



ΓΕΩΠΟΝΙΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ

ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ ΓΕΝΙΚΟΥ ΤΜΗΜΑΤΟΣ
ΘΕΤΙΚΕΣ ΕΠΙΣΤΗΜΕΣ ΣΤΗ ΓΕΩΠΟΝΙΑ
ΚΛΑΔΟΣ ΙΙΙ ΜΕΛΕΤΗ ΚΑΙ ΑΞΙΟΠΟΙΗΣΗ ΦΥΣΙΚΩΝ ΠΡΟΙΟΝΤΩΝ

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

*«Μελέτη των αιθερίων ελαίων των αυτοφυών ειδών της οικογένειας
Fabaceae στην Ελλάδα»*



ΑΘΗΝΑ 2014

Ελένη Καρούσου



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

Μεταπτυχιακή Διατριβή με τίτλο:

«Μελέτη των αιθερίων ελαίων των αυτοφυών ειδών της οικογένειας Fabaceae
στην Ελλάδα»

Ελένη Καρούσου

Γεωπόνος

Επιβλέπων:

Χαρουτουιάν Σέρκο, Καθηγητής Γ.Π.Α.

Εξεταστική Επιτροπή:

Γεωργίου Κωνσταντίνος, Καθηγητής Γ.Π.Α.

Ταραντίλης Πέτρος, Καθηγητής Γ.Π.Α.

Χαρουτουιάν Σέρκο, Καθηγητής Γ.Π.Α.

ΑΘΗΝΑ 2014

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Η παρούσα εργασία έλαβε χώρα κατά το χρονικό διάστημα 2013-2014 και πραγματοποιήθηκε στο Εργαστήριο Χημείας του Γενικού Τμήματος του Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών.

Θα ήθελα, αρχικά, να ευχαριστήσω τον επιβλέποντα καθηγητή κ. Σέρκο Χαρουτουγιάν για την ανάθεση του συγκεκριμένου θέματος και την καθοδήγησή του κατά τη διάρκεια εκπόνησης της εργασίας. Ιδιαίτέρως, ευχαριστώ τον Επαμεινώνδα Ευεργέτη για την αμέριστη συμπαράσταση και την υπομονή του καθόλη την διάρκεια της πειραματικής διαδικασίας. Επίσης, ευχαριστώ πολύ και την υποψήφια Διδάκτορα Άννα Αποστόλου και την Μεταπτυχιακή φοιτήτρια Βάνα Καψάσκη για την καθοδήγηση και τη βοήθειά τους κατά την διάρκεια των πειραμάτων, καθώς και για την άριστη συνεργασία που είχαμε στο εργαστήριο. Επίσης, ευχαριστώ και την Δρ. Σοφία Κουλοχέρη για τις υποδείξεις και τις σημαντικές παρατηρήσεις της επάνω στην εργασία.

Τέλος, ευχαριστώ θερμά τα άτομα που σταθήκαν δίπλα μου, κατά τη διάρκεια αυτής της εργασίας.

Σχεδιασμος και Στοιχοι της Διατριβης

Τα τελευταία χρόνια υπάρχει ολοένα και αυξανόμενη τάση για τη μελέτη των αιθερίων ελαίων καθότι οι χρήσεις τους πλέον βρίσκουν εφαρμογή σε πάρα πολλούς τομείς όπως της γεωργίας, της ιατρικής, της φαρμακευτικής βιομηχανίας και της βιοτεχνολογίας. Ο κλάδος της μελέτης των αιθερίων ελαίων είναι συνεχώς αναπτυσσόμενος αλλά επειδή η παγκόσμια ποικιλότητα είναι πολύ μεγάλη, υπάρχουν αρκετές οικογένειες φυτών οι οποίες παραμένουν αναξιοποίητες ως προς αυτόν τον κλάδο. Σε αυτήν την κατηγορία ανήκει και η οικογένεια των φυτών (Fabaceae) που επιλέχθηκε να μελετηθεί ως προς τη σύστασή της στην παρούσα μεταπτυχιακή διατριβή.

Κατά την ανασκόπηση της βιβλιογραφίας όλες οι μελέτες που αφορούσαν τη συγκεκριμένη οικογένεια περιστρεφόντουσαν γύρω από τις ιδιότητες των εκχυλισμάτων τους, τη διατροφική αξία των καλλιεργούμενων ποικιλιών και ελάχιστες αναφορές για τα αιθέρια έλαιά τους. Στις διάφορες μελέτες, η αφορμή της ενασχόλησης με είδη της οικογένειας αυτής ήταν οι χρήσεις τους στη λαϊκή φαρμακευτική και βάση των παρατηρήσεων που είχαν προκύψει ως προς τις εντομοπροσελκυστικές τους ιδιότητες.

Πρωταρχικός στόχος της μελέτης ήταν να βρεθεί φυτικό υλικό αυτοφύες από τα φυτά της οικογενείας στην Ελλάδα που έχουν εντομοπροσελκυστικές ιδιότητες και είναι πολυετή, κυρίως ως προς τη διευκόλυνσή για την επανάληψη της συγκομιδής σε μελλοντικές μελέτες. Η συγκομιδή έγινε στη φάση της άνθισης όπου η εντομοπροσελκυστική ιδιότητα θα ήταν εμφανής και σύμφωνα με τη βιβλιογραφία κατά τη φάση της άνθισης πραγματοποιείται η μεγαλύτερη διακίνηση συστατικών στα φυτά.

Για την πραγματοποίηση της μελέτης συγκομίστηκε φυτικό δείγμα τον Απρίλιο του 2014 από τα είδη *Psoralea butiminosa*, από τις περιοχές Σύμη και Αντίκυρα, *Spartium junceum* από την περιοχή Αντίκυρα, *Anagyris foetida* από την περιοχή της Σύμης και *Coronilla sp.* από την περιοχή της Πάρου. Τα δείγματα συλλέχθηκαν και τοποθετήθηκαν σε βαθειά κατάψυξη μέχρι την εργαστηριακή παραλαβή του αιθερίου ελαίου. Ο τρόπος με τον οποίο πραγματοποιήθηκε η εργαστηριακή παραλαβή του αιθερίου ελαίου ήταν με την κλασσική μέθοδο της υδροαπόσταξης. Η απόδοση του αιθερίου ελαίου ήταν μικρότερη του 0,1mL και το πυκνό αιθέριο έλαιο αφυδατώθηκε με άνυδρο θειϊκό νάτριο. Ακολούθησε το ξέπλυμα της στήλης με πέντανιο για την παραλαβή του αραιού αιθερίου ελαίου.

Τα δείγματα τοποθετήθηκαν στην κατάψυξη για την ανάλυση με το GC-MS. Με τη βοήθεια του GC-MS πραγματοποιήθηκε η ανάλυση των συστατικών των δειγμάτων και προκύψαν τα αποτελέσματα. Τα δείγματα από τη *Psoralea butiminosae*, και το *Spartium junceum* μπόρεσαν, ως ενός σημείου, να συγκριθούν με τη βιβλιογραφία, καθότι μόνο δύο μελέτες (μία για το κάθε είδος) είχαν χρησιμοποιήσει τη μέθοδο της υδροαπόσταξης για την παραλαβή των αιθερίων ελαίων. Συνολικά υπήρχαν δύο αναφορές για μελέτη αιθερίου ελαίου για τα είδη *Psoralea butiminosae* και *Spartium junceum*. Για τα άλλα είδη τα οποία εξετάστηκαν στην παρούσα μελέτη τα αποτελέσματα είναι μοναδικά καθότι στην βιβλιογραφία δεν βρεθήκαν αναφορές. Τα συστατικά τα οποία ξεχώρισαν είναι η ύπαρξη καρυφολλενίου και στα δύο δείγματα *Psoralea butiminosae*, σημαντικό αναλγητικό και αντιφλεγμονώδες μόριο. Σημαντικά μόρια στο είδος *Anagyris foetida* παράγωγα οκτενόλης, σημαντικά μόρια με εντομοελκυστικές ιδιότητες. Στο είδος *Spartium junceum* παρατηρήθηκε κύριο συστατικό το ξυλένιο και δύο ουσίες που δεν μπόρεσαν να αναγνωριστούν και στη *Coronilla sp* η σύστασή

της αποτελούταν κυρίως από το π-ξυλένιο (12,38%) , η οκτανόλη (9,27%) , η 2-πενταδεκανόνη (7,2%), η 9,12,15-οκταδεκατριενάλη (15%), το οκτακοσάνιο (13,43%) ,και το ενεϊκοσάνιο (11,61%) και παρατηρήθηκαν τρεις ουσίες που δεν μπόρεσαν να αναγνωριστούν.

Summary

During the last years, there is a continuously increasing tendency studying and evaluating essential oil. Due their many properties, their evaluation they can find application in many sectors like agriculture, medicine, pharmaceutical industry and biotechnology. Studying and evaluation of the essential oil composition is continuously developing because word while exist many species that remain unexploited concerning the composition of the essential oil. In this sense, it has been decided to study essential oil's composition of Fabaceae family.

In the literature review most of the studies of this plant family were evaluating the properties of plant extracts, their nutrition value and only few reports evaluating the composition of essential oils. The reasons that forced researchers to evaluate plants' essential oil were their uses in folk medicine and their insecticide's attractiveness.

Main purpose of this study was to collect perennial plant material that has the ability to attract insecticides. Perennial plants are necessary because it is easy to collect plant material every year. The collection of plant material took place in spring during the blooming of the flowers. During the blooming it is easy to observe the insecticide attractiveness and it is generally accepted that in most plants during blooming it has been observed synthesis of many compounds.

The plants were collected in spring, April 2014 and the plant materials that that have been collected are *Psoralea butiminosa* from Simi Island and the region of Antikyra, *Spartium junceum* plant material from region of Antikyra, *Anagyris foetida* from Simi Island and *Coronilla sp.* from Paros Island. The plant material was collected and then was put it in deep freeze until the collection of the essential oil in the laboratory with the method of hydro

distillation. The quantity of essential oil was less than 0.1 ml. by the time essential oil was collected, solvent of pentane was used to collect minor quantities that have remain on the Clevengere. The samples were putted in deep freezing until the analysis in GC-MS machine.

According the review it was difficult to collect information and compare the data because there were no references for the essentials' oils composition of those species, and general few references of the composition of essential oil of Fabaceae family. References for the composition of essential oil were found for *Psoralea butiminosa* and *Spartium junceum*. For the other plants the composition of essential oil was first time studied. Most important compound of *Psoralea butiminosa* was caryophellyne, a-caryophyllene and caryophyllene oxide that have inflammatory and analgesic biological activities. The presence of caryophyllene products was found in others references. In *Anagyris foetida* was found octenol products that present insecticide's attractiveness. The study about *Spartium junceum* point out that the compound xylene was in high concentration in the sample and two compounds unidentified. In *Coronilla sp.* were observed compounds like xylene, octanol and three compounds unidentified.

Κεφάλαιο 1: Εισαγωγή

1.1 Εισαγωγή

1.2 Εξάπλωση και Οικονομική Σημασία

1.3 Βοτανική Ταξινόμηση

1.4 Γενικά μορφολογικά χαρακτηριστικά

1.4.1 Ριζικό σύστημα

1.4.1.1 Φυμάτια

1.4.2 Βλαστοί και φύλλα

1.4.3 Άνθη και ταξιανθίες

1.4.4 Καρποί και σπόροι

1.5 Θρεπτική σύσταση και αξία των προϊόντων των ψυχανθών

1.5.1 Καρποδοτικά ψυχανθή

1.5.1.1 Χημική σύσταση των σπόρων

1.5.1.2 Θρεπτική αξία και αντιδιατροφικοί παράγοντες

1.5.2. Χορτοδοτικά ψυχανθή

1.5.2.1 Σύσταση του χόρτου και παράγοντες που την επηρεάζουν

1.5.2.2 Θρεπτική αξία χορτοδοτικών

1.6 Αιθέριο έλαιο

1.6.1 Παράγοντες που επηρεάζουν την παραγωγή και τη σύσταση του αιθερίου ελαίου

1.6.1.1 Γενετικά χαρακτηριστικά του είδους

1.6.1.2 Φυσιολογία του φυτού

1.6.1.3 Επίδραση του Περιβάλλοντος

1.6.1.4 Επίδραση του εδάφους

1.6.1.5 Επίδραση αβιοτικών παραγόντων

1.6.1.6 Συγκομιδή του φυτικού δειγματος

1.7 Παραλαβή αιθερίου ελαίου-Ποιοτικός και Ποσοτικός Προσδιορισμός της σύστασής του

1.8 Παγκόσμια μελέτη των αιθερίων ελαίων της οικογένειας Fabaceae

Κεφάλαιο 2 : Υλικά και Μέθοδοι

2.1 Γενικά

2.2 Φυτικό υλικό

2.3 Παραλαβή και Απόδοση αιθερίου ελαίου

2.3.1 Προετοιμασία δείγματος και παραλαβή αιθέριου ελαίου

2.4 Ανάλυση δείγματος σε αέριο χρωματογράφο με ανιχνευτή φασματογράφο μάζας,GC-MS.

Κεφάλαιο 3 : Αποτελέσματα

3.1 Ανάλυση της σύστασης των αιθερίων ελαίων με χρήση μηχανήματος GC-MS.

3.2 Μελέτη των ιδιοτήτων των συστατικών των υπό εξέταση αιθερίων ελαίων

Κεφάλαιο 4: Μελλοντικές Προτάσεις-Προοπτικές

Κεφάλαιο 5 : Βιβλιογραφία

1.1 Εισαγωγή

Η οικογένεια *Fabaceae*, που ονομάζεται επίσης *Leguminosae*, είναι η τρίτη μεγαλύτερη οικογένεια των αγγειόσπερμων, μετά από την οικογένεια *Orchidaceae* και την οικογένεια *Asteraceae*, και άποψη της γεωργικής και οικονομικής σημασίας η αποτελεί τη δεύτερη μεγαλύτερη οικογένεια μετά την οικογένεια *Graminae* (Αγρωστώδη).

Σε αυτήν περιλαμβάνονται τα όσπρια, είδη μεγάλης παγκόσμιας σπουδαιότητας για την ανθρώπινη και τη ζωική διατροφή. Περιλαμβάνει είδη από τα οποία παράγονται φυτικές ίνες, καύσιμα, λιπάσματα, ξυλεία, φυτικά έλαια και επίσης χρησιμεύουν ακόμα και ως καλλωπιστικά φυτά (Lewis et al., 2005). Επιπλέον, η οικογένεια περιλαμβάνει πολλά είδη που μελετήθηκαν ως γενετικά και γονιδιωματικά μοντέλα (π.χ. *Pisum sativum*, *Medicago truncatula*, *Lotus corniculatus*).

Η οικογένεια *Fabaceae* έχει μεγάλη ποικιλία ειδών συμπεριλαμβανομένου, ετήσιες και πολυετείς πόες, θάμνους, δέντρα, ακόμη και υδροχαρή φυτά. Το μέγεθος τους διαφέρει και περιλαμβάνει μερικά από τα μικρότερα φυτά των ερήμων και των αρκτικών-αλπικών περιοχών έως τα ψηλότερα δέντρα τροπικών περιοχών παγκοσμίως.

Τα ψυχανθή αποτελούν κυρίαρχη συνιστώσα για τους περισσότερους τύπους βλάστησης που κυμαίνονται σε όλες τις εύκρατες και τροπικές περιοχές του κόσμου (Rundel, 1989). Εμφανίζουν ιδιαίτερη ποικιλομορφία από τροπικές περιοχές ως και εύκρατες θαμνώδεις εκτάσεις με εποχιακά ξηρό κλίμα. Αυτή η προτίμηση για ημι-άνυδρους και άνυδρους οικοτόπους είναι σχετικές με το μεταβολισμό του αζώτου.

1.2 Εξαπλωση και Οικονομικη Σημασια

Τα ψυχανθή θεωρούνται φυτά μεγάλης γεωργικής σημασίας και η σημαντικότητά τους για την ανθρώπινη διατροφή ξεκινά χιλιάδες χρόνια πριν. Οι πρώτες αναφορές ξεκινούν με την εξημέρωση της φακής (*Lens esculenta*) στο Ιράν, που χρονολογείται 9.500 έως 8.000 χρόνια πριν. Η χρήση των ψυχανθών εκτείνεται έως και 3.000 χρόνια πριν ως πηγή τροφής, φασολιών, κατά τη διάρκεια της προϊστορίας της Βόρειας και της Νότιας Αμερικής. Ακόμα, υπάρχουν αναφορές για τη χρήση τους από την Ρωμαϊκή Αυτοκρατορία διότι από τότε είχαν αναγνωρισθεί ως σπουδαία πηγή τροφής, αλλά και για τις ιδιότητες των φυτών για την βελτίωση του εδάφους (*Graham και Vance, 2003*).

Σήμερα τα όσπρια είναι μια όλο και πιο πολύτιμη πηγή τροφής, όχι μόνο για τους ανθρώπους, αντιπροσωπεύοντας το 27% της πρωτογενούς παραγωγής των καλλιεργειών του κόσμου, αλλά ως σημαντικός διατροφικός παράγοντας για τη ζωική παραγωγή (*Graham και Vance, 2003*).

Τα όσπρια καλλιεργούνται σε μια έκταση που αποτελεί το 13% της συνολικής καλλιεργήσιμης γης για την καλλιέργεια στον κόσμο (*Gepts et al., 2005*). Τα όσπρια συνεισφέρουν από μόνα τους ως και το 33% των συνολικών διατροφικών αναγκών σε πρωτεΐνες από τον άνθρωπο, ενώ η σόγια (*Glycine max*) και το φιστίκι (*Arachis hypogaea*) αποτελούν πάνω από το 35% του παγκόσμιου επεξεργασμένου φυτικού ελαίου και παράλληλα είναι μια πλούσια πηγή διατροφικής πρωτεΐνης για τα πουλερικά καθώς και το χοιρινό κρέας στις βιομηχανίες (*Graham και Vance, 2003*).

Τα ψυχανθή είναι πρωτεΐνες υψηλής διατροφικής αξίας, είναι φτωχά σε θείο, αλλά περιέχουν αμινοξέα και άλλα θρεπτικά συστατικά απαραίτητα

για την επιβίωση των ανθρώπων και των ζώων, τα οποία ο οργανισμός δεν μπορεί να τα παράγει. Για το λόγο αυτό, τα ψυχανθή και οι καλλιέργειες των δημητριακών συχνά καλλιεργούνται μαζί ώστε να αλληλοσυμπληρώνουν τη διατροφική αξία για να καλύπτουν πλήρως τις διατροφικές ανάγκες (*Gepts et al, 2005*).

Τα ψυχανθή βρίσκουν χρήση και στον τομέα της βιομηχανίας καθώς έχουν πολλές χρήσεις όπως στην παραγωγή βιοδιασπώμενων πλαστικών, στην παραγωγή ελαίων, βαφών αλλά και στην παραγωγή καυσίμων βιοντίζελ.

1.3 Βοτανική Ταξινόμηση

Η οικογένεια *Fabaceae* ή αλλιώς *Leguminosae*, κοινώς οικογένεια των ψυχανθών ανήκει στην τάξη *Fabales*. Η οικογένεια των *Fabaceae* περιλαμβάνει ξυλώδη φυτά που εξαπλώνονται κυρίως στις τροπικές χώρες και ποώδη φυτά που εξαπλώνονται κυρίως στις εξωτροπικές.

Κατά τους Cronquist (1981), Elias (1974) και Robertson & Lee (1976) τα είδη της οικογένειας ταξινομούνται σε τρεις υποοικογένειες :

- Υποοικογένεια *Caesalpinioideae*: Περιλαμβάνει ξυλώδη φυτά κυρίως των τροπικών και των υποτροπικών περιοχών
- Υποοικογένεια *Mimosoideae*: Αποτελεί συνδεδεμένο κρίκο μεταξύ των οικογενειών *Fabaceae* και *Rosaceae*, καθώς παρουσιάζει σαφείς συγγενικές σχέσεις προς τα πλέον εξελιγμένα είδη των ειδών αυτών.
- Υποοικογένεια *Papilionaceae*: Περιλαμβάνει κυρίως ποώδη φυτά και μικρούς θάμνους, σπανίως δένδρα και απαντώνται κυρίως σε ασβεστούχα εδάφη.

Η ταξινόμηση σε αυτές τις τρεις υποοικογένειες έχει βασιστεί στα ιδιαίτερα χαρακτηριστικά των ανθέων (συμπεριλαμβανομένου του μεγέθους και της συμμετρίας), τη σύμφυση των πέταλων και των σέπαλων (ενωμένη και ελεύθερη), των αριθμό των στημόνων, καθώς και την ετερομορφία τους, τη γύρη (μονό ή polyads), την μορφή του σπέρματος και των λοβών, την πολυπλοκότητα των φύλλων και την παρουσία των αζωτοδεσμευτικών ριζών (Lewis et al., 2005).

Οι διαφορές σε αυτά τα χαρακτηριστικά οδήγησαν στην άποψη ότι η *Mimosoideae* και *Papilionoideae* είναι μοναδικές και ξεχωριστές οικογένειες, με σαφή διαχωρισμό αναμεταξύ τους (Polhill, 1994). Η τελευταία επίσημη κατάταξη από το Polhill (1994), φαίνεται να αναγνώριζει 39 φυλές και

περίπου 670 γένη. Οι πρόσφατες μελέτες με τις σύγχρονες μοριακές μεθόδους έχουν αναγνωρίσει 36 φυλές, 727 γένη και 19.327 είδη (*Lewis et al., 2005*). Πιστεύεται ότι η οικογένεια αποτελείται τουλάχιστον από τέσσερα γένη με 500 ή και περισσότερα είδη , και τουλάχιστον 40 γένη με 100 ή και περισσότερα είδη (*Lewis et al., 2005*).

1.4 Γενικά μορφολογικά χαρακτηριστικά

Τα είδη της οικογένειας Fabaceae είναι δικοτυλήδονα φυτά συνήθως ποώδη ετήσια, διετή ή πολυετή. Τα φυτά της οικογένειας ονομάζονται ψυχανθή διότι η μορφολογία του άνθους μοιάζει με ψυχή (πεταλούδα).

1.4.1 Ριζικό σύστημα

Τα περισσότερα ψυχανθή έχουν ισχυρό πασσαλώδες ριζικό σύστημα από το οποίο αναπτύσσονται πλάγιες διακλαδώσεις. Το βάθος του εδάφους στο οποίο εισχωρεί το ριζικό σύστημα εξαρτάται από τη μηχανική σύσταση και τη διαθέσιμη εδαφική υγρασία.

1.4.1.1 Φυμάτια

Στις ρίζες των ψυχανθών σχηματίζονται χαρακτηριστικές εξογκώσεις, τα φυμάτια, τα οποία είναι διαφοροποιημένος ιστός στις ρίζες του φυτού και είναι αποτέλεσμα της συμβίωσης των ψυχανθών με το αζωτοδεσμευτικά βακτήρια του εδάφους. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα αφενός τα φυτά να μπορούν να αναπτύσσονται ικανοποιητικά σε εδάφη με χαμηλή διαθεσιμότητα αζώτου, αφετέρου εμπλουτίζουν το έδαφος με άζωτο, και έτσι επωφελούνται οι επόμενες καλλιέργειες. Η αποτελεσματική συμβίωση εξαρτάται από ενδογενείς αλλά και εξωγενείς παράγοντες (McKey 1994, Sprent 2001).



Εικόνα1 : Ριζικό σύστημα ψυχανθών και φυμάτια από ηλεκτρονικό μικροσκόπιο

1.4.2 Βλαστοί και φύλλα

Τα φύλλα των ψυχανθών είναι σύνθετα με τρία ή και περισσότερα φυλλάρια ,παλαμοειδή, πτερωτά περιττοληκτα και σπανιότερα πτερωτά αρτιόληκτα.Το πρώτο φύλλο είναι συνήθως απλό.Τα φύλλα φέρονται συνήθως κατ'εναλλαγή επί του βλαστού.

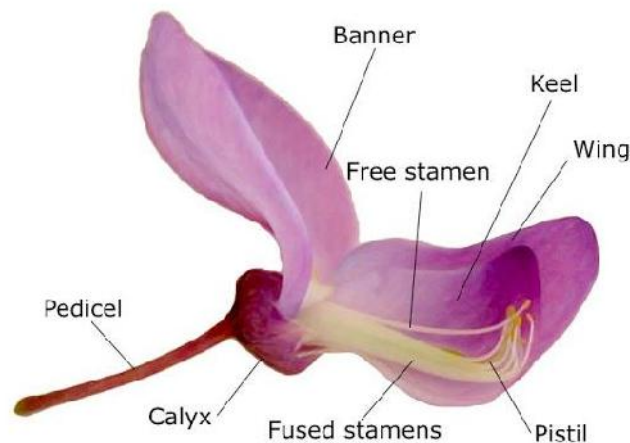
Οι βλαστοί διαφέρουν σημαντικά μεταξύ των ειδών ως προς το μήκος,τη διάμετρο ,τον τρόπο και τον αριθμό των διακλαδώσεων,τη σκληρότητά τους κ.α.Οι βλαστοί μπορεί να είναι όρθιοι ,έρποντες ή αναρριχώμενοι.



Εικόνα 2: Βλαστοί και φύλλα ψυχανθών

1.4.3 Άνθη και ταξιανθίες

Τα άνθη εμφανίζονται μεμονωμένα ή σε βοτριώδης ταξιανθίες .Ο αριθμός των ανθέων σε κάθε ταξιανθία ποικίλλει ευρύτατα.Το άνθος των φυτών είναι ψυχόμορφο-μοιάζει με ψυχή,πεταλούδα-και είναι δύσκολο να γίνει σύγχυση με τα άνθη άλλων οικογενειών.Το μήκος του σωλήνα είναι ένας παράγοντας που επηρεάζει την επικονίαση ,καθόσον παίζει σημαντικό ρόλο στη δυνατότητα που προσφέρει στις μέλισσες και στα άλλα έντομα-επικοινωνιστές να φθάσουν στη βάση του,όπου εκκρίνεται το νέκταρ.Τα ψυχανθή μπορεί να είναι είτε αυτογονιπιούμενα φυτά είτε σταυρογονιμοποιούμενα.



Εικόνα3 : Τυπικό άνθος ψυχανθών

1.4.4 Καρποί και σπόροι

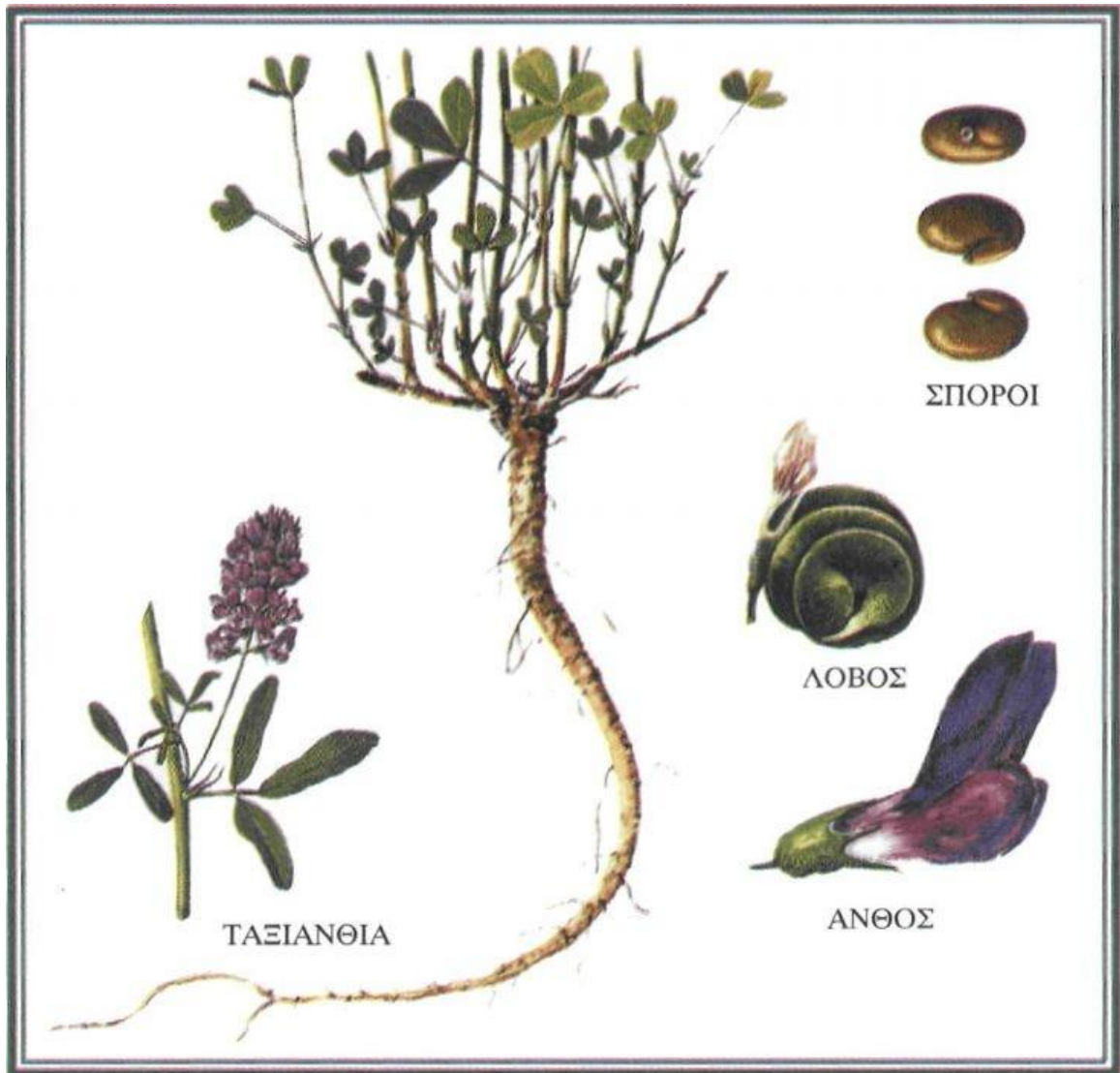
Ο καρπός των ψυχανθών είναι λοβός, με δύο τοιχώματα τα οποία συνδέονται με δύο ραφές.Ο λοβός μπορεί να είναι κυλινδρικός,

πλατυσμένος, φυσαλοειδής, ευθύς, νεφρόμορφος, δρεπανοειδής, ελικοειδής. Κάθε λοβός περιέχει ένα ή περισσότερους σπόρους διατεταγμένους σε γραμμική σειρά. Ο σπόρος των ψυχανθών αποτελείται από το περίβλημα και το έμβρυο.

Σε πολλά ψυχανθή το περίβλημα μερικών σπόρων είναι αδιαπέραστο από το νερό. Οι σπόροι αυτοί είναι καλούνται «σκληροί σπόροι» και δε μπορούν να βλαστήσουν, παρόλο που το έμβρυό τους είναι ζωντανό. Το μεγάλο ποσοστό σκληρών σπόρων στο σπόρο σποράς αποτελεί βασικό μειονέκτημα για τα περισσότερα ψυχανθή που έχουν γεωργική σημασία.



Εικόνα 4: Σπόρος των ψυχανθών



Εικόνα 5: Τυπικά μορφολογικά μέρη των φυτών της οικ. *Fabaceae*.

1.5 Θρεπτική συσταση και αξια των προϊόντων των ψυχανθων

Τα προϊόντα των ψυχανθών κατηγοριοποιούνται στις εξής δύο κατηγορίες : τα καρποδοτικά ψυχανθή και τα σανοδοτικά ψυχανθή.

1.5.1 Καρποδοτικά ψυχανθή

Τα καρποδοτικά ψυχανθή χρησιμοποιούνται τόσο στη διατροφή του ανθρώπου όσο και των ζώων. Ως μέρος της διατροφής χρησιμοποιείται τόσο ο αποξηραμένος σπόρος όσο και οι νωποί λοβοί.

1.5.1.1 Χημική σύσταση των σπόρων

Οι σπόροι των ψυχανθών έχουν μεγάλη περιεκτικότητα σε πρωτεΐνη. Αποθηκεύονται στα παρεγγυματικά κύτταρα των κοτυληδόνων τα οποία περιβάλλονται από τη μεμβράνη και παραμένουν αμετάβλητες κατά την ωρίμανση των σπόρων. Ονομάζονται «αποθηκευτικές πρωτεΐνες» ή γλουβίνες και είναι αδιάλυτες στο νερό, αλλά διαλυτές σε αραιά αλατούχα διαλύματα. Επίσης υπάρχουν και οι υδατοδιαλυτές πρωτεΐνες που ανήκουν στις γλοβίνες και καταλύουν σχεδόν το σύνολο των αντιδράσεων των φυτών.

Επίσης οι σπόροι έχουν και λάδι το οποίο κυμαίνεται σε ευρέα όρια. Βάση της περιεκτικότητάς τους μπορούν να ταξινομηθούν σε τρεις κατηγορίες:

- Χαμηλής περιεκτικότητας από 0,5 % έως 2,1 %
- Μέσης περιεκτικότητας από 4 % έως 13%
- Υψηλής περιεκτικότητας από 15 % έως 54%

1.5.1.2 Θρεπτική αξία και αντιδιατροφικοί παράγοντες

Οι πρωτεΐνες των ψυχανθών είναι πτωχές σε αμινοξέα αλλά έχουν μεγάλη περιεκτικότητα σε λυσίνη. Θεωρείται ότι οι πρωτεΐνες των σιτηρών και των ψυχανθών είναι απαραίτητες για την διατροφή των ανθρώπων και των ζώων.

Ωστόσο περιλαμβάνουν και κάποιους αντιθρεπτικούς παράγοντες οι οποίοι χωρίζονται σε δύο κατηγορίες: 1) πρωτεΐνες και 2) μη πρωτεΐνες (*Duranti & Gius 1997*).

- Αντιθρεπτικοί παράγοντες-πρωτεΐνες : Οι σπουδαιότεροι είναι οι αναστολείς υδρολυτικών ενζύμων και λεκτίνες. Η δράση των αναστολέων υδρολυτικών ενζύμων περιορίζει την πέψη, αλλά ανδραποιοούνται με την υψηλή θερμοκρασία κατά το μαγείρεμα. Οι λεκτίνες είναι πρωτεΐνες συνδεδεμένες με σάκχαρα και αιμογλουτενίνες, οι οποίες προκαλούν τη συγκόλλησης ερυθρών αιμοσφαιρίων και είναι δυνατόν να προκαλέσουν αιμόλυση και τελικά το θάνατο. Οι υψηλές θερμοκρασίες τις αδρανοποιούν αλλά όχι πλήρως για αυτό σναφέρονται περιπτώσεις αλλεργίας.
- Αντιθρεπτικοί παράγοντες-πρωτεΐνες: Με σειρά σπουδαιότητας μπορούμε να πούμε τους εξής:
 1. Αλκαλοειδή : Παραδείγματα είναι λουπινίνη, κυτισίνη, αναργυρίνη κ.α. τα οποία περιορίζουν την αποδοχή της τροφής λόγω της πικρής τους γεύσης και της τοξικότητας. Με την εμβάπτιση των σπόρων στο νερό τα αλκαλοειδή απομακρύνονται καθώς είναι υδατοδιαλυτά.
 2. Φυτικό οξύ : Περιέχει το μεγαλύτερο μέρος του φωσφόρου του σπόρου. Περιορίζει τη βιοδιαθεσιμότητα σπουδαίων στοιχείων όπως Fe, Mg, Zn, Ca κ.ά. δημιουργώντας αδιάλυτα

σύμπλοκα τα οποία είναι λιγότερο διαθέσιμα για πέψη και απορρόφηση από το έντερο.Αποτέλεσμα είναι η εμφάνιση των συμπτωμάτων έλλειψης των μικροστοιχείων αυτών από τον οργανισμό.Επίσης, έχει αναφερθεί ότι τα άλατα του φυτικού οξέος αναστέλλουν τη δράση πολλών ενζύμων.Παράλληλα , υπάρχουν νέες μελέτες που αποδίδουν στα άλατα του φυτικού οξέος αντιοξειδωτική δράση και προστασία του οργανισμού από καρκίνο καθώς επίσης και εμπλοκή αυτών στη μείωση της χοληστερίνης και άλλων λιπιδίων.

3. Φαινολικές ενώσεις : π.χ. ταννίνες , οι οποίες μπορούν να συνδεθούν με πρωτεΐνες δια μέσου της αντίδρασή τους με λυσίνη και μθειονίνη και να τις καταστήσουν μη διαθέσιμες.
4. Σαπωνίνες : Είναι γνωστό ότι προκαλούν λύση των ερυθροκυττάρων καθώς και άλλων κυττάρων ,όπως π.χ. του βλενογόννου και έτσι επηρεάζεται η απορρόφηση των στοιχείων.
5. Γλυκοζίδια : Είναι υπεύθυνα για ένα τύπο αναιμίας που είναι γνωστή ως «κυάμωση».
6. Ολιζοσακχαρίτες : Τα ψυχανθή είναι γνωστό ότι προκαλούν δημιουργία αερίων στο έντερο του ανθρώπου και των ζώων.

Οι αντιθρεπτικοί παράγοντες ανάλογα το είδος τους ανδρανοποιούνται ή απομακρύνονται από τους σπόρους ή τα προϊόντα που λαμβάνονται από το σπόρο με τη διαδικασία μαγειρέματος και διάφορες βιομηχανικές διαδικασίες.Προσοχή χρειάζεται στο ύψος και τη διάρκεια επίδρασης της θερμοκρασίας γιατί χάνονται ουσιώδη αμινοξέα,βιταμίνες και επηρεάζονται διάφορες ιδιότητες των πρωτεϊνών.

1.5.2. Χορτοδοτικά ψυχανθή

1.5.2.1 Σύσταση του χόρτου και παράγοντες που την επηρεάζουν

Τα συστατικά των χορτοδοτικών φυτών μπορούν να διαιρεθούν σε δύο κατηγορίες:

- Σε εκείνα που αποτελούν το περιεχόμενο των κυττάρων και έχουν υψηλή πεπτικότητα
- Σε εκείνα που είναι συστατικά των κυτταρικών μεμβρανών και έχουν μικρότερη μεταβλητή πεπτικότητα και καθορίζεται από διάφορους παράγοντες.

Η πέψη των δομικών υδατανθράκων εξαρτάται από ένζυμα , τα οποία παράγονται μόνο από μικροοργανισμούς του πεπτικού συστήματος των ζώων ,ενώ η πέψη των μη δομικών υδατανθράκων γίνεται τόσο από ένζυμα όσο και από τους μικροοργανισμούς.

Η ποιότητα της χορτομάζας εξαρτάται από τη γονιμότητα των εδαφών,στο στάδιο ανάπτυξης της κοπής, κλιματολογικές συνθήκες που επικρατούν,τους εχθρούς και τις ασθένειες καθώς και την περιεκτικότητα σε φύλλα.Σαφώς επηρεάζουν και οι συνθήκες ξήρανσης και αποθήκευσης του προϊόντος.

1.5.2.2 Θρεπτική αξία χορτοδοτικών

Για τον προσδιορισμό της θρεπτικής αξίας χρησιμοποιούνται δύο συστήματα ανάλυσης:

- **Άμεσος μέθοδος** : Οι ολικές αζωτούχες ουσίες περιλαμβάνουν την πρωτεΐνη και το μη πρωτεϊνικό άζωτο.Ο προσδιορισμός του αζώτου γίνεται με τη βοήθεια του Kjeldahl και της πρωτεΐνης

πολλαπλασιάζοντας την περιεκτικότητα της χορτομάζας με σε N επί 6,25.Γενικά,η καθαρή πρωτεΐνη αποτελεί το 70% του ολικού N στα χλωρά χόρτα και το 60% στο σανό.

- Van Soest ανάλυση: Η μέθοδος αυτή κάνει το διαχωρισμό μεταξύ του κυτταρικού περιεχομένου και κυτταρικών τοιχωμάτων.Η πορεία ανάλυσης περιλαμβάνει την εκχύλιση ενός δείγματος χορτομάζας με ένα διάλυμα ουδέτερου απορρυπαντικού.Τα διαλυτά συστατικά που προκύπτουν είναι το περιεχόμενο των κυττάρων και το αδιάλυτο υπόλειμμα(Neutral Detergent Fiber, NDF) αντιπροσωπεύει τα κυτταρικά τοιχώματα.Η τιμή του NDF εξαρτάται από πολλούς παράγοντες όπως το στάδιο ανάπτυξης, το στάδιο κοπής κ.ά.
- Αντιθρεπτικοί παράγοντες: Είναι συστατικά της χορτομάζας τα οποία είτε επιδρούν δυσμενώς στην κατανάλωση της από τα ζώα είτε δημιουργούν δυσμενείς επιδράσεις από την κατανάλωσή της από τα ζώα.Μούχλες, σκόνη, ζιζάνια,αλκαλοειδή, ταννίνες,νιτρικά μπορούν να δημιουργήσουν στα ζώα τοξικότητες,αλλοιώσεις στη γεύση και τελικώς να μην καταναλωθούν.Επίσης υψηλή συγκέντρωση σε σαπωνίνες συμβάλλουν στο τυμπανισμό των ζώων και κυανογόνα γλυκοζίδια ,τα οποία είναι δυνατόν να υδρολυθούν και να παραχθεί υδοκυάνιο το οποίο είναι θανατηφόρο για τα ζώα και σε μικρή ακόμα συγκέντρωση.

1.6 Αιθεριο ελαιο

Το αιθέριο έλαιο είναι το απομονωμένο αρωματικό μέρος ένος φυτού, το οποίο έχει δημιουργηθεί μέσα στο φυτό σε ειδικά κύτταρα τα οποία παράγουν έλαιο.Το αιθερίο έλαιο περιέχεται σε κύτταρα ή σε αδένες (εκκριτικούς ιστούς) και αποτελεί ένα ιδιαίτερο χαρακτηριστικό για την οικογένεια στην οποία ανήκει το φυτό. Η αποθήκευση των αιθέριων ελαίων στα ανώτερα φυτά δεν περιορίζεται μόνο σε εξειδικευμένα μέρη του φυτού. Μπορούν να αποθηκεύονται στις ρίζες, στους μίσχους,τα φύλλα,τα άνθη και τους σπόρους. Τόσο ο επιδερμικός ιστός ή ο ιστός του μεσόφυλλου μπορεί να λειτουργήσει ως θέση της βιοσύνθεσης, ενώ κύτταρα με αποθηκευτικό ρόλο ή κυτταρικές δομές χαρακτηρίζουν την ταξινομική ομάδα των αρωματικών φυτών.Ωστόσο, για να αποτελεί πραγματικά αιθέριο έλαιο θα πρέπει να έχει απομονωθεί μόνο με φυσικές μεθόδους,όπως δηλαδή η υδροαπόσταξη ή η cold pressing (Lawrence ,2001).

1.6.1 Παράγοντες που επηρεάζουν την παραγωγή και τη σύσταση του αιθερίου ελαίου

1.6.1.1 Γενετικά χαρακτηριστικά του είδους

Κάθε οικογένεια φυτών παράγει διαφορετική ποσότητα αιθερίου ελαίου που διαφέρει όχι μόνο ποσοτικά αλλά και ποιοτικά.Οι διαφορές αυτές παρατηρούνται ανάμεσα στις διάφορες οικογένειες , και επίσης υπάρχει μεγάλη διακύμανση ανά γένος και ανά είδος.Αξίζει να σημειωθεί η σημαντική διαφορά στα συστατικά και την ποσότητα του αιθερίου ελαίου ακόμα και μέσα στο ίδιο είδος ,λόγω διαφοράς του βιότυπου.

Επίσης, πρέπει να αναφερθεί ότι οι διαφορές κυμαίνονται και ανάλογα αν τα φυτά είναι αυτοφυή ή καλλιεργούμενα.Αυτοφυή πληθυσμοί ,

καλλιεργούμενα είδη, υβρίδια ή κλώνοι παρουσιάζουν μεγάλες διακυμάνσεις.

1.6.1.2 Φυσιολογία του φυτού

Πολύ σημαντικό ρόλο διαδραματίζει το στάδιο ανάπτυξης και η μορφολογία του φυτού. Κατά τα διάφορα στάδια φυσιολογικής ανάπτυξης ενός φυτού παρατηρούνται και διάφορες διακυμάνσεις στα συστατικά και την ποσότητα του αιθερίου ελαίου. Σε αρκετά μελετημένα φυτά φαίνεται πως η ποσότητα του αιθερίου ελαίου λαμβάνει μέγιστη τιμή κατά τη φάση της άνθισης, αλλά υπάρχουν αρκετές διαφοροποιήσεις στα συστατικά τα οποία περιέχει (*Lemberkovits et al. , 1995*).

Επίσης, στα διάφορα μέρη του φυτού στα οποία μπορεί να παραχθεί το αιθέριο έλαιο διαδραματίζει το ρόλο του. Γενικά, αιθέριο έλαιο μπορεί να υπάρξει στις ρίζες, στους βλαστούς, στους σπόρους, στο άνθος.

1.6.1.3 Επίδραση του Περιβάλλοντος

Το περιβάλλον έχει μια αρκετά πιο σύνθετη επίδραση καθώς καθορίζεται από τόσο από βιοτικούς όσο και αβιοτικούς παράγοντες.

Η φωτοσύνθεση αποτελεί έναν σημαντικό παράγοντα καθώς τα φωτοσυνθετικά χαρακτηριστικά του κάθε ιστού παίζουν σημαντικό ρόλο για τη δημιουργία άνθρακα διαθέσιμου για τον αναβολισμό των συστατικών του αιθερίου ελαίου (*Sangwan et al. , 2001*). Η φωτοπερίδος, επίδραση της διάρκειας του φωτός, επιδρούν μέσω της διαμόρφωσης του μεταβολικού μηχανισμού του φυτού, από τη μεταβολή του φωτοσυνθετικού άνθρακα έως τον καθορισμό του μονοπατιού που οδηγεί για επιλογή κλάσεως (τερπένια) ή την επιλογή της ομάδας (μονοτερπένια) (*Sangwan et al. , 2001*). Η πρόσπτωση της ηλιακής ακτινοβολίας και το είδος της φαίνεται να

επηρεάζουν τη βιοσύνθεση του αιθερίου ελαίου (*Sangwan et al. , 2001*). Απόρροια των άνω προκύπτει ότι υπάρχει εξάρτηση από την εποχή ,το κλίμα , το γεωγραφικό μήκος και πλάτος που αναπτύσσεται το κάθε φυτό.

1.6.1.4 Επίδραση του εδάφους

Το έδαφος αναμφισβήτητα αποτελεί το πιο σημαντικό παράγοντα για την ανάπτυξη όλων των φυτών.Ωστόσο, ο ρόλος που διαδραματίζει στην παραγώμενη ποσότητα και σύσταση του αιθερίου ελαίου είναι αμφιλεγόμενος.

Πιστεύεται, ότι ο τύπος και η σύσταση του εδάφους ακούν τη μεγαλύτερη επίδραση (*Figueiredo et. al , 2008*). Εφόσον τα συστατικά των αιθερίων ελαίων είναι δευτερογενείς μεταβολίτες χημικά στοιχεία όπως ασβέστιο, χρώμιο , χαλκός, ο σίδηρος, ο ψευδάργυρος και ο χαλκός αποτελούν απαραίτητα ιχνοστοιχεία για την πρόσληψή τους από τα φυτά (*Gibbs, 1974*). Τα βασικά στοιχεία της ανάπτυξης των φυτών δηλαδή το άζωτο, ο φώσφορος και το κάλιο φαίνεται ότι επηρεάζουν θετικά την απόδοση σε αιθέριο έλαιο ,καθώς επηρεάζουν τα επίπεδα των ενζύμων για τη βιοσύνθεσης διαφόρων συστατικών (*Sell, 2003*). Επίσης οι διάφορες καλλιεργητικές τεχνικές , η περιεκτικότητα του εδάφους σε οργανική ουσία διαδραματίζουν ρόλο στην απόδοση του αιθερίου ελαίου.

1.6.1.5 Επίδραση αβιοτικών παραγόντων

Ένας από τους πιο σημαντικούς παράγοντες είναι η επίδραση της υγρασίας.Η έλλειψή της περιορίζει την ανάπτυξη των φυτών και την επιβίωσή τους και προκαλεί φυσιολογικές και μεταβολικές διαφοροποιήσεις και πιστεύεται ότι η παραγωγή δευτερογενών μεταβολιτών ευνοείται από αυτές τις διακυμάνσεις της (*Hughes et al, 1989*).

Η αλατότητα του εδάφους είναι πολύ σημαντικός παράγοντας που ασκεί καταπόνηση στα φυτά και είναι ένα από τα σοβαρότερα προβλήματα που περιορίζει τις αποδόσεις των φυτών αλλά μάλλον ασκεί θετική επίδραση στην απόδοση του αιθερίου ελαίου. Η επίδραση της θερμοκρασίας, επιδρά στην απόδοση και την περιεκτικότητα του αιθερίου ελαίου αλλά μέχρι τώρα υπάρχει διχογνωμία απόψεων. Είναι γενικά αποδεκτό, ότι οι συνθήκες στρες και καταπόνησης ευνοούν την παραγωγή του αιθερίου ελαίου.

1.6.1.6 Συγκομιδή του φυτικού δειγματος

Για την απόδοση του αιθερίου ελαίου πολύ σημαντικό ρόλο παίζει η σωστή συγκομιδή του φυτικού υλικού και η σωστή αποθήκευσή του, καθώς αυτές οι μεταχειρίσεις επιδρούν στην ποσότητα και την ποιότητα του αιθερίου ελαίου. Η συγκομιδή πρέπει να γίνεται σε στάδιο κατάλληλο για να επιτυγχάνεται η μέγιστη απόδοση σε αιθέριο έλαιο. Εφόσον γίνει η συγκομιδή του φυτικού δείγματος, εξίσου σημαντική διαδικασία είναι η μεταφορά και η αποθήκευσή του έως να γίνει εργαστηριακά η παραλαβή του αιθερίου ελαίου. Κατά τη μεταφορά θα πρέπει να αποφεύγεται, όσο αυτό είναι εφικτό, η έκθεση της συγκομιζόμενης ποσότητας στον ήλιο. Το στόιβαγμα στο μέσο μεταφοράς θα πρέπει να είναι χαλαρό καθώς υπάρχει κίνδυνος να υποστεί διάφορες αλλοιώσεις το φυτικό δείγμα, και μάλιστα σε τέτοιο βαθμό που να αχρηστευτεί. Αν το δείγμα ξηρανθεί και μετά ακολουθήσει απόσταξη δεν θα πρέπει η ξήρανση να γίνει πάνω από τους 40° C. Εναλλακτικά το δείγμα μπορεί να αποθηκευτεί σε βαθιά κατάψυξη.

1.7 Παραλαβή αιθερίου ελαίου- Ποιοτικός και Ποσοτικός Προσδιορισμός της σύστασης του

Οι τρόποι που ευρέως χρησιμοποιούνται για την παραλαβή του αιθερίου ελαίου είναι:

- Απόσταξη με υδρατμούς –Steam Distillation (SD)
- Υδροαπόσταξη – Hydro Distillation (HD)
- Μικροαπόσταξη με υδρατμούς εκχύλισης από οργανικό διαλύτη – Microsteam distillation (MSDE)
- Απόσταξη με κενό –Vacuum Head Space Distillation (VHSD)
- Απόσταξη με μικροκύματα- Microwave Assisted Extraction (MAE)

Για την παραλαβή αιθερίου ελαίου το φυτικό δείγμα μπορεί να είναι αποτελείται από διάφορα μέρη του φυτού.

Η σύσταση των αιθερίων ελαίων αποτελείται από μίγματα πολλών και διαφορετικών συστατικών τα οποία πρέπει να διαχωριστούν και να ταυτοποιηθούν (*Huie 2002, Kaufmann & Christen 2002*).

Η ανάλυσή τους γίνεται συνήθως με τη χρήση αέριας χρωματογραφίας σε συνδιασμό με ανιχνευτή φασματογράφου μάζας.Με το συνδιασμό αυτών των δύο μηχανημάτων κάνω ποιοτική και ποσοτική ανάλυση των συστατικών (*Keravis, 1999*). Η αέρια φασματογραφία είναι η πλέον κατάλληλη μέθοδος για το διαχωρισμό των συστατικών των αιθερίων ελαίων (*Marston & Hostettman, 2009*).

Για τον επιτυχή διαχωρισμό των συστατικών στη στήλη,πραγματοποιείται κατανομή των συστατικών στο προσροφημένο της υγρό με διαφορετικές ταχύτητες και διαφορετική τάση ατμών.

Οι πιο σημαντικοί παράμετροι που λαμβάνονται υπόψιν κατά τη διαδικασία προσδιορισμού με αέρια χρωματογραφία, που συνδέεται με ανιχνευτή μάζας, GC-MS, είναι η θερμοκρασία εισαγωγής του δείγματος, ο ρυθμός μεταβολής της θερμοκρασίας (λειτουργία του φούρνου ισόθερμη ή αυξομειούμενη), η ροή του φέροντος αερίου (εξαρτώνται οι χρόνοι κατακράτησης των συστατικών), το είδος της στήλης (πολική, μέτρια πολική, μη πολική), το είδος του ανιχνευτή που χρησιμοποιείται (ιονισμού φλόγας FID, φασματογράφος μάζας MS).

Πολύ σημαντικό στοιχείο που οδηγεί στην ταυτοποίηση των συστατικών είναι ο χρόνος κατακράτησης των στοιχείων και η σύγκριση φασμάτων μάζας με ήδη υπάρχοντα ή πρότυπα από τη βιβλιογραφία.

1.8 Παγκοσμια μελετη των αιθεριων ελαιων της οικογενειας Fabaceae

Γενικά στην παγκόσμια μελέτη τα ψυχανθή είναι κυρίως μελετημένα για τη διατροφική τους αξία ως μέρος της ανθρώπινης και στη ζωικής κατανάλωσης.

Αναφορές για μελέτες έχουν γίνει για το είδος *Poiretia Bahiana* γνωστό ως "arrudinha", "arruda da Serra" ή "arruda brava" στην περιοχή της Βραζιλίας. Η εμφάνιση του περιορίζεται σε βραχώδεις περιοχές της βορειοανατολικής περιοχή της Βραζιλίας. Παρουσιάζει διαπεραστική μυρωδιά και παλαιότερα έχει χρησιμοποιηθεί από τις τοπικές κοινωνίες ως απολυμαντικό για τον έλεγχο της μόλυνσης των ψύλλων ,για τη θεραπεία των αιμορροΐδων, των πόνων των αρθρώσεων και της ιγμορίτιδα. Το αιθέριο έλαιο αξιολογήθηκε για τις αντιμικροβιακές του ιδιότητες κατά έξι βακτηρίων, δύο ζυμομυκήτων και πέντε νηματοειδών μυκήτων. Τα κύρια συστατικά βρέθηκαν να είναι η ουμπελουνόνη, σε συγκεντρώσεις μεταξύ 55,0% και 75,3% και το σαβινένιο, σε συγκεντρώσεις μεταξύ 10,3% και 25,2% . Τα αποτελέσματα in vitro έδειξαν ότι αυτά τα αιθέρια έλαια εμφανίζουν αντιμικροβιακή δράση εναντίον βακτηρίων όπως *Escherichia coli*, *Salmonella choleraesuis*, *Proteus mirabilis*, *Staphylococcus aureus*, ανθεκτικός *Staphylococcus aureus* (MRSA), *Candida albicans*, *Cryptococcus neoformans*, *Cladosporium herbarum*, *Microsporum canis*, *Trichophyton rubrum* και είναι αδρανείς *methicilin* κατά *Pseudomonas aeruginosa*, *Aspergillus fumigatus* και *Penicillium notatum* (Araújo, F.M. , 2009) .

Επίσης, γένη του είδους *Genista* δείχνουν ενδιαφέρουσες βιολογικές ιδιότητες. Έχει μελετηθεί η βιολογική δραστηριότητα των αιθέριων ελαίων που προέρχονται από τα *G. sessilifolia* DC. και *G. tinctoria* L. έναντι κυττάρων

ανθρώπινου μελανώματος M14. Το μεγαλύτερο της σύστασης των αιθερίων ελαίων καταλαμβάνονταν από συστατικά του ήταν καρβονυλικές ενώσεις όπως (E)-β-ιονόνη (9,1%), dihydroactinidiolide (7,3%), νονανάλη (5,1%) και hexahydrofarnesylacetone (4,3%). Τα αιθέρια έλαια τόσο από *G. sessilifolia* και *G. tinctoria* έδειξαν ενδιαφέρουσα δυνητική αντικαρκινική δράση, γεγονός που υποδηλώνει την παρουσία των δραστικών ενώσεων (*Rigano, D. , 2010*).

Ανάλυση αιθερίου ελαίου που παραλήφθηκε με υδρο-απόσταξη από τα άνθη του *Halimondendron halodendron* εμφάνισε ευρύ φάσμα αντιμικροβιακής δράσης με τιμές MIC (ελαχιστη συγκέντρωση αναχαιτισης) κυμαινόμενες από 100 μέχρι 250 $\mu\text{g} / \text{mL}$, και ο δείκτης IC50 κυμάνθηκε από 40,4 έως 193,8 $\mu\text{g} / \text{mL}$. Το έλαιο έδειξε επίσης ισχυρή αντιοξειδωτική δράση, με μια ιδιαίτερα υψηλή ικανότητα χηλίωσης μετάλλου των ιόντων δισθενούς σιδήρου με μία τιμή IC50 από 7,4 $\mu\text{g} / \text{mL}$ για το σχηματισμό συμπλόκου φεροζίνη- Fe^{2+} (*Wang, J. , 2011*).

Μελέτες αναφέρουν αποτελέσματα αιθερίου ελαίου και για το είδος *Pterodon emarginatus Vogel*, αρωματικό δέντρο που αυτοφύεται στην κεντρική περιοχή της Βραζιλίας. Στην παραδοσιακή λαϊκή ιατρική χρησιμοποιούσαν τα υδροαλκοολικά εκχυλίσματα των σπόρων του για τις αντι-ρευματικές και τις αντι-φλεγμονώδεις ιδιότητες τους. Το αιθέριο έλαιο εξετάστηκε σε καρκινικά κύτταρα κατά του κακοήθου όγκου του αουραίου, για το ανθρώπινο μελάνωμα, για το καρκίνωμα στο κόλον ποντικού, και για τον ανθρώπινο καρκίνο του μαστού, για το καρκίνωμα του πνεύμονος ανθρώπου, το μελάνωμα ποντικού, για το καρκίνο των ωοθηκών χάμστερ, και για το καρκίνωμα ινοβλαστών νεφρού στα χάμστερ. Το αιθέριο έλαιο των σπόρων *Pterodon emarginatus* έδειξαν τοξικότητα στην *Artemia salina* (LC50 1,63 $\mu\text{g} / \text{mL}$) και έδειξε δράση σε όλες τις κυτταρικές σειρές που

δοκιμάστηκαν. Η ισχυρή κυτταροτοξική δραστικότητα έδειξε τιμή IC₅₀ κυμαινόμενες 24,9 έως 47 μg / mL. Ωστόσο, το αιθέριο έλαιο (1-100 μg / mL) έδειξε τη μικρότερη κυτταροτοξικότητα σε PBMCs που απομονώθηκε από ένα υγιές άτομο. Γενικά το αιθέριο έλαιο των σπόρων του *Pterodon emarginatus* έδειξε σημαντική ανασταλτική του πολλαπλασιασμού καρκινικών κυττάρων.

Στην μελέτη του *Gundidza M.* (2009) ,ερευνήθηκε το αιθέριο έλαιο από το αυτοφυές φυτό *Rhynchosia minima* , της Ζιμπάμπουε. Το έλαιο αυτό μελετήθηκε κυρίως για τη θεραπευτική του ικανότητα σε παθήσεις του δέρματος στην παραδοσιακή ιατρική, αλλά και για την συμμετοχή του στους κλάδους της αρωματοποιίας κ της φαρμακευτικής. Για την έρευνα χρησιμοποιήθηκαν οι βακτηριακοί οργανισμοί *Acenotobacter calcoaceticus* (NCIB 8250), *Bacillus subtilis* (NCIB 3610), *Citrobacter freundii* (NOIB 11490), *Clostridium perfringens*, *Sporogenes Clostridium* (NCIB 10696), *Escherichia coli* (NCIB 8879), *Klebsiella pneumoniae* (NOIB 4184), *Proteus vulgaris* (NOIB 4175), *Pseudomonas aeruginosa* (NOIB 950), *Salmonella typhii*, *Staphylococcus aureus* (NCIB 6751) και *Yersinia enterocolitica*(NOIB 10460). Το αιθέριο έλαιο του *Rhynchosia minima* εμφάνισε αντιβακτηριακή δράση έναντι όλων των ειδών που δοκιμάστηκαν εκτός από τα *Clostridium perfringens* και *Klebsiella pneumoniae*. Οι πιθανοί μηχανισμοί δράσης των συστατικών του αιθερίου ελαίου, trans-καρυοφυλλένιο, λιμονένιο, καμφένιο, bornylacetate, δεκατριάνιο και humulene δεν έχουν ακόμη έχουν διευκρινιστεί αλλά υπάρχουν ενδείξεις ότι μπορεί να έχουν συνεργιστική δράση.

Στο άρθρο των *Furtado Fabiana B et. al* (2014) , μελετήθηκε το αυτοφυές φυτό *Inga laurina* , τροπικό φυτό της Κεντρικής και Νότιας Αμερικής ως προς την εποχιακή διακύμανση της χημικής και αντιμικροβιακής σύνθεσης,

καθώς και της κυτταροτοξικής ιδιότητας των αιθέριων ελαίων. Αρκετά είδη *Inga* χρησιμοποιούνται στη λαϊκή ιατρική ως αντιφλεγμονώδη, αντιδιαρροϊκά και ρινικά αποσυμφορητικά, καθώς και για τη θεραπεία του δέρματος, κατά των πόνων στο αυτί και τον καθαρισμό των δοντιών. Προδριορίστηκε η χημική σύνθεση των μαντικότερων συστατικών των αιθερίων ελαίων στα φύλλα και στο φλοιό του *I. Laurina* σε διαφορετικές εποχές (ξηρή και βροχερή περίοδο) ώστε να διερευνήσει την αντιμικροβιακή δυναμική των αιθέριων ελαίων έναντι αερόβιων και αναερόβιων παθογόνων του στόματος. Δεν παρατηρήθηκαν σημαντικές διαφορές στην απόδοση αιθέριων ελαίων από το φλοιό ή τα φύλλα σε σχέση με την περίοδο συλλογής, αλλά η απόδοση του αιθέριου ελαίου από τα φύλλα ήταν υψηλότερη από το φλοιό και στη ξηρή και στη βροχερή περίοδο.

Στην έρευνα του *Abdelaaty A.* (2008) μελετήθηκε η χημική σύνθεση και οι αντιμικροβιακές δραστηριότητες του αιθέριου ελαίου από τους σπόρους του *Enterolobium contortisiliquum*. Τα κύρια συστατικά του ελαίου που ταυτοποιήθηκαν χρησιμοποιώντας αεροχρωματογραφία - φασματομετρία μάζας (GC-MS) ήταν φουρφουράλη, λιμονένιο, λιναλοόλη, εστραγόλη, καρβόνης, και απιόλη. Η καρβόνη αντιπροσώπευε πάνω από το 50% της συνολικής σύστασης του αιθέριου ελαίου. Αξιολογήθηκε η αντιμικροβιακή δραστηριότητα του αιθέριου ελαίου σε τέσσερα είδη θετικών βακτηρίων κατά χρώση GRAM (*Bacillus subtilis*, *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus*, *Micrococcus luteus*) και σε δύο αρνητικά βακτήρια κατά χρώση GRAM (*Klebsiella pneumoniae*, *Serratia Marcescens*). Το αιθέριο έλαιο ανέστειλε την ανάπτυξη όλων των βακτηρίων που δοκιμάστηκαν, αλλά ήταν περισσότερο αποτελεσματική έναντι των κατά Gram θετικών βακτηρίων.

Από τον *Mahmoud A. Al-Qudah* (2011) ,μελετήθηκε η χημική σύσταση του αιθέριου ελαίου *Lupinus varius* L. ,ενός φυτού που θεωρείται πολύτιμη πηγή γλυκομαννάνης, και βοηθά στην ομαλοποίηση του σακχάρου στο αίμα, ανακούφιση από την καταπόνηση του παγκρέατος και εξομαλύνει τις ανωμαλίες του σακχάρου στο αίμα, όπως είναι η υπογλυκαιμία. Συλλέχθηκαν τα άνθη του και το αιθέριο έλαιο παραλήφθηκε με την τεχνική της υδροαπόσταξης και η ανάλυση των συστατικών με χρήση GC-MS και GC-FID. Τα κύρια συστατικά του ελαίου ήταν 6,10,14-τριμεθυλο-2-πενταδεκανόνη (20,5%), pentadecanal (10,2%), (E) νερολιδόλη (8,43%), carracoi αιθυλ αιθέρα (4,3%), ένα-humulene (3,6%), (2Z, 13E) -ocatadeca-2,13-διεν-10-όλης (3,2%) και καρυοφυλλένιο.Οι κύριες ενώσεις του ελαίου ήταν χημικώς ταξινομούνται ως εξής: εστέρες (9,26%), αλκοόλες (5,38%), αλκάνιο (4,68%), οξυγονωμένα μονοτερπένια (8,42%), υδρογονάνθρακες σεσκιτερπενίων (7,0 %) και οξυγονωμένο σεσκιτερπένια (43,83%) .

Κεφαλαίο 2 : Υλικά και Μέθοδοι

2.1 Γενικά

Βασικός σκοπός του πειράματος ήταν η απόσταξη και η ανάλυση του αιθερίου των αυτοφυόμενου φυτικού ειδών της ελληνικής χλωρίδας της οικογένειας Fabaceae. Φυτικό δείγμα συλλέχθηκε από διάφορες περιοχές ανά την Ελλάδα, όταν τα φυτά βρισκόντουσαν στη φάση της άνθισης, και ακολούθησε η απόθηκευσή τους σε βαθειά κατάψυξη έως την πραγματοποίηση της πειραματικής διαδικασίας.

Η πειραματική διαδικασία ουσιαστικά αποτελείται από δύο μέρη. Το πρώτο μέρος αφορά την παραλαβή του αιθερίου ελαίου του φυτικού δείγματος με παραδοσιακή μηχανή απόσταξης και μετά ακολουθεί ενόργανη χημική ανάλυση του αιθέριου ελαίου για διαχωρισμό των συστατικών του, με χρήση αέριου χρωματογράφου, GC, που και αυτό με τη σειρά του συνδέεται με ανιχνευτή φασματογράφου μάζας, MS που πιθανόν οδηγεί σε ταυτοποίηση των χημικών ενώσεων.

2.2 Φυτικό υλικό

Το φυτικό υλικό συγκομίστηκε από διάφορες περιοχές της Ελλάδας και τα φυτά βρισκόντουσαν στη φάση της άνθησης.

Στον παρακάτω πίνακα παρατίθενται τα είδη που συλλέχθηκαν σύμφωνα με τον τόπο και την ημερομηνία συλλογής.

Είδος	Ημερομηνία Συλλογής	Τόπος Συλλογής	Βάρος δείγματος για την απόσταξη (gr)
<i>Anagyris foetida</i>	14/04/2014	Σύμη	604
<i>Spartium junceum</i>	25/04/2014	Αντίκυρα	638
<i>Psoralea butiminosa</i>	14/04/2014	Σύμη	373
<i>Psoralea butiminosa</i>	25/04/2014	Αντίκυρα	261
<i>Coronilla ???</i>	19/04/2014	Πάρος	514

Πίνακας 1 : Συγκομιζόμενο φυτικό υλικό

Τα μέρη των φυτικών δειγμάτων τα οποία συλλέχθηκαν ήταν τα φύλλα ,βλαστοί ή κλαδιά, καρποί (ελάχιστοι όπου υπήρχαν) και άνθη. Ακολούθησε βαθιά κατάψυξη στους -20°C έως ότου θα ήταν έτοιμα για την απόσταξη και παραλαβή αιθερίου ελαίου.

2.3 Παραλαβη και Αποδοση αιθεριου ελαιου

Ο τρόπος με τον οποίο έγινε η παραλαβή του αιθερίου ελαίου είναι με την παραδοσιακή μηχανή απόσταξης.

Η παραδοσιακή μηχανή απόσταξης αποτελείται από:

- Θερμομανδύα
- Σφαιρική γυάλινη φυάλη
 - Για τις ανάγκες του πειράματος χρησιμοποιήθηκε γυάλινη σφαιρική φυάλη όγκου 5 λίτρων .
- Διαβαθμισμένη κλίμακα σε mL
- Κύριο σώμα συσκευής
- Ψυκτήρας



Εικόνα 6: Συσκευή Clevengere

2.3.1 Προετοιμασία δείγματος και παραλαβή αιθέριου ελαίου

Για την προετοιμασία του δείγματος, το φυτικό υλικό τεμαχίστηκε σε κομμάτια μήκος ενός εκατοστού και τοποθετήθηκε στη σφαιρική φυάλινη φυάλη μαζί με νερό έως ότου καλυφθεί το φυτικό δείγμα και αυτό δεν ξεπερνούσε τα 2/3 του όγκου της σφαιρικής.



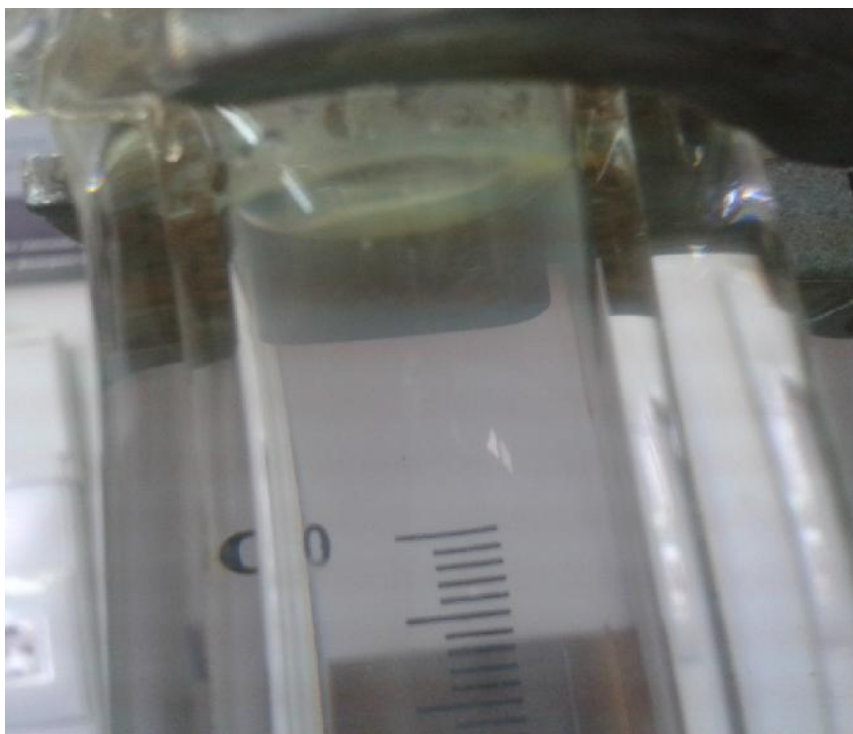
Εικόνα7 : Φυτικό δείγμα *Coronilla* spp.

Η φυάλη τοποθετήθηκε στο θερμομανδύα. Η συσκευή τέθηκε σε λειτουργία, τόσο και ως προς τη θέρμανση όσο και ως προς τη ροή του νερού. Τοποθετήθηκε λίγο νερό στην διαβαθμισμένη κλίμακα.

Το νερό της σφαιρικής φυάλης ύστερα από αρκετή ώρα ήρθε σε βρασμό και από εκείνη και στιγμή και μετά ακολούθησαν άλλες τρεις ώρες για την πλήρη βράση του δείγματος ώστε να παραληφθεί η μεγαλύτερη ποσότητα αιθερίου ελαίου.

Όταν τελείωσε η διαδικασία μετρήθηκε η απόδοση και συλλέχθηκε το αιθέριο έλαιο.

Η απόδοση σε όλες τις αποστάξεις ήταν πάρα πολύ μικρή και μη μετρήσιμη, απόδοση μικρότερη του 0,1 mL. Αυτό το οποίο παρατηρήθηκε σε όλες τις περιπτώσεις ήταν μια πολύ μικρή κηλίδα αιθέριου ελαίου.



Εικόνα 8 : Απόδοση του αιθερίου ελαίου

Ακολούθησε παραλαβή παραλαβή της μικροποσότητας αιθερίου ελαίου και τέλος ξέπλυμα της στήλης με πεντάνιο για την παραλαβή του αραιού δείγματος αιθερίου ελαίου.

Το αραιό διάλυμα του πεντανίου χρησιμοποιήθηκε για να περαστεί για ανάλυση στον αέριο χρωματογράφο με ανιχνευτή φάσμα μάζας,GC-MS.

2.4 Αναλυση δειγματος σε αεριο χρωματογραφο με ανιχνευτη φασματογραφο μαζας,GC-MS.

Ο ποιοτικός-ποσοτικός προσδιορισμός της χημικής σύστασης των αιθερίων ελαίων πραγματοποιήθηκε με Αέρια Χρωματογραφία-GC, σε συσκευή Agilent Technologies 7890A, εξοπλισμένου με χρωματογραφική στήλη τύπου HP 5MS (30m x 0.25mm x 0.25μm) και Ιοντικό Ανιχνευτή Φλόγας (Flamme Ionization Detector). Η αρχική θερμοκρασία της στήλης ρυθμίστηκε στους 60 °C και προγραμματίστηκε να φτάσει στους 280 °C, με ρυθμό αύξησης 3 °C ανά λεπτό. Οι θερμοκρασίες εισαγωγής και ανίχνευσης ρυθμίστηκαν στους 230 και 300 °C, αντίστοιχα. Ως αέριο μεταφοράς χρησιμοποιήθηκε το Ήλιο (He) με ρυθμό ροής 1 mL/min.

Για την καταγραφή φασμάτων μάζων χρησιμοποιήθηκε συσκευή Φασματογράφου Μάζας Agilent 5957C, VL συνδεδεμένο σε σειρά με την προηγούμενη χρωματογραφική διάταξη. Ο φασματογράφος αυτός είναι εξοπλισμένος με ανιχνευτή τριπλού άξονα και χρησιμοποιεί ως μέσο ιονισμού το ηλεκτρικό φορτίο (Electron Ionization). Η αναγνώριση των συστατικών στηρίχθηκε στα παρακάτω στοιχεία:

- Σύγκριση του Δείκτη Ανάσχεσης (Retention Index-RI) εκάστου συστατικού (Van den Dool & Kratz, 1963). Για τον υπολογισμό του δείκτη αυτού χρησιμοποιήθηκε ένα πρότυπο μίγμα κανονικών αλκανίων (C₅-C₂₄), και η σύγχρονη διεθνής βιβλιογραφία (Adams, 2007)
- Σύγκριση του φάσματος μάζας του κάθε συστατικού με τις εξειδικευμένες βάσεων δεδομένων (NIST/NBS, Wiley library spectra, κτλ) καθώς και την διαθέσιμη ειδική βιβλιογραφία (Adams, 1995; Massada, 1976)
- Σύγκριση με το χρόνο συγκράτησης (Retention time, t_R) των εμπορικά διαθέσιμων μορίων



Εικόνα 9: Μηχάνημα GC-MS

Το δείγμα το οποίο τοποθετήθηκε στο GC-MS ήταν αραιό αιθέριο έλαιο που είχε προκύψει από το ξέπλυμα της στήλης με καθαρό πεντάνιο. Η σύριγγα η οποία χρησιμοποιήθηκε κάθε φορά ξεπλενόταν με καθαρό πεντάνιο 3 φορές πριν την εισαγωγή του δείγματος. Ο όγκος του δείγματος που εισήχθη όλες για ανάλυση ήταν 1,2 μL .



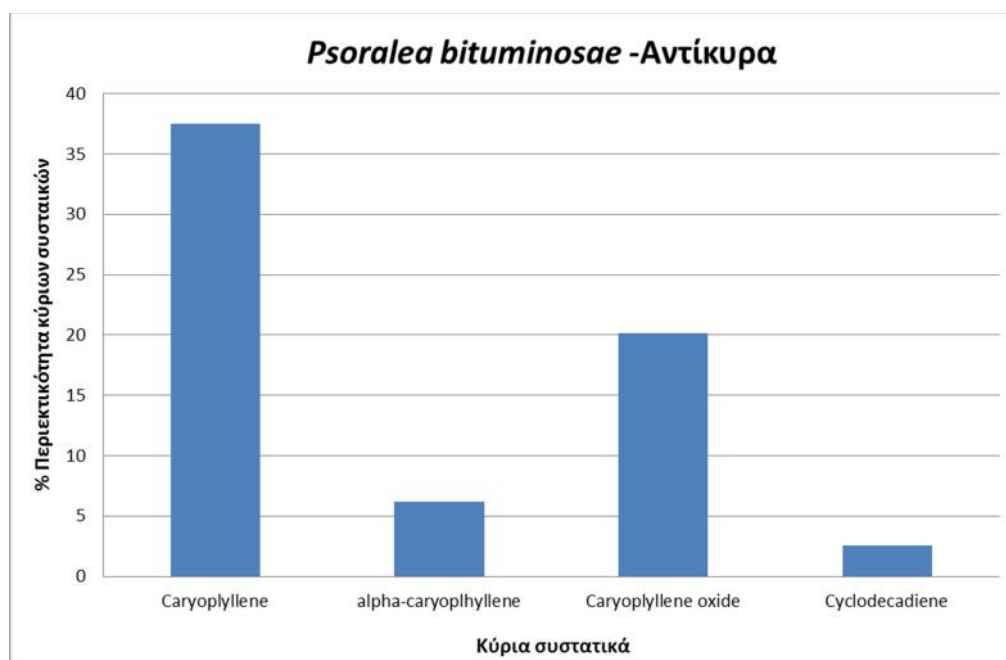
Εικόνα 10: Σύριγγα για την τοποθέτηση του δείγματος στο μηχάνημα GC-MS

Κεφαλαίο 3 : Αποτελέσματα

3.1 Ανάλυση της σύστασης των αιθερίων ελαίων με χρήση μηχανήματος GC-MS.

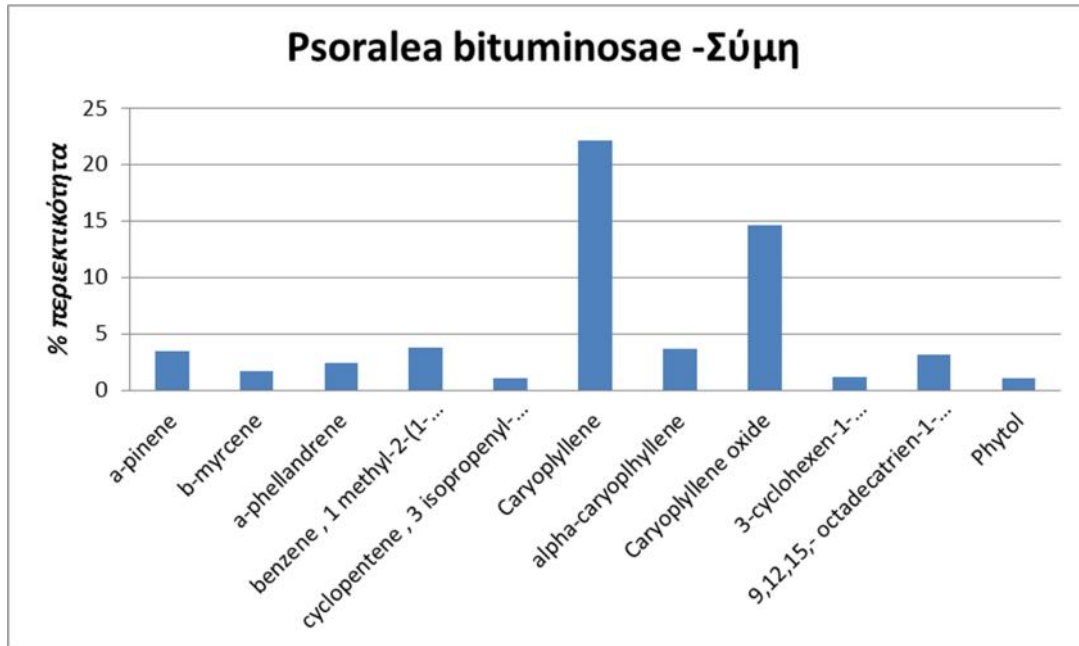
Αυτό το οποίο αξίζει να σημειωθεί είναι πως στην παγκόσμια βιβλιογραφία δεν υπάρχει αναφορά για μελέτη των συγκεκριμένων Ελληνικών ειδών στη σύσταση του αιθερίου ελαίου τους με την κλασική μέθοδο της υδροαπόσταξης.

Δείγματα είχαμε από τα φυτά *Psoralea bituminosae* από 2 διαφορετικά μέρη της Ελλάδας –Σύμη και Αντίκυρα. Τα βασικά συστατικά που εντοπιστήκαν και στα δύο φυτά είναι καριοφυλλένιο , α-καριοφυλλένιο και το οξύ του καριοφυλλενίου τα οποία αποτελούν το 41% της σύστασης για *Psoralea bituminosae* για το είδος της Σύμης και το 64% της σύστασης για το είδος από τα Αντίκυρα.



Διάγραμμα 1 : Κύρια συστατικά αιθερίου ελαίου *Psoralea bituminosae*-Αντίκυρα.

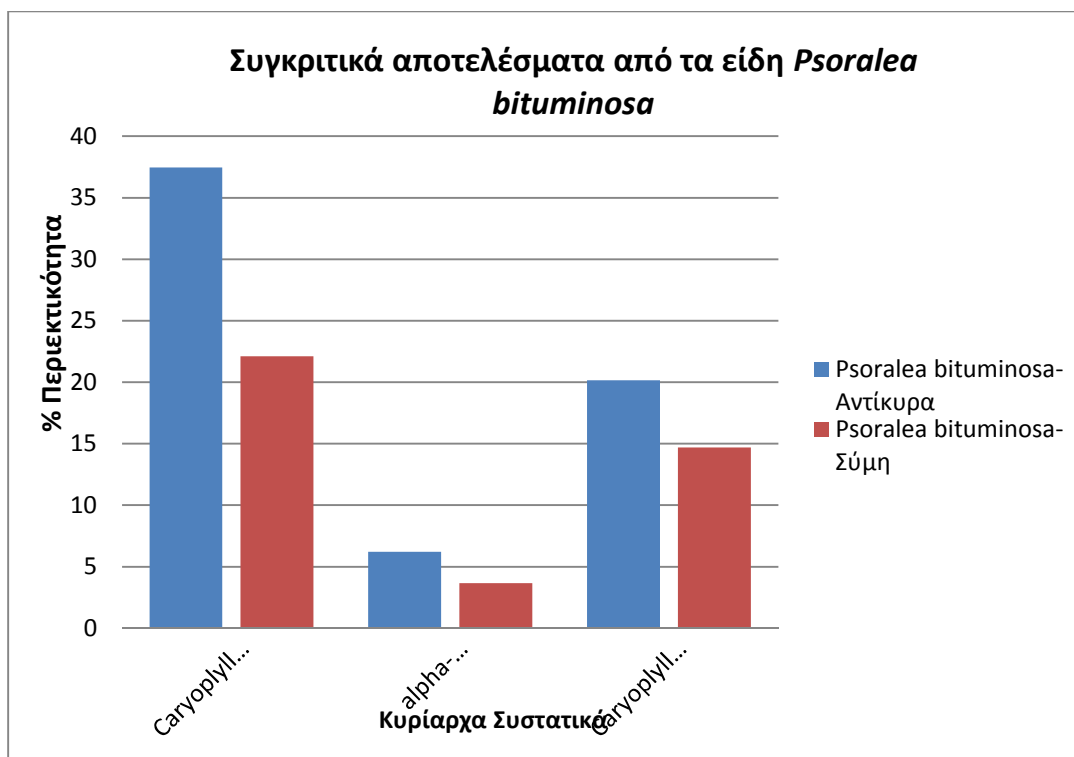
Είναι εμφανή η κυριαρχία των παραγώγων των καρυφυλλενίου στο δείγμα και ακολουθεί με μικρό ποσοστό παράγωγα κυκλοδεκαδιενίου.



Διάγραμμα 2 : Κύρια συστατικά αιθερίου ελαίου *Psoralea bituminosae*-Σύμη

Τα συστατικά του αιθερίου ελαίου στο δείγμα της Σύμης είναι σαφώς περισσότερα από τον δείγμα των Αντικύρων όμως παρατηρείται η κυριαρχία των παραγώγων του καρυφυλλενίου και στα δύο δείγματα.

Ακολουθεί συγκριτική παρουσία των δύο δειγμάτων *Psoralea bituminosae*.

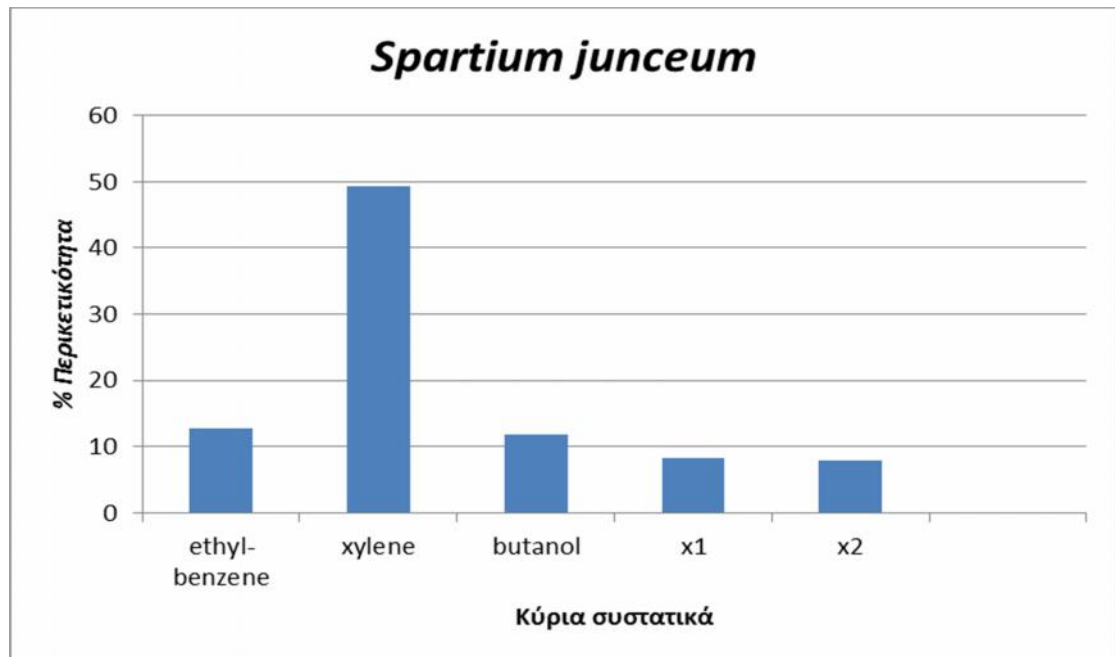


Διάγραμμα 3: Συγκριτική μελέτη των δύο δειγμάτων αιθερίου ελαίου *Psoralea bituminosae* ως προς τα κοινά τους συστατικά

Μελέτες για τη σύσταση του αιθερίου ελαίου της *Psoralea bituminosae* από την περιοχή της Σαρδηνίας και της Ισπανίας δείξαν σε μεγάλο ποσοστό Caryophyllene και Caryophyllene oxide (Porqueddu, C. , 2013). Σε είδος *Psoralea bituminosae* από τη μελέτη των Bertoli et. al , σε Ιταλικά δείγματα από φύλλα , άνθη και σπόρους έδειξε σε σχετικά καλό ποσοστό καρυοφυλλενίου , 18% αλλά εμφανίστηκε πολύ μεγάλο ποσοστό σε απινένιο που άγγιζε το 50% ,σε αντίθεση με τα δείγματα τα δικά μας όπου εμφανίζεται μόνο στη *Psoralea bituminosae* που προέρχεται από τη Σύμη σε ποσοστό 4 % ενώ παρατηρείται η απουσία του από το είδος των Αντίκυρων. Τελευταία αναφορά από τη βιβλιογραφία αφορά τα συστατικά αιθερίου ελαίου αλλά για το είδος *Psoralea rubescence* από τους Hesham El-Seedi et. al , (2009). Το αιθέριο έλαιο παρελήφθηκε με την κλασική μέθοδο της υδροαπόσταξης και τα μέρη του φυτικού δείγματος αποτελούσαν από

βλαστούς και άνθη. Κατά την ανάλυση και την ταυτοποίηση των συστατικών με χρήση GS-MS κατέδειξε ότι τα κύρια συστατικά που ανιχνεύτηκαν ήταν Οι κύριες συνιστώσες ήταν το ψοραλένιο (24,8%), bakuchiol (21,3%), β-καρυοφυλλένιο (8,5%), δ-γερμακρένιο (6,8%), και α-humulene (4,6%). Η παρουσία του καρυοφυλλενίου φαίνεται πως είναι βασικό συστατικό ανάμεσα στα είδη της *Psoralea bituminosae*.

Το επόμενο δείγμα που παρατίθεται είναι το *Spartium junceum*, όπου σύμφωνα με τα αποτελέσματα της μελέτης βρέθηκε το κυριάρχο συστατικό του να είναι το ξυλένιο με ποσοστό περίπου 50 %, ακολούθησε η βουτανόλη και το εθύλ-βενζένιο με ποσοστά περίπου 12 % για το καθένα από αυτά, και αταυτοποίητα δύο συστατικά με 7 % το καθένα από αυτά.



Διάγραμμα 4 : Κύρια συστατικά του αιθερίου ελαίου *Spartium junceum*.

Σε μελέτη για το είδος *Spartium junceum*, Nadaf et al., 2012 μελέτησαν τα συστατικά του αιθερίου ελαίου από τα άνθη του και πραγματοποιήθηκε ανάλυση των συστατικών με αέρια χρωματογραφία, GC-MS. Η μέθοδος

παραλαβής του αιθερίου ελαίου έγινε ως εξής ,τα δείγματα των 100 gr των φυτών κονιορτοποιήθηκαν , έγιναν πούδρα και εκχυλίστηκαν σε διάλυμα εξανίου 95% καθαρότητας για 48 ώρες .Έπειτα διηθίστηκε και εξατμίστηκε ο διαλύτης από Rotary Evaporator και έμεινε μια μικρή κηλίδα αιθερίου ελαίου και αφυδατώθηκε με άνυδρο θειικό νάτριο.Με ένα μέρος αλκόολης αφαιρέθηκε η υγρασία και το δείγμα κρατήθηκε στην κατάψυξη.Η ανάλυση του αιθερίου ελαίου έγινε με GC-MS μοντέλο Hewlett-Packard(HP)6890A , με ανιχνευτή FID .Το αποτέλεσμα ήταν να ανιχνευτούν 59 συστατικά με ποσοστό παρουσίας του κάθε συστατικού στο δείγμα 0.58 % και να αντιπροσωπεύουν περίπου το 76.27 % του συνολικού αιθερίου ελαίου.Τα κυρίαρχα ανιχνευόμενα συστατικά είναι το n-Εξαδεκανοϊκό οξύ ((14.27%), η 9,12,15-οκταδεκατριεν-1-όλη(13.07%), το τετραδεκανοϊκό οξύ (6.59%) , το οκταδεκανοϊκό οξύ (3.68%) και η σιτοστερόλη (3,67 %). Στο δείγμα το μεγαλύτερο ποσοστό συμμετοχής των συστατικών κατήχαν το καρβοξυλικά οξέα (28%).

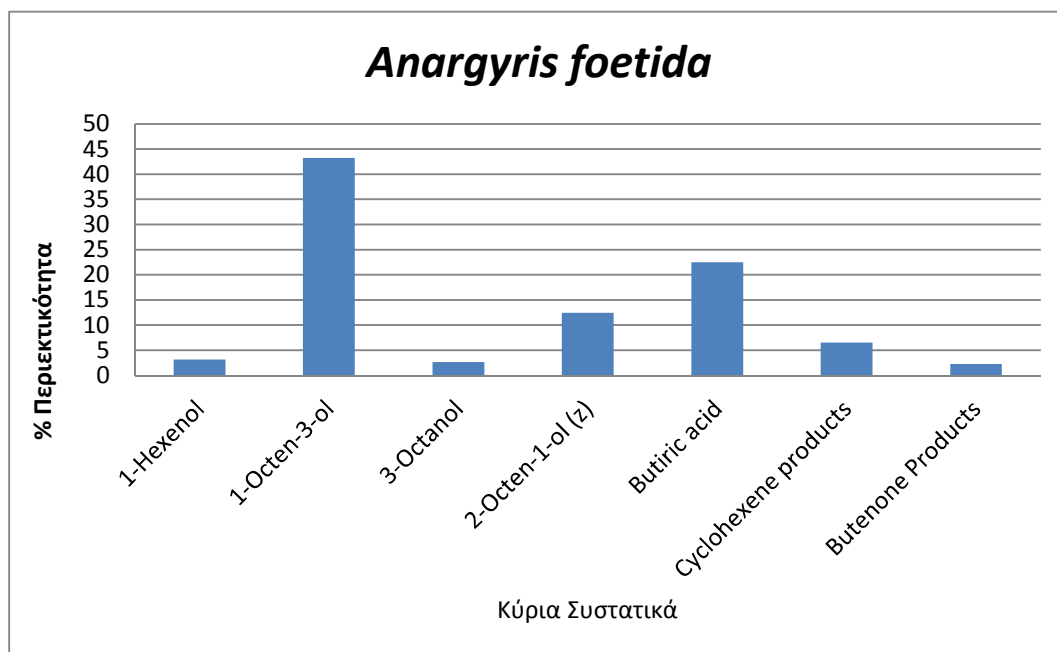
Αναφορές επίσης υπάρχουν και για τη σύσταση του αιθερίου ελαίου από το είδος *Spartium junceum* από την Κροατία (*Bezic M. et al , 2003*) από τους οφθαλμούς και τα άνθη του χρησιμοποιώντας τη μέθοδος της υδροαπόσταξης . Φυτικό δείγμα των 100 gr από άνθη και οφθαλμούς αποστάχθηκε με την κλασσική μέθοδος της υδροαπόσταξης και παρελήφθηκε το αιθέριο έλαιο και χρησιμοποιήθηκε για την ανάλυση σε GC-MS. Το αιθέριο έλαιό του χαρακτηρίστηκε κυρίως από την παρουσία υδρογονανθράκων. Τα κύρια συστατικά των οφθαλμών και των ανθέων στα αιθέρια έλαια περιείχαν α-thujene (27,4% και 28,9%), ρ-κυμένιο (19,6% και 13,8%) και γ-τερπινένιο (16,4% και 12,9%) αντίστοιχα.

Για το δείγμα το οποίο μελετήθηκε και σε σύγκριση μόνο της μεθόδου με υδροαπόσταξης από τους *Bezic et.al, 2003* μπορούμε να πούμε ότι η

σύσταση κυρίως εσιτιάστηκε σε ταξινόμηση των συστατικών που βρεθήκαν σε υδρογονάνθρακες και σε ενώσεις που περιλαμβάνουν οξυγόνο.Κρίσιμο είναι να ανφερθεί ότι κατά τη μελέτη υπάρχει αναφορά για τρία αταυτοποίητα συστατικά επίσης.

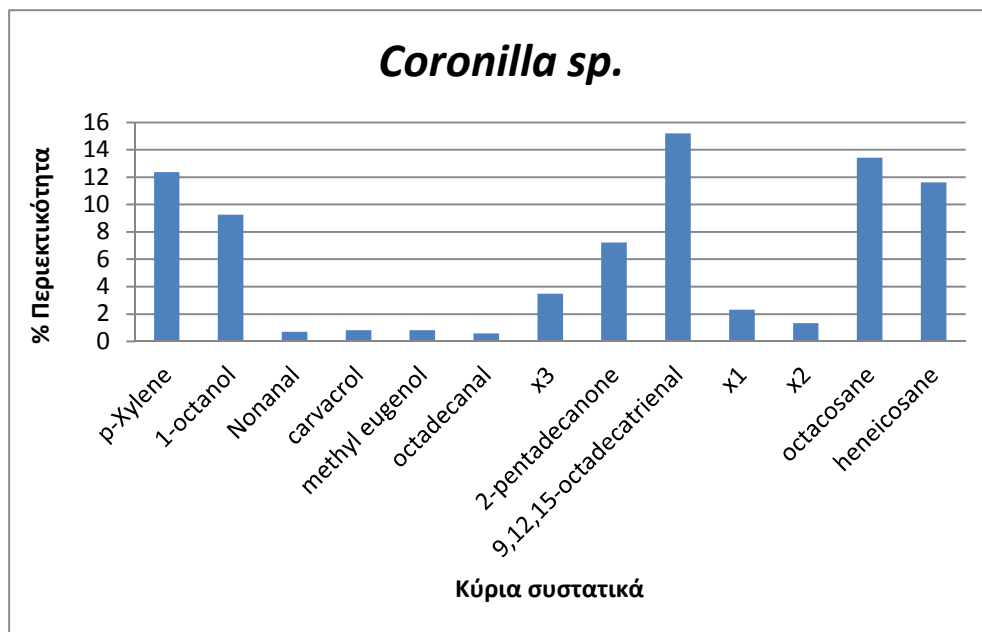
Για τα είδη *Coronilla sp.* και *Anargyris foetida* δεν υπάρχει καμία αναφορά για τη σύσταση του αιθερίου ελαίου τους. Σύμφωνα με την παρούσα μελέτη θα προσπαθήσει να γίνει μια προσέγγιση των συστατικών τα οποία περιέχουν αυτά τα δύο είδη.

Στο είδος *Anargyris foetida* σύμφωνα με την ανάλυση του φασματογράφου αυτό το οποίο παρατηρείται είναι πως τα βασικά συστατικά είναι οκτανόλες ,που αποτελούν το 55,7% του συνολικών συστατικών – οκτεν-3-όλη με 43,25% και 2-οκτεν-1-όλη με 12,44 % , και το βουτυρικό οξύ με ποσοστό συμμετοχής 23%. Σε πολύ μικρότερα ποσοστά συμμετέχουν και άλλα συστατικά , κοινά λίγο έως πολύ σε πλυθώρα αιθερίων ελαίων, όπως εξανόλη (3,2%), νονανόνη (0,5 %), νονανάλη (2,4%), κυκλοεξενόλες (6%) , β-μυρκένιο (0,5%).



Διάγραμμα5: Κύρια συστατικά του αιθερίου ελαίου *Spartium junceum*.

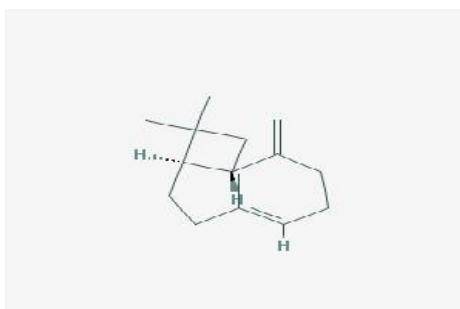
Για το είδος *Coronilla sp.* δεν υπήρχε καμία βιβλιογραφική αναφορά και σύμφωνα με την ανάλυση του δείγματος σε GC-MS.Κύρια συστατικά που ανιχνεύτηκαν ήταν το π-ξυλένιο (12,38%) , η οκτανόλη (9,27%) , η 2-πενταδεκανόνη (7,2%), η 9,12,15-οκταδεκατριενάλη (15%), το οκτακοσάνιο (13,43%) ,και το ενείκοσάνιο (11,61%).Ανιχνεύτηκαν σε μικρές ποσότητες μόρια που είναι γνωστά και κοινά σε πληθώρα αιθερίων ελαίων και 3 συστατικά αταυτοποίητα.



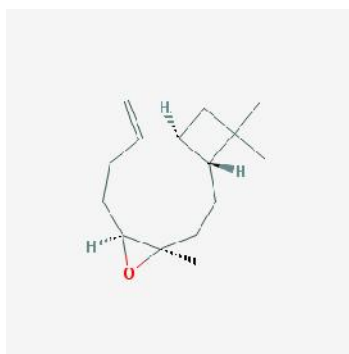
Διάγραμμα 6: Κύρια συστατικά του αιθερίου ελαίου *Coronilla sp.*

3.2 Μελέτη των ιδιοτήτων των συστατικών των υπό εξέταση αιθερίων ελαίων

Ένα από τα συστατικά τα οποία βρέθηκαν σε κυρίαρχη ποσότητα και στα δύο είδη *Psoralea bituminosa* είναι το α-καριοφυλλένιο, το καρυοφυλλένιο και το οξύ του καρυοφυλλενίου.



Εικόνα : Μόριο του καρυοφυλλενίου



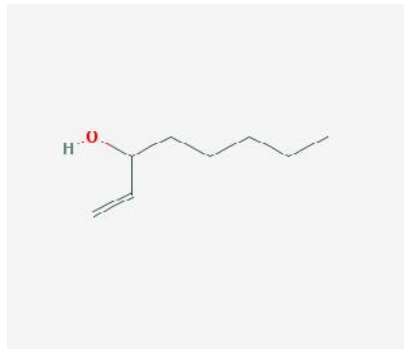
Εικόνα 11 : Μόριο του οξείδιου του καρυοφυλλενίου

Το Καρυοφυλλένιο ή (-) - β-καρυοφυλλένιο, είναι ένα φυσικό δίκυκλο σεσκιτερπένιο και βρίσκεται σε πολλά αιθέρια έλαια. Η δομή του καρυοφυλλένιου είναι αξιοσημείωτη καθώς υπάρχει δομή δακτύλιο κυκλοβουτανίου το οποίο σπάνια συναντιέται στη φύση. Το καρυοφυλλένιο ως μόριο θεωρείται από τη βιβλιογραφία ως ένα μόριο με αναλγητικές και αντιμικροβιακές ιδιότητες. Το οξύ του καρυοφυλλενίου απαντάται σε πολλά φυτικά αιθέρια έλαια (Connolly JD, 1991).

Αυτό το σεσκιτερπένιο (Εικ.) εμφανίζει αντιφλεγμονώδη και αντικαρκινογόνο δράση και φαίνεται πως επιδρά και σε παθήσεις του

δέρματος (*Ordycke DLJ* , 1983). Το Οξείδιο του καρυοφυλλενίου δοκιμάστηκε in vitro, ως αντιμυκητιακό σε μύκητες του είδους *Trichophyton rubrum* που προκαλούν τις γνωστές σε όλους ,ονυχομυκητιάσεις. Αντιμυκητιακή του δράση της έχει σε σύγκριση με τα μόρια *ciclopiroxolamine* και *sulconazole*, που χρησιμοποιούνται συνήθως στη θεραπεία κατά της ονυχομυκητίασης και ύστερα από 15 μέρες έδειξε σημαντική ανάσχεση του ρυθμού των μυκήτων (*Depo Yang et al.* , 2000).Επίσης σε πειράματα που πραγματοποιήθηκαν με οξείδιο του καρυοφυλλενίου-για αξιολόγηση της αναλγητικής και αντιφλεγμονώδους δράση σε οίδημα ποντικών - το οξείδιο του καρυοφυλλενίου έδειξε σημαντική δράση και παρουσίασε ίδια αποτελεσματικότητα με την ασπιρίνη με αρκετά καλό ρυθμός ανάσχεσης του οιδήματος(*Ghelardini et. al*, 2001).

Για τα συστατικά του είδους *Anargyris foetida* κατά την ανασκόπηση της βιβλιογραφίας τα μόρια της οκτεν-3-όλης και 2-οκτεν-1-όλη φαίνεται πως έχει ενδιαφέρουσες εντομοελκυστικές ιδιότητες.



Εικόνα 12: Μόριο οκτεν-3-όλης

Μελέτες αναφέρουν ότι υπήρχε στατιστικά σημαντική διαφορά στον αριθμό των κουνουπιών που παγιδεύονταν σε παγίδες στη Φλώρινα όταν αυτές περιείχαν οκτεν-3-όλη και ακόμα μεγαλύτερη διαφορά παρατηρούταν όταν ήταν μαζί με είχαν εμπλουτιστεί με διοξείδιο του άνθρακα,συνεργιστική δράση. Η συνεργιστική δράση είχε ως αποτέλεσμα να παγδευτούν

μεγαλύτεροι πληθυσμοί των *Aedes taeniorhynchus*, *Anopheles* spp. και *Wyeomyia mitchellii*. Τα είδη της οικογένειας Ceratopogonidae (*Culicoides furens*) και Tabanidae (*Diachlorus ferrugatus*, *Tabanus nigrovittatus* and *Chrysops* spp.) έδειξαν να παγιδεύονται σε μεγαλύτερο ποσοστό σε παγίδες που περιείχαν και τα δύο συστατικά (Takken et. al, 1989). Επίσης, μελέτη που έχει διερευνηθεί από τους W.M. Van Der Goes Van Naters et. al, 1995 έδειξε ότι η οκτεν-3-όλη, παρατηρήθηκε ότι το 43% των οσφρητικών κυττάρων του είδους *Glossina f. fuscipes* (μύγα ΤσεΤσε), ανταποκρίνεται στην ουσία αυτή όταν χρησιμοποιείται ως παγίδα για τη σύλληψή τους. Επίσης και όλα τα παράγωγα της οκτεν-3-όλης φαίνεται να έχουν βιολογική δράση, ωστόσο αν η ομάδα του καρβονυλίου λείπει, τα οσφρητικά κύτταρα δίνουν χαμηλότερες αποκρίσεις. Στην ίδια μελέτη φαίνεται πως παρόμοια απόκριση των οσφρητικών κυττάρων παρατηρήσαν και για την 2-οκτεν-1-όλη. Κετόνες, αλδεΐδες και αλκοόλες είναι γενικά ενεργά μόρια αλλά διαφορετική εξιδίκευση αλλά με διαφορετικό τρόπο δράσης ανάλογα με τη λειτουργική ομάδα, η οποία σχετίζεται με την παρούσα λειτουργική ομάδα, και τους δεσμούς υδρογόνου που αναπτύσσονται.

Κεφαλαίο 4: Μελλοντικές Προτασεις-Προοπτικές

Κατά την ανασκόπηση της βιβλιογραφίας και τη μελέτη των αποτελεσμάτων μπορούν να τεθούν κάποιοι μακροπρόθεσμοι στόχοι στο πεδίο της έρευνας που δεν ήταν εύκολο να πραγματοποιηθούν στα χρονικά πλαίσια αυτού του μεταπτυχιακού. Η έρευνα η οποία πραγματοποιήθηκε αποτελεί ένα πρώτο δείγμα για μια αναγνωριστική μελέτη για ένα πεδίο το οποίο παραμένει από την παγκόσμια βιβλιογραφία ανεξερεύνητο και αναξιοποίητο. Η οικογένεια Fabaceae που όπως έχει αναφερθεί και σε προηγούμενο κεφάλαιο, είναι η δεύτερη πιο σημαντική οικογένεια από γεωργικής άποψης και η τρίτη μεγαλύτερη οικογένεια βοτανικά, παραμένει αναξιοποίητη ως προς τη σύσταση και αξιοποίηση των συστατικών του αιθερίου ελαίου. Επομένως πρόκειται για ένα μεγάλο πεδίο έρευνας και θα αποτελέσει πρόκληση μελλοντικούς ερευνητές.

Η έρευνα σχετικά με τα αιθέρια έλαια των αρωματικών φυτών ως δευτερογενής μεταβολίτες, λόγω των πολλών και διαφορετικών τους χημικών ομάδων παρουσιάζουν μια πληθώρα ιδιοτήτων όπως αντιμικροβιακές, αντιοξειδωτικές και φαρμακευτικές ιδιότητες αποτελώντας ένα πολλά υποσχόμενο δυναμικό πεδίο για πληθώρα μελλοντικών εφαρμογών στους τομείς της γεωργίας, της ιατρικής, της φαρμακευτικής βιομηχανίας και της βιοτεχνολογίας. Η αφορμή για τη μελέτη πολλών από αυτών ξεκίνησε από την εμπλοκή των φυτών αυτών στην εκάστοτε λαϊκή φαρμακευτική ή ακόμα και στις συνήθειες των λαών ανά τον κόσμο.

Το αιθέριο έλαιο των Fabaceae δίνει πολύ μικρές αποδόσεις και για αυτό καλό θα είναι στις όποιες προσπάθειες γίνουν μελλοντικά να ληφθεί σοβαρά

υπόψη.Προς αυτήν την κατεύθυνση η πρότασή μου είναι να υπάρχει μεγάλος όγκος των φυτικών δειγμάτων ή αν αποφασιστεί να αξιολογηθεί αιθέριο έλαιο καλλιεργούμενων φυτών να υπάρχει επέμβαση με καλλιεργητικές τεχνικές που θα επιδρούν στην απόδοση.

Σημαντικός άξονας και επιτακτική ανάγκη είναι η χημειοταξινόμηση της οικογένειας βάση των συστατικών του αιθερίου ελαίου.Εφόσον η οικογένεια περιλαμβάνει πολλές Τάξεις, Γένη και Είδη , η συνεισφορά αυτή στη σύγχρονη βοτανική ταξινόμηση κρίνεται αναγκαία.Εφόσον νέες μοριακές μέθοδοι έχουν βρει δεδομένα για ταξινόμηση της οικογένειας βάση νέων μοριακών μοντέλων, η συνεισφορά της χημειοταξινόμησης θα μπορέσει να ολοκληρώσει το προφίλ της οικογένειας Fabaceae και να επαναπροσδιορίσει τη δομή της.Επίσης σκόπιμο κρίνεται να ταυτοποιηθούν και τα μόρια τα οποία δεν μπόρεσαν να αναγνωριστούν στα φυτικά δείγματα ώστε να υπάρχει ένα ολοκληρωμένο χημικό προφίλ.

5.Βιβλιογραφία

1. Abdelaaty A. Shahat , Gamal El-Barouty , Rasmeia A. Hassan , Fiza M. Hammouda , Fawzia H. Abdel-Rahman & Mahmoud A. Saleh (2008),<<Chemical composition and antimicrobial activities of the essential oil from the seeds of Enterolobium contortisiliquum (leguminosae)>>, Journal of Environmental Science and Health(Part B),Volume:43,Issue:6,pp:519-525.
2. Araújo, F.M.a, Passos, M.d.G.V.M.b, Lima, E.d.O.c, Roque, N.F.a, Guedes, M.L.S.d, de Souza-Neta, L.C.a, Cruz, F.G.a , Martins, D.a Composition and antimicrobial activity of essential oils from Poirertia bahiana C. Müller (Papilionoideae-Leguminosae) (Article) Journal of the Brazilian Chemical Society Volume 20, Issue 10, 2009, Pages 1805-1810
3. Bertoli,A., Menichini, F., Noccioli C., Morelli I., Pistelli L, 2004 , « Volatile constituents of different organs of Psoralea bituminosa L», Flavour and Fragrance Journal, Volume 19, Issue 2, pp. 166-171
4. Bezic Nada , Dunkic Valerija, Radonic Ani , 2003 , «Anatomical and chemical adaptation Of spartium junceum l. In arid habitat », Acta Biologica Cracoviensia Series Botanica, Volume 45, Issue 2:, pp. 43–47
5. Breitmaier E, 2006, Terpenes, Willey-VCH Verlag GmbH & Co, Morlenbach, Germany, pp 214
6. Brian M. Lawrencet,2009, <<Essential Oils: From Agriculture To Chemistry Brian M.>>,The Internaional jurnal of aromatherapy,Volume:10.
7. C. Ghelardini , N. Galeotti, L. Di Cesare Mannelli , G. Mazzanti, A. Bartolini , 2001 , “Local anaesthetic activity of -caryophyllene” , Il Farmaco , vol:56, pp.: 387–389

8. Carla de M. Martins , Sérgio A. L. de Morais , Roberto Chang , Luís C. S. Cunha ,
9. Cronquist , A. , 1981 “An integrated System of classification of flowering plants. New York Columbia UNIVERCITY Press
10. Duilio Iamónico, Emanuela Giovi, Mauro Iberite, Giovanna Abbate, 2011, <<Typification of *Trifolium latium* Sebast. (Fabaceae) and comparison with similar species>> Ann. Bot. Fennici, Volume: 48, pp: 459-464.
11. Duranti M., Gr, Gius, 1997, “Legume seeds: protein content and nutritional value” , Fields Crops Research, vol. 53 , pp.: 31-45
12. Fabiana B. Furtado , Francisco J. T. de Aquino , Evandro A. Nascimento ,
13. Fabrício C. Machado, Alberto de Oliveira, 2014, << Seasonal Variation of the Chemical Composition and Antimicrobial and Cytotoxic Activities of the Essential Oils from *Inga laurina* (Sw.) Willd.>>, Molecules, Volume: 19, pp: 4560-4577.
14. Farahnaz Khalighi-Sigaroodia, Maryam Ahvazib, Abbas Hadjiakhoondic, Mitra Taghizadeha, Darab Yazdania, Shahram Khalighi-Sigaroodid , Siamak Bidele, 2011, «Cytotoxicity and Antioxidant Activity of 23 Plant Species of Leguminosae Family>>, Services Iranian Journal of Pharmaceutical Research, Volume: 11, Issue: 1, pp: 295-302.
15. Figueiredo, A.C., J.G. Barosso, L.G. Pedro, J.J.C. Scheffer, 2008, <<Factors affecting secondary metabolite production in plants: volatile components and essential oil>>, Flav. Fragr. J., Volume : 23, pp: 213-226.
16. Floricéa M. Araújo, Maria das Graças V. M. Passos, Edeltrudes de O. Lima, c Nídia F. Roque, Maria L. S. Guedes, Lourdes C. de Souza-Neta, Frederico Guaré Cruz, and Dirceu Martins, 2009, << Composition and Antimicrobial Activity of Essential Oils from *Poiretia bahiana* C. Müller

- (Papilionoideae-Leguminosae)>>, J. Braz. Chem. Soc.,Volume:20,Issue:10,pp:1805-1810.
17. Gepts, P., W. D. Beavis, E. C. Brummer, R. C. Shoemaker, H. T. Stalker, N. F. Weeden, and N. D. Young. 2005. Legumes as a model plant family. Genomics for food and feed report of the cross-legume advances through genomics conference. *Plant Physiology* 137: 1228–1235.
 18. Gibbs, D.R., 1974, <<Chemotaxonomy of Flowering Plants>>, McGill's Queen's University Press, Montreal and London, Volume:1.
 19. Graham, P. H., and C. P. Vance. 2003. Legumes: importance and constraints to greater use. *Plant Physiol.* 131: 872 – 877.
 20. Halimodendron halodendron Natural Product Communications Volume 6, Issue 11, 2011, Pages 1749-1753
 21. Hesham El-Seedi, Mervat Zayed, Shimaa Roshdy, Mohamed Salem , Mohamed Hawata, Farag El-Essawy , Mai El-Barbary , Salah El-Kousy, 2010, << Analysis of the essential oil from the aerial parts of Psoralea pubescence (Miq.) Standl and its antibacterial active>>, *Med Chem Res*, Volume:19, pp:1036–1042.
 22. Hughes, S.G., J.A. Bryant, N. Smirnoff, 1989, <<Molecular biological application to studies of stress tolerance>>, In: G.J. Hamlyn, T.J. Flowers and M.B. Jones, eds, *Plants under stress*, pp:131-135, Cambridge Univ. Press, New York.
 23. Huie, C.W., 2002, <<A review of modern sample-preparation techniques for the extraction and analysis of medical plants>>, *Anal. Bioanal. Chem.*, Volume:373, pp:23-30.
 24. Jalal Khorshidi (Corresponding author), Mohammad Fakhr Tabatabaei, Reza Omidbaigi, Fatemeh Sefidkon, 2009, << Effect of Densities of Planting on Yield and Essential Oil Components of Fennel (Foeniculum

- vulgare Mill Var. Soroksary)>>, Journal of Agricultural Science,Volume:1,Issue:1,pp:52-57.
25. Jayant Shankar Raut, Sankunny Mohan Karuppayil,2014,<< A status review on the medicinal properties of essential oils>>,Industrial Crops and Products,Volume:62,pp:250–264.
 26. Jens Rohloff,2003,<<Culltiivatiion of Herbs and Mediiciinall Pllants iin Norway – Essentiiall Oiill Productiion and Qualliity Contro>>.
 27. Jigna PAREKH, Sumitra V. CHANDA, 2007,<< In vitro Antimicrobial Activity and Phytochemical Analysis of Some Indian Medicinal Plants>>,Turk J Biol,Volume: 31,pp: 53-58.
 28. Kaufmann & Christen,2002,<<Recent Techniques for Natural Products: Microwave assisted Extraction and Pressurised Solvent Extraction>>,Phytocem. Anal,Volume :13,pp:105-113.
 29. Keravis G.,1997,<<Spectrometrie demasse et chromatographie dans l'analyse des plantes aromatiques et huiles essentielles.>>In: B. Benjilali, M. Ettalibi, M. Ismaili-Alaoui, S. Zrira, eds., Proceedings of the Intern. Congr. Arom. Medical Plants & Essential Oils, pp:379-384, Actes Editions, Rabat, Morocco.
 30. Lawrencet B M, 2000, Essential oils: From agriculture to chemistry, The International Journal of Aromatherapy, 10, 82-98.
 31. Lembercovics, E., G. Petri, H. Nguyen, I. Mathe, 1995, << Relationships between essential oil and flavonoid biosynthesis in sweet basil >>, Acta Hort, Volume: 426, pp: 647-655.
 32. Lewis, G., B. Schrire, B. MacKinder, and M. Lock (eds). 2005. Legumes of the world. Royal Botanical Gardens, Kew, UK.
 33. Luís F. Leandro, Carlos H. G. Martins, Mário M. Martins, Claudio V. da Silva,

34. M. Balogun, B. L. Fetuga, 1985, << Fatty Acid Composition of Seed Oils of Some Members of the Leguminosae Family >>, Food Chemistry, Volume:17, pp:175-182.
35. M. Gundidza, N. Gweru, M. L. Magwa, N. J. Ramalivhana, G. Humphrey, A. Samie, Mmbengwa V, 2009, << Phytochemical composition and biological activities of essential oil of *Rhynchosia minima* (L) (DC) (Fabaceae) >>, African Journal of Biotechnology, Volume:8, Issue:5, pp:721-724.
36. M.J. Chavan, P.S. Wakte, D.B. Shinde, 2010, "Analgesic and anti-inflammatory activity of Caryophyllene oxide from *Annona squamosa* L. bark", Phytomedicine, vol.:17, pp.: 149–151
37. M.S. Akhtara, Zafar Iqbal, M.N. Khan, Muhammad Lateef, 2000, << Anthelmintic activity of medicinal plants with particular reference to their use in animals in the Indo-Pakistan subcontinent >>, Small Ruminant Research, Volume:38, pp:99-107.
38. Mahmoud A. Al-Qudah, 2011, << Chemical composition of the essential oil from Jordanian *Lupinus varius* L. >>, Arabian Journal of Chemistry, Volume:6, pp:225–227.
39. Mahmoud A. Saleh, PhD, Shavon Clark, Brooke Woodard Suziat Ayomide Deolu-Sobogun, 2010, << ANTIOXIDANT AND FREE RADICAL SCAVENGING ACTIVITIES OF ESSENTIAL OILS >>, Ethnicity & Disease, Volume:20, pp:78-81.
40. Marston A. & K. Hostettman, 2009, << Natural Product Analysis over the Last Decades >>, Planta Med., Volume:75, pp:672-682.
41. MARVIN C. McMASTER, 2007, << GC/MS A Practical User's Guide >>.
42. McKey, D. 1994. Legumes and nitrogen: the evolutionary ecology of a nitrogen-demanding lifestyle. Pages 211–228 in Advances in Legume

Systematics, part 5, the nitrogen factor (J. I. Sprent and D. McKey, eds.).
Royal Botanic Gardens, Kew, UK

43. Nadaf M., Halimi M., Mortazavi M. ,2012,«Identification of Nonpolar Chemical Composition Spartium junceum flower Growing in Iran by GC-MS» , Middle-East Journal of Scientific Research, vol.:11 , issue: 2 ,pp.: 221-224
44. Nahid Sohrevari ,Firouzeh Sohrevari,2012,<< Essential oil composition and antioxidant activity of trigonella foenum graecum L. plant>>,International Journal of Agriculture and Crop Sciences, Volume:4,Issue:12,pp:793-797.
45. Nilsen Et, Meinzer Fc, Rundel Pw. 1989. Stem Photosynthesis In Psoralea Spinosus (Smoke Tree) In The Sonoran Desert Of California. Oecologia 79: 193–197.
46. O. Ogunbinu , S. Okeniyi , G. Flamini , P. L. Cioni , I. A. Ogunwande & I. T. Babalola ,2010,<<Essential Oil Composition of Acacia nilotica Linn., and Acacia albida Delile (Leguminosae) from Nigeria>>, Journal of Essential Oil Research, Volume:22,Issue:6,pp:540-542.
47. Owen S, Boissard C, Street Ra, Duckham Sc, Csiky O, And Hewitt Cn. 1997. Screening Of 18 Mediterranean Plant Species For Volatile Organic Compound Emissions. Atmospheric, Environment 31: 101–117.
48. Pignatti S. 1982. Flora D' Italia, Vol I. Edagricole, Bologna.
49. Polhill, R. M. 1994. Classification of the Leguminosae. Pages xxxv–xlvi in Phytochemical Dictionary of the Leguminosae (F. A. Bisby, J. Buckingham, and J. B. Harborne, eds.). Chapman and Hall, New York, NY.
50. Porqueddu, C.; Melis, R. A. M.; Re, G. A.; Usai, M.; Marchetti, M. , 2013 , «Forage production and essential oil content of Psoralea bituminosa and

P. morisiana accessions» , Grassland Science in Europe, vol.:18 , pp. 349-351

51. Rafael C. Dutra Frederico Pittella, Dalton Dittz, Rodrigo Marcon, Daniel S. Pimenta, Miriam T. P. Lopes, Nádia R. B. Raposo¹2012, «Chemical composition and cytotoxicity activity of the essential oil of *Pterodon emarginatus* » , Brazilian Journal of Pharmacognosy Volume 22, Issue 5, Pages 971-978
52. Rigano, D.a, Russo, A.b , Formisano, C.a, Cardile, V.c, Senatore, F.a Antiproliferative and cytotoxic effects on malignant melanoma cells of essential oils from the aerial parts of *Genista sessilifolia* and *G.Tinctoria* Volume 5, Issue 7, 2010, Pages 1127-1132 Natural Product Communications
53. Rundel, P. W. 1989. Ecological success in relation to plant form and function in the woody legumes. In C.H. Stirton and J.L. Zarucchi (eds.). Advances in legume biology, Monographs in Systematic Botany from the Missouri Botanical Gardens 29: 377-398.
54. S. Rajkumar & A. Jebanesan, 2009, «< Larvicidal and oviposition activity of *Cassia obtusifolia* Linn (Family: Leguminosae) leaf extract against malarial vector, *Anopheles stephensi* Liston (Diptera: Culicidae)>>, Parasitol Res, Volume:104, pp:337–340.
55. Sangwan , N.S., A.H.A. Farooqi, F. Shabih, R.S. Sangwan , 2001, «<Regulation of essential oil production in plants>>, J.Plant Growth Regul, Volume:34, pp:3-21.
56. Schreier P, 1984, Chromatographic studies of biogenesis of plant volatiles, Verlag, Heidelberg, Germany, pp 171.
57. Scott RPW, 2005, Essential Oils, Encyclopedia of Analytical Science, Elsevier , pp 554—561.

58. Sell C.S., 2003, <<A fragrant introduction to terpenoid chemistry>>, The Royal Society of Chemistry, Thomas Graham House, Scientific Park, Milton Road, Cambridge, UK, pp:410.
59. Skaltsa Helen D, Demetzosa Costas, Lazarib Diamanto, Sokovicc Marina, 2003, "Essential oil analysis and antimicrobial activity of eight *Stachys* species from Greece" , *Phytochemistry*, vol.:64, pp.: 743–752
60. Sprent, J. I. 2001. *Nodulation in legumes*. Royal Botanic Gardens, Kew, UK.
61. Stewart W, And Rothwell Gw. 1993. *Paleobiology And The Evolution Of Plants*. Cambridge University Press, New York.
62. Takken W, Kline DL, 1989 , "Carbon dioxide and 1-octen-3-ol as mosquito attractants" , *Journal of the American Mosquito Control Association* , volume 5, issue 3, pp.:311-316.
63. Van Den Dool H, And Kratz Pd. 1963. A Generalization Of The Retention Index System Including Linear Temperature Programmed Gas-Liquid Partition Chromatography, *Journal Of Chromatography* 11: 463–471.
64. W.M. Van Der Goes Van Naters, L. Bootsma, C . J . Den Otter, R.G. Belemtougri, 1996 , "Search For Tsetse Attractants: A Structureactivity Study On 1-Octen-3-Ol In *Glossina Fuscipes Fuscipes* (Diptera: Glossinidae)" , *Journal of Chemical Ecology*, Vol. 22, Issue: 2, pp.:343-355.
65. Wagner H. 1988. *Pharmazeutische Biologie*. Gustav Fischer Verlag, Stuttgart, New York.
66. Wang, J.a, Liu, H.a, Gao, H.a, Zhao, J.a, Zhou, L.a , Han, J.b, Yu, Z.b, Yang, F.b Antimicrobial and antioxidant activities of the flower essential oil of
67. Wojciechowski, Martin F., Johanna Mahn, and Bruce Jones. 2006. *Fabaceae. legumes*. Version 14 , June 2006.

68. Yesilada, E., I. Gu'rbu'z and H. Shibata, 1999. Screening of Turkish anti-ulcerogenic folk remedies for anti-Helicobacter pylori activity, *J. Ethnopharmacology*, 66: 289-293.
69. Yesilada, E., K. Tsuchiya, Y. Takaishi and K. Kawazoe, 2000. Isolation and characterization of free radical scavenging flavonoid glycosides from the flowers of *Spartium junceum* by activity-guided fractionation. *J. Ethnopharmacology*, 73: 471-478.
70. Yesilada, E., Y. Takaishi, T. Fujita and E. Sezik, 2000, Anti-ulcerogenic effects of *Spartium junceum* flowers on in vivo test models in rats, *J. Ethnopharmacology*, 70: 219-226.
71. Yesilada E, And Takaishi Y. 1999. A Saponin With Anti-Ulcerogenic Effect From The Flowers Of *Spartium Junceum*. *Phytochemistry*, vol.:51 ,pp. 903–908.