέχθησαν τρία μήκη κύματος για τα χρωματογραφήματα και από αυτά μελετήσαμε το ένα για κάθε είδος (στα 280 nm). Οι πληροφορίες αυτής της μεθόδου ακολουθούν παρακάτω:

	Μέθοδος		
Στατική φάση	Supelco Discovery HS C18 25 cm X 4.6 mm, 5 um		
Κινητή φάση	B: Μεθανόλη A: Νερό + 0.25% φορμικό οξύ		
Πρόγραμμα έκλυσης	T (min)	% B	% A
	0	25	75
	2	25	75
	40	90	10
	45	90	10
	50	25	75
	60	25	75
Ροή (mL/min)	0.4		
Θερμοκρασία Στήλης (°C)	30		
Όγκος ένεσης (μL)	20		
Επιλεγμένο μήκος κύματος χρωματογραφήματος (nm)	280		

Για την ανάλυση στο HPLC μελετήθηκαν υδρομεθανολικά εκχυλίσματα (αναλογία 70:30 MeOH:H₂O) μέντας, δύοσμου και φλισκουινού, συγκέντρωσης 1 mg/ mL.

2.5 Υπέρυθρος Μετασχηματισμός Fourier, FTIR Φασματοσκοπία

Η φασματοσκοπία υπέρυθρου μετασχηματισμού Fourier (FTIR) είναι η πιο κοινή μορφή υπέρυθρης φασματοσκοπίας. Με αυτό αναγνωρίζονται χαρακτηριστικές ομάδες. Η αρχή με βάση την οποία λειτουργεί, όπως όλες οι υπέρυθρες φασματοσκοπίες, είναι ότι όταν η υπέρυθρη ακτινοβολία (IR) διέρχεται από ένα δείγμα, μέρος της ακτινοβολίας απορροφάται.

Αυτή η ακτινοβολία που διέρχεται από το δείγμα καταγράφεται. Τα φάσματα που έχουμε στο τέλος είναι μοναδικά επειδή τα μόρια που είναι διαφορετικά, έχουν και διαφορετικές δομές, οπότε παράγουν και διαφορετικά φάσματα. Τα φάσματα αυτά χρησιμοποιούνται για την αναγνώριση και τη διάκριση μεταξύ των μορίων. Σε όλο αυτό βοηθάει το συμβολόμετρο που είναι μια υπέρυθη πηγή, του οποίου η χρήση προσφέρει πιο μεγάλη ταχύτητα και το μετασχηματισμό Fourier. Ο μετασχηματισμός αυτός είναι μια μαθηματική συνάρτηση με την οποία διαχωρίζονται τα κύματα και επιστρέφει τη συχνότητα του κύματος με βάση το χρόνο. Έτσι, μετατρέπει το παρεμβολόγραμμα σε γράφημα φάσματος υπέρυθρης φασματοσκοπίας το οποίο μπορούμε να αναγνωρίσουμε και να χρησιμοποιήσουμε.

Το όργανο FTIR (εικ. 18) που χρησιμοποιήθηκε για να παραληφθούν τα φάσματα ήταν το φασματοφωτόμετρο FTIR Ostec IROS- 05 5017 (Simex Co.,Ltd, Russia), σε συνδυασμό με ένα οριζόντιο αξεσουάρ ATR με κρύσταλλο ZnSe (Spectra-Tech Inc., Inc. Stanford, CT, ΗΠΑ) και το λογισμικό ZaIR 3.5.



Εικόνα 18. FTIR.

2.6 DPPH - Δοκιμή του 2,2-διφαινυλο-1-πικρυλδραζυλίου για τον προσδιορισμό της αντιοξειδωτικής δράσης

Η ρίζα DPPH ή αλλιώς 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl, είναι μία ελεύθερη ρίζα. Είναι ένα σταθερό μόριο διαλυτό στη μεθανόλη που χαρακτηρίζεται από το βαθύ ιώδες χρώμα της, με μέγιστη απορρόφηση στα 515 nm. Τα αντιοξειδωτικά (AH) ή άλλα είδη ελεύθερων ριζών μπορούν να αντιδράσουν με αυτή τη σταθερή ρίζα με αποτέλεσμα να χαρακτηρίζεται από

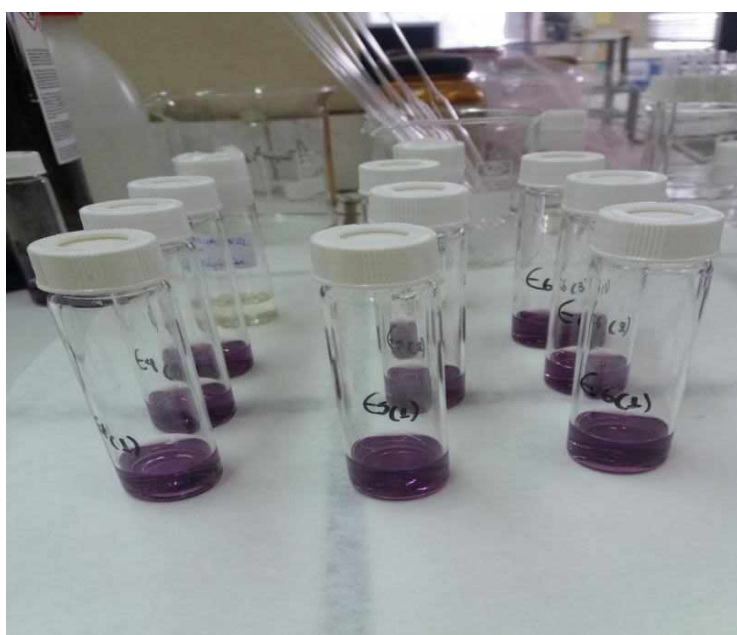
άχρωμο ή ωχροκίτρινο χρώμα που θα μπορούσε εύκολα να παρακολουθηθεί με ένα φασματοφωτόμετρο (Mfotie Njoya, 2021).

Δοκιμή DPPH

Παρασκευάστηκε διάλυμα DPPH. Αρχικά ζυγίστηκαν 4 mg από το εμπορικό σκεύασμα DPPH (Sigma) που διέθετε το εργαστήριο, τα οποία διαλύθηκαν σε μεθανόλη.

Τοποθετήθηκαν σε φιαλίδια (vials), 30 μ L δείγματος και 3 mL διαλύματος DPPH και μετά από επώαση για μια ώρα σε σκοτεινό περιβάλλον ακολούθησε η μέτρηση της απορρόφησης στα 517 nm, σε φασματοφωτόμετρο υπεριώδους-ορατού UV-Vis, μοντέλο V-1200 (VWR Spectrophotometers), και ο προσδιορισμός του ποσοστού παρεμπόδισης (I%). Όλα τα δείγματα μετρήθηκαν τρεις φορές (εικ. 19).

Τα αποτελέσματα εκφράζονται σε ισοδύναμα Trolox (6-υδροξυ-2,5,7,8 – τετραμεθυλωχρωμα -2-καρβοξυλικό οξύ) που είναι υδατοδιαλυτό, ισχυρό αντιοξειδωτικό και ανάλογο της βιταμίνης E. Παρασκευάστηκαν διαλύματα γνωστών συγκεντρώσεων Trolox και ακολούθησε η ίδια διαδικασία όπως και στα δείγματα. Στη συνέχεια κατασκευάστηκε πρότυπη καμπύλη.



Εικόνα 19. Δοκιμή DPPH.

Η δοκιμή DPPH πραγματοποιήθηκε τόσο στα δείγματα των αιθερίων ελαίων όσο και στα λυοφιλιωμένα δείγματα. Για την προετοιμασία των λυοφιλιωμένων δειγμάτων για το DPPH, χρησιμοποιήθηκαν 5 mg από το κάθε δείγμα ανά 5 mL διαλύτη σε αναλογία 70:30 (ή 5000

μL διαλύτη, 1500 μL H₂O και 3500 μL MeOH). Για τα δείγματα των αιθερίων ελαίων δε χρειάστηκε κάποια προετοιμασία.

2.7 Folin Ciocalteu - Δοκιμή προσδιορισμού ολικών φαινολικών με το αντιδραστήριο Folin-Ciocalteu

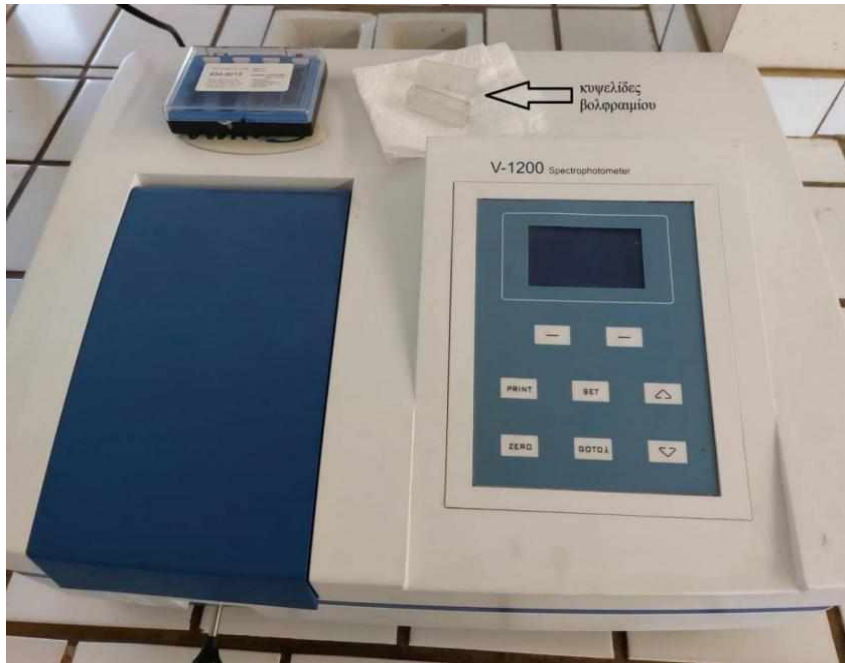
Η αρχή στην οποία βασίζεται ο προσδιορισμός της περιεκτικότητας σε φαινολικά με τη δοκιμή Folin Ciocalteu είναι η αναγωγή του αντιδραστηρίου Folin-Ciocalteu (FCR) παρουσία φαινολικών με αποτέλεσμα την παραγωγή μπλε μολυβδαινίου-βολφραμίου που μετράται φασματοφωτομετρικά στα 760 nm και η ένταση αυξάνεται γραμμικά με τη συγκέντρωση των φαινολικών στο μέσο αντίδρασης (Malta; Liu, 2014).

Δοκιμή Folin Ciocalteu

Παρασκευάστηκε διάλυμα ανθρακικού νατρίου Na₂CO₃, 20% w/v, για τη δημιουργία αλκαλικού περιβάλλοντος κατά την αντίδραση του δείγματος με το αντιδραστήριο Folin Ciocalteu.

Σε φιαλίδια τοποθετήθηκαν 1,5 mL H₂O, 25 μL δείγματος και 125 μL αντιδραστηρίου Folin Ciocalteu, ύστερα από 3 min προστέθηκαν 375 μL Na₂CO₃ και 474 μL απιονισμένο νερό και μετά από επώαση ωρών στο σκοτάδι, ακολούθησε η μέτρηση της απορρόφησης στα 725 nm στο φασματοφωτόμετρο (εικ. 20) υπεριώδους-ορατού, UV-Vis μοντέλο V-1200 (VWR Spectrophotometers). Το όργανο μηδενίστηκε με τυφλό διάλυμα. Όλα τα δείγματα μετρήθηκαν τρεις φορές (εικ. 21).

Τα αποτελέσματα εκφράζονται σε ισοδύναμα καφεϊκού οξέος, γι' αυτό κατασκευάστηκε και πρότυπη καμπύλη. Παρασκευάστηκαν διαλύματα γνωστών συγκεντρώσεων καφεϊκού οξέος και ακολούθησε η ίδια διαδικασία όπως και στα δείγματα.



Εικόνα 20. Φασματοφωτόμετρο υπεριώδους-ορατού για μετρήσεις DPPH και Folin Ciocalteu.



Εικόνα 21. Δοκιμή Folin Ciocalteu.

Η δοκιμή Folin Ciocalteu πραγματοποιήθηκε τόσο στα δείγματα των αιθερίων ελαίων όσο και στα λυοφιλιωμένα δείγματα. Η προετοιμασία των δειγμάτων για αυτήν τη δοκιμή ήταν η ίδια με την προετοιμασία για το DPPH, δηλαδή χρησιμοποιήθηκαν 5 mg από το κάθε δείγμα ανά 5 mL διαλύτη σε αναλογία 70:30 για τα λυοφιλιωμένα δείγματα, ενώ για τα αιθέρια έλαια δεν έγινε κάποια προετοιμασία.

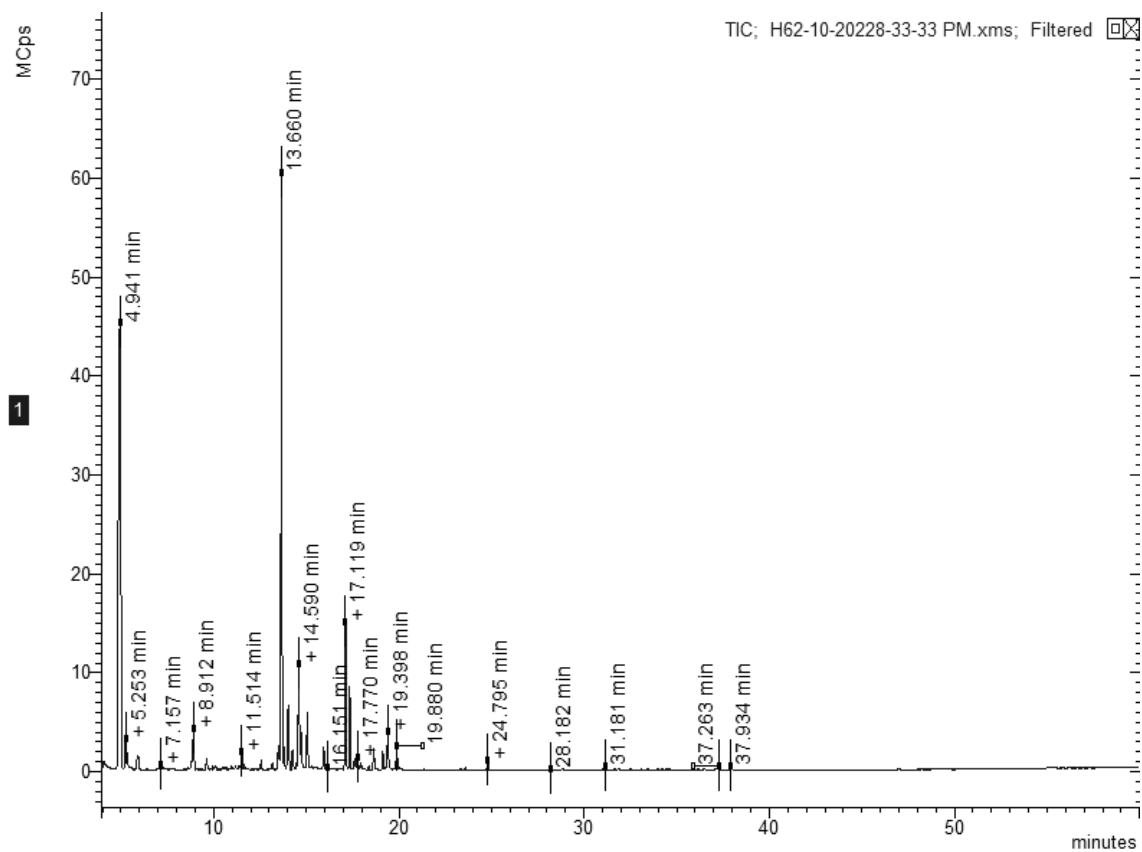
3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

3.1 GC/MS

Παρακάτω ακολουθούν τα χρωματογραφήματα των αιθερίων ελαίων και οι πίνακες με τους χρόνους έκλουσης των ενώσεων που περιέχονται στα παραπάνω δείγματα. Οι ενώσεις ταυτοποιήθηκαν με τις βιβλιοθήκες ADAMS και NIST.

Οι ουσίες που ταυτοποιήθηκαν δεν αντιπροσωπεύουν το 100% των συνολικών ενώσεων, αφού μελετήθηκαν μόνο οι ουσίες με ποσοστό >1% ενώ οι υπόλοιπες με μικρότερο ποσοστό δεν λήφθηκαν υπόψη.

Η6, Μέντα



Εικόνα 22. Χρωματογράφημα αιθερίου ελαίου *mentha piperita*.

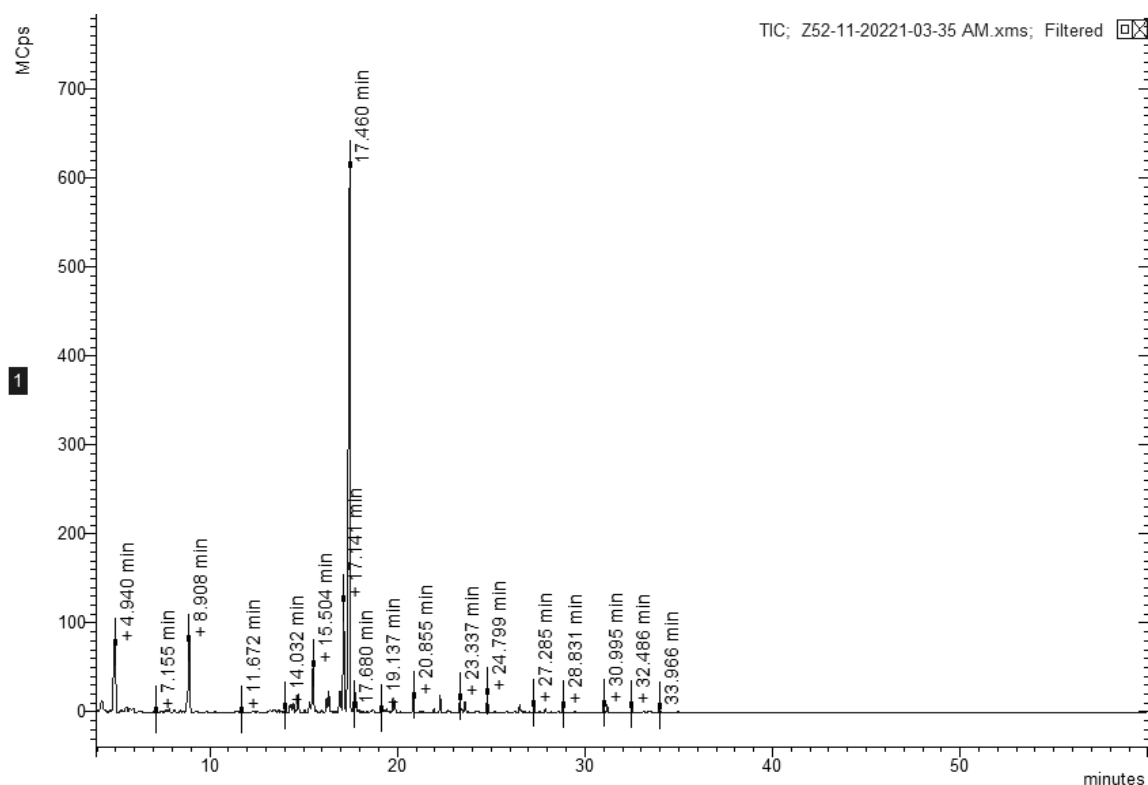
Πίνακας 10. Χημικές ενώσεις του αιθερίου ελαίου *mentha piperita*.

H6

Αρίθμ ηση	Χρόνος Συγκράτ ησης (min)	Ποσοστό %	Αγγλική ονομασία	Ονομασία
1	5,25	4,05	dimethyl sulfone	διμεθυλοσουλφόνη
2	5,92	1,51	d- α -pinene	d- α -πινένιο
3	8,91	3,66	eucalyptol	ευκαλυπτόλη
4	11,51	1,13	2-hexene, 1,1-diethoxy-	2-εξένιο, 1,1-διαιοξυ-
5	13,49	1,48	5-(1-ethoxy-ethoxy)-4-methyl-hex-2-enal	5-(1-αιιοξυ-αιιοξυ)-4-μεθυλ-εξ-2-ενάλη
6	13,66	36,05	D-menthone	D-μενθόνη
7	14,02	4,74	isomenthone	ισομενθόνη
8	14,26	1,26	p-menthan-1-ol	π-μενθαν-1-όλη
9	14,59	6,80	p-menthan-1-ol	π-μενθαν-1-όλη
10	14,72	2,64	3-hexanol, 2,4-dimethyl-	3-εξανόλη, 2,4-διμεθυλ-
11	15,05	3,34	5-(1-ethoxy-ethoxy)-4-methyl-hex-2-enal	5-(1-αιιοξυ-αιιοξυ)-4-μεθυλ-εξ-2-ενάλη
12	15,94	1,36	3-hexanol, 2,4-dimethyl-	3-εξανόλη, 2,4-διμεθυλ-
13	17,11	8,52	pulegone	πουλεγόνη
14	17,35	4,81	carvone	καρβόνη
15	17,77	1,05	piperitone	πιπεριτόνη
16	18,64	1,39	2-hexenal, 5-(1-ethoxyethoxy)-, [R*,S*-(E)]-(+)-	2-εξενάλη, 5-(1-αιιοξυαιιοξυ)-, [R*,S*-(E)]-(+)-
17	19,13	1,13	1-cyclohexyl-3-ethoxy-butan-2-one	1-κυκλοεξυλ-3-αιιοξυ-βουταν-2-όνη
18	19,39	3,03	menthyl acetate	οξεικός μενθυλεστέρας
19	19,88	1,57	2-ethoxy-3-chlorobutane	2-αιιοξυ-3-χλωροβουτάνιο

Στην μέντα υπάρχει μεικτός χημειότυπος σε ποσοστό 51,37 %. Ο χημειότυπος είναι D-μενθόνης (36,05 %), π-μενθαν-1-όλης (6,80 %) και πουλεγόνης (8,52 %).

Z5, Δυόσμος



Εικόνα 23. Χρωματογράφημα αιθερίου ελαίου *mentha spicata*.

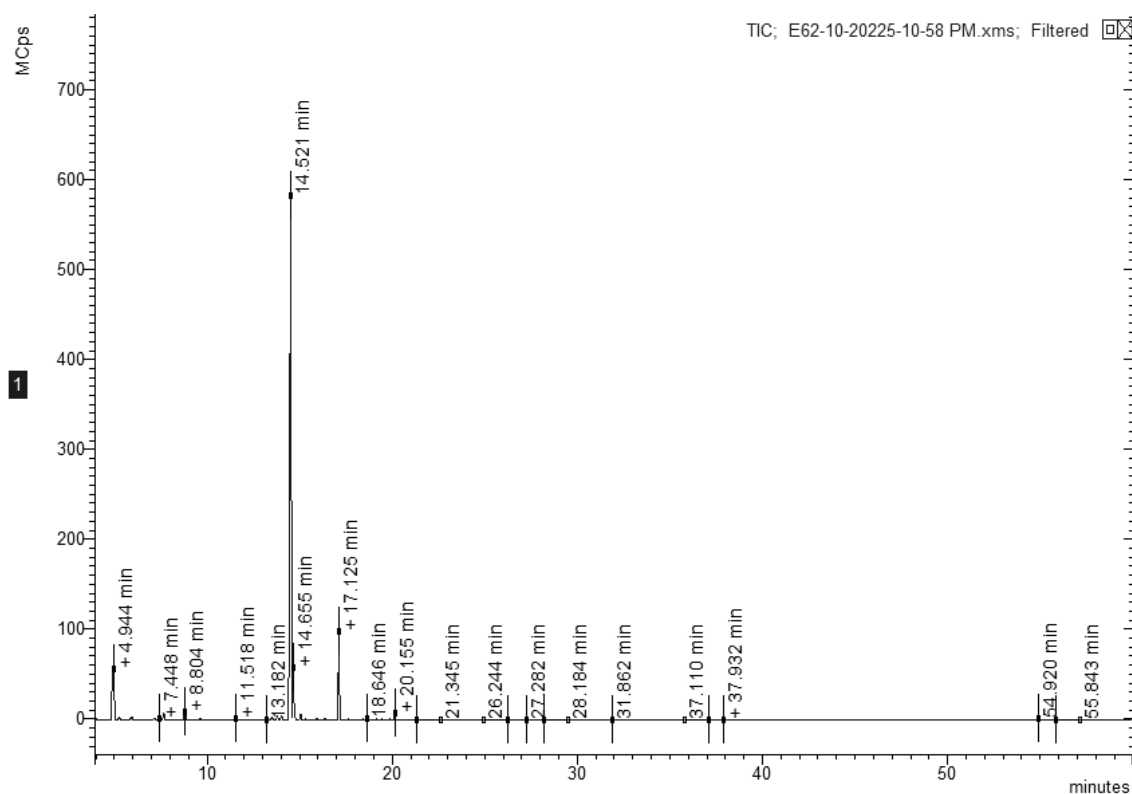
Πίνακας 11. Χημικές ενώσεις του αιθερίου ελαίου *mentha spicata*.

Z5

Αρίθμηση	Χρόνος Συγκράτησης (min)	Ποσοστό %	Αγγλική ονομασία	Ονομασία
1	4,23	1,55	oxalic ether	οξαλικός αιθέρας
2	8,90	6,94	eucalyptol	ευκαλυπτόλη
3	14,71	1,23	L-4-terpineol	L-4-τερπινεόλη
4	15,50	3,70	neodihydrocarveol	νεοδιϋδροκαρβεόλη
5	16,34	1,41	cis-carveol	cis-καρβεόλη
6	16,94	1,80	carveol	καρβεόλη
7	17,14	7,50	pulegone	πουλεγόνη
8	17,46	51,35	(-)-carvone	(-)-καρβόνη
9	17,78	1,29	riperitone oxide	οξείδιο πιπεριτόνης
10	24,79	1,26	caryophyllene	καρυοφυλλένιο

Στο δυόσμο υπάρχει χημειότυπος (-)-καρβόνης σε ποσοστό 51,35 %.

Ε6, Φλισκούνι



Εικόνα 24. Χρωματογράφημα αιθερίου ελαίου *mentha pulegium*.

Πίνακας 12. Χημικές ενώσεις του αιθερίου ελαίου *mentha pulegium*.

Ε6

Αρίθμηση	Χρόνος Συγκράτησης (min)	Ποσοστό %	Αγγλική ονομασία	Ονομασία
1	7,66	1,10	3-octanol	3-οκτανόλη
2	8,80	1,21	D-limonene	D-λιμονένιο
3	14,52	74,19	isopulegone	ισοπουλεγόνη
4	14,65	5,24	neoisopulegol	νεοισοπουλεγόλη
5	17,12	9,49	(±)-pulegone	πουλεγόνη

Στο φλισκούνι υπάρχει χημειότυπος ισοπουλεγόνης σε ποσοστό 74,19 %.

Παρατηρείται ότι υπάρχουν αρκετές κοινές ενώσεις σε αυτά τα τρία είδη *mentha*, παρόλα αυτά υπάρχουν όμως και διαφορές στον αριθμό αυτών των ενώσεων όπως και στο ποσοστό τους, γι' αυτό και ο χημειότυπος είναι διαφορετικός σε κάθε περίπτωση.

3.2 HPLC

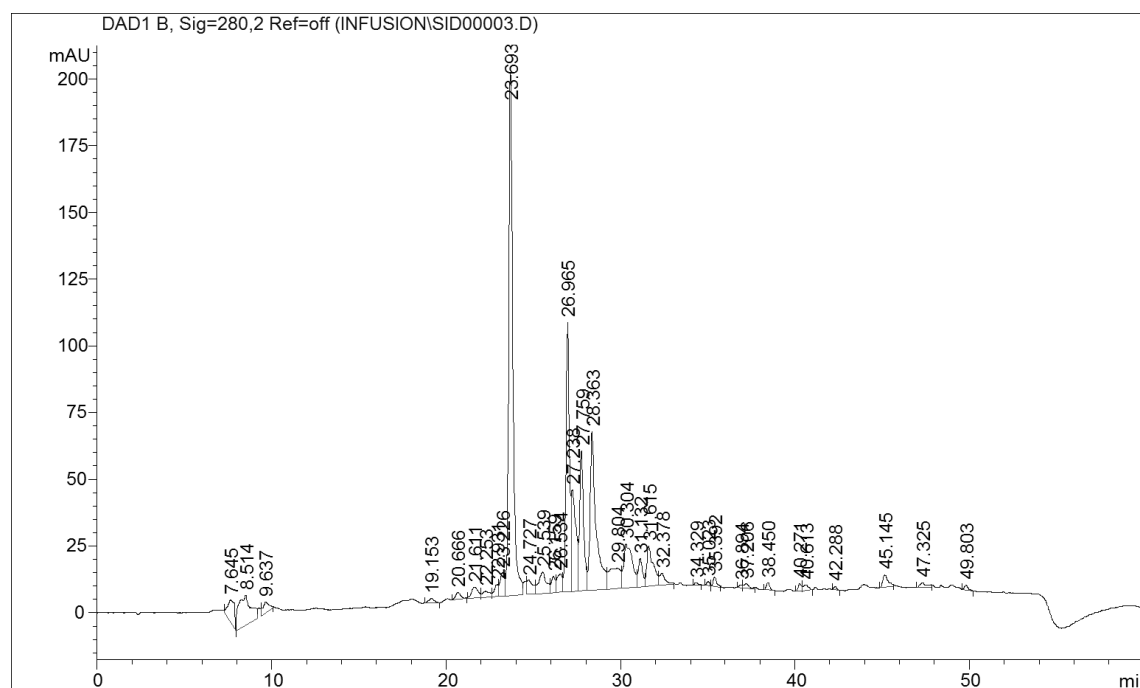
Ο εντοπισμός των φαινολικών ενώσεων πραγματοποιήθηκε συγκρίνοντας τους χρόνους συγκράτησης των ενώσεων που εμφανίστηκαν στα χρωματογραφήματα της υγρής χρωματογραφίας, με τους χρόνους συγκράτησης των πρότυπων ενώσεων που έχουν επιλεγεί από το εργαστήριο του πανεπιστημίου.

Παρακάτω ακολουθούν τα χρωματογραφήματα των λυοφιλιωμένων δειγμάτων από το HPLC, οι πίνακες με τις φαινολικές ενώσεις που ταυτοποιήθηκαν, καθώς και οι πρότυπες ενώσεις του εργαστηρίου (πιν. 13).

Πίνακας 13. Πρότυπες ενώσεις.

Αρίθμηση	Χρόνος Συγκράτησης (min)	Αγγλική ονομασία	Ονομασία
1	9.77	gallic acid	γαλλικό οξύ
2	15.69	chlorogenic acid	χλωρογενικό οξύ
3	22.92	vanillic acid	βανιλλικό οξύ
4	23.00	caffeic acid	καφεϊκό οξύ
5	27.83	<i>π</i> -coumaric acid	<i>π</i> -κουμαρικό οξύ
6	28.24	ferulic acid	φερουλικό οξύ
7	29.25	rutin	ρουτίνη
8	29.27	luteolin 7-glucoside	λουτεολίνη 7-γλυκοζίτης
9	31.32	rosmarinic acid	ροσμαρινικό οξύ
10	37.15	naringenin	ναρινγκενίνη
11	38.16	luteolin	λουτεολίνη
12	40.54	apigenin	απιγενίνη

Η1, Μέντα



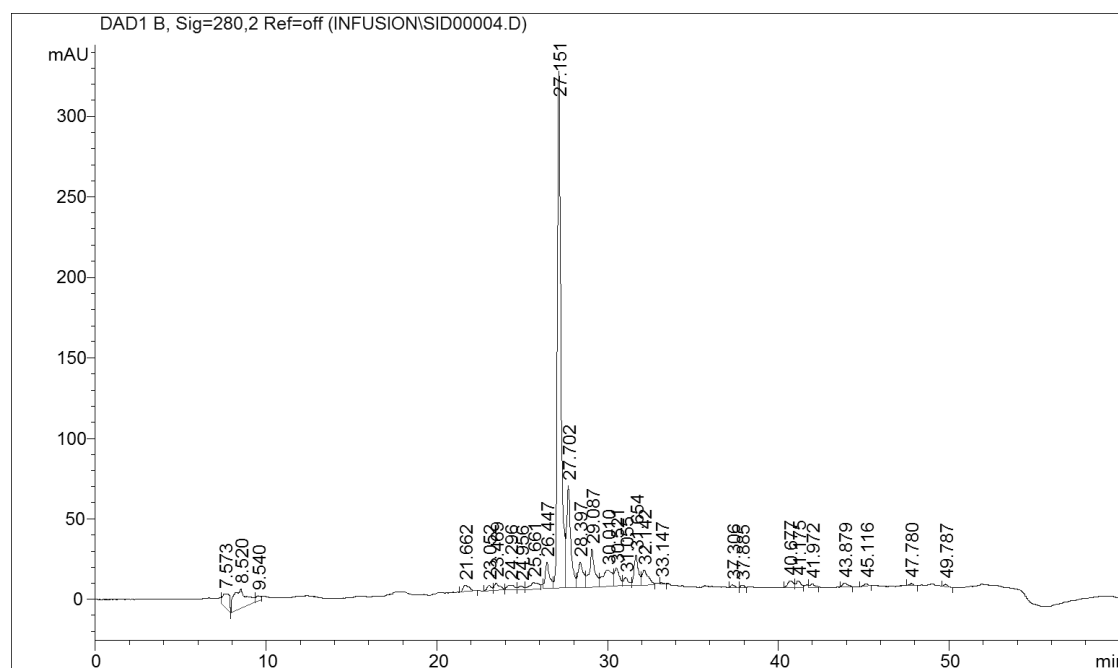
Εικόνα 25. Χρωματογράφημα υδρομεθανολικού εκχυλίσματος μέντας.

Πίνακας 14. Φαινολικές ενώσεις υδρομεθανολικού εκχυλίσματος μέντας.

Η1

Αρίθμηση	Χρόνος Συγκράτησης (min)	Αγγλική ονομασία	Ονομασία
1	9.63	gallic acid	γαλλικό οξύ
2	22.93	vanillic acid	βανιλλικό οξύ
3	23.69	caffeic acid	καφεϊκό οξύ
4	26.96	<i>π</i> -coumaric acid	<i>π</i> -κουμαρικό οξύ
5	29.27	luteolin 7-glucoside	λουτεολίνη 7-γλυκοζίτης
6	31.61	rosmarinic acid	ροσμαρινικό οξύ
7	37.20	naringenin	ναρινγκενίνη
8	38.45	luteolin	λουτεολίνη
9	40.61	apigenin	απιγενίνη

Z1, Δυόσμος



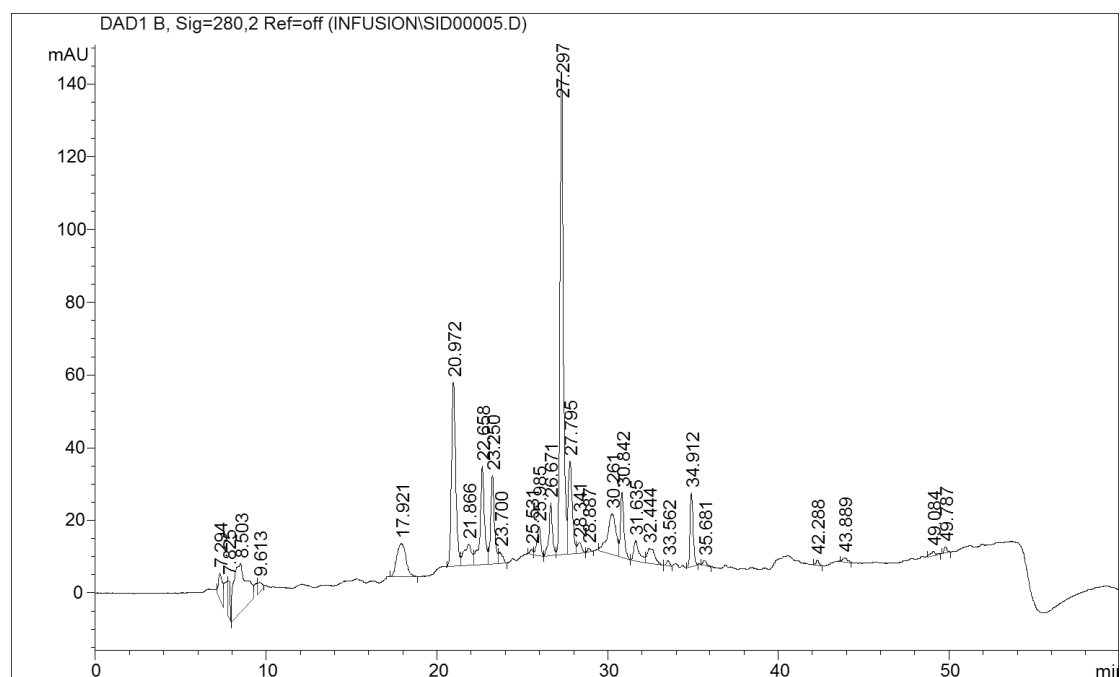
Εικόνα 26. Χρωματογράφημα υδρομεθανολικού εκχυλίσματος δυόσμου.

Πίνακας 15. Φαινολικές ενώσεις υδρομεθανολικού εκχυλίσματος δυόσμου.

Z1

Αρίθμηση	Χρόνος Συγκράτησης (min)	Αγγλική ονομασία	Ονομασία
1	9.54	gallic acid	γαλλικό οξύ
2	23.05	vanillic acid	βανιλλικό οξύ
3	23.46	caffeic acid	καφεϊκό οξύ
4	27.15	<i>π-coumaric acid</i>	<i>π-κουμαρικό οξύ</i>
5	28.39	ferulic acid	φερουλικό οξύ
6	29.08	luteolin 7-glucoside	λουτεολίνη 7-γλυκοζίτης
7	31.65	rosmarinic acid	ροσμαρινικό οξύ
8	37.30	naringenin	ναρινγκενίνη
9	37.88	luteolin	λουτεολίνη
10	40.67	apigenin	απιγενίνη

Ε1, Φλισκούνι



Εικόνα 27. Χρωματογράφημα υδρομεθανολικού εκχυλίσματος φλισκουνιού.

Πίνακας 16. Φαινολικές ενώσεις υδρομεθανολικού εκχυλίσματος φλισκουνιού.

Ε1

Αρίθμηση	Χρόνος Συγκράτησης (min)	Αγγλική ονομασία	Ονομασία
1	9.61	gallic acid	γαλλικό οξύ
2	22.65	vanillic acid	βανιλλικό οξύ
3	23.25	caffeic acid	καφεϊκό οξύ
4	27.29	<i>π-coumaric acid</i>	<i>π-κουμαρικό οξύ</i>
5	28.88	ferulic acid	φερουλικό οξύ
6	30.26	rutin	ρουτίνη
7	30.84	luteolin 7-glucoside	λουτεολίνη 7-γλυκοζίτης
8	31.63	rosmarinic acid	ροσμαρινικό οξύ

Όπως φαίνεται, υπάρχουν κάποιες διαφορές στις φαινολικές ενώσεις μεταξύ αυτών των ειδών. Συγκεκριμένα, η απιγενίνη, η λουτεολίνη και η ναρινγκενίνη δεν εντοπίστηκαν στο φλισκούνι, αλλά μόνο στην μέντα και το δυόσμο. Επίσης, το φερουλικό οξύ εντοπίστηκε στο

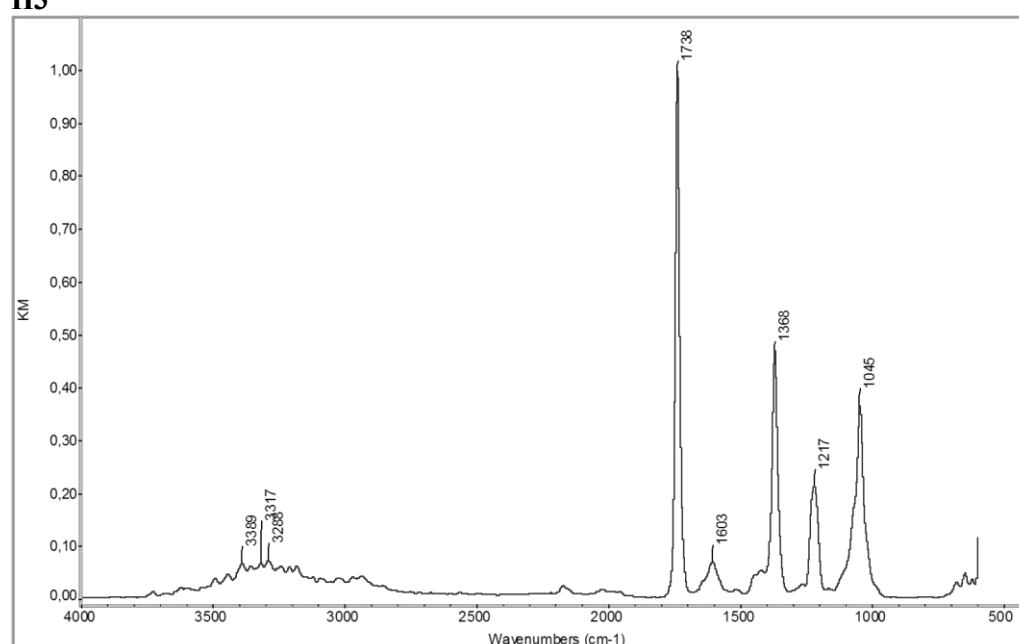
δύοσμο και στο φλισκούνι και όχι στην μέντα. Τέλος, η ρουτίνη εντοπίστηκε μόνο στο φλισκούνι.

3.3 FTIR

Παρακάτω ακολουθούν τα φάσματα IR των δειγμάτων και οι αποδόσεις των κορυφών που εμφανίζονται. Η επεξεργασία των φασμάτων έγινε με το πρόγραμμα OMNIC 9 Software.

Μέντα

H3

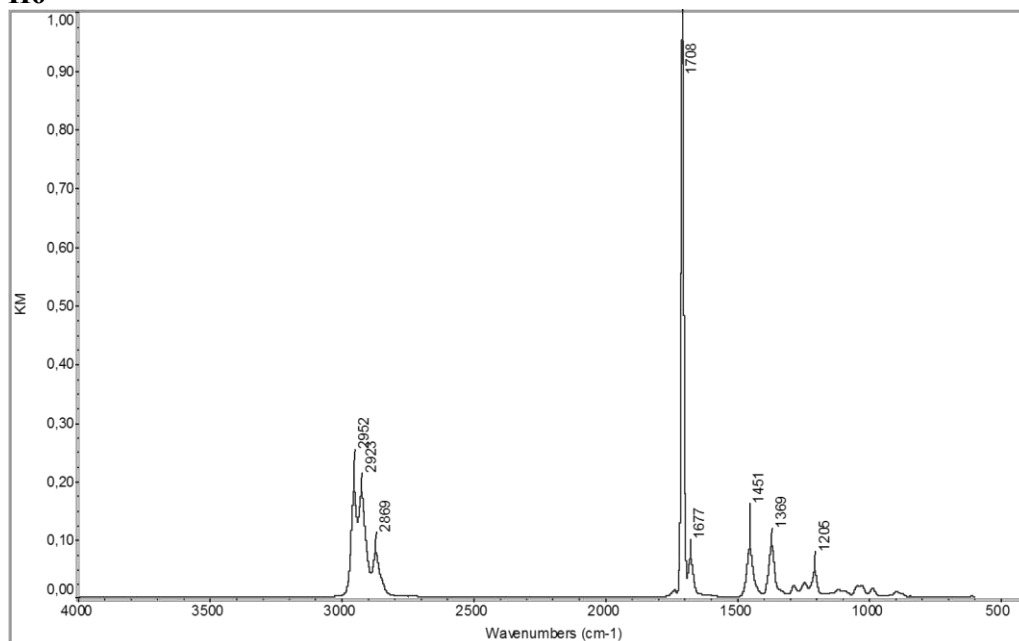


Εικόνα 28. Φάσμα IR υδρομεθανολικού εκχυλίσματος μέντας.

Απόδοση κορυφών:

- 1) ζώνη απορρόφησης στα 1739 cm^{-1} , δόνηση τάσης των καρβονυλικών ομάδων (C=O)
- 2) ζώνη απορρόφησης στα $3288, 3317, 3399\text{ cm}^{-1}$, δόνηση τάσης του υδροξυλίου (OH)
- 3) ζώνη απορρόφησης στα 1217 cm^{-1} , δόνηση τάσης των εστέρων (C-O)
- 4) ζώνη απορρόφησης στα 1369 cm^{-1} , δόνηση τάσης ομάδων C-H
- 5) ζώνη απορρόφησης στα 1045 cm^{-1} , δόνηση τάσης των εστέρων (C-O)
- 6) ζώνη απορρόφησης στα 1603 cm^{-1} , δόνηση τάσης διπλού δεσμού μεταξύ ανθράκων (C=C)

Η6



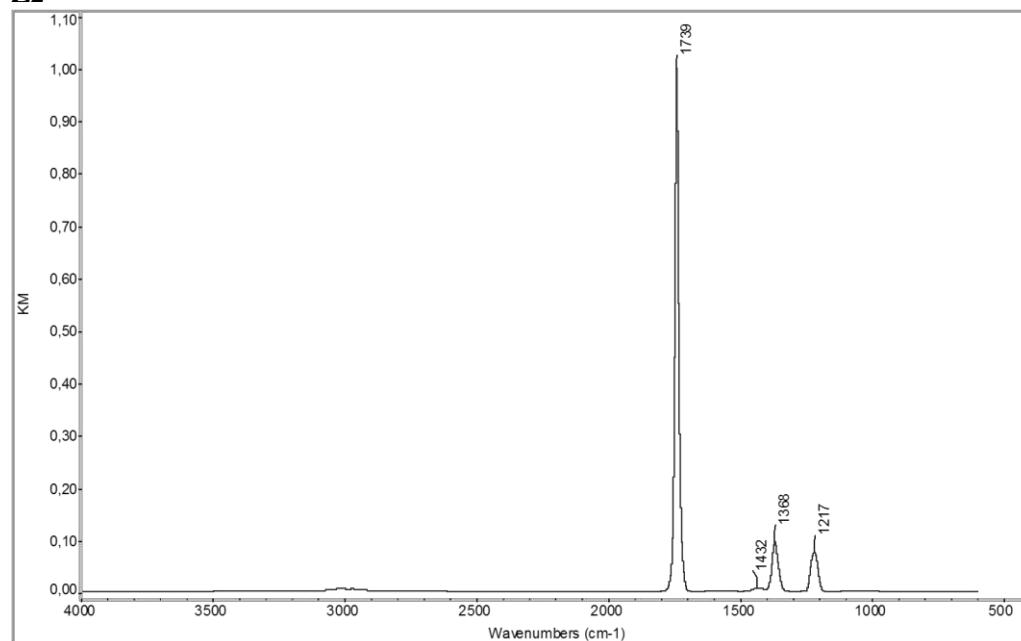
Εικόνα 29. Φάσμα IR αιθερίου ελαίου μέντας.

Απόδοση κορυφών:

- 1) ζώνη απορρόφησης στα 1708 cm⁻¹, δόνηση τάσης καρβονυλικών ομάδων (C=O)
- 2) ζώνη απορρόφησης στα 2869, 2923, 2952 cm⁻¹, δόνηση τάσης αλειφατικών ομάδων που θεωρητικά αποδίδεται σε CH₂, CH₃
- 3) ζώνη απορρόφησης στα 1677 cm⁻¹, δόνηση τάσης διπλού δεσμού μεταξύ ανθράκων (C=C)
- 4) ζώνη απορρόφησης στα 1205 cm⁻¹, δόνηση τάσης των εστέρων (C-O)
- 5) ζώνη απορρόφησης στα 1369 cm⁻¹, δόνηση τάσης ομάδων C-H
- 6) ζώνη απορρόφησης στα 1451 cm⁻¹, ψαλιδοειδής δόνηση κάμψης ομάδων C-H

Δυόσμος

Z2

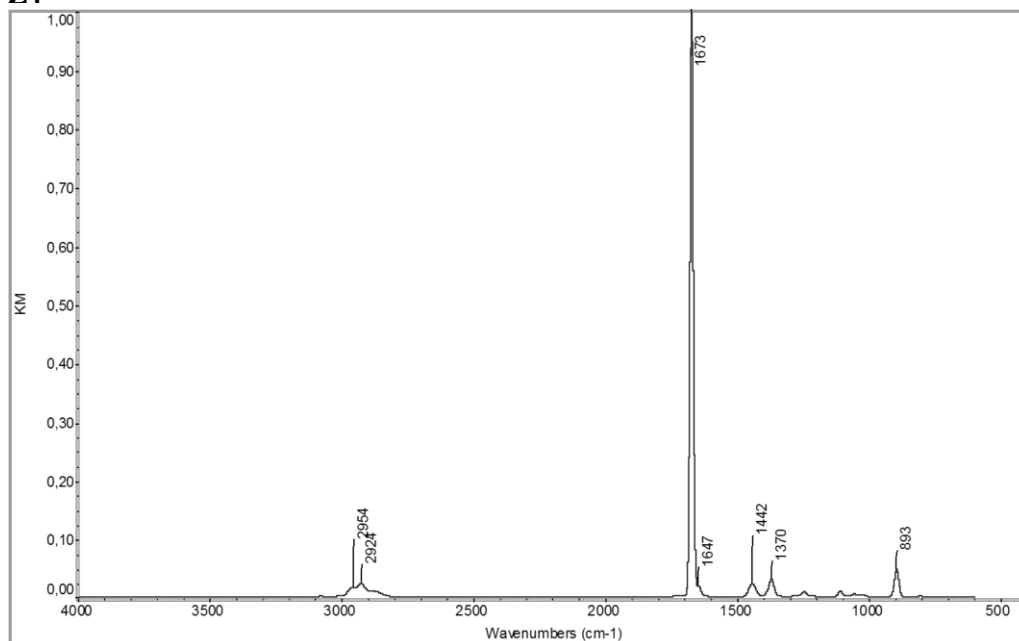


Εικόνα 30. Φάσμα IR υδρομεθανολικού εκχυλίσματος δυόσμου.

Απόδοση κορυφών:

- 1) ζώνη απορρόφησης στα 1739 cm^{-1} , δόνηση τάσης καρβονυλικών ομάδων (C=O)
- 2) ζώνη απορρόφησης στα 1217 cm^{-1} , δόνηση τάσης εστέρων (C-O)
- 3) ζώνη απορρόφησης στα 1369 cm^{-1} , δόνηση τάσης ομάδων C-H
- 4) ζώνη απορρόφησης στα 1432 cm^{-1} , ψαλιδοειδής δόνηση κάμψης ομάδων C-H

Z4



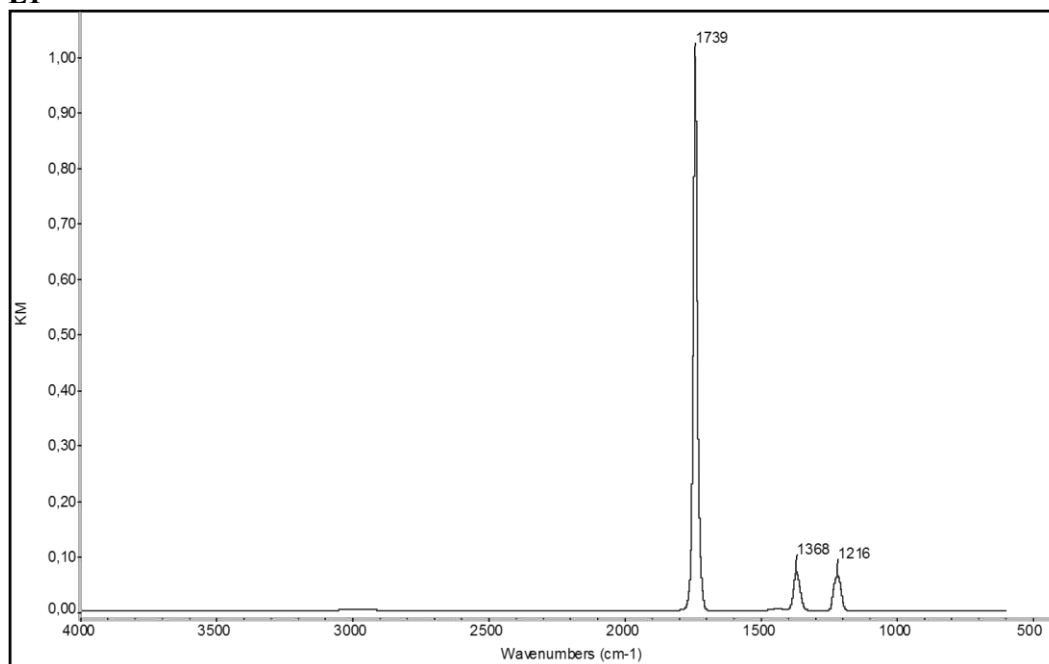
Εικόνα 31. Φάσμα IR αιθερίου ελαίου δυόσμου.

Απόδοση κορυφών:

- 1) ζώνη απορρόφησης στα 1672 cm^{-1} , δόνηση τάσης καρβονυλικών ομάδων (C=O)
- 2) ζώνη απορρόφησης στα $2924, 2954\text{ cm}^{-1}$, δόνηση τάσης αλειφατικών ομάδων CH_2, CH_3
- 3) ζώνη απορρόφησης στα 1647 cm^{-1} , δόνηση τάσης διπλού δεσμού μεταξύ ανθράκων (C=C)
- 4) ζώνη απορρόφησης στα 893 cm^{-1} , περιοχή δακτυλικών αποτυπωμάτων
- 5) ζώνη απορρόφησης στα 1370 cm^{-1} , δόνηση τάσης ομάδων C-H
- 6) ζώνη απορρόφησης στα 1442 cm^{-1} , ψαλιδοειδής δόνηση κάμψης ομάδων C-H

Φλισκούνι

E1

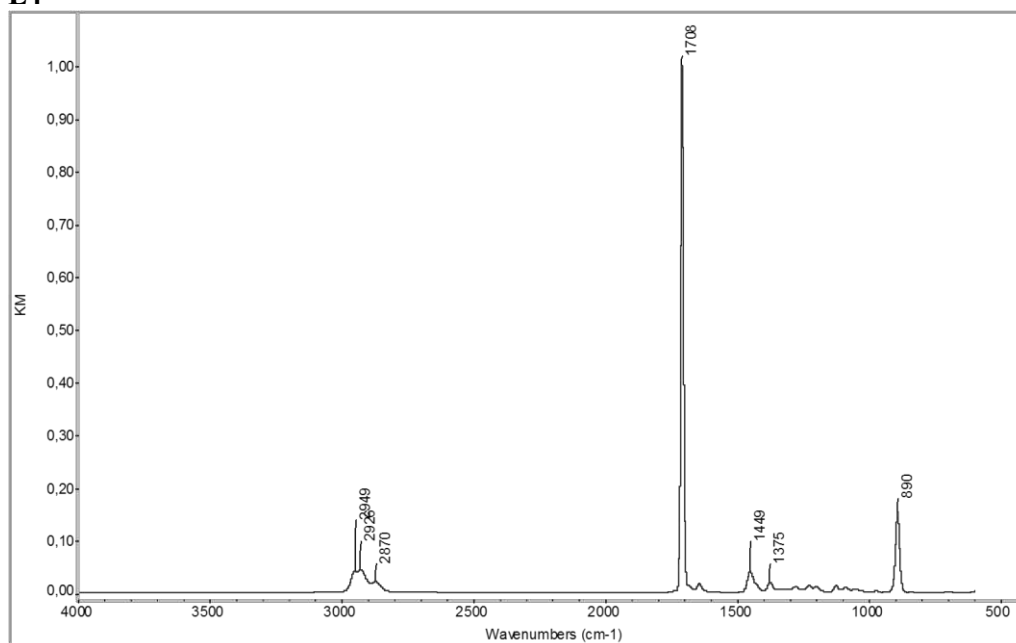


Εικόνα 32. Φάσμα IR υδρομεθανολικού εκχυλίσματος φλισκουνιού.

Απόδοση κορυφών:

- 1) ζώνη απορρόφησης στα 1739 cm⁻¹, δόνηση τάσης καρβονυλικών ομάδων (C=O)
- 2) ζώνη απορρόφησης στα 1216 cm⁻¹, δόνηση τάσης εστέρων (C-O)
- 3) ζώνη απορρόφησης στα 1368 cm⁻¹, δόνηση τάσης ομάδων C-H

E4



Εικόνα 33. Φάσμα IR αιθερίου ελαίου φλισκουνιού.

Απόδοση κορυφών:

- 1) ζώνη απορρόφησης στα 1708 cm^{-1} , δόνηση τάσης καρβονυλικών ομάδων (C=O)
- 2) ζώνη απορρόφησης στα 890 cm^{-1} , περιοχή δακτυλικών αποτυπωμάτων
- 3) ζώνη απορρόφησης στα $1375, 1449\text{ cm}^{-1}$, ψαλιδοειδής δόνηση κάμψης ομάδων C-H
- 4) ζώνη απορρόφησης στα $2870, 2926, 2949\text{ cm}^{-1}$, δόνηση τάσης αλειφατικών ομάδων που θεωρητικά αποδίδεται σε CH_2, CH_3

Όπως φαίνεται από τα παραπάνω, με τα φάσματα FTIR πραγματοποιήθηκε απόδοση κορυφών σε όλες τις αναμενόμενες χαρακτηριστικές ομάδες των τριών αυτών ειδών *mentha*.

3.4 DPPH

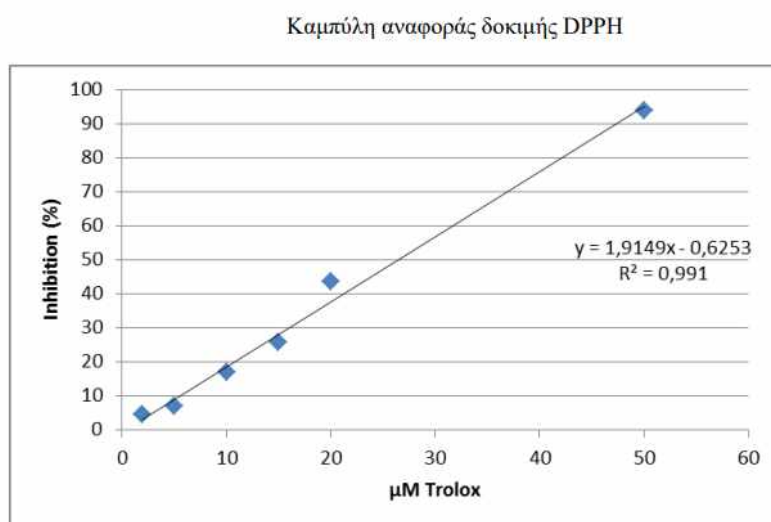
Ακολουθεί ο πίνακας (πιν. 17) με τις απορροφήσεις όλων των δειγμάτων (αιθερίων ελαίων και λυοφιλιωμένων) μετά από τις τρεις επαναλήψεις που έγιναν για το καθένα ξεχωριστά. Για την μέτρηση της απορρόφησης χρησιμοποιήθηκε φασματοφωτόμετρο στα 517 nm .

Πίνακας 17. Απορροφήσεις όλων των δειγμάτων στη δοκιμή DPPH.

Δείγμα	A0 (nm)	A1 (nm)	A2 (nm)	A3 (nm)	A (nm)
E1	1,18	0,98	1,00	1,00	0,99
E2	1,18	1,00	0,98	0,98	0,98
E3	1,18	1,03	1,01	1,01	1,02
E4	0,90	0,60	0,56	0,61	0,59
E5	0,90	0,60	0,59	0,59	0,59
E6	0,90	0,60	0,58	0,60	0,59
Z1	1,18	1,00	1,03	1,05	1,02
Z2	1,18	1,04	1,02	0,99	1,01
Z3	1,06	0,90	0,92	0,91	0,91
Z4	1,27	0,16	0,15	0,12	0,14
Z5	1,27	0,33	0,28	0,26	0,29
Z6	1,27	0,89	0,78	0,81	0,83
H1	1,18	1,05	1,05	1,00	1,03
H2	1,18	1,06	1,08	1,06	1,07
H3	1,18	1,05	1,04	1,05	1,05
H4	1,27	0,15	0,14	0,14	0,14
H5	1,10	0,14	0,11	0,11	0,12
H6	1,10	0,20	0,18	0,13	0,17

Για τον υπολογισμό του ποσοστού παρεμποδιστικής δράσης κάθε δείγματος χρησιμοποιήθηκε ο τύπος : $I\% = [(A_0 - A) / A_0] * 100$, όπου I% η % παρεμπόδιση της ελεύθερης ρίζας, A₀ η απορρόφηση του τυφλού δείγματος και A η απορρόφηση του δείγματος.

Στη συνέχεια, για τον υπολογισμό της παρεμποδιστικής δράσης σε Trolox χρησιμοποιήθηκε η πρότυπη καμπύλη (εικ. 34) που βρίσκεται παρακάτω:



Εικόνα 34. Πρότυπη καμπύλη αναφοράς DPPH.

Η εξίσωση της καμπύλης αναφοράς όπως φαίνεται παραπάνω, είναι $y = 1,9149x - 0,6253$, όπου y το κάθε I% που υπολογίστηκε αρχικά, και όπου x η παρεμποδιστική δράση κάθε δείγματος σε μM Trolox.

Ο πίνακας 18 που ακολουθεί, δείχνει τα ποσοστά παρεμποδιστικής δράσης κάθε δείγματος μετά τους υπολογισμούς:

Πίνακας 18. Παρεμποδιστική δράση όλων των δειγμάτων με τη δοκιμή DPPH.

Δείγματα	Ποσοστό παρεμποδιστικής δράσης (I%)	Παρεμποδιστική δράση (μM Trolox)
H1	13,15	6,31±0,88
H2	9,78	
H3	11,46	
H4	88,98	46,02±1,40
H5	89,13	

H6	84,60	
Z1	13,97	10,69±4,56
Z2	14,84	
Z3	14,79	
Z4	88,98	35,34±14,82
Z5	77,18	
Z6	35,00	
E1	16,53	8,65±0,92
E2	17,37	
E3	13,97	
E4	34,73	18,46±0
E5	34,73	
E6	34,73	

3.5 FOLIN CIOCALTEU

Ακολουθεί ο πίνακας με τις απορροφήσεις όλων των δειγμάτων (αιθερίων ελαίων και λυοφιλιωμένων) μετά από τις τρεις επαναλήψεις που έγιναν για το καθένα ξεχωριστά. Για την μέτρηση της απορρόφησης χρησιμοποιήθηκε φασματοφωτόμετρο στα 725 nm.

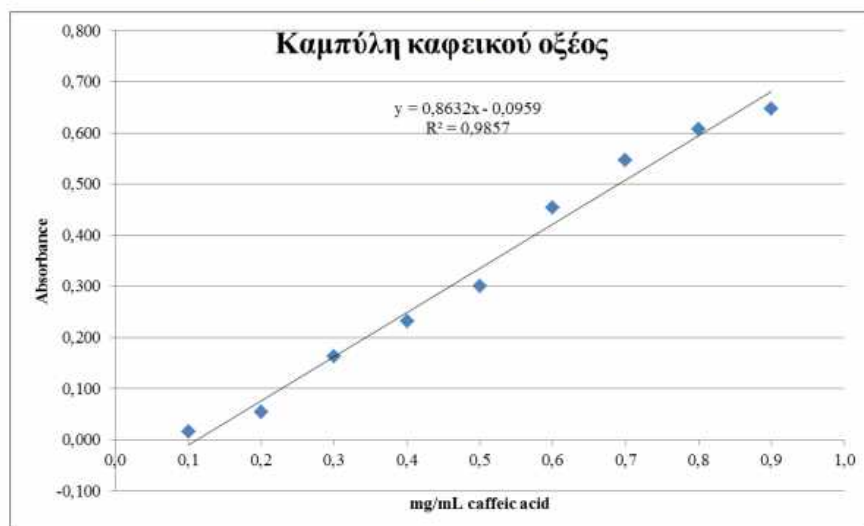
Πίνακας 19. Απορροφήσεις όλων των δειγμάτων με τη δοκιμή Folin Ciocalteu.

Δείγμα	A1 nm	A2 nm	A3 nm	A nm
E1	0,07	0,07	0,05	0,06
E2	0,07	0,03	0,04	0,05
E3	0,05	0,06	0,06	0,06
E4	0,29	0,36	0,37	0,34
E5	0,16	0,14	0,28	0,19
E6	0,19	0,51	0,30	0,33
Z1	0,27	0,17	0,22	0,22
Z2	0,31	0,37	0,34	0,34
Z3	0,30	0,32	0,27	0,30
Z4	0,51	0,52	0,51	0,51
Z5	0,48	0,57	0,63	0,56
Z6	0,90	0,92	1,02	0,94
H1	0,22	0,23	0,23	0,22

H2	0,22	0,16	0,21	0,20
H3	0,25	0,26	0,26	0,25
H4	0,90	1,10	1,01	1,00
H5	0,71	0,90	0,99	0,87
H6	0,99	0,95	0,96	0,97

Για τον υπολογισμό της περιεκτικότητας των δειγμάτων σε φαινολικά συστατικά χρησιμοποιήθηκε η παρακάτω καμπύλη αναφοράς (εικ. 35) με την εξίσωση $y=0,8632x-0,0959$, όπου y η κάθε απορρόφηση (A) και x η φαινολική περιεκτικότητα κάθε δείγματος. Τα αποτελέσματα εκφράστηκαν σε mg/mL καφεϊκού οξέος.

Καμπύλη αναφοράς δοκιμής Folin-Ciocalteu



Εικόνα 35. Καμπύλη αναφοράς καφεϊκού οξέος με τη δοκιμή Folin Ciocalteu.

Ο παρακάτω πίνακας (πιν. 20) δείχνει την περιεκτικότητα σε φαινολικά συστατικά όλων των δειγμάτων μετά τους υπολογισμούς:

Πίνακας 20. Περιεκτικότητα σε ολικά φαινολικά όλων των δειγμάτων με τη δοκιμή Folin Ciocalteu.

Δείγματα	Περιεκτικότητα σε φαινολικά συστατικά (mg/mL καφεϊκού οξέος)
H1	0,37±0,03
H2	
H3	
H4	1,20±0,07
H5	
H6	
Z1	0,44±0,07
Z2	
Z3	
Z4	0,89±0,28
Z5	
Z6	
E1	0,18±0,01
E2	
E3	
E4	0,44±0,10
E5	
E6	

Γενικότερα, από τις δοκιμές DPPH και Folin Ciocalteu συμπεραίνεται ότι τα φυτά που μελετήθηκαν σε αυτήν την εργασία είναι φυτά με σημαντική αντιοξειδωτική δράση και με μεγάλη περιεκτικότητα σε φαινολικά συστατικά.

Πιο συγκεκριμένα, και στις δύο δοκιμές τα αιθέρια έλαια εμφάνισαν μεγαλύτερη αντιοξειδωτική ικανότητα και περιεκτικότητα σε φαινολικά συστατικά σε σχέση με τα υδρομεθανολικά εκχυλίσματα. Η μέντα είχε την μεγαλύτερη αντιοξειδωτική δράση και περιεκτικότητα φαινολικών σε σύγκριση με τα άλλα δύο είδη στα αιθέρια έλαια, ενώ στα υδρομεθανολικά εκχυλίσματα παρατηρήθηκε παρόμοια εικόνα μεταξύ των αποτελεσμάτων, με το δυόσμο να εμφανίζει λίγο μεγαλύτερη αντιοξειδωτική δράση και περιεκτικότητα φαινολικών σε σύγκριση με τα άλλα είδη.

4. ΣΥΖΗΤΗΣΗ - ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

4.1 GC/MS

Μέσω της GC/MS ανάλυσης ταυτοποιήθηκαν πολλά πτητικά συστατικά. Αρκετά από αυτά ήταν αναμενόμενα, καθώς έχουν βρεθεί και σε σχετικές μελέτες στο γένος *mentha*, αλλά υπήρξαν και διαφορές με μελέτες άλλων επιστημόνων.

Οι διαφορές στην περιεκτικότητα και στη σύνθεση του αιθερίου ελαίου μπορούν να αποδοθούν σε παράγοντες που σχετίζονται με τον οικότυπο, τις φαινοφάσεις, τη θερμοκρασία, τη σχετική υγρασία, τη φωτοπερίοδο, την ακτινοβολία, το γονότυπο και τις αγρονομικές συνθήκες, όπως χρόνος συγκομιδής, φυτεία, πυκνότητα καλλιέργειας (Mejdi Snoussi et al. 2015). Επίσης, ο τρόπος παραλαβής των συστατικών διαδραματίζει κύριο παράγοντα για τις διαφορές αυτές (μέθοδος, διαλύτες κ.α).

Οι Mejdi Snoussi, Emira Noumi, Najla Trabelsi, Guido Flamini, Adele Papetti και Vincenzo De Feo (2015) αναφέρουν σε μελέτη τους η οποία επικεντρώθηκε στο είδος *mentha spicata*, ότι τα κύρια συστατικά ήταν: καρβόνη (40,8% ± 1,23%) και λιμονένιο (20,8% ± 1,12%), ακολουθούμενα από 1,8-κινεόλη (17,0% ± 0,60%), β-πινένιο (2,2% ± 0,25%), cis-διυδροκαρβόνη (1,9% ± 0,49%) και διυδροκαρβεόλη (1,7% ± 0,31%). Η απόδοση του αιθερίου ελαίου τυνησιακής ποικιλίας δυόσμου ήταν 1,1% και μπορεί να αποδοθεί στον χημειότυπο καρβόνη/λιμονένιο. Γενικά, υπάρχει μεγάλη διαφορά στους χημειότυπους που μπορεί να αναφερθούν για την μέντα. Σε προηγούμενες μελέτες, παρατηρήθηκε χημειότυπος πουλεγόνης, καρβόνης, λιναλοόλης, πιπεριτόνης, οξειδίου της πιπεριτόνης, μενθόνης/ισομενθόνης, πουλεγόνης/μενθόνης/ισομενθόνης και πουλεγόνης/πιπεριτόνης (Baser et al., 1999; Telci et al., 2004; Telci et al., 2010).

Οι Chraïbi Marwa, Kawtar Fikri-Benbrahim, Douae Ou-Yahia, και Abdellah Farah (2017) σε άλλη μελέτη με είδος υπό ανάλυση την μέντα (*mentha piperita*), ανέφεραν ότι τα κύρια συστατικά του αιθερίου ελαίου της ήταν η μενθόλη (46,32%), το μενθοφουράνιο (13,18%), ο οξικός μενθυλεστέρας (12,10%), η μενθόνη (7,42%) και η 1,8-κινεόλη (6,06%). Επιπλέον, αναφέρουν ότι υπάρχουν διαφορές με άλλες μελέτες καθώς, η ομαδική έρευνα των Laghouiter et al. (2015) βρήκε ότι η *mentha piperita* από τη Νότια Αλγερία αποτελείται από trans-καρβεόλη (58,98%), d-λιμονένιο (19,94%), καρβόνη (2,07%) και 4-τερπινεόλη (3,01%), αλλά και οι Yadegarinia et al. (2006) έδειξαν ότι το αιθέριο έλαιο της *mentha piperita* από το Ιράν παρουσίαζε σημαντικά διαφορετική χημική σύνθεση, αποτελούμενη από α-τερπινένιο (19,7%), ισομενθόνη (10,3%), trans-carveol (14,5%), οξείδιο πιπεριτενόνης (19,3%) και β-καρυοφυλλένιο (7,6%).

Οι A. Benabdallah, M. Boumendjel, O. Aissi, C. Rahmoune, M. Boussaid και C. Messaoud (2018) μελέτησαν άλλα είδη *mentha* όπως τα *mentha arvensis*, *mentha piperita*, *mentha*

rotundifolia, *mentha villosa*, *mentha aquatica*, καθώς και το *mentha pulegium* (φλισκούνι). Ανάμεσα σε αυτά, την μεγαλύτερη απόδοση σε αιθέριο έλαιο την είχε το φλισκούνι (1,8%), όπως και στο πείραμα αυτής της εργασίας (μικρότερη απόδοση συγκριτικά με αυτή του πειράματος της εργασίας) και η απόδοση γενικά είχε ποικιλία από είδος σε είδος. Συγκεκριμένα στο φλισκούνι εδώ, στα κύρια χαρακτηριστικά ανήκαν η πουλεγόνη (59,12%) και η νεομενθόλη (20,76%) και ακολούθησε η μενθόνη (6,59%), ενώ η ισομενθόνη (2,13%) και η τρανς-ισοπουλεγόνη (1,55%) καταγράφηκαν σε χαμηλότερες ποσότητες. Η απόδοση σε αιθέριο έλαιο στο φλισκούνι έχει αποδειχθεί να διαφέρει από περιοχή σε περιοχή σε σύγκριση με άλλες μελέτες. Η κυρίαρχη ουσία του όμως είναι η πουλεγόνη και σε αυτές τις μελέτες, αλλά διαφέρει το ποσοστό. Για παράδειγμα, στο φλισκούνι από Μαρόκο η πουλεγόνη ήταν από 33,65% έως 69,8% (Cherrat et al., 2014; Ait-Ouazzou et al., 2012), ενώ στο φλισκούνι από Αίγυπτο ήταν 43,5% (El-Ghorab, 2006). Τέλος, στην Ινδία έχει καταγραφεί και το μεγαλύτερο ποσοστό σε πουλεγόνη στο φλισκούνι, 85% έως 95% (Bhat et al., 2002).

Όπως καταλαβαίνουμε, η χημική σύσταση του αιθερίου ελαίου όπως και τα ποσοστά των ουσιών, μπορούν να είναι τελείως διαφορετικά, ιδιαίτερα αν διαφέρει η περιοχή καλλιέργειας και οι συνθήκες καλλιέργειας των φυτών, όπως και ο τρόπος παραλαβής των συστατικών.

4.2 HPLC

Με τη χρήση του HPLC ταυτοποιήθηκαν πολλές ουσίες στα είδη *mentha* που ανήκουν στα μη πτητικά συστατικά, δηλαδή οι φαινολικές ενώσεις. Οι βασικές ουσίες βρέθηκαν και σε άλλες μελέτες, όμως υπήρχαν κι εδώ διαφορές ανάμεσα σε άλλες μελέτες και σε αυτό το πείραμα.

Οι Sebai Essia et al. (2020) αναφέρουν σε μελέτη τους για το φλισκούνι (*mentha pulegium*) ότι εντόπισαν έξι βασικές και άφθονες φαινολικές ενώσεις: syringic acid, ferulic acid, trans hydroxycinnamic acid, isorhamnetin- 3-O-glucoside, kaempferol-3-O-rutinoside και cirsimaritin. Στη συγκεκριμένη εργασία τα δείγματα ήταν από υδρο-αιθανολικά εκχυλίσματα των εναέριων τμημάτων του φυτού και η επεξεργασία τους έγινε με HPLC-DAD (Reversed Phase HPLC).

Σε άλλη μελέτη, οι Amani Taamalli et al. (2015), παρασκεύασαν μεθανολικά εκχυλίσματα από τα ενάερια μέρη της μέντας (*mentha piperita*) και ταυτοποιήθηκαν τα φαινολικά με το RP-UHPLC-ESI-QTOF-MS. Πολλές ουσίες βρέθηκαν με κυριότερες τις: Salvianolic acid, Lithospermic acid, Narirutin, Syringetin, Catechin-4-ol-O-glycopyranoside, Hesperidin και Jaceidin.

Όσον αφορά το δυόσμο (*mentha spicata*), οι Martina Cirilini et al. (2016) αναφέρουν ότι παρασκεύασαν υδρο-αιθανολικά εκχυλίσματα δυόσμου και ότι ταυτοποίησαν τις φαινολικές ενώσεις αναλύοντάς τα με HPLC-DAD-ESI/MS. Οι κυριότερες από αυτές τις φαινολικές ενώσεις ήταν οι: Vicenin 2, Eriocitrin, Luteolin-7-O-rutinoside, Luteolin-7-O-glucoside, Narirutin, Apigenin-7-O-rutinoside, Salvianolic acid, Hesperidin, Kaempferol-7-O-glucuronide, Lithospermic acid, Medioresinol-O-glucuronide και Rosmarinic acid και τα παράγωγά του.

Όπως είναι προφανές από τα παραπάνω, κάθε είδος μπορεί να περιέχει διαφορετικά φαινολικά συστατικά σε κάθε μελέτη, όμως όπως είναι φυσικό υπάρχουν και κοινά σημεία. Πολλές από τις ουσίες που εντοπίστηκαν στις παραπάνω μελέτες εντοπίστηκαν και σε αυτό το πείραμα, όπως φάνηκε και από τα αποτελέσματα. Οι διαφορές πάντα θα υπάρχουν καθώς ο κάθε επιστήμονας έχει το δικό του τρόπο παραλαβής και ανάλυσης των συστατικών και ό,τι μέθοδο και να χρησιμοποιήσει, πραγματοποιεί και κάποιες τροποποιήσεις ανάλογα με το τί ακριβώς θα μελετηθεί. Είναι λογικό τα αποτελέσματα να μην είναι όμοια, αλλά παρόλα αυτά τα βασικά σημεία να εμφανίζονται. Τέλος, όπως και για τα πτητικά συστατικά, έτσι και για τα μη πτητικά, οι διαφορές πέρα από τον τρόπο παραλαβής, οφείλονται και στις συνθήκες και τον τόπο καλλιέργειας των φυτών.

Γενικά, οι φαινολικές ενώσεις θεωρούνται πολύ οφέλιμες για τον άνθρωπο, καθώς έχουν πολλές ιδιότητες όπως αντιβακτηριακές, αντοφλεγμονώδεις, ανοσοτροποποιητικές, αντιοξειδωτικές, αντικρκικές κ.α. Τα είδη *mentha piperita*, *mentha spicata* και *mentha pulegium* περιέχουν όπως αποδεικνύεται συνεχώς πολλά φαινολικά συστατικά, κάτι που τα καθιστά πολύ χρήσιμα για την υγεία του ανθρώπου, και γι'αυτό πολλές ουσίες που περιέχουν χρησιμοποιούνται σε φαρμακευτικά προϊόντα.

4.3 FTIR

Εκχυλίσματα *mentha* με διαλύτη

Οι Subrata Das , Arunava Das , R. Thamarai Selvan , S. Ananda Raj και Bindhu J (2020), ταυτοποίησαν τις χημικές ενώσεις - λειτουργικές ομάδες (εικ. 36) που εμφανίστηκαν σε φάσμα FTIR αιθανολικού εκχυλίσματος μέντας (*mentha piperita*):

Table 1. Analysis of FTIR Spectra.

BOND	FREQUENCY RANGE	TYPE OF COMPOUND	INTENSITY
O-H	3354.80	Hydrogen bonded alcohol, phenols	Variable, sometimes broad
C-H	2975.36	Alkanes	Strong
C-H	2926.64	Alkanes	Strong
C=C	1647.06	Alkenes	Variable
C-H	1451.92	Alkanes	Strong
C-H	1383.39 1271.96	Alkanes	Strong
C-O	1084.66	Alcohol, ethers, carboxylic acid, ester	Strong
C-O	1044.03	Alcohol, ethers, carboxylic acid, ester	Strong
C-H	878.15	Alkenes	Strong

Εικόνα 36. Λειτουργικές ομάδες αιθανολικού εκχυλίσματος μέντας (Subrata Das et al., 2020).

Το φάσμα FTIR του *mentha piperita* επιβεβαιώνει την παρουσία λειτουργικών ομάδων, φαινολικές ουσίες (OH) και φλαβονοειδή (CO), οι οποίες είναι γνωστές για την αντιοξειδωτική τους δράση. Από την ανάλυση των φασμάτων IR προκύπτει ότι υπάρχουν διαφορετικές λειτουργικές ομάδες στη μέντα όπως αλκοόλη με δεσμούς υδρογόνου, φαινόλες, αλκάνια, αλκένια, αλκοόλη, αιθέρες, καρβοξυλικό οξύ και εστέρας. Συγκεκριμένα, το φάσμα παραπάνω δείχνει κύρια κορυφή στα 3354.805 cm⁻¹ και οι άλλες κορυφές είναι στα 2975.36, 2926.64, 1647.06, 1451.92, 1383.39, 1271.96, 1084.66, 1081 και 1047 cm⁻¹. Η κορυφή 3354.805 cm⁻¹ αντιστοιχεί στην αλκοόλη δεσμευμένη με υδρογόνο και σε φαινόλες. Η ζώνη στα 2975,36, 2926,64, 1451,92, 1383,39 και 1271,96 cm⁻¹ αντιστοιχεί σε δόνηση C-H των αλκανίων. Η ζώνη στα 1647,06 cm⁻¹ αντιστοιχεί σε δόνηση C=C. Η ζώνη στα 1084,66, 1044,03 cm⁻¹ θα μπορούσε να σχετίζεται με τη δόνηση C-O της αλκοόλης, των αιθέρων, του καρβοξυλικού οξέος και του εστέρα. Οι ζώνες στα 878,15 cm⁻¹ αντιστοιχούν σε δεσμούς C-H αλκενίων (Subrata Das et al., 2020).

Οι P. K. Jain, Anjali Soni, Preeti Jain και Jeetendra Bhawsar (2016) παρέλαβαν ένα FTIR φάσμα από μεθανολικό εκχύλισμα δυόσμου (*mentha spicata*) και ταυτοποίησαν τις λειτουργικές ομάδες (εικ. 37) που προέκυψαν, οι οποίες φαίνονται παρακάτω:

Table 2: Structural features of the *M. spicata* extract by FTIR spectrum

Wave numbers (cm ⁻¹)	Assignments
3349.81 cm ⁻¹	-OH stretch
2927.23 cm ⁻¹	C-H stretch
1633.44 cm ⁻¹	Alkene C=C
1537.09 cm ⁻¹	C=C stretching
1384.66 cm ⁻¹	C-H bending
1253.97 cm ⁻¹	C-O stretch
1054.89 cm ⁻¹	C-O stretch
599.76 cm ⁻¹	aromatic ring

Εικόνα 37. Λειτουργικές ομάδες αιθανολικού εκχυλίσματος δυόσμου (P. K. Jain et al., 2016).

Στο φάσμα FTIR του φυτικού εκχυλίσματος *mentha spicata*, η απορρόφηση στα 3349,81 cm⁻¹ οφείλεται στην ταλάντωση των υδροξυλομάδων που υπάρχουν στο εκχύλισμα. Η ζώνη στα 2927,23 cm⁻¹ οφείλεται στη συμμετρική ταλάντωση του κορεσμένου (sp³) άνθρακα. Η κορυφή στα 1633,44 cm⁻¹ αποδίδεται στον τρόπο κάμψης του απορροφούμενου νερού, καθώς τα φυτικά εκχυλίσματα είναι γνωστό ότι έχουν ισχυρή συγγένεια με το νερό. Η ζώνη στα 1537,09 cm⁻¹ οφείλεται σε δόνηση C=C που σχετίζεται με τον αρωματικό σκελετό των εκχυλισμάτων. Η ζώνη απορρόφησης της δόνησης στα 1384,66 cm⁻¹ αποδόθηκε στην ταλάντωση της ομάδας μεθυλίου. Μια αξιοσημείωτη ζώνη στα 1253,97 και 1054,89 cm⁻¹ μπορεί να αντιστοιχιστεί στις διατάξεις C-O. Μια κορυφή στα 599,76 cm⁻¹ αντιπροσωπεύει το αρωματικό H εκτός επιπέδου κάμψης (P. K. Jain et al., 2016).

Οι Kamila Kucharska-Ambrożej, Agnieszka Martyna, Joanna Karpińska, Anna Kiełtyka-Dadasiewicz και Aleksandra Kubat-Sikorska (2021) μελέτησαν πολλά είδη *mentha*, μέσα στα οποία βρισκόντουσαν και η μέντα και ο δυόσμος και το φλισκούνι. Παρασκεύασαν εκχυλίσματα χρησιμοποιώντας ως διαλύτη το εξάνιο και με τη βοήθεια του FTIR φάσματος, ταυτοποίησαν στα είδη *mentha* τις παρακάτω χαρακτηριστικές ομάδες (εικ. 38):

Wavenumber [cm ⁻¹]	Type of vibration	Functional groups or compounds
670	deformation (γ) not in plain CAr-H	benzene-H
	deformation (γ) O-H not in plain	liquid alcohols or phenols
	deformation (γ) = C-A not in plain	cykloallenes polienes
1071	stretching (ν) C-O	saturated esters alcohols and phenols
	skeletal (ν) C-C	cycloalkanes
	stretching (ν) C-O-C	acid anhydrides
1247	stretching (ν) C-O	saturated esters - acetates dimers alcohols and phenols
	stretching (ν) C-C	alkanes
	deformation (γ) not in plain = C-H	lactones
	stretching (ν) -COO-	salts of symmetrical acids
1413	deformation (δ) C-H	ketones lactones
	stretching (ν) -COO-	aromatic acids salts
1597	stretching (ν) C=O	β-diketones (enolic forms)

1734	stretching (ν) C=O	formates α, β -unsaturated acids esters aromatic acids esters α -ketoesters β -ketoetry aromatic acids chlorides non-cyclic α, β -unsaturated anhydrides saturated aldehydes γ -diketones α -halogen acids non-cyclic α -halogen ketones
2850 i 2915	stretching (ν) C-H	-CH2-
3300	stretching (ν) O-H	free -OH group associated -OH group

Εικόνα 38. Λειτουργικές ομάδες των ειδών *mentha* σε εκχυλίσματα με εξάνιο (Kamila Kucharska-Ambrożej et al., 2021).

Αιθέρια έλαια *mentha*

Οι Osman Taylan, Nur Cebi και Osman Sagdic (2021) μελέτησαν τα αιθέρια έλαια από μέντα (*mentha piperita*) και δυόσμο (*mentha spicata*) χρησιμοποιώντας το FTIR. Από το φάσμα που προέκυψε, ταυτοποιήθηκαν οι παρακάτω λειτουργικές ομάδες (εικ. 39):

Table 1. Assignment of FTIR spectral bands for essential oils [13,16,18–20]. ν —stretching vibrations, δ —deformation vibrations, s—symmetric, as—asymmetric.

IR (cm^{-1})	Assignment
3470	OH
3416	-C = O (overtone) and ν (=C-H, trans-) or ν (-OH)
3100–3000	C-H (Alkene)
3150–3050	C-H (aromatic)
2923, 2875	$\nu_{\text{as}}(-\text{C}-\text{H}, -\text{CH}_2)$ and $\nu_{\text{s}}(-\text{C}-\text{H}, -\text{CH})$
2950	$\nu_{\text{as}}(-\text{C}-\text{H}, -\text{CH}_3, -\text{CH}_2)$
1708	ν (-C = O) in acid
1737	ν (-C = O) in ester
1708	ν (-C = O) in acid
1648	ν (-C=C-, cis-) and δ (-OH)
1573	Aromatic ring C = C skeleton
1450 cm	CH ₂ deformation and asymmetrical CH ₃ deformation
1420	C=CH ₂ in-plane deformation vibration
1372/1337	(-C-H, -CH ₃), banding
1285/1244	ν (-C-O) or δ (-CH ₂ -)
1124	C-O stretching
1116	ν (-C-O) or δ (-CH ₂ -)
1094	ν (-C-O)
1044/1023	ν (-C-O)
991/923	δ (-HC=CH-, trans-) bending out of plane
810	C-H out-of-plane bending
805	δ (-HC=CH-, cis-) bending out of plane δ (-(CH ₂)n-
770	δ (-(CH ₂)n- and -HC=CH- (cis-) bending (rocking)
685	Alkenes

Εικόνα 39. Λειτουργικές ομάδες σε αιθέρια έλαια μέντας και δυόσμου (Osman Taylan et al., 2021).

Οι Osman Taylan et al. (2021), εξηγούν ότι τα δύο είδη έδειξαν παρόμοια φασματικά χαρακτηριστικά. Αναφέρουν ότι σημαντικές φασματικές ζώνες παρατηρήθηκαν στα 2953, 2921, 2870, 1709, 1454, 1369, 1246, 1045, 993, 976, 919, 887 και 844 cm^{-1} . Προηγούμενες μελέτες ανέφεραν ότι οι φασματικές περιοχές από 3100 έως 3000 cm^{-1} και 3150 έως 3050 cm^{-1} περιλαμβάνουν δονήσεις που προκύπτουν από τις δονήσεις ταλάντωσης των ομάδων C–H. Η ζώνη στα 2953 cm^{-1} αντιστοιχεί στις ασύμμετρες δονήσεις ταλάντωσης των ομάδων –C–H, –CH₃ και –CH₂. Η κορυφή στα 2921 cm^{-1} και 2870 cm^{-1} θα μπορούσε να αποδοθεί στις ασύμμετρες δονήσεις ταλάντωσης –C–H, –CH₂ και –C–H, –CH, αντίστοιχα. Η ζώνη στα 1709 cm^{-1} οφείλεται στους κραδασμούς ταλάντωσης –C = O. Η ζώνη δόνησης στα 1454 cm^{-1} θα μπορούσε να αποδοθεί σε δονήσεις παραμόρφωσης των ομάδων CH₂ και CH₃. Η κορυφή στα 1369 cm^{-1} αντιστοιχεί στις δονήσεις των ομάδων –C–H και –CH₃. Η φασματική ζώνη στα 1246 cm^{-1} και 1045 cm^{-1} μπορεί να αποδοθεί στις δονήσεις ταλάντωσης –C–O ή στις δονήσεις παραμόρφωσης –CH₂- και στις δονήσεις ταλάντωσης –C–O, αντίστοιχα. Οι κορυφές στα 993 cm^{-1} και 887 cm^{-1} θα μπορούσαν να αποδοθούν στους κραδασμούς κάμψης (–HC = CH–, trans-).

Υδατικό εκχύλισμα *mentha pulegium*

Οι Humaira Rizwana και Mona S. Alwhibi (2021), μελέτησαν ένα υδατικό εκχύλισμα από φύλλα φλισκουριού (*mentha pulegium*) με τη χρήση του FTIR. Οι συγκεκριμένοι μελετητές σχολιάζουν πως το φάσμα FTIR του εκχυλίσματος φύλλων του *mentha pulegium* έδειξε μια ισχυρή ευρεία κορυφή στα 3.404 cm^{-1} . Αυτή η κορυφή θα μπορούσε να συσχετιστεί με τις δονήσεις τάσης του OH των φαινολών και των αλκοολών. Οι κορυφές που παρατηρήθηκαν στα 2.933, 1.606 και 1.521 cm^{-1} υποδηλώνουν την ταλάντωση CH των αλκανίων και τη συμμετρική κάμψη –NH₂ των αμινοξέων. Οι κορυφές στα 1.408, 1.265 και 1.067 cm^{-1} υποδηλώνουν την παρουσία αρωματικών ενώσεων (έκταση C–C) και συμμετρικών και ασύμμετρων τεντωμάτων C–O–C.

Όπως είναι κατανοητό από τις παραπάνω μελέτες, η ερμηνεία των ζωνών απορρόφησης στους συγκεκριμένους κυματαριθμούς είναι παρόμοια μεταξύ τους, καθώς και με την ερμηνεία αυτού του πειράματος, με ίσως κάποιες μικρές αποκλίσεις στους κυματαριθμούς.

4.4 DPPH και FOLIN CIOCALTEU

Τα είδη *mentha* θεωρούνται φυτά με μεγάλη αντιοξειδωτική ικανότητα, καθώς και με μεγάλη περιεκτικότητα σε φαινολικά συστατικά. Οι φαινολικές ενώσεις είναι βιοδραστικές και αυτό τις καθιστά πολύ σημαντικές για την υγεία του ανθρώπου, καθώς εμποδίζουν και μειώνουν τις αρνητικές συνέπειες που μπορεί να προκαλέσει το οξειδωτικό στρες στο DNA.

Η αντιοξειδωτική ικανότητα στα αιθέρια έλαια μπορεί να οφείλεται κυρίως στα οξυγονωμένα μονοτερπένια όπως η μενθόλη, η 1,8-κινεόλη και η πουλεγόνη και άλλα, που είναι κάποια από τα κύρια συστατικά στα αιθέρια έλαιά μας. Όμως, σε πολλές περιπτώσεις έχει παρατηρηθεί να οφείλεται η αντιοξειδωτική δράση στα πολλά και δευτερεύοντα συστατικά, αφού μπορεί και να υπάρχει απουσία κύριων συστατικών. Επίσης, η αντιοξειδωτική ικανότητα μπορεί να αποδοθεί και στη δράση συνεργασίας που φαίνεται να έχουν τα κυριότερα συστατικά με τα πιο δευτερεύοντα, με αποτέλεσμα να δημιουργούν μία ισχυρότερη αντιοξειδωτική δράση.

Οι A. Benabdallah et al. (2018), που αναφέρθηκαν και πρωτότερα, σημειώνουν ότι τα αιθέρια έλαια των ειδών *mentha* που μελέτησαν με τη δοκιμή DPPH, ανάμεσά τους η μέντα και το φλισκούνι, παρουσίασαν σημαντική αντιοξειδωτική ικανότητα. Το φλισκούνι όμως είχε πολύ πιο έντονη αντιοξειδωτική δράση σε σχέση με την μέντα, που η δράση της φάνηκε αρκετά πιο μειωμένη.

Οι Sebai Essia et. al (2020), αναφέρουν ότι το υδρο-αιθανολικό εκχύλισμα του *mentha pulegium* είχε ισχυρή αντιοξειδωτική δράση (δοκιμή DPPH) και το αποδίδουν στις ουσίες syringic acid και Kaempferol-3-O-rutinosie, οι οποίες είναι από τις βασικές ουσίες στο εκχύλισμα του φλισκουνιού.

Οι Sanja Čavar Zeljković, Jana Šišková, Karolína Komzáková, Nuria De Diego, Katarína Kaffková και Petr Tarkowski (2021), μελέτησαν τα αιθέρια έλαια και τα μεθανολικά εκχυλίσματα διάφορων ειδών *mentha*, μέσα στα οποία ήταν και η μέντα, ο δυόσμος και το φλισκούνι. Τα μεθανολικά εκχυλίσματα έδειξαν ότι η μέντα και ο δυόσμος είναι πλούσια σε φαινολικά συστατικά (με τη δοκιμή Folin Ciocalteu), όπως και ότι το φλισκούνι παρουσίασε επίσης μεγάλη περιεκτικότητα. Έτσι, η αντιοξειδωτική τους δράση (με τη δοκιμή DPPH) αποδείχτηκε ισχυρή λόγω αυτών των συστατικών. Συγκεκριμένα, στα μεθανολικά εκχυλίσματα μεγαλύτερη αντιοξειδωτική ικανότητα είχε ο δυόσμος, μετά ακολούθησε η μέντα και τέλος το φλισκούνι. Παρόλα αυτά, η αντιοξειδωτική δράση των αιθερίων ελαίων αυτών των ειδών φάνηκε περισσότερο αδύναμη. Ιδιαίτερα το έλαιο της μέντας είχε πολύ μικρή αντιοξειδωτική ικανότητα, το φλισκούνι παρουσίασε επίσης μικρή ικανότητα αλλά μεγαλύτερη από αυτή της μέντας, και τέλος ο δυόσμος είχε την μεγαλύτερη αντιοξειδωτική δράση, αρκετά μικρότερη όμως από αυτήν των μεθανολικών εκχυλισμάτων.

Οι Amina Benabdallah, Chaabane Rahmoune, Mahieddine Boumendje, Oumayma Aissi και Chokri Messaoud (2016), μελέτησαν είδη *mentha* όπως η μέντα, το φλισκούνι και άλλα. Παρασκευάζοντας μεθανολικά εκχυλίσματα των φυτών, μελέτησαν με τη δοκιμή Folin Ciocalteu την παρουσία των φαινολικών συστατικών και με τη δοκιμή DPPH την αντιοξειδωτική δράση. Παρατηρήθηκε σημαντική περιεκτικότητα φαινολικών στα είδη *mentha* και ανάμεσα στην μέντα και το φλισκούνι, η μέντα παρουσίασε μεγαλύτερη

περιεκτικότητα φαινολικών. Επίσης, πιο αποτελεσματική όσον αφορά την αντιοξειδωτική δράση, αποδείχτηκε η μέντα, ενώ το φλισκούνη ήταν από τα λιγότερο αποτελεσματικά.

Οι Fatma Abd El-Lateef Gharib και Jaime A. Teixeira da Silva (2013), μελέτησαν την αντιοξειδωτική δράση (DPPH) και την περικετικότητα σε φαινολικά συστατικά (Folin Ciocalteu) στα αιθέρια έλαια της μέντας και του δυόσμου. Την καλύτερη αντιοξειδωτική δράση παρουσίασε η μέντα (με τιμή IC_{50}), ενώ ο δυόσμος είχε λίγο χαμηλότερη. Αντίστοιχα για τα φαινολικά συστατικά, η μέντα παρουσίασε μεγαλύτερη περιεκτικότητα, ενώ ο δυόσμος μικρότερη. Πάντως, και τα δύο είδη έδειξαν σημαντική αντιοξειδωτική δράση, καθώς και σημαντική περιεκτικότητα φαινολικών.

Κάθε φυτό ανάλογα τον τόπο και τρόπο καλλιέργειας, όπως και τον τρόπο παραλάβης των συστατικών και διεκπεραίωσης των μεθόδων, έχει και διαφορετικά αποτελέσματα στο νούμερο των συστατικών τους αλλά και στο ποσοστό αυτών. Από αυτά εξαρτάται και η αντιοξειδωτική δράση τους όπως και η περιεκτικότητα σε φαινολικά συστατικά. Γι' αυτό, δεν είναι αναμενόμενο να εντοπίζονται ίδια αποτελέσματα, όμως είναι λογικό και αναμενόμενο να υπάρχει μία συμφωνία σε ένα εύρος τιμών. Παρόλα αυτά, είναι πιθανό ένας μελετητής να εντοπίσει ένα τελείως διαφορετικό στοιχείο που να μη συμπίπτει με τη βιβλιογραφία, προσθέτοντας έτσι μία καινούρια πληροφορία.

Εν κατακλείδι, σύμφωνα με όλα τα παραπάνω αλλά και με τα αποτελέσματα αυτής της εργασίας, τα τρία είδη *mentha* που μελετήθηκαν και γενικά τα είδη *mentha*, φαίνεται να είναι φυτά με ισχυρή αντιοξειδωτική ικανότητα και μεγάλη περιεκτικότητα σε φαινολικά συστατικά.

5. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Abidi, S.L. High-performance liquid chromatography of phosphatidic acids and related polar lipids. *J. Chromatogr.* 1991; 587: 193-203.
- Ait-Ouazzou, A., Loran, S., Arakrak, A., Laglaoui, A., Rota, C., Herrera, A., Pagan, R., Conchello, P., 2012. Evaluation of the chemical composition and antimicrobial activity of *Mentha pulegium*, *Juniperus phoenicea*, and *Cyperus longus* essential oils from Morocco. *Food Research International* 45:313–319. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2011.09.004>.
- Al-Okbi, S. Y., Fadel, H. H., & Mohamed, D. A. (2015). Phytochemical constituents, antioxidant and anticancer activity of *Mentha citrata* and *Mentha longifolia*. *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences*, 6(1), 739-751.
- Amato, A., Liotta, R., & Mulè, F. (2014). Effects of menthol on circular smooth muscle of human colon: analysis of the mechanism of action. *European journal of pharmacology*, 740, 295-301.
- Anwar, F., Abbas, A., Mehmood, T., Gilani, A. H., & Rehman, N. U. (2019). *Mentha*: A genus rich in vital nutra-pharmaceuticals—A review. *Phytotherapy Research*, 33(10), 2548-2570.
- Anwar, F., Muhammad, G., Hussain, M. A., Zengin, G., Alkharfy, K. M., Ashraf, M., & Gilani, A. H. (2016). *Capparis spinosa* L.: A plant with high potential for development of functional foods and nutraceuticals/pharmaceuticals. *International Journal of Pharmacology*, 12(3), 201-219.
- Balasubramanian, A., Ramalingam, K., Krishnan, S., & Christina, A. J. M. (2005). Anti-inflammatory activity of *Morus indica* Linn.
- Barbalho, S. M., Machado, F. M. V. F., Oshiiwa, M., Abreu, M., Guiger, E. L., Tomazela, P., & Goulart, R. A. (2011). Investigation of the effects of peppermint (*Mentha piperita*) on the biochemical and anthropometric profile of university students. *Food Science and Technology*, 31, 584-588.
- Bardaweel, S. K., Bakchiche, B., ALSalamat, H. A., Rezzoug, M., Gherib, A., & Flamini, G. (2018). Chemical composition, antioxidant, antimicrobial and Antiproliferative activities of essential oil of *Mentha spicata* L.(Lamiaceae) from Algerian Saharan atlas. *BMC complementary and alternative medicine*, 18(1), 1-7.
- Baser, K.H.C.; Kürkçüoğlu, M.; Tarımcılar, G.; Kaynak, G. Essential Oils of *Mentha* species from Northern Turkey. *J. Essent. Oil Res.* 1999, 11, 579–588.
- Becker, E. M., Nissen, L. R., & Skibsted, L. H. (2004). Antioxidant evaluation protocols: Food quality or health effects. *European Food Research and Technology*, 219(6), 561-571.
- Benabdallah, A.; Boumendjel, M.; Aissi, O.; Rahmoune, C.; Boussaid, M.; Messaoud, C. (2018). *Chemical composition, antioxidant activity and acetylcholinesterase inhibitory of wild*

- Mentha species from northeastern Algeria. South African Journal of Botany, 116()*, 131–139. doi:10.1016/j.sajb.2018.03.002.
- Benabdallah, A., Rahmoune, C., Boumendjel, M., Aissi, O., & Messaoud, C. (2016). Total phenolic content and antioxidant activity of six wild *Mentha* species (Lamiaceae) from northeast of Algeria. *Asian Pacific journal of tropical biomedicine*, 6(9), 760-766.
- Benedec, D., Vlase, L., Oniga, I., Mot, A. C., Silaghi-Dumitrescu, R. A. D. U., Hanganu, D., ... & Crişan, G. I. A. N. I. N. A. (2013). LC-MS analysis and antioxidant activity of phenolic compounds from two indigenous species of *Mentha*. Note I. *Farmacia*, 61(2), 262-267.
- Bhat, S., Maheshwari, P., Kumar, S., Kumar, A., 2002. *Mentha* species: in vitro regeneration and genetic transformation. *Molecular Biology Today* 3, 11–23.
- Bimakr, M., Rahman, R. A., Taip, F. S., Ganjloo, A., Salleh, L. M., Selamat, J., ... & Zaidul, I. S. M. (2011). Comparison of different extraction methods for the extraction of major bioactive flavonoid compounds from spearmint (*Mentha spicata* L.) leaves. *Food and bioproducts processing*, 89(1), 67-72.
- Brickell, Christopher; Cole, Trevor (2002). *The American Horticultural Society: Encyclopedia of Plants & Flowers*. New York, NY: DK Publishing. p. 605. ISBN 978-0-7894-8993-7.
- Brickell, Christopher; Zuk, Judith D. (1997). *The American Horticultural Society: A-Z Encyclopedia of Garden Plants*. New York, NY: DK Publishing. p. 668. ISBN 978-0-7894-1943-9.
- Cancer*. (2022). Ανάκτηση από World Health Organization: https://www.who.int/health-topics/cancer#tab=tab_1
- Ćavar Zeljković, S., Šišková, J., Komzáková, K., De Diego, N., Kaffková, K., & Tarkowski, P. (2021). Phenolic Compounds and Biological Activity of Selected *Mentha* Species. *Plants (Basel, Switzerland)*, 10(3), 550. <https://doi.org/10.3390/plants10030550>.
- Ceylan, R., Zengin, G., Uysal, S., Ilhan, V., Aktumsek, A., Kandemir, A., & Anwar, F. (2016). GC-MS analysis and in vitro antioxidant and enzyme inhibitory activities of essential oil from aerial parts of endemic *Thymus spathulifolius* Hausskn. et Velen. *Journal of enzyme inhibition and medicinal chemistry*, 31(6), 983-990.
- Cherrat, L., Espina, L., Bakkali, M., Pagan, R., Laglaoui, A., 2014. Chemical composition, antioxidant and antimicrobial properties of *Mentha pulegium*: *Lavandula stoechas* and *Satureja calamintha* Scheele essential oils and an evaluation of their bactericidal effect in combined processes. *Innovative*.
- Clurman, B. E., & Roberts, J. M. (1995). Cell cycle and cancer. *JNCI: Journal of the National Cancer Institute*, 87(20), 1499-1501.

- Daneshbakhsh, D., Asgarpanah, J., Najafzadeh, P., Rastegar, T., & Mousavi, Z. (2018). Safety assessment of *Mentha mozaffarianii* essential oil: Acute and repeated toxicity studies. *Iranian Journal of Medical Sciences*, 43(5), 479.
- Das, Subrata; Das, Arunava; Thamarai Selvan, R.; Raj, S. Ananda; J, Bindhu (2020). *The antibacterial and aroma finishing of cotton fabrics by mentha pipertia extract. The Journal of The Textile Institute*, (), 1–10. doi:10.1080/00405000.2020.1805194.
- Derwich, E., Benziane, Z., Boukir, A., & Benaabidate, L. (2009). GC-MS analysis of the leaf essential oil of *Mentha rotundifolia*, a traditional herbal medicine in Morocco. *Chem. Bul. "Politehnica" Univ. Timisoara*, 54, 85-88.
- Dhifi, W., Jelali, N., Mnif, W., Litaïem, M., & Hamdi, N. (2013). Chemical composition of the essential oil of *Mentha spicata* L. from Tunisia and its biological activities. *Journal of Food Biochemistry*, 37(3), 362-368.
- Doll, R., & Peto, R. (1981). The causes of cancer: quantitative estimates of avoidable risks of cancer in the United States today. *JNCI: Journal of the National Cancer Institute*, 66(6), 1192-1308.
- Dorman, H. D., Koşar, M., Kahlos, K., Holm, Y., & Hiltunen, R. (2003). Antioxidant properties and composition of aqueous extracts from *Mentha* species, hybrids, varieties, and cultivars. *Journal of agricultural and food chemistry*, 51(16), 4563-4569.
- El-Ghorab, A.H., 2006. The chemical composition of *Mentha pulegium* L. essential oil from Egypt and its antioxidant activity. *Journal of Essential Oil Bearing Plants* 9:183–195. <https://doi.org/10.1080/0972060X.2006.10643491>.
- Elansary, H. O., Szopa, A., Kubica, P., Ekiert, H., Klimek-Szczykutowicz, M., El-Ansary, D. O., & Mahmoud, E. A. (2020). Polyphenol profile and antimicrobial and cytotoxic activities of natural *Mentha* × *piperita* and *Mentha longifolia* populations in Northern Saudi Arabia. *Processes*, 8(4), 479.
- Emmanuel Mfotie Njoya, Chapter 31 - Medicinal plants, antioxidant potential, and cancer, Editor(s): Victor R. Preedy, Vinood B. Patel, *Cancer (Second Edition)*, Academic Press, 2021, Pages 349-357, ISBN 9780128195475, <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-819547-5.00031-6>. (<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780128195475000316>)
- Fabricant, D. S., & Farnsworth, N. R. (2001). The value of plants used in traditional medicine for drug discovery. *Environmental health perspectives*, 109(suppl 1), 69-75.
- Fatiha, B., Didier, H., Naima, G., Khodir, M., Martin, K., Léocadie, K., ... & Pierre, D. (2015). Phenolic composition, in vitro antioxidant effects and tyrosinase inhibitory activity of three Algerian *Mentha* species: *M. spicata* (L.), *M. pulegium* (L.) and *M. rotundifolia* (L.) Huds (Lamiaceae). *Industrial crops and products*, 74, 722-730.
- Fancello, F., Zara, S., Petretto, G. L., Chessa, M., Addis, R., Rourke, J. P., & Pintore, G. (2017). Essential oils from three species of *Mentha* harvested in Sardinia: Chemical

characterization and evaluation of their biological activity. *International journal of food properties*, 20(sup2), 1751-1761.

-Fouché, G., Cragg, G. M., Pillay, P., Kolesnikova, N., Maharaj, V. J., & Senabe, J. (2008). In vitro anticancer screening of South African plants. *Journal of ethnopharmacology*, 119(3), 455-461.

-Fridlender, M., Kapulnik, Y., & Koltai, H. (2015). Plant derived substances with anti-cancer activity: from folklore to practice. *Frontiers in plant science*, 6, 799.

-Gharib, Fatma Abd El-Lateef. "Composition, Total Phenolic Content and Antioxidant Activity of the Essential Oil of Four Lamiaceae Herbs," n.d., 9.

-Golparvar, A. R., Hadipanah, A., Gheisari, M. M., Salehi, S., Khaliliazar, R., & Ghasemi, O. (2017). Comparative analysis of chemical composition of *Mentha longifolia* (L.) Huds. *Journal of Medicinal Herbs*, 7(4), 235-241.

- Goudjil, M. B., Ladjel, S., Bencheikh, S. E., Zighmi, S., & Hamada, D. (2015). Chemical composition, antibacterial and antioxidant activities of the essential oil extracted from the *Mentha piperita* of southern Algeria. *Research Journal of Phytochemistry*, 9(2), 79-87.

-Gracindo, L. A. M. B., Grisi, M. C. M., Silva, D. B., Alves, R. B. N., Bizzo, H. R., & Vieira, R. F. (2006). Chemical characterization of mint (*Mentha spp.*) germplasm at Federal District, Brazil. *Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia-Artigo em periódico indexado (ALICE)*.

-Greenwell, M., & Rahman, P. K. S. M. (2015). Medicinal plants: their use in anticancer treatment. *International journal of pharmaceutical sciences and research*, 6(10), 4103.

-Grigoleit, H. G., & Grigoleit, P. (2005). Pharmacology and preclinical pharmacokinetics of peppermint oil. *Phytomedicine*, 12(8), 612-616.

-Gull, T., Anwar, F., Sultana, B., Alcaide, M. A. C., & Nouman, W. (2015). Capparis species: A potential source of bioactives and high-value components: A review. *Industrial Crops and Products*, 67, 81-96.

-Hussain, A. I., Anwar, F., Shahid, M., Ashraf, M., & Przybylski, R. (2010). Chemical composition, and antioxidant and antimicrobial activities of essential oil of spearmint (*Mentha spicata* L.) from Pakistan. *Journal of Essential Oil Research*, 22(1), 78-84.

-Jain, P., Anjali Soni, Preeti Jain, and Jeetendra Bhawsar. "Phytochemical Analysis of *Mentha Spicata* Plant Extract Using UV-VIS, FTIR and GC/MS Technique." *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research* 2016 (February 29, 2016): 1–6.

-Kee, L. A., Shori, A. B., & Baba, A. S. (2017). Bioactivity and health effects of *Mentha spicata*. *Food Nutr Metab*, 5(1), 1-2.

-Koşar, M., Dorman, H. D., Can Başer, K. H., & Hiltunen, R. (2004). Screening of free radical scavenging compounds in water extracts of *Mentha* samples using a postcolumn derivatization method. *Journal of agricultural and food chemistry*, 52(16), 5004-5010.

- Kubeczka, K. H. (2020). History and sources of essential oil research. In *Handbook of essential oils* (pp. 3-39). CRC Press.
- Kucharska-Ambrozej, Kamila, Agnieszka Martyna, Joanna Karpińska, Anna Kiełtyka-Dadasiewicz, and Aleksandra Kubat-Sikorska. "Quality Control of Mint Species Based on UV-VIS and FTIR Spectral Data Supported by Chemometric Tools." *Food Control* 129 (2021): 108228. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2021.108228>.
- Kumar, A., & Chattopadhyay, S. (2007). DNA damage protecting activity and antioxidant potential of pudina extract. *Food Chemistry*, 100(4), 1377-1384.
- Laghouiter OK, Gherib A, Laghouiter H. Study of the antioxidant activity of essential oils from some cultivated mints in the region of Ghardaïa. *El Wahat Review for Research and Studies*. 2015;1:84–93.
- Lawrence, B. M. (2006). *Mint: the genus Mentha*. CRC Press.
- Li, Y., Liu, Y., Ma, A., Bao, Y., Wang, M., & Sun, Z. (2017). In vitro antiviral, anti-inflammatory, and antioxidant activities of the ethanol extract of *Mentha piperita* L. *Food science and biotechnology*, 26(6), 1675-1683.
- Liu, B., Fan, L., Balakrishna, S., Sui, A., Morris, J. B., & Jordt, S. E. (2013). TRPM8 is the principal mediator of menthol-induced analgesia of acute and inflammatory pain. *Pain®*, 154(10), 2169-2177.
- Liu Y., Lee M.L. Ultrahigh pressure liquid chromatography using elevated temperature. *Journal of Chromatography*. 2006; 1104 (1-2): 198–202.
- Maffei, M., & Codignola, A. (1990). Photosynthesis, photorespiration and herbicide effect on terpene production in peppermint (*Mentha piperita* L.). *Journal of Essential Oil Research*, 2(6), 275-286.
- Mahboubi, M. (2021). *Mentha spicata* L. essential oil, phytochemistry and its effectiveness in flatulence. *Journal of Traditional and Complementary Medicine*, 11(2), 75-81.
- Malta, L. G., & Liu, R. H. (2014). *Analyses of Total Phenolics, Total Flavonoids, and Total Antioxidant Activities in Foods and Dietary Supplements*. *Encyclopedia of Agriculture and Food Systems*, 305–314. doi:10.1016/b978-0-444-52512-3.00058-9.
- Malviya Rishabha, Vvipin Bansal, Om Pal, and Pramod Sharma. "High Performance Liquid Chromatography: A Short Review." *Journal of Global Pharma Technology* 2 (June 9, 2010): 22–26.
- Manson, M. M. (2003). Cancer prevention—the potential for diet to modulate molecular signalling. *Trends in molecular medicine*, 9(1), 11-18.
- Martin M., Guiochon, G. Effects of high pressures in liquid chromatography. *J. Chromatogr. A*, 2005; (1-2)7: 16-38.

- Marwa, C., Fikri-Benbrahim, K., Ou-Yahia, D., & Farah, A. (2017). African peppermint (*Mentha piperita*) from Morocco: Chemical composition and antimicrobial properties of essential oil. *Journal of advanced pharmaceutical technology & research*, 8(3), 86.
- Moghaddam, M., Pourbaige, M., Tabar, H. K., Farhadi, N., & Hosseini, S. M. A. (2013). Composition and antifungal activity of peppermint (*Mentha piperita*) essential oil from Iran. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 16(4), 506-512.
- Nikavar, B., Ali, N. A., & Kamalnejhad, M. (2008). Evaluation of the antioxidant properties of five *Mentha* species.
- Nirmal, S. A., Pal, S. C., Otimenyin, S. O., Aye, T., Elachouri, M., Kundu, S. K., ... & Mandal, S. C. (2013). Contribution of herbal products in global market. *Pharma Rev*, 95-104.
- Ochwang'i, D. O., Kimwele, C. N., Oduma, J. A., Gathumbi, P. K., Mbaria, J. M., & Kiama, S. G. (2014). Medicinal plants used in treatment and management of cancer in Kakamega County, Kenya. *Journal of Ethnopharmacology*, 151(3), 1040-1055.
- Park, Y. J., Baek, S. A., Choi, Y., Kim, J. K., & Park, S. U. (2019). Metabolic profiling of nine *Mentha* species and prediction of their antioxidant properties using chemometrics. *Molecules*, 24(2), 258.
- Petrovska, B. B. (2012). Historical review of medicinal plants' usage. *Pharmacognosy reviews*, 6(11), 1.
- R. Pereira, O., & M Cardoso, S. (2013). Overview on *Mentha* and *Thymus* polyphenols. *Current Analytical Chemistry*, 9(3), 382-396.
- Rizwana, Humaira and Alwhibi, Mona S.. "Biosynthesis of silver nanoparticles using leaves of *Mentha pulegium*, their characterization, and antifungal properties" *Green Processing and Synthesis*, vol. 10, no. 1, 2021, pp. 824-834. <https://doi.org/10.1515/gps-2021-0079>.
- Sebai, E., Serairi, R., Saratsi, K., Abidi, A., Sendi, N., Darghouth, M. A., ... Akkari, H. (2020). *Hydro-Ethanollic Extract of Mentha pulegium Exhibit Anthelmintic and Antioxidant Properties In Vitro and In Vivo*. *Acta Parasitologica*. doi:10.2478/s11686-020-00169-3.
- Sierra, K.; Naranjo, L.; Carrillo-Hormaza, L.; Franco, G.; Osorio, E. Spearmint (*Mentha spicata* L.) Phytochemical Profile: Impact of Pre/Post-Harvest Processing and Extractive Recovery. *Molecules* 2022, 27, 2243. <https://doi.org/10.3390/molecules27072243>.
- Snoussi, Mejdi; Noumi, Emira; Trabelsi, Najla; Flamini, Guido; Papetti, Adele; De Feo, Vincenzo (2015). *Mentha spicata* Essential Oil: Chemical Composition, Antioxidant and Antibacterial Activities against Planktonic and Biofilm Cultures of *Vibrio* spp. Strains. *Molecules*, 20(8), 14402–14424. doi:10.3390/molecules200814402.
- Taamalli, Amani; Arráez-Román, David; Abaza, Leila; Iswaldi, Ihsan; Fernández-Gutiérrez, Alberto; Zarrouk, Mokhtar; Segura-Carretero, Antonio (2015). *LC-MS-based metabolite profiling of methanolic extracts from the medicinal and aromatic species <i>Mentha*

pulegium and *Origanum majorana*. *Phytochemical Analysis*, 26(5), 320–330. doi:10.1002/pca.2566.

-Taylan, O.; Cebi, N.; Sagdic, O. Rapid Screening of *Mentha spicata* Essential Oil and L-Menthol in *Mentha piperita* Essential Oil by ATR-FTIR Spectroscopy Coupled with Multivariate Analyses. *Foods* 2021, 10, 202. <https://doi.org/10.3390/foods10020202>.

-Telci, I.; Demirtas, I.; Bayram, E.; Arabaci, O.; Kacar, O. Environmental variation on aroma components of pulegone/piperitone rich spearmint (*Mentha spicata* L.). *Ind. Crops Prod.* 2010, 32, 588–592.

-Telci, I.; Sahbaz, N.; Yilmaz, G.; Tugay, M.E. Agronomical and chemical characterization of spearmint (*Mentha spicata* L.) originating in Turkey. *Econ. Bot.* 2004, 58, 721–728.

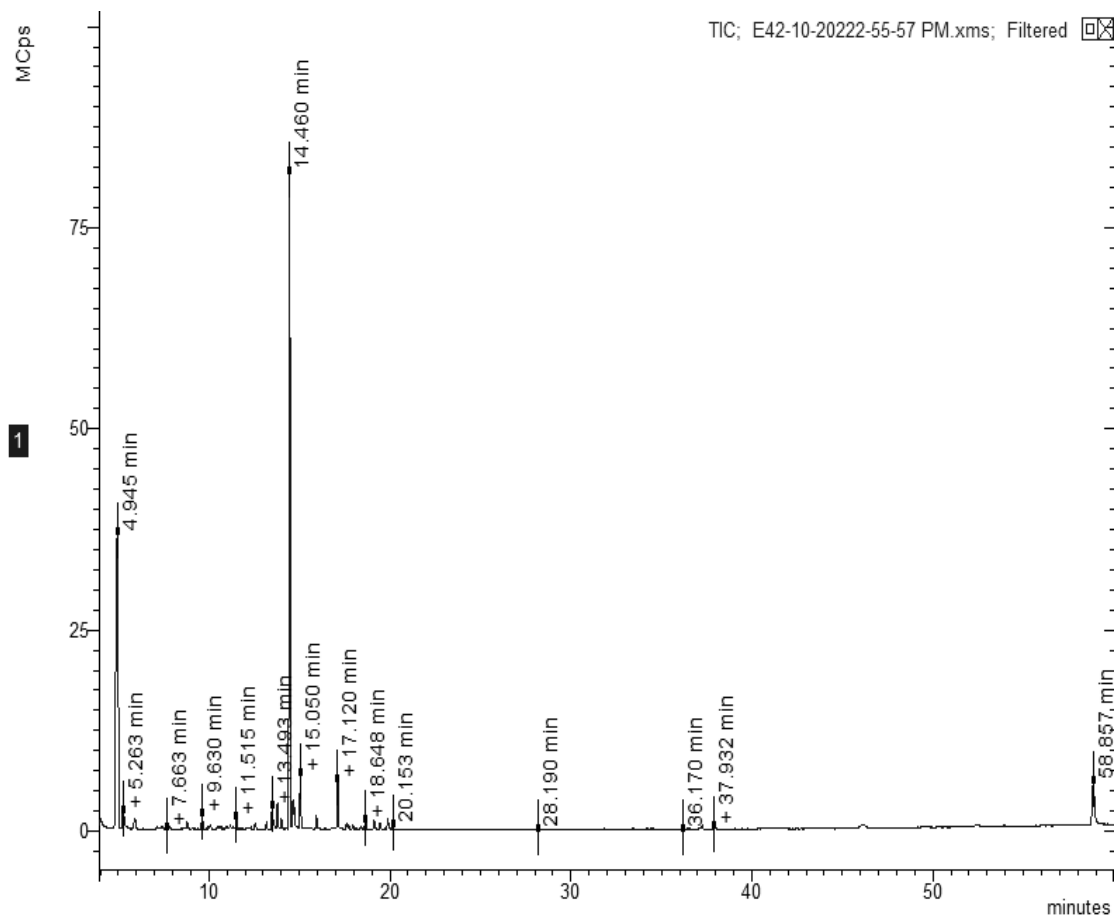
-Yadegarinia D, Gachkar L, Rezaei MB, Taghizadeh M, Astaneh SA, Rasooli I. Biochemical activities of Iranian *Mentha piperita* L. and *Myrtus communis* L. essential oils. *Phytochemistry*. 2006;67:1249–55.

-Γαβρηλίδης Ν., Ξένος Θ. (2015). Σχεδίαση αποστακτικής διάταξης με μικροκυματική θέρμανση, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης. http://ikee.lib.auth.gr/record/291946/files/_____.pdf.

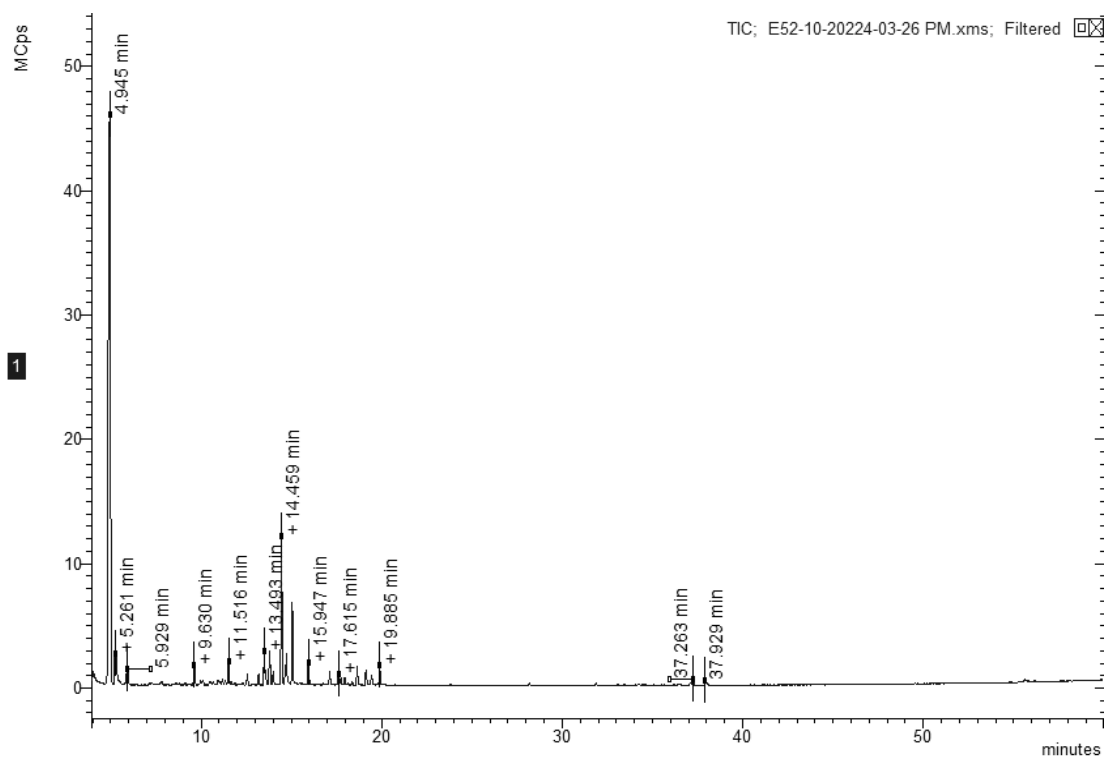
6. ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ

6.1 GC/MS

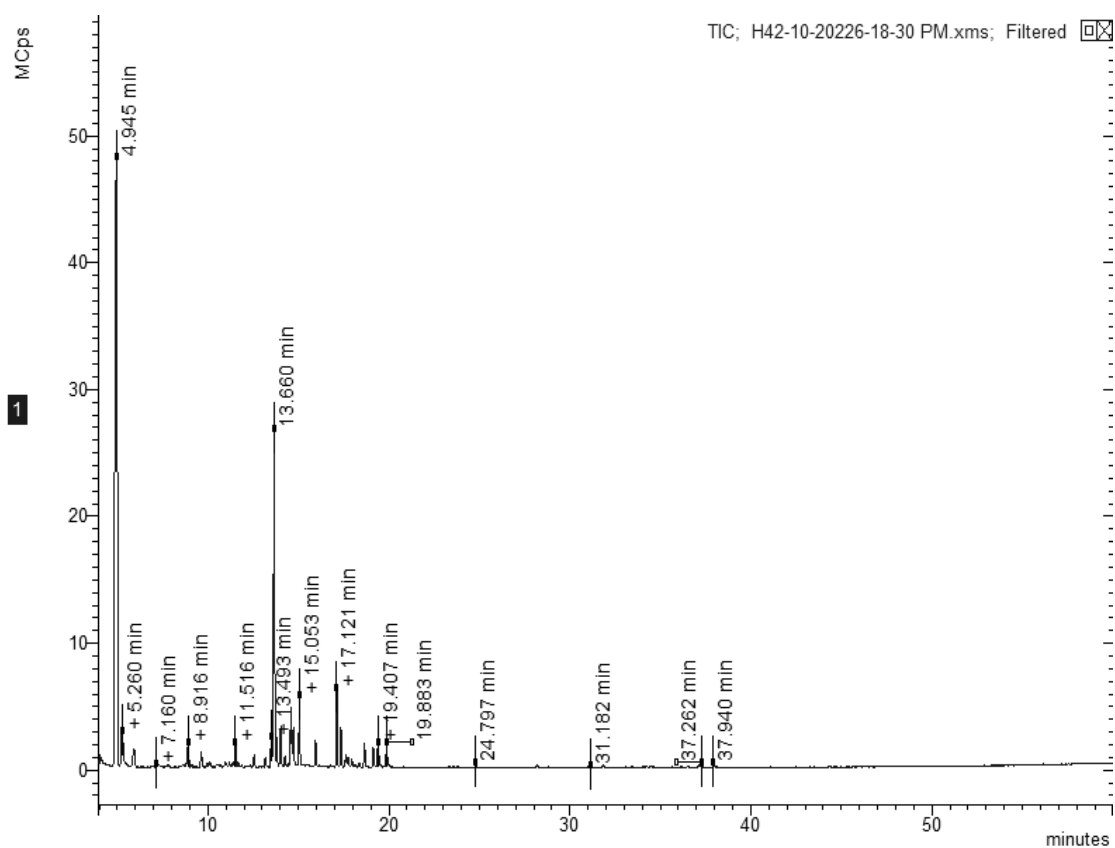
E4: Αιθέριο έλαιο φλιस्कουνιού



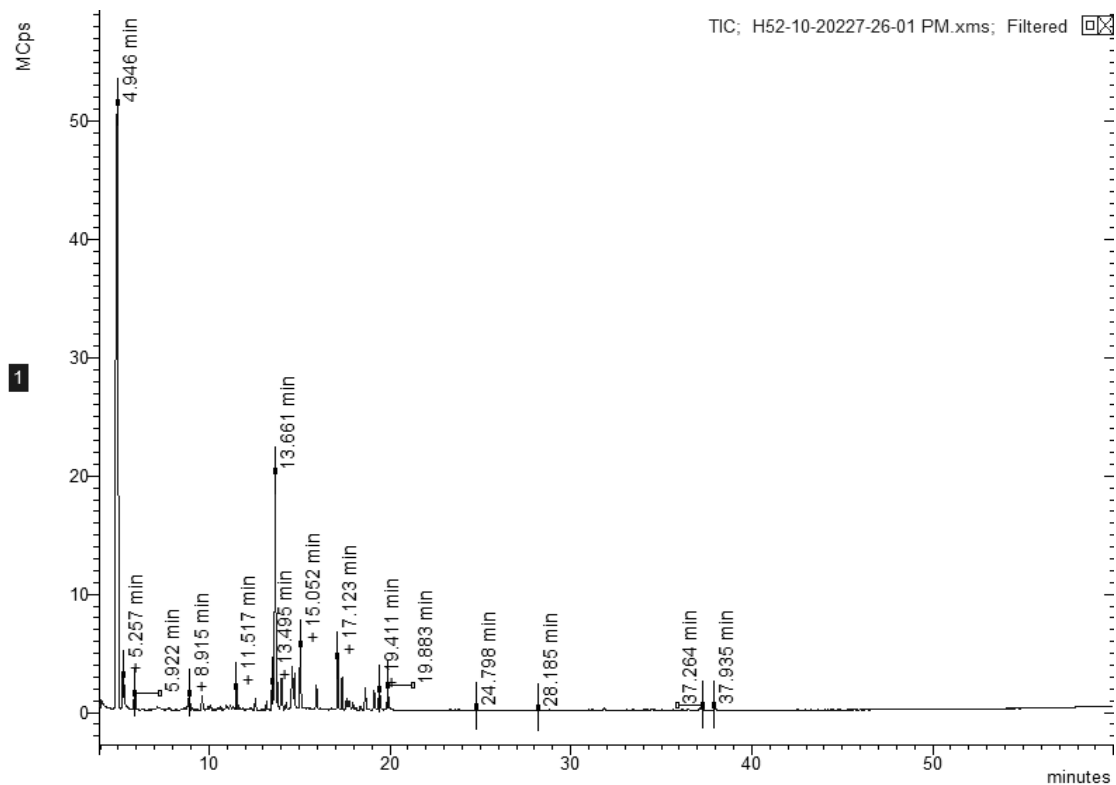
E5: Αιθέριο έλαιο φλισκουιού



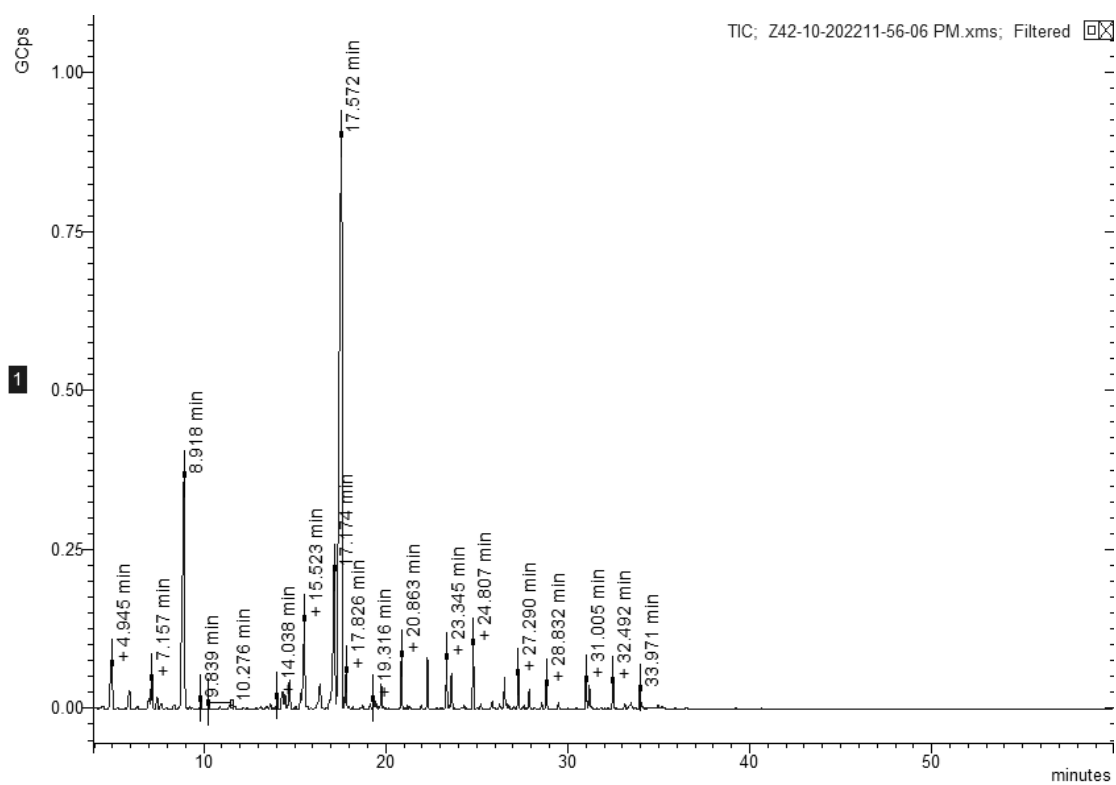
H4: Αιθέριο έλαιο μέντας



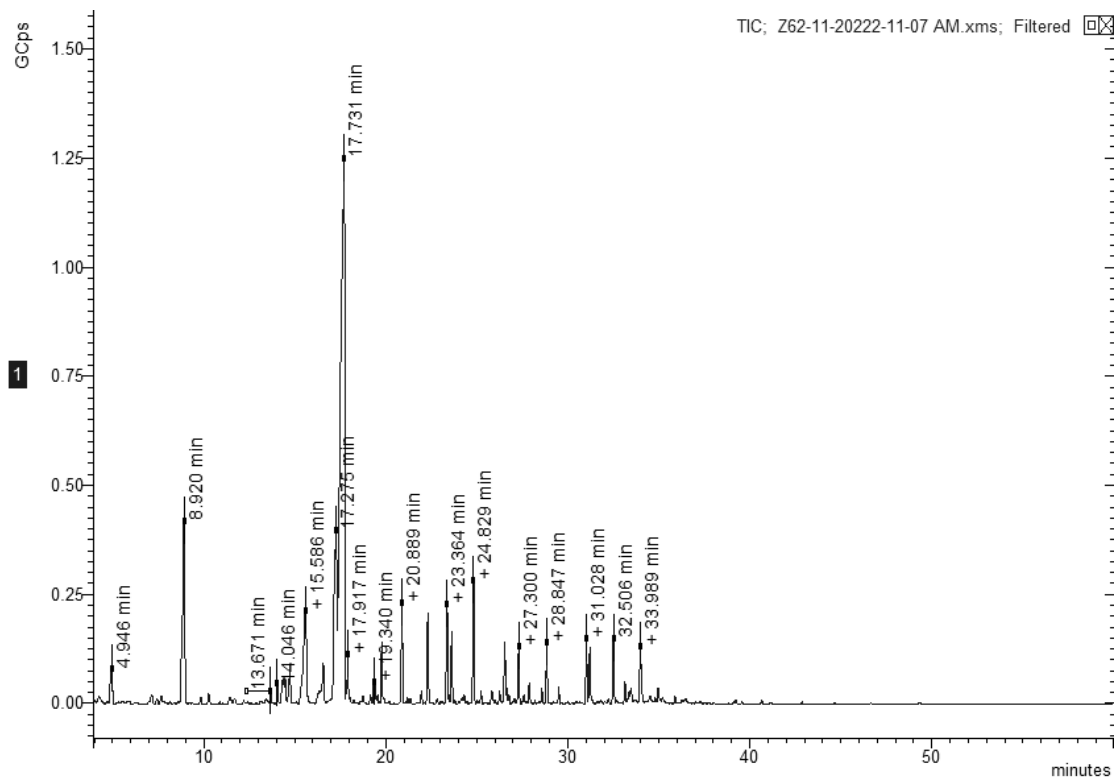
H5: Αιθέριο έλαιο μέντας



Z4: Αιθέριο έλαιο δυόσμου

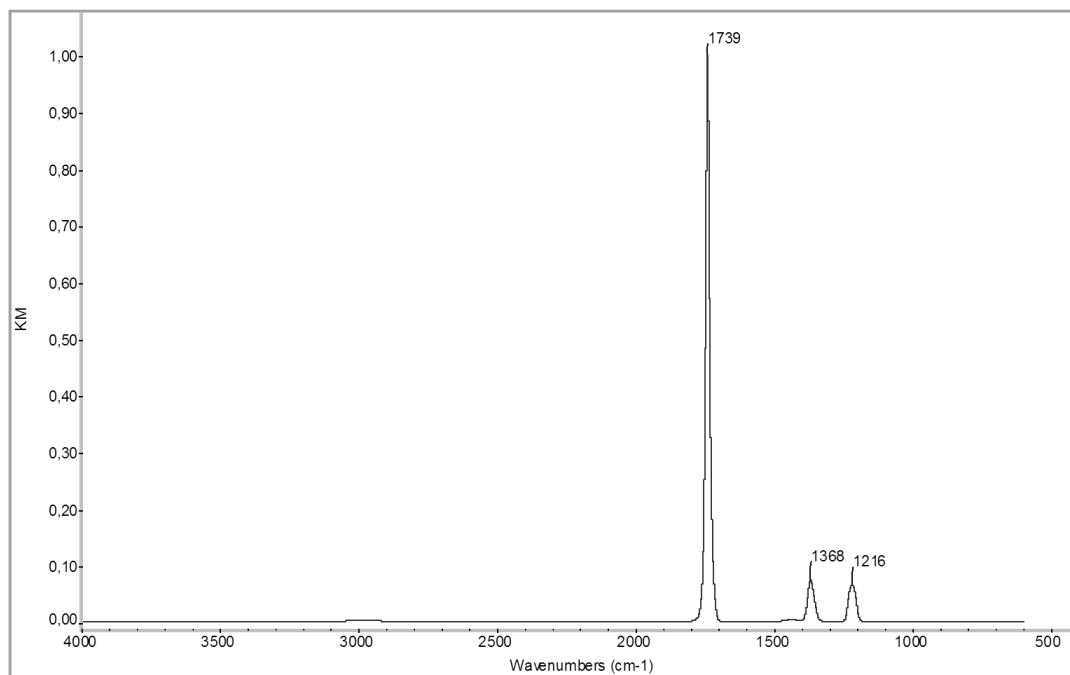


Z6: Αιθέριο έλαιο δυόσμου

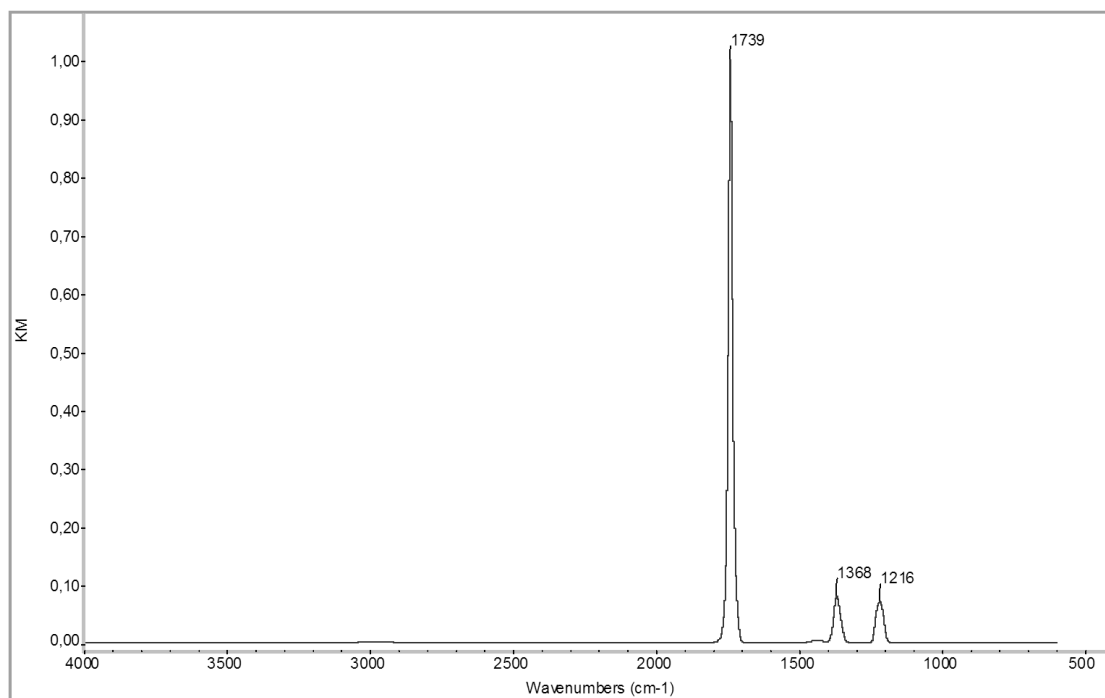


6.2 FTIR

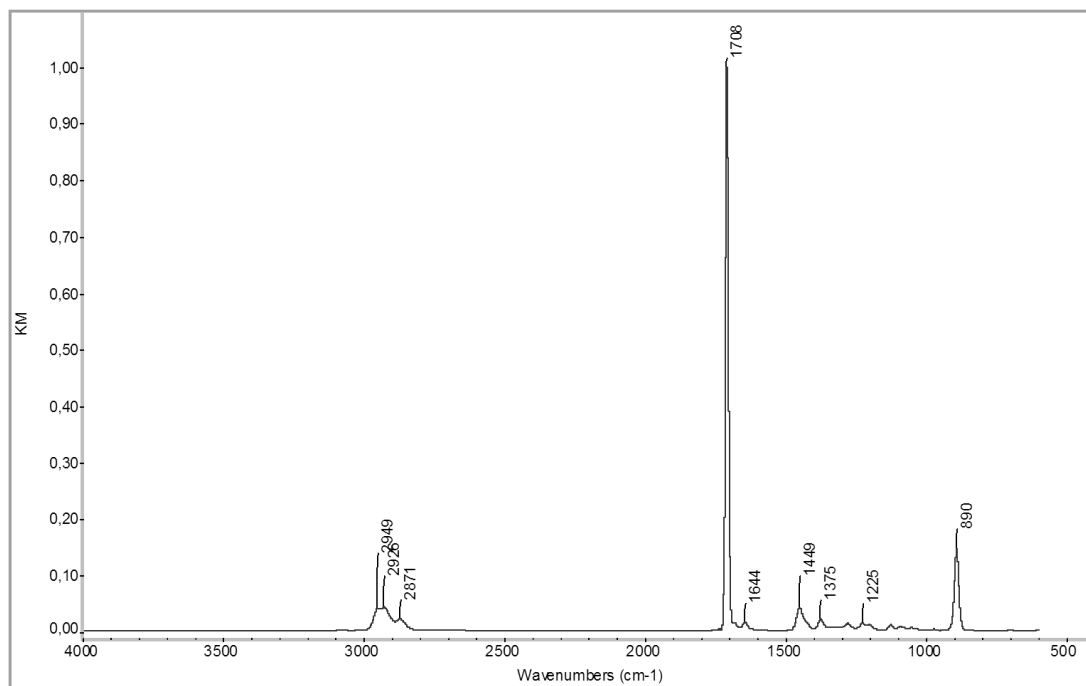
E2: Υδρομεθανολικό εκχύλισμα φλικουνιού



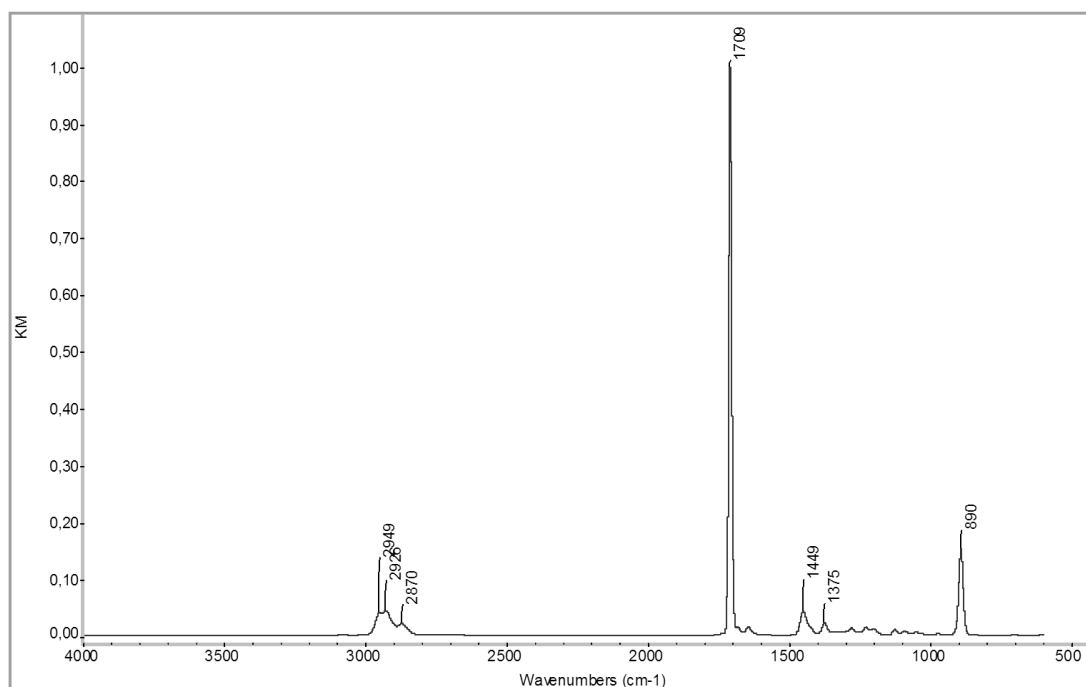
E3: Υδρομεθανολικό εκχύλισμα φλικουνιού



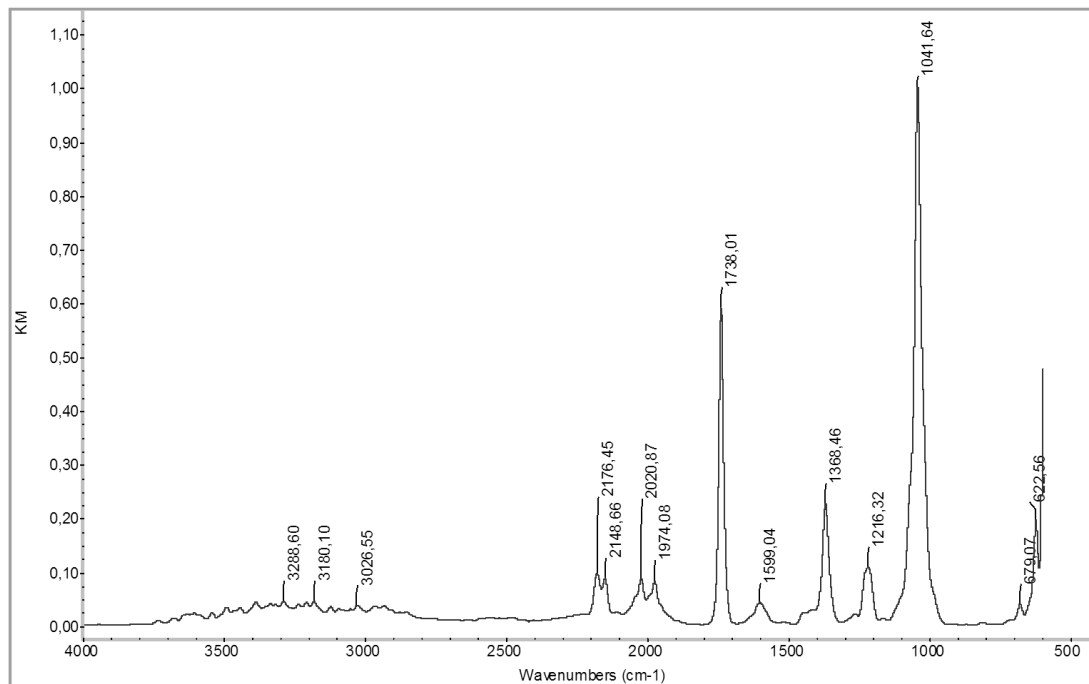
E5: Αιθέριο έλαιο φλισκουγιού



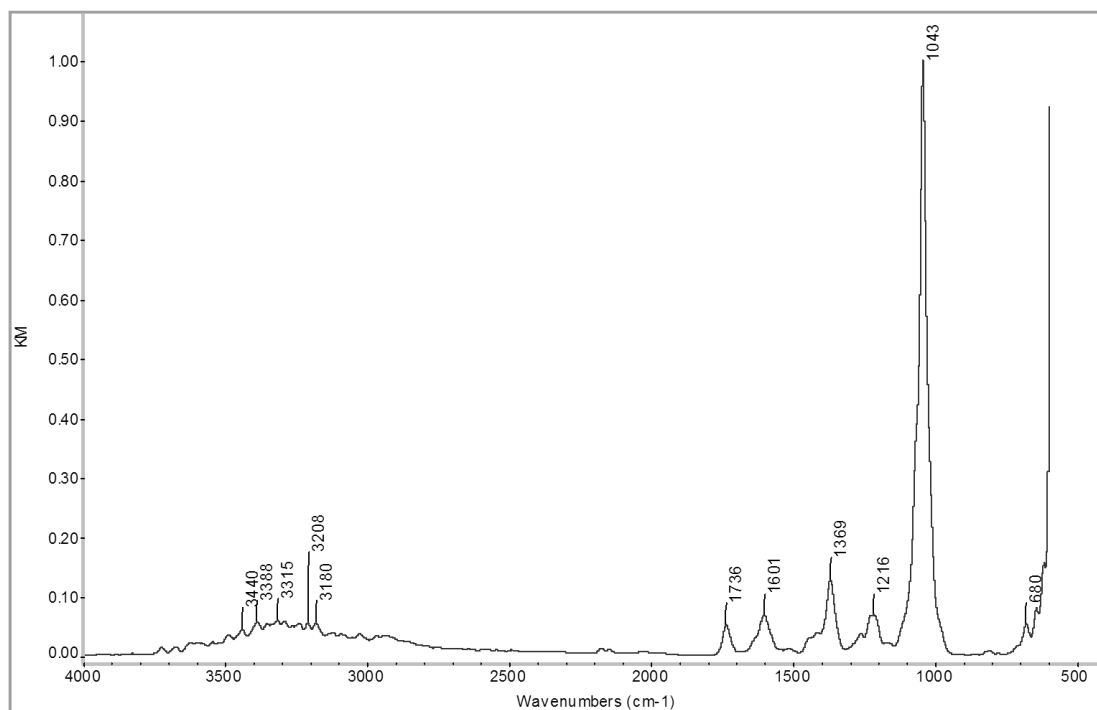
E6: Αιθέριο έλαιο φλισκουγιού



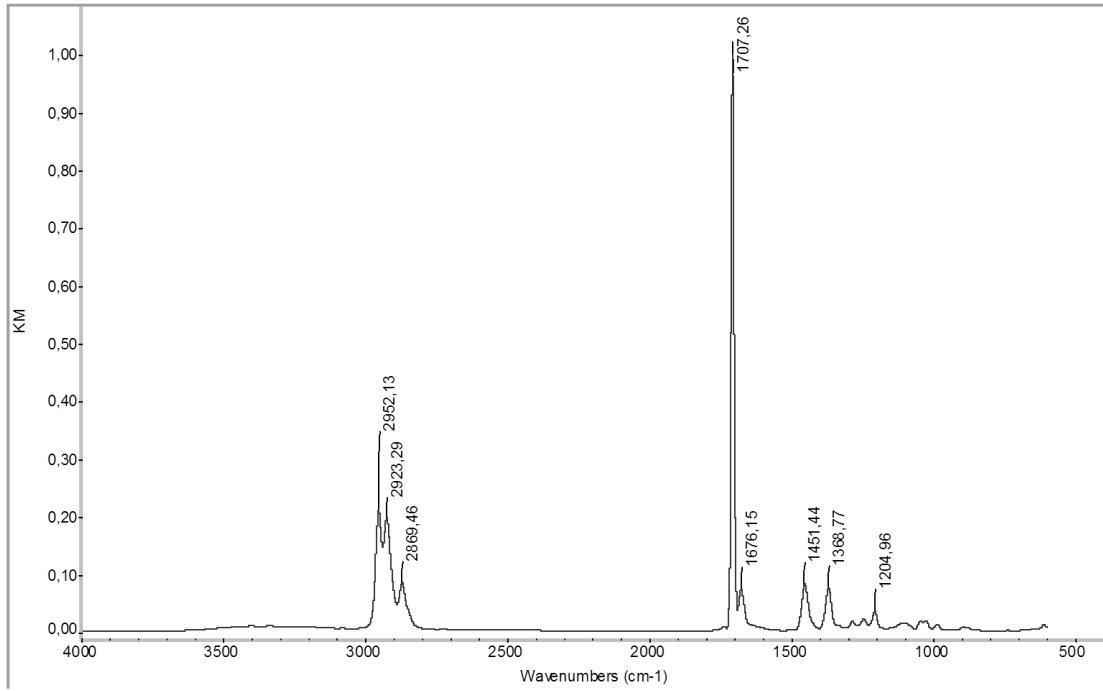
H1: Υδρομεθανολικό εκχύλισμα μέντας



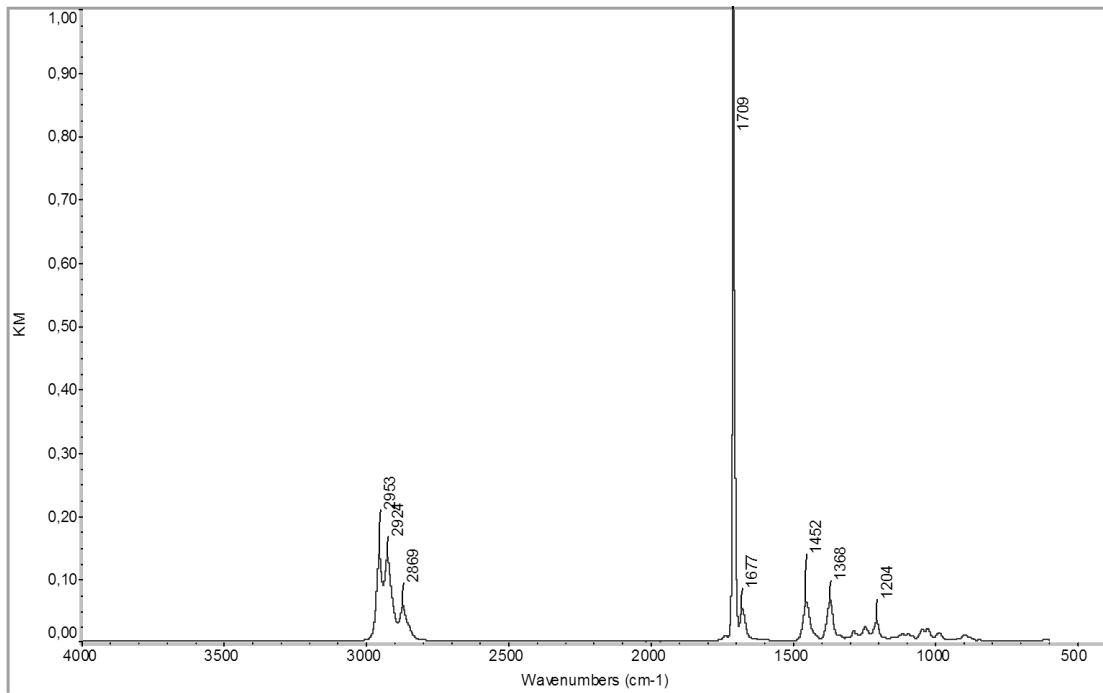
H2: Υδρομεθανολικό εκχύλισμα μέντας



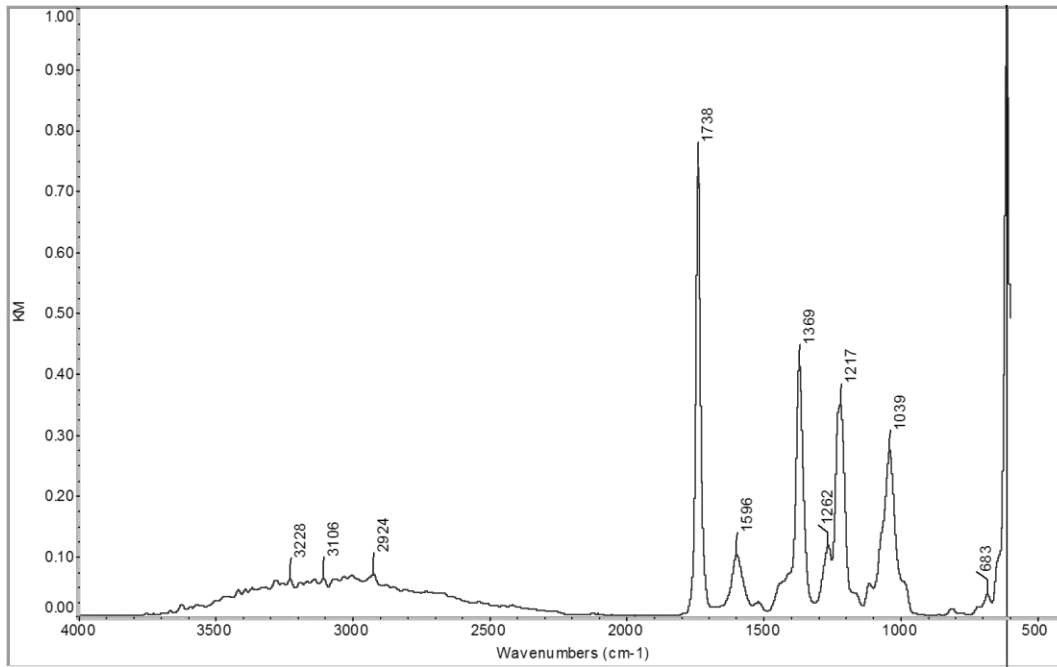
Η4: Αιθέριο έλαιο μέντας



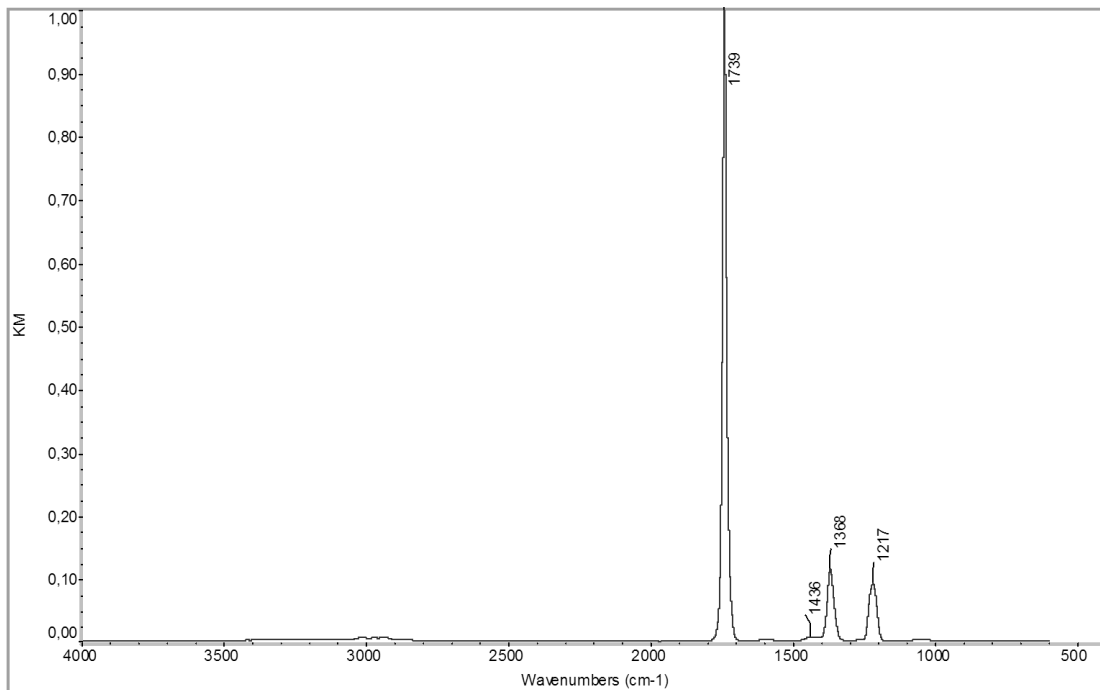
Η5: Αιθέριο έλαιο μέντας



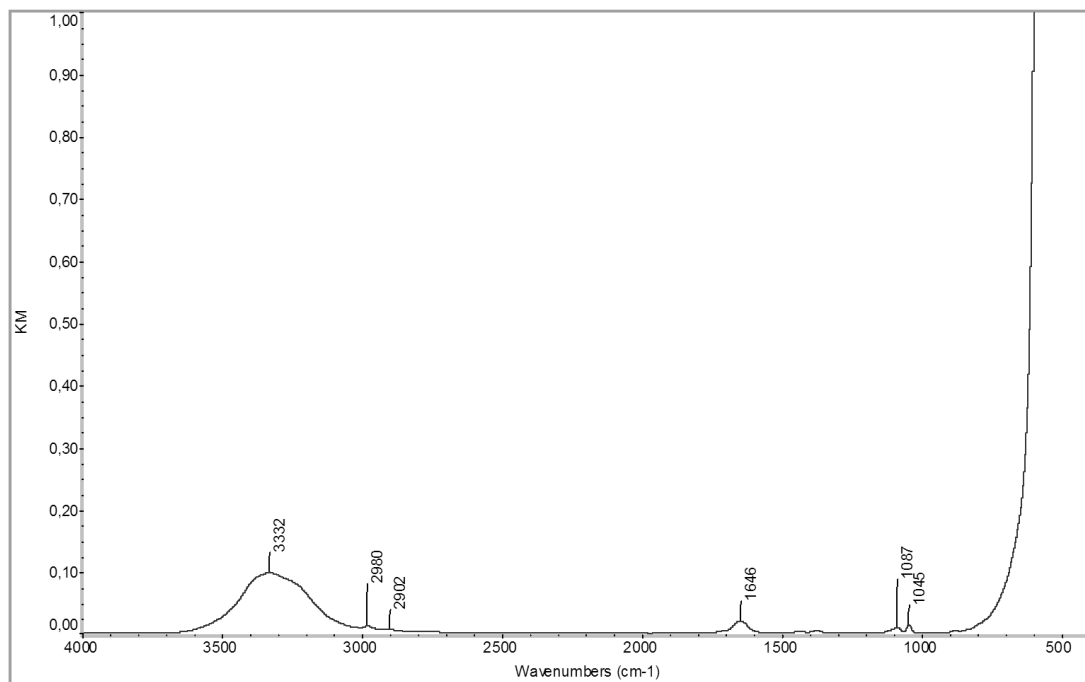
Z1: Υδρομεθανολικό εκχύλισμα δυόσμου



Z3: Υδρομεθανολικό εκχύλισμα δυόσμου



Z5: Αιθέριο έλαιο δυόσμου



Z6: Αιθέριο έλαιο δυόσμου

