



ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΚΟ ΕΚΠΑΙΔΕΥΤΙΚΟ ΙΔΡΥΜΑ ΗΠΕΙΡΟΥ ΣΧΟΛΗ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ
ΓΕΩΠΟΝΙΑΣ Κ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ ΚΑΙ ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ ΚΑΤΕΥΘΥΝΣΗ
ΑΝΘΟΚΟΜΙΑΣ –ΑΡΧΙΤΕΚΤΟΝΙΚΗΣ ΤΟΠΙΟΥ

Εξερεύνηση των ιδιοτήτων των κοκκινο-μωβ χρωστικών του άνθους *Lunaria annua*, και παραπλήσιου γούματος ανθέων από άλλα εποχιακά φυτά



Salvia officinalis



Campanula patula



Medicago sativa



Lunaria annua



Cichorium intybus



Malva sylvestris

Άρτα, Ιούλιος, 2022

**In-depth exploration of the properties of the red-purple
pigments of the flower from *Lunaria annua***

Εγκρίθηκε από τριμελή εξεταστική επιτροπή
Τόπος, Ημερομηνία

ΕΠΙΤΡΟΠΗ ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗΣ

1. Επιβλέπων καθηγήτρια

Μπέζα Παρασκευή Επίκουρος Καθηγήτρια | Msc | PhD ,μέλος ΔΕΠ

2. Μέλος επιτροπής

Πατακιούτας Γεώργιος Αναπληρωτής καθηγητής | MSc. | PhD ,μέλος ΔΕΠ

3. Μέλος επιτροπής

Κύρκας Δημήτριος Α' Βαθμίδα | MSc. , μέλος ΕΔΠ

© Βαενάς , Χρήστος , 2022.

Με επιφύλαξη παντός δικαιώματος. All rights reserved.

Δήλωση μη λογοκλοπής

Δηλώνω υπεύθυνα και γνωρίζοντας τις κυρώσεις του Ν. 2121/1993 περί Πνευματικής Ιδιοκτησίας, ότι η παρούσα πτυχιακή εργασία είναι εξ ολοκλήρου αποτέλεσμα δικής μου ερευνητικής εργασίας, δεν αποτελεί προϊόν αντιγραφής ούτε προέρχεται από ανάθεση σε τρίτους. Όλες οι πηγές που χρησιμοποιήθηκαν (κάθε είδους, μορφής και προέλευσης) για τη συγγραφή της περιλαμβάνονται στη βιβλιογραφία.

Επίθετο, Όνομα

ΒΑΕΝΑΣ Α. ΧΡΗΣΤΟΣ

Υπογραφή

ΒΑΕΝΑΣ Α. ΧΡΗΣΤΟΣ

ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Η παρούσα πτυχιακή εργασία εκπονήθηκε το θερινό εξάμηνο του έτους 2007 στο Τεχνολογικό Εκπαιδευτικό Ίδρυμα Ηπείρου στο τμήμα Ανθοκομίας και Αρχιτεκτονικής Τοπίου με έδρα την Άρτα, υπό την επίβλεψη και υποστήριξη του επιβλέποντα καθηγητή μου κ. Γεώργιου Κ. Παπαδόπουλου, Καθηγητή Γεωργικής Χημείας και Φυσικής του τμήματος η οποία όμως ολοκληρώθηκε φέτος. Η ολοκλήρωση της θα ήταν αδύνατη χωρίς την αμέριστη συμπαράστασή του, την μεγάλη του επιμονή, καθώς και την απεριόριστη υπομονή του. Θέλω να του εκφράσω ένα τεράστιο ευχαριστώ για όλη την βοήθεια και γνώση που μου προσέφερε.

Θέλω να ευχαριστήσω την Κα Παρασκευή Μπέζα, Επίκουρη Καθηγήτρια του τμήματος, και επιβλέπουσα μετά τη συνταξιοδότηση του Κου. Παπαδόπουλου, για την πολύτιμη βοήθεια την αμέριστη υποστήριξη και καλή συνεργασία που είχαμε. Επίσης θέλω να ευχαριστήσω τον Κο. Δημήτρη Κύρκα για την προθυμία και το χρόνο που διέθεσε να μου παρέχει βοήθεια και εξηγήσεις στις όποιες απορίες μου.

Ευχαριστώ επίσης τον Αναπληρωτή Καθηγητή του Ιονίου Πανεπιστημίου Κο. Μουστάκα Αντώνη για την πολύτιμη βοήθεια του στο τεχνικό κομμάτι και την εξαιρετική του τεχνική κατάρτιση.

Ευχαριστώ πάρα πολύ την σύζυγο μου Στέλλα για την ενθάρρυνση και την υπομονή της.

Και τέλος, ένα μεγάλο ευχαριστώ στους δυο υπέροχους ήρωες-γονείς μου Στέλιο και Ελευθερία, που παρά τα τόσα προβλήματα υγείας που είχαν υπήρξαν πάντα στήριγμα και συνοδοιπόροι στη ζωή μου μέχρι και σήμερα, που ολοκληρώνεται ο κύκλος των σπουδών μου.

Αφιερωμένη στο Στέλιο και την Ελευθερία

Στη σύζυγο μου Στέλλα

Στις κόρες μου Ανθή και Ελευθερία

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Μελέτη εις βάθος των φασματοσκοπικών ιδιοτήτων των κόκκινο-μωβ χρωστικών του φυτού *Lunaria annua*

Εξερευνήσαμε τις φασματοσκοπικές ιδιότητες των χρωστικών του φυτού *Lunaria annua*. Η εκχύλιση σε οξυνισμένη μεθανόλη έδωσε κόκκινο-μωβ διάλυμα. Το φάσμα απορρόφησης στο ορατό του πυκνού εκχυλίσματος έδειξε σχεδόν κωδωνοειδή καμπύλη με κορυφή ($\lambda_{\text{μεγ}}$) στα 540 nm, με $\Delta\lambda/2 = 101$ nm. Διαδοχικές αραιώσεις μέχρι 1/640 μετατόπισαν το $\lambda_{\text{μεγ}}$ στα 530 nm με $\Delta\lambda/2 = 69$ nm, ενδεικτικό της αλληλεπίδρασης χρωστικών σε στενή επαφή. Οι μικρές αραιώσεις έδειξαν δυσανάλογη αύξηση της απορρόφησης, συμβατή με πρότυπο των αλληλεπιδρώντων χρωστικών. Ο νόμος των Lambert-Beer ίσχυσε για αραιώσεις από 1/80 και πέραν. Το πείραμα επαναλήφθηκε τρεις φορές με πολύ παρόμοια αποτελέσματα. Η καταστολή της απορρόφησης των πυκνών διαλυμάτων εκχυλίσματος υπολογίστηκε σε 41,24 – 47,35 φορές, ενδεικτική πολύ ισχυρών αλληλεπιδράσεων μεταξύ χρωστικών. Το φάσμα απορρόφησης (μέσω σφαίρας ολοκλήρωσης) ανέπαφων πετάλων *L. annua* έδειξε: κύρια κορυφή στα 563 nm, δευτερεύουσα κορυφή προς το ερυθρό, ώμο προς το κυανό, πολύ μικρή κορυφή στα 717 nm, $\Delta\lambda/2 = 134$ nm, σε υπόβαθρο εκτεταμένης σκέδασης φωτός. Τα εκχυλίσματα *L. annua* έχουν έντονο φθορισμό ($\lambda_{\text{διέγ}} = 542$ nm, $\lambda_{\text{εκπ}} = 627$ nm). Πέταλα φυτών με παρομοίου χρώματος άνθη, δηλ. *Campanula petula*, *Cichorium intybus*, *Malva sylvestris*, *Medicago sativa*, και *Salvia officinalis* έδειξαν παρομοίων χαρακτηριστικών φάσματα. Εκχυλίσματα από άνθη του φυτού *C. intybus* έδειξαν μερική διατήρηση των χαρακτηριστικών του φάσματος πετάλου, ενώ το αραιωμένο 1/10 εκχύλισμα έδειξε μία μόνον κωδωνοειδή καμπύλη. Αντίθετα, παρόμοιο εκχύλισμα από *S. officinalis* υπέστη γρήγορη μετατροπή σε διάλυμα καφέ χρώματος, με μη-διακριτό φάσμα απορρόφησης. Τα φάσματα ανέπαφων πετάλων των αντίστοιχων ανθέων παραπέμπουν σε αλληλεπίδραση χρωστικών, με την ισχυρότερη αυτών από *L. annua*. Περαιτέρω έρευνα θα πρέπει να αναδείξει την μοριακή βάση για τα συγκεκριμένα φάσματα πετάλων. Αυτό μπορεί να οδηγήσει και σε σημαντικές εφαρμογές, ιδιαίτερα στη περίπτωση σπάνιων φυσικών χρωμάτων, όπως το γαλάζιο. Έχοντας υπ' όψιν ότι η Ελληνική χλωρίδα είναι από τις πιο πλούσιες στον κόσμο.

ABSTRACT

In-depth exploration of the properties of the red-purple pigments of the flower from *Lunaria annua*

We explored in-depth the spectral properties of the flower pigments of *Lunaria annua*. Extraction in acidified methanol yielded a red-purple product. The visible light absorption spectrum of dense extract solutions showed a Gaussian-like peak at 540 nm (λ_{\max}) with a $\Delta\lambda/2$ value of 101 nm. Successive dilutions to 1/640 displaced the λ_{\max} to 530 nm and $\Delta\lambda/2$ to 69 nm, indicating interacting pigments at close contact. Low dilutions demonstrated a disproportionate *increase* in absorbance, consistent with the interacting pigments model. The Lambert-Beer law was followed only from the dilution of 1/80 downwards. The experiment was repeated three times with very similar results. The suppression of the absorption of dense extract solutions was estimated from 41.24 - 47.35 times, indicative of very strong pigment interactions. The integrating sphere absorption spectrum of the *L. annua* intact petal showed: a 563 nm main peak, red-shifted secondary peak, blue-shifted shoulder, very minor peak at 717 nm, and $\Delta\lambda/2 = 134$ nm, on a background of considerable light scattering. The extract of *L. annua* also showed intense fluorescence (excitation at 542 nm, emission maximum at 627 nm). Examination of other red-purple flower petals, i.e. *Campanula petula*, *Cichorium intybus*, *Malva sylvestris*, *Medicago sativa*, and *Salvia officinalis* showed a similar spectral pattern. *C. intybus* extracts showed partial preservation of the spectral pattern, but only a single Gaussian band at 1/10 dilution. By contrast, a similar extract from *S. officinalis* showed rapid conversion to light brown color, and unfeatured absorption spectrum. The absorption spectra of the respective flower petals suggests pigment interaction, strongest for *L. annua*. Further research should uncover the molecular basis for the specific spectra of intact petals. There may be applications in the case of rare natural colors such as cyan. Keeping in mind that Greece has one of the richest floras in the world.

ΠΡΟΛΟΓΟΣ	5
ΠΕΡΙΛΗΨΗ.....	7
ABSTRACT.....	8
ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ.....	9
ΠΙΝΑΚΑΣ ΣΧΗΜΑΤΩΝ.....	12
ΠΙΝΑΚΑΣ ΕΙΚΟΝΩΝ.....	13
ΠΙΝΑΚΑΣ ΦΑΣΜΑΤΩΝ.....	15
ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΠΙΝΑΚΩΝ.....	16

A. Εισαγωγή	17
A1. Φως.....	18
A1.1 Ανάκλαση φωτός.....	19
A1.1.1 Απορρόφηση.....	20
A1.1.2 Διάχυση.....	21
A1.1.3 Διάθλαση.....	22
A2. Σημασία των φυτών.....	23
A3. Φυτά.....	24
A4. Άνθος.....	29
A5. Ρόλος των χρωστικών –Χρωστικές ανθέων.....	32
A5.1 Οι χρωστικές των ανθέων.....	32
A5.1.1 Καροτενοειδή.....	36
A5.1.2 Φλαβονοειδή.....	41
A5.1.3 Φλαβόνες Φλαβονόλες.....	43
A5.1.4 Χαλκόνες και Αρόνες.....	44

A5.1.5	Ισοφλαβονοειδή.....	45
A5.1.6	Ανθοκυανίνες.....	45
A5.1.7	Λευκοανθοκυανιδίνες, Κατεχίνες, Προανθοκυανίδες.....	49
A6.	Τρόποι διαχωρισμού χρωστικών.....	50
A6.1	Χρωματογραφία.....	50
A6.1.1	Χρωματογραφία Προσρόφησης.....	50
A6.1.2	Χρωματογραφία ανταλλαγής ιόντων.....	51
A6.1.3	Χρωματογραφία διήθησης σε πηκτή.....	52
A6.1.4	Χρωματογραφία κατανομής.....	54
A6.1.5	Χρωματογραφία στήλης.....	55
A6.1.6	Χρωματογραφία χάρτου.....	56
A6.1.7	Αέρια χρωματογραφία.....	57
A6.1.8	Υγρή χρωματογραφία.....	57
A6.1.9	Χρωματογραφία λεπτής στοιβάδας.....	58
A6.2	Φασματοφωτομετρία ορατού φωτός.....	59
A6.2.1	Φασματοφωτομετρία υπεριώδους φωτός.....	61
A6.2.2	Φασματοφωτομετρία φθορισμού.....	61
A7.	Χρώματα ανθέων.....	62
B.	Υλικά και Μέθοδοι.....	63
B.1	Συλλογή ανθέων.....	63
B.2	Όργανα-Σκεύη- Αντιδραστήρια-Διαλύματα.....	65
B.2.1	Όργανα.....	65
B.2.2	Σκευή.....	66
B.2.3	Αντιδραστήρια.....	66
B.2.4	Διαλύματα.....	66
Γ.	Αποτελέσματα.....	68
Γ1.	Φάσματα απορρόφησης εκχυλισμένων χρωστικών από άνθη <i>Lunaria ann</i>	68
Γ2.	Πρώτη σειρά αραιώσεων εκχυλισμάτων <i>Lunaria ann</i> . σε οξυνισμένη μεθανόλη (συλλογή-εκχύλιση 28/03/2007).....	70
Γ3.	Επαναληπτική σειρά αραιώσεων εκχυλισμάτων <i>Lunaria ann</i> . σε οξυνισμένη μεθανόλη	

(συλλογή-εκχύλιση 28/03/2007)	76
Γ4. Δεύτερη σειρά αραιώσεων εκχυλισμάτων <i>Lunaria ann.</i> σε οξυνισμένη μεθανόλη ... (συλλογή-εκχύλιση 29/03/2007)	79
Γ5. Φάσμα ολόκληρου πετάλου <i>Lunaria ann.</i> σε σφαίρα ολοκλήρωσης.....	85
Γ6. Φάσματα πετάλων ανθέων άλλων εποχιακών φυτών μπλε ή συναφούς χρώματος ...	89
Γ6.1 <i>Campanula patula</i>	89
Γ6.2 <i>Cichorium intybus</i>	94
Γ6.3 <i>Lamiachea</i>	98
Γ6.4 Μολόχα (<i>Malva sylvestris</i>).....	100
Γ6.5 Αγριομηδική (<i>Medicago sativa</i>).....	103
Γ6.6 <i>Salvia officinallis</i> (φασκόμηλο).....	105
Γ.7 Φάσματα φθορισμού εκχυλισμάτων από πέταλα ανθέων του φυτού <i>Lunaria annua</i> ...	109
Δ. Συζήτηση και συμπεράσματα	112
Ε. Βιβλιογραφία	115

ΠΙΝΑΚΑΣ ΣΧΗΜΑΤΩΝ

	Σελ.
Σχήμα 1: Γραφική παράσταση δεδομένων από αραίωση $1/80$ έως $1/640$	74
Σχήμα 2 : Γραφική παράσταση όλων των δεδομένων.....	75
Σχήμα 3 : Γραφική παράσταση δεδομένων από αραίωση $1/40$ έως $1/640$	77
Σχήμα 4: Γραφική παράσταση δεδομένων με όλες τις συγκεντρώσεις.....	77
Σχήμα 5 : Γραφική παράσταση δεδομένων από αραίωση $1/20$ έως $1/640$	80
Σχήμα 6: Γραφική παράσταση όλων των δεδομένων.....	80

ΠΙΝΑΚΑΣ ΕΙΚΟΝΩΝ

	Σελ.
Εικόνα 1: Άνθος <i>Lunaria annua</i>	17
Εικόνα 2: Ανάκλαση φωτός.....	19
Εικόνα 3: Σε επιφάνεια λεία και γυαλιστερή, οι ακτίνες τους φωτός ανακλώνται όλες με την ίδια γωνία	20
Εικόνα 4: Ηλεκτρομαγνητικό φάσμα δέσμης ορατού φωτός.....	20
Εικόνα 5: Διάχυση φωτός.....	21
Εικόνα 6: Διάθλαση φωτός: εκτροπή διεύθυνσης φωτεινής ακτίνας ενώ διέρχεται από άλλο μέσο διάδοσης.....	22
Εικόνα 7: Βλαστός και τα κύρια μέρη του φυτού.....	25
Εικόνα 8: Διαφορετικά είδη φύλλων φυτού.....	26
Εικόνα 9: Απεικόνιση ρίζας φυτού.....	27
Εικόνα 10: Μέρη του άνθους.....	29
Εικόνα 11: Άνθος με μίσχο.....	30
Εικόνα 12: Επιφυές άνθος.....	30
Εικόνα 13: Διπλό περιάνθιο άνθους, Ανδρείο και Γυναικώνας	31
Εικόνα 14 : Μεταγωγή οπτικών σημάτων σε ζωικούς οργανισμούς.....	32
Εικόνα 15: Φάσματα απορρόφησης των χρωστικών των κωνιοφόρων κυττάρων που είναι υπεύθυνες για τα χρώματα στην όραση.....	33
Εικόνα 16: Χημική δομή Ανθοκυανινών	33
Εικόνα 17: Χημική δομή Χλωροφύλλης a	34
Εικόνα 18: Φάσματα απορρόφησης των χρωστικών των μελισσών	35
Εικόνα 19: Χημική δομή Καροτένιου α.....	36
Εικόνα 20: Χημική δομή Καροτένιου β.....	36
Εικόνα 21: Χημική δομή ζεαξανθίνης.....	37
Εικόνα 22: Χημική δομή λουτεΐνης.....	37
Εικόνα 23: Χημική δομή λυκοπενίου.....	37
Εικόνα 24: Χημική δομή βιταμίνης Α, στη μορφή της αλκοόλης.....	38
Εικόνα 25: Σύνθεση του μεβαλονικού,	39
Εικόνα 26: Από το μεβαλονικό στο πυροφωσφορικό 3-ισοπεντύλιο.....	39
Εικόνα 27: Από το πυροφωσφορικό 3-ισοπεντύλιο στο πυροφωσφορικό φαρνεσύλιο, και μετά στο σκουαλένιο.....	40

Εικόνα 28: Βιοσυνθετική πορεία καρτενοειδών.....	40
Εικόνα 29: Χημικές δομές φλαβονοειδών και οι υποκατηγορίες των.....	41
Εικόνα 30: Χημική δομή χαλκόνης.....	42
Εικόνα 31: Βιοχημική πορεία σύνθεσης κατεχίνης (catechin)	43
Εικόνα 32: Βασική χημική δομή φλαβονών.....	44
Εικόνα 33: Χημική δομή φλαβονολών.....	44
Εικόνα 34: Χημική δομή αουρόνης.....	45
Εικόνα 35: Χημική δομή ισοφλαβονών.....	45
Εικόνα 36: Γενικός τύπος ανθοκυανιδών με πίνακα υποκαταστατών στις θέσεις R ₁ και R ₂ για τους κυριότερους εκπροσώπους των....	46
Εικόνα 37: Χημική δομή ανθοκυανινών από το φυτό <i>Lunaria annua</i> ...	47
Εικόνα 38: Μεταβολές στη δομή ανθοκυανών και πορείες αποικοδόμησης των ...	48
Εικόνα 39: Χημική δομή Προανθοκυανιδίνης	49
Εικόνα 40: Αρχή της χρωματογραφίας προσρόφησης και χρωματογραφίας κατανομής ...	51
Εικόνα 41: Χρωματογραφία ιοντοανταλλαγής, συγκ. ανιοντοανταλλαγής	52
Εικόνα 42: Αρχή λειτουργίας της χρωματογραφίας διήθησης σε πηκτή	53
Εικόνα 43: Αρχή λειτουργίας της χρωματογραφίας κατανομής.....	55
Εικόνα 44: Αρχή λειτουργίας της χρωματογραφίας στήλης	56
Εικόνα 45: Αρχή λειτουργίας της χρωματογραφίας σε χαρτί	56
Εικόνα 46: Παράδειγμα αέριας χρωματογραφίας	57
Εικόνα 47: Παράδειγμα χρωματογραφίας λεπτής στοιβάδας	58
Εικόνα 48:Νομος Beer-Lambert.....	59
Εικόνα 49: Οργανολογία Φασματοφωτομετρίας.....	60
Εικόνα 50: Χαρακτηριστικό φάσμα απορρόφησης.....	60
Εικόνα 51: Οργανολογία φασματοσκοπίας φθορισμού.....	61

ΠΙΝΑΚΑΣ ΦΑΣΜΑΤΩΝ	Σελ.
Φάσμα 1: Φάσμα απορρόφησης εκχυλίσματος <i>Lunaria ann</i>	69
Φάσμα 2: Φάσμα αρ. 22 απορρόφησης στο ορατό <i>Lunaria ann</i>	71
Φάσμα 3: Φάσμα αρ. 30 απορρόφησης στο ορατό <i>Lunaria ann</i> αραιωμένο κατά 1/20.....	72
Φάσμα 4: Φάσμα αρ. 23 απορρόφησης στο ορατό <i>Lunaria ann</i> αραιωμένο κατά 1/80.....	72
Φάσμα 5: Σύνολο φασμάτων απορρόφησης στο ορατό <i>Lunaria ann</i> , αρ Ln22-30.....	73
Φάσμα 6: Φάσμα αρ. 41 απορρόφησης στο ορατό <i>Lunaria ann</i> μη αραιωμένο εκχύλισμα..	82
Φάσμα 7: Φάσμα αρ. 42 απορρόφησης στο ορατό <i>Lunaria ann</i> αραιωμένο κατά 1/2	82
Φάσμα 8: Φάσμα αρ. 46 απορρόφησης στο ορατό <i>Lunaria ann</i> αραιωμένο κατά 1/8	83
Φάσμα 9: Φάσμα αρ. 43 απορρόφησης στο ορατό <i>Lunaria ann</i> αραιωμένο κατά 1/20	83
Φάσμα 10: Φάσμα αρ. 39 απορρόφησης στο ορατό <i>Lunaria ann</i> αραιωμένο κατά 1/320 ...	84
Φάσμα 11: Σύνολο φασμάτων απορρόφησης ορατού <i>Lunaria ann</i> , 2 ^{ης} σειράς, αριθμοί Ln36-46	84
Φάσμα 12: Φάσμα απορρόφησης πετάλου <i>Lunaria ann</i> σε σφαίρα ολοκλήρωσης	86
Φάσμα 13: Φάσμα απορρόφησης πετάλου <i>Lunaria ann</i> σε σφαίρα ολοκλήρωσης	87
Φάσμα 14: Φάσμα απορρόφησης πετάλου <i>Campanula patula</i> σε σφαίρα ολοκλήρωσης	89
Φάσμα 15: Φάσμα απορρόφησης πετάλου <i>Campanula patula</i> σε σφαίρα ολοκλήρωσης	90
Φάσμα 16: Φάσμα απορρόφησης εκχυλίσματος πετάλου <i>Campanula patula</i> σε σφαίρα ολοκλήρωσης	91
Φάσμα 17: Φάσμα απορρόφησης εκχυλίσματος πετάλου <i>Campanula patula</i> , αραιωμ. 1/10 ..	92
Φάσμα 18: Φάσμα απορρόφησης πετάλου <i>Cichorium intybus</i> σε σφαίρα ολοκλήρωσης.....	94
Φάσμα 19: Φάσμα απορρόφησης εκχυλίσματος πετάλου <i>Cichorium intybus</i>	96
Φάσμα 20: Φάσμα απορρόφησης πετάλου φυτού <i>Lamiaceae</i> σε σφαίρα ολοκλήρωσης	98
Φάσμα 21: Φάσμα απορρόφησης πετάλου μολόχας (<i>Malva sylvestris</i>) σε σφαίρα ολοκλήρωσης	100
Φάσμα 22: Φάσμα απορρόφησης πίσω πλευράς πετάλου μολόχας(<i>Malva sylvestris</i>)	101
Φάσμα 23: Φάσμα απορρόφησης πετάλου αγριομηδικής (<i>Medicago sativa</i>)	103
Φάσμα 24: Φάσμα απορρόφησης πετάλου φασκόμηλο (<i>Salvia officinalis</i>)	106
Φάσμα 25: Φάσμα από εκχύλισμα πετάλου <i>Salvia officinalis</i> σε οξυνισμένη μεθανόλη	107
Φάσμα 26: Φάσμα από εκχύλισμα πετάλου <i>Salvia officinalis</i> σε απεσταγμένο νερό	108
Φάσμα 27. Φάσμα φθορισμού (εκπομπής) εκχυλίσματος πετάλων λουνάρια σε οξυνισμένη Μεθανόλη	110

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΠΙΝΑΚΩΝ

Αριθμός Πίνακα	Σελ.
B1. Συλλογή φυτών <i>Lunaria annua</i>	63
Γ1: Φασματοσκοπικά δεδομένα, αραιώσεις εκχυλίσματος <i>Lunaria ann.</i> 1 ^η σειρά, 28/3/2007	70
Γ2: Φασματοσκοπικά δεδομένα <i>Lunaria ann.</i> 2 ^η σειρά 28/3/2007.....	76
Γ3: Φασματοσκοπικά δεδομένα εκχυλίσματος <i>Lunaria ann.</i> , 29/03/2007.....	79
Γ4: Σύγκριση χαρακτηριστικών πετάλου και εκχυλισμάτων του, από άνθη <i>Lunaria ann.</i>	88
Γ5: Σύγκριση χαρακτηριστικών πετάλου και εκχυλισμάτων, από άνθη <i>Campanula patula</i> (Φάσματα 15-17)	93
Γ6 : Σύγκριση χαρακτηριστικών πετάλου και εκχυλίσματος, από άνθη <i>Cichorium intybus</i> (Φάσματα 18-19)	97
Γ7 : Φασματοσκοπικά χαρακτηριστικά πετάλου, από άνθη <i>Lamiachea</i> με ανοιχτό μώβ χρώμα (Φάσμα 20)	99
Γ8 : Σύγκριση χαρακτηριστικών πετάλου (μπρος και πίσω πλευρά), από άνθη Μολόχας (<i>Malva sylvestris</i>)(Φάσματα 21-22)	102
Γ9: Φασματοσκοπικά χαρακτηριστικά πετάλου, από άνθη αγριομηδικής (Φάσμα 23)	104
Γ10 : Φασματοσκοπικά χαρακτηριστικά πετάλου, από άνθη φασκόμηλου (<i>Salvia officinalis</i>) (Φάσμα 24).....	106

A. Εισαγωγή

Η παρούσα εργασία αφορά τη μελέτη φασμάτων απορρόφησης και φθορισμού εκχυλισμάτων (σε οξυνισμένη μεθανόλη) των χρωστικών ουσιών που υπάρχουν στα πέταλα των ανθέων του φυτού *Lunaria annua*.

Στο θεωρητικό μέρος αναφέρονται μερικά πράγματα για το Φως, για την αντανάκλασή του, την απορρόφησή του, την διάχυση και την διάθλαση του. Αυτά τα φαινόμενα, που τα ζούμε καθημερινά στο περιβάλλον που υπάρχουμε, είναι απαραίτητο να κατανοηθούν πριν προχωρήσουμε στη πτυχιακή μας εργασία.

Επίσης θα αναφερθούν τα βασικά χαρακτηριστικά των ανθέων και ο ρόλος των χρωστικών ουσιών στα φυτά γενικότερα, και στα άνθη πιο συγκεκριμένα. Αναφέρονται επίσης, οι τρόποι διαχωρισμού των χρωστικών και τα γενικά χαρακτηριστικά του φυτού *Lunaria annua*.

Lunaria annua

Οικογένεια: *Brassicaceae*

Γένος: *Lunaria*

Είδος: *Lunaria annua*



Εικόνα 1: Άνθος *Lunaria annua* (Πηγή: phytologio.blogspot.com, 2/5/20 13.30μ.μ.)

Γενικά:

Το όνομα *Lunaria* λατινικά σημαίνει «φεγγάρι - διαμορφωμένο» και αναφέρεται στο σχήμα και την εμφάνιση των βλαστών του συγκεκριμένου φυτού. Η κοινή ονομασία "ειλικρίνεια" προέκυψε κατά τον 16^ο αιώνα, και μπορεί επίσης να σχετίζεται με τη διαύγεια των βλαστών. Η Λουνάρια είναι πόα

30-80 εκ. με βλαστό που είναι τριχωτός, όρθιος και διακλαδισμένος. Τα φύλλα του φυτού είναι μεγάλα, ωοειδή, και καρδιοειδή στη βάση, τα κατώτερα μακρόμισχα και τα ανώτερα άμισχα. Τα φυτά στην Ελλάδα ανθίζουν από τον Μάρτιο (ενίοτε και από τα τέλη Φεβρουαρίου, στην Ήπειρο όπου τα μελετήσαμε), ενώ σε βορειότερα κλίματα ανθίζουν τον Απρίλιο, και τα άνθη τους έχουν σχήμα σταυρού σε μωβ-λιλά χρώμα και είναι άοσμα. Το φυτό είναι αυτοφυές στην Ν.Α. Ευρώπη, κοινό σε όλη την Ελλάδα, καλλιεργούμενο συχνά και ως καλλωπιστικό.

1. ΦΩΣ

Φως, ονομάζεται η ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία που ανιχνεύεται από το ανθρώπινο μάτι και που εκλαμβάνεται ως αντίληψη αυτής.

Όμως η αντίληψη αυτή του "ορατού" φωτός αποτελεί τμήμα της ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας. Καλύπτει ένα εύρος μηκών κύματος που "μεταφράζονται" από το μάτι στα χρώματα του φωτεινού φάσματος (δηλαδή στα χρώματα του ουράνιου τόξου, συγκεκριμένα πορφυρό (μωβ), βαθύ μπλε, ανοιχτό μπλε, πράσινο, κίτρινο πορτοκαλί και κόκκινο).

Ανάλογα με τις εκάστοτε συνθήκες το φως εκδηλώνει ιδιότητες είτε φωτεινού κύματος, (φωτεινή ακτίνα), είτε δέσμης σωματιδίων, (φωτεινή δέσμη ή δέσμες). Τα στοιχειώδη σωματίδια-κύματα (κβάντα) φωτός ονομάζονται φωτόνια, και η ενέργεια του κάθε φωτονίου εξαρτάται αποκλειστικά από τη συχνότητά του, ή το μήκος κύματός του. Συγκεκριμένα, η ενέργεια του ενός φωτονίου, E , ισούται με την σταθερά Planck, h , επί τη συχνότητα του φωτονίου, ν .

$$E = h \cdot \nu \quad (1)$$

Επειδή η ταχύτητα c του φωτός στο κενό ισούται με το γινόμενο της συχνότητας ν και του μήκους κύματος λ του φωτονίου σύμφωνα με την εξίσωση

$$c = \nu \cdot \lambda \quad (2)$$

Η ενέργεια του φωτονίου στην εξίσωση (1) μπορεί να γραφτεί και ως

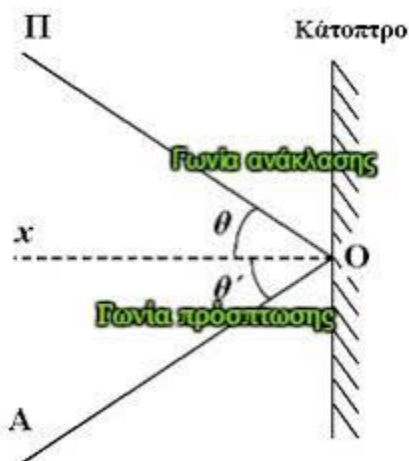
$$E = h \cdot c/\lambda \quad (3)$$

Συνεπώς, η ενέργεια του φωτονίου είναι ευθέως ανάλογη της συχνότητάς του και αντιστρόφως ανάλογη του μήκους κύματός του (βλ. παρακάτω και ΗΜ ακτινοβολία).

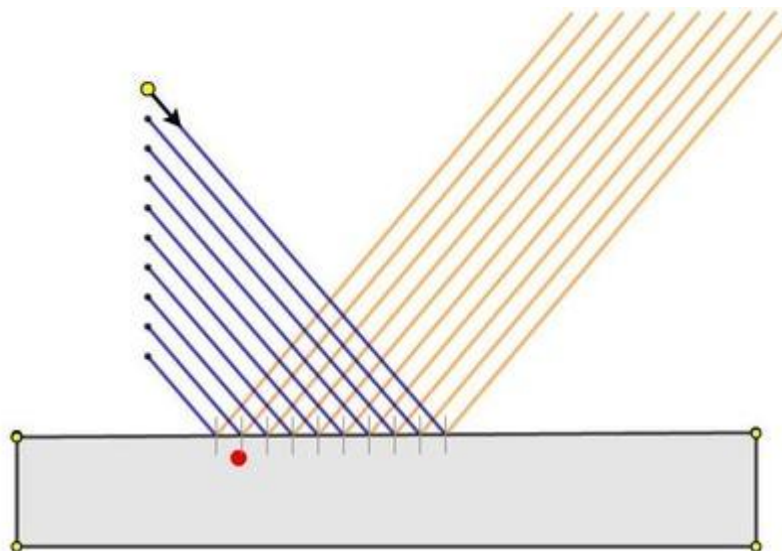
1.1 Ανάκλαση φωτός:

Το φως μπορεί να ανακλαστεί (χωρίς να διατηρείται το είδωλο, αλλά μόνο η ενέργεια του κύματος). Ο τρόπος με τον οποίο ανακλάται το φως εξαρτάται από το υλικό την ανακλαστικής επιφάνειας. Επιπλέον, αν η επιφάνεια διαχωρίζει ένα διηλεκτρικό από ένα αγωγίμο υλικό τότε η φάση του κύματος μπορεί να αναστραφεί. Αντίθετα, όταν η επιφάνεια διαχωρίζει ένα διηλεκτρικό από ένα άλλο διηλεκτρικό υλικό τότε η φάση του κύματος δεν αναστρέφεται.

Το επίπεδο κάτοπτρο αποτελεί το συνηθέστερο αντικείμενο στο οποίο εμφανίζεται κατοπτρική ανάκλαση του φωτός. Είναι κατασκευασμένο από μια γυάλινη επιφάνεια, στο πίσω μέρος της οποίας υπάρχει μια μεταλλική επίστρωση στην οποία πραγματοποιείται η ανάκλαση. Επίσης, είναι δυνατόν να ανακλαστεί ένα κύμα στην επιφάνεια διαφανών υλικών, όπως νερό ή γυαλιού



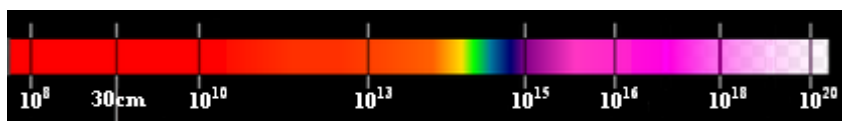
Εικόνα 2: Ανάκλαση φωτός. Η ακτίνα ανακλάται με την ίδια γωνία(ως προς την κάθετο στο επίπεδο ανάκλασης)που σχημάτισε κατά την πρόσπτωση στο επίπεδο αντανάκλασης. (Πηγή: www.wordpress.com, 16/4/20 19.42μ.μ.)



Εικόνα 3: Σε επιφάνεια λεία και γυαλιστερή οι ακτίνες του φωτός ανακλώνται όλες με την ίδια γωνία (Πηγή: www.digitalzoot.weebly.com, 1/4/20 20.27μ.μ.)

1.1.1 Απορρόφηση: Ο όρος απορρόφηση ενέργειας χρησιμοποιείται και στη περίπτωση απορρόφησης ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας από ένα σώμα. Αναφέρεται στη διεργασία κατά την οποία η ενέργεια ενός φωτονίου απορροφάται από ένα άλλο σωματίδιο, για παράδειγμα ένα άτομο του οποίου τα ηλεκτρόνια σθένους μεταβαίνουν από μια ενεργειακή στάθμη σε κάποια υψηλότερη, απορροφώντας την ενέργεια του φωτονίου, το οποίο έτσι εξαφανίζεται. Τα σωματίδια αυτά, μπορούν να χάσουν την απορροφούμενη ενέργεια είτε μέσω ανταλλαγής θερμότητας, είτε λόγω ακτινοβολίας.

Αυτή η απορρόφηση ενέργειας μετράται με τη μέθοδο της φασματοσκοπίας. Η Φασματοσκοπία έχει ως προέλευσή της το περίφημο εκείνο πείραμα του Νεύτωνα που πρώτος το 1668 πέτυχε να λάβει φάσμα του Ηλιακού φωτός με παρεμβολή ενός διαφανούς πρίσματος στη πορεία λεπτής φωτεινής δέσμης. Με αυτό τον τρόπο έλαβε δηλαδή μια πολύχρωμη επιμήκη δέσμη που αποτελούνταν κατά σειρά τα χρώματα: κόκκινο, πορτοκαλί, κίτρινο, πράσινο, ανοιχτό μπλε, βαθύ μπλε και ιώδες.



Εικόνα 4: Ηλεκτρομαγνητικό φάσμα δέσμης ορατού φωτός. Φαίνονται οι τιμές των αντίστοιχων συχνοτήτων σε $\text{Hz (s}^{-1}\text{)}$ (Πηγή: wikipedia.org/wiki/Ηλεκτρομαγνητικό_φάσμα, 14/4/20 18.50μ

Υπάρχουν τρεις κατηγορίες φασματοσκοπίας: απορρόφησης, εκπομπής και σκέδασης.

Ανάλογα με την ακτινοβολία παρατήρησης και τον τρόπο μέτρησης, υπάρχουν οι εξής μέθοδοι φασματοσκοπίας:

Φθορισμού

Απορρόφησης ορατού-υπεριώδους (φωτός)

Ακτίνων Χ

Φλογοφωτομετρία

Ατομικής Εκπομπής

Ατομικής Απορρόφησης

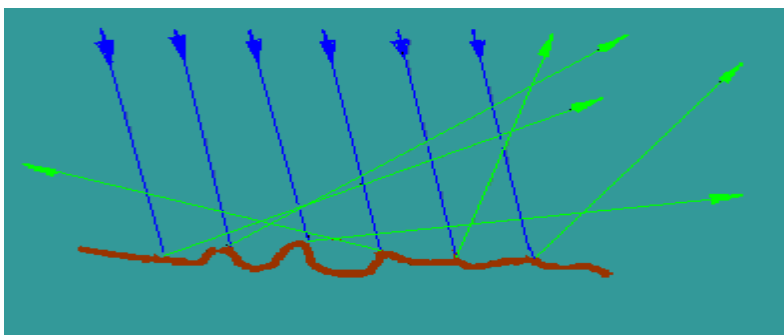
Απορρόφησης υπέρυθρου (φωτός)

Πυρηνική μαγνητική φασματοσκοπία συντονισμού και άλλες.

1.1.2 Διάχυση φωτός:

Η Διάχυση του φωτός είναι ειδική περίπτωση του φαινομένου της αντανάκλασης που παρατηρείται όταν φωτεινά κύματα κατά την πρόπτωση τους πάνω σε σώματα με ακανόνιστες επιφάνειες ανακλώνται προς διάφορες κατευθύνσεις. Το φαινόμενο αυτό οφείλεται στην ύπαρξη ενός εξαιρετικά μεγάλου αριθμού λείων μικροσκοπικών επιφανειών που απαρτίζουν τις ακανόνιστες ή τραχιές επιφάνειες των σωμάτων. Έτσι η ανάκλαση από τις μικροσκοπικές αυτές επιφάνειες παρουσιάζεται και αυτή ακανόνιστη με συνέπεια το φως να διαχέεται και να ονομάζεται "διάχυτο φως".

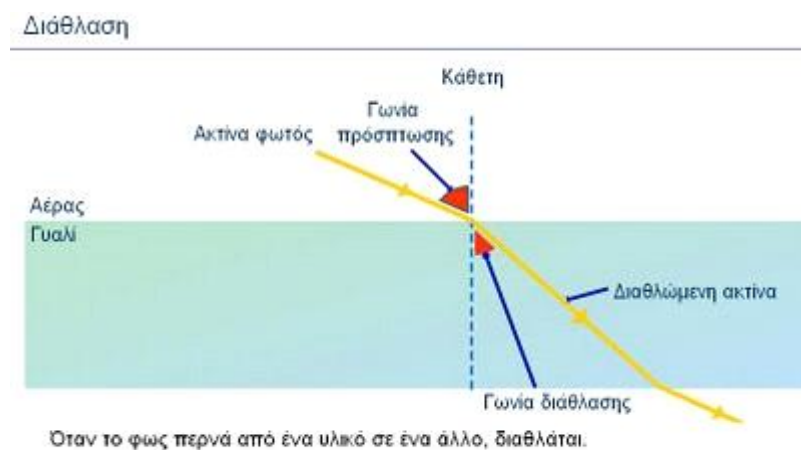
Η διάχυση του φωτός είναι μηδενική για τελείως μαύρες επιφάνειες (οι οποίες το απορροφούν τελείως, δηλ. μηδενική ανάκλαση) καθώς και για τις απόλυτα λείες και στιλπνές (π.χ. κάτοπτρα).



Εικόνα 5: ΔΙΑΧΥΣΗ: Οι ακτίνες ανακλώνται η κάθε μια προς διαφορετική κατεύθυνση και όχι παράλληλα, λόγω της ανώμαλης επιφάνειας πρόσπτωσης (Πηγή: digitalzoot.weebly.com 1/4/20 20.30μ.μ.)

1.1.3 Διάθλαση του φωτός

Διάθλαση ονομάζεται το φυσικό φαινόμενο της εκτροπής της ευθύγραμμης τροχιάς διάδοσης που υφίστανται φωτεινά ή άλλα κύματα όταν διέρχονται από ένα μέσο που το διαπερνά το φως σε ένα άλλο (π.χ. αέρας και γυαλί) (Εικόνα 6). Οι γωνίες πρόσπτωσης και διάθλασης ορίζονται ως οι γωνίες που σχηματίζουν η προσπίπτουσα ακτίνα και η διαθλώμενη ακτίνα με την κατακόρυφο.



Εικόνα 6: Διάθλαση του φωτός: εκτροπή διεύθυνσης φωτεινής ακτίνας ενώ διέρχεται σε άλλο μέσο διάδοσης (Πηγή: www.marmot237.blogspot.com, 16/4/20 19.59μ.μ.)

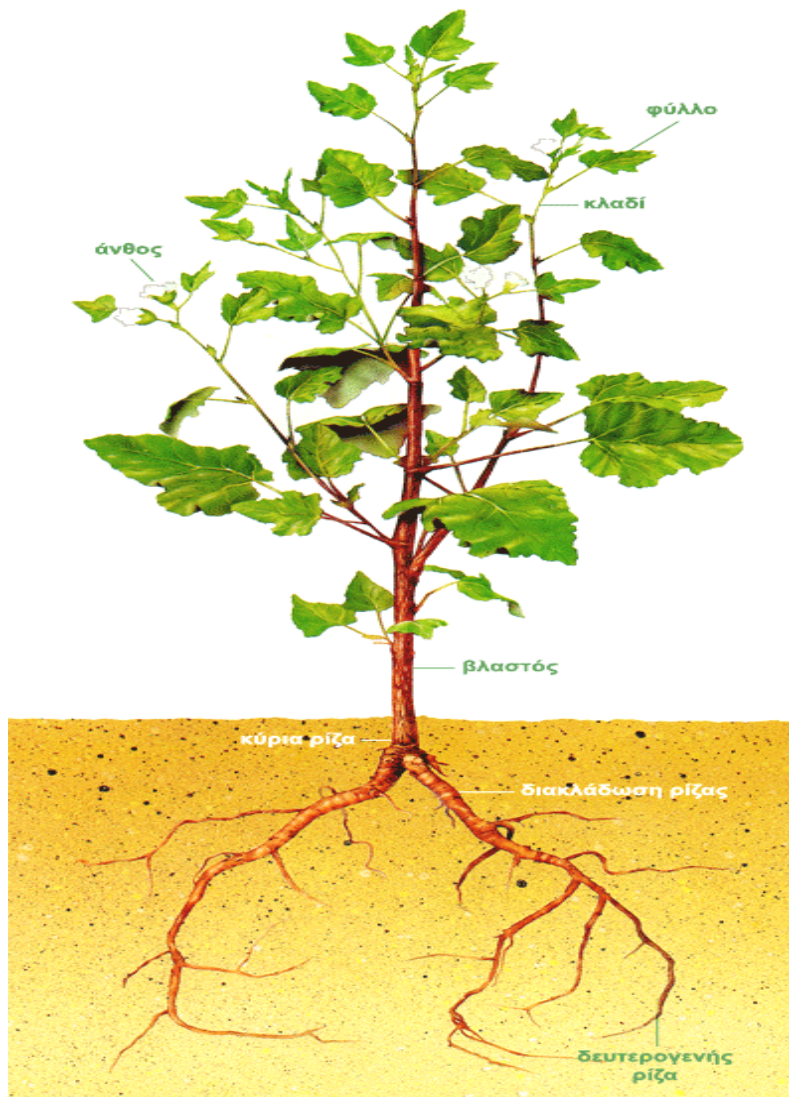
2. ΣΗΜΑΣΙΑ ΤΩΝ ΦΥΤΩΝ

“Στις εύφορες πεδιάδες στα αμμουδερά ακρογιάλια, στα απόκρημνα βουνά ακόμη και στις μεγάλες πόλεις η χλωρίδα κάνει αισθητή την παρουσία της. Σε μια εκδρομή στην εξοχή, σε έναν περίπατο στο δάσος, ακόμη και σε μια βόλτα μέσα στους γκρίζους δρόμους της πόλης βλέπει κανείς γύρω δεκάδες διαφορετικά είδη φυτών” (http://ebooks.edu.gr/ebooks/v/html/8547/2011/Fysika_ST-Dimotikou_html-empl/index_4.html). Το σύνολο των φυτών μιας χώρας αποτελεί την *χλωρίδα* της. Η χλωρίδα της Ελλάδας είναι από τις πλουσιότερες στην Ευρώπη (Kit και Strid, 2007). Μπορεί στη χώρα μας να μην υπάρχουν πολλά μεγάλα δάση όμως η ποικιλία των διαφορετικών ειδών της ελληνικής χλωρίδας είναι εντυπωσιακή. Τα φυτά ανάλογα με τη διάρκεια της ζωής τους, το μέγεθος τους και τη μορφή του βλαστού τους χωρίζονται σε πόες, θάμνους και δέντρα. Ο κύκλος της ζωής δεν είναι ίδιος για όλα τα φυτά. Αυτά που ζουν ένα χρόνο ονομάζονται *μονοετή* ενώ αυτά που ζουν περισσότερο *πολυετή*. Τα πολυετή φυτά χωρίζονται σε *αιθαλή* και *φυλλοβόλα*. Τα φυτά είναι πολύτιμα για τη ζωή στη γη. Είναι οι μοναδικοί οργανισμοί που χρησιμοποιούν το ηλιακό φως για να παράγουν οργανική ύλη. Απορροφούν το διοξείδιο του άνθρακα (αέριο που αποβάλλουν τα ζώα κατά την εκπνοή) και εκλύουν οξυγόνο, που είναι απαραίτητο για την αναπνοή. Τα φυτά επίσης είναι ο πρώτος κρίκος της τροφικής αλυσίδας. Απ' αυτά τρέφονται τα φυτοφάγα ζώα και ο άνθρωπος. Υπάρχουν πάνω από 360.000 είδη φυτών που τα χαρακτηριστικά τους ποικίλλουν (el.wikipedia.org/wiki/Φυτό). Μερικά δέντρα φτάνουν σε ύψος 100 μέτρα και ζουν εκατοντάδες χρόνια. Άλλα φυτά είναι τόσο μικρά, που φαίνονται μόνο με το μικροσκόπιο. Φυτά βρίσκονται στους ωκεανούς, στις ερήμους, στα ψηλά βουνά και στις παγωμένες τούνδρες. Οι άνθρωποι άρχισαν να αναπτύσσουν πολιτισμό όταν έμαθαν να καλλιεργούν τα φυτά. Σήμερα, πολλά άγρια είδη φυτών κινδυνεύουν με εξαφάνιση. Η προστασία τους έχει μεγάλη σημασία για την *οικολογική ισορροπία* του πλανήτη μας. Χωρίς τα φυτά δεν θα υπήρχε ζωή στον πλανήτη μας. Επομένως είναι ευνόητο το φυτικό βασίλειο να προσελκύει το ενδιαφέρον του ανθρώπου και να θέλει να μάθει τη δομή και τη λειτουργία του φυτικού σώματος.

3. ΦΥΤΑ

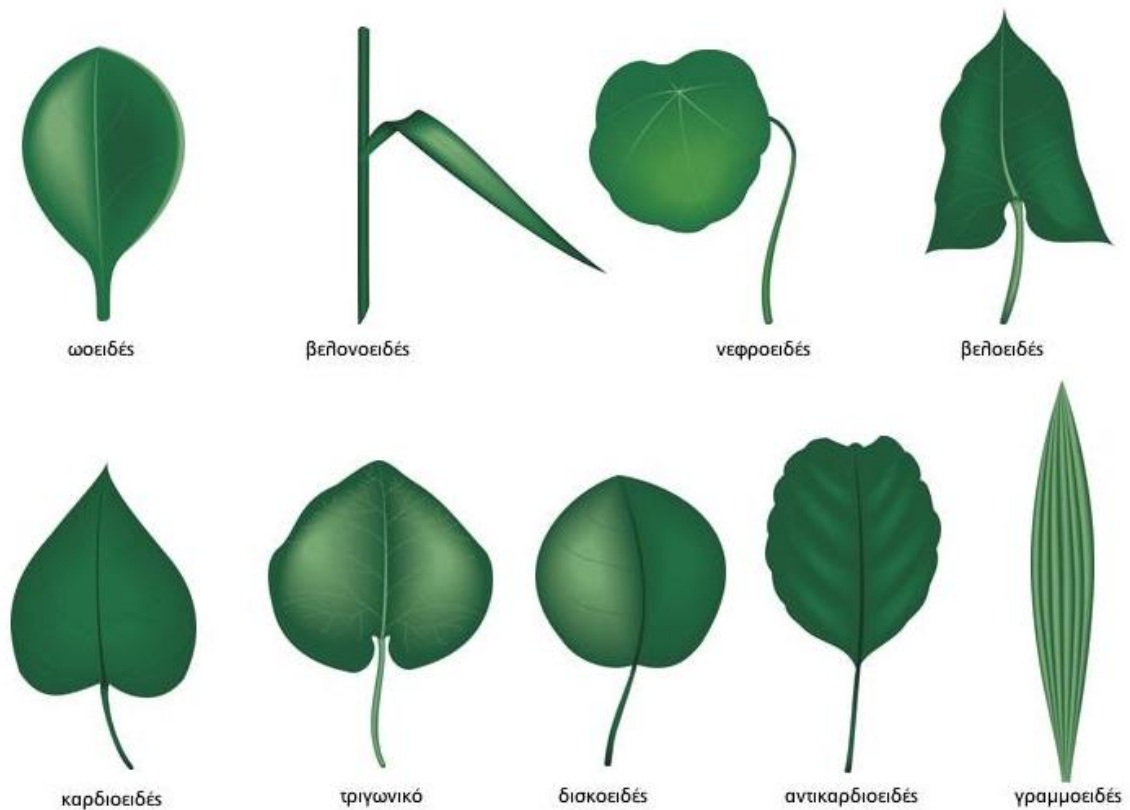
Τα φυτά όπως όλοι οι οργανισμοί αποτελούνται από κύτταρα. Αποτελούνται από τρία βασικά λειτουργικά μέρη : τον βλαστό, τα φύλλα και τη ρίζα. Ο βλαστός βρίσκεται συνήθως πάνω από το έδαφος και αποτελεί το σκελετό του φυτού καθώς παίζει σημαντικό ρόλο στη στήριξη των φύλλων των ανθέων και του καρπού (Εικόνα 7). Ο βλαστός έχει σχήμα κυλινδρικό και φέρει την πλευρική διακλάδωση (στα πολυετή φυτά), τα φύλλα που δεσμεύουν την ηλιακή ενέργεια (φωτοσύνθεση) και τα άνθη, στα οποία πραγματοποιείται η γονιμοποίηση από την οποία θα προκύψουν οι καρποί, με τη βοήθεια των οποίων θα γίνει η εξάπλωση του είδους. Στη μεγάλη πλειονότητα των φυτών, ο βλαστός είναι υπέργειος και αντιπροσωπεύει το μεγαλύτερο μέρος της υπέργειας βιομάζας, ενώ συγχρόνως φέρνει σε επικοινωνία τη ρίζα με τα υπόλοιπα φυτικά όργανα. (Πηγή: Εγκυκλοπαίδεια Πάπυρος Λαρούς Μπριτάνικα, τόμος 14, σελίδες 416,417,418 27/7/20 20.00 μ.μ)

Ο βλαστός παρέχει μηχανική υποστήριξη για την ανάπτυξη των φύλλων, προάγοντας έτσι τη φωτοσυνθετική διαδικασία. Στο βλαστό παράγονται επίσης άνθη και καρποί σε θέσεις που διευκολύνουν τη γονιμοποίηση αλλά και τη διασπορά των σπερμάτων. Συνεπώς, ο βλαστός παρέχει μηχανική υποστήριξη στα φύλλα, στα άνθη και τους καρπούς. Ο βλαστός αποτελεί τον κύριο δρόμο για τη μεταφορά του νερού και των θρεπτικών ουσιών από τη ρίζα στα φύλλα καθώς και των προϊόντων της φωτοσύνθεσης (οργανικές ουσίες, ορμόνες και άλλους μεταβολίτες) στις διάφορες θέσεις του φυτικού σώματος, όπου θα χρησιμοποιηθούν για την αύξησή τους (π.χ. φύλλα, αναπτυσσόμενοι βλαστοί, ρίζες, άνθη, καρποί και σπέρματα). Ένας άλλος βασικός ρόλος του βλαστού είναι η αγωγή του νερού και των οργανικών θρεπτικών ουσιών. Η κανονική διάρκεια ζωής των φυτικών κυττάρων είναι 1 έως 3 χρόνια. Ο βλαστός έχει τρεις κύριες λειτουργίες, την υποστήριξη, την αγωγή και τη παραγωγή νέων ζωντανών ιστών.



Εικόνα 7: Βλαστός και τα κύρια μέρη του φυτού (Πηγή: www.kpe-kastor.kas.sch.gr, 19/4/20 18.56μ.μ.)

Τα φύλλα (leaves) εκφύονται από το βλαστό (Εικόνα 8). Σε σχέση με τα υπόλοιπα φυτικά όργανα διαθέτουν τον μεγαλύτερο αριθμό χλωροπλαστών, όπου διεξάγεται η λειτουργία της φωτοσύνθεσης. Επιπλέον διαθέτουν μεγάλο αριθμό στομάτων διαμέσου των οποίων γίνεται η διακίνηση των αερίων (διοξείδιο του άνθρακα, οξυγόνο) που χρησιμοποιούνται ή παράγονται κατά τη φωτοσύνθεση και την αναπνοή αντίστοιχα, καθώς και του νερού με τη μορφή των υδρατμών κατά τη διαπνοή. Όπως και τα υπόλοιπα φυτικά όργανα, έτσι και τα φύλλα είναι δυνατόν να υποστούν κάποιες μεταμορφώσεις, ώστε να εξυπηρετούν άλλους λειτουργικούς σκοπούς (αποταμίευση, άμυνα, στήριξη, θρέψη, αναπαραγωγή κ.α.). Στην περίπτωση αυτή, η δομή του φύλλου και η φυσιολογία του διαφέρουν σημαντικά από εκείνες του τυπικού φύλλου και τροποποιούνται ανάλογα με τη λειτουργία, την οποία εξυπηρετούν.



Εικόνα 8 : Διαφορετικά είδη φύλλων φυτού (Πηγή: www.phytokomia.gr 19/4/20 19.07 μ.μ.)

Η *ρίζα* (root) αποτελεί το υπόγειο τμήμα του φυτού, αν και υπάρχουν φυτά που σχηματίζουν εναέριες ρίζες και άλλα που σχηματίζουν υπόγειους βλαστούς (Εικόνα 9). Οι περισσότερες ρίζες έχουν δύο κύριους λειτουργικούς ρόλους, τη στήριξη του φυτού στο έδαφος και την απορρόφηση του νερού και των θρεπτικών ουσιών (πρωτίστως ανόργανων ιόντων) από το έδαφος. Δύο επιπρόσθετοι λειτουργικοί ρόλοι της ρίζας είναι η αγωγή διαφόρων ουσιών και η αποταμίευση ουσιών του φυτού. Μεγάλη ποικιλομορφία παρατηρείται ως προς το σχήμα και τη δομή των ριζών, ιδιαίτερα όσον αφορά τη λειτουργία τους. Έτσι υπάρχουν ρίζες καθαρά αποταμιευτικές ή αναρριχητικές ή αναπνευστικές ή ρίζες που αναπτύσσουν στενές συμβιωτικές σχέσεις με τους μύκητες.



Download from
Dreamstime.com
This watermark comp. image is for previewing purposes only.

15441015
Filipa Varela | Dreamstime.com

Εικόνα 9 : Εικόνα ρίζας φυτού (Πηγή: www.dreamstime.com 19/4/20 19.41μ.μ.)

Η ρίζα σε ένα ώριμο και υγιές φυτό παρέχει ισορροπία μεταξύ του υπέργειου και του υπόγειου τμήματος του. Ειδικότερα υπάρχει ισορροπία μεταξύ της συνολικής φυτικής επιφάνειας που εκτίθεται στον ήλιο, διαμέσου της οποίας προσλαμβάνεται η ηλιακή ενέργεια που χρησιμοποιείται για την παραγωγή των υδατανθράκων και της συνολικής ριζικής επιφάνειας, η οποία έρχεται σε επαφή με το έδαφος, απ' όπου γίνεται η απορρόφηση του νερού και των αλάτων. Η ρίζα απορροφά το νερό, ο βλαστός μεταφέρει το νερό, ενώ τα φύλλα χρησιμοποιούν το νερό στη φωτοσύνθεση και αποβάλλουν στην ατμόσφαιρα τη μεγαλύτερη ποσότητα νερού που προσλήφθηκε από τη ρίζα. Η ικανότητα απορρόφησης νερού αποτελεί μια σημαντική λειτουργία των νεαρών πρωτογενών ριζών, όπως επίσης και η συνολική απορροφητική ικανότητα του ριζικού συστήματος ενός φυτού είναι πρωταρχικής σημασίας για την ανταγωνιστικότητα του.

Το άνθος είναι μια σύνθετη δομή που εξυπηρετεί την εγγενή αναπαραγωγή των αγγειόσπερμων

φυτών, τα οποία είναι γνωστά και ως ανθόφυτα. Από τα πλέον ουσιώδη στάδια της εγγενούς αναπαραγωγής ενός αγγειόσπερμου φυτού, η μείωση και η γονιμοποίηση, γίνονται στο άνθος. Τα στάδια, τα οποία περιλαμβάνει ένας πλήρης αναπαραγωγικός κύκλος, είναι η παραγωγή ειδικών αναπαραγωγικών κυττάρων, συνοδευόμενη από τη διαδικασία της μείωσης, η επικονίαση, η γονιμοποίηση, η ανάπτυξη του καρπού και των σπερμάτων, η διασπορά του καρπού και των σπερμάτων και η βλάστηση των σπερμάτων. Η δημιουργία των σπερμάτων ολοκληρώνει τον αναπαραγωγικό κύκλο των αγγειόσπερμων φυτών, αφού το φυτικό έμβρυο που βρίσκεται στο εσωτερικό του σπέρματος, αποτελεί το πρώτο στάδιο στον κύκλο ζωής του νέου φυτού.

Απ' όλα τα χαρακτηριστικά των αγγειόσπερμων φυτών, το άνθος είναι αυτό που επηρεάζεται λιγότερο από τις αλλαγές από τις αλλαγές του περιβάλλοντος. Το σχήμα και το μέγεθος του φύλλου επηρεάζονται από την ηλικία του φυτού, τον φωτισμό, την επάρκεια νερού και θρεπτικών στοιχείων. Γι' αυτό το λόγο το άνθος, καθώς και ο καρπός με τα σπέρματα, αποτελούν μεγάλης σημασίας διαγνωστικούς χαρακτήρες για την ταξινόμηση των αγγειόσπερμων. Επιπλέον, τα άνθη έχουν υψηλή αισθητική αξία, ενώ πολλοί καρποί και σπέρματα παίζουν σημαντικότατο ρόλο στη διατροφή των ανθρώπων.

Μετά την επικονίαση και την έναρξη της γονιμοποίησης, το άνθος υφίσταται ορισμένες αλλαγές. Τα σέπαλα, τα πέταλα και οι στήμονες μαραίνονται και πέφτουν. Αντίθετα, η ωθήκη παραμένει, διογκώνεται και μετασχηματίζεται σε *καρπό* (fruit), ενώ οι σπερμοβλάστες, μετασχηματίζονται σε *σπέρματα* (seeds). Ο καρπός είναι ένα όργανο του φυτού, το οποίο περικλείει τα σπέρματα μέχρι να ωριμάσουν και στη συνέχεια συμμετέχει στη διασπορά τους. Προκύπτει από το γυναικείο του άνθους και μάλιστα μερικές φορές συμμετέχουν εκτός του γυναικείου και άλλα τμήματα του άνθους, όπως η *ανθοδόχη* (fragaria), τμήματα του άνθους μαζί με την *ανθοδόχη* (pyrus malus), *βράκτεια* (ananas) ή και ολόκληρες *ταξιανθίες* (figus). Στις περιπτώσεις κατά τις οποίες εκτός του γυναικείου συμμετέχουν και άλλα μέρη του άνθους για το σχηματισμό των καρπών, οι καρποί χαρακτηρίζονται *ψευδείς* (false fruits). Έτσι διακρίνονται από τους υπόλοιπους, στο σχηματισμό των οποίων συμμετέχει μόνο το γυναικείο και ονομάζονται γνήσιοι.

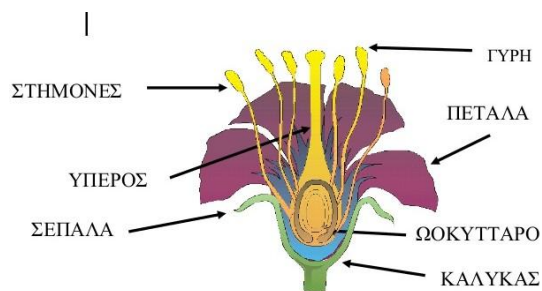
Κατά τη διαδικασία ωρίμανσης του καρπού, το τοίχωμα της ωθήκης μετατρέπεται στο *περικάρπιο* (pericarp), το οποίο χωρίζεται σε τρία στρώματα από έξω προς τα μέσα, το *εξωκάρπιο* (exocarp), το *μεσοκάρπιο* (mesocarp) και το *ενδοκάρπιο* (endocarpio). Μερικές φορές όμως, μόνο το εξωκάρπιο και το ενδοκάρπιο είναι ευδιάκριτα. Επίσης, σε πολλούς καρπούς το εξωκάρπιο και το ενδοκάρπιο αποτελούνται από ένα μόνο στρώμα κυττάρων, ενώ το μεσοκάρπιο είναι εκείνο που αναπτύσσεται ιδιαίτερα και περιέχει περισσότερα στρώματα κυττάρων. Οι καρποί διακρίνονται σε

κατηγορίες με βάση τον αριθμό των ωοθηκών που λαμβάνουν μέρος στο σχηματισμό τους, τη σκληρότητα ή μη του περικαρπίου και την ιδιότητα του καρπού να ανοίγει ή όχι, όταν ωριμάσει. Ανάλογα με τον αριθμό των ωοθηκών και σε συνδυασμό με τον αριθμό των καρπόφυλλων από τα οποία οι ωοθήκες αποτελούνται, οι καρποί διακρίνονται σε *απλούς* (simple fruits), *σύνθετους* (aggregate fruits) και *συγκάρπια* (multiple fruits).

4. ΑΝΘΟΣ

Ένα από τα σημαντικότερα μέρη του φυτού είναι το άνθος. Το άνθος αποτελεί το μέρος που βρίσκονται τα όργανα αναπαραγωγής και εκεί αναπτύσσεται ο καρπός. Το άνθος χαρακτηρίζεται ως το πιο εκλεκτό μέρος του φυτού. Η δημιουργία του άνθους αποτελεί το πρώιμο στάδιο του εγγενούς κύκλου αναπαραγωγής των αγγειόσπερμων. Επίσης, το άνθος αποτελεί το αναπαραγωγικό όργανο των φυτών και η δημιουργία του αποσκοπεί στη διευκόλυνση του σχηματισμού και της σύντηξης (συνένωσης) των γαμετών. Τα άνθη εμφανίζουν ποικιλία μορφών. Διαφέρουν μεταξύ τους ως προς το μέγεθος, το χρώμα, τη μορφή, τη διευθέτηση και τον αριθμό των μερών τους ανά φυτό. Στη φύση υπάρχουν μικρά άνθη, μόλις ορατά με γυμνό μάτι και μεγάλα άνθη που μπορούν να φτάσουν σε διάμετρο το ένα (1) μέτρο.

Το άνθος είναι μια σύνθετη δομή που αποτελείται από άθροισμα μεταμορφωμένων φύλλων, των ανθόφυλλων, που αναπτύσσονται γύρω από τον *ανθικό άξονα* (floral axis). Ένα τυπικό άνθος αποτελείται από τον ανθικό άξονα, τα *σέπαλα* (sepals), τα *πέταλα* (petals), τους στήμονες (stamens) και ένα ή περισσότερα *καρπόφυλλα* (carpels). Το διογκωμένο άκρο του ανθικού άξονα, στο οποίο προσαρμόζονται τα ανθόφυλλα, ονομάζεται *ανθοδόχη* (receptacle) ή *θάλαμος* (thalamus) (Εικόνα 10).



Εικόνα 10: Μέρη του άνθους (Πηγή: www.ptslideshare.net 19/4/20 19.56μ.μ.)

Τα άνθη είναι *επιφυή* (sessile) όταν εκφύονται κατευθείαν από το βλαστό, είτε *έμισχα* (pedicellate) όταν συνδέονται με το βλαστό με στέλεχος. Το στέλεχος ονομάζεται *ποδίσκος* (pedicel) και αντιπροσωπεύει το μεσογονάτιο διάστημα που καταλήγει στο άνθος.

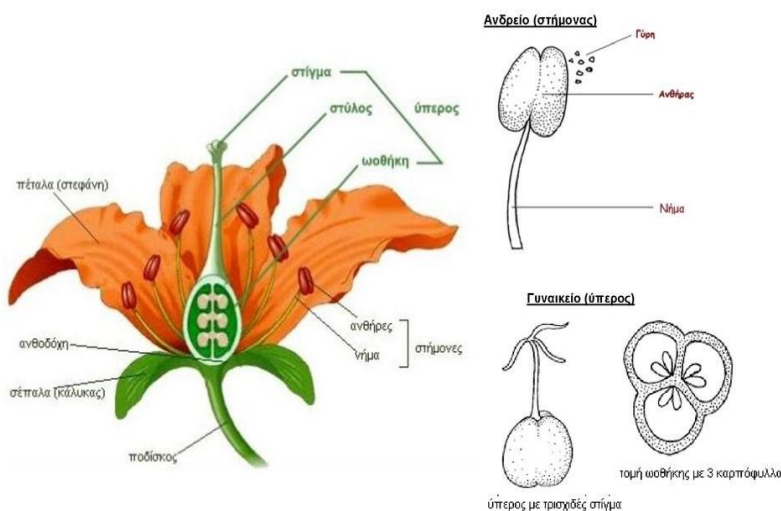


Εικόνα 11: Άνθος με μίσχο (Πηγή: www.quora.com, 19/5/20 19.56μ.μ.)



Εικόνα 12: Επιφυές άνθος (Πηγή: www.quora.com 19/5/20 19.56μ.μ.)

Όταν το άνθος αποτελείται από τα σέπала (κάλυκας) και τα πέταλα (στεφάνη), δυο σπονδυλώματα μεταμορφωμένων φύλλων διαφορετικής μορφής και χρώματος, ονομάζεται διπλό περιάνθιο. Όταν το άνθος αποτελείται από σχεδόν όμοια και ομοιόχρωμα μέρη που λέγονται πέταλα, χαρακτηρίζεται ως απλό περιάνθιο ή περιγόνιο. Ένα περιγόνιο μπορεί να είναι σεπαλοειδές ή πεταλοειδές.



Εικόνα 13: Διπλό περιάνθιο άνθους. Ανδρείο, Γυναικώνας. (Πηγή: <https://slideplayer.gr/slide/14237677/>, 19/5/20 19.56 μ.μ.)

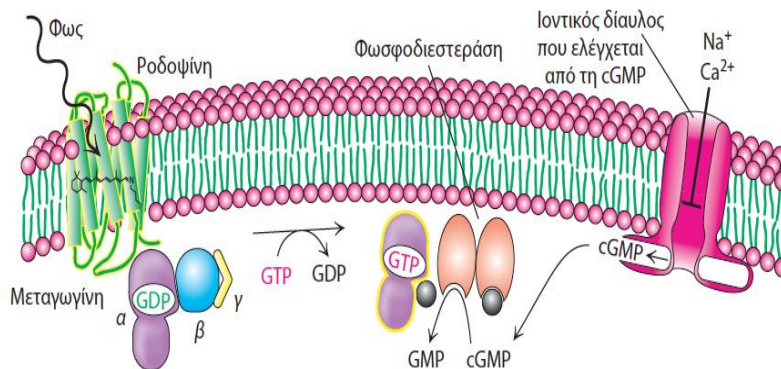
Οι στήμονες είναι τα αρρενα αναπαραγωγικά όργανα του άνθους και βρίσκονται εσωτερικά του περιανθίου. Κάθε στήμονας αποτελείται από το νήμα (άγονο τμήμα) και τον ανθήρα εντός του οποίου παράγεται η γύρη. Το σύνολο των στήμονων ενός άνθους λέγεται ανδρών ή ανδρείο.

Τα καρπόφυλλα είναι τα θήλεα αναπαραγωγικά όργανα του άνθους, που στο σύνολό τους αποτελούν το γυναικώνα δηλαδή το εσωτερο σπονδύλωμα του άνθους.

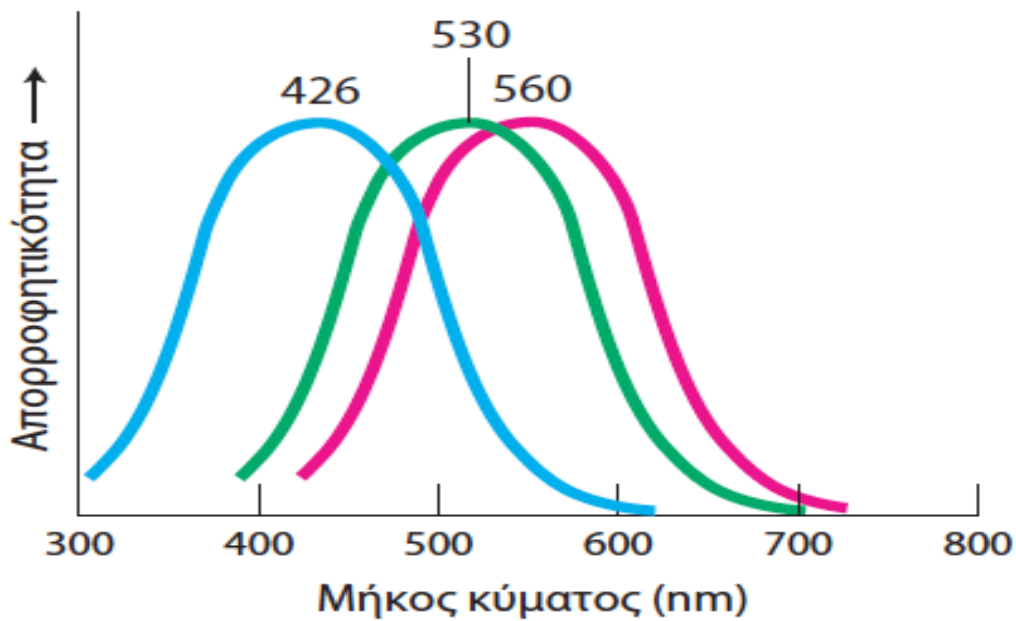
Τα καρπόφυλλα των αγγειόσπερμων συμφύονται συνήθως όλα μαζί κατά μήκος των κρασπέδων τους και σχηματίζουν ένα κλειστό όργανο τον ύπερο. Μέσα στο κατώτερο και κοίλο τμήμα του ύπερου, την ωοθήκη, σχηματίζονται οι σπερματικές βλάστες, τα αναπαραγωγικά κύτταρα που καλύπτονται από μια στρώση κανονικών κυττάρων, και μετά τη γονιμοποίηση τα σπέρματα. Όταν από τη σύμφυση των καρπόφυλλων σχηματίζεται ένας μόνο ύπερος, ο γυναικώνας λέγεται σύγκαρπος και μετά τη γονιμοποίηση σχηματίζεται ένας απλός καρπός. Σπανιότερα κάθε καρπόφυλλο δημιουργεί ένα ξεχωριστό ύπερο. Στην περίπτωση αυτή ο γυναικώνας που αποτελείται από πολλούς ύπερους λέγεται απόκαρπος και μετά τη γονιμοποίηση εξελίσσεται σε σύνθετο καρπό.

5. ΡΟΛΟΣ ΤΩΝ ΧΡΩΣΤΙΚΩΝ-ΧΡΩΣΤΙΚΕΣ ΑΝΘΕΩΝ

Ο όρος *χρωστική*, αναφέρεται σε μια οικογένεια χημικών ενώσεων που έχουν την ιδιότητα να απορροφούν φως. Η χρωστική αφορά συγκεκριμένη μοριακή δομή (χρωμοφόρο), η οποία απορροφά ενέργεια με αποτέλεσμα τη διέγερση ενός ηλεκτρονίου που μεταπηδά σε υψηλότερη κατάσταση ενέργειας (μοριακό τροχιακό). Στη διεργασία της όρασης στα ζώα, η μη απορροφούμενη ακτινοβολία από τις χρωστικές του αμφιβληστροειδούς χιτώνα στο μάτι παράγει χημικές μεταβολές, συλλέγεται από ειδικά αισθητήρια όργανα ζωικών οργανισμών, διεγείροντας έτσι τους παραπλήσιους νευρώνες που μεταδίδουν την πληροφορία στον εγκέφαλο όπου μεταφράζεται σε είδωλο. Για τα ζώα εκείνα που έχουν έγχρωμη όραση (επειδή διαθέτουν διαφορετικούς υποδοχείς και τα κύρια χρώματα κόκκινο, πράσινο και μπλε, όπως ο άνθρωπος και τα πτηνά) έτσι το κάθε είδωλο θα εμφανίζεται με τα δικά του χρώματα.

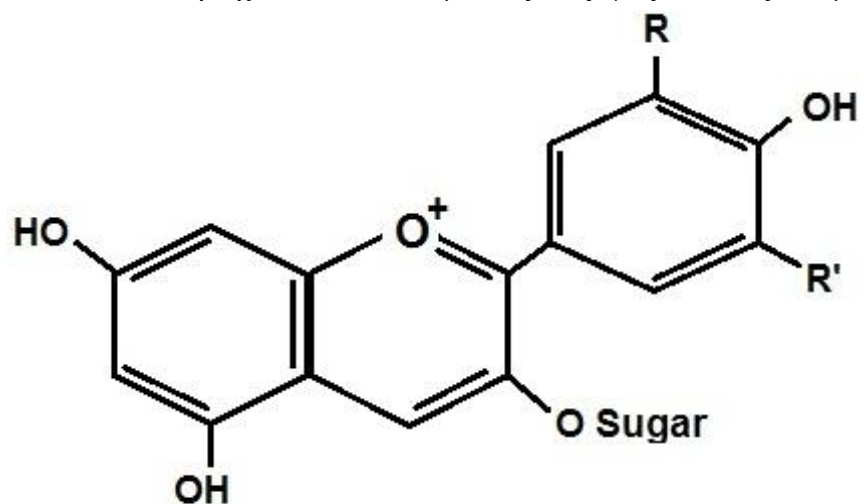


Εικόνα 14: Μεταγωγή οπτικών σημάτων. (Πηγή: <https://www.cup.gr/book/viochimia-4i-elliniki-ekdosi/>, στις 03/05/20, 20.05 μ.μ)



Εικόνα 15: Φάσματα απορρόφησης των χρωστικών των κωνιοφόρων κυττάρων που είναι υπεύθυνες για τα χρώματα στην όραση. (Πηγή: <https://www.cup.gr/book/viochimia-4i-elliniki-ekdosi/> , στις 03/05/20, 20.05 μ.μ)

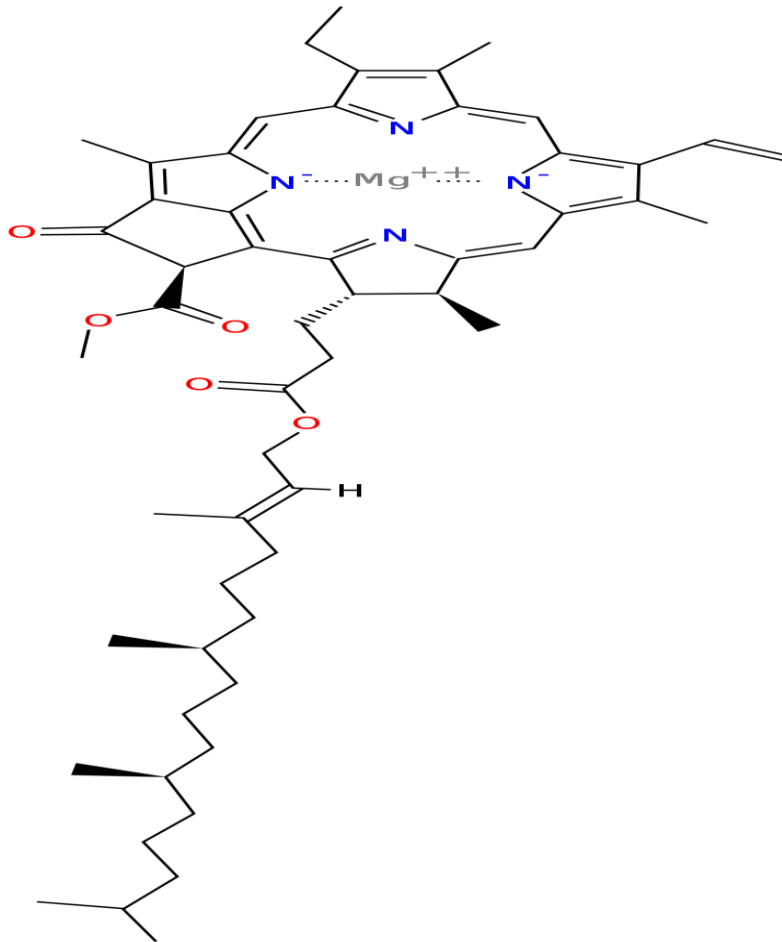
Οι φυτικές χρωστικές είναι οργανικά μόρια που συχνά περιέχουν αρωματικούς δακτυλίους. Οι συζευγμένοι αυτοί αρωματικοί δακτύλιοι περιέχουν απεντοπισμένους συζυγείς διπλούς δεσμούς



Anthocyanin

που απορροφούν ακτινοβολία.

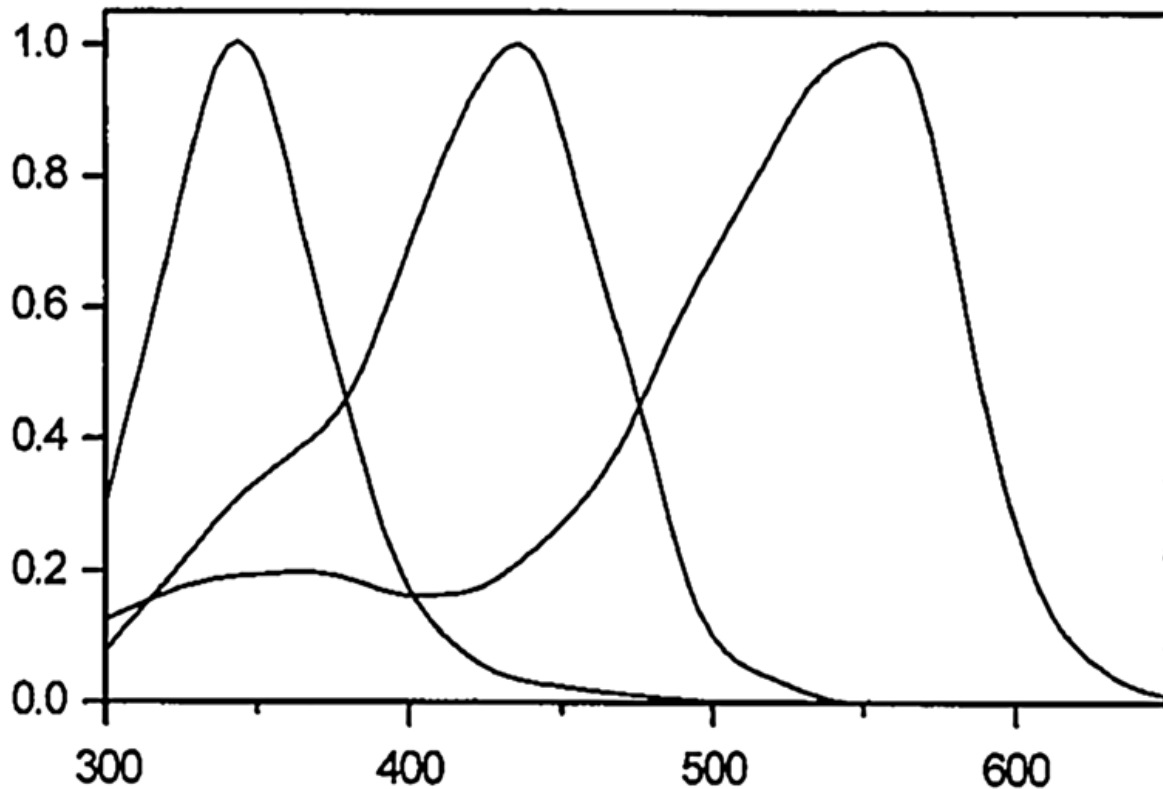
Εικόνα 16: Χημική δομή Ανθοκυανίνης. Όλα τα άτομα στις τομές δεσμών που δεν αναγράφονται είναι άτομα άνθρακα. R = υποκαταστάτης, Sugar = σάκχαρο. (Πηγή: <https://www.intechopen.com/books/food-industry/differentiated-foods-for-consumers-with-new-demands> 7/5/20 13.20μ.μ)



Εικόνα17: Χημική δομή Χλωροφύλλης. Σκελετικό μοντέλο χωρίς τα άτομα υδρογόνου. (Πηγή: <https://el.wikipedia.org/wiki/%CE%A7%CE%BB%CF%89%CF%81%CE%BF%CF%86%CF%8D%CE%BB%CE%BB%CE%B7> 7/5/20 13.20μ.μ).

Οι χρωστικές είναι ουσίες που βρίσκονται στα κύτταρα των πετάλων των ανθέων και των φύλλων και είναι κατά κύριο λόγο υπεύθυνες για τον χρωματισμό αντίστοιχα των ανθέων και των φύλλων ολόκληρου του φυτού. Οι χρωστικές είναι μείγματα μορίων που απορροφούν φως στο ορατό και υπεριώδες πεδίο του ηλεκτρομαγνητικού φάσματος το οποίο κυμαίνεται από τα 100 έως τα 800 nm (ορατό 800 – 350 nm, υπεριώδες 350 - 100 nm, αν και στη πράξη η μεγάλη πλειοψηφία των φασματοφωτομέτρων δεν μετρά σε $\lambda < 200$ nm). Μερικές χρωστικές απορροφούν όλα τα μήκη κύματος του ορατού φως και έτσι εμφανίζονται ως μαύρες ενώ άλλες χρωστικές απορροφούν μερικά μήκη κύματος και αντανακλούν τα υπόλοιπα. Οι βασικοί σκοποί που εξυπηρετούν οι χρωστικές των ανθέων είναι η προσέλκυση των επικονιαστών-εντόμων και η επικοινωνία των ζώων με τα φυτά. Επίσης σημαντική είναι η αντιμικροβιακή δράση των χρωστικών και η απορρόφηση ανεπιθύμητης ακτινοβολίας μέσω αυτών. Για παράδειγμα, οι μέλισσες ελκύονται από πολύχρωμα άνθη με γλυκιά οσμή και έντονο περίγραμμα, τα λεπιδόπτερα ελκύονται από λευκά

σωληνοειδή άνθη με γλυκιά οσμή και οι πεταλούδες ελκύονται από σωληνοειδή πολύχρωμα άνθη (κίτρινα, ιώδη) χωρίς οσμή. Το σύστημα όρασης ορισμένων εντόμων, και πιο συγκεκριμένα των μελισσών, αντιλαμβάνεται το υπεριώδες φως, και συνεπώς οι μέλισσες ελκύονται από άνθη φυτών τα οποία το αντανακλούν.



Εικόνα 18: Φάσματα απορρόφησης των χρωστικών απορρόφησης φωτός από τα μάτια των μελισσών. Στον άξονα των x το μήκος κύματος της ακτινοβολίας σε nm. (Πηγή: Hempel de Ibara et al., 2014).

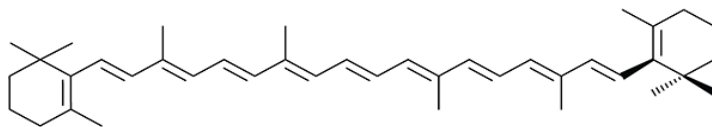
Τα χρώματα των ανθέων ποικίλλουν ακόμη και στην περίπτωση ενός μεμονωμένου άνθους, σε διάφορες ποικιλίες ενός είδους και στο σύνολο των εκατοντάδων χιλιάδων, ανώτερων, ανθοφόρων φυτών. Σε λίγες περιπτώσεις τα χρώματα των ανθέων προέρχονται από τη δράση μιας μόνο χρωστικής. Ο συνδυασμός των χρωστικών και οι χημικές τροποποιήσεις τους είναι δυνατόν να παράγουν την ποικιλία των χρωμάτων των ανθέων που αντιλαμβανόμαστε. Τα χρώματα των ανθέων οφείλονται στη βιοσύνθεση χρωστικών, αλλά η χροιά και η ένταση του χρώματος συχνά μεταβάλλονται από άλλους παράγοντες όπως για παράδειγμα από χυμοτοπιακά έγκλειστα και χημικές ουσίες, το pH, τις συγχρωστικές και τα μεταλλικά ιόντα. (https://en.wikipedia.org/wiki/Anthocyanin#Anthocyanin-rich_plants , 6/5/20, 18.00μ.μ)

Ακόμα, σημαντικό ρόλο στο χρωματισμό των ανθέων έχει η έκφραση συγκεκριμένων γονιδίων που ορίζουν τον τρόπο που θα εμφανιστούν οι χρωστικές. Τα καροτενοειδή και τα φλαβονοειδή αποτελούν τις πιο κοινές χρωστικές των ανθέων. Τα καροτενοειδή είναι υπεύθυνα για το κίτρινο και κόκκινο χρώμα των ανθέων, ενώ τα φλαβονοειδή για το κίτρινο, κόκκινο, ιώδες, ροζ και μπλε χρώμα. Οι ανθοκυανίνες αντιπροσωπεύουν τη σημαντικότερη, ίσως, κατηγορία χρωστικών των ανθέων. (https://en.wikipedia.org/wiki/Anthocyanin#Anthocyanin-rich_plants, 6/5/20, 18.00μ .μ)

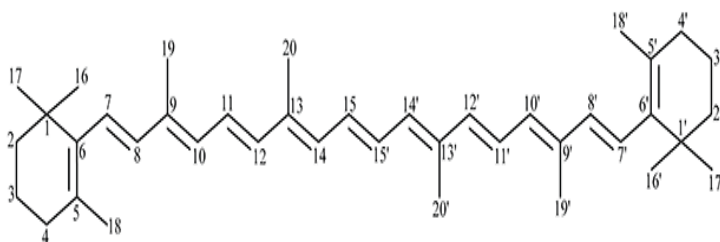
5.1.1 Καροτενοειδή

Τα καροτενοειδή είναι μια μεγάλη ομάδα χρωστικών που δίδουν το κόκκινο, το κίτρινο και το πορτοκαλί χρώμα στα φυτά. Υπάρχουν σε διάφορες τροφές και ιδιαίτερα στα φρούτα και στα λαχανικά όπως στις ντομάτες, τα βερίκοκα, τις πιπεριές και τα καρότα. Η Μεσογειακή διατροφή περιλαμβάνει πολλές τροφές πλούσιες σε καροτενοειδή.

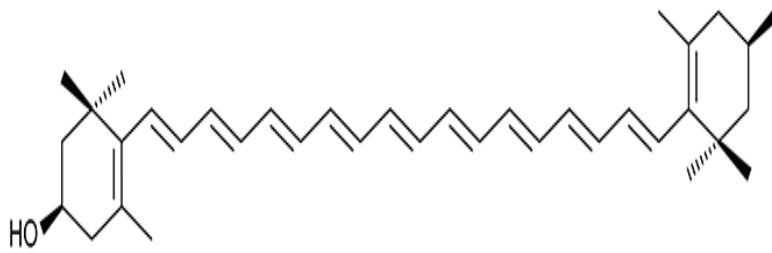
Τα πιο συνήθη και αυτά που θεωρούνται πιο σημαντικά για την ανθρώπινη υγεία είναι το καροτένιο β (Εικόνα 20), το καροτένιο α (Εικόνα 19), η ξανθοφύλλη, η ζεαξανθίνη (Εικόνα 21), το λυκοπένιο (Εικόνα 23) και η λουτεΐνη (Εικόνα 22). Ο κύριος λόγος που θεωρούνται σημαντικά είναι γιατί από το καροτένιο β προκύπτει (μέσω βιοχημικών αντιδράσεων μέσα στον ζωικό οργανισμό) η βιταμίνη Α, απαραίτητη χρωστική της ανθρώπινης όρασης. Επιπλέον, πιστεύεται ότι η κατανάλωση τέτοιων τροφών πλούσιων σε περιεκτικότητα καροτενοειδών μπορεί να μειώσει τον κίνδυνο κακοηθειών του πνεύμονα του παχέος εντέρου και του μαστού. Επίσης παρουσιάζουν μεγάλη αντιοξειδωτική δράση. Αυτό που καθορίζει το χρώμα των στα διάφορα άνθη είναι η αναλογία της περιεκτικότητάς τους στα άνθη αυτά.



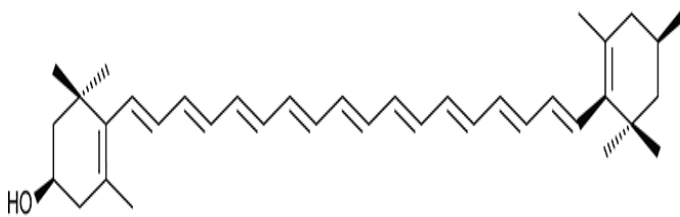
Εικόνα 19: Χημική δομή Καροτένιου α (Πηγή: www.lpi.oregonstate.edu, 6/5/20 19.00)



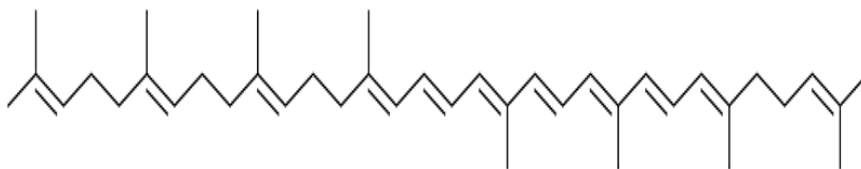
Εικόνα 20: Χημική δομή καροτένιου β (Πηγή: www.lpi.oregonstate.edu, 6/5/20 19.00)



Εικόνα 21: Χημική δομή ζεαξανθίνης (Πηγή: www.lpi.oregonstate.edu, 6/5/20 19.00)



Εικόνα 22: Χημική δομή λουτεΐνης (Πηγή: www.lpi.oregonstate.edu, 6/5/20 19.00)



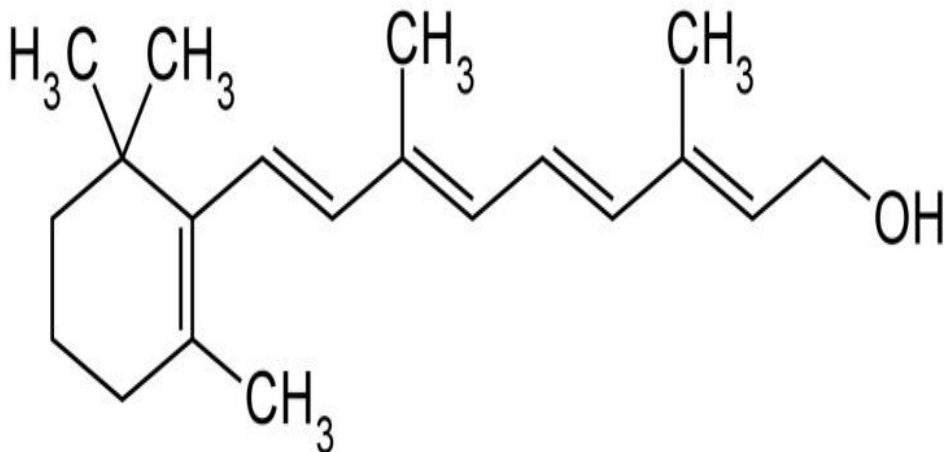
Εικόνα 23: Χημική δομή λυκοπενίου (Πηγή: www.lpi.oregonstate.edu 6/5/20 19.00)

<https://lpi.oregonstate.edu/mic/dietary-factors/phytochemicals/carotenoids#introduction>

Τα καροτενοειδή είναι ερυθρές, πορτοκαλί ή κίτρινες λιποδιαλυτές χρωστικές, που βρίσκονται στους φωτοσυνθετικούς ιστούς εντοπιζόμενες στους χλωροπλάστες και στους χρωμοπλάστες. Τα καροτενοειδή είναι βυθισμένα στα θυλακοειδή των χλωροπλαστών και συμμετέχουν ως βοηθητικές χρωστικές στη διαδικασία της φωτοσύνθεσης, ενώ ταυτόχρονα εμποδίζουν ορισμένες οξειδώσεις κατά τη διεργασία της φωτοσύνθεσης. Διακρίνονται σε δύο κυρίως μεγάλες ομάδες, τα καροτένια και τις ξανθοφύλλες.

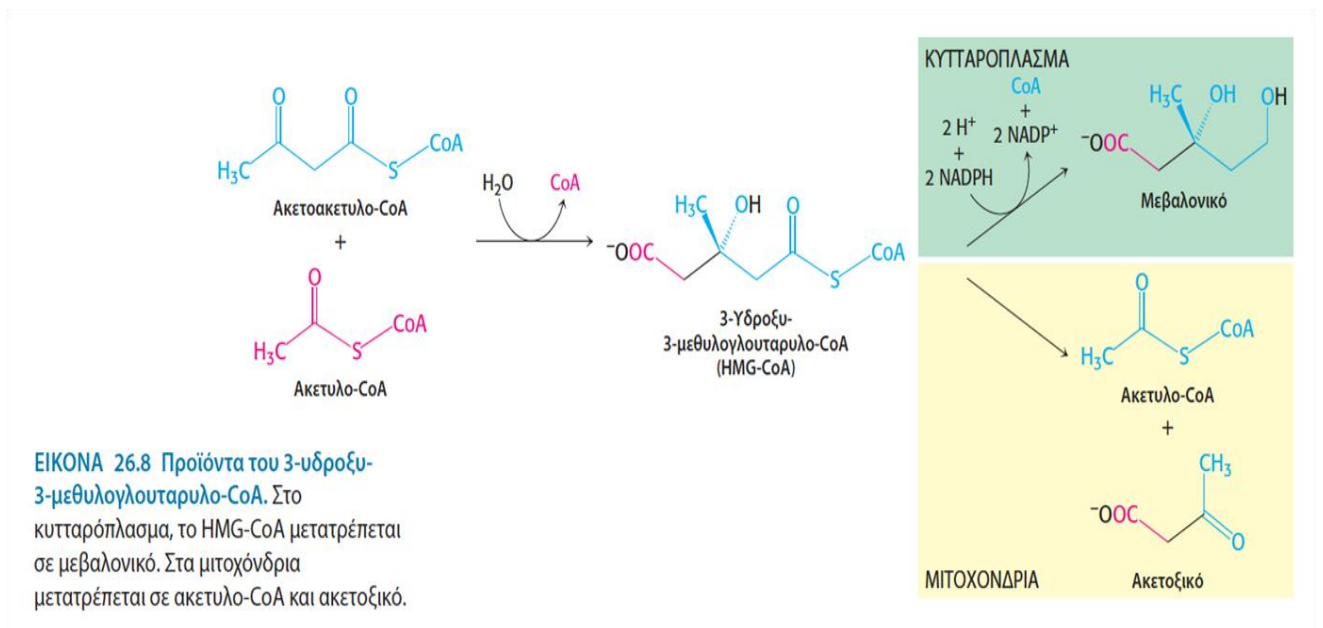
Τα καροτένια είναι υδρογονάνθρακες με 40 άτομα άνθρακα (C) και εμφανίζουν μια ποικιλία σε ότι αφορά τους ακόρεστους δεσμούς. Το κίτρινο ή πορτοκαλί χρώμα τους οφείλεται στην ύπαρξη ενός ελάχιστου αριθμού διπλών δεσμών στο μόριο του. Τα καροτένια β είναι οι κύριες πηγές της

βιταμίνης Α που χρειάζεται τόσο ο άνθρωπος όσο και τα άλλα ζώα. (https://en.wikipedia.org/wiki/Frederick_Gowland_Hopkins) Η βιταμίνη Α είναι χρήσιμη στον ανθρώπινο οργανισμό καθώς βοηθά την διατήρηση της καλής όρασης και ιδιαίτερα της νυκτερινής όρασης καθώς είναι απαραίτητη για να μετατρέψει το φως που χτυπά το μάτι σε ένα ηλεκτρικό σήμα που το στέλνει στον εγκέφαλο. Διατηρεί την φυσική άμυνα του οργανισμού καθώς στην παραγωγή λευκών αιμοσφαιρίων τα οποία βοηθούν στην καταστροφή των βακτηρίων και άλλων παθογόνων μικροοργανισμών



Εικόνα 24: Χημική δομή βιταμίνης Α, στη μορφή της αλκοόλης. Χημική ονομασία : όλο-trans ρετινόλη (Πηγή: www.arctic.gr 5/5/20 21.15 μ.μ.)

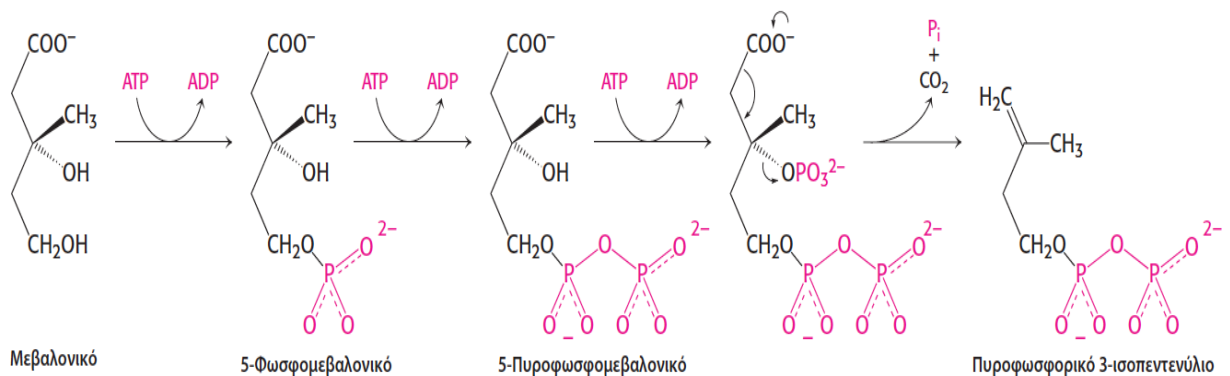
Οι ξανθοφύλλες είναι οξυγονούχα παράγωγα των αντίστοιχων καροτενίων. Η πρόδρομη ένωση όλων των καροτενοειδών είναι το φυτοένιο. Το φυτοένιο σχηματίζεται από συμπύκνωση ‘ουρά με ουρά’ δύο μορίων πυροφωσφορικού γερανυλο-γερανυλίου. Με βάση το φυτοένιο τα καροτενοειδή σχηματίζονται με αφυδρογόνωση και κυκλοποίηση των ακραίων ομάδων. Με αυτή τη διεργασία από το φυτοένιο σχηματίζεται το λυκοπένιο και με παραπέρα αφυδρογόνωση και κυκλοποίηση των ακραίων ομάδων καταλήγει στο σχηματισμό των καροτενίων (Simpson and Chichester, 1981).



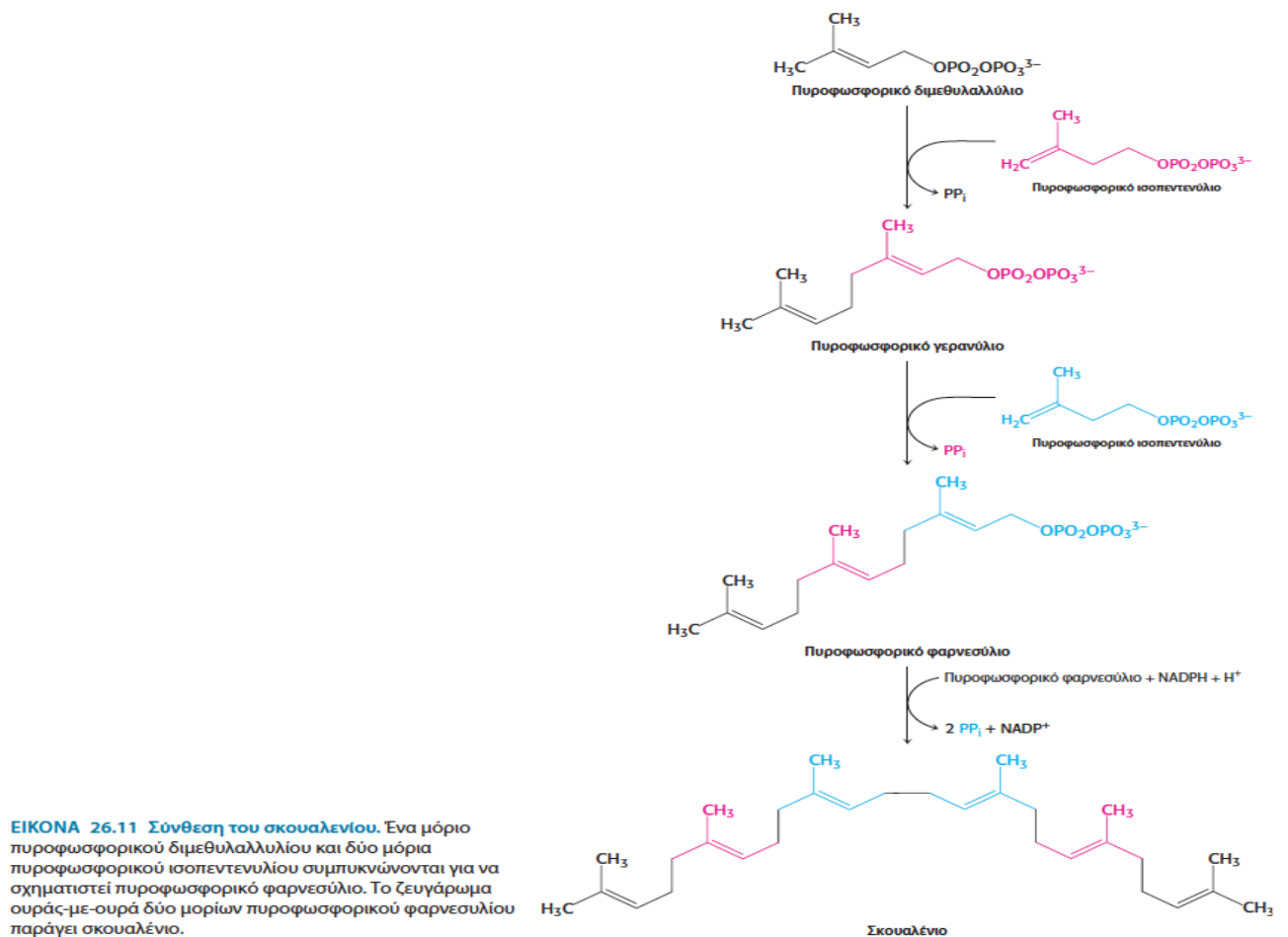
Εικόνα 25: Σύνθεση του μεβαλονικού, πρώτου προϊόντος στη βιοσύνθεση μεθυλιωμένων ακόρεστων υδρογονανθράκων (Πηγή: Jeremy M. Berg et al., *Βιοχημεία*, ΠΕΚ 2017, www.cup.gr, 8/5/20 23.25)

ΕΙΚΟΝΑ 26.9 Σύνθεση του πυροφωσφορικού 3-ισοπεντενυλίου.

Το ενεργοποιημένο αυτό ενδιάμεσο σχηματίζεται από μεβαλονικό σε τρία βήματα, που απαιτούν ATP και ακολουθούνται από μια αποκαρβοξυλίωση.



Εικόνα 26: Από το μεβαλονικό στο πυροφωσφορικό 3-ισοπεντύλιο (Πηγή: Jeremy M. Berg et al., *Βιοχημεία*, ΠΕΚ 2017, 8/5/20 23.25μ.μ)



Εικόνα 27: Από το πυροφωσφορικό 3-ισοπεντύλιο στο πυροφωσφορικό φαρνεσύλιο, και μετά στο σκουαλένιο (Πηγή: : Jeremy M. Berg et al., Βιοχημεία, ΠΕΚ 2017, www.cup.gr, 8/5/20 23.25μ.μ)

Οι αντιδράσεις που ακόλουθουν είναι:

Πυροφωσφορικό φαρνεσύλιο + Πυροφωσφορικό ισοπεντύλιο → Πυροφωσφορικό γερανυλο-γερανύλιο + PP_i (PP_i = πυροφωσφορικό)

2 Πυροφωσφορικό γερανυλογερανύλιο (C20) → Φυτοένιο (C40)

Φυτοένιο (C40) → Λυκοπένιο (C40)

Λυκοπένιο (C40) → Καροτένιο β (C40)

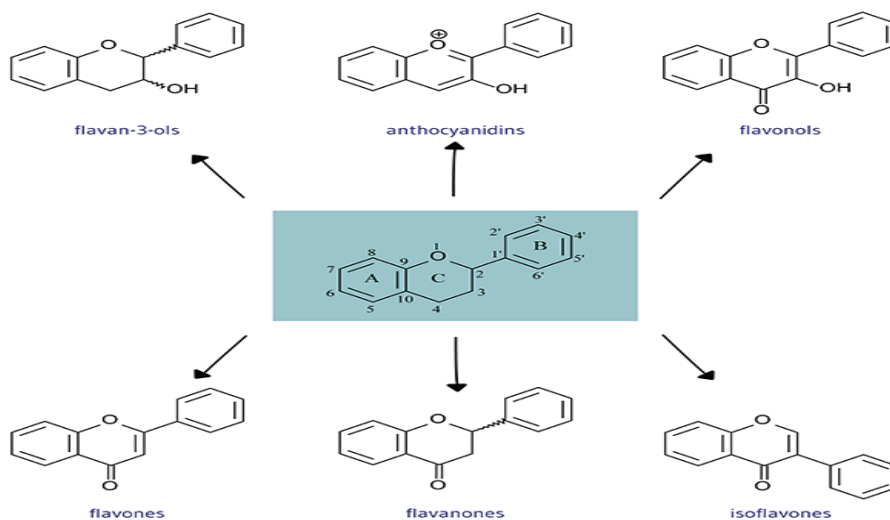
Εικόνα 28: Βιοσυνθετική πορεία καροτενοειδών. Σε παρένθεση ο αριθμός ανθράκων κάθε ένωσης (Πηγή: Jeremy M. Berg et. al., *BIOXHMEIA*, ΠΕΚ 2017, www.cup.gr, 8/5/20 23.25)

Τα καροτενοειδή, παρόλο που θεωρούνται ως χρωστικές ουσίες φυτών, μπορούμε να τα βρούμε σε βακτήρια, σε μύκητες και σε ζώα. Ακόμα συναντώνται σε μη φωτοσυνθετικούς ιστούς των φυτών, όπως στα πέταλα των ανθέων, στους καρπούς και στις ρίζες. Πολλά κίτρινα άνθη περιέχουν καροτενοειδή, κυρίως του τύπου ξανθοφύλλης. Πιστεύεται ότι τα είδη αυτά των καροτενοειδών συμβάλλουν στην προσέλκυση των εντόμων για τη γονιμοποίηση των οικείων φυτών ή των φυτών που τα περιέχουν. Τα καροτενοειδή χρησιμοποιούνται ως φυσικές μη τοξικές χρωστικές ουσίες στα τρόφιμα, στα ποτά, στη βιομηχανία ζαχαρωδών προϊόντων, στα καλλυντικά και στις ζωικές τροφές. Παράγονται συνθετικά καροτενοειδή με δομή όμοια με τα φυσικά. Πειραματικά δεδομένα έδειξαν ότι τα καροτένια προστατεύουν τους ζωικούς οργανισμούς από την υπεριώδη ακτινοβολία. Τέλος, μαρτυρίες αναφέρουν ότι τα καροτένια β δρουν ως αντιοξειδωτικοί παράγοντες ενάντια σε κάποιες μορφές καρκίνου και σε άλλες ασθένειες. (<https://lpi.oregonstate.edu/mic/dietary-factors/phytochemicals/carotenoids#food-sources>, 8/5/20 23.30 μ.μ).

5.1.2 Φλαβονοειδή

Τα φλαβονοειδή είναι πολυφαινολικές ενώσεις, πολλές από τις οποίες είναι υπεύθυνες για το χρώμα των καρπών και των ανθέων, είναι πολύ διαδεδομένες στα φυτά και συνιστούν σημαντικό κομμάτι της διατροφής.

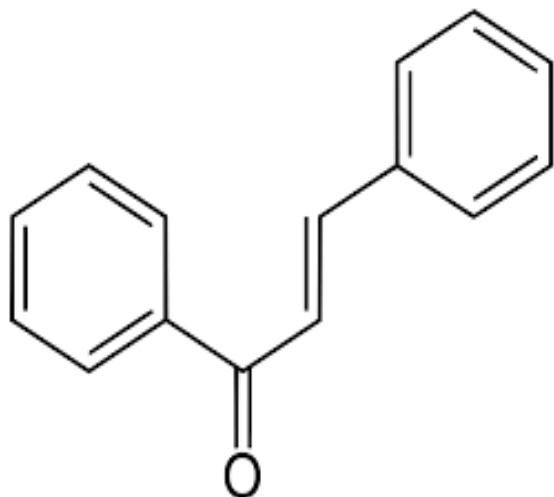
Figure 1. Basic Structures of Flavonoid Subclasses



Εικόνα 29: Χημικές δομές φλαβονοειδών και οι υποκατηγορίες των. Flavan-3-ols = Φλαβανο-3-όλες, Anthocyanidins = Ανθοκυανιδίνες, Flavonols = Φλαβονόλες, Flavones = Φλαβόνες, Flavanones = Φλαβανόνες, Isoflavones = Ισοφλαβόνες. (Πηγή: <https://lpi.oregonstate.edu/mic/dietary-factors/phytochemicals/flavonoids#chemical-structures>, 10/5/20 22.20 μ.μ)

Τα φλαβονοειδή είναι ευρέως διαδεδομένα στη φύση και συνιστούν μέρος της διατροφής του ανθρώπου. Υπολογίζεται ότι ο άνθρωπος παίρνει με την τροφή του μέσα από λαχανικά, φρούτα, κρασί, δημητριακά περίπου 1 gr/ ημερησίως. Διάφορα φάρμακα περιέχουν φλαβονοειδή καθώς έχουν ιδιαίτερη αντικαρκινική ικανότητα. Όσον αφορά τα φυτά, τα φλαβονοειδή τα προστατεύουν από την υπεριώδη ακτινοβολία, τα έντομα, τους ιούς, τα βακτήρια και τους μύκητες, καθώς και συμβάλουν στην έλξη των επικονιαστών και στον έλεγχο των ορμονών τους. (<https://lpi.oregonstate.edu/mic/dietary-factors/phytochemicals/flavonoids#chemical-structures>, 10/5/20 22.20 μ.μ)

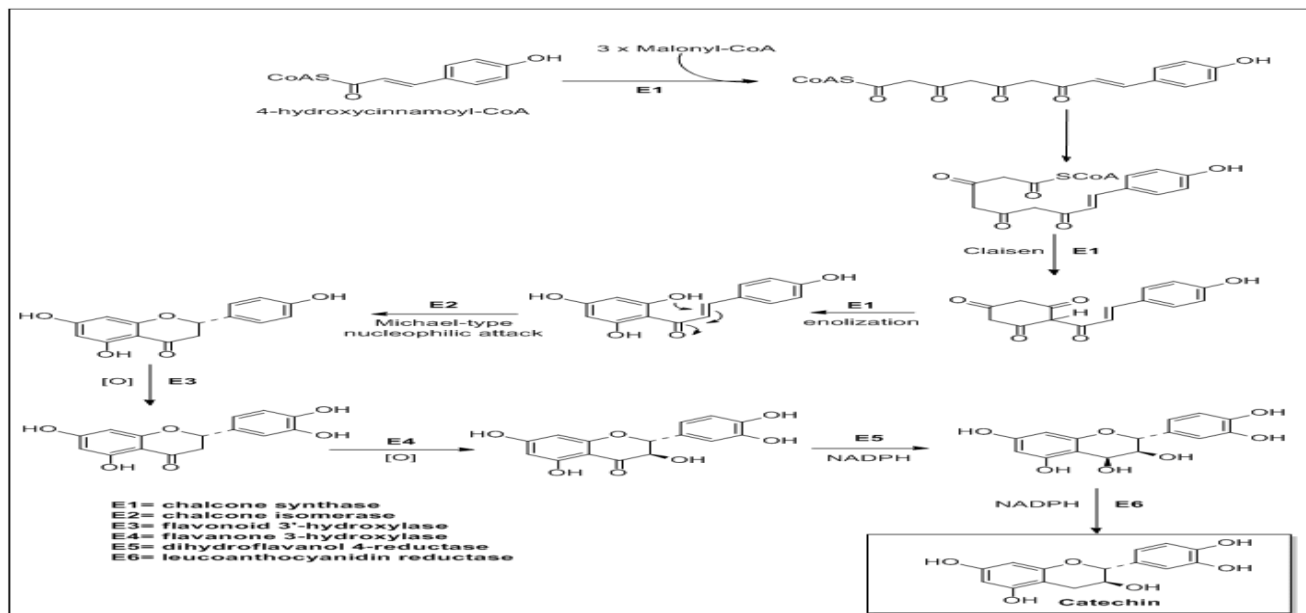
Τα φλαβονοειδή είναι γενικά σταθερές ενώσεις που μπορούν να εξαχθούν από τον ξηρό, φυτικό ιστό με διάφορους διαλύτες όπως συνδυασμό νερού με μεθανόλη, αιθανόλη ή ακετόνη. Η βασική δομή των φλαβονοειδών είναι ένα σύστημα που αποτελείται από έναν αρωματικό δακτύλιο Α, έναν ετεροκυκλικό δακτύλιο C με ένα δεύτερο αρωματικό δακτύλιο Β (Εικόνα 29). Τα φλαβονοειδή έχουν κοινή βιοσυνθετική πορεία και ως εκ τούτου έχουν τον ίδιο βασικό σκελετό. Προέρχονται από τη συνένωση δύο άλλων πορειών, αυτής του σικιμικού και αυτής του μηλονικού οξέος (malonic acid). Το πρώτο φλαβονοειδές που προκύπτει στη βιοσυνθετική πορεία είναι η χαλκόνη (Εικόνα 30), και στη συνέχεια τη μετατροπή της με την επίδραση διαφόρων ενζυμικών συστημάτων προέκυψαν άλλοι τύποι φλαβονοειδών.



Εικόνα 30: Χημική δομή χαλκόνης (Πηγή: By Yikrazuul - Own work, Public Domain, <https://commons.wikimedia.org/w/index.php?curid=517624>, 10/5/20 00.30 μ.μ)

Τα πιο διαδεδομένα και μελετημένα φλαβονοειδή είναι οι χαλκόνες (chalcones) και οι αουρόνες

(αυρόνες, χρυσόνες θα μπορούσε να τις πει κανείς, Λατ. Auro = χρυσάφι), οι φλαβόνες (flavones) και οι φλαβονόλες (flavonoles), τα ισοφλαβονοειδή (isoflavonoids), οι λευκοανθοκυανιδίνες (leucoanthocyanidins), οι κατεχίνες (catechines) και οι προανθοκυανιδίνες (proanthocyanidins) καθώς και οι ανθοκυανίνες (anthocyanins).

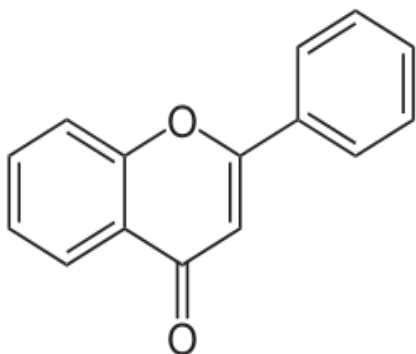


Εικόνα 31: Βιοχημική πορεία σύνθεσης κατεχίνης .Η χαλκόνη είναι το προϊόν της αντίδρασης τύπου Claisen από το ένζυμο E1. Μετάφραση όρων: 4-hydroxycinnamoyl-CoA = 4-υδροξυκινναμουλο-ΣυνΑ, enolization = ενολοποίηση, nucleophilic attack = πυρηνόφιλη προσβολή, catechin = κατεχίνη. Ονόματα ενζύμων: E1 = συνθάση των χαλκονών, E2 = ισομεράση των χαλκονών, E3 = 3'-υδροξυλάση των φλαβονοειδών, E4 = 3-υδροξυλάση των φλαβονονών, E5 = 4-αναγωγή των διυδροφλαβονολών, E6 = αναγωγή των λευκοανθοκυανιδινών (Πηγή: By Jesscifelli - Own work, CC BY-SA 3.0,

<https://commons.wikimedia.org/w/index.php?curid=34915724>, 10/5/20 00.35 μ.μ).

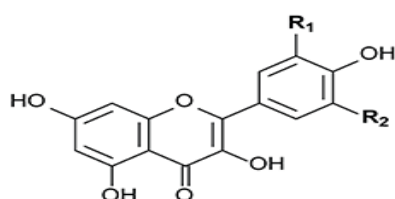
5.1.3 Φλαβόνες, Φλαβονόλες

Οι φλαβόνες και φλαβονόλες σχηματίζουν ένα βιοσυνθετικό σύνολο από φυσικά προϊόντα τα οποία έχουν από λευκό έως κίτρινο χρώμα. Η διαφορά μεταξύ τους είναι ότι οι φλαβονόλες έχουν ένα οξυγονωμένο άνθρακα στη θέση 3 (Εικόνες 32 και 33) Σε πολλά κατά τη βιοσύνθεση των δύο ειδών συμμετέχουν τα ίδια ένζυμα. Επιπλέον η οξυγόνωση των δακτυλίων Α και Β διαφοροποιεί την ονοματολογία των τύπων των φλαβονοειδών.



Εικόνα 32: Βασική χημική δομή φλαβονών (Πηγή: <https://lpi.oregonstate.edu/mic/dietary-factors/phytochemicals/flavonoids#reference2>, 7/5/20 23.00 μ.μ)

Figure 5. Chemical Structures of Flavonols



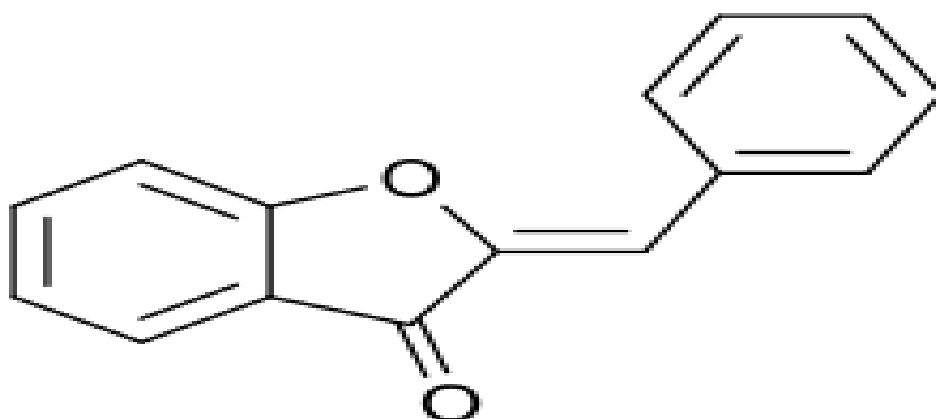
	R ₁	R ₂
Isorhamnetin	OCH ₃	H
Kaempferol	H	H
Myricetin	OH	OH
Quercetin	OH	H

Εικόνα 33: Χημική δομή τεσσάρων διαφορετικών φλαβονολών (Πηγή: <https://lpi.oregonstate.edu/mic/dietary-factors/phytochemicals/flavonoids#reference2>, 8/5/20 23.00 μ.μ)

5.1.4 Χαλκόνες και Αουρόνες

Οι χαλκόνες και οι αουρόνες είναι μικρές ομάδες χρωστικών, οι οποίες είναι κίτρινες και σε αλκαλικό περιβάλλον μετατρέπονται σε κόκκινες. Ο οικολογικός τους ρόλος στη φύση σε σχέση με το χρώμα των φυτών και κυρίως με των ανθέων είναι σημαντικός. Αυτές οι χρωστικές δεν είναι περιορισμένες μόνο στα πέταλα των ανθέων αλλά έχουν απομονωθεί και από φρούτα, ρίζες και φύλλα (<https://el.wikipedia.org/wiki/Φλαβονοειδή>, 10/5/20 01.00μ.μ). Παρόλο που τα καροτενοειδή είναι κυρίως υπεύθυνα για τα περισσότερα άνθη κίτρινου χρώματος, οι κίτρινες χαλκόνες και αουρόνες συνεισφέρουν στον χρωματισμό της στεφάνης της οικογένειας των Συνθετωδών (*Compositae*), ακόμα και σε κάποιες άλλες οικογένειες όπου έχουν βρεθεί κίτρινες χρωστικές.

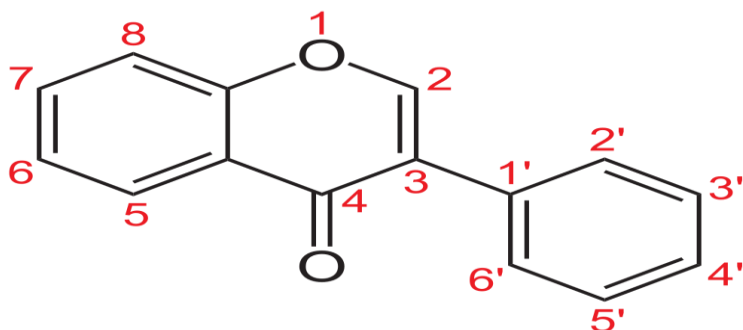
Οι χαλκόνες χαρακτηρίζονται από την παρουσία μιας γέφυρας με τρία άτομα άνθρακα με έναν ακόρεστο δεσμό (Εικόνα 30) ενώ οι αουρόνες από την παρουσία ενός δακτυλίου της βενζιλιδίνης (Εικόνα 34).



Εικόνα 34: Χημική δομή αουρόνης (Πηγή: Yikrazuul - Own work, Public Domain, <https://commons.wikimedia.org/w/index.php?curid=517624> 10/5/20 00.30 μ.μ)

5.1.5 Ισοφλαβόνες

Οι ισοφλαβόνες αποτελούν τη τάξη των φλαβονοειδών που συνεισφέρει στο χρωματισμό των ανθέων και σε άλλες δραστηριότητες με τις οιστρογονικές, τις εντομολογικές και τις αντιβακτηριακές ιδιότητες που έχουν. Αυτές εντοπίζονται κυρίως στα γυμνόσπερμα και στα ψυχανθή. (http://www.pollenbiology.cz/resources/Theses/2008_Koblovska_PhD.pdf).



Εικόνα 35: Χημική δομή ισοφλαβονών (Πηγή: By NEUROtiker - Own work, Public Domain, <https://commons.wikimedia.org/w/index.php?curid=3855289>, 7/5/20 23.00 μ.μ)

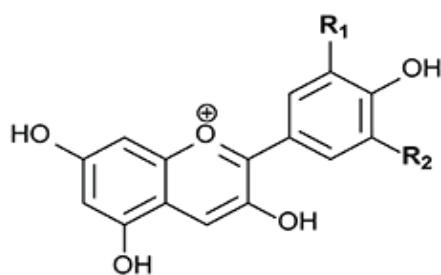
5.1.6 Ανθοκυανίνες

Οι ανθοκυανίνες είναι οι πιο διαδεδομένες ουσίες από όλες τις διαλυτές χρωστικές στο νερό. Προέρχονται από ανθοκυανιδίνες με την προσθήκη σακχάρων σε δύο υδροξύλια, ένα του δακτυλίου A και το δεύτερο του δακτυλίου B (Εικόνες 36, 37). Οι ανθοκυανίνες είναι υπεύθυνες για την παραγωγή υπέροχων χρωμάτων όπως το κόκκινο, το μώβ και το μπλέ που συναντώνται σε

πολλά είδη λαχανικών, φρούτων κα φυτών-βοτάνων. Ανθοκυανίνες υπάρχουν επίσης στις ρίζες και στα φύλλα. Η πιο σημαντική λειτουργία των είναι η έλξη των ζώων για λόγους γονιμοποίησης και τη διασπορά του σπόρου. Εξαιτίας της αστάθειας προς ποικίλους χημικούς και φυσικούς παράγοντες όπως το φως και τη δυσκολία καθαρισμού τους, δεν έχουν χρησιμοποιηθεί στη βιομηχανία των τροφίμων. Ακόμα είναι πιθανή η αντίδραση των καθαρών ανθοκυανινών με το διοξείδιο του θείου.

Καμία ανθοκυανίνη δεν εμφανίζει όλα τα υδροξύλια της μεθυλιωμένα.

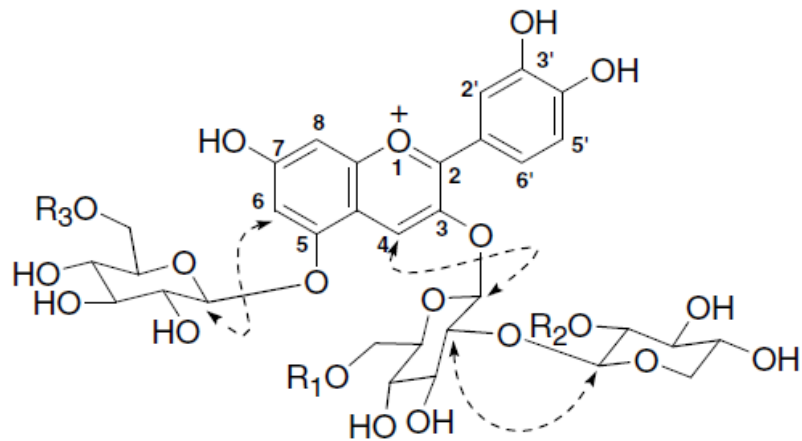
Figure 4. Chemical Structures of Anthocyanidins



	R ₁	R ₂
Cyanidin	OH	H
Delphinidin	OH	OH
Malvidin	OCH ₃	OCH ₃
Pelargonidin	H	H
Peonidin	OCH ₃	H
Petunidin	OCH ₃	OH

Εικόνα 36: Γενικός τύπος ανθοκυανιδινών με πίνακα υποκαταστατών στις θέσεις R₁ και R₂ για τους κυριότερους εκπροσώπους των. Οι αντίστοιχες ανθοκυανίνες προκύπτουν με προσθήκη σακχάρων, όπως φαίνεται στην Εικόνα 37. Cyanidin = κυανιδίνη, Delphinidin = δελφινιδίνη, Malvidin = μαλβιδίνη, Pelargonidin = πελαργονιδίνη, Peonidin = πεονιδίνη, Petunidin = πετουνιδίνη. (Πηγή: <https://lpi.oregonstate.edu/mic/dietary-factors/phytochemicals/flavonoids#chemical-structures>, 14/5/20, 20.55μ.μ)

Το ελεύθερο υδροξύλιο είναι απαραίτητο για τη δημιουργία των χρωμάτων. Οι κυριότερες ανθοκυανίνες διακρίνονται ποιοτικά από το χρώμα που εμφανίζεται στα πέταλα των ανθέων και τις διαφοροποιήσεις που εμφανίζονται αυξάνοντας ή μειώνοντας τις τιμές του pH.



Εικόνα 37: Χημική δομή ανθοκυανινών από το άνθος του φυτού *Lunaria annua* (Tatsuzawa et al., 2006). Έχουν ταυτοποιηθεί τρεις παραλλαγές του συγκεκριμένου κορμού ανθοκυανίνης στο πέταλο. Και οι τρεις έχουν ως $R_2 = H$ και R_3 την μηλονυλο-ρίζα. Ενώ ως R_1 έχουν η μία την τρανς-παρα-κουμαροϋλο-ρίζα, η άλλη την σις-παρα-κουμαροϋλο-, και η τρίτη την τρανς-φερουλοϋλο-ρίζα (Tatsuzawa et al., 2006). Το ελεύθερο υδροξύλιο είναι απαραίτητο για την δημιουργία των χρωμάτων. Οι κυριότερες ανθοκυανίνες διακρίνονται ποιοτικά από το χρώμα που εμφανίζεται στα πέταλα των ανθέων και τις διαφοροποιήσεις που εμφανίζονται αυξάνοντας ή μειώνοντας τις τιμές του pH, και κατά περίπτωση από το ή τα μεταλλικό(ά) κατιόν(τα) με το(α) οποίο(α) συμπλοκοποιούνται (Yoshida et al., 2009).

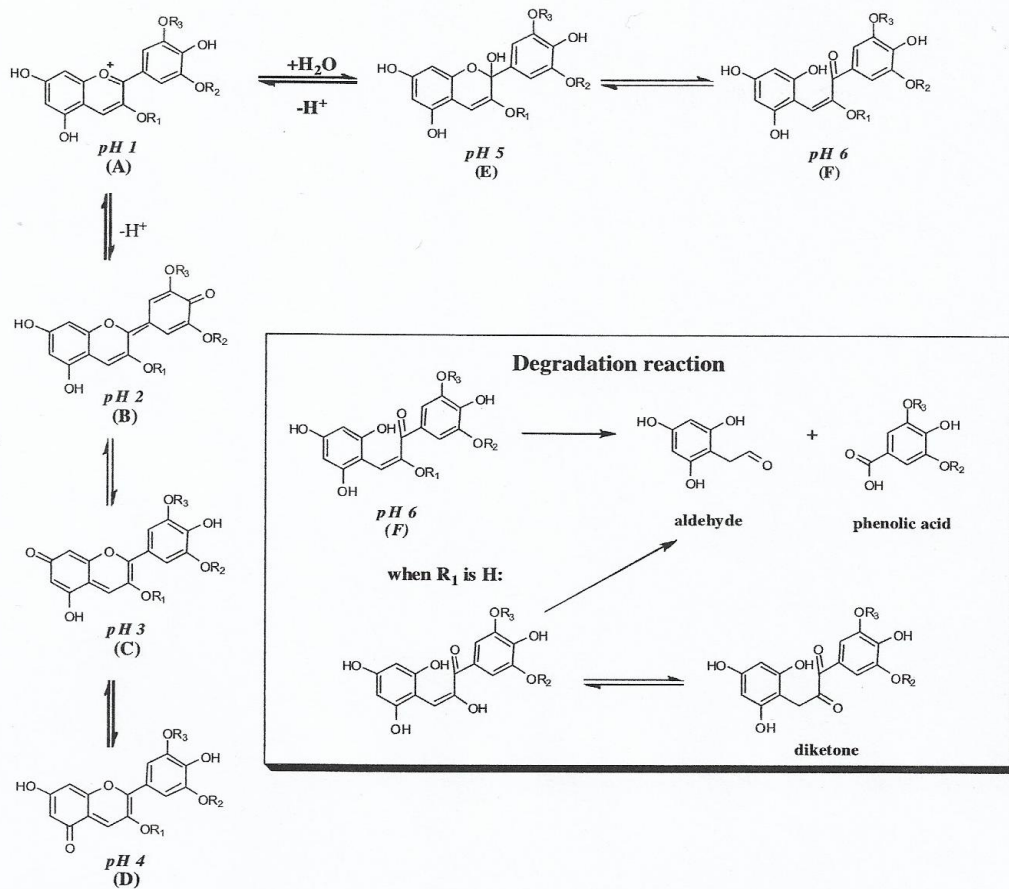


Fig. 1. Anthocyanins chemical forms depending on pH and degradation reaction for anthocyanins. Where $R_1 = H$ or saccharide, R_2 and $R_3 = H$ or Methyl (Castañeda-Ovando et al.).

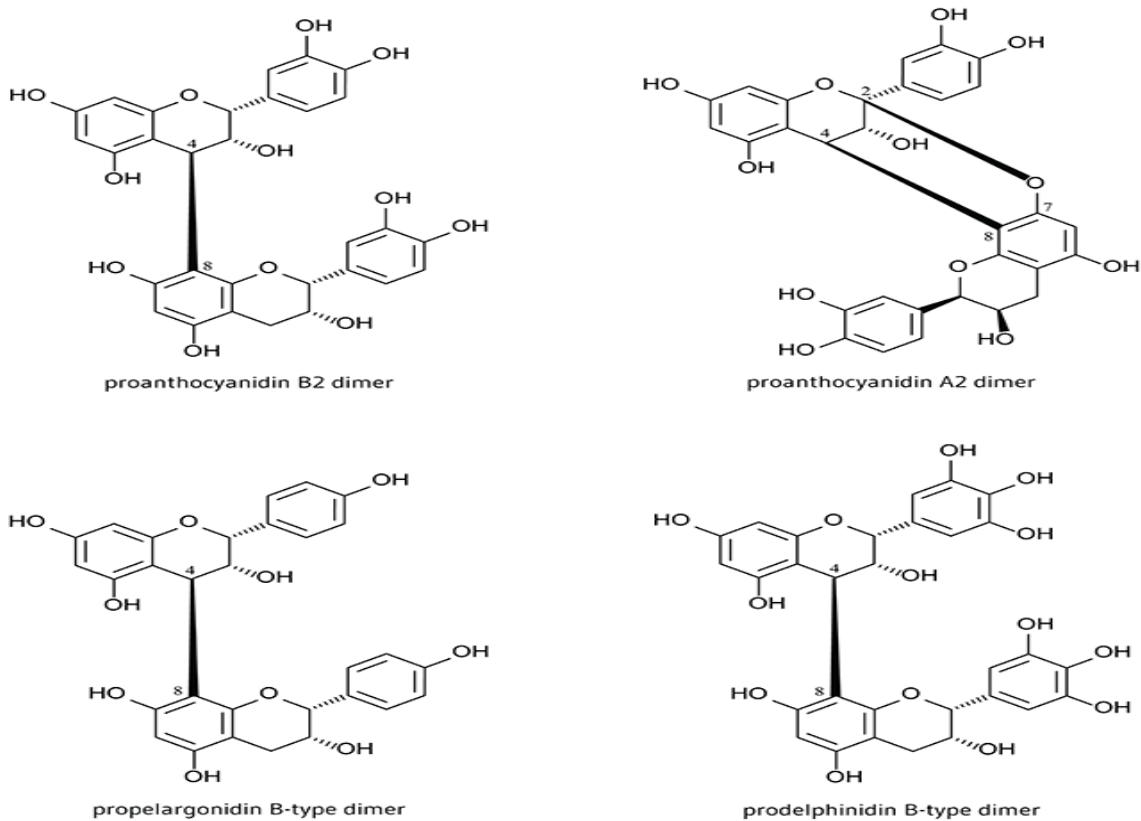
Εικόνα 38: Μεταβολές στη δομή ανθοκυανών ανάλογα με το pH, και πορείες αποικοδόμησης των (Castaneda-Ovando et al., 2009). Βλέπε επίσης Yoshida και συν. (2009).

Οι αλλαγές των χρωμάτων λόγω μεταβολών του pH στο έντονο όξινο περιβάλλον παρουσιάζουν πορτοκαλί έως κόκκινο χρώμα ενώ σε αλκαλικό περιβάλλον παρουσιάζουν μπλε χρώμα (Castaneda-Ovando et al. 2008, Εικόνα 38). Οι φλαβόνες και οι τατίνες σταθεροποιούν τις ανθοκυανίνες και προκαλούν συνήθως τις βαθochρωμικές (προς χαμηλότερο μήκος κύματος) μετατοπίσεις στο ορατό φάσμα με συνέπεια τη μπλε χρώση των λουλουδιών. Οι ανθοκυανίνες που έχουν υδρολυθεί και αφαιρέθηκαν οι ομάδες των σακχάρων ονομάζονται ‘ανθοκυανιδίνες’ και εμφανίζονται σε διάφορες μορφές που ονομάζονται πρωτογενείς, δευτερογενείς και τριτογενείς (Εικόνα 36).

5.1.7 Λευκοανθοκυανιδίνες, Κατεχίνες, Προανθοκυανιδίνες

Οι λευκοανθοκυανιδίνες, οι κατεχίνες και οι προανθοκυανιδίνες είναι σημαντικές πηγές αποχρωματισμού και δημιουργίας χρωματικών σχηματισμών. Μετά από ειδική επεξεργασία οι λευκοανθοκυανιδίνες μετατρέπονται σε ανθοκυανίνες. Οι προανθοκυανιδίνες χρησιμοποιούνται στην ιατρική λόγω των αντιοξειδωτικών ιδιοτήτων τους και βοηθούν σε καρδιακές παθήσεις καθώς και στη καταπολέμηση του καρκίνου. (<https://el.wikipedia.org/wiki/%CE%A6%CE%BB%CE%B1%CE%B2%CE%BF%CE%BD%CE%BF%CE%B5%CE%B9%CE%B4%CE%AE>). Αυτές οι χρωστικές υπάρχουν στα μήλα, στα μούρα στο κριθάρι κ.α.

Figure 9. Chemical Structures of Proanthocyanidin Dimers



Εικόνα 39: Χημική δομή διμερών Προανθοκυανιδίνης (Πηγή: <https://lpi.oregonstate.edu/mic/dietary-factors/phytochemicals/flavonoids> 11/5/20 20.00μμ)

6. ΤΡΟΠΟΙ ΔΙΑΧΩΡΙΣΜΟΥ ΧΡΩΣΤΙΚΩΝ

6.1 Χρωματογραφία

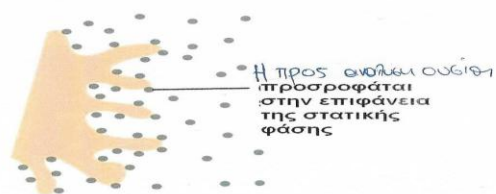
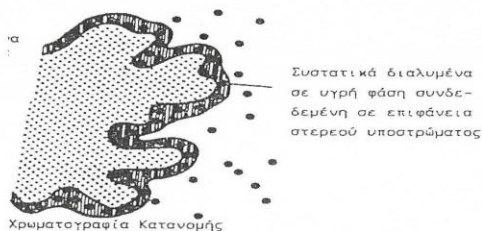
Η Χρωματογραφία είναι μέθοδος διαχωρισμού χημικών ουσιών, η οποία στηρίζεται στην διαφορετική κατανομή των συστατικών ενός μίγματος μεταξύ μιας κινούμενης και μιας στατικής φάσης. Η στατική φάση είναι κάποιο αδρανές μέσον το οποίο μπορεί να διασχίσει η κινητή φάση, η οποία και αποτελείται από κάποιο διαλύτη που περιέχει όλες τις προς διαχωρισμό ουσίες ενός μείγματος. Ανάλογα με την φύση της κινούμενης και της στατικής φάσης, η χρωματογραφία χαρακτηρίζεται ως αέρια ή υγρή. Ανάλογα με την αρχή στην οποία στηρίζεται ο διαχωρισμός, η χρωματογραφία χαρακτηρίζεται ως χρωματογραφία κατανομής, προσρόφησης, ιοντοανταλλαγής ή πηκτής. Τέλος ανάλογα με την τεχνική έχουμε την χρωματογραφία στήλης, λεπτής στιβάδας και χρωματογραφίας (επί) χάρτου (δηλ. σε χαρτί) (Clark, και Switzer, 1992, Berg et al., 2017)..

6.1.1 Χρωματογραφία προσρόφησης

Στη χρωματογραφία προσρόφησης η μια φάση είναι υγρή και η στατική είναι ένα υλικό λεπτό με καλή προσροφητική ικανότητα. Στο διαχωρισμό αυτό λαμβάνουν χώρα αλληλεπιδράσεις ηλεκτροστατικής φύσης δηλαδή οι διάφορες ουσίες προσροφώνται στην κορυφή της στήλης και κινούνται αργά προς τα κάτω καθώς κατάλληλος διαλύτης ρέει δια μέσου της στήλης. Η τεχνική αυτή βρίσκει εφαρμογή στο διαχωρισμό ουσιών με παρόμοια δομή αλλά με διαφορετική πολικότητα.

Μηχανισμοί χρωματογραφίας

• Χρωματογραφία προσρόφησης



Χρωματογραφία κατανομής

Εικόνα 40: Αρχή της χρωματογραφίας προσρόφησης και χρωματογραφίας κατανομής.

(Πηγή / 11/5/20 21.10)

<http://www.markopoulou.gr/images/Theory/Θεωρία%20Χρωματογραφίας%20Διάλεξη%20Rev2.pdf>

6.1.2 Χρωματογραφία ανταλλαγής ιόντων (ιοντοανταλλαγής)

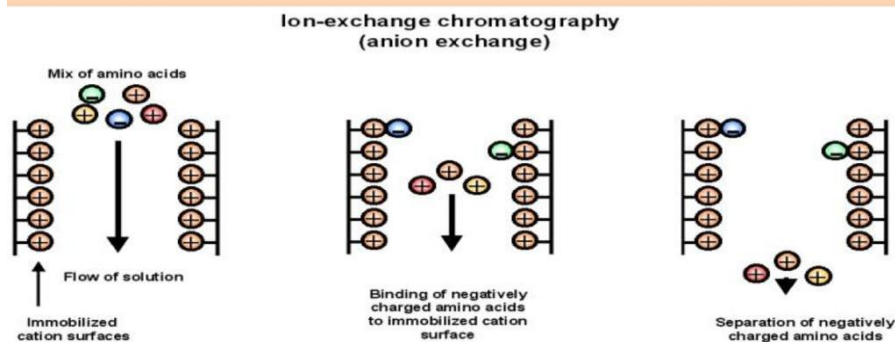
Η χρωματογραφία ανταλλαγής ιόντων χρησιμοποιεί τη διαφορετική συγγένεια φορτισμένων ιόντων ή μορίων σε διάλυμα για αδρανείς, ακίνητες ή αδιάλυτες φορτισμένες ενώσεις. Όταν το φορτισμένο ιόν ή μόριο περιέχει ένα ή περισσότερα θετικά φορτία και αυτά εναλλάσσονται με άλλα θετικά φορτισμένα φορτία σωμάτων που έλκονται σε μια αρνητικά φορτισμένη ακίνητη φάση, αυτή η διεργασία ονομάζεται 'ανταλλαγή κατιόντων'. Η αντίστροφη διαδικασία ονομάζεται 'ανταλλαγή ανιόντων'.

Υπάρχουν δύο γενικές τάξεις ακίνητων ή ακινητοποιημένων ιοντοανταλλακτών που χρησιμοποιούνται συχνότερα από τους βιοχημικούς. Η πρώτη τάξη αποτελείται από πορώδη ελαστικά σωματίδια που περιέχουν ένα σκελετό συνθετικής ρητίνης, συνήθως πολυστυρολίου από τον συμπολυμερισμό στυρολίου και διβινυλοβενζολίου. Η δεύτερη τάξη είναι αυτοί που έχουν σκελετό αποτελούμενο από πολυσακχαρίτες και συνήθως χρησιμοποιούνται για διαχωρισμό μεγάλων πρωτεϊνών και νουκλεϊκών οξέων που υπάρχουν στη φύση. Οι ιοντοανταλλακτες διαχωρίζονται κατά κύριο λόγο σε δυο κατηγορίες στα υλικά με ισχυρή ιοντική δράση που περιέχουν ομάδες ισχυρών οξέων ή βάσεων που παραμένουν ιοντισμένες κάτω από οποιαδήποτε συνθήκες pH και στα υλικά με ασθενή ιοντική δράση που περιέχουν ομάδες ασθενών οξέων ή βάσεων που εξουδετερώνονται μόνο τους σε pH που χρησιμοποιούνται κατά τα πειράματα ιοντοανταλλαγής (Clark και Switzer, 1992).

Χρωματογραφία Ιοντοανταλλαγής

η στατική φάση φέρει φορτισμένες ομάδες οι οποίες θα έλξουν αντίθετα φορτισμένες ουσίες

Παράδειγμα: Στατική φάση= Ανιοντοανταλλάκτης -συγκρατεί τα αρνητικά φορτισμένα μόρια και αφήνει να εκλουσθούν τα θετικά φορτισμένα μόρια.



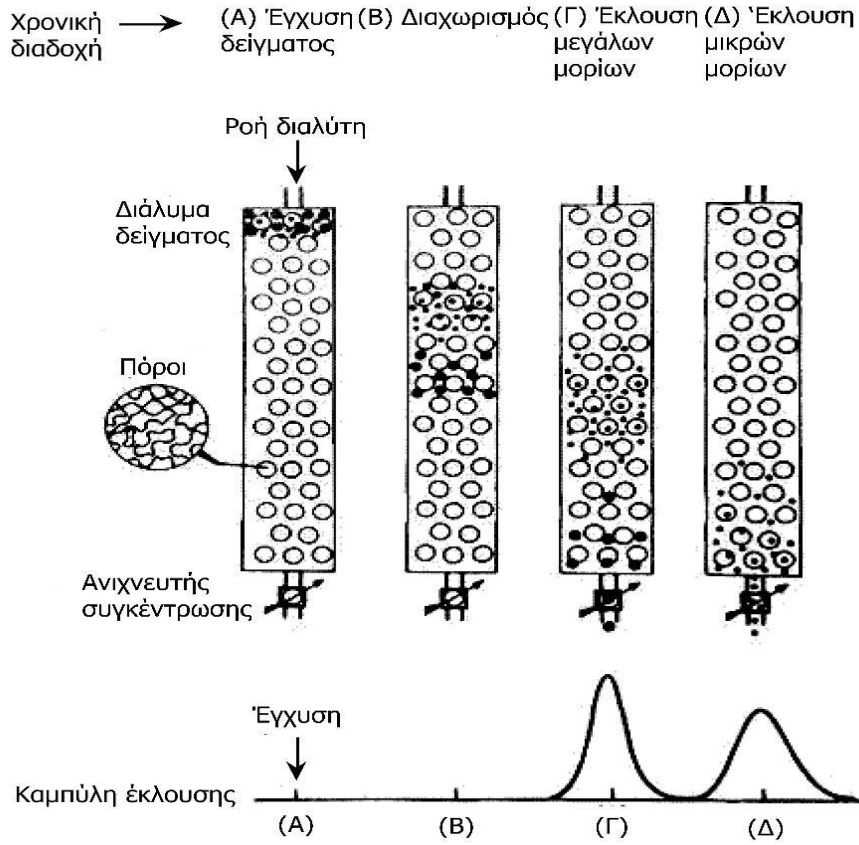
Εικόνα 41. Χρωματογραφία ιοντοανταλλαγής, συγκεκριμένα ανιοντοανταλλαγής (Πηγή:

<https://slideplayer.gr/slide/11974596/>, 24/5/20 20.30 μ.μ.)

6.1.3 Χρωματογραφία διήθησης σε πηκτή

Στη χρωματογραφία διήθησης σε πηκτή ο διαχωρισμός επιτυγχάνεται με κριτήριο την μοριακή μάζα των μορίων που πρόκειται να διαχωριστούν. Κατά των διαχωρισμό τα ευμεγέθη μόρια εκλούνται σε μικρότερους χρόνους συγκριτικά με τα μικρότερα μόρια γιατί δεν εισχωρούν στο εσωτερικό των κόκκων του υλικού πλήρωσης της στήλης. Το υλικό πλήρωσης της στήλης τοποθετείται στο ρυθμιστικό διάλυμα των προς διαχωρισμό μορίων το οποίο ποτίζει τους κόκκους του υποστρώματος. Ο διαχωρισμός ξεκινά με την τοποθέτηση μικρής ποσότητας δείγματος στην κορυφή της στήλης. Το δείγμα μετακινείται μέσω του υλικού της στήλης και η σταθερή ροή εξασφαλίζεται με την σταθερή προσθήκη διαλύματος στην κορυφή. Ο διαχωρισμός βασίζεται στην επιβράδυνση των μορίων.

Η χρωματογραφία διήθησης σε πηκτή χρησιμοποιείται κυρίως για τα καροτενοειδή καθώς και για την ταυτοποίηση των ανθοκυανινών και των φλαβονοειδών. Πριν απομονωθούν οι καθαρές ανθοκυανίνες το απόσταγμα πρέπει να είναι διαχωρισμένο από την χρωματογραφία σε χαρτί. Η χρωματογραφία σε πηκτή είναι από τις πιο αξιόπιστες τεχνικές για το διαχωρισμό πολλών φλαβονοειδών (Berg και συν. 2005, Χατζηγιωάννου, 2014).



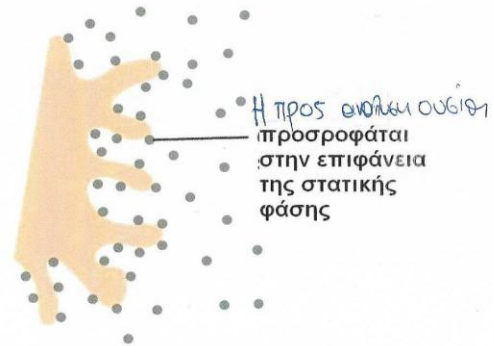
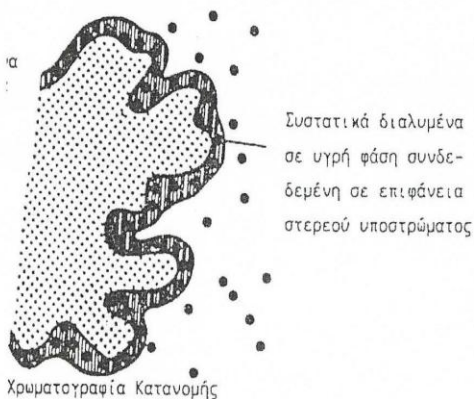
Εικόνα 42: Αρχή λειτουργίας της χρωματογραφίας διήθησης σε πηκτή (Πηγή: https://repository.kallipos.gr/pdfviewer/web/viewer.html?file=/bitstream/11419/2582/1/02_chapter_05.pdf)
24/5/20 20.30 μ.μ.)

6.1.4 Χρωματογραφία κατανομής

Στην τεχνική της χρωματογραφίας σε χαρτί, ο διαχωρισμός των συστατικών ενός μίγματος με την υγρή χρωματογραφία κατανομής, εξαρτάται από τους διαφορετικούς συντελεστές κατανομής που έχει το κάθε συστατικό μεταξύ των δύο διαλυτών. Το πιο πολικό σύστημα διαλυτών, παρακρατείται ως ένα στατικό λεπτό στρώμα πάνω σε κατάλληλο υλικό ως υποστήριγμα και το λιγότερο πολικό σύστημα δρα ως κινούμενη υγρή φάση. Στην χρωματογραφία κατανομής αντίστροφης φάσης (Reversed phase partition chromatography) ο λιγότερο πολικός διαλύτης δρα ως στατική φάση και ο πιο πολικός ως κινούμενη φάση. Σ' αυτή την περίπτωση το υλικό που χρησιμοποιείται ως υποστήριγμα, κατεργάζεται με διχλωροδιμεθυλοπυρίτιο, το οποίο αντιδρά με τις υδροξυλομάδες της επιφάνειας του υποστηρίγματος, του οποίου κατ' αυτό τον τρόπο μειώνεται η ικανότητα να συγκρατεί νερό. Τα πιο συνηθισμένα υλικά υποστηρίγματα είναι το silica gel, ο σελίτης και η κυτταρίνη. Η στατική φάση είναι συχνά νερό ή υδατικά ρυθμιστικά διαλύματα, αραιό θειικό ή υδροχλωρικό οξύ ή μεθανόλη. Η κινούμενη φάση μπορεί να είναι μίγματα βουτανόλης – χλωροφορμίου, μίγματα βουτανόλης – βενζολίου, τετραχλωράνθρακας, οξικός αιθυλεστέρας, εξάνιο ή 2,2,4-τριμεθυλοπεντάνιο. Λόγω του ότι το χλωροφόρμιο και ο τετραχλωράνθρακας είναι φρικτά δηλητήρια καλό θα ήταν να αποφεύγονται. Παραδείγματα διαλυτών στην τεχνική της αντιστρόφου φάσεως είναι το οκτάνιο (στατική φάση) – 60%(v/v) υδατικό διάλυμα μεθανόλης (κινούμενη φάση) και τολουόλιο – φορμαμίδιο. Οι δύο υγρές φάσεις αναδεύονται σε μια διαχωριστική χοάνη και ξεχωρίζεται η φάση που θα χρησιμοποιηθεί ως στατική, μέσα στην οποία τοποθετείται το υλικό που θα χρησιμοποιηθεί ως υποστήριγμα προκειμένου να εξισορροπηθεί με τη στατική φάση. Οι εφαρμογές της χρωματογραφίας κατανομής με στήλη είναι πάρα πολλές, ιδιαίτερα στο διαχωρισμό ομολόγων με δραστική ομάδα, τα οποία δεν θα μπορούσαν να διαχωριστούν με χρωματογραφία προσρόφησης

Μηχανισμοί χρωματογραφίας

• Χρωματογραφία προσροφήσεως



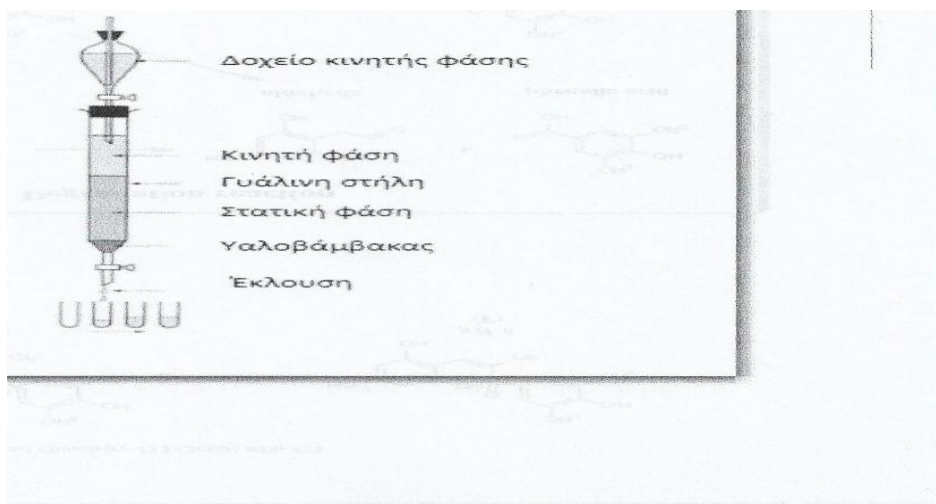
Χρωματογραφία κατανομής

Εικόνα 43: Αρχή λειτουργίας χρωματογραφίας κατανομής (Πηγή: <http://www.markopoulou.gr/images/Theory/Θεωρία%20Χρωματογραφίας%20Διάλεξη%20Rev2.pdf> 24/5/20

20.30μ.μ)

6.1.5 Χρωματογραφία στήλης

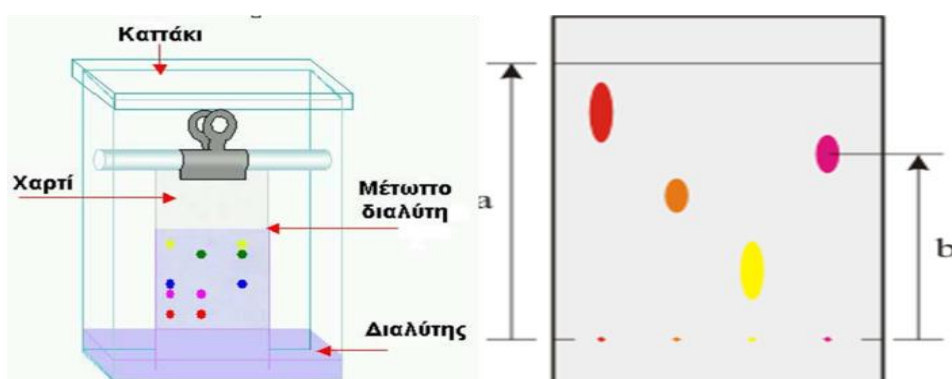
Στη χρωματογραφία στήλης η στατική φάση τοποθετείται σε μια στήλη κατασκευασμένη από αδρανές υλικό (ύαλος, πηκτή πυριτίας, ανοξείδωτος χάλυβας). Το δείγμα το τοποθετείται στην αρχή (κορυφή) της στήλης και η κινητή φάση διέρχεται εξαναγκασμένα μέσω της στατικής φάσης με την εφαρμογή πίεσης σε αυτήν ή λόγω της βαρύτητας. Τα συστατικά του δείγματος μετακινούνται κατά μήκος της στήλης με διαφορετικές ταχύτητες εξαρτώμενες από τη συγγένεια των συστατικών ως προς τη στατική φάση.



Εικόνα 44: Αρχή λειτουργίας χρωματογραφίας στήλης (Πηγή <https://docplayer.gr/21059230-Hromatografiaielektroforisi-proteinon.html> 24/5/20 20.30 μ.μ.)

6.1.6 Χρωματογραφία σε χαρτί

Είναι από τις πιο απλές μεθόδους που χρησιμοποιείται για τον διαχωρισμό χημικών ουσιών. Και αυτό το είδος χρωματογραφίας λειτουργεί με την ίδια αρχή. Έχει μια στατική φάση (ένα αέριο ή ένα υγρό) και μια κινητή φάση (ένα υγρό ή ένα αέριο). Η κινητή φάση ρέει μέσω της στατικής φάσης και μεταφέρει τα συστατικά του μείγματος μαζί της. Σε αυτού του είδους την χρωματογραφία η στατική φάση είναι ένα απορροφητικό χαρτί και η κινητή φάση είναι ένας υγρός διαλύτης ή ένα μείγμα διαλυτών.

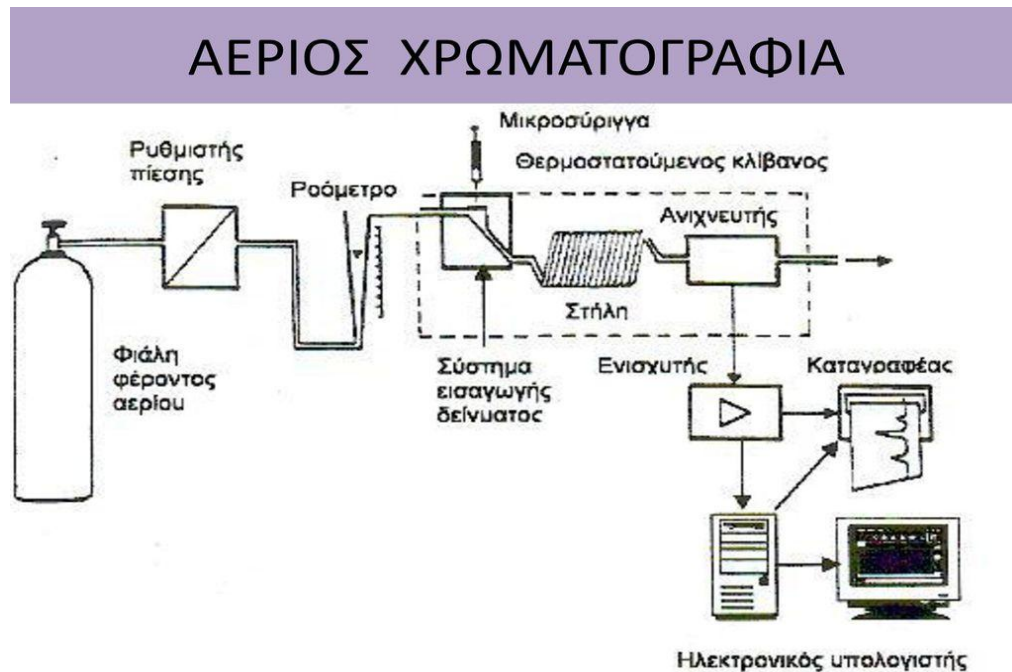


Εικόνα 45: Αρχή λειτουργίας χρωματογραφίας χαρτί

(Πηγή: https://el.wikipedia.org/wiki/Χρωματογραφία_χάρτου 26/5/20 22.00 μ.μ.)

6.1.7 Αέρια χρωματογραφία

Η αέρια χρωματογραφία αποτελεί μια μέθοδο διαχωρισμού. Συνιστάται σε διαχωρισμό αεριοποιημένων συστατικών από ένα συνδυασμό χρωματογραφίας, κατανομής προσρόφησης σε διάφορο βαθμό που βρίσκονται σε αέρια φάση. Οι ενώσεις πρέπει να είναι πτητικές χωρίς να διασπώνται (Clark και Switzer, 1992) .



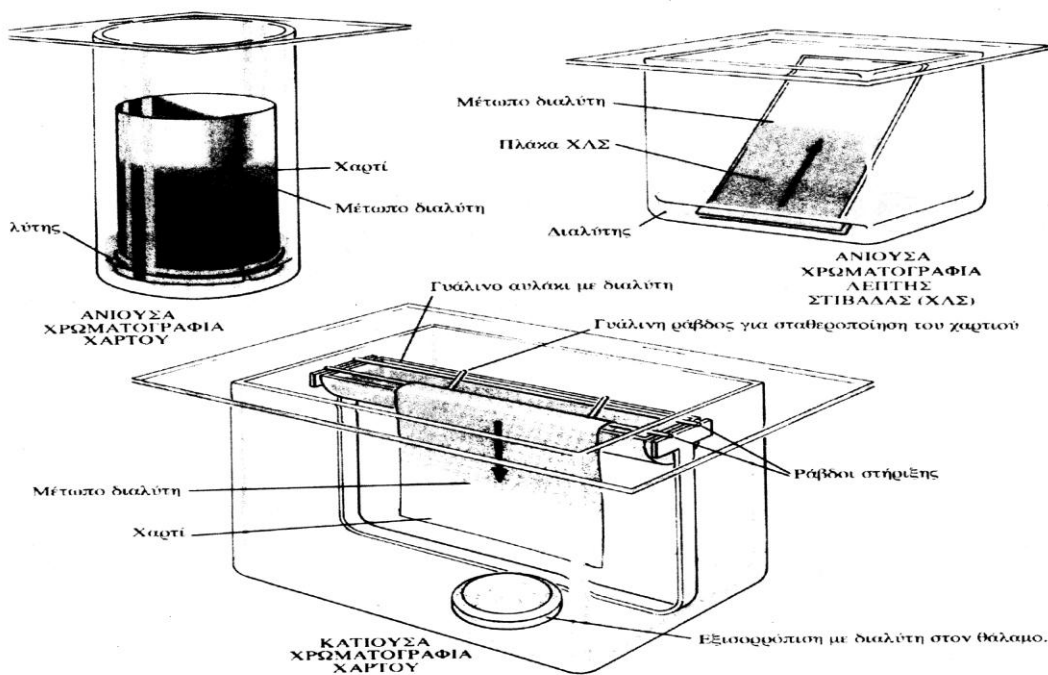
Εικόνα 46: Παράδειγμα αέριας χρωματογραφίας (Πηγή: Clark, και Switzer, 1992 26/5/20 22.20 μ.μ)

6.1.8 Υγρή χρωματογραφία

Η υγρή χρωματογραφία είναι χρήσιμη για το διαχωρισμό και την ανάλυση μοριακών ενώσεων με χαμηλές τάσεις ατμών, καθώς και θερμικά ασταθών ενώσεων που δεν μπορούν να εξαερωθούν χωρίς να διασπαστούν.

6.1.9 Χρωματογραφία λεπτής στοιβάδας

Η χρωματογραφία είναι η τεχνική χρωματογραφίας που χρησιμοποιείται στο διαχωρισμό διαφόρων μειγμάτων, στην ταυτοποίηση των υφιστάμενων ενώσεων σε ένα μείγμα και στο καθορισμό της καθαρότητας μιας ουσίας. (Clark, και Switzer, 1992). Σε σχέση με την χρωματογραφία σε χαρτί η χρωματογραφία λεπτής στοιβάδας είναι πιο γρήγορη και ακριβείας. Οι πλάκες πάνω στις οποίες γίνεται η διαδικασία της χρωματογραφίας μπορεί να είναι πλαστικές ή από αλουμίνιο των 20x20 cm. Με αυτή τη μέθοδο μπορούμε να βρούμε αν μια ουσία είναι χημικώς καθαρή και από τι αποτελείται ένα μείγμα.



Σχήμα 8. Χρωματογραφία λεπτής στοιβάδας (πηγή: Πειραματική Βιοχημεία Clark, και Switzer, 1992)

Εικόνα 47 Παράδειγμα χρωματογραφίας λεπτής στοιβάδας.

6.2 Φασματοφωτομετρία ορατού φωτός

Η τεχνική της Φασματοφωτομετρίας ορατού μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την διερεύνηση της δομής μιας ένωσης καθώς και για την ποιοτική ανάλυση (ταυτοποίηση ουσιών)όσο και για την ποσοτική ανάλυση . Η φασματοσκοπία μετρά το φως που απορροφάται και μας μαρτυρά σε ποιο μήκος κύματος απορροφά μια ουσία, και σε πιο δεν απορροφά (σκεδάζει, το αφήνει να την διαπερνά),δηλαδή το τελευταίο είναι αυτό που εμείς αντιλαμβανόμαστε σαν χρώμα της οποιαδήποτε ουσίας.

Μεγάλο μέρος της φασματοφωτομετρίας στηρίζεται στο νόμο Beer-Lambert

Σύμφωνα με το νόμο Lambert-Beer ισχύει:

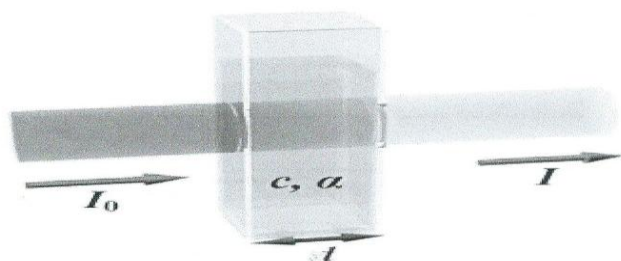
$$I = I_0 10^{-\epsilon cl} \quad (4)$$

$$\text{ή } I/I_0 = 10^{-\epsilon cl} \text{ ή } I_0/I = 10^{\epsilon cl}$$

$$\text{οπότε, } \log (I_0/I) = \epsilon cl = A \quad (5)$$

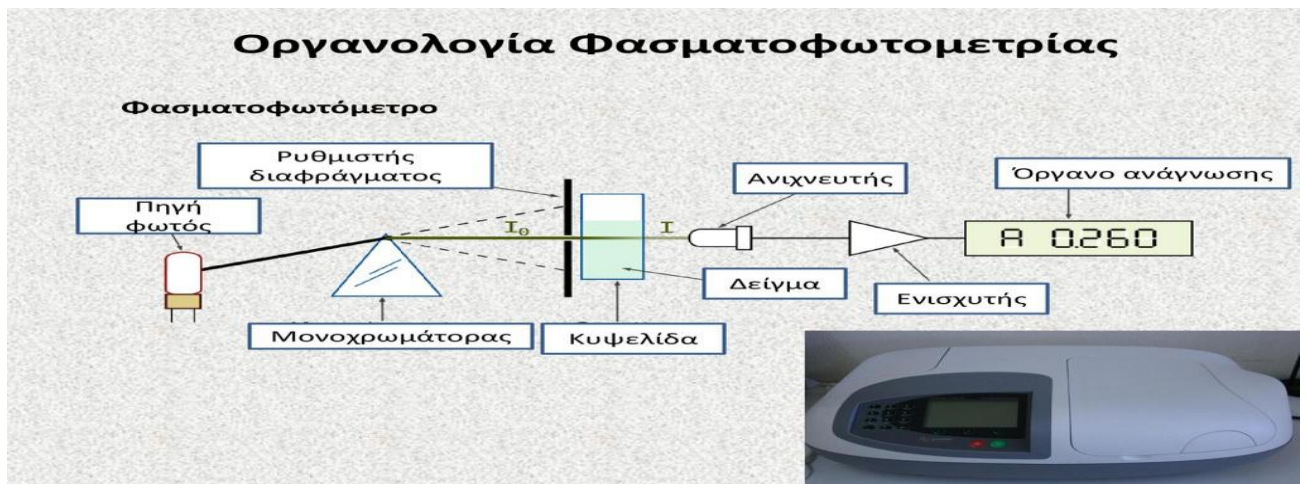
Όπου c η συγκέντρωση του διαλύματος, l η διαδρομή που κάνει η ακτινοβολία μέσα στο διάλυμα και ϵ ο συντελεστής απορρόφησης, ο οποίος εξαρτάται από το μόριο ή ιόν που απορροφά σε ορισμένο διαλύτη και από τη συχνότητα της ακτινοβολίας. Η ποσότητα A ονομάζεται απορροφητικότητα, και είναι καθαρός αριθμός.

Ο νόμος του Beer ισχύει όταν: 1) η προσπίπτουσα ακτινοβολία είναι μονοχρωματική 2) Τα χημικά είδη που απορροφούν δρουν ανεξάρτητα στη διαδικασία απορρόφησης 3) η απορρόφηση συμβαίνει σ' έναν όγκο ομοιόμορφης διατομής 4) η ενεργειακή υποβάθμιση είναι γρήγορη (όχι φθορισμός). Γενικά ισχύει για αραιά διαλύματα.



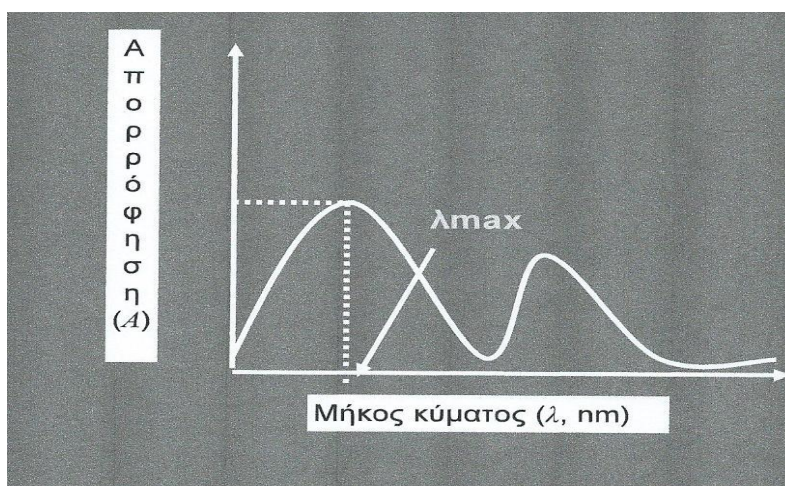
Εικόνα 48 Στο σχήμα απεικονίζεται μια κυψελίδα η οποία περιέχει διάλυμα μιας ουσίας, μέσα από την οποία διέρχεται ακτινοβολία αρχικής έντασης I_0 και εξέρχεται ακτινοβολία έντασης I (από Clark and Switzer, *Πειραματική Βιοχημεία*, 2^η έκδοση).

Το όργανο που χρησιμοποιούμε για την λήψη φάσματος λέγεται φασματοφωτόμετρο. Τα βασικά του μέρη είναι η πηγή φωτός, ο μονοχρωμάτορας η κυψελίδα και ο ανιχνευτής



Εικόνα 49 :οργανολογία Φασματοφωτομετρίας (Πηγή: <https://slideplayer.gr/slide/1517785126/5/20> 22.20 μ.μ)

Ένα φάσμα απορρόφησης είναι η γραφική παράσταση της απορροφημένης ενέργειας σε συνάρτηση με το μήκος κύματος της ακτινοβολίας



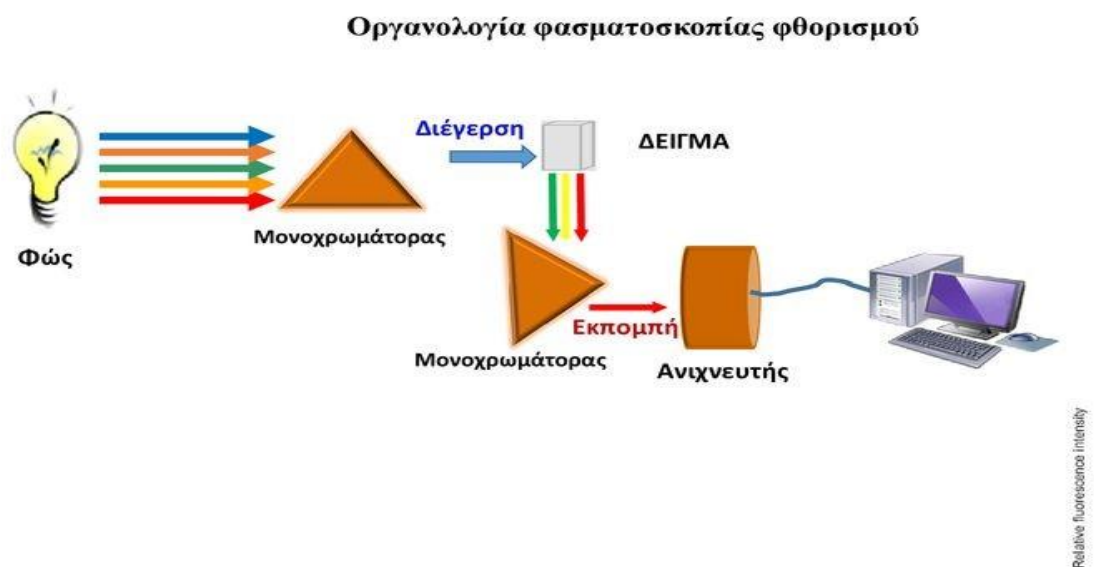
Εικόνα 50: Χαρακτηριστικό φάσμα απορρόφησης (Πηγή: <https://slideplayer.gr/slide/11246046/> 26/5/20 22.20 μ.μ)

6.2.1 Φασματοφωτομετρία υπεριώδους φωτός

Τα περισσότερα φασματόμετρα UV-VIS λειτουργούν στην περιοχή 190-800 nm. Η ορατή περιοχή είναι μεταξύ 400-750 nm (ιώδες-ερυθρό) και η υπεριώδης περιοχή από 190-400 nm. Για την περιοχή κάτω των 190 nm (στην πραγματικότητα οι απορροφήσεις είναι ικανοποιητικές μέχρι τα 220 nm) οι κυψελίδες πυριτίου αρχίζουν να απορροφούν ελαφρά, όπως και το ατμοσφαιρικό οξυγόνο, για αυτό απαιτούνται κατάλληλες κυψελίδες και λήψη φασμάτων υπό κενό.

6.2.2 Φασματοφωτομετρία φθορισμού

Η ενέργεια των διεγερμένων ηλεκτρονίων εξ αιτίας της απορρόφησης φωτός μπορεί να χαθεί. Η ενέργεια της διέγερσης εκλύεται ως θερμική ενέργεια κατά την πορεία της κρούσης. Σε μερικές όμως περιπτώσεις, η ενέργεια διέγερσης αποδίδεται με τον φθορισμό, που γίνεται πάντα σε μεγαλύτερο μήκος κύματος φωτός, από το μήκος κύματος φωτός που απορροφάται.



Εικόνα 51: Οργανολογία φασματοσκοπίας φθορισμού

(Πηγή: <https://slideplayer.gr/slide/16724602/97/images/11/26/5/2022.20μ.μ>)

7. Χρώματα στα πέταλα ανθέων

Τα χρώματα στα πέταλα των ανθέων είναι προϊόν της ενδεχόμενης γεωμετρικής διάταξης των χρωστικών που περιέχουν τα άνθη. Μόνο σε λίγες περιπτώσεις έχει καταστεί δυνατόν να γνωρίζουμε την ακριβή γεωμετρική διάταξη που να δίνει ακριβώς το ίδιο χρώμα όπως τα ανέπαφα πέταλα (Yoshida et al., 2009). Οι προσπάθειες των επιστημόνων εστιάστηκαν πρώτα στο να ταυτοποιήσουν τις χρωστικές των πετάλων ανθέων και μετά στην ανεύρεση των αλληλεπιδράσεων μεταξύ των χρωστικών, καθώς και τυχόν αλληλεπιδράσεις με μεταλλικά κατιόντα (Yoshida et al., 2009).

B. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

B1. ΣΥΛΛΟΓΗ ΑΝΘΕΩΝ

Για την διεξαγωγή του συγκεκριμένου πειράματος έγινε συλλογή ανθέων του φυτού *Lunaria annua* στις 12/3/2007 στην περιοχή του Αγίου Γεωργίου-Φιλιπιάδας Πρέβεζα . Το υψόμετρο της περιοχής είναι 300μ από την επιφάνεια της θάλασσας . Το φυτό αμέσως μόλις συλλέχθηκε τοποθετήθηκε μέσα σε χάρτινη σακούλα μεταφέρθηκε στο χώρο που θα πραγματοποιούνταν το πείραμα. Καθαρίστηκε ώστε να μείνουν μόνο τα μώβ πέταλα του και στη συνέχεια τα πέταλα πλύθηκαν με απιοντισμένο νερό και αφέθηκαν να στεγνώσουν για 60 λεπτά.

Πίνακας Β1. Συλλογή φυτών *Lunaria annua*

Ημερομηνία συλλογής	Τόπος συλλογής	Μάζα πετάλων, g	Όγκος διαλύτη (οξυνισμένη μεθανόλη), mL	Μάζα/όγκο g/mL	Παρατηρήσεις
12/3/2007	Άγιος Γεώργιος, Πρεβέζης (πριν το φράγμα Λούρου, Εθνική Οδός Ιωαννίνων-Αθηνών)	1,592	15	0,106	Το χρώμα του εκχυλίσματος έγινε έντονο ροζ
15/3/2007	«	2,07	25	0,082	«
16/3/2007	«	12,16	30	0,405	«
19/3/2007	«	2,18	15	0,145	«
28/3/2007	«	5,36	20	0,268	«
29/3/2007	«	A. (καλά πέταλα) 5,78	A. 25	0,231	«
		B. (κακορίζικα) 0,27	B. 5	0,054	
18/4/2007	«	3,46	12	0,288	«

B2 ΟΡΓΑΝΑ ΣΚΕΥΗ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ ΔΙΑΛΥΜΑΤΑ

B.2.1 ΟΡΓΑΝΑ

- **Απαγωγός εστία**, από Ηλία Ατματζίδη/Κατασκευαστική, με απαγωγή αέρα, ατμών κλπ. προς το εξωτερικό περιβάλλον. Μέσα σε αυτήν έγιναν όλες οι παρασκευές διαλυμάτων από πτητικές/βλαβερές ουσίες, τηρώντας όλους τους κανόνες ορθής και ασφαλούς αναλυτικής πρακτικής.
- **Φασματοφωτόμετρο ορατού/υπεριώδους**, εταιρίας Shimadzu, Ιαπωνίας, τύπου UV2501. **Σφαίρα ολοκλήρωσης**, ως παρελκόμενο του φασματοφωτομέτρου, από τον προμηθευτή του οργάνου για την μέτρηση πυκνών δειγμάτων, και ανέπαφων βιολογικών ιστών (φύλλων από φυτά και πετάλων από άνθη).
- **Ηλεκτρονικός υπολογιστής**, με εγκατεστημένο λογισμικό UVPC της εταιρίας Shimadzu σε περιβάλλον Windows 3.5, για τις μετρήσεις και αναλύσεις.
- **Λήψη φασμάτων απορρόφησης** Αρχικά έγινε μηδενισμός του φασματοφωτόμετρου, με τοποθέτηση 2 τυφλά διαλύματα διαλύτη (συνήθως οξυοξυμενής μεθανόλης) και στη συνέχεια τοποθετήθηκε το γνωστό μας εκχύλισμα λουνάρια σε κυψελίδα χαλαζία ή γυαλιού για λήψη φάσματος στην περιοχή μήκους κύματος που θέλουμε (ορατό 800-400 nm και υπεριώδες 400-240 nm). Επιπλέον πάρθηκαν φάσματα από ανέπαφα πέταλα διάφορων ανθέων μπλέ χρώματος καθώς και εκχυλίσματα αυτών.
- **Φθορισμόμετρο** εταιρίας Cary, τύπου Eclipse, συνδεδεμένο με ηλεκτρονικό υπολογιστή.
- **Λήψη φασμάτων φθορισμού** αφού τοποθετηθεί μια κυψελίδα των 10 mm με οξυοξυμενή μεθανόλη παίρνουμε μια ενδεικτική τιμή τυφλού και στη συνέχεια τοποθετώ το δείγμα μου και παίρνω μετρήσεις
- **Ηλεκτρονικός ζυγός ακριβείας** της εταιρίας Mettler.

- Ξηραντήρας, εργαστηριακού τύπου.

B.2.2 ΣΚΕΥΗ

- Γουδί λειοτρίβισης και γουδοχέρι από πορσελάνη για εργαστηριακή χρήση
- Λαβίδα
- Κυψελίδες φασματοφωτομέτρου 1 cm, 1 mm, από γυαλί και από χαλαζία (για μετρήσεις στο υπεριώδες φώς), Hellma (Plainview, NY, ΗΠΑ)
- Κυψελίδα φθορισμομέτρου, 1 cm, διάφανη από όλες τις πλευρές, Hellma (Plainview, NY, ΗΠΑ)
- Ογκομετρική φιάλη 100 mL
- Δοκιμαστικός σωλήνας 100 mL
- Υδροβολέας
- Ποτήρι ζέσεως 100 mL
- Κοπίδι

B.2.3 ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ

- *Μεθανόλη*, ποιότητας για χημική ανάλυση, εταιρίας Merck.
- *HCl*, πυκνό διάλυμα εμπορίου, ποιότητας για χημική ανάλυση
- *NaOH (καυστικό νάτριο)*, ποιότητας για χημική ανάλυση σε κόκκους

B.2.4 ΔΙΑΛΥΜΑΤΑ

- *Οξονισμένη μεθανόλη* Σε απαγωγό εστία σε ογκομετρική φιάλη των 100 mL,

προσθέτουμε 90 mL μεθανόλης (CH_3OH) και με ένα σιφόνιο προσθέτουμε 100 μL πυκνού υδροχλωρικού οξέος HCl , και στη συνέχεια πληρώνουμε με μεθανόλη μέχρι τη χαραγή των 100 mL.

- **NaOH (καυστικό νάτριο)** Θέλουμε να παρασκευάσουμε διάλυμα 0,1275 N NaOH . Επομένως, ζυγίζουμε 5,25 g NaOH και στην απαγωγό εστία τα τοποθετούμε μέσα σε ογκομετρική φιάλη του 1 λίτρου, όπου έχουμε ήδη προσθέσει 900 mL, έπειτα προσθέτουμε αργά απιοντισμένο νερό μέχρι τη χαραγή και αναδεύουμε με μικρό μαγνήτη στον αναδευτήρα μέχρι να αποκτήσουμε ομοιογενές διάλυμα.
 - **Διάλυμα 0,1 M EDTA σε καυστικό νάτριο** Ζυγίζουμε 3,72 g από $\text{EDTA-Na}_2\text{-(H}_2\text{O)}_2$ και τα προσθέτουμε στην απαγωγό εστία σε πλαστικό δοχείο ζέσης που περιέχει 90 mL διαλύματος 0,1275 N NaOH . Μεταφέρουμε σε πλαστικό ογκομετρικό κύλινδρο και συμπληρώνουμε στα 100 mL με διάλυμα βάσης.
 - **Διάλυμα Αιθανόλης 70%** για την παρασκευή του διαλύματος προσθέτουμε 70 mL καθαρής αιθανόλης σε ογκομετρικό κύλινδρο 100 mL και συμπληρώνουμε με απιοντισμένο νερό, H_2O , μέχρι να πληρωθούν τα 100 mL.
- Κιτρικό οξύ** Για την παρασκευή 0,1 M κιτρικού οξέος ζυγίζουμε 2,10 g κιτρικό οξύ και το ρίχνουμε σε γυάλινη κωνική φιάλη όπου υπάρχουν 100 mL H_2O και ανακατεύουμε με αναδευτήρα.

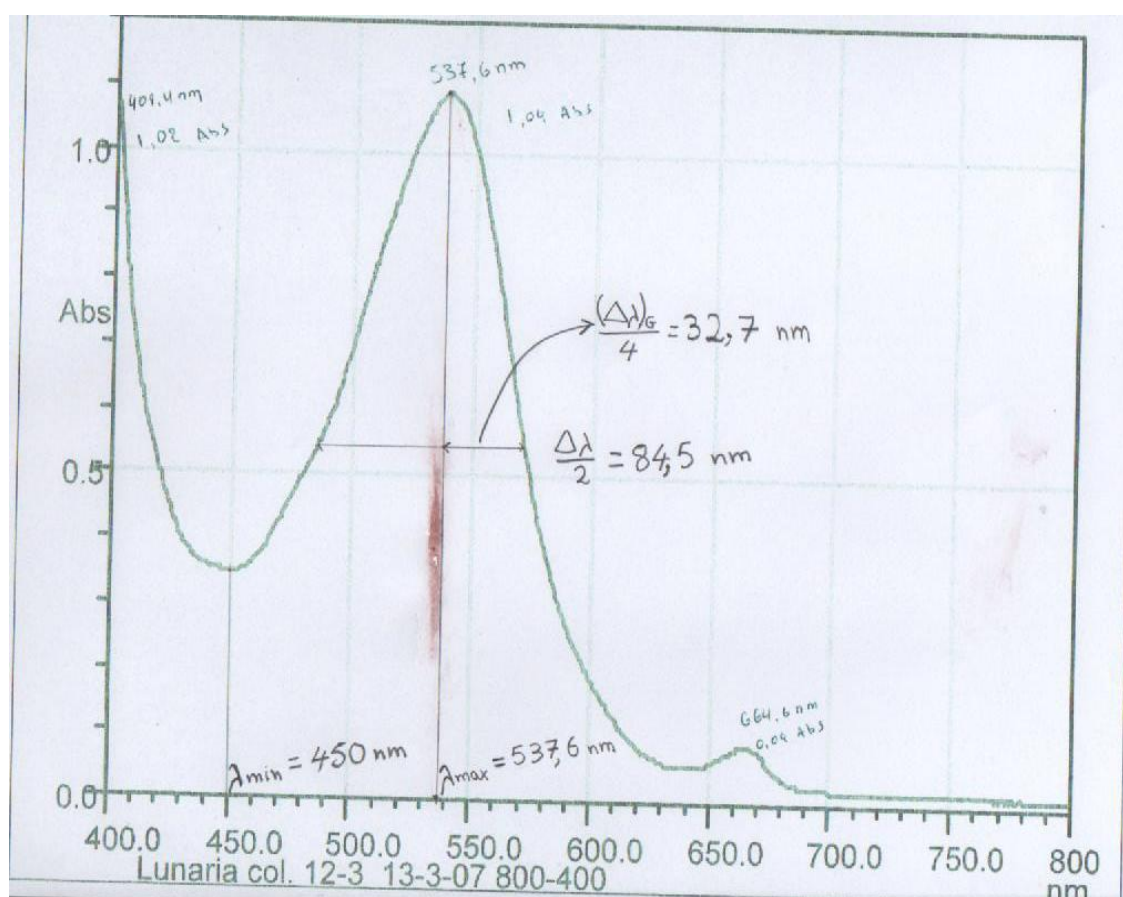
Γ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Γ1. Φάσματα απορρόφησης εκχυλισμένων χρωστικών από άνθη Lunaria ann.

Από την εκχύλιση στις 13/03/2007 (συλλογή στις 12/03/2007) χρησιμοποιώντας 1,592 g πετάλων ανθέων και εκχυλίζοντάς τα σε 15 mL οξυοισμένης μεθανόλης μας προκύπτει ένα διαυγές διάλυμα σε κόκκινο-ελαφρώς πορφυρό χρώμα. Το φάσμα απορρόφησης στο ορατό φαίνεται στο Φάσμα 1. Καταγράφεται μια μεγάλη σχεδόν κωδωνοειδής (Γκαουσιανή, Gaussian) καμπύλη απορρόφησης με μέγιστο (λ_{\max}) στα 537,6 nm, και πλάτος ημι-ζώνης απορρόφησης ($\Delta\lambda/2$) ίσο με 84,5 nm. Επίσης, υπάρχει και μια πολύ μικρή καμπύλη στο ερυθρό μέρος του φάσματος ($\lambda_{\max} = 664,6$ nm, $A = 0,04$). Αντίθετα, υπάρχει ένα ελάχιστο στα 450 nm (λ_{\min}), και η απαρχή μιας πολύ μεγάλης κορυφής απορρόφησης στο υπεριώδες ($\lambda_{\max} < 300$ nm, δεν εμφανίζονται τα δεδομένα), η οποία εξερευνήθηκε από φοιτητές σε μεταγενέστερες πτυχιακές (Στεφανίδη, Μπορμπότσιαλου, Μπάδα, πτυχιακή, 2016). Εξ αιτίας αυτής της πολύ έντονης απορρόφησης στο υπεριώδες μέρος του φάσματος, η καμπύλη απορρόφησης των εκχυλισμένων χρωστικών στο ορατό είναι ασύμμετρη, με το δεξιό της σκέλος να είναι σχεδόν κωδωνοειδές $(\Delta\lambda)_G/4 = 32,7$ nm (ο δείκτης G υποδηλώνει το Γκαουσιανό μισό της καμπύλης απορρόφησης). Συνεπώς, αν ολόκληρη η καμπύλη απορρόφησης ήταν κωδωνοειδής θα έπρεπε η τιμή $\Delta\lambda/2$ να είναι πολύ κοντά στο διπλάσιο της $(\Delta\lambda)_G/4$, δηλαδή $2 \cdot 32,7$ nm = 65,4 nm, σχεδόν κατά 23,6 % μικρότερη της παρατηρούμενης.

Η εμφάνιση στο ορατό μιας καμπύλης απορρόφησης με μία κορυφή και σχεδόν Γκαουσιανή μορφή, με καθόλου «ώμους» ή μικρότερες κορυφές στις δύο πλευρές της, υποδηλώνει την ύπαρξη στο εκχύλισμα είτε μιας ουσίας που απορροφά, είτε δύο ουσίες με χημικώς πολύ παρόμοια δομή οι οποίες δεν αλληλεπιδρούν και έχουν φάσματα απορρόφησης τα οποία σχεδόν επικαλύπτονται. Ο συγκριτικά μεγάλος όγκος διαλύτη στο εκχύλισμα αυτό μας εξασφαλίζει ότι δεν έχουμε αλληλεπίδραση χρωστικών (Γεωργάνου και συν. (2009)· Δρακονταειδή και συν. (2009)). Αντίθετα, η εκχύλιση σε μικρό όγκο διαλύτη διασφαλίζει την

αλληλεπίδραση μεταξύ των μορίων χρωστικών ουσιών (ίδιων ή διαφορετικών μεταξύ των), η οποία αλληλεπίδραση εμφανίζεται στο αντίστοιχο φάσμα απορρόφησης με μία ή και περισσότερες διαφοροποιήσεις: μεγάλη διαφορά στην εμφάνιση της καμπύλης απορρόφησης (π.χ. ως να αποτελείται από δύο ή περισσότερες καμπύλες ίδιου ή διάφορου ύψους), μεγάλη διαφορά στο ϵ , τον συντελεστή γραμμομοριακής απόσβεσης, σε σχέση με το πολύ αραιό εκχύλισμα όπου δεν υπάρχουν αλληλεπιδράσεις μεταξύ μορίων χρωστικών. Στα επόμενα φάσματα θα αναλύσουμε αυτά τα φαινόμενα κατά περίπτωση, όπως και όποτε παρουσιάζονται.



Φάσμα 1. Φάσμα απορρόφησης εκχυλίσματος *Lunaria ann* (συλλογή 12/03, εκχύλιση 13/03/2007) σε οξυοισμένη μεθανόλη, στο ορατό 800 – 400 nm.

Γ2. Πρώτη σειρά αραιώσεων εκχυλισμάτων *Lunaria ann.* σε οξυνισμένη μεθανόλη (συλλογή-εκχύλιση 28/03/2007)

Από τη συλλογή ανθέων στις 28/3 και εκχύλιση την ίδια ημέρα έγιναν διαδοχικές αραιώσεις και καταγράφηκαν τα αντίστοιχα φάσματα. Περιληπτικά, τα αποτελέσματα φαίνονται στον Πίνακα 1:

Πίνακας Γ1: φασματοσκοπικά δεδομένα από διαδοχικές αραιώσεις εκχυλίσματος *Lunaria ann.*, 28/03/2007, 1^η σειρά

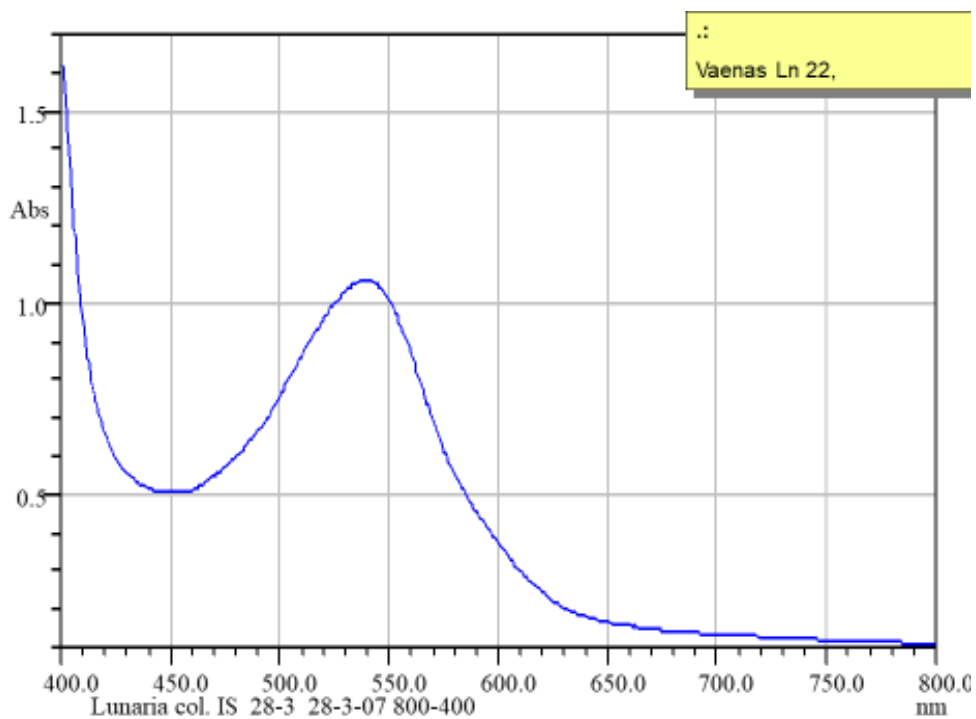
Αριθμός Φάσματος	Αραιώση	Αραιώση ως κλάσμα αρχικής συγκέντρωσης	$A_{\text{μεγ}}$ (530)	$\lambda_{\text{μεγ}}$, nm*	Εύρος ημι-ζώνης καμπύλης απορρόφησης $\Delta\lambda/2$, nm
Ln 22	1	1	0,97	540*	101
Ln 30	1:20	0,05	1,77	532	71
Ln 27	1:40	0,025	0,79	531	70
Ln 23	1:80	0,0125	0,86	530	70
Ln 29**	1:80	0,0125	0,56	530	70
Ln 24	1:160	0,00625	0,26	530	69
Ln 25	1:320	0,003125	0,122	530	70
Ln 26	1:640	0,001563	0,062	530	69

*Το μη αραιωμένο δείγμα έχει μέγιστο απορρόφησης στα 540 nm, ένδειξη της παρουσίας τουλάχιστον δύο χημικών ουσιών, ή αλληλεπίδρασης ουσιών. Επόμενες αραιώσεις δείχνουν μικρή απόκλιση από το μέγιστο των 530 nm, ανάλογα με την αραιώση.

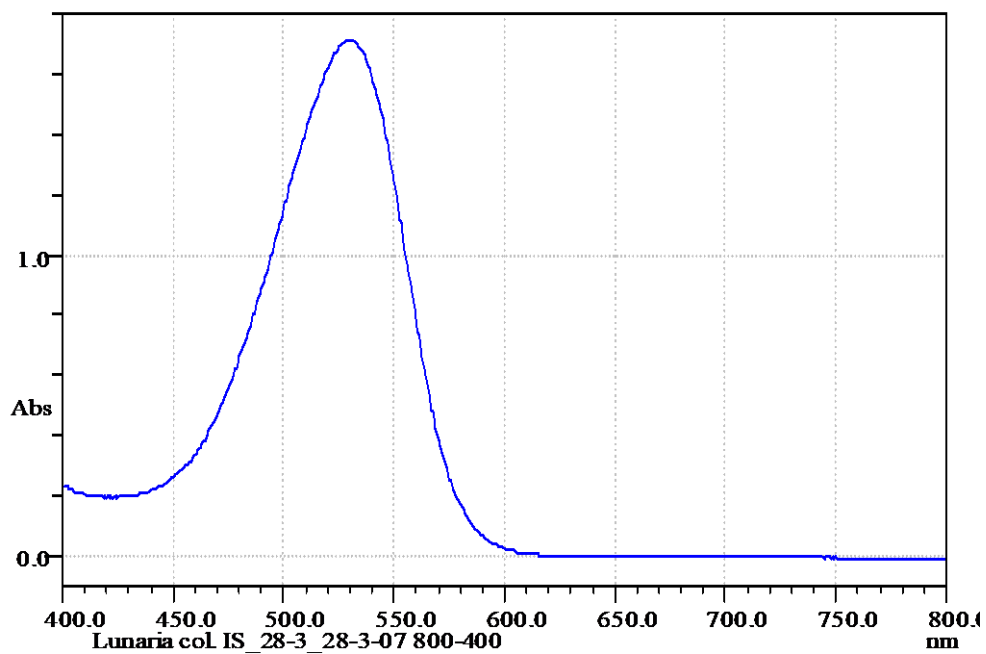
**Επανάληψη του δείγματος 23, βλέπε και Σχήμα 1.

Ακολουθεί μια σύντομη παρουσίαση των κυριότερων φασμάτων, και θα ακολουθήσουν ορισμένες γραφικές παραστάσεις και κάποιοι συναφείς υπολογισμοί.

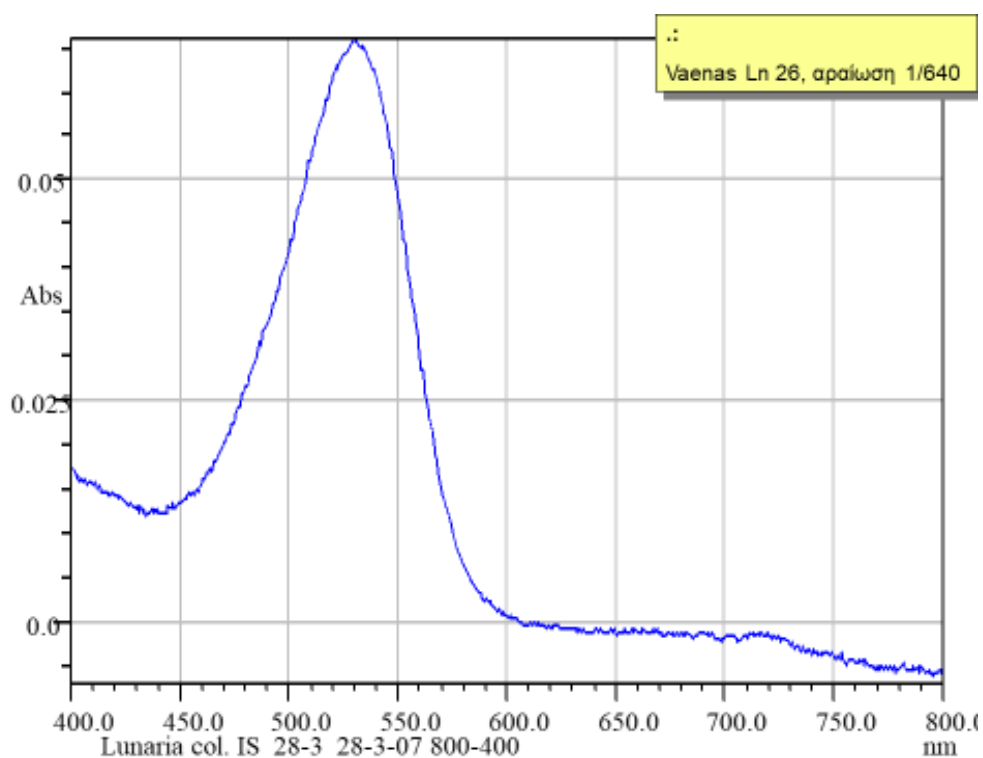
Το πρώτο φάσμα (Φάσμα 2) δείχνει μια σχετικά πλατιά κορυφή με μέγιστο στα 540 nm, $\Delta\lambda/2 = 101$ nm. Στα φάσματα των διαδοχικών αραιώσεων 1:20, 1:40, 1:80, 1:160, 1:320 και 1:640 του εκχυλίσματος διαπιστώνουμε διάφορες μεταβολές της απορροφητικότητας μέχρι να ακολουθηθεί ο νόμος των Lambert-Beer, $A = \varepsilon \cdot c \cdot l$, από την αραιώση 1/80 και μετέπειτα. Το μέγιστο μήκος κύματος μετατοπίζεται σταδιακά από 540 nm, σε 532 nm (1: 20), 531 nm (1:40) και τελικά 530 nm για όλες τις υπόλοιπες αραιώσεις. Αντίστοιχα, η τιμή του πλάτους ημιζώνης απορρόφησης, $\Delta\lambda/2$, αρχίζει από 101 nm (μη αραιωμένο δείγμα), γίνεται 71 nm (1:20) και 70 nm για τις υπόλοιπες αραιώσεις, εκτός από τις 1:160 και 1:640 που είναι στα 69 nm. Όλες αυτές οι παρατηρήσεις οδηγούν στο συμπέρασμα ότι στο μη αραιωμένο δείγμα και στις πρώτες αραιώσεις (όπου μπορούμε να θεωρήσουμε ότι η αλληλεπίδραση μεταξύ των χρωμοφόρων ουσιών είναι υπαρκτή) έχουμε άλλο τύπο φάσματος με $540 > \lambda_{\text{μεγ}} > 530$ nm και $102 > \Delta\lambda/2 > 70$ nm. Ενώ από την αραιώση σε 1:80 και μετά (που ακολουθείται ο νόμος των Lambert-Beer) η τιμή του $\lambda_{\text{μεγ}}$ ουσιαστικά παραμένει 530 nm, και η τιμή του $\Delta\lambda/2 = 70$ nm. Επί πλέον, βλέπουμε μια σταδιακή μετατόπιση του $\lambda_{\text{μεγ}}$ από 540 στα 530 nm, και της τιμής του $\Delta\lambda/2$ από 101 στα 70 nm. Παρακάτω παρουσιάζονται ενδεικτικά, εκτός από το μη αραιωμένο (Φάσμα 2) οι αραιώσεις 1/20, 1/80 και 1/640 (Φάσματα 3, και 4 5, αντίστοιχα).



Φάσμα 2. Φάσμα αρ. 22 απορρόφησης στο ορατό, εκχυλίσματος *Lunaria ann.* σε οξυνισμένη μεθανόλη

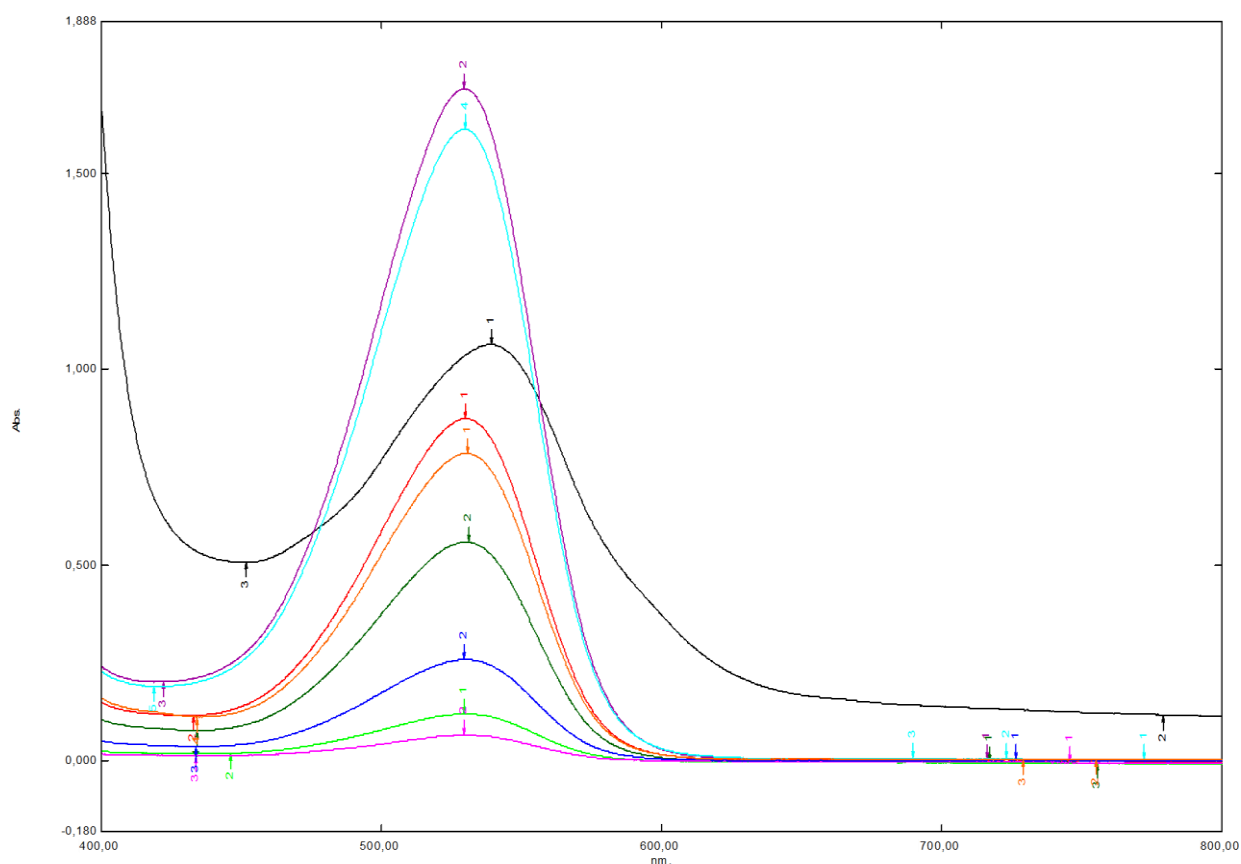


Φάσμα 3. Φάσμα αρ. 30 απορρόφησης στο ορατό, εκχυλίσματος *Lunaria ann.* σε οξυνισμένη μεθανόλη, αραιωμένου κατά 1/20 στον ίδιο διαλύτη.



Φάσμα 4. Φάσμα αρ. 26 απορρόφησης στο ορατό, εκχυλίσματος *Lunaria ann.* σε οξυνισμένη μεθανόλη, αραιωμένου κατά 1/640 στον ίδιο διαλύτη.

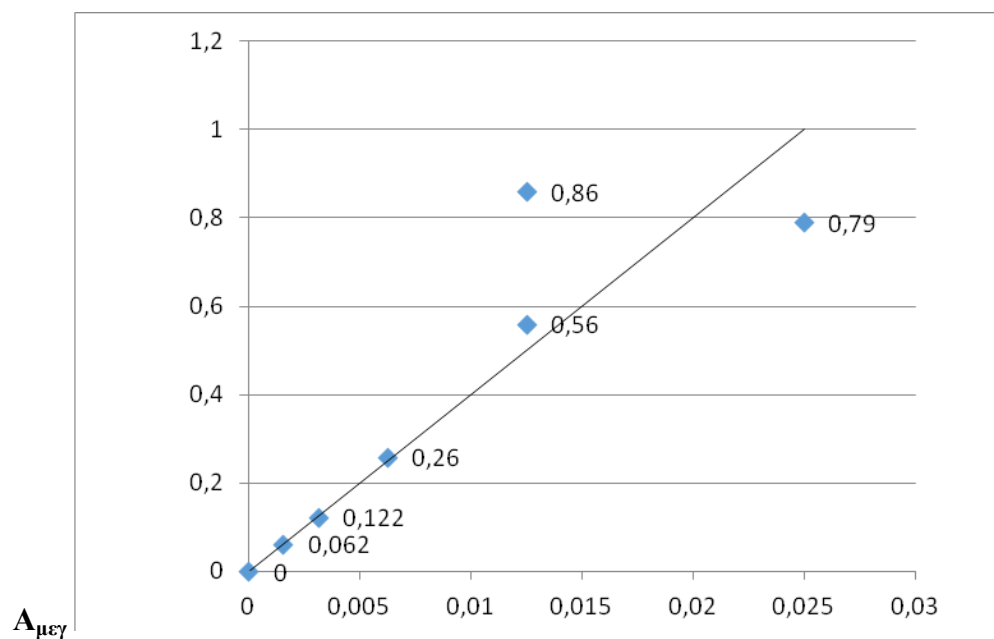
Είναι εντυπωσιακό ότι ακόμη και σε τόσο μεγάλη αραιώση (1/640) τα φασματοσκοπικά χαρακτηριστικά του αραιωμένου δείγματος διατηρούνται (Πίνακας Γ1, Φάσμα 4), με την κωδωνοειδή καμπύλη απορρόφησης να έχει το ίδιο $\lambda_{\text{μεγ}}$ και ίδια τιμή $\Delta\lambda/2$. Η ακρίβεια και η σταθερότητα του οργάνου είναι τέτοιες που επιτρέπουν αραιώσεις για τουλάχιστον άλλες δύο φορές.



Φάσμα 5. Σύνολο φασμάτων απορρόφησης στο ορατό, Ln22-Ln30, εκχυλίσματος *Lunaria ann.* σε οξυινισμένη μεθανόλη, με όλες τις αραιώσεις στον ίδιο διαλύτη, από εκχύλισμα Πίνακα Γ1 (28/03/2007). Κώδικας χρωμάτων: μη αραιωμένο (Ln22), μαύρο· 1/20 (Ln30), μωβ· 1/40 (Ln27) πορτοκαλί· 1/80 (Ln23), κόκκινο· 1/80 (Ln29) βαθύ πράσινο· 1/160 (Ln24), μπλε· 1/320 (Ln25) ανοιχτό πράσινο 1/640 (Ln26), φούξια. Το αναραίωτο δείγμα, λόγω σκέδασης φωτός, είναι μετατοπισμένο προς τα πάνω. Το φάσμα με τυρκουάζ χρώμα είναι το Ln28, το οποίο και δεν αξιολογήθηκε.

Το φάσμα 5, αποτελεί το σύνολο των φασμάτων του μη αραιωμένου εκχυλίσματος και των αραιώσεών του, από την εκχύλιση στις 28/3/2007 (Πίνακας Γ1). Είναι εντυπωσιακή η μετατόπιση του μη αραιωμένου εκχυλίσματος (μαύρο) από κορυφή στα 540 nm σε κορυφές των 530 nm, από την αραιώση 1/20 και μετά (Πίνακας Γ1). Διαπιστώνεται επίσης, η συνεχής μείωση του $\Delta\lambda/2$ μέχρι την οριακή τιμή των 69-70 nm. Η Τιμή του $\lambda_{ελαχ}$ ποικίλλει από 450 nm στο μη αραιωμένο δείγμα σε μικρότερες τιμές στις επόμενες αραιώσεις οι οποίες όμως αυξάνουν στις πολύ μεγάλες αραιώσεις (Φάσμα 5).

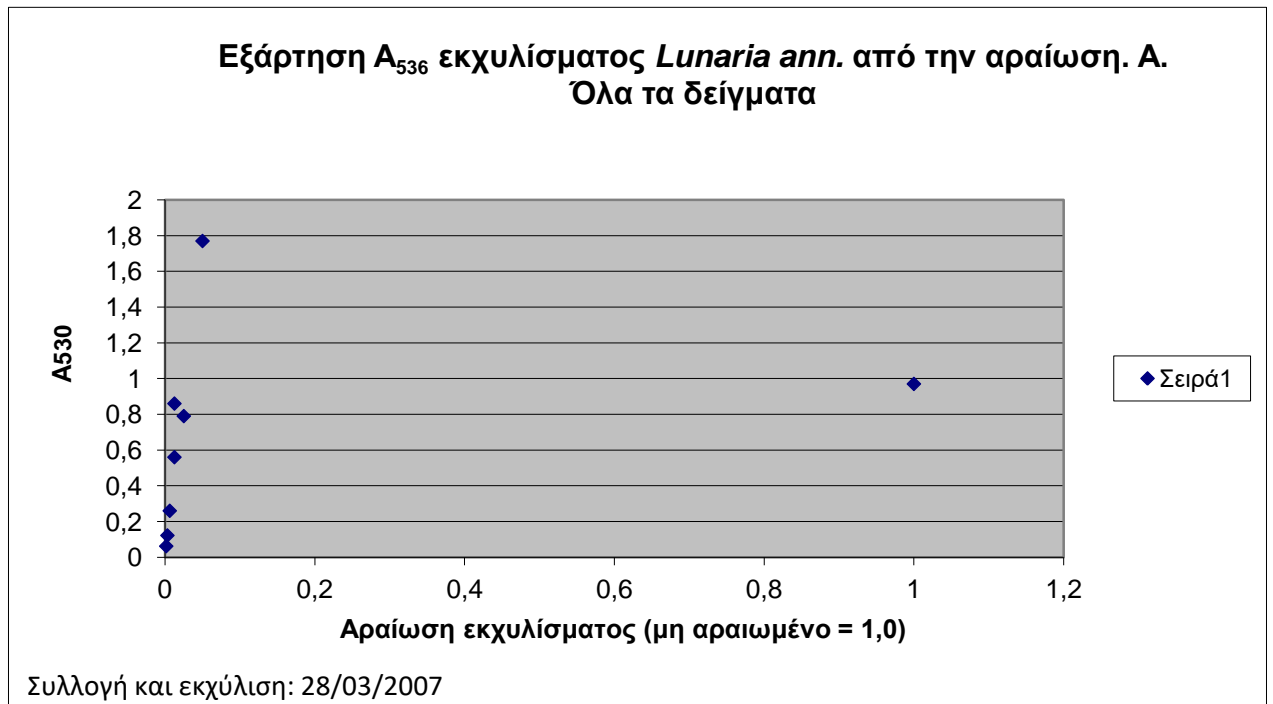
Έχουμε επεξεργαστεί τα δεδομένα αυτά σε δύο γραφικές παραστάσεις (Σχήματα 1 και 2) τόσο για τη περιοχή υπακοής στον νόμο Lambert-Beer όσο και για την περιοχή συγκεντρώσεων όπου δεν ακολουθείται αυτός ο νόμος.



Αραίωση c , ως κλάσμα της αρχικής συγκέντρωσης

Σχήμα 1: Γραφική παράσταση δεδομένων του Πίνακα 1 από αραίωση 1/80 έως 1/640. Τα δεδομένα του φάσματος Ln 23 ($A = 0,86$) είναι εκτός του νόμου Lambert-Beer.

Προχωρούμε σε γραφική παράσταση όλων των δεδομένων και διαπιστώνουμε πόσο μεγάλη είναι η απόκλιση από την απορρόφηση του αρχικού δείγματος (Σχήμα 2).



Σχήμα 2. Γραφική παράσταση όλων των δεδομένων του Πίνακα 1

Ιδιαίτερα το τελευταίο σχήμα δείχνει πόσο μεγάλη είναι η απόκλιση των μικρών αραιώσεων από τον Νόμο Lambert-Beer. Για να έχουμε ακριβέστερη εκτίμηση της καταστολής της απορροφητικότητας σε μη αραιωμένο δείγμα και σε μικρές αραιώσεις, σε σχέση με τις μεγάλες αραιώσεις, τραβάμε την καλύτερη ευθεία γραμμή από τις πέντε πρώτες τιμές, δηλ. αυτές των μεγαλύτερων αραιώσεων, όπου ακολουθείται ο νόμος των Lambert-Beer, στο Σχήμα 1. Η γραμμή περνά, όπως πρέπει, από την αρχή των αξόνων, και η εξίσωσή της είναι

$$A_{530} = (1/0,025) \cdot c = 40,00 \cdot c$$

Συνεπώς, αν $c = 1,0$, δηλ. η απορροφητικότητα στο αρχικό και μη αραιωμένο δείγμα είναι $A_{530} = 40,00$, ενώ στη πραγματικότητα μετρήθηκε να είναι 0,97 (Πίνακας 1).

Οπότε η καταστολή της απορρόφησης είναι ο λόγος της προσδοκώμενης προς την πραγματική απορρόφηση $= 40,00/0,97 = 41,24$ φορές, ένας πραγματικά μεγάλος λόγος καταστολής

Γ3. Επαναληπτική σειρά αραιώσεων εκχυλισμάτων *Lunaria ann.* σε οξυνισμένη μεθανόλη (συλλογή-εκχύλιση 28/03/2007)

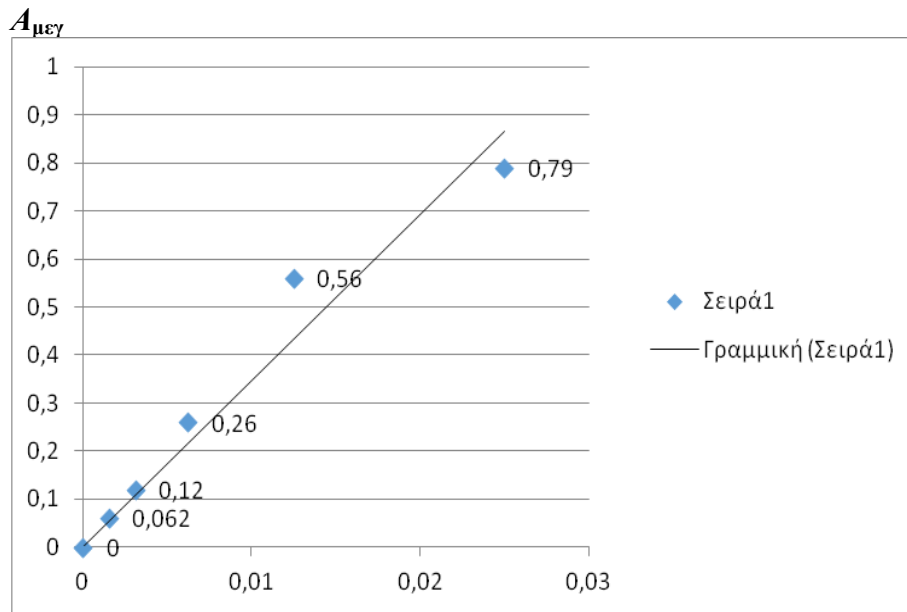
Τα δεδομένα από τη δεύτερη σειρά αραιώσεων με το ίδιο εκχύλισμα από πέταλα *Lunaria*, φαίνονται στον Πίνακα 2.

Πίνακας Γ2: φασματοσκοπικά δεδομένα από διαδοχικές αραιώσεις εκχυλίσματος *Lunaria ann.*, 28/03/2007, 2^η σειρά

Αριθμός Φάσματος	Αραίωση	Αραίωση ως κλάσμα αρχικής συγκέντρωσης	$A_{\text{μεγ}}$ (530)	$\lambda_{\text{μεγ}}$, nm*	Εύρος ημι-ζώνης καμπύλης απορρόφησης $\Delta\lambda/2$, nm
Ln 22	1	1	0,97	540*	101
Ln 35	1:40	0,025	0,79	531	70
Ln 31	1:80	0,0125	0,56	530	70
Ln 32	1:160	0,00625	0,26	530	70
Ln 33	1:320	0,003125	0,12	530	71
Ln 34	1:640	0,001563	0,062	530	70

*Το μη αραιωμένο δείγμα έχει μέγιστο απορρόφησης στα 540 nm, ένδειξη της παρουσίας τουλάχιστον δύο χημικών ουσιών, ή αλληλεπίδρασης ουσιών. Επόμενες αραιώσεις δείχνουν απόκλιση από το μέγιστο των 530 nm, ανάλογα με την αραιώση.

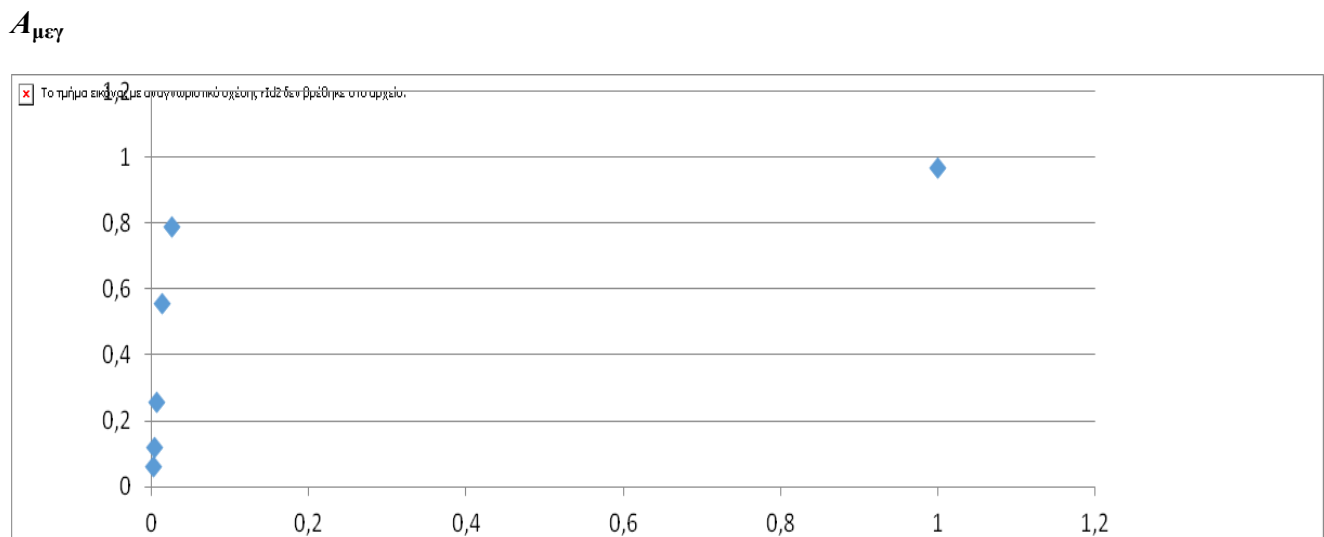
Κάνοντας τις αντίστοιχες γραφικές παραστάσεις, έχουμε για τα φάσματα 31-35, όπου ακολουθείται ο νόμος των Lambert-Beer



Αραίωση c , ως κλάσμα της αρχικής συγκέντρωσης

Σχήμα 3: Γραφική παράσταση δεδομένων του Πίνακα 2 από αραίωση 1/40 έως 1/640.

Παρατηρούμε ότι στις αραιώσεις 1/80 έως 1/640 ακολουθείται ο νόμος Lambert-Beer, ενώ υπάρχει μια μικρή απόκλιση στην συγκέντρωση 1/40.



Αραίωση c , ως κλάσμα της αρχικής συγκέντρωσης

Σχήμα 4: Γραφική παράσταση δεδομένων του Πίνακα 2 με όλες τις συγκεντρώσεις

Από το Σχήμα 4 είναι προφανές ότι έχουμε και πάλι επιβεβαίωση της μεγάλης καταστολής της απορρόφησης σε μη αραιωμένα δείγματα, κάτι που πρέπει να οφείλεται στην εγγύτητα μεταξύ των χρωμοφόρων ουσιών. Για να προκύψει η ίδια σχέση του νόμου Lambert-Beer από το Σχήμα 3, έχουμε

$A_{\text{μεγ}} = 0,83/0,02 \cdot c = 41,5 \cdot c$. Όταν $c = 1$ (μη αραιωμένο δείγμα) $A_{\text{μεγ}} = 41,5$. Όμως, η απορρόφηση του μη αραιωμένου δείγματος είναι 0,97 (φάσμα Ln22).

Συνεπώς, η καταστολή της απορροφητικότητας είναι $41,5/0,97 = 42,78$ φορές, πολύ κοντά στη τιμή του 41,24 που βρήκαμε με τα δεδομένα του Πίνακα 1, και προφανώς επιβεβαίωση της πολύ έντονης καταστολής της απορρόφησης στις μικρές αραιώσεις, και κατ'επέκταση στο ίδιο το πέταλο in-situ.

Το πείραμα επαναλήφθηκε με τελείως νέα συλλογή και εκχύλιση ανθέων στις 29/03/2007.

Γ4. Δεύτερη σειρά αραιώσεων εκχυλισμάτων *Lunaria ann.* σε οξυνισμένη μεθανόλη (συλλογή-εκχύλιση 29/03/2007)

Την επόμενη ημέρα έγινε νέα συλλογή και εκχύλιση δειγμάτων, με τις αραιώσεις του εκχυλίσματος και τα φασματοσκοπικά των χαρακτηριστικά να εμφανίζονται στον Πίνακα 3.

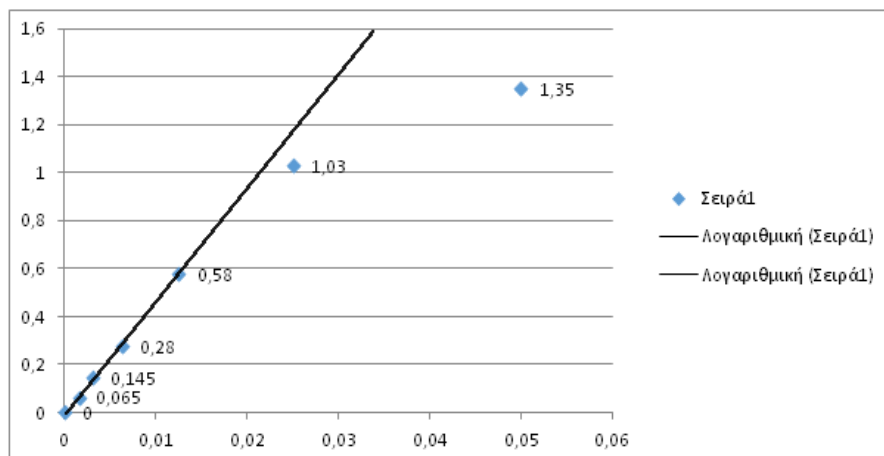
Πίνακας Γ3: φασματοσκοπικά δεδομένα από διαδοχικές αραιώσεις εκχυλίσματος *Lunaria ann.*, 29/03/2007

Αριθμός Φάσματος	Αραιώση	Αραιώση ως κλάσμα της αρχικής συγκέντρωσης	A_{530}	$\lambda_{\text{μεγ}}^*$	Εύρος ημι-ζώνης καμπύλης απορρόφησης $\Delta\lambda/2$, nm
Ln 41	1	1	0,93	538*	93,4
Ln 42	1:2	0,5	0,75	536,6*	82,5
Ln 44	1:4	0,25	0,98	536,6*	95
Ln 46/Ln 48**	1:8	0,125	3,2/4,02**	530/529	79,8/70**
Ln 45/Ln 47**	1:10	0,10	2,82/3,42**	529/528,6	74/70**
Ln 43	1:20	0,05	1,35	530	74,4
Ln 36	1:40	0,025	1,03	529,4	70,5
Ln 37	1:80	0,0125	0,58	530	70
Ln 38	1:160	0,00625	0,28	530	70
Ln 39	1:320	0,003125	0,145	530	70
Ln 40	1:640	0,001563	0,065	529,5	69

*Το μη αραιωμένο δείγμα έχει μέγιστο απορρόφησης στα 540 nm, ένδειξη της παρουσίας τουλάχιστον δύο χημικών ουσιών, ή αλληλεπίδρασης ουσιών. Επόμενες αραιώσεις δείχνουν απόκλιση από το μέγιστο των 530 nm, ανάλογα με την αραιώση.

**Επανάληψη της μέτρησης του δείγματος σε κυψελίδα του 1 mm, λόγω της πολύ μεγάλης απορροφητικότητας του αρχικού δείγματος ($A > 2,0$). Ιδιαίτερα το φάσμα Ln46 έχει πολύ πεπλατυσμένη κορυφή, χαρακτηριστικό της μεγάλης πυκνότητας του διαλύματος, σε $l = 1$ cm. Λαμβάνουμε ως πραγματικές τις δεύτερες τιμές, όπου $A < 2,0$. Οι δεύτερες τιμές απορρόφησης είναι η τιμή απορρόφησης με κυψελίδα μήκους οπτικής διαδρομής 1 mm, πολλαπλασιαζόμενης επί 10. Π.χ. στο Ln47: $0,342 \times 10 = 3,42$ και στο Ln48: $0,402 \times 10 = 4,02$. Η διαφορά από τη παρατηρούμενη απορρόφηση είναι μεγάλη, σχεδόν 25 %!!!

Κάνοντας τις αντίστοιχες γραφικές παραστάσεις, έχουμε πρώτα για τα φάσματα 43, 36-40, όπου ακολουθείται σχεδόν πάντα ο νόμος των Lambert-Beer



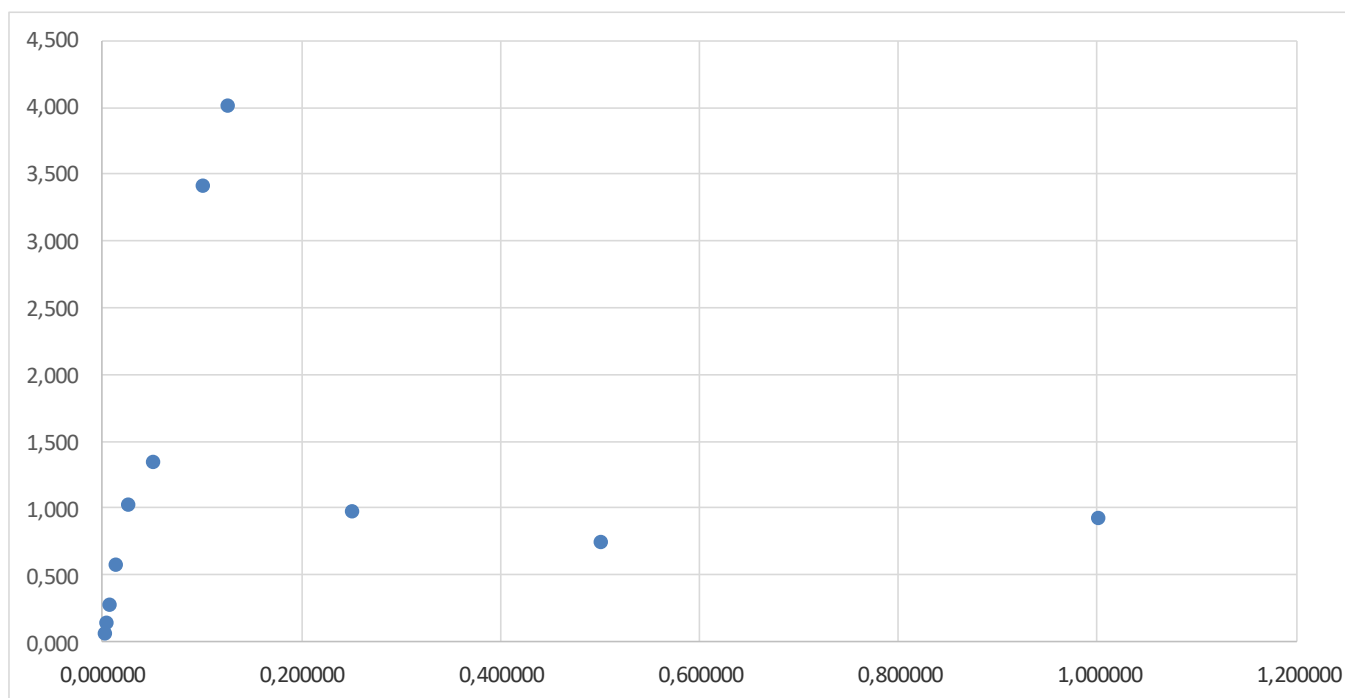
Αραίωση c , ως κλάσμα της αρχικής συγκέντρωσης

Σχήμα 5: Γραφική παράσταση δεδομένων του Πίνακα 3 από αραίωση 1/20 έως 1/640

Ακολουθώντας την ίδια διαδικασία έχουμε για το Σχήμα 5, $A = 1,6/0,0363 \cdot c = 44,04 \cdot c$. Οπότε, όταν $c = 1$ (μη αραιωμένο δείγμα), $A = 44,04$. Όμως, η πραγματική τιμή του μη αραιωμένου δείγματος είναι 0,93 (φάσμα Ln41). Συνεπώς, ο βαθμός καταστολής της απορροφητικότητας είναι $44,04/0,93 = 47,35$. Αυτό αποτελεί μια δεύτερη επιβεβαίωση του αρχικού ευρήματος της έντονης καταστολής της απορρόφησης στις μικρές αραιώσεις σε οξυνισμένη μεθανόλη και προφανώς και στο ανέπαφο πέταλο.

Στο Σχήμα 6 φαίνεται η ανώμαλη εξάρτηση της απορροφητικότητας του εκχυλίσματος από τον βαθμό αραίωσής του.

$A_{\mu\epsilon\gamma}$

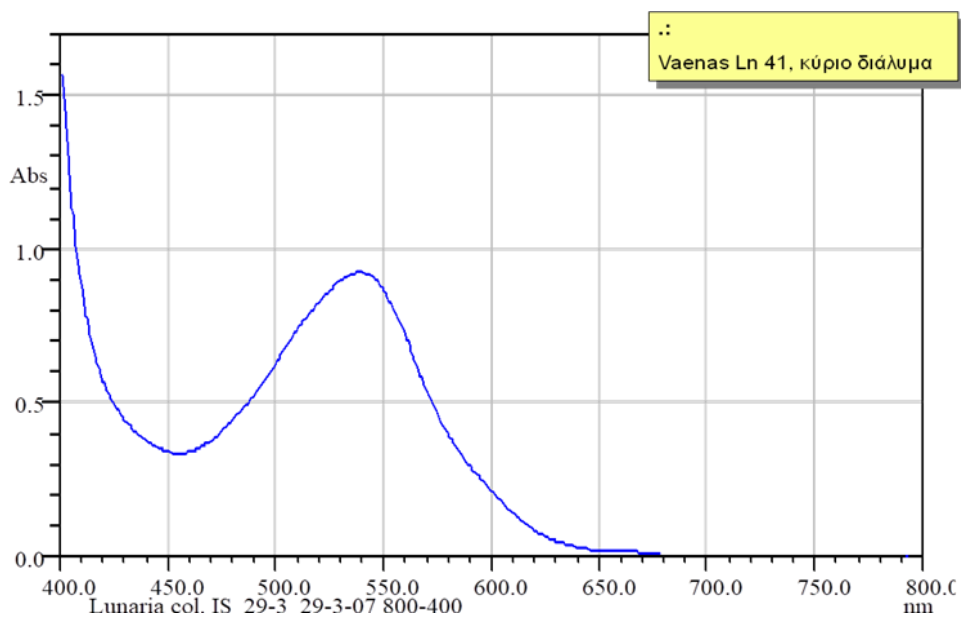


Αραίωση c , ως κλάσμα της αρχικής συγκέντρωσης

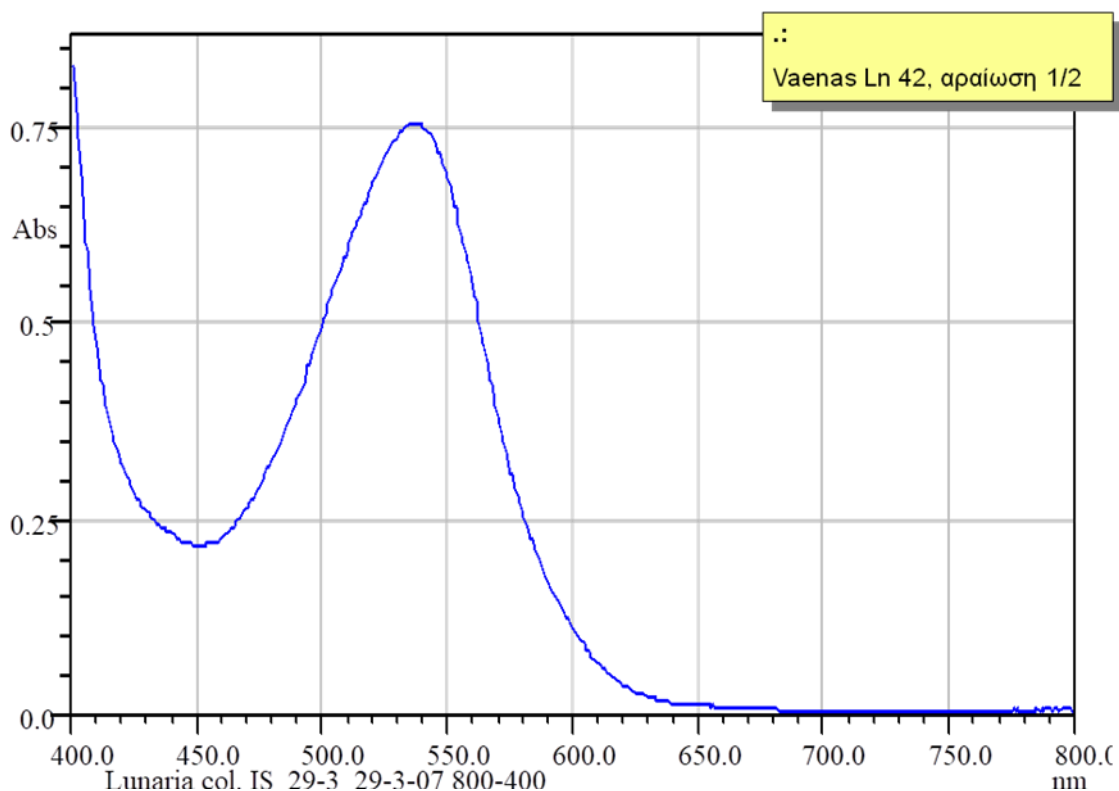
Σχήμα 6: Γραφική παράσταση όλων δεδομένων του Πίνακα 3. Το ακανόνιστο των απορροφήσεων του μεγάλου εύρους αραιώσεων καταδεικνύει πόσο σημαντική είναι η αλληλεπίδραση μεταξύ των χρωστικών των ανθέων της *Lunaria ann.*, ακόμη και σε διάλυμα οξυοισμένης μεθανόλης.

Εδώ βλέπουμε και πάλι ότι οι αραιώσεις μέχρι και το $1/20$ δεν ακολουθούν καθόλου τον νόμο των Lambert-Beer αλλά μια τελείως ανώμαλη εξάρτηση της απορροφητικότητας από την αραιώση. Αυτό πρέπει να οφείλεται στο ότι το αρχικό εκχύλισμα διατηρεί αλληλεπιδράσεις μεταξύ των χρωμοφόρων ουσιών οι οποίες αλληλεπιδράσεις έχουν ως αποτέλεσμα και την απορρόφηση σε κάπως μεγαλύτερο μήκος κύματος με αξιοσημείωτα μεγαλύτερη τιμή $\Delta\lambda/2$ (συνεπώς πιο πλατιά καμπύλη απορρόφησης).

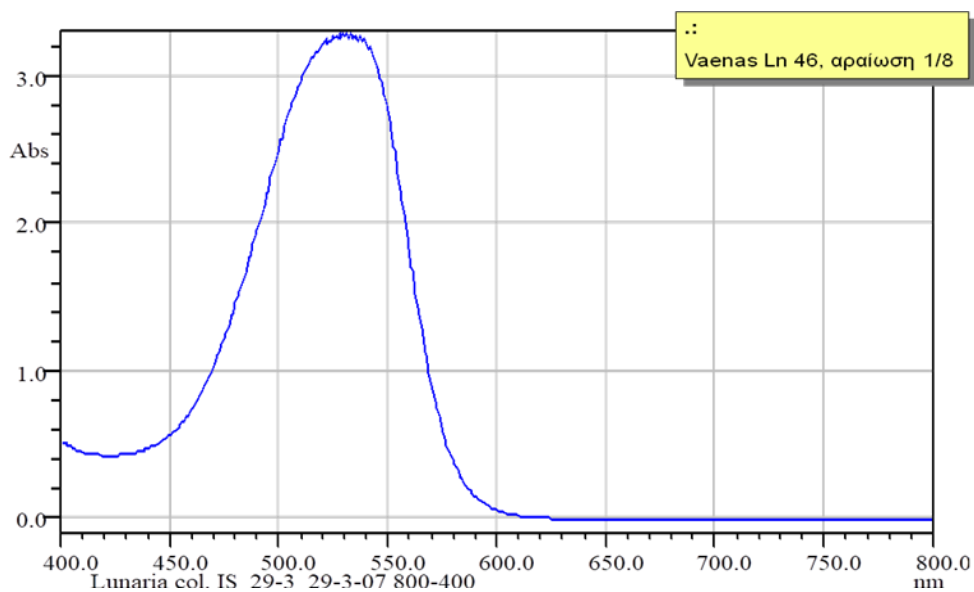
Παραθέτουμε ενδεικτικά τα φάσματα Ln41, 42, 46, 43 και 39, που αντιπροσωπεύουν τις αραιώσεις $1/1$, $1/2$, $1/8$, $1/20$, και $1/320$ αντίστοιχα, καθώς και μια συνολική απεικόνιση όλων των φασμάτων, για κατανόηση των υπολογισμών και των συμπερασμάτων μας



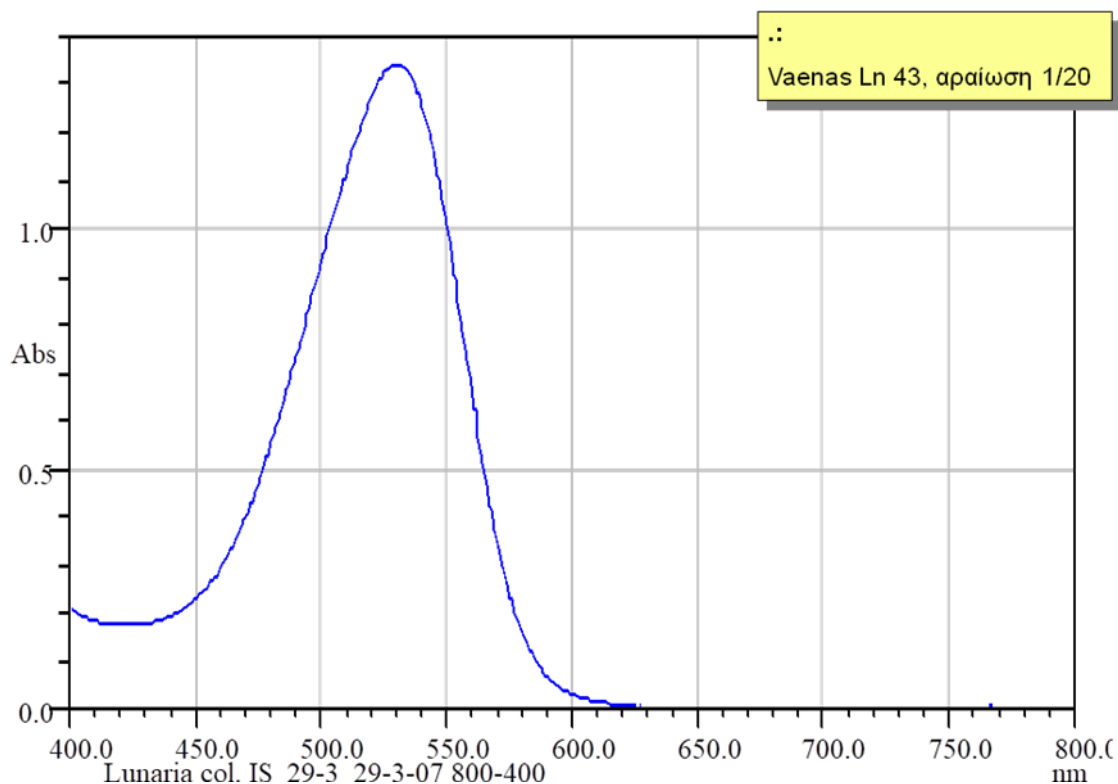
Φάσμα 6. Φάσμα αρ.41 απορρόφησης στο ορατό, εκχυλίσματος *Lunaria ann.* σε οξυνισμένη μεθανόλη, μη αραιωμένο εκχύλισμα



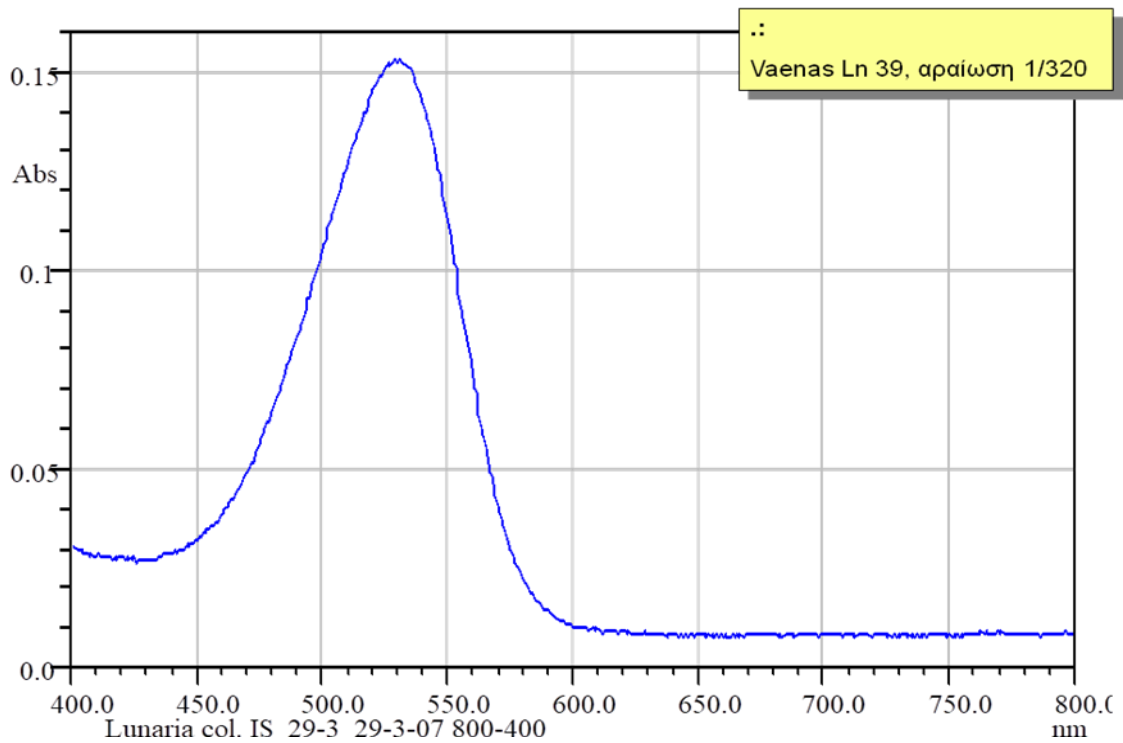
Φάσμα 7. Φάσμα αρ.42 απορρόφησης στο ορατό, εκχυλίσματος *Lunaria ann.* σε οξυνισμένη μεθανόλη, αραιωμένου κατά 1/2



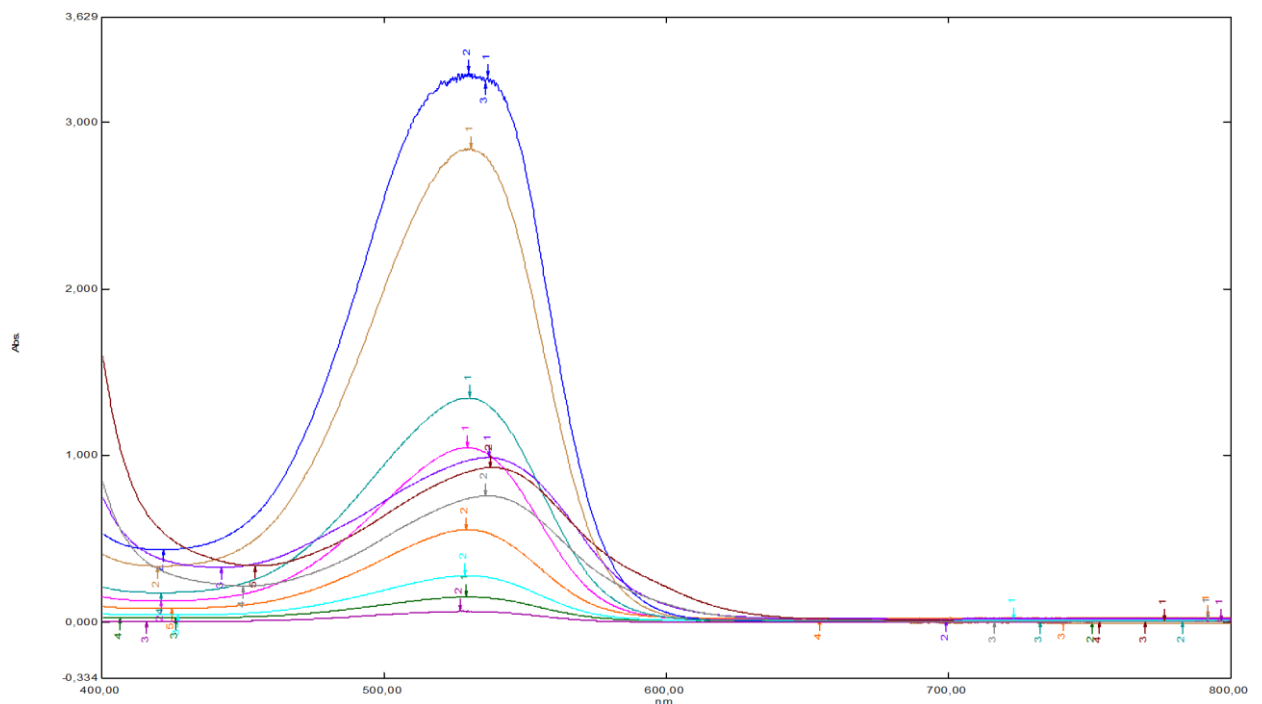
Φάσμα 8. Φάσμα αρ.46 απορρόφησης στο ορατό, εκχυλίσματος *Lunaria ann.* σε οξυνισμένη μεθανόλη, αραιωμένου 1/8. Σημειώνουμε την πεπλατυσμένη κορυφή εξ αιτίας της πολύ μεγάλης απορρόφησης ($A_{\text{μεγ}} \gg 2,0$).



Φάσμα 9. Φάσμα αρ.43 απορρόφησης στο ορατό, εκχυλίσματος *Lunaria ann.* σε οξυνισμένη μεθανόλη, αραιωμένου 1/20



Φάσμα 10. Φάσμα αρ.39 απορρόφησης στο ορατό, εκχυλίσματος *Lunaria ann.* σε οξυνισμένη μεθανόλη, αραιωμένου 1/320



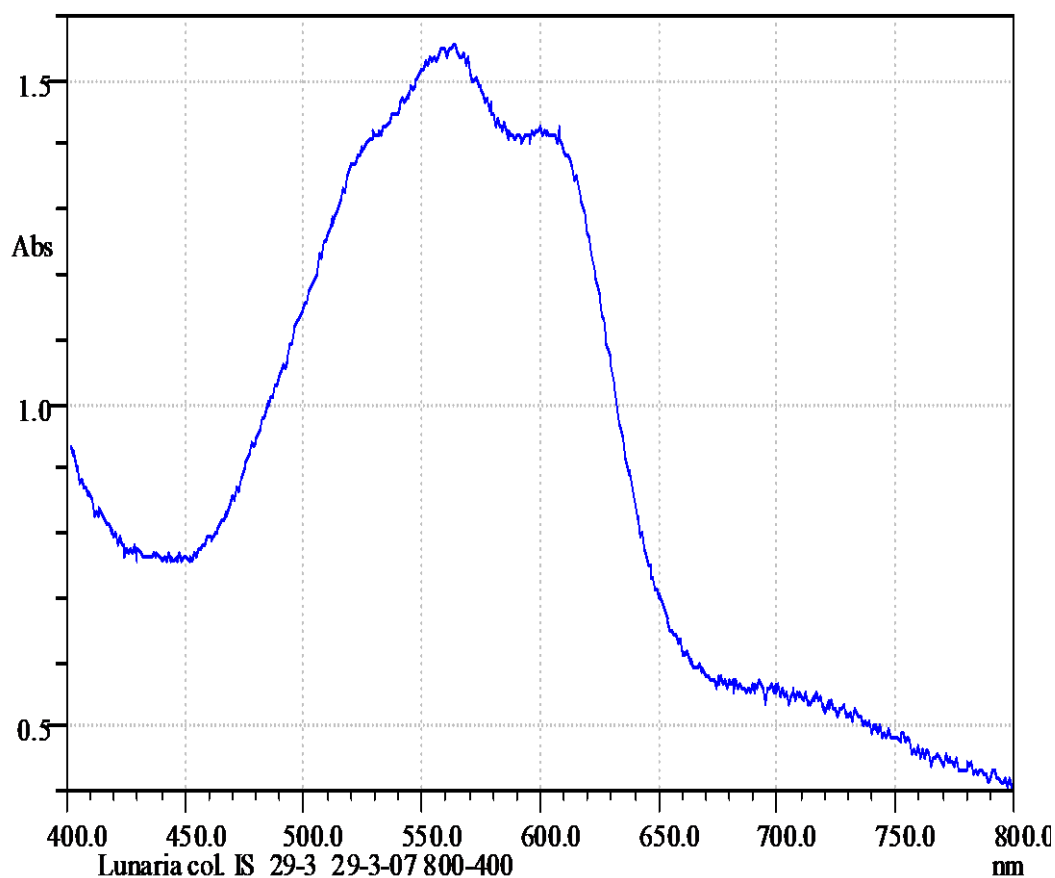
Φάσμα 11. Συνολική απεικόνιση φασμάτων απορρόφησης από εκχύλιμα Πίνακα Γ3 (29/03/2007). Κώδικας χρωμάτων: μη αραιωμένο (Ln41), μωβ· 1/2 (Ln42), γκρι· 1/4 (Ln44), καφε-κόκκινο· 1/8 (Ln46), μπλε· 1/10 (Ln45), καφέ· 1/20 (Ln43), ανοιχτό πράσινο· 1/40 (Ln36) φούξια· 1/80 (Ln37), πορτοκαλί· 1/160 (Ln38), τυρκουάζ· 1/320 (Ln39) βαθύ πράσινο· 1/640 (Ln40), βυσσινί.

Στο Φάσμα 11 εμφανίζονται όλα τα φάσματα από τον Πίνακα Γ3 (ένα αναραίωτο δείγμα και 10 διαφορετικές αραιώσεις), όπου φαίνεται με κάθε λεπτομέρεια πώς η αραιώση οδηγεί σε βαθμιαία μείωση μέχρις εξαφάνισης της αλληλεπίδρασης μεταξύ των χρωστικών. Αυτό έχει ως συνέπεια να αλλάζουν τα φασματοσκοπικά χαρακτηριστικά του κάθε αραιωμένου δείγματος. Υπ' όψιν ότι οι αραιώσεις 1/8 και 1/10 δείχνουν απορρόφηση $\gg 2,0$, οπότε και δεν θεωρούνται αξιόπιστες. Πράγματι η λήψη φασμάτων από αυτές τις αραιώσεις σε κυψελίδα μήκους οπτικής διαδρομής 1 mm έδειξαν ότι υπάρχει μείωση της απορρόφησης κατά 20-25 % («σκίαση» των χρωμοφόρων λόγω μεγάλης πυκνότητάς των στο διάλυμα, βλ. υποσημείωση Πίνακα Γ3).

Μπορούμε τώρα να προχωρήσουμε στην εξέταση φάσματος ολόκληρου πετάλου, για να διαπιστώσουμε τις διαφορές με το εκχύλισμα.

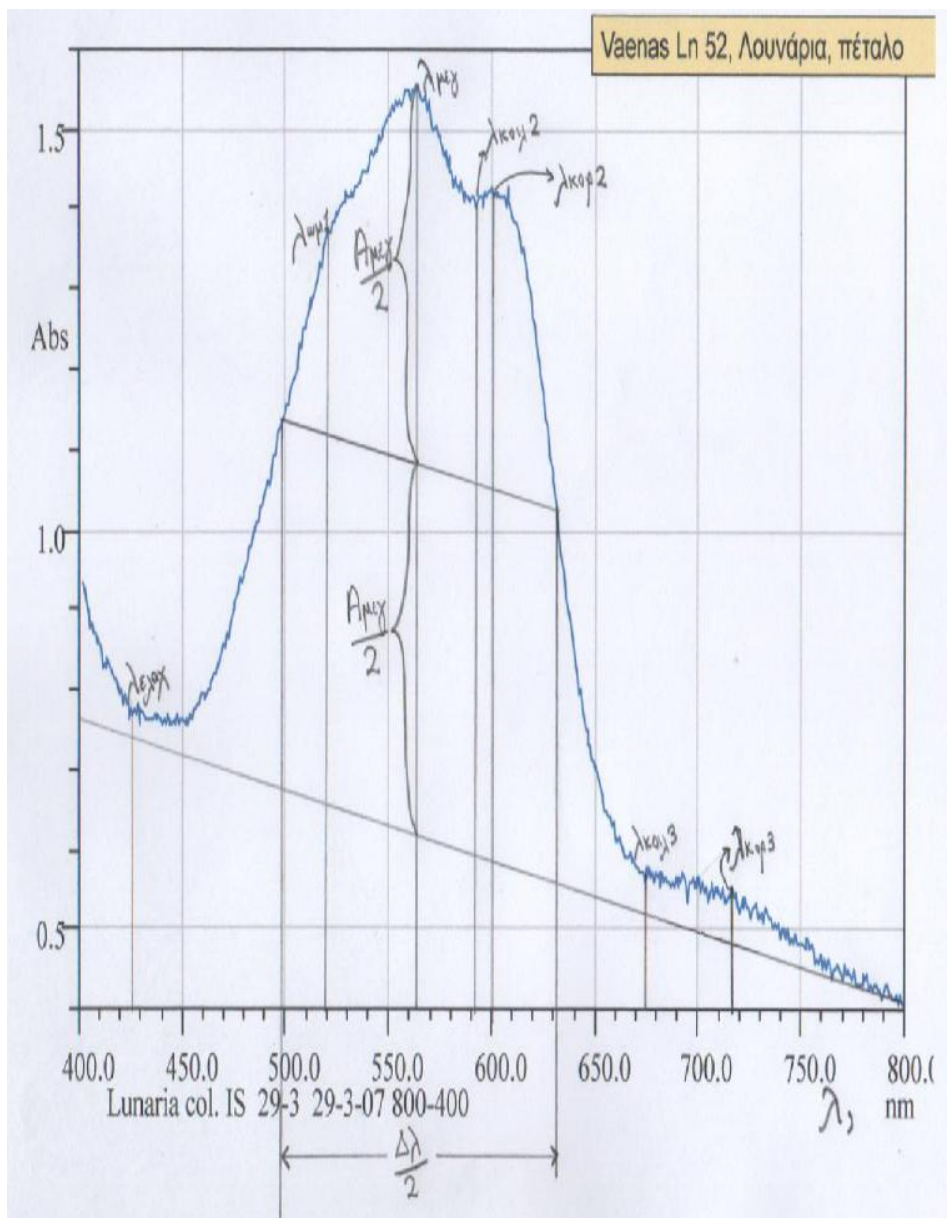
*Γ5. Φάσμα ολόκληρου πετάλου *Lunaria ann.* σε σφαίρα ολοκλήρωσης*

Για να κατανοήσουμε καλύτερα το πώς προκύπτει το πορφυροκόκκινο χρώμα των ανθέων της *Lunaria ann.* πήραμε και φάσμα ολόκληρου πετάλου μέσα στη διάταξη της σφαίρας ολοκλήρωσης που έχει το φασματοφωτόμετρο Shimadzu UV2501 (Βλ. Υλικά και μέθοδοι). Το φάσμα απορρόφησης που πήραμε είναι πλούσιο σε κορυφές και κοιλάδες και συμφωνεί γενικά με τα δημοσιευμένα φάσματα απορρόφησης ολόκληρων πετάλων πολλών ανθέων με πορφυροκόκκινο έως πορφυροκυανό χρώμα (Φάσμα 12).



Φάσμα 12. Φάσμα απορρόφησης πετάλου *Lunaria ann.*, συλλογή 29/3/2007, σε σφαίρα ολοκλήρωσης, λήψη φάσματος αυθημερόν.

Διαπιστώνουμε πρώτον, ότι σε αντίθεση με τα φάσματα των εκχυλισμάτων, υπάρχει σημαντική απορροφητικότητα στα 800 nm ($A \sim 0,4$), η οποία αυξάνει σχεδόν γραμμικά, μέχρι τα 680 nm από όπου και αρχίζει ένα φάσμα απορρόφησης του πετάλου. Αυτή η απορρόφηση 800 - 680 nm, κατά το μεγαλύτερο της μέρος, δεν είναι αληθινή απορρόφηση αλλά σκέδαση (εκτροπή, διάχυση) του φωτός, η οποία μια και εκτρέπεται εκτός του φωτοπολλαπλασιαστή που ανιχνεύει το μη απορροφώμενο φως, καταγράφεται ως απορρόφηση, ψεύτικη φυσικά. Αυτή η σκέδαση του φωτός δεν υπάρχει μόνο σε αυτά τα μήκη κύματος αλλά συνεχίζει και σε μικρότερα μήκη κύματος. Οφείλει να αφαιρεθεί από την συνολική απορρόφηση ώστε να προκύψει η πραγματική απορρόφηση φωτός από το πέταλο. Ο τρόπος με τον οποίο γίνεται αυτό φαίνεται στην παρακάτω επεξεργασία του φάσματος (Φάσμα 13).



Φάσμα 13. Φάσμα απορρόφησης πετάλου *Lunaria ann.* σε σφαίρα ολοκλήρωσης, μετά από επεξεργασία αναφορικά με τον υπολογισμό της σκέδασης του φωτός (κεκλιμένη γραμμή με μολύβι από 800 έως 400 nm), και τα μήκη κύματος για κορυφές (μεγ, κορ), κοιλάδες (κοιλ) και «ώμους» (ωμ). Συλλογή: 29/03/2007, επεξεργασία, αυθημερόν.

Φέρνουμε κάθετες γραμμές από όλες τις *πραγματικές* κορυφές (μεγ, κορ), κοιλάδες (κοιλ) και «ώμους» (ωμ) ώστε να προσδιορίσουμε τις αντίστοιχες τιμές των μηκών κύματος, λ , καθώς και των τιμών των A . Για καλύτερη κατανόηση των διαφορών στα φάσματα πετάλου και εκχυλισμάτων του, βάζουμε όλα τα χαρακτηριστικά και των δύο καταστάσεων στον Πίνακα Γ4, παρακάτω (σε κάθε πλαίσιο η άνω τιμή με έντονα γράμματα αντιστοιχεί στο πέταλο, ενώ η κάτω στο εκχύλισμα). Οι διαφορές στα φάσματα πετάλου και εκχυλίσματος είναι πολύ μεγάλες και προφανώς έχουν να

κάμουν με την διαφορετική αλληλεπίδραση (και ενδεχόμενη διάταξη) των συνιστωσών χρωστικών στο πέταλο και στο εκχύλισμά του. Κατά σύμβαση, ξεκινάμε την παράθεση των χαρακτηριστικών στους πίνακες από 400 nm και καταλήγουμε στα 800 nm. Το δε μέγιστο, πάλι κατά σύμβαση, είναι η κορυφή 1, ενώ το ελάχιστο η κοιλάδα 1. Όλα τα πέταλα των ανθέων με μπλε-πορφυρό-κόκκινο χρώμα έχουν ουσιαστικά αυτή ή μια παραπλήσια διάταξη. Τέλος, είναι προφανές ότι με αυτή την ανάλυση καταγράφεται αυτό που διαπιστώνουμε με μια ματιά: το πέταλο έχει φάσμα κάπως πολύπλοκο, σαν τρεις ή περισσότερες κωδωνοειδείς καμπύλες να προστίθενται μεταξύ τους, ενώ στα φάσματα των εκχυλισμάτων (ιδιαίτερα στις μεγάλες αραιώσεις) έχουμε μια μόνο κωδωνοειδή καμπύλη απορρόφησης. Σε πολύ μικρές αραιώσεις, είναι δυνατόν να δούμε κάποια επιπλέον χαρακτηριστικά από το φάσμα πετάλου, όπως κάποιος ώμος ή υποψία ώμου, καθώς και μεγαλύτερες τιμές $\Delta\lambda/2$.

Πίνακας Γ4. Σύγκριση φασματοσκοπικών χαρακτηριστικών **πετάλου** και **εκχυλισμάτων** του, από άνθη *Lunaria ann.*

Ελάχιστο $\lambda_{\text{ελαχ}}$	Ωμος 1 $\lambda_{\text{ωμ1}}$	Μέγιστο $\lambda_{\text{μεγ}}$	Κοιλάδα 2 $\lambda_{\text{κοιλ2}}$	Κορυφή 2 $\lambda_{\text{κορ2}}$	Κοιλάδα 3 $\lambda_{\text{κοιλ3}}$	Κορυφή 3 $\lambda_{\text{κορ3}}$	$\Delta\lambda/2$	Σκέδαση φωτός (ως $A_{800} > 0$)
426	519	563	592	600	675	717	134	0,41
455-420*	---	540-529*	---	---	---	---	101-69**	< 0,01

*Τα $\lambda_{\text{ελαχ}}$ και $\lambda_{\text{μεγ}}$ των εκχυλισμάτων κυμαίνονται από 455 και 540 nm, αντίστοιχα, στις μικρές αραιώσεις, μέχρι 420 και 529 nm, στις μεγαλύτερες αραιώσεις, όπως φαίνεται από τα αντίστοιχα φάσματα και καταγράφεται στους Πίνακες Γ1-3.

** Από τα μη αραιωμένα δείγματα μέχρι αραιώση 1/640.

Γ6. Φάσματα πετάλων ανθέων άλλων εποχιακών φυτών μπλε ή συναφούς χρώματος

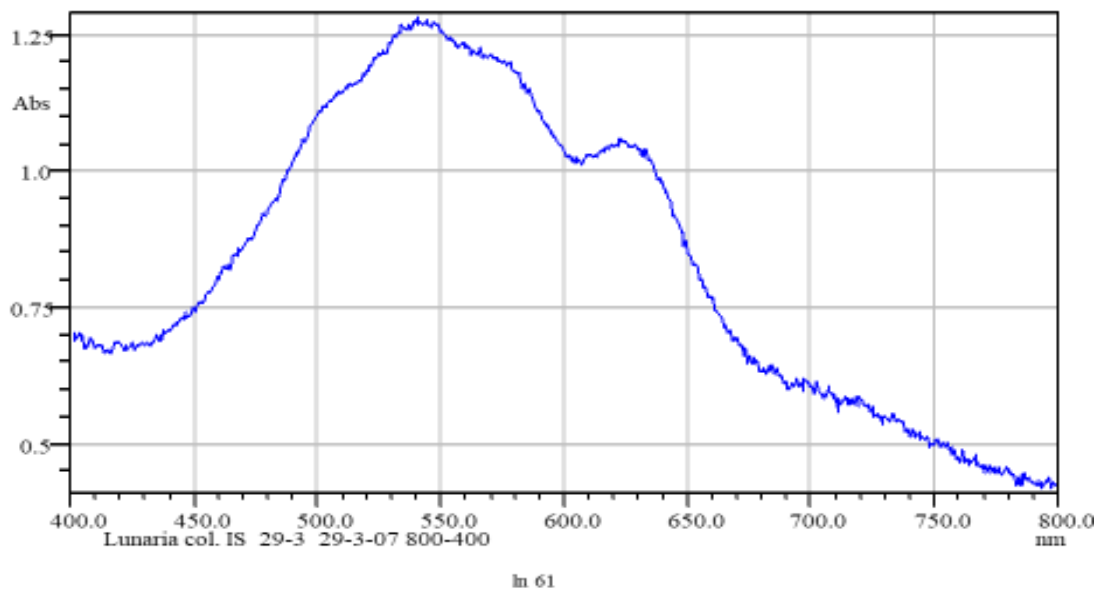
Γ6.1 *Campanula patula*

Στρέφουμε τώρα την προσοχή μας σε άλλα εποχιακά άνθη, μπλε ή συναφούς χρώματος, εξετάζοντας τα αντίστοιχα φάσματα ολόκληρων πετάλων, όπως κάναμε με αυτό της Λουνάρια στο Φάσμα 13 και τον Πίνακα Γ4. Ξεκινάμε με την *Campanula patula*, ένα εποχιακό φυτό με μπλε άνθη κατά την άνοιξη.

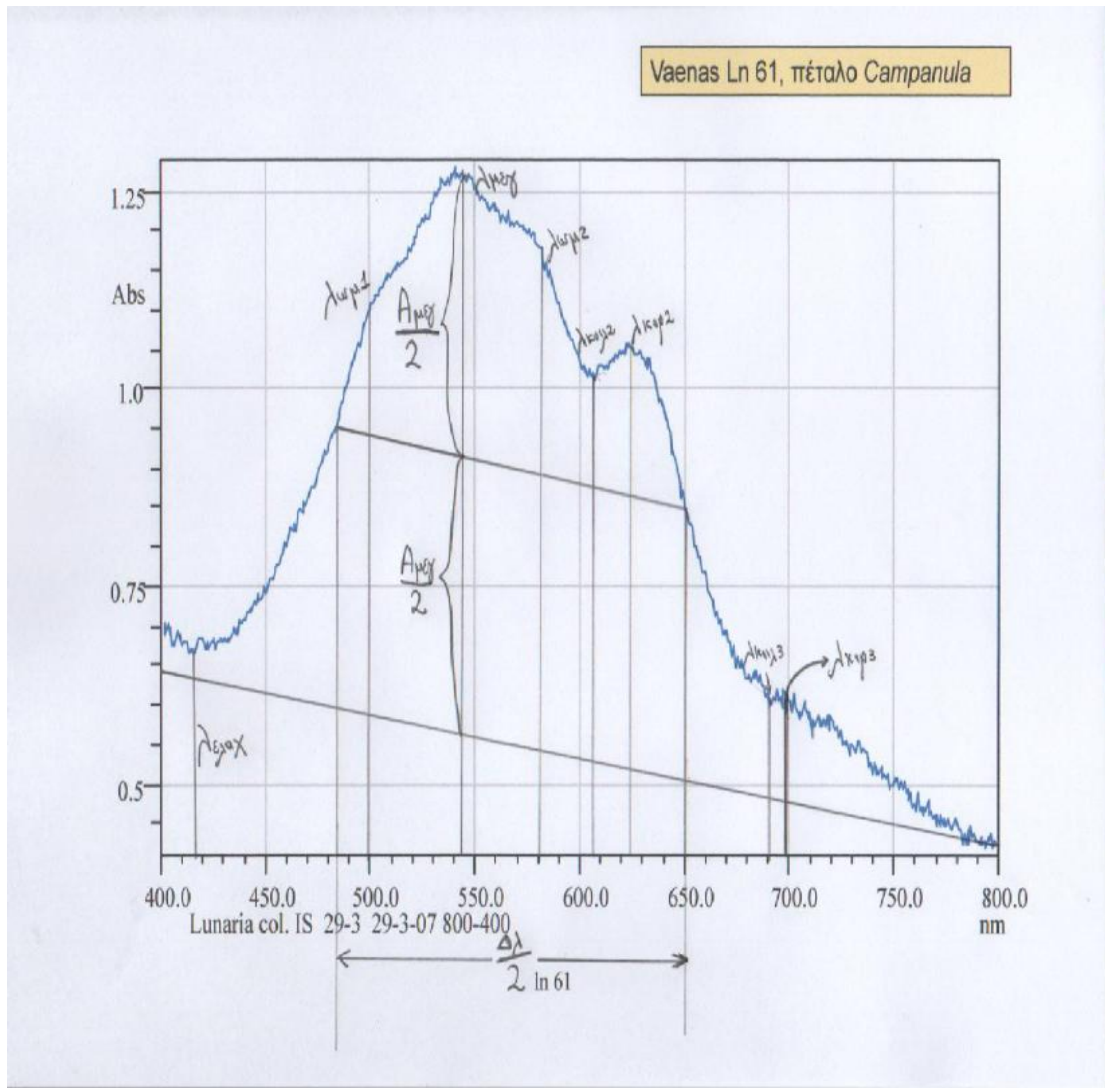


(Πηγή: wikimedia.org/wikipedia/commons/7/78/Campanula_patula_Dzwonek_rozpierzchly_2020-06-07_05.jpg 26/5/20 22.20 μ.μ)

Vaenas Ln 61, πέταλο *Campanula*

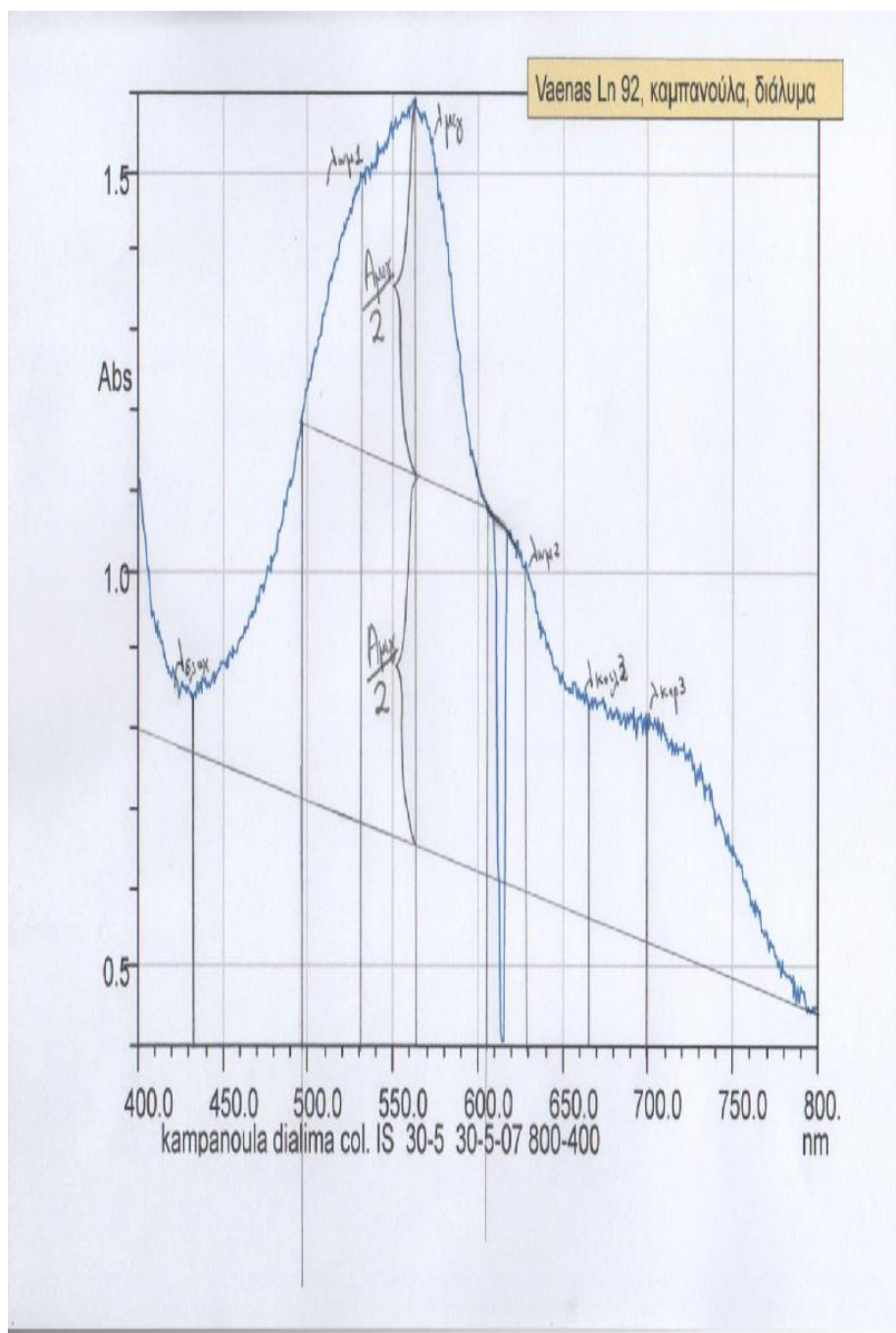


Φάσμα 14. Φάσμα απορρόφησης πετάλου *Campanula patula* σε σφαίρα ολοκλήρωσης. Συλλογή: 29/03/2007, επεξεργασία, αυθημερόν.

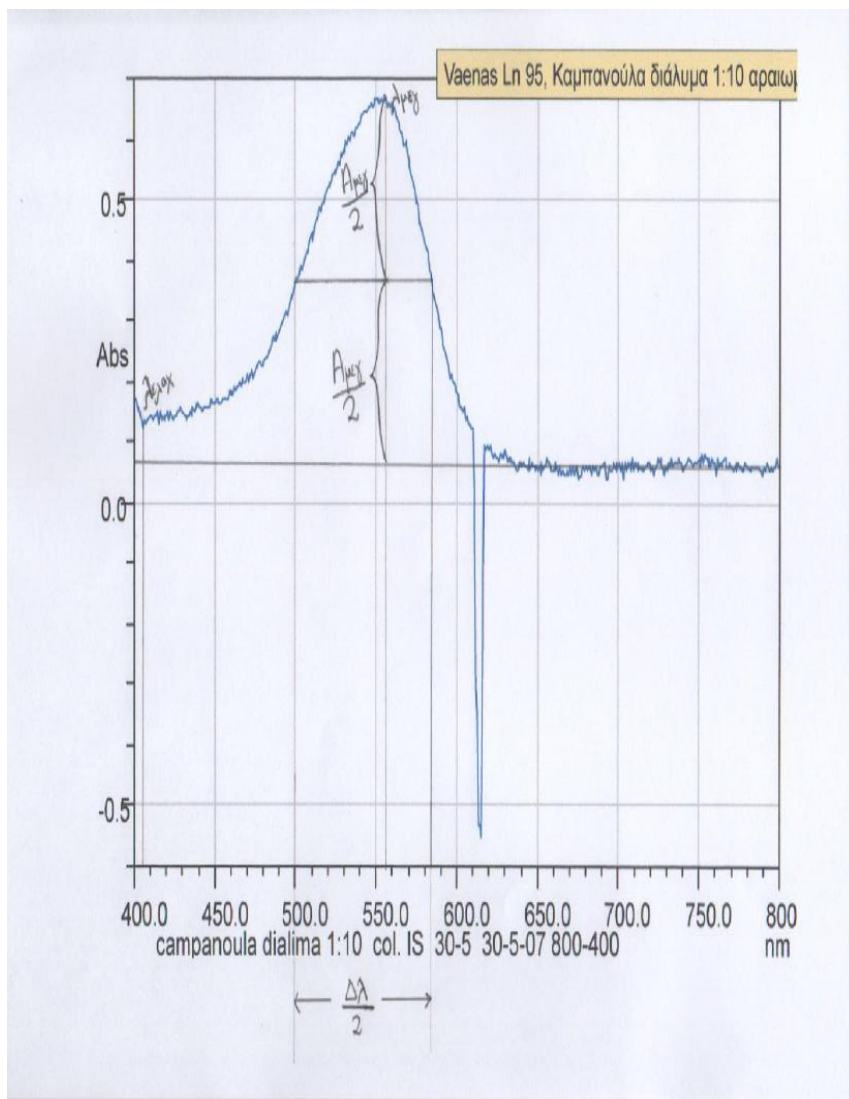


Φάσμα 15. Φάσμα απορρόφησης πετάλου *Campanula patula* σε σφαίρα ολοκλήρωσης, μετά από επεξεργασία αναφορικά με τον υπολογισμό της σκέδασης του φωτός (κεκλιμένη γραμμή με μολύβι από 800 έως 400 nm), και τα μήκη κύματος για κορυφές (μεγ, κορ), κοιλάδες (ελαχ, κοιλ) και «ώμους» (ωμ). Συλλογή: 29/03/2007, επεξεργασία, αυθημερόν.

Μετά από δύο μήνες (μεσολάβησαν και οι διακοπές του Πάσχα) έγινε και πάλι συλλογή *Campanula patula*, το φάσμα του πετάλου της οποίας έδειξε τα ίδια ποιοτικά και ποσοτικά χαρακτηριστικά (δεν εμφανίζεται). Από τα πέταλα έγινε εκχύλιση με οξυοισμένη μεθανόλη και μελετήθηκαν τα αντίστοιχα φάσματα, μη αραιωμένου και 1/10 αραιωμένου εκχυλίσματος. Το μη αραιωμένο εκχύλισμα διατηρεί πολλά χαρακτηριστικά του πετάλου.



Φάσμα 16. Φάσμα απορρόφησης εκχυλίσματος πετάλου *Campanula patula* σε σφαίρα ολοκλήρωσης, μετά από επεξεργασία αναφορικά με τον υπολογισμό της σκέδασης του φωτός (κεκλιμένη γραμμή με μολύβι από 800 έως 400 nm), και τα μήκη κύματος για κορυφές (μεγ, κορ), κοιλάδες (κοιλ) και «ώμους» (ωμ). Συλλογή: 30/05/2007, επεξεργασία, αυθημερόν. Η βύθιση της απορρόφησης μεταξύ 605-620 nm, είναι μια ιδιαιτερότητα του οργάνου της συγκεκριμένης ημέρας. Εμφανίστηκε και στο τυφλό και σε φάσμα πετάλου το οποίο κατά τα άλλα έχει τα ίδια χαρακτηριστικά με το Φάσμα 15 (δεν εμφανίζονται τα δεδομένα).



Φάσμα 17. Φάσμα απορρόφησης εκχυλίσματος πετάλου *Campanula patula*, αραιωμένου 1/10, σε σφαίρα ολοκλήρωσης. Σε αυτή την αραιώση δεν χρειάζεται επεξεργασία του φάσματος γιατί η όποια σκέδαση δεν μεταβάλλεται ανάλογα με το λ . Συλλογή: 30/05/2007, επεξεργασία, αυθημερόν. Η βύθιση της απορρόφησης μεταξύ 605-620 nm, είναι μια ιδιαιτερότητα του οργάνου της συγκεκριμένης ημέρας. Εμφανίστηκε και στο τυφλό και σε φάσμα πετάλου το οποίο κατά τα άλλα έχει τα ίδια χαρακτηριστικά με το Φάσμα 15 (δεν εμφανίζονται τα δεδομένα).

Διαπιστώνουμε ότι η αραιώση 1/10 εξαφάνισε τα όποια φασματοσκοπικά χαρακτηριστικά προσομοιάζαν προς το φάσμα του ανέπαφου πετάλου. Σε μια πρώτη ανάλυση βλέπουμε ότι το μέγιστο της απορρόφησης του εκχυλίσματος (στα 564 nm) είναι 0,94 (καθαρή τιμή 1,58 – 0,64, ενώ το μέγιστο της απορρόφησης του 1/10 αραιωμένου εκχυλίσματος (στα 555 nm) είναι 0,61 (καθαρή τιμή 0,67 – 0,06). Αν ακολουθούσαν οι αραιώσεις τον νόμο των Lambert-Beer, τότε το 1/10 αραιωμένο εκχύλισμα έπρεπε να είχε τιμή 1/10 της απορρόφησης του μη αραιωμένου εκχυλίσματος, δηλαδή $(1/10) \cdot A_{564}$ του αρχικού εκχυλίσματος = $0,1 \cdot A_{564} = 0,1 \cdot 0,94 = 0,094$.

Είναι λοιπόν η απορρόφηση του 1/10 αραιωμένου εκχυλίσματος, $0,61/0,094 = 6,49$ φορές πιο έντονη από ό,τι αναμενόταν με απλή υπακοή στον νόμο των Lambert-Beer, έχοντας ως διάλυμα αναφοράς το αρχικό, μη αραιωμένο εκχύλισμα. Τα αποτελέσματα σύγκρισης των φασματοσκοπικών χαρακτηριστικών εμφανίζονται συνολικά στον παρακάτω πίνακα:

Πίνακας Γ5. Σύγκριση φασματοσκοπικών χαρακτηριστικών **πετάλου** και **εκχυλισμάτων** του, από άνθη *Campanula patula* (Φάσματα 15-17)

Ελάχιστο $\lambda_{\text{ελαχ}}$, nm	«Ωμος» 1 $\lambda_{\omega 1}$, nm	Μέγιστο $\lambda_{\text{μεγ}}$, nm	«Ωμος» 2 $\lambda_{\omega 2}$, nm	Κοιλάδα 2 $\lambda_{\text{κοιλ}2}$, nm	Κορυφή 2 $\lambda_{\text{κορ}2}$, nm	Κοιλάδα 3 $\lambda_{\text{κοιλ}3}$, nm	Κορυφή 3 $\lambda_{\text{κορ}3}$, nm	$\Delta\lambda/2$, nm	Σκέδαση φωτός (ως $A_{800} > > 0$)
417,5	500	544	581	606,5	624	690	699	166	0,41
432/405*	531/---	564/556	629/---	---/---**	---/---**	666/---	700/---	109/84	0,45/0,07

*Τα λ των εκχυλισμάτων όπως υπολογίστηκαν από τα Φάσματα 16 και 17, όπου οι πρώτες τιμές αφορούν το Φάσμα 16 (μη αραιωμένο εκχύλισμα) και οι δεύτερες το Φάσμα 17 (εκχύλισμα αραιωμένο 1/10).

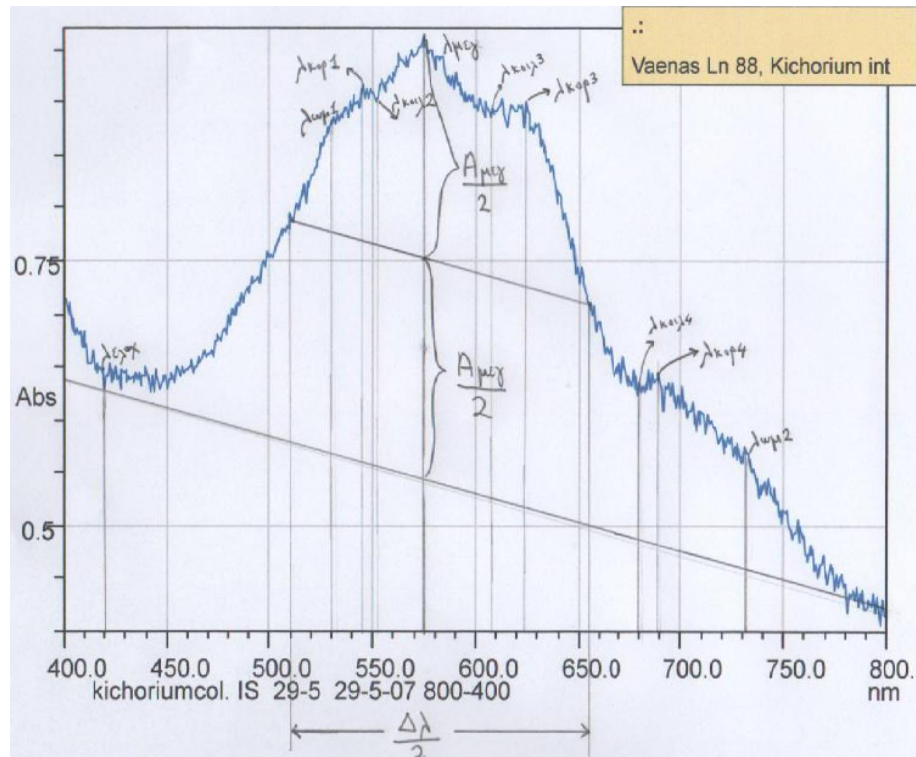
**Οι κοιλάδα 2 και κορυφή 2, χαρακτηριστικά μετά τη μέγιστη κορυφή, δεν εμφανίζονται σε φάσματα απορρόφησης εκχυλισμάτων πετάλων. Αντίθετα, εμφανίζονται οι μικρότερης έντασης κοιλάδα 3 και κορυφή 3.

Γ6.2 *Cichorium intybus*

Το ανέπαφο πέταλο από κιχώριο έχει ελαφρώς διαφορετική διάταξη φασματοσκοπικών χαρακτηριστικών (Φάσμα 18), συγκεκριμένα μετά το ελάχιστο (κοιλάδα 1) εμφανίζεται ένας ώμος (ο 1, κατά σύμβαση), μια κορυφή (η 1, κατά σύμβαση), η κοιλάδα 2, το μέγιστο (κορυφή 2), η κοιλάδα 3, κορυφή 3, κοιλάδα 4, κορυφή 4 και ώμος 2. Η διάταξη αυτή είναι σαφώς πιο πλούσια και καταγράφεται στον Πίνακα Γ6

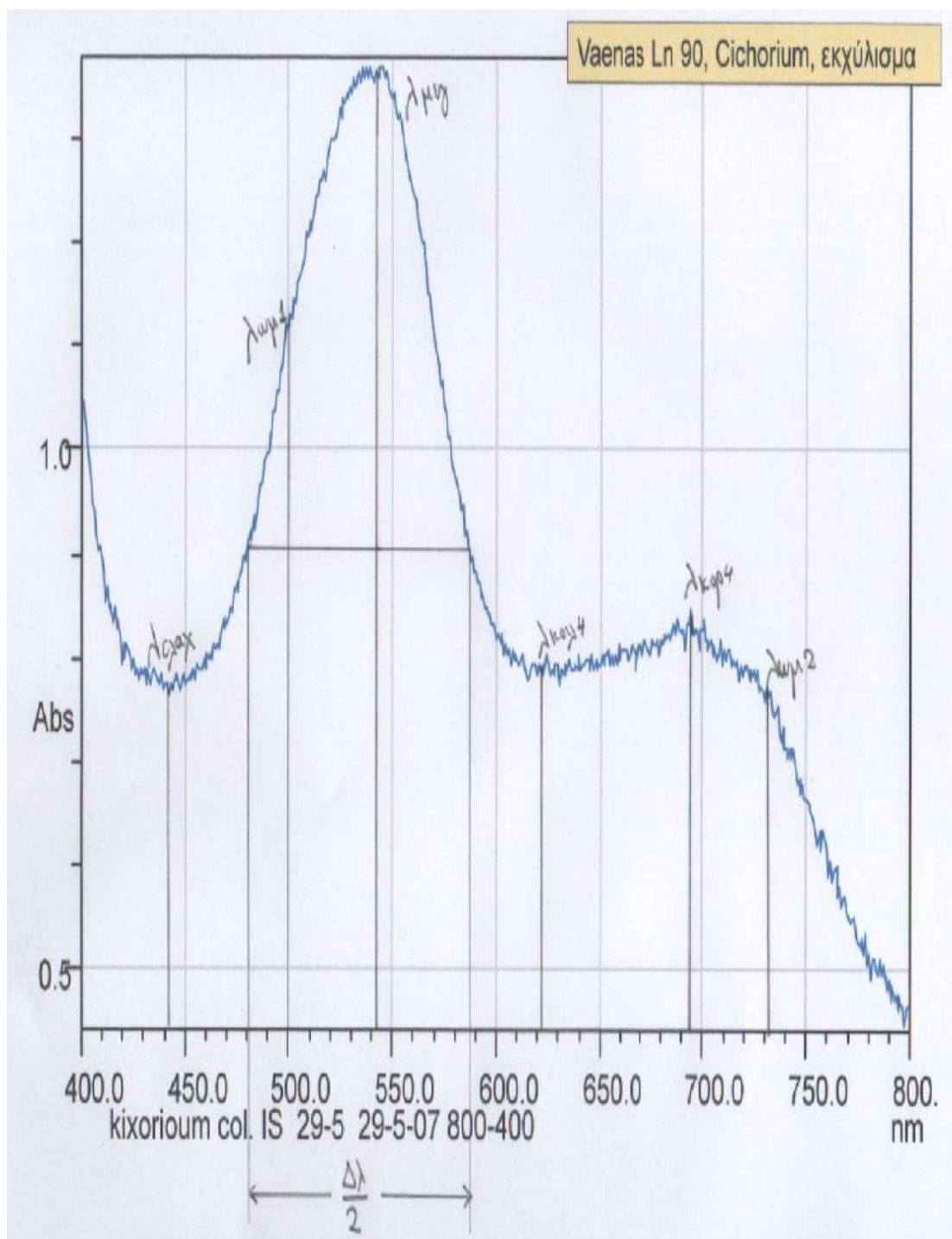


(Πηγή: <https://www.wildflowersprovence.fr/plant/cichorium-intybus/> 26/5/20 22.20 μ.μ)



Φάσμα 18. Φάσμα απορρόφησης πετάλου *Cichorium intybus* σε σφαίρα ολοκλήρωσης, μετά από επεξεργασία αναφορικά με τον υπολογισμό της σκέδασης του φωτός (κεκλιμένη γραμμή με μολύβι από 800 έως 400 nm), και τα μήκη κύματος για κορυφές (μεγ, κορ), κοιλάδες (ελαχ, κοιλ) και «ώμους» (ωμ). Συλλογή: 29/05/2007, επεξεργασία, αυθημερόν.

Το φάσμα του εκχυλίσματος πετάλου *Cichorium int.* σε οξυρισμένη μεθανόλη δείχνει πολύ πιο απλό φάσμα, σε σχέση με το ανέπαφο πέταλο, με μόνο δύο κοιλάδες, δύο ώμους και δύο κορυφές (Φάσμα 19). Συγκεκριμένα, η κύρια καμπύλη απορρόφησης με $\lambda_{\text{μεγ}}$ στα 543 nm έχει σχεδόν Γκαουσιανή συμμετρία, πράγμα που είναι συμβατό με την μικρή σκέδαση του δείγματος. Η παρά ταύτα μεγάλη απορροφητικότητα (περ. 0,46) στα 800 nm, πρέπει να οφείλεται στις δύο επικαλυπτόμενες καμπύλες απορρόφησης ($\lambda_{\text{κορ4}}$, $\lambda_{\text{ομ2}}$) οι οποίες εμφανίζονται αρκετά πιο έντονες εδώ από ό,τι στο φάσμα του ανέπαφου πετάλου (Φάσματα 18, 19, Πίνακας Γ6). Η αδυναμία του οργάνου να μετρήσει απορροφητικότητα στο εγγύς υπέρυθρο ($1000 \text{ nm} > \lambda > 800 \text{ nm}$) δεν μας επιτρέπει πιο επισταμένη μελέτη της φύσης αυτών των καμπυλών απορρόφησης.



Φάσμα 19. Φάσμα απορρόφησης εκχυλίσματος πετάλου *Cichorium intybus*, σε διάλυμα οξυσιμένης μεθανόλης, σε σφαίρα ολοκλήρωσης, μετά από επεξεργασία αναφορικά με τον υπολογισμό της σκέδασης του φωτός (κεκλιμένη γραμμή με μολύβι από 800 έως 400 nm), και τα μήκη κύματος για κορυφές (μεγ, κορ), κοιλάδες (ελαχ, κοιλ) και «ώμους» (ωμ). Συλλογή: 29/05/2007, επεξεργασία, αυθημερόν.

Ο Πίνακας Γ6 παρουσιάζει συνοπτικά τα φασματοσκοπικά χαρακτηριστικά πετάλου και εκχυλίσματος πετάλου σε οξυνισμένη μεθανόλη, από το φυτό κιχώριο.

Πίνακας Γ6. Σύγκριση φασματοσκοπικών χαρακτηριστικών **πετάλου** και **εκχυλίσματός** του, από άνθη *Cichorium intybus* (Φάσματα 18-19).

Ελάχιστο $\lambda_{\epsilon\lambda\alpha\zeta}$, nm	«Ωμος» I $\lambda_{\omega\mu 1}$, nm	Κορυφή I, $\lambda_{\kappa\omicron\rho 1}$, nm	Κοιλάδα 2, $\lambda_{\kappa\omicron\upsilon 2}$, nm	Μέγιστο $\lambda_{\mu\epsilon\gamma}$, nm	Κοιλάδα 3, $\lambda_{\kappa\omicron\upsilon 2}$, nm	Κορυφή 3, $\lambda_{\kappa\omicron\rho 2}$, nm	Κοιλάδα 4, $\lambda_{\kappa\omicron\upsilon 3}$, nm	Κορυφή 4 $\lambda_{\kappa\omicron\rho 3}$, nm	«Ωμος» 2 $\lambda_{\omega\mu 2}$, nm	$\Delta\lambda/2$, nm	Σκέδαση φωτός (ως $A_{800} >$ > 0)
420,5	530	545	552,7	574	608	624	679	689	732	144,6	0,425
442*	500	---**	---**	543	---**	---**	622	694	732	107	0,46***

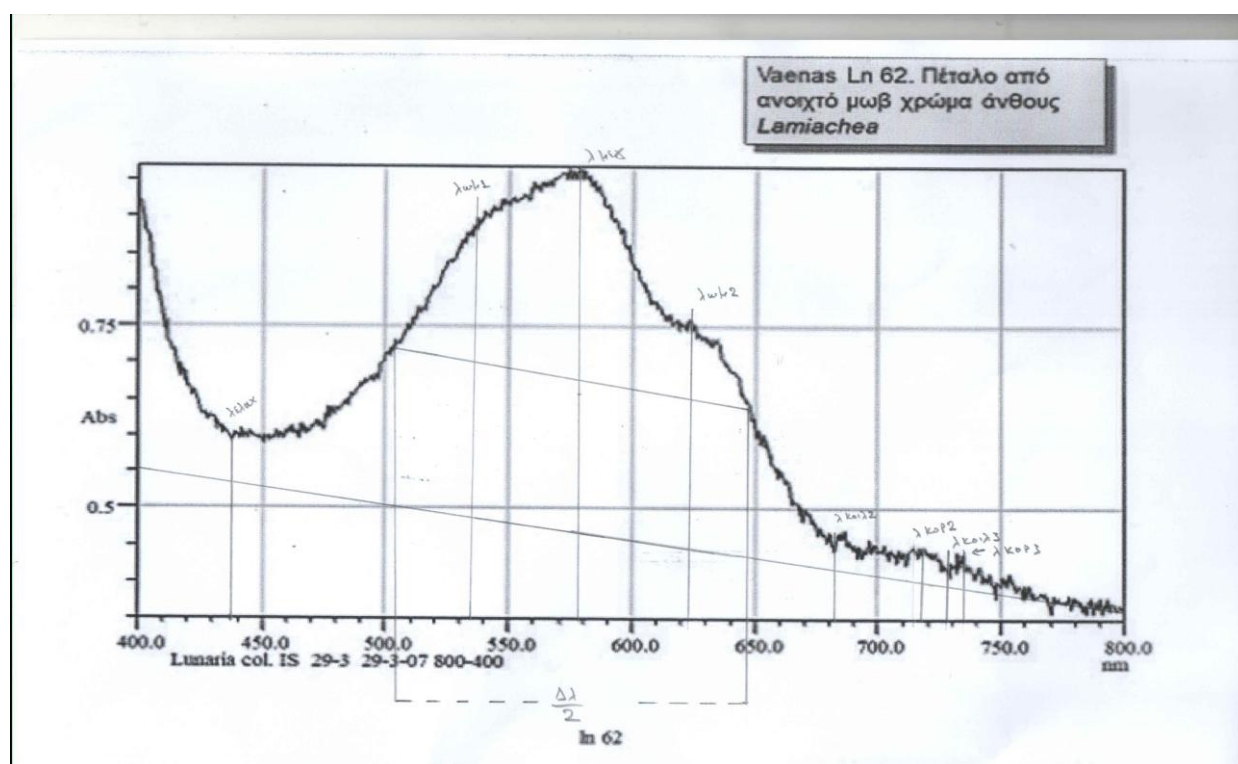
*Τα λ του εκχυλίσματος όπως υπολογίστηκαν από το Φάσματα 19.

**Οι κοιλάδες 2 και 3 και οι κορυφές 1 και 3, δεν εμφανίζονται στο φάσμα απορρόφησης εκχυλισμάτων πετάλων. Αντίθετα, εμφανίζονται οι μικρότερης έντασης κοιλάδα 4, κορυφή 4 και ώμος 4.

***Όπως εξηγήσαμε και πιο πάνω, δεν θεωρούμε την απορρόφηση στα 800 nm του εκχυλίσματος ως οφειλόμενη στη σκέδαση του φωτός αλλά στη κορυφή 4 και ώμο 2, που λόγω της φύσης του οργάνου δεν μπορούν να καταγραφούν πλήρως, δηλ. μέχρι μηδενικής απορρόφησης.

Γ6.3 *Lamiachea*

Παρατηρώντας τα δύο φάσματα των πετάλων *Lamiacheae* και *Lunaria* (παρεμπιπτόντως τα άνθη και των δυο είναι μώβ χρώματος) μπορούμε να διακρίνουμε ότι παρουσιάζουν αρκετές ομοιότητες καθώς βλέπουμε ότι έχουν από τρία ιδιαίτερα χαρακτηριστικά στις καμπύλες απορρόφησης (μία και κορυφή και δύο ώμους, και δύο κορυφές και έναν ώμο, αντίστοιχα), και παρόμοιες τιμές σε κορυφές, κοιλάδες, και ώμους καθώς και ίδια σκέδαση και παραπλήσια τιμή $\Delta\lambda/2$.



Φάσμα 20. Φάσμα απορρόφησης πετάλου οικογένειας *Lamiacheae* χρώματος μώβ σε σφαίρα ολοκλήρωσης μετά από επεξεργασία αναφορικά με τον υπολογισμό της σκέδασης του φωτός (κεκλιμένη γραμμή με μολύβι από 800 έως 400 nm), και τα μήκη κύματος για κορυφές (μεγ, κορ), κοιλάδες (ελαχ, κοιλ) και «ώμους» (ωμ).

Πίνακας Γ7. Φασματοσκοπικά χαρακτηριστικά πετάλου, από άνθη *Lamiachea* με ανοιχτό μώβ χρώμα (Φάσμα 20)

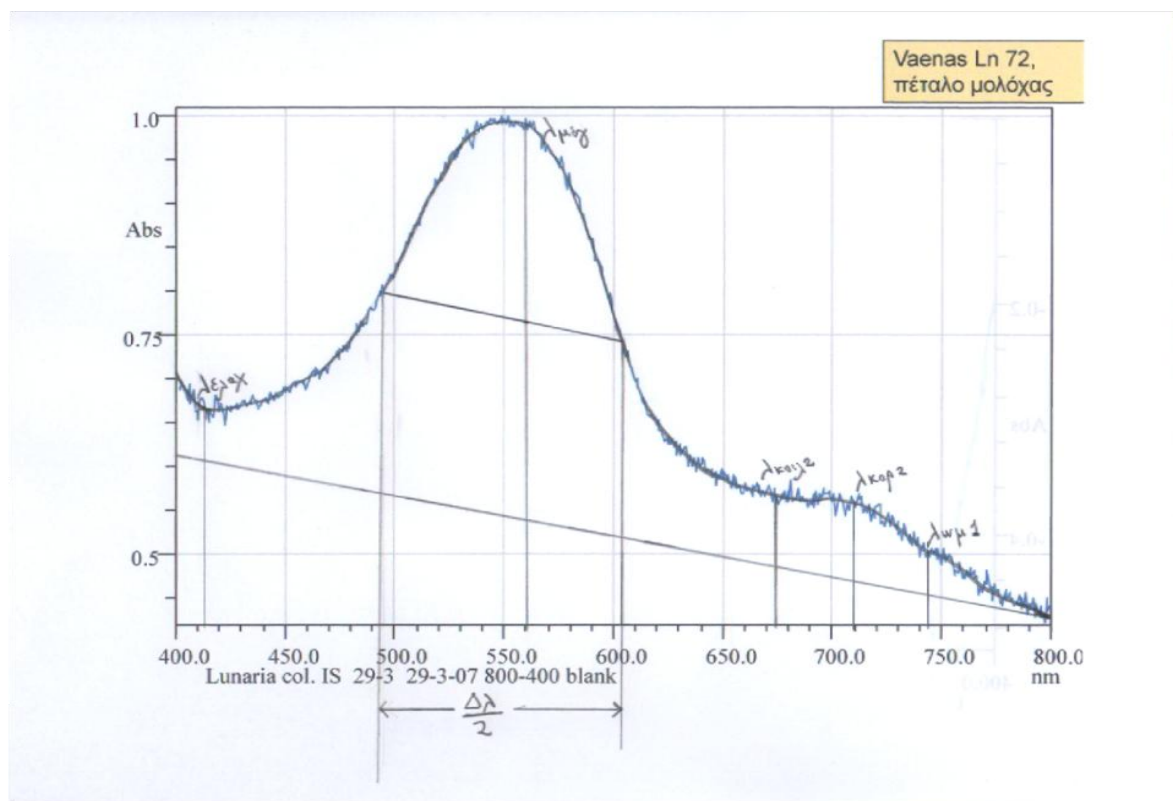
<i>Ελάχιστο</i> $\lambda_{\epsilon\lambda\alpha\chi}$, nm	« <i>Ωμος</i> » <i>1</i> $\lambda_{\omega\mu 1}$, nm	<i>Μέγιστο</i> $\lambda_{\mu\epsilon\gamma}$, nm	« <i>Ωμος</i> » <i>2</i> $\lambda_{\omega\mu 2}$, nm	<i>Κοιλάδα</i> <i>2</i> $\lambda_{\kappa\omicron\iota\lambda 2}$, nm	<i>Κορυφή</i> <i>2</i> $\lambda_{\kappa\omicron\rho 2}$, nm	<i>Κοιλάδα</i> <i>3</i> $\lambda_{\kappa\omicron\iota\lambda 3}$, nm	<i>Κορυφή</i> <i>3</i> $\lambda_{\kappa\omicron\rho 3}$, nm	$\Delta\lambda/2$, nm	Σκέδαση φωτός (ως $A_{800} >> 0$)
438	536	577	633	681	718	727	732	131	0,41

Γ6.4 Μολόχα (*Malva sylvestris*)

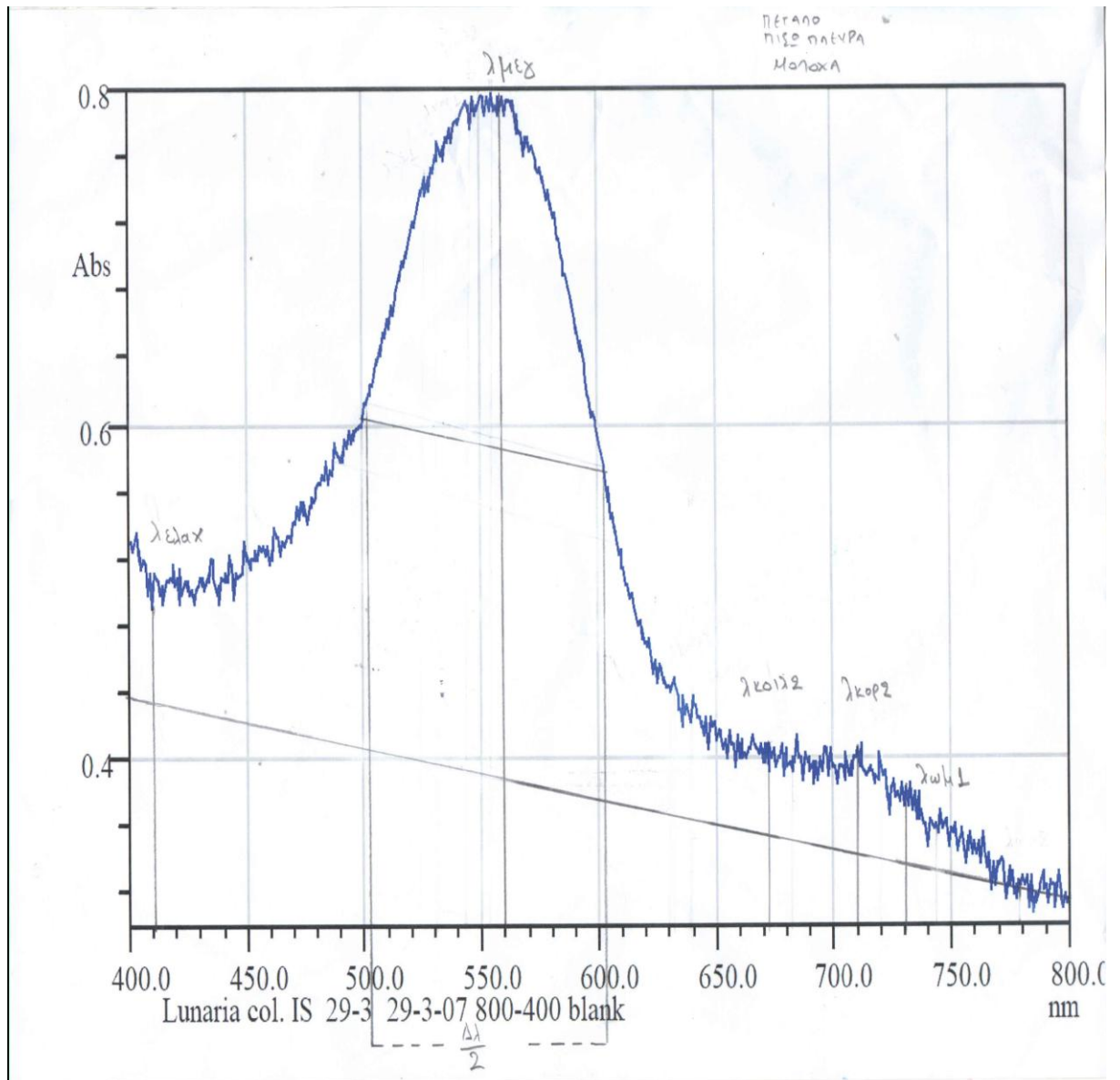
Στρεφόμεστε τώρα προς την Μολόχα, (*Malva sylvestris*), το πέταλο της οποίας θα εξετάσουμε τόσο από την πάνω πλευρά (σε σχέση με το έδαφος) όσο και από την κάτω. Ο λόγος είναι ότι υπάρχουν, μικρές αλλά προφανείς διαφορές μεταξύ των δύο πλευρών, και επιθυμούμε να τις τεκμηριώσουμε φασματοσκοπικά, εφ' όσον γίνεται.



(Πηγή: mediplantepirus.med.uoi.gr 26/5/20 22.20 μ.μ)



Φάσμα 21. Φάσμα απορρόφησης πετάλου μολόχας (*Malva sylvestris*) σε σφαίρα ολοκλήρωσης μετά από επεξεργασία αναφορικά με τον υπολογισμό της σκέδασης του φωτός (κεκλιμένη γραμμή με μολύβι από 800 έως 400 nm), και τα μήκη κύματος για κορυφές (μεγ, κορ), κοιλάδες (ελαχ, κοιλ) και «ώμους» (ωμ).



Φάσμα 22. Φάσμα απορρόφησης πίσω πλευράς πετάλου μολόχας (*Malva sylvestris*) σε σφαίρα ολοκλήρωσης μετά από επεξεργασία αναφορικά με τον υπολογισμό της σκέδασης του φωτός (κεκλιμένη γραμμή με μολύβι από 800 έως 400 nm), και τα μήκη κύματος για κορυφές (μεγ, κορ), κοιλάδες (ελαχ, κοιλ) και «ώμους» (ωμ).

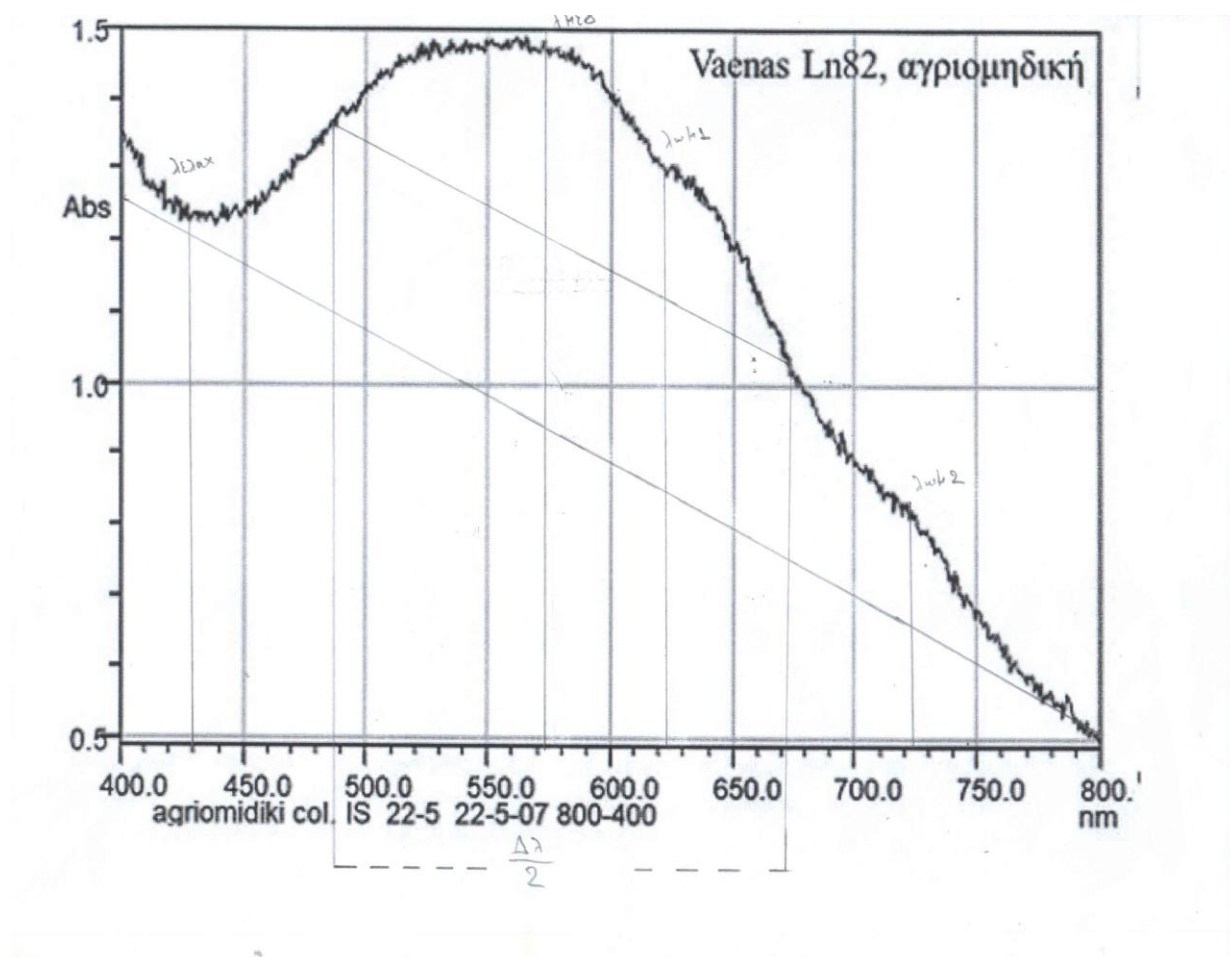
Πίνακας Γ8. Σύγκριση φασματοσκοπικών χαρακτηριστικών πετάλου (μπρος και πίσω πλευρά), από άνθη *Μολόχας* (*Malva sylvestris*) (Φάσματα 21-22).

Ελάχιστο $\lambda_{\text{ελαγ}}$, nm	Μέγιστο $\lambda_{\text{μεγ}}$, nm	$A_{\text{μεγ}}$	Κοιλάδα 2, $\lambda_{\text{κοιλ2}}$, nm	Κορυφή 2, $\lambda_{\text{κορ2}}$, nm	«Ωμος» 1 $\lambda_{\text{ωμ1}}$, nm	$\Delta\lambda/2$, nm	Σκέδαση φωτός (ως $A_{800} >> 0$)
413	561	0,46	674	710	743	111	0,425
412	562	0,40	672	710	730	110,5	0,32

Παρατηρώντας τα δυο φάσματα της μολόχας, δηλαδή της μπροστινής πλευράς του πετάλου και της πίσω πλευράς, βλέπουμε ότι παρουσιάζουν πολλές ομοιότητες καθώς οι τιμές των φασματοσκοπικών χαρακτηριστικών είναι σχεδόν παρόμοιες και με πολύ απλή διάταξη. Υπάρχει αξιοσημείωτη διαφορά στην απορρόφηση στο μέγιστο (0,46 μπροστά, 0,40 πίσω), στην παρουσία ενός ώμου στο φάσμα της πίσω πλευράς, στην τιμή του $\Delta\lambda/2$ (111 nm στην μπροστινή πλευρά και 101 nm στην πίσω πλευρά) καθώς και στην σκέδαση του φωτός ($A_{800} = 0,425$ έναντι 0,32). Αυτή δεν είναι η μοναδική περίπτωση όπου τεκμηριώνονται τέτοιες διαφορές, αναφέρονται άλλωστε και στη βιβλιογραφία (van der Kooi και συν., 2016).

Γ6.5 Αγριομηδική (*Medicago sativa*)

Η αγριομηδική είναι άλλο ένα φυτό με κοκκινοκόκκινη άνθη κατά την άνοιξη, οπότε το μελετήσαμε και αυτό.



Φάσμα 23. Φάσμα απορρόφησης πετάλου αγριομηδικής (*Medicago sativa*) σε σφαίρα ολοκλήρωσης μετά από επεξεργασία αναφορικά με τον υπολογισμό της σκέδασης του φωτός (κεκλιμένη γραμμή με μολύβι από 800 έως 400 nm), και τα μήκη κύματος για κορυφές (μεγ, κορ), κοιλάδες (ελαχ, κοιλ) και «ώμους» (ωμ).

Όπως φαίνεται στο Φάσμα 23, η σκέδαση του φωτός είναι πάρα πολύ μεγάλη στο πέταλο άνθους αγριομηδικής, οπότε θεωρούμε ότι τα φασματοσκοπικά χαρακτηριστικά προσδιορίζονται με αξιοσημείωτο περιθώριο σφάλματος, το οποίο δεν υπάρχει εύκολος τρόπος να προσδιοριστεί. Η μόνη περίπτωση θα ήταν αν το συγκεκριμένο είδος και γένος είχε ποικιλία η οποία να έδιδε λευκά άνθη, οπότε τα λευκά πέταλα θα μπορούσαν να χρησιμοποιηθούν ως το «τυφλό» δείγμα για τα φάσματα πετάλων αγριομηδικής. Αυτή η θεώρηση ισχύει για όλα τα είδη φυτών. Προσπάθεια να χρησιμοποιηθεί λευκό άνθος τελείως διαφορετικού είδους δεν απέδωσε, λόγω της διαφορετικής υφής του αντίστοιχου πετάλου, σε σχέση με τα υπό εξέταση δείγματα (δεν παρουσιάζονται τα δεδομένα).

Πίνακας Γ9. Φασματοσκοπικά χαρακτηριστικά πετάλου, από άνθη *αγριομηδικής (Medicago sativa)* ανοιχτού μώβ χρώματος (Φάσμα 23)

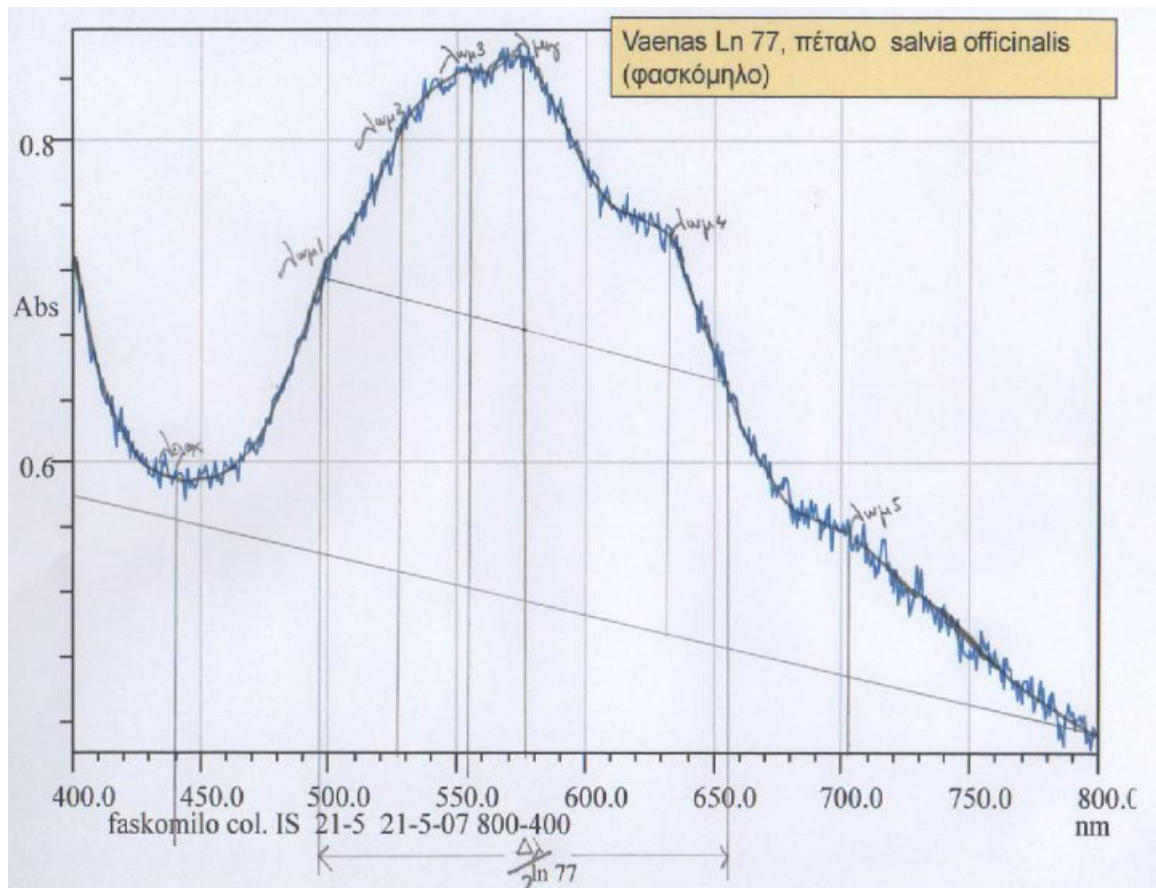
<i>Ελάχιστο</i> $\lambda_{\text{ελαχ.}}$, nm	<i>Μέγιστο</i> $\lambda_{\text{μεγ.}}$, nm	«Ωμος» 1 $\lambda_{\omega\mu 1}$, nm	«Ωμος» 2 $\lambda_{\omega\mu 2}$, nm	$\Delta\lambda/2$, nm	Σκέδαση φωτός (ως $A_{800} >> 0$)
430	572	623	728	195	0,50

Γ6.6 *Salvia officinalis* (φασκόμηλο)



(Πηγή: <http://mediplantepirus.med.uoi.gr/> 26/5/20 22.20 μ.μ)

Η *Salvia officinalis* είναι πολυετής θάμνος με μπλε άνθη γνωστή τόσο για τις φαρμακευτικές χρήσεις όσο και για τις μαγειρικές χρήσεις της. Παρόλο την ομορφιά του φυτού, όμως, το εκχύλισμα των ανθέων του με οξυρισμένη μεθανόλη αλλάζει το χρώμα μέσα σε λίγα δευτερόλεπτα και παίρνει ένα ανοιχτό καφέ χρώμα, κάθε άλλο παρά ελκυστικό.

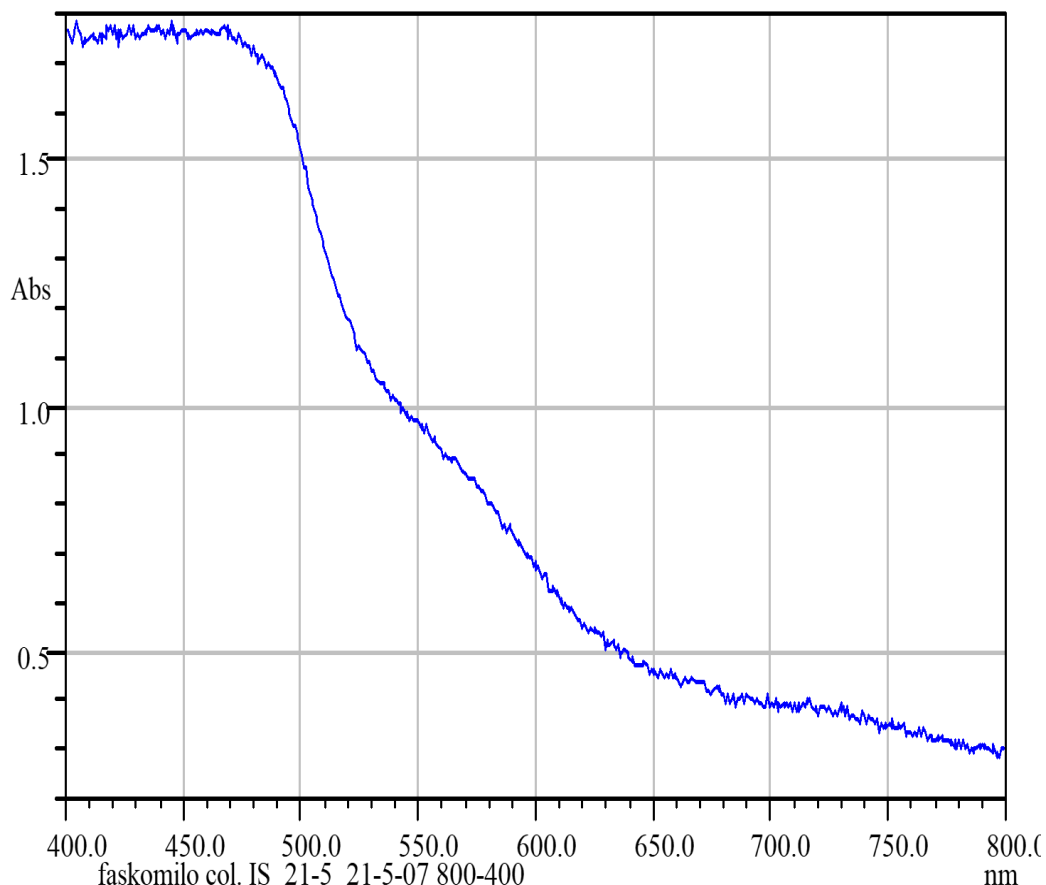


Φάσμα 24. Φάσμα απορρόφησης πετάλου φασκόμηλο (*Salvia officinalis*) σε σφαίρα ολοκλήρωσης μετά από επεξεργασία αναφορικά με τον υπολογισμό της σκέδασης του φωτός (κεκλιμένη γραμμή με μολύβι από 800 έως 400 nm), και τα μήκη κύματος για κορυφές (μεγ, κορ), κοιλάδες (ελαχ, κοιλ) και «ώμους» (ωμ).

Πίνακας Γ10. Φασματοσκοπικά χαρακτηριστικά πετάλου, από άνθη φασκόμηλου (Φάσμα 24)

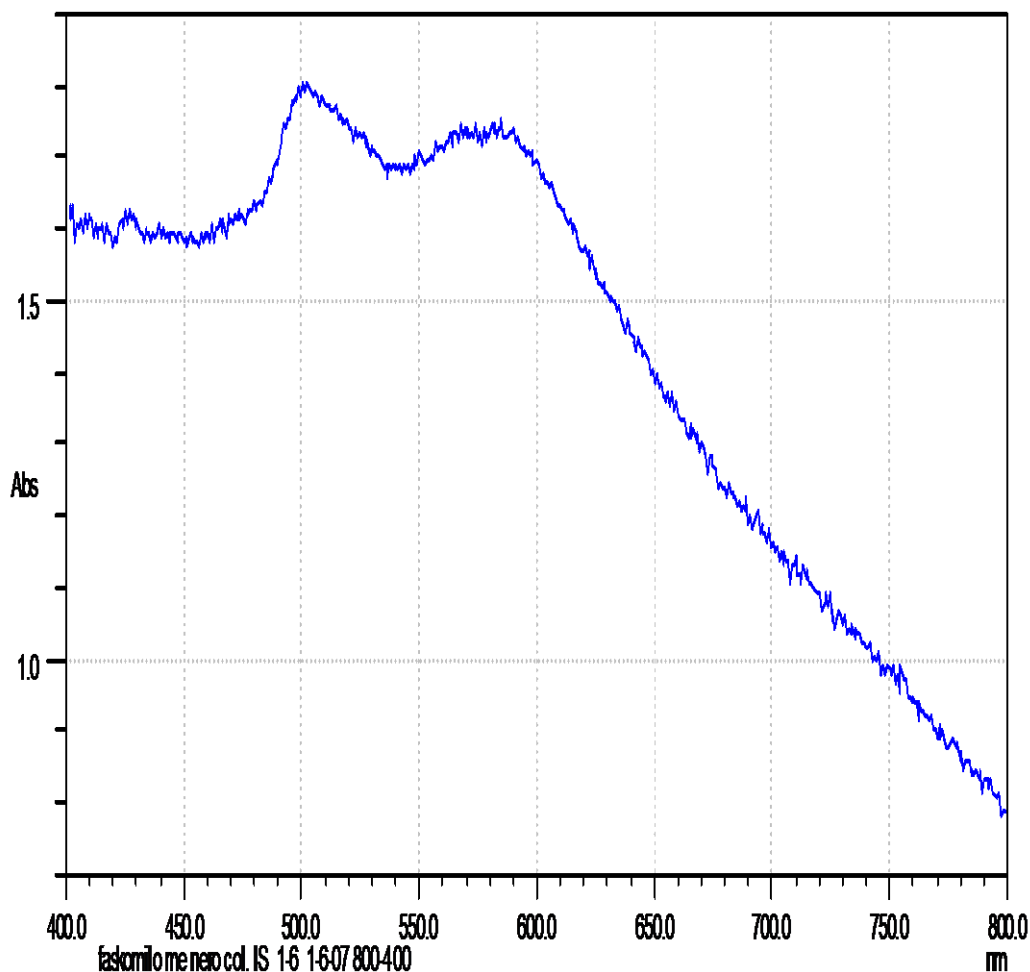
Ελάχιστο $\lambda_{\text{ελαχ}}$, nm	«Ωμος» 1 $\lambda_{\omega\mu 1}$, nm	«Ωμος» 2 $\lambda_{\omega\mu 2}$, nm	«Ωμος» 3 $\lambda_{\omega\mu 3}$, nm	Μέγιστο $\lambda_{\text{μεγ}}$, nm	«Ωμος» 4 $\lambda_{\omega\mu 4}$, nm	«Ωμος» 5 $\lambda_{\omega\mu 5}$, nm	$\Delta\lambda/2$, nm	Σκέδαση φωτός (ως $A_{800} > > 0$)
442	498	527	553	572	632	703	158	~0,49

Το εκχύλισμα των πετάλων του φασκόμηλου σε οξυοισμένη μεθανόλη, ενώ για 10 περ. δευτερόλεπτα μας έδειχνε ένα ωραίο κοκκινωπό χρώμα, στη συνέχεια αυτό μετατράπηκε σε ένα ανοιχτόχρωμο καφέ χρώμα, το οποίο και παρέμεινε και φαίνεται στο Φάσμα 25. Είναι προφανές ότι η εκχύλιση στο συγκεκριμένο διαλύτη έφερε την αποδιάταξη των χρωστικών που έδιναν το συγκεκριμένο ωραίο χρώμα, και η έκθεση στην ατμόσφαιρα (οξυγόνο;) οδήγησε στη παραγωγή αυτού του άμορφου φάσματος απορρόφησης, το οποίο δεν έχει κανένα νόημα να αναλύσουμε. Η εκχύλιση επαναλήφθηκε άλλες δύο φορές, με το ίδιο δυστυχώς αποτέλεσμα.



Φάσμα 25. Φάσμα από εκχύλισμα πετάλου *Salvia officinalis* (φασκόμηλο) σε οξυγισμένη μεθανόλη (γίνεται καφέ σε περ. 10'). Το αρχικό χρώμα εκχύλισης είναι έντονο κόκκινο, αλλά δεν προλαβαίνει κανείς να καταγράψει το αντίστοιχο φάσμα.

Επειδή υπάρχει μεγάλο ενδιαφέρον για το συγκεκριμένο φυτό, που έχει γνωστές φαρμακευτικές ιδιότητες, δοκιμάσαμε και απεσταγμένο νερό ως τον διαλύτη εκχύλισης, πράγμα που οδήγησε στη διατήρηση κάποιων χαρακτηριστικών του φάσματος απορρόφησης, σε σχέση με το ανέπαφο πέταλο (Φάσμα 26). Υπάρχει όμως πολύ έντονη σκέδαση φωτός, πράγμα που καθιστά αδύνατη την όποια χάραξη μιας γραμμής μηδενικής απορρόφησης (baseline), και στη συνέχεια τον υπολογισμό φασματοσκοπικών χαρακτηριστικών.



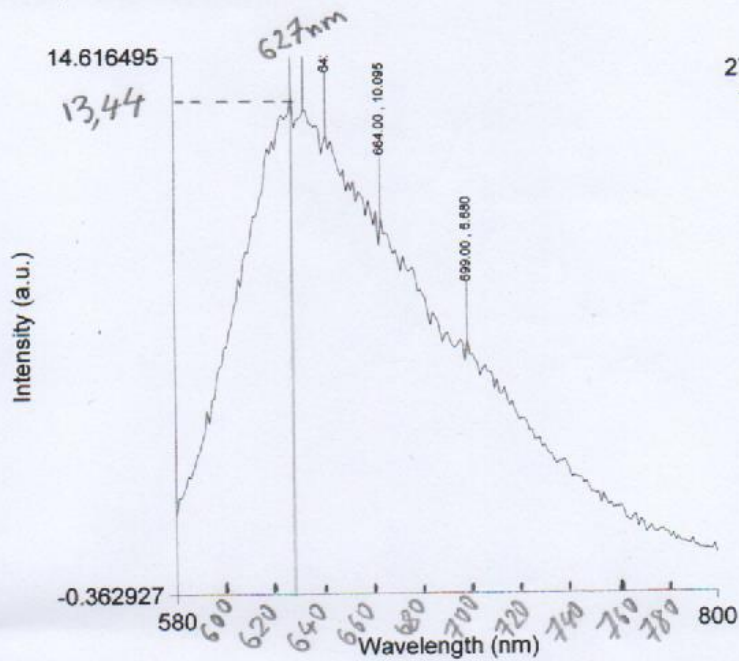
Φάσμα 26. Φάσμα από εκχύλισμα πετάλου *Salvia officinalis* (φασκόμηλο) σε απεσταγμένο νερό (γίνεται κόκκινο). Υπάρχει έντονη σκέδαση λόγω θολότητας του εκχυλίσματος και δεν είναι δυνατός ο ακριβής προσδιορισμός των φασματοσκοπικών χαρακτηριστικών.

Ο χρόνος δεν μας επέτρεψε να κάνουμε επιπλέον πειράματα εν τω βάθει για να διαπιστώσουμε την φύση των χρωστικών του πετάλου του άνθους, και των αλληλεπιδράσεών των στο φυτό αυτό. Μερικά επιπλέον πειράματα, π.χ. προσθέτοντας κιτρικό στο μέσο εκχύλισης (σύνηθες προσθετικό για ορισμένα εκχυλίσματα από πέταλα), ή εκχύλιση σε πολύ βασικό περιβάλλον μαζί με EDTA για πρόσδεση μεταλλικών κατιόντων, δεν έδωσαν χρώματα τα οποία να προσομοιάζουν έστω και εν μέρει στο φυσικό χρώμα του ανέπαφου πετάλου (δεν παρουσιάζονται τα δεδομένα).

Γ.7 Φάσματα φθορισμού εκχυλισμάτων από πέταλα ανθέων του φυτού *Lunaria annua*

Η εκχύλιση σε οξυνισμένη μεθανόλη πετάλων από άνθη του φυτού *Campanula versicolor*, που έχει έντονο μωβ χρώμα, είναι εποχιακό και ανθίζει κυρίως Σεπτέμβριο έως Νοέμβριο, έδειξε απορρόφηση και φαινόμενα έντονης αλληλεπίδρασης μεταξύ των χρωστικών (Γεωργάνου και συν. 2009, Δρακονταειδή και συν. 2009). Πειράματα φθορισμού στα εκχυλίσματα αυτά έδειξαν αξιοσημείωτη ένταση φθορισμού με κάποια ιδιαίτερα χαρακτηριστικά (Δρακονταειδή και Καφετζόγλου, αδημοσίευτα αποτελέσματα, πτυχιακή εργασία υπό συγγραφή). Συνεπώς, επιχειρήθηκε η μέτρηση του φθορισμού εκχυλισμάτων πετάλων ανθέων *Lunaria* σε οξυνισμένη μεθανόλη, κατά το προηγούμενο με τα πέταλα καμπανούλας της ποικιλόχρωμης.

Πράγματι, το φάσμα εκπομπής φθορισμού εκχυλίσματος πετάλων *Lunaria annua* σε οξυνισμένη μεθανόλη (συλλογή στις 12/03/2006, εκχύλιση στις 13/03/2006, λήψη φάσματος φθορισμού στις 27/03/2007) δείχνει ότι πράγματι εμφανίζεται έντονος φθορισμός με το φάσμα φθορισμού (εκπομπής) να είναι αρκετά διακριτό από το αντίστοιχο φάσμα απορρόφησης. Υπενθυμίζουμε ότι το φάσμα απορρόφησης (Φάσμα 1) έχει $\lambda_{\text{μεγ}} = 537,6 \text{ nm}$ και $\Delta\lambda/2 = 84,5 \text{ nm}$, ενώ το φάσμα φθορισμού έχει $\lambda_{\text{μεγ}} = 627 \text{ nm}$ και η σχετική ένταση φθορισμού στο μέγιστο = 13,44 απόλυτες μονάδες (Φάσμα 27).



Scan Report

Report time : Tpi 27 Mar 12:06:07 PM 2007
Software Version: 1.1(132)
Operator: Vaenas Christos

Instrument Parameters

Instrument	Cary Eclipse
Instrument Serial Number	EL06053222
Data mode	Fluorescence
Scan mode	Emission
X Mode	Wavelength (nm)
Start (nm)	570.00
Stop (nm)	800.00
Ex. Wavelength (nm)	542.00
Ex. Slit (nm)	5
Em. Slit (nm)	5
Scan rate (nm/min)	600.00
Data interval (nm)	1.0000
Averaging Time (s)	0.1000
Excitation filter	Auto
Emission filter	Open
PMT voltage (V)	Medium
Corrected spectra	OFF
Comments:	Department of Floriculture and Landscape Architecture, Laboratory of Biochemistry and Biophysics

Sample name: Blank 27-3-07 acidified methanol

Φάσμα 27. Φάσμα φθορισμού (εκπομπής) εκχυλίσματος πετάλων λουναρία σε οξυνισμένη μεθανόλη. Το εκχύλισμα αντιστοιχεί στο Φάσμα απορρόφησης 1. Μήκος κύματος διέγερσης = 542 nm.

Το μήκος κύματος της ακτινοβολίας διέγερσης είναι 542 nm, πολύ κοντά στο $\lambda_{\text{μεγ}}$ της απορρόφησης του συγκεκριμένου φάσματος, δηλ των 537,6 nm. Είναι εκπληκτικό ότι η *διαφορά (μετατόπιση) Stokes* για το συγκεκριμένο δείγμα, δηλ. $(\lambda_{\text{μεγ}})_{\text{φθορ}} - (\lambda_{\text{μεγ}})_{\text{απορρ}} = (627 - 537,6) \text{ nm} = 89,4 \text{ nm}$.

Αυτή είναι μια μεγάλη τιμή μετατόπισης Stokes, σχεδόν τόσο μεγάλη όσο και το $\Delta\lambda/2$ της απορρόφησης. Σημαίνει ότι το μέγιστο του μήκους κύματος της ακτινοβολίας είναι σχεδόν εκεί όπου η απορροφητικότητα του δείγματος είναι κοντά στο μηδέν. Αυτή η ιδιότητα καθιστά το εκχυλίσμα μια πολύ καλή φθοριόχρωμη ουσία, ενδεχόμενα κατάλληλη και για εφαρμογές σε ανοσοφθορισμό κλπ.

Επιπλέον, έγιναν και πειράματα φθορισμού με αραιωμένα δείγματα από λουνάρια, καθώς και λήψη φασμάτων δράσης του φθορισμού (δηλ. ποιο μήκος κύματος διέγερσης του εκχυλίσματος λουνάρια θα μας δώσει την πιο ισχυρή ένταση φθορισμού στα 627 nm). Επειδή όμως δεν υπήρχε πια φρέσκο δείγμα για επανάληψη των πειραμάτων, αυτά τα πειράματα δεν θα τα αναφέρουμε. Χρειάζεται όμως να γίνει εν τω βάθει μελέτη του φθορισμού του εκχυλίσματος της λουνάρια.

Δ. ΣΥΖΗΤΗΣΗ ΚΑΙ ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Η συγκεκριμένη εργασία χωρίζεται σε δυο μέρη. Αφ' ενός στο πρώτο που είναι το θεωρητικό κομμάτι και εδώ αναλύσαμε όλες τις έννοιες με τις οποίες ασχοληθήκαμε παρακάτω, αφ' ετέρου στο δεύτερο κομμάτι που είναι και το ειδικό μέρος της εργασίας. Στο τελευταίο ασχοληθήκαμε αναλυτικά με τη μελέτη των φασμάτων εκχυλισμάτων σε οξυνισμένη μεθανόλη που λήφθηκαν από τα πέταλα ανθέων του φυτού *Lunaria annua* από περιοχή σχεδόν ημιορεινή και αφού μεταφέρθηκε στο εργαστήριο καθαρίστηκε και κρατήθηκαν μόνο τα πέταλα μωβ χρώματος τα οποία αφού πλύθηκαν με απιοντισμένο νερό στέγνωσαν και τοποθετήθηκαν σε γουδί όπου λειοτριβήθηκαν με οξυνισμένη μεθανόλη και έγινε η εκχύλιση τους. Στη συνέχεια στο εκχύλισμα της *Lunaria annua* αφού έγιναν αραιώσεις πάρθηκαν φάσματα απορρόφησης στο ορατό μέρος του ηλεκτρομαγνητικού φάσματος ακτινοβολιών, 800 – 400 nm, σε ένα ευαίσθητο φασματοφωτόμετρο, με σφαίρα ολοκλήρωσης για πυκνά δείγματα, φύλλα, άνθη και άλλα συμπαγή δείγματα. Παρατηρήσαμε ότι στα φάσματα των μεγάλων αραιώσεων, από 1/80, 1/160, 1/320 έως και 1/640, φαίνεται να ακολουθείται ο νόμος της απορρόφησης φωτός των Lambert-Beer. Αντίθετα, σε μικρότερες αραιώσεις (από μη αραιωμένο, 1/2, 1/4, 1/8, 1/10, διαδοχικά μέχρι 1/40) όχι μόνο δεν ακολουθούν τον συγκεκριμένο νόμο, αλλά δείχνουν ποικίλα φασματοσκοπικά χαρακτηριστικά: στις πολύ μικρές αραιώσεις τα φάσματα απορρόφησης προσομοιάζουν ελαφρώς προς τα αντίστοιχα του ανέπαφου πετάλου, ενώ σε σταδιακά μεγαλύτερες αραιώσεις προσομοιάζουν με τα χαρακτηριστικά του πολύ αραιωμένου (1/640) δείγματος. Το σύνολο αυτών των παρατηρήσεων είναι συμβατό με αλληλεπίδραση χρωμοφόρων ουσιών, όπως άλλωστε έχει παρατηρηθεί και σε πέταλα άλλων ανθέων (Yoshida et al., 2009). Ακριβώς πριν την έναρξη αυτής της πτυχιακής μια ομάδα από την Ιαπωνία είχε αναφέρει την παρουσία τριών διαφορετικών ανθοκυανινών στα πέταλα του φυτού *L. annua* (Tatsuzawa et al., 2006, επίσης Εικόνα 37)). Προηγουμένως, η Στυλιανή Γρίβα με την Βασιλική Καραγιάννη, στα πλαίσια πτυχιακής της πρώτης στο ΤΕΙ Ηπείρου, ΤΑΑΤ, είχαν διακρίνει τρεις διαφορετικές χρωστικές στα άνθη λουνάριας, με χρωματογραφία λεπτής στοιβάδας (Γρίβα και συν. 2003, Γρίβα Στ. πτυχιακή). Η μέτρηση των διάφορων παραμέτρων στα φάσματα απορρόφησης ανέπαφων πετάλων ήταν δύσκολη λόγω της σημαντικής σκέδασης των πετάλων όταν τοποθετούνται στη σφαίρα ολοκλήρωσης. Μεταγενέστερες εργασίες από την Ιαπωνία έδειξαν ότι η προγενέστερη αφυδάτωση του πετάλου σε φιάλη Erlenmeyer υπό κενό, μπορεί να μειώσει την σκέδαση του πετάλου. Αυτό εφαρμόστηκε σε μεταγενέστερη πτυχιακή εργασία (Στεφανίδη, Μπορμπότσιαλου, Μπάδα), όπου μελετήθηκαν τα πέταλα ανθέων πολλών ανοιξιάτικων φυτών με μπλε-μωβ χρώμα: σε συνδυασμό με την τοποθέτηση

του αφυδατωμένου πετάλου σε κυψελίδα και την τοποθέτηση της κυψελίδας με πέταλο δίπλα από τον φωτοπολλαπλασιαστή, φαίνεται πια ξεκάθαρα η έκταση της σκέδασης του φωτός και μπορούν να υπολογιστούν οι φασματοσκοπικές παράμετροι με μεγαλύτερη ακρίβεια. Η ίδια πτυχιακή έδειξε ότι οι χρωστικές των ανθέων της *L. annua* συμπλοκοποιούνται με κάλιο ή/και μαγνήσιο.

Επιπλέον, μελετήθηκε σε προκαταρκτικά πειράματα ο φθορισμός του εκχυλίσματος πετάλων *L. annua* σε οξυνομένη μεθανόλη στο ορατό μέρος του φάσματος ($\lambda_{\text{διδεγ}} = 542 \text{ nm}$) και βρέθηκε, από τη μια αξιοσημείωτα υψηλός, και από την άλλη με μεγάλη διαφορά Stokes ($\lambda_{\text{μεγ}} \text{ εκπομπής φθορισμού} = 627 \text{ nm}$), κάτι που μπορεί να έχει εφαρμογές στο μέλλον.

Στη συνέχεια μελετήθηκαν τα φάσματα ανέπαφων πετάλων πολλών ανθέων με μπλε-μωβ χρώμα, όπως *Campanula patula* (καμπανούλα η ευρεία), *Cichorium intybus* (κιχώριο), ενός είδους *Lamiachea* (χειλανθή), *Malva sylvestris* (μολόχα), *Medicago sativa* (αγριομηδική) και *Salvia officinalis* (φασκόμηλο), σε σφαίρα ολοκλήρωσης. Σε όλες τις περιπτώσεις παρουσιάζεται μια κύρια κορυφή μεταξύ 550 και 580 nm με δευτερεύουσες κορυφές ή ώμους και από τις δύο πλευρές της κύριας. Επίσης υπάρχει ένα μεγάλο ελάχιστο κοντά στα 450 nm. Στη περίπτωση της *καμπανούλας της ευρείας* έγινε και εκχύλισμα των πετάλων σε οξυνομένη μεθανόλη, το οποίο εκχύλισμα σε αραιώση 1/10 έδειξε ενίσχυση της απορρόφησης κατά 6.49 φορές, σε σχέση με το μη αραιωμένο δείγμα, καθώς και μια απλή κωδωνοειδή καμπύλη με το $\lambda_{\text{μεγ}}$ ελαφρώς μετατοπισμένο προς τα κάτω, αλλά ενισχυμένη την απορρόφηση δείχνοντας ότι όντως υπάρχει και εδώ αλληλεπίδραση των χρωστικών. Η μεγάλη έκπληξη παρουσιάστηκε με την προσπάθεια εκχύλισης σε οξυνομένη μεθανόλη των ωραίων μπλε-μωβ πετάλων από άνθη φασκόμηλου (*Salvia officinalis*): μέσα σε μερικά δευτερόλεπτα το εντυπωσιακό κόκκινο χρώμα του εκχυλίσματος έγινε απότομα ανοιχτό καφέ! Δοκιμάστηκαν διάφορα άλλα μέσα εκχύλισης (κιτρικό, EDTA-NaOH, νερό) τα οποία είτε έδωσαν φάσματα γενικά μονότονα, είτε πολύπλοκα, τα οποία δεν προσομοιάζουν προς το χρώμα, και το φάσμα του πετάλου του φασκόμηλου. Οποσδήποτε το συγκεκριμένο άνθος χρήζει ιδιαίτερης διερεύνησης ώστε να διαπιστωθούν αφ' ενός οι χρωστικές που βρίσκονται στο πέταλο, και αφ' ετέρου η συγκεκριμένη διάταξή των στον χώρο, μέσα στα χυμοτόπια των ανθικών κυττάρων. Το μπλε χρώμα, ιδιαίτερα το λουλακί-γαλάζιο, είναι σπάνιο χρώμα στη φύση, ενώ το έντονο μπλε και τις αποχρώσεις του μωβ, είναι από τα πιο διαδεδομένα (Cruz et al., 2022· Denish et al., 2021· Fenger et al., 2021). Ενδιαφέρον θα έχει από αυτή την άποψη, να μεληθεί η/οι χρωστική/ές στο κιχώριο το οποίο έχει ένα ωραίο λουλακί-γαλάζιο χρώμα (παρούσα εργασία· Στεφανίδη Γ., Μπορμπότσιαλου Ν., Μπάδα Π, πτυχιακή εργασία, 2016).

Η εκχύλιση σε οξυνισμένη μεθανόλη, καθιερωμένη για πολλές δεκαετίες ως ο ενδεδειγμένος τρόπος απομόνωσης και μελέτης των χρωστικών από πέταλα ανθέων, αποδεικνύεται ότι παρ' ότι πολύ χρήσιμη έχει και τα όριά της. Οι μελλοντικές προσπάθειες άλλων ερευνητών θα πρέπει να εστιαστούν στην χρήση εναλλακτικών διαλυτών εκχύλισης. Ενδεικτικά αναφέρουμε ότι η εκχύλιση σε υδατικό διάλυμα 70 % αιθανόλης ή σε απεσταγμένο νερό, ή σε συγκεκριμένα υδατικά διαλύματα καθορισμένου pH έδειξε μια εκπληκτική ικανότητα των συγκεκριμένων διαλυτών να παράγουν φάσμα και χρώμα διαλύματος που προσομοιάζει προς αυτό του ανέπαφου πετάλου (Στεφανίδη, Μπορμπότσιαλου, Μπάδα, πτυχιακή εργασία 2016· Μπέζα Π, αδημοσίευτα αποτελέσματα).

Η Ελληνική γλωρίδα είναι η πλουσιότερη των Βαλκανίων και αυτή των Βαλκανίων η πλουσιότερη της Ευρώπης (Kid και Strid, 2009). Συνεπώς, πολλά χρώματα και συνδυασμοί χρωμάτων ανθέων προκύπτουν από συνδυασμούς χρωστικών με ή χωρίς μεταλλικά κατιόντα . Η αναζήτηση συγκεκριμένων φυσικών χρωμάτων από φυτά για βιομηχανική χρήση (τεχνολογία επεξεργασίας τροφίμων κλπ), έχει πάρει αξιοσημείωτες διαστάσεις τα τελευταία 20 χρόνια (Cruz et al., 2022· Fenger et al., 2021). Αναφέρουμε ενδεικτικά την πιθανή αντικατάσταση αιματοξυλίνης-ηωσίνης σε ιστολογικές εξετάσεις από χρωστικές μολόχας (Alshamar and Dapson, 2021), ή την χρήση νέας ανθοκυανίνης σε σύμπλοκο με το αργίλιο ως πηγή του λουλακί χρώματος (cyan), (Denish et al., 2021). Υπάρχει σοβαρό ενδεχόμενο να βρεθούν πολλές από τις ζητούμενες λύσεις σε τέτοιες χρωστικές Ελληνικών ανθέων, χωρίς την εξωγενή προσθήκη βλαβερών για τον άνθρωπο μεταλλικών κατιόντων, όπως το αργίλιο (Denish et al., 2021· Nabi and Tabassum, 2022).

E. Βιβλιογραφία

Alshamar HA, Dapson RW. 2021. Anthocyanins from a single botanical source can be used as a replacement for hemalum and eosin. *Biotech Histochem.* **96**:570-578. doi: 10.1080/10520295.2021.1966507.

Berg Jeremy M., Tymoczko John L., Stryer Lubert, and Gatto Gregory. Βιοχημεία, μετάφραση στα Ελληνικά, 8th edition, W.H. Freeman and Co., 2015, New York. Πανεπιστημιακές Εκδόσεις Κρήτης, Ηράκλειο, 2017. Κεφάλαιο 19, Φωτοσύνθεση· Κεφάλαιο 34, Αισθητικά συστήματα.

Castañeda-Ovando A, Ma. de Lourdes Pacheco-Hernández, Ma. Páez-Hernández E, Rodríguez JA, Galán-Vidal CA. Chemical studies of anthocyanins: A review. *Food Chemistry* **113**, 859–871, 2009.

Cruz L, Basílio N, Mateus N, de Freitas V, Pina F. 2022. Natural and Synthetic Flavylium-Based Dyes: The Chemistry Behind the Color. *Chem Rev.* **122**:1416-1481. doi: 10.1021/acs.chemrev.1c00399.

Γεωργάνου Π, Θωμαΐδου Α, Σακαγιάννη Α, Σαμαράς Ι, Καραγιάννη Β, Κύρκας Δ, Παπαδόπουλος ΓΚ. Το πορφυρό χρώμα των πετάλων στο φυτό *Campanula versicolor*: Μεταχρωματισμός λόγω συμπύκνωσης των χρωμοφόρων στα χυμοτόπια. Παρουσιάστηκε στο 24^ο συνέδριο της Ελληνικής Εταιρείας Επιστήμης Οπωροκηπευτικών, 20-24 Οκτωβρίου, 2009, Βέροια.

Γρίβα Στυλιανή. Χρωστικές ανθέων με βιοχημικές μεθόδους στο φυτό *Lunaria annua*. Πτυχιακή εργασία, Σχολή Τεχνολογίας Γεωπονίας, Τμήμα Ανθοκομίας Αρχιτεκτονικής Τοπίου, Τ.Ε.Ι. Ηπείρου, 2008. Επιβλέπων καθηγητής: Γ.Κ. Παπαδόπουλος.

Γρίβα Σ, Κύρκας Δ, Μάντζος Ν, Σάββας Δ, Παπαδόπουλος ΓΚ, Καραγιάννη Β. Μελέτη χρωστικών ανθέων στο φυτό *Lunaria annua* με χρήση βιοχημικών τεχνικών. Παρουσιάστηκε στο 21^ο Ετήσιο Συνέδριο της Ελληνικής Εταιρείας Επιστήμης Οπωροκηπευτικών, Ιωάννινα, 8-10 Οκτωβρίου 2003.

De Caro, Cosimo A. *UV/VIS Spectrophotometry - Fundamentals and Applications*, Book, Mettler-Toledo International, September 2015. <https://www.researchgate.net/publication/321017142>.

de Pascual-Teresa, Sonia, & Sanchez-Ballesta Maria Teresa. Anthocyanins: from plant to health. *Phytochemistry Reviews* **7**, 281–299, (2008).

Denish PR, Fenger JA, Powers R, Sigurdson GT, Grisanti L, Guggenheim KG, Laporte S, Li J,

Kondo T, Magistrato A, Moloney MP, Riley M, Rusishvili M, Ahmadiani N, Baroni S, Dangles O, Giusti M, Collins TM, Didzbalis J, Yoshida K, Siegel JB, Robbins RJ. 2021. Discovery of a natural cyan blue: A unique food-sourced anthocyanin could replace synthetic brilliant blue. *Sci Adv* **7**:eabe7871. doi: 10.1126/sciadv.abe7871.

Dey PM, and Harborne JB. (eds). *Plant Biochemistry*, Academic Press, London, NY, 1997.

Δρακονταειδή Α, Καφετζόγλου Κ, Κορομηλά Ι, Στεφανίδου Μ, Μουστάκας ΑΚ, Καραγιάννη Β, Κύρκας Δ, Πατακιούτας Γ, Παπαδόπουλος ΓΚ. Μοριακά χαρακτηριστικά των χρωμοφώρων ουσιών στο φυτό *Campanula versicolor* μέσω φασματοφωτομετρικών τεχνικών. Παρουσιάστηκε στο 24^ο συνέδριο της Ελληνικής Εταιρείας Επιστήμης Οπωροκηπευτικών, 20-24 Οκτωβρίου, 2009, Βέροια.

Duncan AM, Phipps WR, Kurzer MS. Phyto-oestrogens. *Best Pract Res Clin Endocrin Metab.* **17**, 253-271, 2003.

Εγκυκλοπαίδεια Πάπυρος Λαρούς Μπριτάννικα, λήμματα για φυτά,

Fenger J-A, Sigurdson GT, Robbins RJ, Collins TM, Giusti MM, Dangles O. 2021. Acylated Anthocyanins from Red Cabbage and Purple Sweet Potato Can Bind Metal Ions and Produce Stable Blue Colors. *Int. J. Mol. Sci.* **22**, 4551. <https://doi.org/10.3390/ijms22094551>

Hempel de Ibarra N, Vorobyev M, Menzel R. Mechanisms, functions and ecology of colour vision in the honeybee. *J Comp Physiol A*, **200**, 411–433, 2014.

Iwashina T. Contribution to Flower Colors of Flavonoids Including Anthocyanins: A Review. *Nat. Prod. Commun.* **10**, 529-544, 2015.

Lunaria annua, Missouri Botanical Gardens.

<https://www.missouribotanicalgarden.org/PlantFinder/PlantFinderDetails.aspx?taxonid=278072>

Mori M, Kondo T, Yoshida K. Cyanosalvianin, a supramolecular blue metalloanthocyanin, from petals of *Salvia uliginosa*. *Phytochemistry* **69**, 3151-3158, 2008. doi: 10.1016/j.phytochem.2008.03.015.

Nabi M, Tabassum N. 2022. Role of Environmental Toxicants on Neurodegenerative Disorders. *Front Toxicol.* **4**:837579. doi: 10.3389/ftox.2022.837579.

Παπιομύτογλου Βαγγέλη, *Αγριολούλουδα της Ελλάδας*, Εκδόσεις Mediterraneo, Αθήνα 2006.

Ross RT, Melvin C. Thermodynamics of Light Emission and Free-Energy Storage in Photosynthesis. *Biophysical Journal*, **7**:595-614, 1967.

Simpson KL, Chichester CO. Metabolism and nutritional significance of carotenoids. *Annu Rev Nutr.* 1981;1:351-74. doi: 10.1146/annurev.nu.01.070181.002031. PMID: 6764720.

Stavenga DG, van der Kooi CJ. 2016. Coloration of the Chilean Bellflower, *Nolana paradoxa*, interpreted with a scattering and absorbing layer stack model. *Planta* 243:171–181, DOI.10.1007/s00425-015-2395-0.

Στεφανίδη Γεωργία, Μπορμπότσιαλος Νικόλαος, Μπάδας Παναγιώτης. Μελέτη των φασματοσκοπικών χαρακτηριστικών εποχιακών ανθέων με κυανό χρώμα και αποχρώσεις του. Πτυχιακή εργασία, Σχολή Τεχνολογίας Γεωπονίας και Τεχνολογίας Τροφίμων και Διατροφής, Τμήμα Τεχνολόγων Γεωπόνων - Κατεύθυνση Ανθοκομίας - Αρχιτεκτονικής Τοπίου, Τ.Ε.Ι. Ηπείρου, 2016. Επιβλέπων καθηγητής: Γ.Κ. Παπαδόπουλος. <http://apothetirio.teiep.gr/xmlui/handle/123456789/5297>.

Tan Kit, Strid Arne, *Ελληνικά αγριολούλουδα*, μετάφραση: Διονύσης Μέρμυγκας, ζωγραφική: Νίκη Γουλανδρή. Εκδόσεις Μίλητος, Μουσείο Γουλανδρή Φυσικής Ιστορίας, Αθήνα 2009.

Tatsuzawa F, Saito N, Shinoda K, Shigihara A, Honda T. 2006. Acylated cyanidin 3-sambubioside-5-glucosides in three garden plants of the Cruciferae. *Phytochemistry* 67:1287–1295.

Trouillas P, Sancho-García JC, De Freitas V, Gierschner J, Otyepka M, Dangles O. Stabilizing and Modulating Color by Copigmentation: Insights from Theory and Experiment. *Chem Rev* 116, 4937-4982, 2016.

van der Kooi CJ, Elzenga JTM, Staal M, Stavenga DG. 2016. How to colour a flower: on the optical principles of flower coloration. *Proc. R. Soc. B* 283: 20160429.

van Holde K, Curtis Johnson W, Shing HP. *Βιοφυσική: Αρχές Φυσικής Βιοχημείας*. 2011. Εκδόσεις Έμβρυο-Στυλιανός Βασιλειάδης, Αθήνα.

Yoshida K, Mihoko M, and Kondo T. Blue flower color development by anthocyanins: from chemical structure to cell physiology. *Nat. Prod. Rep.*, 26, 884–915, 2009.

Διαδικτυακές πηγές (κατ' αλφαβητική σειρά)

<https://commons.wikimedia.org/w/index.php?curid=517624>

<https://commons.wikimedia.org/w/index.php?curid=34915724>

<https://commons.wikimedia.org/w/index.php?curid=3855289>

<https://docplayer.gr/21059230-Hromatografiailektroforisi-proteinon.html>

<https://www.greekflora.gr/el/flowers/2615/Campanula-patula>

<https://slideplayer.gr/slide/14237677/>

<https://slideplayer.gr/slide/11974596/>

<https://slideplayer.gr/slide/16724602/97/images/11/>

<https://slideplayer.gr/slide/11246046/>

<https://slideplayer.gr/slide/15177851>

<https://www.cup.gr/book/viochimia-4i-elliniki-ekdosi/www.digitalzoot.weebly.com>

[www.dreamstime.com](https://www.intechopen.com/books/food-industry/differentiated-foods-for-consumers-with-new-demands)

<https://el.wikipedia.org/wiki/%CE%A7%CE%BB%CF%89%CF%81%CE%BF%CF%86%CF%8D%CE%BB%CE%BB%CE%B7>

https://el.wikipedia.org/wiki/Χρωματογραφία_χάρτου

<https://el.wikipedia.org/wiki/Φυτό>

https://en.wikipedia.org/wiki/Anthocyanin#Anthocyanin-rich_plants

<https://en.wikipedia.org/wiki/Aurone>

https://en.wikipedia.org/wiki/Frederick_Gowland_Hopkins

<https://lpi.oregonstate.edu/mic/dietary-factors/phytochemicals/carotenoids#food-sources>

<https://lpi.oregonstate.edu/mic/dietary-factors/phytochemicals/carotenoids#introduction>

<https://lpi.oregonstate.edu/mic/dietary-factors/phytochemicals/flavonoids#chemical-structures>

www.arctic.gr

www.kpe-kastor.kas.sch.gr

www.marmot237.blogspot.com

<http://mediplantepirus.med.uoi.gr>

www.quora.com

www.phytokomia.gr

www.ptslideshare.net

www.wordpress.com

www.wikipedia.org/wiki/Ηλεκτρομαγνητικό_φάσμα

wikimedia.org/wikipedia/commons/7/78/Campanula_patula_Dzwonek_rozpierzchły_2020-06-07_05.jpg

<https://www.wildflowersprovence.fr/plant/cichorium-intybus/>

