

## ΘΥΜΑΡΙ (THYME): ΦΑΡΜΑΚΟΛΟΓΙΚΗ - ΒΙΟΛΟΓΙΚΗ ΔΡΑΣΗ

Δήμητρα Δαφερέρα, Πέτρος Α. Ταραντίλης και Μόσχος Πολυσίου

Εργαστήριο Χημείας, Γενικό Τμήμα, Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών

Ιερά Οδός 75, 118 55 Αθήνα, Τηλ: 210 529 4241, Fax: 210 529 4265, e-mail:ptara@aua.gr

### A. Είδη του γένους *Thymus* (οικογένεια *Lamiaceae*)

Με το όνομα θυμάρι (*Thyme*) αναφέρονται τα περίπου 350 είδη του γένους *Thymus* τα οποία απαντούνται στην Ευρώπη, στη Βόρεια Αφρική και στην Ασία. Αυτά είναι πολυετή, ποώδη φυτά, με χαμηλό και συχνά έρποντα βλαστό.

Το άγριο θυμάρι (*Wild Thyme*) *T. serpyllum*, το οποίο πήρε το λατινικό όνομά του από την έρπουσα (*serpent-like*) μορφή του αποκαλείται «θημαρομάνα» μέλλον λόγω της χρήσης του στις εμμηνορροϊκές διαταραχές. Το κοινό θυμάρι ή θυμάρι κήπων (*Common Thyme or Garden Thyme*) *T. vulgaris*, απαντάται στη Δυτική Μεσόγειο, το οποίο είναι η καλλιεργούμενη μορφή του άγριου θυμαριού. Τα κύρια συστατικά του αιθέριου ελαίου του είναι η θυμόλη, καρβακρόλη, λιναλοόλη, γερανιόλη, α-τερπινεόλη. Παρατηρείται όμως μια αξιοσημείωτη ποικιλότητα στην εκατοστιαία περιεκτικότητα των παραπάνω συστατικών, που υποδηλώνει την ύπαρξη διαφορετικών χημειότυπων θυμαριού, όπως *T. vulgaris* ct. *thymol* (χημειότυπος θυμόλης, κόκκινο θυμάρι, *red thyme*), ή *T. vulgaris* ct. *geraniol* (χημειότυπος γερανιόλης, γλυκό θυμάρι, *sweet thyme*), κ.λ.π.

Στον ελλαδικό χώρο υπάρχουν περίπου 31 αυτοφυή είδη του γένους *Thymus*, πέντε από τα οποία είναι ενδημικά. Το πλέον κοινό είδος στη χώρα μας είναι το *T. sibthorpii*. Παλαιότερα στα είδη του γένους *Thymus* συμπεριλαμβάνονταν και το *T. Capitatus*, θυμάρι το κεφαλωτό, το οποίο σε πολλές περιοχές της Ελλάδας αναφέρεται με το όνομα θυμάρι. Σήμερα όμως, το γενικά αποδεκτό λατινικό του όνομα είναι *Coridothymus capitatus* και διακινείται εμπορικά ως “ρίγανη” μια και έχουν κοινό χαρακτηριστικό γνώρισμα την παρόμοια οσμή τους, που οφείλεται στην παρουσία της καρβακρόλης στα αιθέρια έλαιά τους.

### B. Φαρμακευτική χρήση

Το θυμάρι ήταν γνωστό από την αρχαιότητα. Το αναφέρει ο Διοσκουρίδης ενώ καθιερώθηκε ως φάρμακο τον 16ο αιώνα. Ο Πλίνιος το συνιστά ως αντίδοτο για τα δαγκώματα φιδιών, το «δηλητήριο των θαλάσσιων όντων» και για τον πονοκέφαλο. Οι Ρωμαίοι έκαιγαν το φυτό πιστεύοντας ότι ο καπνός του απωθεί τους σκορπιούς.

Σήμερα το θυμάρι καλλιεργείται σε διάφορες ευρωπαϊκές χώρες κι' άλλες χώρες τόσο για τις αρωματικές όσο και για τις φαρμακευτικές ιδιότητές του. Ειδικότερα χρησιμοποιείται η ξηρή δρόγη ή το αιθέριο έλαιό του στη βιομηχανία τροφίμων, στα οποία προσδίδει καλύτερο άρωμα και γεύση. Η δρόγη του χρησιμοποιείται ως ρόφημα κυρίως όταν αναμιχθεί με μέντα και φασκόμηλο ή και άλλα αρωματικά φυτά.

Τέλος όλα τα είδη του θυμαριού είναι πολύ καλά μελισσοτροφικά φυτά και το αιθέριο έλαιο τους χρησιμοποιείται στην αρωματοποιία και στα καλλυντικά.

#### B.1. Χρησιμοποιούμενα μέρη του φυτού και τρόποι εφαρμογής

**B.1.1. Επίγεια τμήματα:** Αντισηπτικά και αποχρεμπτικά τα επίγεια τμήμα είναι ιδανικά για βαθιά εγκατεστημένες λοιμώξεις των πνευμόνων που χαρακτηρίζονται από παχύρρευστο, κιτρινωπό φλέγμα. Είναι επίσης χρήσιμο πεπτικό γιατρικό και θερμαντικό για το κρύωμα της κοιλιάς και τη συνοδευόμενη διάρροια. Συλλέξτε πριν την άνθιση και κατά τη διάρκειά της το καλοκαίρι,. Απορρίψτε τους ξυλώδεις βλαστούς.

### **B.1.2. Τρόποι εφαρμογής**

**Έγχυμα:** Χρησιμοποιείτε το για λοιμώξεις του θώρακα, κρύωμα της κοιλιάς ή ευερέθιστο έντερο.

**Βάμμα:** Χρησιμοποιείτε το για τη διάρροια που συνδέεται με κρύωμα της κοιλιάς ή ως αποχρεμπτικό σε λοιμώξεις του θώρακα.

**Σιρόπι:** Πάρτε σιρόπι φτιαγμένο από το έγχυμα για το βήχα και για τις λοιμώξεις των πνευμόνων.

**B.2.1. Αιθέριο έλαιο:** Εξαιρετικά ισχυρό αντιβακτηριακό και αντιμυκητιασικό, το θυμέλαιο διεγείρει επίσης το ανοσοποιητικό σύστημα. Καθώς είναι συμυκνωμένη μορφή του βοτάνου είναι ωφέλιμο για αναπνευστικά και για πεπτικά προβλήματα. Στο εμπόριο διατίθενται αρκετές ποιότητες θυμελαίου που έχουν όλες παρόμοιες δράσεις.

### **B.2.2. Τρόποι εφαρμογής**

**Εντριβή θώρακα:** Διαλύστε 10 σταγόνες θυμελαίου σε 20 mL αμυγδαλέλαιου ή ηλιελαίου για τις λοιμώξεις του θώρακα.

**Έλαιο:** Διαλύστε 10 σταγόνες σε 20 mL νερό και βάλτε το σε δαγκώματα εντόμων και σε μολυσμένες πληγές.

**Έλαιο μασάζ:** Διαλύστε 10 σταγόνες θυμελαίου και ελαίου λεβάντας σε 25 mL αμυγδαλέλαιου ή ηλιελαίου για ρευματικούς πόνους ή για τραβήγματα των μυών.

**B.3. Προφυλάξεις:** Αποφύγετε τις θεραπευτικές δόσεις θυμαριού και θυμελαίου σε οποιαδήποτε μορφή κατά την εγκυμοσύνη επειδή το βότανο είναι διεγερτικό της μήτρας.

Το θυμέλαιο μπορεί να ερεθίσει τους βλεννογόνους γι' αυτό να το αραιώνετε πάντα καλά.

## **Γ. Αντιμικροβιακή δράση αιθερίων ελαίων**

Η αντιμικροβιακή δράση των αιθερίων ελαίων είναι γνωστή από την αρχαιότητα. Αιθέρια έλαια από είδη των γενών *Eucalyptus*, *Thymus*, *Origanum*, *Mentha*, *Sideritis*, *Salvia*, *Achillea*, *Lavandula* και πλήθος άλλων φυτών έχουν μελετηθεί ως προς τις αντιμικροβιακές ιδιότητές τους σε ένα πλήθος παθογόνων μικροβίων, από τα οποία εξέχουσα θέση (ως προς το πλήθος των αναφορών) κατέχουν τα βακτήρια *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, *Salmonella typhimurium* και η ζύμη *Candida albicans*.

Αρκετά συστατικά αιθερίων ελαίων, όπως η θυμόλη, η γερανιόλη, η νερόλη, η κιτρονέλλολη και η κινναμαλδεΰδη επιδρούν στην ανάπτυξη και παραγωγή αφλατοξίνης του *Aspergillus flavus*. Μυκητοτοξική δράση έναντι των *Aspergillus flavus*, *A. ochraceus* και *A. niger* διαπιστώθηκε και με τα αιθέρια έλαια της ρίγανης και του θυμαριού από τους Paster et al., (1990).

Η δυνατότητα εφαρμογής των αιθερίων ελαίων στη γεωργία παρουσιάζεται αναλυτικά από τον Isman, B.M. (2000), ο οποίος περιγράφει τα μέχρι τώρα ερευνητικά αποτελέσματα σ' αυτόν τον τομέα και την ανάγκη για περαιτέρω μελέτη.

Η υπό κενό χρησιμοποίηση αιθερίου ελαίου θυμαριού σε φρούτα εσπεριδοειδών παρεμποδίζει την ανάπτυξη του μύκητα *Penicillium digitatum*, ενώ συγκέντρωση 125 ppm καρβακρόλης αναφέρεται ότι έχει μυκητοκτόνο δράση σε *in vitro* πειράματα.

Η βακτηριοστατική ή βακτηριοκτόνος δράση φυσικών προϊόντων από τα φυτά, αιθερίων ελαίων ή φυτικών εκχυλισμάτων, δεν έχει τύχη μέχρι σήμερα αξιόλογης προσοχής ή μελέτης, παρόλο τα κάποια ενθαρρυντικά αποτελέσματα.

Μέχρι σήμερα δεν έχει διευκρινιστεί ο τρόπος με τον οποίο δρουν τα αιθέρια έλαια έναντι των μικροοργανισμών, έχουν όμως προταθεί αρκετές θεωρίες οι οποίες είτε τεκμηριώνονται με πειραματικά αποτελέσματα είτε όχι.

Η εξάρτηση μεταξύ της χημικής δομής των συστατικών των αιθερίων ελαίων και της αντιμικροβιακής δράσης οδήγησε στη σκέψη πως μόρια που περιέχουν αρωματικό δακτύλιο και την ομάδα -OH αντιδρούν και σχηματίζουν δεσμούς υδρογόνου με ενεργά σημεία ενζύμων. Επιπλέον, σε μόρια που περιέχεται και η ισοπρόπυλο ομάδα, εκτός από την αρωματικότητα του πυρήνα συνεισφέρει στη δημιουργία δεσμών υδρογόνου και ο επαγωγικός χαρακτήρας της ομάδας.

Έχει βρεθεί, με πειράματα σε κύτταρα ζύμης, ότι οι ουσίες  $\alpha$ -πινένιο,  $\beta$ -πινένιο και λεμονένιο καταστρέφουν την κυτταρική ακεραιότητα και παρεμποδίζουν τη λειτουργία της αναπνοής στα μιτοχόνδρια. Ειδικότερα, το  $\beta$ -πινένιο παρεμποδίζει την αναπνοή και σε ανέπαφα κύτταρα του *Saccharomyces cerevisiae* και σε μιτοχόνδρια που απομονώθηκαν από αυτή τη ζύμη, ενώ μεγαλύτερες συγκεντρώσεις του προκάλεσαν παρεμπόδιση στη μεταφορά (translocation) πρωτονίου και ιόντων καλίου, χωρίς να παρατηρείται επίδραση στη δραστηριότητα ΑΤΡάσης. Ανάλογα συμπεράσματα προέκυψαν και για το λεμονένιο, όχι όμως για άλλα υδρόφοβα μόρια. Η επίδραση στην αναπνοή θα μπορούσε να αποδοθεί με δράση στην περιοχή του συμπλόκου III της κυτοχρωμικής αλυσίδας. Μελέτες επιβεβαιώνουν πως οι κυκλικοί τερπενικοί υδρογονάνθρακες συσσωρεύονται στη μεμβράνη, γι' αυτό προκαλείται διαταραχή των ημιπερατών ιδιοτήτων της και παρεμπόδιση του μηχανισμού μετακίνησης πρωτονίων (proton motive force). Όμοια, η επίδραση αιθερίου ελαίου ρίγανης και των κύριων συστατικών του θυμόλης και καρβακρόλης κατά των *Staphylococcus aureus* και *Pseudomonas aeruginosa* αποδίδεται στην καταστροφή της ακεραιότητας της μεμβράνης με επιπλέον επιρροές στην ομοιόσταση του pH και ισορροπία των ανοργάνων ιόντων. Η θυμόλη και η καρβακρόλη, σε πειράματα με τα βακτήρια *Salmonella typhimurium* και *Escherichia coli*, αποδιοργανώνουν την εξωτερική μεμβράνη και απελευθερώνουν συστατικά της στο εξωτερικό διάλυμα, μειώνουν την αποθήκη της ενδοκυτταρικής τριφωσφορικής αδενοσίνης (Adenosine Triphosphate, ATP) και αυξάνουν το εξωκυτταρικό ATP, υποδηλώνοντας καταστροφή των ημιπερατών ιδιοτήτων της κυτοπλασματικής μεμβράνης.

Το αντιμικροβιακό αποτέλεσμα των συστατικών αιθερίων ελαίων εξαρτάται από την υδροφοβικότητά τους και από την κατανομή τους στην κυτοπλασματική μικροβιακή μεμβράνη. Ο συνδυασμός S-καρβόνης και θερμοκρασίας είχε σημαντική μείωση στο πληθυσμό του βακτηρίου *Listeria monocytogenes*, διότι η αύξηση της θερμοκρασίας αύξησε τη διαλυτότητα της καρβόνης στη μεμβράνη. Επίσης, υποθέτουν πως η παρεμπόδιση των *Staphylococcus aureus* και *Salmonella typhimurium* από έλαιο θυμαριού οφείλεται στην υδροφοβικότητα και στους δεσμούς υδρογόνου των φαινολικών συστατικών του με τις πρωτεΐνες των μεμβρανών, μετά την κατανομή τους στο στρώμα των λιπιδίων.

Σημαντική είναι και η εργασία των Takaisi-Kikuni et. al., (1996) που δείχνει πως το αιθέριο έλαιο από το φυτό *Cymbopogon densiflorus* (πλούσιο σε λεμονένιο και  $\pi$ -κυμένιο) προκάλεσε δύο μορφολογικές ανωμαλίες στα κύτταρα του *Staphylococcus aureus*. Συγκεκριμένα, προκάλεσε πρόωρη έναρξη διαίρεσης των κυττάρων και πάχυνση των κυτταρικών τοιχωμάτων. Το πρώτο σύμπτωμα είναι χαρακτηριστικό του τρόπου δράσης σε χαμηλές δόσεις των αντιβιοτικών  $\beta$ -λακτάμης (τύπου πενικιλίνης) εμποδίζοντας τη σύνθεση των βακτηριακών τοιχωμάτων και το δεύτερο είναι χαρακτηριστικό σύμπτωμα των σταφυλοκόκκων που έχουν δεχτεί τη δράση βακτηριοστατικών φαρμάκων (τύπου chloramphenicol). Μικροσκοπικές παρατηρήσεις έδειξαν πως το αιθέριο έλαιο του θυμαριού τραυματίζει τις υφές των μυκήτων *Penicillium digitatum* και *Botrytis cinerea*.

Γενικά, ουσίες που επιδεικνύουν αντιμικροβιακή δράση είναι αυτές που δεν μπορούν να μεταβολιστούν από τους μικροοργανισμούς. Αναφέρεται η δράση της S-(+)-καρβόνης στην ανάπτυξη των μυκήτων *F. sulphureum* και *Fusarium solani* var. *coeruleum*, εφαρμογή της οποίας σε αέρια φάση εμπόδιζε την ανάπτυξη μόνο του πρώτου μύκητα. Σε υγρό μέσο βρέθηκε ότι και οι δύο μύκητες μετασημάτισαν την S-(+)-καρβόνη σε ισοδιδροκαρβόνη (isodihydrocarvone), ισοδιδροκαρβεόλη (isodihydrocarveol) και νεοϊσοδιδροκαρβεόλη (neoisodihydrocarveol). Τα προϊόντα αυτά δεν επηρέασαν την ανάπτυξη των μυκήτων, με αποτέλεσμα αυτός ο μηχανισμός να θεωρηθεί ως μηχανισμός αποτοξίνωσης.

#### **Δ. Βιολογική δράση αιθερίου ελαίου θυμαριού σε φυτοπαθογόνους μικροοργανισμούς**

Στο πλαίσιο μιας γενικότερης έρευνας του εργαστηρίου μας, επί των αιθερίων ελαίων προερχόμενων από φυτά της οικογένειας Lamiaceae, μελετήθηκε η αντιμικροβιακή δράση του αιθερίου ελαίου θυμαριού (*Coridothymus capitatus*, πρώην *Thymus Capitatus*) σε σύγκριση με τη δράση αιθερίων ελαίων ρίγανης (*Origanum vulgare*), δίκταμου (*Origanum dictamnus*) και μαντζουράνας (*Origanum majorana*), έναντι των μικροοργανισμών *Penicillium digitatum*, *Botrytis cinerea*, *Fusarium* sp. (*Fusarium solani* var. *coeruleum*) και *Clavibacter michiganensis* subsp. *Michiganensis*.

##### **Δ.1. Χημική σύσταση αιθερίων ελαίων που χρησιμοποιήθηκαν στα πειράματα των βιοδοκιμών**

Για τον προσδιορισμό της χημικής σύστασης των αιθερίων ελαίων χρησιμοποιήθηκε η μέθοδος GC-MS, που έχει καθιερωθεί για τέτοιες αναλύσεις. Τα αποτελέσματα των αναλύσεων για τα αιθέρια έλαια της ρίγανης, του θυμαριού, του δίκταμου, της μαντζουράνας παρουσιάζονται στους Πίνακες 1, 2.

Από την μελέτη του Πίνακα Β1, προκύπτει πως τα αιθέρια έλαια των φυτών της ρίγανης Ρ1, του θυμαριού Θ1 και του δίκταμου Δ1 χαρακτηρίζονται από την κυρίαρχη παρουσία της θυμόλης, η οποία επικρατεί των άλλων με ποσοστά 63,3-78,0%.

Η καρβακρόλη, ισομερές της θυμόλης (Σχήμα 1), προσδιορίστηκε στο αιθέριο έλαιο της ρίγανης Ρ1 και του θυμαριού Θ1 με ποσοστά 7,8 και 2,2%, αντίστοιχα, ενώ δεν ανιχνεύθηκε στο δίκταμο Δ1. Οι ουσίες γ-τερπινένιο και π-κυμένιο, οι οποίες θεωρούνται πρόδρομες ενώσεις της θυμόλης και καρβακρόλης, προσδιορίστηκαν και στα τρία παραπάνω αιθέρια έλαια και μάλιστα σε σχετικά μεγάλα ποσοστά. Τα ποσοστά του γ-τερπινενίου κυμαίνονται μεταξύ 4,3-12,7% και του π-κυμενίου μεταξύ 9,9-23,5% (Πίνακας 1).

Στο αιθέριο έλαιο της μαντζουράνας Μ1 ανιχνεύθηκε ένα πλήθος ουσιών που κατέχουν αξιολογικά ποσοστά από 2,0-18,3% (Πίνακας 1). Από αυτά τα συστατικά διακρίνεται το γ-τερπινένιο (18,3%) και η καρβακρόλη (16,8%), ακολούθως το α-τερπινένιο (9,8%), το π-κυμένιο (9,8%) και η τερπινεν-4-όλη (9,3%).

Στον Πίνακα 2, εκτός από τη χημική σύσταση των αιθερίων ελαίων παρουσιάζονται και οι αποδόσεις τους σε αιθέριο έλαιο. Η απόδοση εκφράζεται σε mL αιθερίου ελαίου ανά 100 g αποξηραμένου φυτικού υλικού. Μεγάλες αποδόσεις σε αιθέριο έλαιο έδωσαν τα φυτά της ρίγανης (5,2%), του θυμαριού (4,0%) και της μαντζουράνας (4,4%).

Κύρια ουσία στο αιθέριο έλαιο της ρίγανης Ρ2, όπως και στο δείγμα ρίγανης Ρ1, προσδιορίστηκε η θυμόλη (63,7%) και ακολούθως το π-κυμένιο (13,0%), η καρβακρόλη (8,6%) και το γ-τερπινένιο (7,5%). Αντίθετα, στο αιθέριο έλαιο του θυμαριού Θ2 και του δίκταμου Δ2, η κυρίαρχη ουσία ήταν η καρβακρόλη με ποσοστά 81,5 και 64,1%, αντίστοιχα. Στο αιθέριο έλαιο του δίκταμου εκτός από την καρβακρόλη, βρέθηκε και το π-κυμένιο (20,3%) σε μεγάλο ποσοστό. Στη μαντζουράνα προσδιορίστηκε χημειότυπος αιθερίου ελαίου που αναφέρεται πρώτη

φορά στην Ελλάδα. Το αιθέριο έλαιό της χαρακτηρίζεται από ένα μεγάλο κλάσμα κυμιλ- παραγώγων, όπως η καρβακρόλη (45,1%), το γ-τερπινένιο (9,3%), το π-κυμένιο (5,8%) και το α-τερπινένιο (5,4%). Δείγματα μαντζουράνας (*Origanum majorana*) από την Τουρκία και την Κούβα έδωσαν αιθέριο έλαιο με υψηλή περιεκτικότητα σε καρβακρόλη. Στην Ελλάδα για το αιθέριο έλαιο του είδους, αναφέρεται ο χημειότυπος υδροσαβινενίου / τερπινεν-4-όλης.

Όλα τα δείγματα ρίγανης που μελετήθηκαν παρουσίασαν αιθέριο έλαιο με χημειότυπο θυμόλης. Στη βιβλιογραφία αναφέρονται αιθέρια έλαια ρίγανης με τέτοιο χημειότυπο.

**Πίνακας 1.** Χημική σύσταση των αιθερίων ελαίων από Ρίγανη (P1), Θυμαρί (Θ1), Δίκταμο (Δ1), Μαντζουράνα (M1), που χρησιμοποιήθηκαν στα πειράματα με το μύκητα *Penicillium digitatum*. Η προέλευση όλων των δειγμάτων ήταν από την Κρήτη, με εξαίρεση αυτό της μαντζουράνας που ήταν από την Αττική.

Συστατικό	Σύσταση (%)			
	Ρίγανη P1	Θυμαρί Θ1	Δίκταμος Δ1	Μαντζουράνα M1
<b>Υδρογονάνθρακες</b>				
Θουγιένιο	0,3	-	0,3	3,3
α-Πινένιο	0,6	0,3	0,3	2,5
Καμφθένιο	-	-	-	1,3
β-Μυρκένιο	-	-	-	3,6
<b>α-Τερπινένιο</b>	<b>1,0</b>	<b>1,0</b>	<b>0,9</b>	<b>9,8</b>
<b>π-Κυμένιο</b>	<b>9,9</b>	<b>23,5</b>	<b>10,1</b>	<b>9,8</b>
β-Φελλανδρένιο	-	-	-	3,2
<b>γ-Τερπινένιο</b>	<b>12,7</b>	<b>4,3</b>	<b>7,9</b>	<b>18,3</b>
Τερπινολένιο	-	-	-	2,0
β-Καρυοφυλλένιο	0,5	1,3	0,4	0,3
β-Μπισαμπολένιο	0,4	-	-	0,6
<b>Αλκοόλες</b>				
Υδροσαβινένιο ( <i>cis</i> )	-	-	-	1,4
Υδροσαβινένιο ( <i>trans</i> )	-	-	-	5,3
Λιναλοόλη	0,6	-	0,4	2,3
Μυρσενόλη	-	-	-	-
Βορνεόλη	0,3	0,6	0,3	1,6
<b>Τερπινεν-4-όλη</b>	<b>0,3</b>	<b>0,6</b>	<b>0,3</b>	<b>9,3</b>
α-Τερπινεόλη	-	-	-	2,6
<b>Φαινόλες</b>				
<b>Θυμόλη</b>	<b>63,3</b>	<b>63,6</b>	<b>78,0</b>	<b>0,1</b>
<b>Καρβακρόλη</b>	<b>7,8</b>	<b>2,2</b>	<b>-</b>	<b>16,8</b>
<b>Αιθέρες και Κετόνες</b>				
Ευκαλυπτόλη	-	-	-	0,3
<b>Εστέρες</b>				
Οξικός εστέρας λιναλοόλης	-	-	-	1,2
Σύνολο	97,7	97,4	98,9	95,6

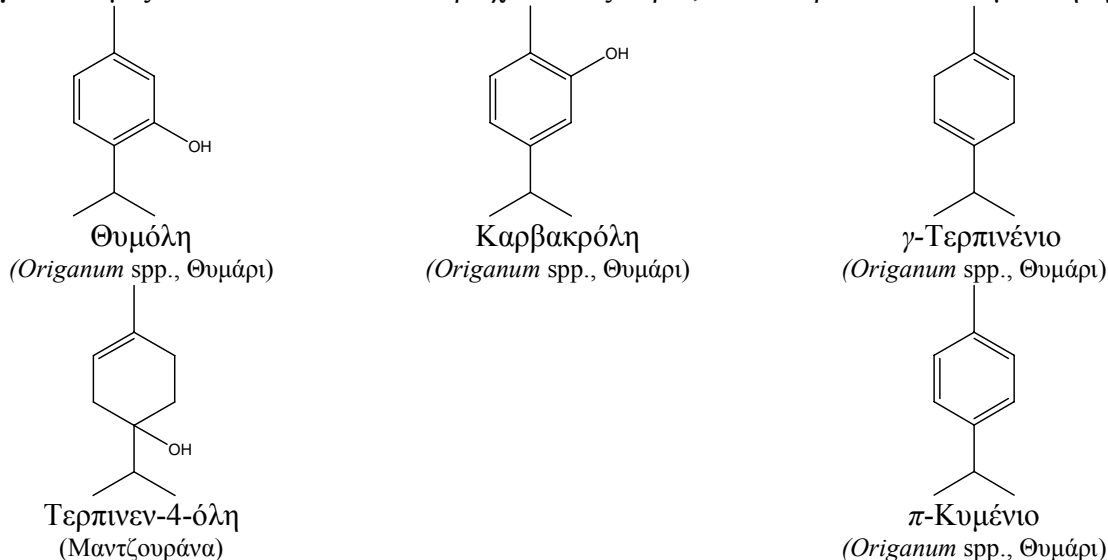
**Πίνακας 2.** Χημική σύσταση των αιθερίων ελαίων από Ρίγανη (P2-Φωκίδα), Θυμαρί (Θ2-Νάξος), Δίκταμο (Δ2-Κρήτη), Μαντζουράνα (M2-Αττική), που χρησιμοποιήθηκαν στα πειράματα με τους μύκητες *Botrytis cinerea* και *Fusarium* sp. και το βακτήριο *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*.

Συστατικό	Σύσταση (%)			
	Ρίγανη P2	Θυμαρί Θ2	Δίκταμος Δ2	Μαντζουράνα M2
<b>Υδρογονάνθρακες</b>				
α-Πινένιο	0,5	0,8	0,5	0,7
Καμφθένιο	-	0,1	-	tr
β-Πινένιο	0,3	0,1	-	0,4
β-Μυρκενίο	1,0	1,1	0,5	1,3
<b>α-Τερπινένιο</b>	<b>1,4</b>	<b>0,8</b>	<b>1,1</b>	<b>5,4</b>
<b>π-Κυμένιο</b>	<b>13,0</b>	<b>5,4</b>	<b>20,3</b>	<b>5,8</b>
β-Φελλανδρένιο	-	tr	-	1,8
<b>γ-Τερπινένιο</b>	<b>7,5</b>	<b>2,6</b>	<b>3,9</b>	<b>9,3</b>
Τερπινολένιο	0,1	0,2	0,1	1,5
β-Καρυφυλλένιο	1,0	2,7	1,0	1,0
<b>Αλκοόλες</b>				
<b>Λιναλοόλη</b>	-	<b>0,4</b>	<b>1,3</b>	<b>5,6</b>
Βορνεόλη	-	0,2	0,1	0,5
<b>Τερπινεν-4-όλη</b>	<b>0,3</b>	<b>0,5</b>	<b>0,9</b>	<b>9,4</b>
α-Τερπινεόλη	-	0,1	-	2,4
<b>Φαινόλες</b>				
<b>Θυμόλη</b>	<b>63,7</b>	<b>0,2</b>	<b>2,6</b>	<b>0,8</b>
<b>Καρβακρόλη</b>	<b>8,6</b>	<b>81,5</b>	<b>64,1</b>	<b>45,1</b>
<b>Αιθέρες και Κετόνες</b>				
Οξειδίο καρυφυλλενίου	0,2	0,5	0,5	-
<b>Εστέρες</b>				
Οξικός εστέρας λιναλοόλης	-	-	-	0,8
Οξικός εστέρας νερόλης	-	-	-	0,3
Οξικός εστέρας γερανιόλης	-	-	-	0,5
Σύνολο	97,6	97,2	96,7	92,6
<b>Απόδοση σε Αιθέριο έλαιο (mL/100g)</b>	<b>5,2</b>	<b>4,0</b>	<b>1,7</b>	<b>4,4</b>

tr, ίχνη < 0.05 %

Γενικά, τα αιθέρια έλαια της ρίγανης, του θυμαριού και του δίκταμου χαρακτηρίζονται από ουσίες που ανήκουν στις ομάδες των φαινολών και των υδρογονανθράκων, ενώ στο αιθέριο έλαιο της μαντζουράνας συμμετέχουν και αλκοόλες (Σχήμα 1, Πίνακες 1, 2).

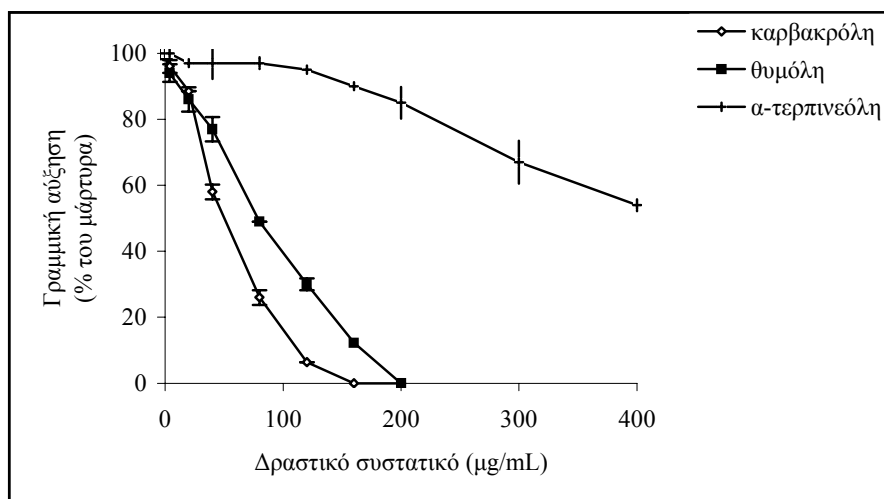
**Σχήμα 1.** Δομές των συστατικών που περιέχονται ως κύρια, στα αιθέρια έλαια που μελετήθηκαν.



## Δ.2. Επίδραση μονοτερπενίων εμπορίου στη γραμμική αύξηση του μύκητα *Penicillium digitatum*.

Από τα πειράματα μέτρησης της γραμμικής αύξησης του μύκητα *Penicillium digitatum* υπό την επίδραση των μονοτερπενίων, διαπιστώθηκε ότι η θυμόλη και η καρβακρόλη είχαν ισχυρή μυκητοτοξική δράση, με σημαντικά μικρότερη εκείνη της  $\alpha$ -τερπινεόλης (Διάγραμμα 1).

Η καρβακρόλη και η θυμόλη σε συγκεντρώσεις 160  $\mu\text{g}/\text{mL}$  και 200  $\mu\text{g}/\text{mL}$  αντίστοιχα, προκάλεσαν ολική παρεμπόδιση (MIC) της ανάπτυξης των αποικιών του μύκητα. Η συγκέντρωση που προκαλεί μείωση στην αύξηση κατά 50% ( $\text{ED}_{50}$ ) προσδιορίστηκε για τη θυμόλη και καρβακρόλη στα 79  $\mu\text{g}/\text{mL}$  και 47  $\mu\text{g}/\text{mL}$ , αντίστοιχα.

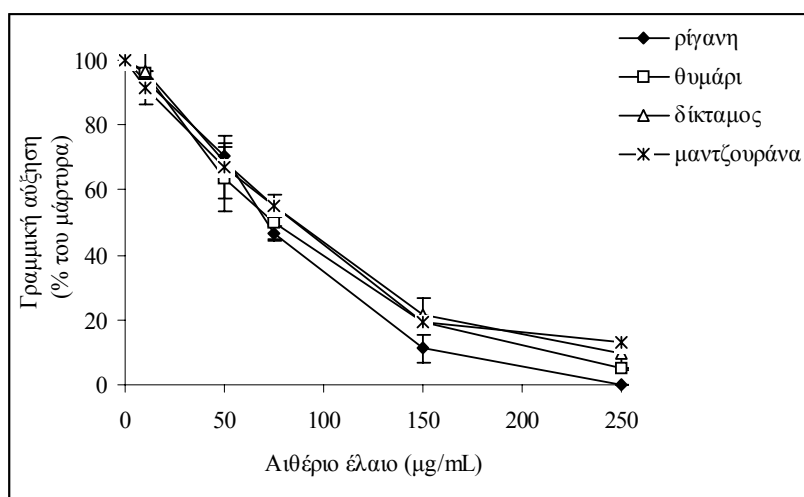


**Διάγραμμα 1.** Επίδραση καρβακρόλης, θυμόλης και  $\alpha$ -τερπινεόλης στη γραμμική αύξηση του μύκητα *P. digitatum* σε θρεπτικό υπόστρωμα PDA.

Η α-τερπινεόλη, στη συγκέντρωση των 400 µg/mL παρεμποδίζει την ανάπτυξη 46%. Το π-κυμένιο, το γ-τερπινένιο, δεν έδειξαν μυκητοτοξική δράση.

### Δ.3. Επίδραση αιθερίων ελαίων στη γραμμική αύξηση, στη βλάστηση και παραγωγή κονιδίων του μύκητα *Penicillium digitatum*.

Τα αιθέρια έλαια της ρίγανης, του θυμαριού, του δίκταμου και της μαντζουράνας, έδειξαν διαφορετικά επίπεδα δράσης στη γραμμική αύξηση, στη βλάστηση και παραγωγή κονιδίων του μύκητα *Penicillium digitatum*, η οποία είναι συνάρτηση της δραστηκής ή των δραστηκών ουσιών που περιέχουν και της φυσιολογικής λειτουργίας του μύκητα (Διάγραμμα 2). Σε συγκεντρώσεις 250, 300, 300, και 400 µg/mL, τα αιθέρια έλαια της ρίγανης, του θυμαριού, του δίκταμου και της μαντζουράνας αντίστοιχα, προκάλεσαν πλήρη παρεμπόδιση της γραμμικής ανάπτυξης των αποικιών του μύκητα. Οι τιμές ED<sub>50</sub> για τα αιθέρια έλαια της ρίγανης και του θυμαριού προσδιορίστηκε στα 71,5 και 80,2 µg/mL αντίστοιχα, ενώ για το δίκταμο και τη μαντζουράνα στα 87,2 µg/mL.



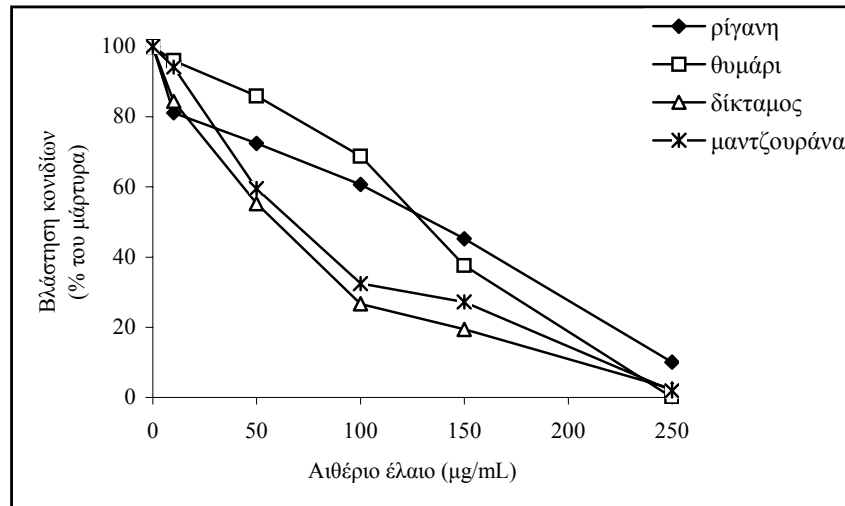
**Διάγραμμα 2.** Επίδραση των αιθερίων ελαίων ρίγανης, θυμαριού, δίκταμου και μαντζουράνας στη γραμμική αύξηση του μύκητα *P. digitatum* σε θρεπτικό υπόστρωμα PDA.

Ιδιαίτερα σημαντικά κρίνονται τα αποτελέσματα που αφορούν τα αιθέρια έλαια του δίκταμου και της μαντζουράνας, διότι συγκρίνονται άμεσα με αυτά της ρίγανης και του θυμαριού, τα οποία θεωρούνται αντιμικροβιακά συστήματα με ισχυρή δράση.

Συνδυάζοντας τη χημική σύσταση των αιθερίων ελαίων με τη δραστηκότητά τους προκύπτει πως τα πιο δραστηκά έλαια είναι αυτά που περιέχουν σε υψηλά ποσοστά θυμόλη και καρβακρόλη. Το αιθέριο έλαιο της ρίγανης και του θυμαριού περιέχουν θυμόλη/καρβακρόλη σε ποσοστά 63,3/7,8% και 63,6/2,2%, αντίστοιχα, ενώ ο δίκταμος περιέχει μόνο θυμόλη σε ποσοστό 78%. Παρατηρείται, πως ο συνδυασμός θυμόλης και καρβακρόλης στο αιθέριο έλαιο έχει μεγαλύτερη επίδραση απ' ότι αν χρησιμοποιηθεί ένα αιθέριο έλαιο με αυξημένα ποσοστά μίας μόνο ουσίας. Επιπλέον, η δράση του αιθερίου ελαίου είναι ισχυρότερη από αυτή της καθαρής δραστηκής ουσίας. Αυτό φαίνεται εντονότερα στην περίπτωση της μαντζουράνας, η οποία ενώ περιέχει καρβακρόλη σε ποσοστό μόνο 16,8% επιδεικνύει αυξημένη βιολογική δράση. Πιθανόν, και άλλες ουσίες που υπάρχουν στο μίγμα, όπως η α-τερπινεόλη, να συνεισφέρουν στη συνολική δράση του αιθερίου ελαίου.



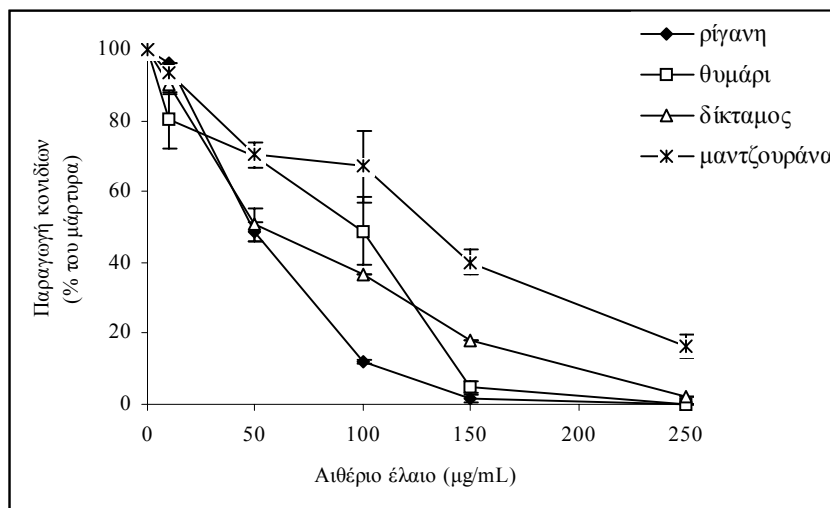
Τα αιθέρια έλαια της ρίγανης, του θυμαριού, του δίκταμου και της μαντζουράνας παρεμπόδισαν πλήρως τη βλάστηση των κονιδίων σε συγκεντρώσεις περί τα 250  $\mu\text{g}/\text{mL}$  (Διάγραμμα 4). Η καρβακρόλη έδειξε ανάλογη μυκητοτοξικότητα στη βλάστηση των κονιδίων του *P. digitatum*, με MIC που προσδιορίστηκε στο επίπεδο των 250  $\mu\text{g}/\text{mL}$  από τους Caccioni and Guizzardi (1994).



**Διάγραμμα 4.** Επίδραση των αιθερίων ελαίων των φυτών ρίγανης, θυμαριού, δίκταμου και μαντζουράνας στη βλάστηση κονιδίων του μύκητα *P. digitatum* σε θρεπτικό υπόστρωμα PDA.

Η  $ED_{50}$  για τα αιθέρια έλαια της ρίγανης και του θυμαριού υπολογίστηκε στα 60 και 65,5  $\mu\text{g}/\text{mL}$  αντίστοιχα, ενώ για το δίκταμο και τη μαντζουράνα στα 131  $\mu\text{g}/\text{mL}$ .

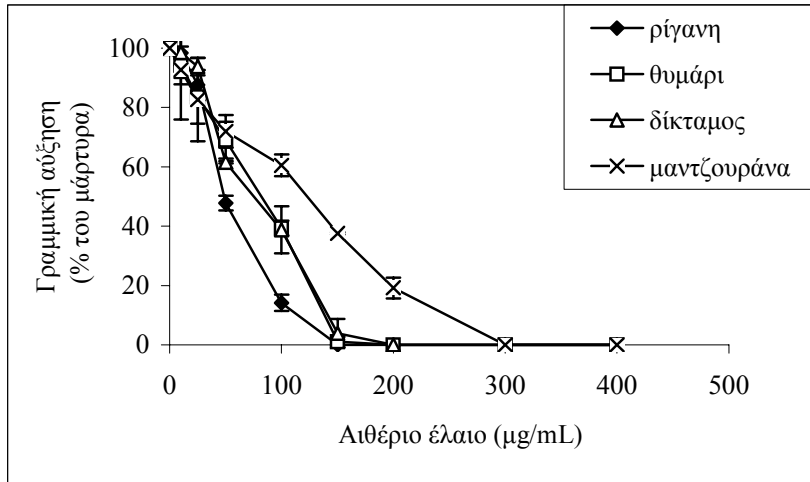
Η παραγωγή κονιδίων του μύκητα επηρεάστηκε από τα αιθέρια έλαια της ρίγανης, του θυμαριού, του δίκταμου και της μαντζουράνας. Στη συγκέντρωση 250  $\mu\text{g}/\text{mL}$ , τα μεν τρία πρώτα έλαια παρεμπόδισαν πλήρως την παραγωγή κονιδίων και η μαντζουράνα κατά 84% (Διάγραμμα 5).



**Διάγραμμα 5.** Επίδραση των αιθερίων ελαίων των φυτών ρίγανης, θυμαριού, δίκταμου και μαντζουράνας στη παραγωγή κονιδίων του μύκητα *P. digitatum* σε θρεπτικό υπόστρωμα PDA.

#### Δ.4. Επίδραση αιθερίων ελαίων στη γραμμική αύξηση του μύκητα *Botrytis cinerea*

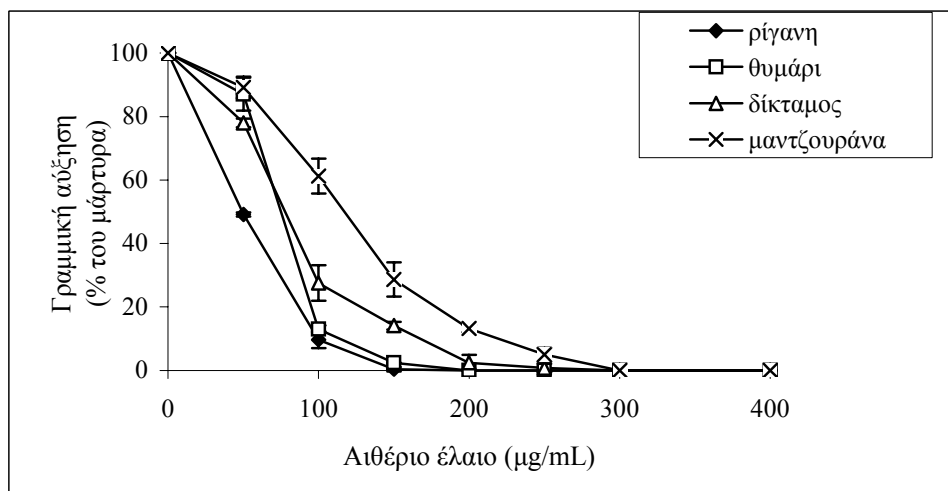
Όλα τα αιθέρια έλαια έδειξαν αξιόλογη παρεμποδιστική δράση στη γραμμική αύξηση του μύκητα *Botrytis cinerea*. (Διαγράμμα 6). Σε συγκεντρώσεις 150, 150, 200, και 300  $\mu\text{g}/\text{mL}$  τα αιθέρια έλαια της ρίγανης, του θυμαριού, του δίκταμου και της μαντζουράνας αντίστοιχα, προκάλεσαν πλήρη παρεμπόδιση στην γραμμική αύξηση του μύκητα.



**Διάγραμμα 6.** Επίδραση των αιθερίων ελαίων των φυτών ρίγανης, θυμαριού, δίκταμου, και μαντζουράνας στη γραμμική αύξηση του μύκητα *B. cinerea* σε θρεπτικό υπόστρωμα PDA.

#### Δ.5. Επίδραση αιθερίων ελαίων στη γραμμική αύξηση του μύκητα *Fusarium sp.* (*Fusarium solani* var. *coeruleum*)

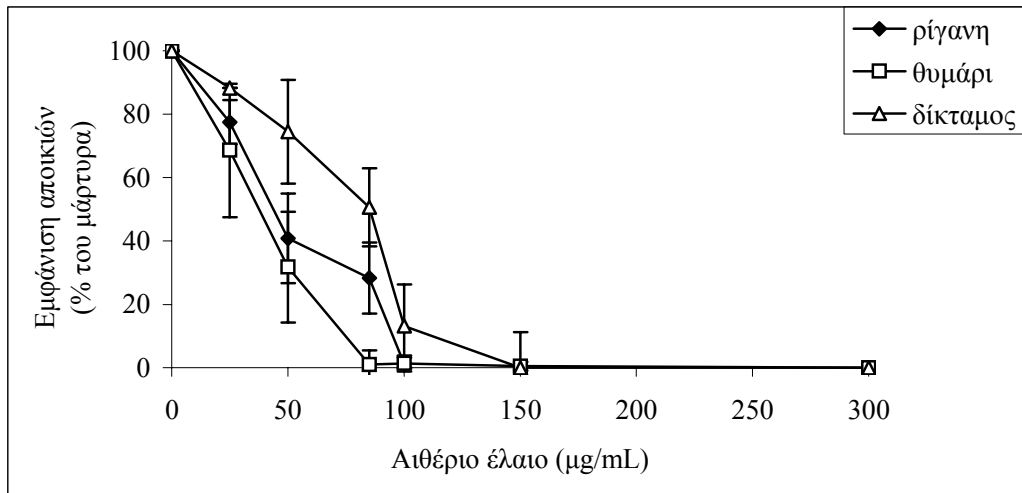
Όλα τα αιθέρια έλαια έδειξαν αξιόλογη παρεμποδιστική δράση στη γραμμική αύξηση του μύκητα *Fusarium sp.*, όπως και στην περίπτωση του μύκητα *B. cinerea*. (Διάγραμμα 7). Σε συγκεντρώσεις 150, 200, 250 και 300  $\mu\text{g}/\text{mL}$  τα αιθέρια έλαια της ρίγανης, του θυμαριού, του δίκταμου και της μαντζουράνας αντίστοιχα, προκάλεσαν ολική αναστολή της ανάπτυξης των αποικιών του μύκητα.



**Διάγραμμα 7.** Επίδραση των αιθερίων ελαίων των φυτών ρίγανης, θυμαριού, δίκταμου, και μαντζουράνας στη γραμμική αύξηση του μύκητα *Fusarium sp.* σε θρεπτικό υπόστρωμα PDA.

#### Α.6. Επίδραση αιθερίων ελαίων στην ικανότητα σχηματισμού αποικιών του βακτηρίου *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*

Τα αιθέρια έλαια της ρίγανης, του θυμαριού και του δίκταμου έδειξαν αξιόλογη παρεμποδιστική δράση στην ικανότητα σχηματισμού αποικιών του βακτηρίου *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* σε τριβλία NA, (Διαγράμμα 8).



**Διάγραμμα 8.** Επίδραση των αιθερίων ελαίων των φυτών ρίγανης, θυμαριού, και δίκταμου στην ικανότητα σχηματισμού αποικιών του βακτηρίου *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* σε θρεπτικό υπόστρωμα NA.

Συγκέντρωση 150 μg/mL αιθερίου ελαίου ρίγανης, θυμαριού και δίκταμου παρεμπόδισε την ικανότητα του βακτηρίου να σχηματίζει αποικίες στο θρεπτικό υλικό NA, σε σχέση με τον μάρτυρα.

Η ED<sub>50</sub> για τα αιθέρια έλαια έναντι των μικροοργανισμών *Botrytis cinerea*, *Fusarium* sp., and *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* παρουσιάζεται στον πίνακα 3.

**Πίνακας 3.** Μέση αποτελεσματική συγκέντρωση των εξετασθέντων αιθερίων ελαίων στους μικροοργανισμούς *Botrytis cinerea*, *Fusarium* sp., and *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*.

Προέλευση Αιθερίου Ελαίου	EC <sub>50</sub> <sup>a</sup>		EC <sub>50</sub> <sup>b</sup>
	<i>B. cinerea</i>	<i>Fusarium</i> . sp.	<i>C. michiganensis</i> subsp. <i>michiganensis</i>
Ρίγανη (Φωκίδα)	50	50	67
Θυμάρι (Νάξος)	83	71	39
Δίκταμος (Κρήτη)	67	76	88
Μαντζουράνα (Αττική)	143	120	119

<sup>a</sup> Η συγκέντρωση των αιθερίων ελαίων (μg/mL) που προκαλεί 50% μείωση στη γραμμική αύξηση των μυκήτων σε PDA.

<sup>b</sup> Η συγκέντρωση των αιθερίων ελαίων (μg/mL) που προκαλεί 50% μείωση στην ικανότητα σχηματισμού αποικιών του βακτηρίου σε NA.

Από τα παραπάνω αποτελέσματα προκύπτει πως το βακτήριο *C. michiganensis* subsp. *michiganensis* δείχνει μεγαλύτερη ευαισθησία στη δράση των αιθερίων ελαίων, σε σχέση με τους μύκητες (Πίνακας 3).

Συνδυάζοντας τα αποτελέσματα των πινάκων 1, 2 και 3 προκύπτει πως τα πιο δραστικά αιθέρια έλαια είναι αυτά που περιέχουν σε υψηλά ποσοστά τις δραστικές ουσίες θυμόλη και καρβακρόλη. Έτσι, το αποτέλεσμα από τη βιολογική δράση των αιθερίων ελαίων δεν καθορίζεται αυστηρά από την κύρια ουσία του, που μπορεί να έχει ή όχι παρεμποδιστική δράση, αλλά και από τις υπόλοιπες ουσίες που περιέχει και πιθανόν να έχουν συνεργιστικό ή ανταγωνιστικό χαρακτήρα σε σχέση με αυτή.

#### **Δ.7. Συμπεράσματα**

Από τη μελέτη της χημικής σύστασης των αιθερίων ελαίων της ρίγανης, του θυμαριού, του δίκταμου και της μαντζουράνας προέκυψε πως περιέχουν κυρίως θυμόλη ή/και καρβακρόλη, οι οποίες συνοδεύονται πάντα από γ-τερπινένιο και π-κυμένιο. Επιπλέον, στη μαντζουράνα προσδιορίστηκε ένα αξιόλογο κλάσμα τερπενικών αλκοολών όπως η λιναλοόλη, η τερπινεν-4-όλη και η α-τερπινεόλη.

Ο χημειότυπος του αιθερίου ελαίου της μαντζουράνας (*Origanum majorana*) αναφέρεται για την Ελλάδα πρώτη φορά, σύμφωνα με τα μέχρι τώρα βιβλιογραφικά δεδομένα.

Τα αιθέρια έλαια επιδεικνύουν διάφορα επίπεδα αντιμικροβιακής δράσης που εξαρτάται από το είδος του αρωματικού φυτού και του φυτοπαθογόνου. Η βιοδραστικότητα των αιθερίων ελαίων του δίκταμου και της μαντζουράνας συγκρίνεται άμεσα με αυτή της ρίγανης και του θυμαριού.

Τα αιθέρια έλαια που περιέχουν θυμόλη και καρβακρόλη έχουν ισχυρή και ευρέους φάσματος δράση σε σχετικά χαμηλές συγκεντρώσεις.

Η βιολογική δράση ενός αιθερίου ελαίου είναι αποτέλεσμα της δράσης όλων των ουσιών που συμμετέχουν σε αυτό.

#### **Ενδεικτική βιβλιογραφία**

1. Adam, K., Sivropoulou, A., Kokkini, S., Lanaras, T., Arsenakis, M. 1998. Antifungal activities of *Origanum vulgare* subsp. *hirtum*, *Mentha spicata*, *Lavandula angustifolia*, and *Salvia fruticosa* essential oils against human pathogenic fungi. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 46: 1739-1745.
2. Adam, K., Sivropoulou, A., Kokkini, S., Lanaras, T., Arsenakis, M. 1998. Antifungal activities of *Origanum vulgare* subsp. *hirtum*, *Mentha spicata*, *Lavandula angustifolia*, and *Salvia fruticosa* essential oils against human pathogenic fungi. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 46: 1739-1745.
3. Arras, G. Piga, A. D'hallewin, G. 1993. The use of *Thymus capitatus* essential oil under vacuum conditions to control *Penicillium digitatum* development on citrus fruit. *Acta Horticulturae*. 344, 147.
4. Caccioni, D. R. L. Guizzardi, M. 1994. Inhibition of Germination and Growth of Fruit and Vegetable Postharvest Pathogenic Fungi by Essential Oil Components. *Journal of Essential Oil Research*. 6; 2, 173.
5. Daferera D. J., Ziogas B. N., Polissiou M. G. 2000. GC-MS Analysis of Essential Oils from Some Greek Aromatic Plants and their Fungitoxicity on *Penicillium digitatum*, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48, 2576-2581,

6. Daferera, D. J. Tarantilis, P. A. and Polissiou M. G. 2002. Characterization of Essential Oils from Lamiaceae Species by Fourier Transform Raman Spectroscopy. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50: 5503-5507.
7. Daferera, D. J. Ziogas, B. N. Polissiou, M. G. 2000. GC-MS Analysis of Essential Oils from Some Greek Aromatic Plants and Their Fungitoxicity on *Penicillium digitatum* *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 48; 6, 2576-2581.
8. Daferera, D. J. Ziogas, B. N. Polissiou, M. G. 2003. The effectiveness of plant essential oils on the growth of *Botrytis cinerea*, *Fusarium sp.* and *Clavibacter michiganensis subsp. Michiganensis*. *Crop Protection*. 22; 1, 39-44.
9. Gardini, F. Lanciotti, R. Guerzoni, M. E. 2001. Effect of trans-2-hexenal on the growth of *Aspergillus flavus* in relation to its concentration, temperature and water activity *Letters in Applied Microbiology*. 33; 1, 50-55.
10. Helander, I. M. Alakomi, H.-L. Latva-Kala, K. Mattila-Sandholm, T. Pol, I. Eddy, I. Smid, E. J. Gorris, L. G. M. Von Wright, A. 1998. Characterization of the Action of Selected Essential Oil Components on Gram-Negative Bacteria. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 46; 9, 3590-3595.
11. Isman, M. B. 2000. Plant essential oils for pest and disease management *Crop Protection*. 19; 8-10, 603-608.
12. Karousou, R. Koureas, D. N. Kokkini, S. 2005. Essential oil composition is related to the natural habitats: *Coridothymus capitatus* and *Satureja thymbra* in NATURA 2000 sites of Crete. *Phytochemistry* 66; 22, 2668-2673.
13. Karpouhtsis, I., Pardali, E., Feggou, E., Kokkini, S., Scouras, Z., Mavragani-Tsipidou, P. 1998. Insecticidal and genotoxic activities of oregano essential oils. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 46: 1111-1115.
14. Kokkini, S., Karousou, R., Dardioti, A., Krigas, N., Lanaras, T. 1997. Autumn essential oils of Greek oregano. *Phytochemistry* 44: 883-886
15. Kokkini, S., Karousou, R., Vokou, D. 1994. Pattern of geographic variation of *Origanum vulgare* trichomes and essential oil content in Greece. *Biochemical Systematics and Ecology* 22: 517-528.
16. Kokkini, S., Vokou, D., Karousou, R. 1991. Morphological and chemical variation of *Origanum vulgare* L. in Greece. *Botanica Chronica* 10: 337-346.
17. Ody Penelope, *The Herbs Society's Complete Medicinal Herbal*. Dorling Kindersley limited, London 1993. Για την Ελληνική γλώσσα Διον. Γιαλλελής & Σια Ο.Ε. Αθήνα 1994.
18. Paster, N., Juven, B.J., Shaaya, E., Menasherov, M., Nitjan, R., Weisslowicz, H., Ravid, U. 1990. Inhibitory effect of oregano and thymes essential oils on moulds and foodborne bacteria, *Letters in Applied Microbiology*. 11: 33-37.
19. Siatis, N. G. Kimbaris, A. C. Pappas, C. S. Tarantilis, P. A. Daferera, D. J. Polissiou, M. G. 2005. Rapid Method for Simultaneous Quantitative Determination of Four Major Essential Oil Components from Oregano (*Oreganum sp.*) and Thyme (*Thymus sp.*) Using FT-Raman Spectroscopy *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 53; 2, 202-206.
20. Sivropoulou, A., Papanicolaou, E., Nikolaou, C., Kokkini, S., Lanaras, T., Arsenakis, M. 1996. Antimicrobial and cytotoxic activities of *Origanum* essential oils. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 44: 1202-1205.
21. Takaisi-Kikuni, N. B. Krueger, D. Gnann, W. Wecke, J. 1996. Microcalorimetric and electron microscopic investigation on the effects of essential oil from *Cymbopogon densiflorus* on *Staphylococcus aureus*. *Microbios* 88; 354, 55-62.