



ΤΕΙ ΗΠΕΙΡΟΥ

**ΣΧΟΛΗ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΓΕΩΠΟΝΙΑΣ ΚΑΙ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ
ΤΡΟΦΙΜΩΝ ΚΑΙ ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ**

ΤΜΗΜΑ ΦΥΤΙΚΗΣ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ

**Μελέτη των Φασματοσκοπικών
Χαρακτηριστικών του Εποχιακού Άνθους
*Delphinium sp.***



ΥΠΕΥΘΥΝΗ ΣΠΟΥΔΑΣΤΡΙΑ: ΜΑΓΟΥΛΑ ΜΑΡΙΝΑ

ΥΠΕΥΘΥΝΟΣ ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ: ΜΠΕΖΑ ΠΑΡΑΣΚΕΥΗ

‘ΑΡΤΑ, 2019

Study of spectroscopic characteristics of the seasonal flower
Delphinium sp.

Εγκρίθηκε από τριμελή εξεταστική επιτροπή

Άρτα, 25/09/2019

ΕΠΙΤΡΟΠΗ ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗΣ

1. Επιβλέπων καθηγητής
Παρασκευή Μπέζα
PhD, Υπηρετούσα Λέκτορας

2. Μέλος επιτροπής
Γεώργιος Πατακιούτας
PhD, Αναπληρωτής Καθηγητής

3. Μέλος επιτροπής
Νικόλαος Μάντζος
Μέλος ΕΔΙΠ

© Μαγουλά Μαρίνα,2019.

Με επιφύλαξη παντός δικαιώματος. Allrightsreserved.

Δήλωση μη λογοκλοπής

Δηλώνω υπεύθυνα και γνωρίζοντας τις διατάξεις του Ν. 2121/1993 περί Πνευματικής Ιδιοκτησίας, ότι η παρούσα μεταπτυχιακή 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.

Μαγουλά Μαρίνα

Υπογραφή

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Για το γράψιμο αυτής της πτυχιακής εργασίας ευχαριστώ θερμά τον καθηγητή μου κ. Γεώργιο Κ. Παπαδόπουλο για την πολύτιμη βοήθεια του, τους Κύρκα Δημήτριο, Μάντζο Νικόλαο και τη Μπέζα Παρασκευή για την γενικότερη βοήθεια τους.

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η μελέτη των φασματοσκοπικών χαρακτηριστικών του φυτού *Delphinium sp*, αφορά την καταγραφή των φασμάτων απορρόφησης των πετάλων και των εκχυλισμάτων του. Ακολουθήθηκαν συγκεκριμένες διαδικασίες που απέδωσαν ποικίλα συμπεράσματα προς αυτό για τις χρωστικές του ιδιότητες στο ορατό και υπεριώδες φως.

Λέξεις-κλειδιά: *Delphinium sp*, εκχύλιση, φάσμα απορρόφησης, χρωστικές ανθέων, κυκλικός διχρωισμός, χρωματογραφία λεπτής στοιβάδας

ABSTRACT

The study of the spectroscopic characteristics of the plant *Delphinium sp* relates to the recording of the absorption spectra of the petals and their extracts. Some specific procedures were followed that yielded various conclusions about it for its pigment properties in visible and ultraviolet light.

Key words: *Delphinium sp*, extraction, absorption spectrum, flower pigments, circular bicolor, thin layer chromatography

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ.....	6
ΠΕΡΙΛΗΨΗ.....	7
ABSTRACT.....	8
ΠΙΝΑΚΑΣ ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΩΝ.....	9
ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΔΙΑΓΡΑΜΜΑΤΩΝ/ΕΙΚΟΝΩΝ.....	12
ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΠΙΝΑΚΩΝ.....	14
ΕΙΣΑΓΩΓΗ.....	17
Φως.....	18
Διάθλαση φωτός.....	18
Ανάκλαση.....	19
Απορρόφηση.....	19
Διάχυση φωτός.....	19
Ηλεκτρομαγνητικό φάσμα.....	20
Υπέρυθρη ακτινοβολία	20
Ορατό φως.....	20
Λευκό φως	21
Υπεριώδης ακτινοβολία.....	21
Ανάλυση φωτός.....	21

ΠΕΡΙ ΓΡΑΦΗ ΤΟΥ ΦΥΤΟΥ ΠΟΥ ΧΡΗΣΙΜΟΠΟΙΗΘΗΚΕ

ΔΕΛΦΙΝΙΟ (*Delphinium sp.*).....23

ΣΚΟΠΟΣ25

ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ.....26

ΣΚΕΥΗ.....26

ΔΙΑΛΥΜΑΤΑ ΚΑΙ ΑΛΑΤΑ.....26

ΜΕΘΟΔΟΙ27

Αφυδάτωση φρέσκων πετάλων.....27

Αποξήρανση αφυδατωμένων πετάλων.....27

Λειοτριβίση-Εκχύλιση.....27

Αραίωση.....27

Προσθήκη αλάτων27

Φασματοσκοπία27

Χρωματογραφία λεπτής στοιβάδος.....27

Κυκλικός Διχρωισμός.....27

Εγκάρσιες Τομές27

**ΒΗΜΑΤΑ ΓΙΑ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΑ ΤΟΥ ΦΑΣΜΑΤΟΦΩΤΟΜΕΤΡΟΥ
SHIMADZU UV2501**28

Μέθοδος χρωματογραφίας.....30

Μέθοδος Κυκλικού Διχρωισμού.....31

ΒΗΜΑΤΑ ΓΙΑ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΑ ΚΥΚΛΙΚΟΥ ΔΙΧΡΩΙΣΜΟΥ.....	33
--	----

ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ ΤΟΥ ΦΥΤΟΥ

<i>Delphinium sp</i>	35
----------------------------	----

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ	42
---------------------------	----

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΣΥΖΗΤΗΣΗ	101
--	-----

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	104
---------------------------	-----

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΔΙΑΓΡΑΜΜΑΤΩΝ/ΕΙΚΟΝΩΝ

Εικόνα 1: Ανάλυση φωτός.....	21
Εικόνα 2-2α: <i>Delphinium sp.</i>	23
Εικόνα 3: Φασματοφωτόμετρο.....	28
Εικόνα 4: Γυάλινο δοχείο λεπτής στοιβάδας.....	31
Εικόνα 5: Όργανο Κυκλικού Διχρωισμού.....	27
Εικόνα 6-7/ Φάσμα 1: Πυκνό εκχύλισμα <i>Delphinium sp.</i> σε κυψελίδα 1mm.....	42-43
Φάσμα 1.1: Πυκνό εκχύλισμα <i>Delphinium sp.</i> σε κυψελίδα 1mm (800-400 nm).....	44
Εικόνα 8/ Φάσμα 2: Φάσμα από σέπαλο <i>Delphinium sp.</i> με έντονο χρώμα.....	45-46
Φάσμα 2.1: Φάσμα από σέπαλο <i>Delphinium sp.</i> με έντονο χρώμα (800-400 nm).....	46
Φάσμα 3: Φάσμα από σέπαλο του φυτού <i>Delphinium sp.</i> με αχνό χρώμα.....	48
Φάσμα 3.1: Φάσμα από σέπαλο του φυτού <i>Delphinium sp.</i> με αχνό χρώμα(800-400 nm).....	49
Φάσμα 3.2: Φάσμα από σέπαλο του φυτού <i>Delphinium sp.</i> με αχνό χρώμα (400-220 nm).....	49
Εικόνα 9/ Φάσμα 4: Φάσμα από σέπαλο <i>Delphinium sp.</i> (σε μπλε χρωματισμό μόνο σε ραβδώσεις και στο τελικό άκρο, αλλά λευκό χρωματισμό στο υπόλοιπο σέπαλο).....	52
Φάσμα 4.1: Φάσμα από σέπαλο <i>Delphinium sp.</i> (σε μπλε χρωματισμό μόνο σε ραβδώσεις και στο τελικό άκρο, αλλά λευκό χρωματισμό στο υπόλοιπο σέπαλο) (800-220 nm).....	53
Φάσμα 4.2: Φάσμα από σέπαλο <i>Delphinium sp.</i> (σε μπλε χρωματισμό μόνο σε ραβδώσεις και στο τελικό άκρο, αλλά λευκό χρωματισμό στο υπόλοιπο σέπαλο) (800-400 nm).....	53
Εικόνα 10/ Φάσμα 5: Φάσμα αφυδατωμένου σέπαλου <i>Delphinium sp.</i>	55-56
Φάσμα 5.1: Φάσμα αφυδατωμένου σέπαλου <i>Delphinium sp.</i> (800-400 nm).....	56
Εικόνα 11/ Φάσμα 6: Φάσμα από σέπαλο (μη αφυδατωμένο) <i>Delphinium sp.</i> (σε λάθος θέση στη κυψελίδα 1mm).....	58
Εικόνα 12/ Φάσμα 7: Φάσμα από σέπαλο (μη αφυδατωμένο) <i>Delphinium sp.</i> (σε σωστή θέση, στη κυψελίδα μήκους οπτικής διαδρομής 1mm).....	58-59
Εικόνα 13/ Φάσμα 8: Φάσμα απορρόφησης του αραιωμένου(1:2) εκχυλίσματος σέπαλων σε διάλυμα 70% EtOH, από το φυτό <i>Delphinium sp.</i> σε κυψελίδα 1mm.....	62-63
Φάσμα 8.1: Φάσμα απορρόφησης του αραιωμένου(1:2) εκχυλίσματος σέπαλων σε διάλυμα 70% EtOH, από το φυτό <i>Delphinium sp.</i> σε κυψελίδα 1mm (800-400 nm).....	64

Φάσμα 8.2: Φάσμα απορρόφησης του αραιωμένου(1:2)εκχυλίσματος σέπαλων σε διάλυμα70% EtOH, από το φυτού <i>Delphinium sp.</i> σε κυψελίδα 1mm (400-220 nm).....	64
Εικόνα 14/ Φάσμα 9: Σέπαλο Φάσμα απορρόφησης του αραιωμένου (1:4) εκχυλίσματος σέπαλων σε διάλυμα70% EtOH, από το φυτού <i>Delphinium sp.</i> σε κυψελίδα 1 mm.....	67
Φάσμα 9.1: Σέπαλο Φάσμα απορρόφησης του αραιωμένου (1:4) εκχυλίσματος σέπαλων σε διάλυμα70% EtOH, από το φυτού <i>Delphinium sp.</i> σε κυψελίδα 1 mm 9800-400 nm).....	68
Φάσμα 9.2: Σέπαλο Φάσμα απορρόφησης του αραιωμένου (1:4) εκχυλίσματος σέπαλων σε διάλυμα70% EtOH, από το φυτού <i>Delphinium sp.</i> σε κυψελίδα 1 mm (400-220 nm).....	68
Φάσμα 10: Σέπαλο αφυδατωμένο <i>Delphinium sp</i> (650-250 nm)σε κυψελίδα 1mm από Κυκλικό Διχρωισμό.....	71
Φάσμα 11: Εκχύλισμα <i>Delphinium</i> (1/4 αραιώση) (400-220 nm)σε κυψελίδα 1mm από Κυκλικό Διχρωισμό.....	71
Φάσμα 12: Εκχύλισμα <i>Delphinium sp</i> (1/4 αραιώση) (400-250 nm) σε κυψελίδα 1mm από Κυκλικό Διχρωισμό.....	72
Φάσμα 13: Εκχύλισμα <i>Delphinium sp</i> (600-400 nm) σε κυψελίδα 1mm από Κυκλικό Διχρωισμό.....	73
Φάσμα 14: Σέπαλο του φυτού <i>Delphinium sp</i> (650-250 nm) σε κυψελίδα 1mm από Κυκλικό Διχρωισμό.....	74
Εικόνα 15/ Φάσμα 15: Προσθήκη ισχυρής βάσης (NaOH) σε υδατικό εκχύλισμα του φυτού <i>Delphinium sp.</i>	75-76
Φάσμα 15.1: Προσθήκη ισχυρής βάσης (NaOH) σε υδατικό εκχύλισμα του φυτού <i>Delphinium sp</i> (800-400 nm).....	76
Εικόνα 16/ Φάσμα 16: Προσθήκη πυκνού οξέος (HCl) σε υδατικό εκχύλισμα του φυτού <i>Delphinium sp</i>	77
Φάσμα 16.1: Προσθήκη πυκνού οξέος (HCl) σε υδατικό εκχύλισμα του φυτού <i>Delphinium sp.</i>	78
Εικόνα 17/ Φάσμα 17: Προσθήκη CaCl ₂ σε εκχύλισμα του φυτού <i>Delphinium sp.</i>	80-81
Φάσμα 17.1: Προσθήκη CaCl ₂ σε εκχύλισμα του φυτού <i>Delphinium sp.</i>	82
Φάσμα 18: Προσθήκη MgCl ₂ σε εκχύλισμα του φυτού <i>Delphinium sp.</i>	83
Φάσμα 18.1: Προσθήκη MgCl ₂ σε εκχύλισμα του φυτού <i>Delphinium sp</i>	83
Φάσμα 19: Προσθήκη KCl ₂ σε εκχύλισμα του φυτού <i>Delphinium sp.</i>	84
Φάσμα 19.1: Προσθήκη KCl ₂ σε εκχύλισμα του φυτού <i>Delphinium sp.</i>	84

Εικόνα 18/ Φάσμα 20: Προσθήκη (CaCl_2 , MgCl_2 , KCl , FeCl_3) σε εκχύλισμα του φυτού <i>Delphinium sp</i> για εντοπισμό μετάλλων.....	85-86
Φάσμα 20.1: Προσθήκη (CaCl_2 , MgCl_2 , KCl , FeCl_3) σε εκχύλισμα του φυτού <i>Delphinium sp</i> για εντοπισμό μετάλλων.....	86
Φάσμα 21: Προσθήκη CaCl_2 (24hrs) σε εκχύλισμα του φυτού <i>Delphinium sp</i>	88
Φάσμα 21.1: Προσθήκη CaCl_2 (24hrs) σε εκχύλισμα του φυτού <i>Delphinium sp</i>	88
Φάσμα 22: Προσθήκη MgCl_2 (24hrs) σε εκχύλισμα του φυτού <i>Delphinium sp</i>	89
Φάσμα 22.1: Προσθήκη MgCl_2 (24hrs) σε εκχύλισμα του φυτού <i>Delphinium sp</i>	89
Φάσμα 23: Προσθήκη KCl (24hrs) σε εκχύλισμα του φυτού <i>Delphinium sp</i>	90
Φάσμα 23.1: Προσθήκη KCl (24hrs) σε εκχύλισμα του φυτού <i>Delphinium sp</i>	90
Εικόνα 19-20/ Φάσμα 24: Εκχύλιση του φυτού <i>Delphinium sp</i> με οξυνισμένη μεθανόλη.....	92-93
Φάσμα 24.1: Εκχύλιση του φυτού <i>Delphinium sp</i> με οξυνισμένη μεθανόλη.....	93
Εικόνα 21: Εκχύλιση με νερό.....	94
Εικόνα 22: Εκχύλιση με 70% αιθανόλη.....	94
Εικόνα 23: Εκχύλιση με οξυνισμένη μεθανόλη.....	94
Εικόνα 24-25: Διαδικασία χρωματογραφίας Forestall.....	95
Εικόνα 26: Αποτελέσματα χρωματογραφίας Forestall.....	95
Εικόνα 27: Διαδικασία χρωματογραφίας με Βουτανόλη.....	96
Εικόνα 28-29: Αποτελέσματα χρωματογραφίας με Βουτανόλη.....	96
Εικόνα 30: Διαδικασία χρωματογραφίας με Βουτανόλη και Οξυνισμένη μεθανόλη.....	97
Εικόνα 31: Αποτελέσματα χρωματογραφίας	97
Εικόνα 32-33-34: Αποτελέσματα χρωματογραφίας	98
Εικόνα 35-36-37: Εγκάρσια τομή στο <i>Delphinium sp</i>	99-100

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΠΙΝΑΚΩΝ

Πίνακας 1: Φασματοσκοπικά χαρακτηριστικά απορρόφησης εκχυλίσματος <i>δελφινίου</i> στο ορατό, ταξινομημένα από $\lambda_{\text{ελάχιστο}} (\lambda_{\text{min}})$ μέχρι $\lambda_{\text{μέγιστο}} (\lambda_{\text{max}})$ όπως προκύπτουν στα Φάσματα 1. και 1.1.....	44
---	----

Πίνακας 2: Φασματοσκοπικά χαρακτηριστικά απορρόφησης στο ορατό σέπαλου *δελφινίου* με έντονη απορρόφηση, ταξινομημένα από $\lambda_{\text{ελάχιστο}} (\lambda_{\text{min}})$ μέχρι $\lambda_{\text{μέγιστο}} (\lambda_{\text{max}})$ όπως προκύπτουν από τα Φάσματα 2. και 2.1.....47

Πίνακας 3: Φασματοσκοπικά χαρακτηριστικά απορρόφησης στο ορατό σέπαλου *δελφινίου* με αχνή απορρόφηση, ταξινομημένα από $\lambda_{\text{ελάχιστο}} (\lambda_{\text{min}})$ μέχρι $\lambda_{\text{μέγιστο}} (\lambda_{\text{max}})$50

Πίνακας 4: Φασματοσκοπικά χαρακτηριστικά απορρόφησης στο υπεριώδες σέπαλου *δελφινίου* με αχνή απορρόφηση, ταξινομημένα από $\lambda_{\text{ελάχιστο}} (\lambda_{\text{min}})$ μέχρι $\lambda_{\text{μέγιστο}} (\lambda_{\text{max}})$51

Πίνακας 5: Φασματοσκοπικά χαρακτηριστικά απορρόφησης στο ορατό σέπαλου *δελφινίου* με λευκό υπόβαθρο και μπλε ραβδώσεις (Εικόνα 9, Φάσμα 4), ταξινομημένα από $\lambda_{\text{ελάχιστο}} (\lambda_{\text{min}})$ μέχρι $\lambda_{\text{μέγιστο}} (\lambda_{\text{max}})$54

Πίνακας 6: Φασματοσκοπικά χαρακτηριστικά απορρόφησης στο υπεριώδες σέπαλου *δελφινίου* με λευκό υπόβαθρο και μπλε ραβδώσεις (Εικόνα 9, Φάσμα 4.2), ταξινομημένα από $\lambda_{\text{ελάχιστο}} (\lambda_{\text{min}})$ μέχρι $\lambda_{\text{μέγιστο}} (\lambda_{\text{max}})$54

Πίνακας 7: Φασματοσκοπικά χαρακτηριστικά απορρόφησης στο ορατό αφυδατωμένου σέπαλου *δελφινίου* (Φάσμα 5), ταξινομημένα από $\lambda_{\text{ελάχιστο}} (\lambda_{\text{min}})$ μέχρι $\lambda_{\text{μέγιστο}} (\lambda_{\text{max}})$57

Πίνακας 8: Φασματοσκοπικά χαρακτηριστικά απορρόφησης στο ορατό του δεύτερου αφυδατωμένου σέπαλου *δελφινίου* (Εικόνα 12, Φάσμα 7A), ταξινομημένα από $\lambda_{\text{ελάχιστο}} (\lambda_{\text{min}})$ μέχρι $\lambda_{\text{μέγιστο}} (\lambda_{\text{max}})$61

Πίνακας 9: Φασματοσκοπικά χαρακτηριστικά απορρόφησης στο ορατό αραιωμένου εκχυλίσματος (1:2 σε 70 % αιθανόλη) σέπαλου *δελφινίου* (Εικόνα 13, Φάσματα 8 και 8.1), ταξινομημένα από $\lambda_{\text{ελάχιστο}} (\lambda_{\text{min}})$ μέχρι $\lambda_{\text{μέγιστο}} (\lambda_{\text{max}})$65

Πίνακας 10: Φασματοσκοπικά χαρακτηριστικά απορρόφησης στο υπεριώδες αραιωμένου εκχυλίσματος (1:2 σε 70 % αιθανόλη) σέπαλου *δελφινίου* (Εικόνα 13, Φάσμα 8.2), ταξινομημένα από $\lambda_{\text{ελάχιστο}} (\lambda_{\text{min}})$ μέχρι $\lambda_{\text{μέγιστο}} (\lambda_{\text{max}})$66

Πίνακας 11: Φασματοσκοπικά χαρακτηριστικά απορρόφησης στο ορατό αραιωμένου εκχυλίσματος (1:4 σε 70 % αιθανόλη) σέπαλου *δελφινίου* (Εικόνα 14, Φάσματα 9 και 9.1), ταξινομημένα από $\lambda_{\text{ελάχιστο}} (\lambda_{\text{min}})$ μέχρι $\lambda_{\text{μέγιστο}} (\lambda_{\text{max}})$69

Πίνακας 12: Φασματοσκοπικά χαρακτηριστικά απορρόφησης στο υπεριώδες αραιωμένου εκχυλίσματος (1:4 σε 70 % αιθανόλη) σέπαλου *δελφινίου* (Εικόνα 14, Φάσμα 9.2), ταξινομημένα από $\lambda_{\text{ελάχιστο}} (\lambda_{\text{min}})$ μέχρι $\lambda_{\text{μέγιστο}} (\lambda_{\text{max}})$70

ΠΙΝΑΚΑΣ 13: Αδρή περιγραφή των φασματοσκοπικών χαρακτηριστικών εκχυλίσματος σέπαλων δελφινίου μετά από προσθήκη ισχυρής βάσης ή οξέος.....78

Αρχή του γενικού μέρους

Εισαγωγή

Στα πλαίσια της πτυχιακής εργασίας μελετήθηκαν τα φασματοσκοπικά χαρακτηριστικά του εποχιακού άνθους *Delphinium sp.*, με κυανό χρώμα και τις αποχρώσεις του. Μάθαμε τη βασική αρχή της λειτουργίας του φασματοφωτόμετρου ορατού-υπεριώδους, που αξιοποιεί την απορρόφηση της ακτινοβολίας με μήκος κύματος που κυμαίνεται από 200 έως 800 nm. Η αρχή αυτής της τεχνικής βασίζεται στο νόμο των Lambert-Beer, ο οποίος ορίζει ότι την ένταση(ποσότητα κβάντων φωτός ανά μονάδα χρόνου, ανά μονάδα επιφάνειας) του φωτός που προσπίπτει σε ένα διάλυμα I_0 , και την ποσότητα του φωτός που απορροφάται από αυτό $I_0 - I$, σε σχέση με την περιεκτικότητα σε διαλυμένη ουσία(άρα η ένταση εξερχόμενου φωτός ισούται με I). Συγκεκριμένα εκφράζεται από τον τύπο:

$$A = \epsilon Cl = \log \frac{I_0}{I}$$

όπου ϵ είναι η μοριακή απορρόφηση (δηλ. η απορρόφηση που θα είχε διάλυμα 1M της ουσίας), l το μήκος του δείγματος (πάχος κυψελίδας σε cm), και C η συγκέντρωση της διαλυμένης ουσίας (σε mole/L). Το A είναι ο λογάριθμος του λόγου εντάσεως προσπίπτοντος φωτός προς την ένταση του φωτός που τελικά εισέρχεται από το διάλυμα, $\log \frac{I_0}{I}$ χωρίς μονάδες, μια και είναι καθαρός αριθμός.

Ακόμη, στην εργασία μελετήθηκε η χρωματογραφία λεπτής στοιβάδας και ο κυκλικός διχρωσμός, όπου αυτό ήταν απαραίτητο.

Μερικές γενικές έννοιες

Παρακάτω παρατίθενται κάποιοι ορισμοί για την καλύτερη κατανόηση της πτυχιακής εργασίας.

Φως : Ονομάζεται η ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία που ανιχνεύεται από το ανθρώπινο μάτι (οφθαλμό) και που εκλαμβάνεται ως αίσθηση (αντίληψη) αυτής. Συνεπώς είναι το αίτιο της όρασης.

Όμως αυτό το "ορατό" φως 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).

Ανάλογα με τις εκάστοτε συνθήκες το φως εκδηλώνει ιδιότητες είτε φωτεινού κύματος, (φωτεινή ακτίνα), είτε δέσμης σωματιδίων, (φωτεινή δέσμη ή δέσμες), κάτι που αποδείχθηκε περίτρανα από το φωτοηλεκτρικό φαινόμενο όπως το ερμήνευσε ο Einstein.

Το φως ως εγκάρσιο κύμα (κατεύθυνση διάδοσης κάθετη προς τη κατεύθυνση ταλάντωσης του κύματος) ορίζεται από την ταχύτητα του c , το μήκος κύματός του, λ , και τη συχνότητά του, ν .

Αυτά τα μεγέθη τα διέπει η σχέση: $c = \lambda \cdot \nu$

Τα στοιχειώδη σωματίδια-κύματα (κβάντα) φωτός ονομάζονται φωτόνια.

Η ενέργεια τους προκύπτει από τη σχέση:

$$E = h \cdot \nu = \frac{h \cdot c}{\lambda}$$

όπου:

h = σταθερά του Planck

ν = συχνότητα φωτός

c = ταχύτητα φωτός

λ = μήκος κύματος

Διάθλαση φωτός: Το φως όταν πέφτει στην διαχωριστική επιφάνεια δυο οπτικώς διαφανών σωμάτων αλλάζει πορεία. Το φαινόμενο αυτό λέγεται

διάθλαση. Όταν το φως μεταβαίνει από οπτικώς αραιότερο σώμα σε οπτικώς πυκνότερο σώμα τότε η προσπίπτουσα ακτίνα πλησιάζει την κάθετο που περνάει από το σημείο πρόσπτωσης στη διαχωριστική επιφάνεια. Εάν μεταβαίνει από οπτικώς πυκνότερο σώμα σε οπτικώς αραιότερο σώμα απομακρύνεται από την κάθετο.

Η διάθλαση του φωτός συμβαίνει λόγω της διαφορετικής ταχύτητας του φωτός στα διαφορετικά οπτικώς διαφανή μέσα σε άλλα οπτικώς πυκνότερα μέσα.

Ανάκλαση: Το φως όταν πέφτει πάνω στην επιφάνεια ενός λείου και στιλπνού σώματος αλλάζει κατεύθυνση διάδοσης. Το φαινόμενο λέγεται *ανάκλαση* του φωτός.

Ο τρόπος με τον οποίο ανακλάται το φως εξαρτάται από το υλικό την ανακλαστικής επιφάνειας. Η γωνία που σχηματίζει η προσπίπτουσα ακτίνα με την κάθετο στο σημείο πρόσπτωσης ονομάζεται γωνία πρόσπτωσης. Η γωνία που σχηματίζει η ανακλώμενη ακτίνα με την κάθετο στο σημείο πρόσπτωσης λέγεται γωνία ανάκλασης. Η γωνία πρόσπτωσης είναι ίση με τη γωνία ανάκλασης. Οι επιφάνειες που προκαλούν το φαινόμενο της "ολικής ανάκλασης" φωτεινής δέσμης ονομάζονται κάτοπτρα (καθρέπτες).

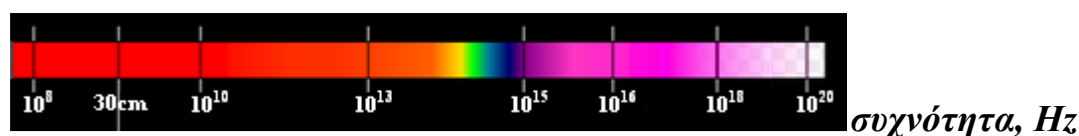
Απορρόφηση: Χαρακτηρίζεται η διεργασία με την οποία ενέργεια ή ύλη εισέρχεται σ' ένα σύστημα ενεργό ή παθητικό.

Ο όρος *απορρόφηση ενέργειας* χρησιμοποιείται μόνο 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 θεμελιώδη ενεργειακή στάθμη σε κάποια υψηλότερη (διεγερμένη), απορροφώντας την ενέργεια του, το οποίο έτσι εξαφανίζεται. Τα σωματίδια αυτά, μπορούν να χάσουν την απορροφούμενη ενέργεια είτε μέσω ανταλλαγής θερμότητας είτε λόγω επανεκπεμπόμενης ακτινοβολίας. Αυτή η απορρόφηση ενέργειας μετράται με τη μέθοδο της Φασματοσκοπίας.

Διάχυση φωτός: Είναι ειδική περίπτωση του φαινομένου της ανάκλασης που παρατηρείται όταν φωτεινά κύματα κατά τη πρόσπτωσή τους 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 τραχείες 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 καθώς και για τις απόλυτα λείες και στιλπνές (π.χ. κάτοπτρα).

Ηλεκτρομαγνητικό φάσμα: Ονομάζεται το εύρος της περιοχής συχνοτήτων που καλύπτουν τα ηλεκτρομαγνητικά κύματα. Το ηλεκτρομαγνητικό φάσμα εκτείνεται θεωρητικά από σχεδόν μηδενικές συχνότητες έως το άπειρο. Με βάση κάποιες χαρακτηριστικές ιδιότητες των ηλεκτρομαγνητικών κυμάτων το ηλεκτρομαγνητικό φάσμα χωρίζεται σε επιμέρους ζώνες. Αυτές είναι: *τα ραδιοκύματα , τα μικροκύματα, η υπέρυθρη ακτινοβολία, η ορατή ακτινοβολία (φως), η υπεριώδης ακτινοβολία, οι ακτίνες X και οι ακτίνες γ, και η κοσμική ακτινοβολία.*



Ραδιοκύματα · Μικροκύματα · Υπέρυθρες · Ορατό φως · Υπεριώδεις · Ακτίνες X · Ακτίνες γ

Παρατήτηση στις εξής ζώνες:

Υπέρυθρη ακτινοβολία: Καλύπτει ζώνη συχνοτήτων από 300 GHz – 400 THz (μήκους κύματος) και η ενέργεια των φωτονίων της είναι από 10⁻³- 1,6 eV. Υπέρυθρη ακτινοβολία εκπέμπουν όλα τα σώματα λόγω θερμότητας. Βρίσκει πολλές εφαρμογές στην τεχνολογία. Οι υπέρυθρες ακτίνες χρησιμοποιούνται στα οπτικά ηλεκτρονικά μέσα όπως τα CD player, στις ηλεκτρονικές επικοινωνίες με οπτικές ίνες αλλά και με ασύρματη εκπομπή υπέρυθρων.

Ορατό Φως: Η ζώνη του ορατού φωτός είναι μία στενή ζώνη του φάσματος της ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας, στην οποία είναι ευαίσθητο το αισθητήριο της όρασης των ζωντανών οργανισμών. Καλύπτει περιοχή συχνοτήτων 400-800 THz (μήκους κύματος 750 - 375 nm) και η ενέργεια των φωτονίων κυμαίνεται από 1,6 - 3,2 eV. Το ορατό φάσμα χωρίζεται σε επιμέρους ζώνες τις οποίες το ανθρώπινο μάτι τις αντιλαμβάνεται ως διαφορετικά χρώματα.

Λευκό Φως: Το λευκό φως συντίθεται αν συνδυάσουμε σε κατάλληλες αναλογίες τα βασικά χρώματα πράσινο, μπλε και κόκκινο.

Υπεριώδης ακτινοβολία: Καλύπτει την περιοχή συχνοτήτων από 800 THz – 3.000 THz (μήκους κύματος 375 - 100 nm) και η ενέργεια των φωτονίων της είναι μεταξύ 3 eV - 2000 eV . Εκπέμπεται από εξαιρετικά θερμά σώματα όπως τα άστρα. Η υπεριώδης είναι ακτινοβολία υψηλής ενέργειας και αρκετά επιβλαβής για τους ζωντανούς ιστούς.

Ανάλυση του φωτός: Όταν μια φωτεινή δέσμη λευκού φωτός συναντήσει τη διαχωριστική επιφάνεια δύο διαφανών μέσων θα παρουσιάσει διάθλαση των φωτεινών της ακτίνων σε διαφορετικές διευθύνσεις και διαφορετικό χρώμα ή κάθε κατεύθυνση. Αυτό το φαινόμενο μπορεί να παρατηρηθεί καλύτερα αν η παράλληλη δέσμη του λευκού φωτός συναντήσει ένα διαφανές πρίσμα. Επειδή αυτό παρουσιάζει διαφορές στη τιμή του δείκτη διάθλασης για κάθε διαφορετικό μήκος κύματος φωτεινής ακτίνας η αρχική δέσμη αναλύεται σε επιμέρους ομόχρωμες δέσμες με ελαφρώς διαφορετικές διευθύνσεις.



Εικόνα 1: Ανάλυση φωτός (πηγή: www.saragoudas.gr) (04/05/2019)

Αυτές οι διαφορετικές κατά χρώμα και διεύθυνση ακτίνες αν στη συνέχεια προσπέσουν σε μια λευκή οθόνη (πέτασμα) θα προκύψει μια έγχρωμη ταινία που ονομάζεται "**ορατό φάσμα**". Τα άκρα αυτής της ταινίας απολήγουν με τα χρώματα κόκκινο και ιώδες. Η σειρά των χωμάτων αυτών είναι: **Κόκκινο, πορτοκαλί, κίτρινο, πράσινο, ανοιχτό και βαθύ μπλε και ιώδες**. Αν μια από αυτές τις αναδυόμενες ακτίνες οδηγηθεί σε άλλο πρίσμα θα διαπιστωθεί ότι αυτή δεν θα αναλυθεί περαιτέρω αλλά το μόνο που θα υποστεί θα είναι να αλλάξει διεύθυνση. Τούτο σημαίνει ότι τα φωτόνια της συγκεκριμένης δέσμης έχουν την αυτή συχνότητα, δηλαδή το ίδιο μήκος κύματος.

Την ανάλυση του φωτός ως φάσμα, εξετάζει με ειδικά όργανα η **Φασματοσκοπία**.

ΠΕΡΙ ΓΡΑΦΗ ΤΟΥ ΦΥΤΟΥ ΠΟΥ ΧΡΗΣΙΜΟΠΟΙΗΘΗΚΕ

Στην πτυχιακή εργασία που είχε διάρκεια από το Μάιο μέχρι τον Ιούλιο του 2016 και από το Μάιο μέχρι τον Ιούλιο του 2017 συλλέχθηκε το εποχιακό φυτό *Delphinium sp.*. Το φυτό συλλέχθηκε από δυο περιοχές της πόλης της Άρτας (Παλιό γεφύρι της Άρτας και Κωστακιοί Άρτας)

Η φωτογράφιση έγινε με την χρήση κινητού τηλεφώνου και σε ορισμένες περιπτώσεις με τη χρήση φωτογραφικής μηχανής true color, από το εργαστήριο του Καθηγητή Κου. Σωτήρη Κανδρέλη.

Delphinium sp. (Δελφίνιο)

Βασίλειο: Φυτά

Συνομοταξία: Αγγειόσπερμα

Τάξη: Ranunculales

Οικογένεια: Ranunculaceae

Γένος: *Delphinium*

Είδος: *sp.*



Εικόνα 2-2α: *Delphinium sp* (πηγή: www.pinterest.com(20-10-17))

Το φυτό *Delphinium sp.*, ή αλλιώς Δελφίνιο ή αγριοσταφίδα είναι ετήσια και πολυετής πόα με μεγάλες όρθιες ταξιανθίες. Αναπτύσσεται σε ηλιόλουστες προστατευμένες από τους δυνατούς ανέμους θέσεις και μέτρια υγρά, γόνιμα εδάφη. Φυτεύονται σε συνθέσεις και ομάδες. Τα άνθη τους μπορούν να χρησιμοποιηθούν και ως δρεπτά. Τα ετήσια είδη πολλαπλασιάζονται με σπόρους, ενώ τα πολυετή είδη με μοσχεύματα. Είναι δηλητηριώδες φυτό, αλλά σε μικρές ποσότητες δίνει εξαιρετικά θεραπευτικά αποτελέσματα.

Φτάνει σε ύψος 1 μέτρου και είναι χνουδωτό, με φύλλα σε σχήμα παλάμης. Τα άνθη του είναι σκουρογαλάζια και φυτρώνουν πολλά μαζί σε τσαμπί.

Άλλες ονομασίες του φυτού είναι: Ψειροβότανο και Αγριοσταφίδα.

Χρήσεις:

Από πολύ παλιά, χρησιμοποιούνταν οι κοπανισμένοι σπόροι του φυτού ως αλοιφή ενάντια στις ψείρες, στην ψωρίαση κτλ. Σήμερα οι σπόροι αυτοί χρησιμοποιούνται ως "βάμμα" για επαλείψεις κατά των εκζεμάτων, αλλά και ενάντια σε νευραλγίες και πονόδοντους. Ακόμη με τα φύλλα φτιάχνουμε αφέψημα που κάνει καλό στο άσθμα και στα χαλασμένα δόντια.

Συστατικά :

Το δελφίνιο περιέχει ένα αλκαλοειδές της ίδιας ομάδας με την ακονιτίνη, την καλκατριπίνη. Το φυτό εμπεριέχει 1% αλκαλοειδή (ντεζολίνη και ντελκοζίνη), καθώς και δύο χρωστικές, μία κυανή (δελφινίνη) και μία κίτρινη (καιμπερόλη). (<http://mediplantepirus.med.uoi.gr>)

Γενικά το δελφίνιο είναι δηλητηριώδες φυτό, εξαιτίας της δελφινίνης ή δελφιδίνης που περιέχει και θα πρέπει να χρησιμοποιείται σε μικρές δόσεις σύμφωνα με τις ιατρικές οδηγίες. Άλλα συστατικά των σπόρων είναι στεαρίνη, λιπαρές ουσίες, λάδι, γόμα, άμυλο, φυτικό λεύκωμα, πτητικό οξύ και άλατα.

ΣΚΟΠΟΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ

Σκοπός της παρούσας πτυχιακής ήταν να μελετηθούν φασματοσκοπικά τα εκχυλίσματα του φυτού *Delphinium sp* σε νερό(H₂ O) και 70% αιθανόλη και οι αραιώσεις τους.

Αρχικά στο υδατικό εκχύλισμα του φυτού, έγινε προσθήκη αλάτων ώστε να παρατηρηθούν ορισμένες αλλαγές από το αρχικό εκχύλισμα τόσο στην αλλαγή χρώματος του εκχυλίσματος όσο και φασματοσκοπικά.

Στην συνέχεια έγινε προσθήκη CaCl₂ , MgCl₂ , KCl₂ και FeCl₃ για τον εντοπισμό μετάλλων στο υδατικό εκχύλισμα του φυτού *Delphinium sp*. Επιπροσθέτως μελετήθηκαν ξεχωριστά τα σέπαλα του φυτού. Η διαδικασία που ακολουθήθηκε έγινε με κεντρική ή χωρίς κεντρική νεύρωση στο σέπαλο.

Ακόμη ελέγχθηκε φασματοσκοπικά το εκχύλισμα του φυτού *Delphinium sp* με οξυνισμένη μεθανόλη. Τέλος ελέγχθηκε το εκχύλισμα του *Delphinium sp* σε χρωματογραφία FORESTAL και Βουτανόλη.

ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

❖ ΦΩΤΟΓΡΑΦΗΣΗ

Η φωτογράφιση έγινε με την χρήση κινητού τηλεφώνου και σε ορισμένες περιπτώσεις με τη χρήση φωτογραφικής μηχανής true color, από το εργαστήριο του Καθηγητή Κου. Σωτήρη Κανδρέλη.

❖ ΣΚΕΥΗ

- Ποτήρι ζέσεως 50 mL,
- Δοκιμαστικοί σωλήνες
- Κωνική φιάλη με γυάλινη πλάγια είσοδο 100 mL (για αφυδάτωση)
- Ογκομετρικοί κύλινδροι 25 mL, 50 mL, 100 mL, 1000 mL
- Κυψελίδες χαλαζία και γυάλινες οπτικής διαδρομής 1 cm και 1 mm.
- Υδροβολείς
- Χωνί
- Λαβίδα
- Διηθητικό χαρτί
- Σιφόνια ρυθμιζόμενου όγκου 1-10 μL , 5-50 μL , 20-200 μL , 100-1000 μL , 200-1000 μL
- Ηλεκτρονικός ζυγός
- Γουδί λειοτρίβισης
- Γουδοχέρι

❖ ΔΙΑΛΥΜΑΤΑ και ΑΛΑΤΑ

- Διάλυμα Αιθανόλης 70 % (v/v) : 70 mL αιθανόλης (EtOH) και συμπλήρωση με απιοντισμένο νερό (H₂O) μέχρι τα 100 mL
 - Διάλυμα Οξυνισμένης Μεθανόλης: 100 mL μεθανόλη (MetOH) και 100 μL πυκνό υδροχλωρικό οξύ (HCl)
 - Χλωριούχος Τρισθενής Σίδηρος FeCl₃, (Άλας)

- Χλωριούχο Ασβέστιο (Άλας)
- Χλωριούχο Κάλιο (Άλας)
- Χλωριούχο Μαγνήσιο (Άλας)
- Κιτρικό οξύ 100 mM αραιωμένο (0,21 g κιτρικό οξύ σε 10 mL H₂ O)
- Βουτανόλη 1 N αραιωμένη
- Απιοντισμένο νερό
- Οξικό οξύ, 1 N, αραιωμένο. (70 mL H₂ O και γίνεται προσθήκη 5,80 mL από πυκνό οξικό οξύ (CH₃COOH) και συμπληρώνω μέχρι τα 100 mL με H₂ O)
- Οξικό οξύ 0,1 N αραιωμένο (1000 μL 1 N οξικό οξύ και 9 mL H₂O)

❖ ΜΕΘΟΔΟΙ

- **Αφυδάτωση φρέσκων πετάλων:** (Σε κωνική φιάλη εξαέρωσης μέσω ροής ύδατος προστέθηκε απιοντισμένο νερό και βάζουμε 4 πέταλα. Έπειτα ανοίχτηκε η βρύση αφήνοντάς την να τρέχει και στη συνδέθηκε με το σιφώνιο αποχέτευσης για 10').
- **Λειοτρίβιση – Εκχύλιση:** (Σε γουδί λειοτρίβισης τοποθετούνται τα φρέσκα πέταλα μαζί με διάλυμα αιθανόλης 70 % (v/v) ή απιοντισμένο νερό και λειοτριβούμε).
- **Αραίωση:** (Σε καινούριο δοκιμαστικό σωλήνα έγινε αραίωση του αρχικού πυκνού εκχυλίσματος ανακατεύοντας ίση ποσότητα διαλύματος αιθανόλης 70 % (v/v) και εκχυλίσματος σε διάλυμα 70 % (v/v) αιθανόλη).
- **Προσθήκη αλάτων:** (Σε δοκιμαστικό σωλήνα με εκχύλισμα αραιωμένο 1:8 προστέθηκαν κόκκοι αλάτων (μεταλλικά κατιόντα) , σταδιακά και γίνεται ανάδευση).
- **Φασματοσκοπία:** (Τοποθετείται μέσα στο Φασματοφωτόμετρο το δείγμα και ελέγχθηκε το φάσμα απορρόφησης του).
- **Χρωματογραφία Λεπτής Στοιβάδας:** (Σε δοχείο χρωματογραφίας εισάγεται 9 mL διαλύματος αιθανόλης 70 % (v/v), 100 μL Οξικό οξύ 0,1N και 1 mL Βουτανόλη και γίνεται προσθήκη στα χαρτιά χρωματογραφίας με τα δείγματα).
- **Κυκλικός Διχρωισμός:** (Τοποθετείται μέσα στο όργανο Κυκλικού Διχρωισμού(φασματοπλωσίμετρο) το δείγμα και καταγράφεται το σήμα και την απορροφητικότητα του).
- **Εγκάρσιες τομές:** (εγκάρσιες τομές στο άνθος του δελφινίου και παρατήρηση τους στο μικροσκόπιο)

ΒΗΜΑΤΑ ΓΙΑ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΑ ΤΟΥ ΦΑΣΜΑΤΟΦΩΤΟΜΕΤΡΟΥ SHIMADZU UV2501



Εικόνα 3: Φασματοφωτόμετρο Shimadzu UV2501 που χρησιμοποιήθηκε για την πτυχιακή αυτή

1. Ξεσκεπάζεται ο υπολογιστής και το Φασματοφωτόμετρο από τα πλαστικά τους καλύμματα. (όταν τα όργανα δεν έχουν τεθεί ακόμα σε λειτουργία).
2. Ανοίγετε ο υπολογιστής.
3. Στο πάνω μέρος του φασματοφωτόμετρου ανοίγεται το 'πορτάκι' που καλύπτει τον θάλαμο εισαγωγής δειγμάτων και αφαιρείται από μέσα τα σακούλια με τις υγροσκοπικές ουσίες (silica gel) και μετά κλείνεται το 'πορτάκι'.
4. Ανοίγετε το Φασματοφωτόμετρο από το κουμπί (αριστερή πλευρά) και ανοίγετε και το πρόγραμμα (UV Probe) στον υπολογιστή.
5. Πατάτε στον υπολογιστή την ένδειξη connect και περιμένετε να ελεγχθούν όλοι οι παράγοντες λειτουργίας του φασματοφωτόμετρου (όλες οι ενδείξεις πράσινες).

Για να πάρετε μέτρηση για τυφλό:

A. Για φάσμα ολόκληρου ή τμήματος πετάλου

1. Ανοίγετε το 'πορτάκι' και βάζετε μια ή δύο κυψελίδα/(ες), ανάλογα με το αν έχουμε μέτρηση απλής ή διπλής δέσμης, στη υποδοχή απέναντι από την ένδειξη δείγμα (sample) και αναφορά (reference) μετά κλείνετε ερμητικά το 'πορτάκι' ώστε να μην εισέρχονται ηλιακές ακτίνες φωτός μέσα στο θάλαμο.

2. Στον υπολογιστή, στο πρόγραμμα πατάτε την ένδειξη baseline (απορρόφηση τυφλού) ρυθμίζετε τα αντίστοιχα μήκη κύματος αρχής και τέλους του φάσματος (σε νανόμετρα, nm) και περιμένετε.

3. Όταν τελειώσει αφαιρείται τη/(ις) κυψελίδα/(ες) και κλείνετε το πορτάκι.

B. Για φάσμα διπλής δέσμης:

1. Ανοίγετε το 'πορτάκι' και τοποθετείτε δύο όμοιες κυψελίδες (matched cuvettes) με διαλύτη για φάσμα διπλής μέτρησης, με τα ανοίγματα καλυμμένα, στη υποδοχή απέναντι από reference (αναφορά) και sample (δείγμα), και μετά κλείνετε το 'πορτάκι'.

Για να πάρετε φάσμα απορρόφησης:

A. Για φάσμα ολόκληρου ή τμήματος πετάλου

1. Ανοίγετε το 'πορτάκι' και τοποθετείτε μια κυψελίδα όπου έχουμε τοποθετήσει πέταλο παράλληλα με τη μεγάλη επιφάνεια του χαλαζία με το δείγμα στη υποδοχή απέναντι από το δείγμα και μετά κλείνετε το 'πορτάκι'.

B. Για φάσμα ουσίας ή ουσιών σε διάλυμα

1. Ανοίγετε το 'πορτάκι' και τοποθετείτε δύο κυψελίδες με όμοια φασματοσκοπικά χαρακτηριστικά (matched cuvettes) με διαλύτη και με δείγμα σε διαλύτη, με τα ανοίγματα των κυψελίδων καλυμμένα (ώστε να μην κυκλοφορούν ατμοί από πτητικούς διαλύτες), στις υποδοχές απέναντι από reference και sample, αντίστοιχα, και μετά κλείνετε το 'πορτάκι' του θαλάμου.

2. Πατάτε start στο πρόγραμμα, στην οθόνη του υπολογιστή και περιμένετε να ολοκληρωθεί η καταγραφή του φάσματος απορρόφησης.

3. Όταν τελειώσει η καταγραφή γράφετε τα στοιχεία σας και τα τυχόν σχόλια αναφορικά με το συγκεκριμένο δείγμα και σώζετε τα δεδομένα στα δικά σας αρχεία.

4. Αν χρειαστεί κάνετε επανάληψη.

5. Τελειώνοντας αφαιρείτε τις κυψελίδες με τα δείγματα και τερματίζουμε τη λειτουργία του υπολογιστή και του φασματοφωτόμετρου.

6. Τοποθετείστε πίσω τις σακούλες με τις υγροσκοπικές ουσίες και κλείνουμε το 'πορτάκι'.

7. Καλύπτετε τον υπολογιστή και το Φασματοφωτόμετρο με τα καλύμματα τους.

ΣΗΜΕΙΩΣΕΙΣ:

- 1.** Επειδή ο λαμπτήρας υπεριώδους φωτός είναι ακριβός, όλες οι μετρήσεις που αφορούν το υπεριώδες φως ($\lambda < 400 \text{ nm}$) φροντίζετε να γίνονται προγραμματισμένα και στο μικρότερο δυνατό χρονικό διάστημα. Αυτό, επειδή το μηχάνημα ανοίγει και τον λαμπτήρα του ορατού και του υπεριώδους μαζί.
- 2.** Οι κυψελίδες όταν περιέχουν διάλυμα ή διαλύτη τοποθετούνται πάντα με καλυμμένη την ανοιχτή επιφάνεια τους μέσα στον θάλαμο του δείγματος. Οι οργανικοί διαλύτες αποτελούν απειλή για τα πρίσματα του φασματοφωτόμετρου, και πρέπει τα δείγματα να παραμένουν μέσα στο θάλαμο μόνον για όσο χρόνο χρειάζεται ώστε να καταγραφεί το φάσμα τους.
- 3.** Τις κυψελίδες τις πλένετε προσεκτικά με καθαρή αιθανόλη και τις αφήνετε να στεγνώσουν πριν τις αποθηκεύσουμε στα αντίστοιχα κουτιά.

Μέθοδος Χρωματογραφίας

Η χρωματογραφία (Chromatography) είναι μια τεχνική στην οποία το δείγμα τοποθετείται στην μία άκρη ενός υλικού προσρόφησης που ονομάζεται ακίνητη ή στατική φάση. Στην συνέχεια αυτό εκκλύεται (ξεπλένεται) από την κινητή φάση (έναν υγρό διαλύτη ή ένα αέριο) η οποία κινείται προς την άλλη άκρη της ακίνητης φάσης. Όσες ουσίες είναι πολύ διαλυτές στην κινητή φάση και προσροφώνται λίγο από την ακίνητη φάση "τρέχουν" πρώτες, ενώ όσες προσροφώνται ισχυρά κινούνται πιο αργά. Το αποτέλεσμα είναι ο διαχωρισμός τους. Στην χρωματογραφία λεπτής στιβάδας χρησιμοποιείται λεπτή στιβάδα προσροφητικού υλικού που στηρίζεται πάνω σε λεία επιφάνεια (συνήθως οξειδίο πυριτίου ή αλουμίνα πάνω σε γυάλινη πλάκα). Έχει πολύ καλύτερη ικανότητα διαχωρισμού από την χρωματογραφία χάρτου. Επίσης επιτρέπει την εμφάνιση "αόρατων" ουσιών με πολύ πιο έντονα μέσα (π.χ. διαβροχή με θειικό οξύ - κάτι που θα κατέστρεφε το χαρτί).



Εικόνα 4: Γυάλινο δοχείο Χρωματογραφίας λεπτής στιβάδας

(πηγή: <https://eclass.upatras.gr>)

Μέθοδος Κυκλικού Διχρωισμού

Κατά τη μέθοδο αυτή, η ακτινοβολία χωρίζεται σε δυο κυκλικά πολωμένες συνιστώσες, μια δεξιόστροφα και μια αριστερόστροφα, οι οποίες περνούν μέσα από ένα διαμορφωτή που υπόκειται σε εναλλασσόμενο ηλεκτρικό πεδίο, με αποτέλεσμα οι δύο συνιστώσες να μεταδίδονται με διαφορά φάσης. Αν το δείγμα είναι οπτικά ενεργό, η μία συνιστώσα απορροφάται από αυτό σε μεγαλύτερο βαθμό από την άλλη και η εξερχόμενη ακτινοβολία είναι ελλειπτικά πολωμένη. Το όργανο καταγράφει την ελλειπτικότητα συναρτήσει του μήκους κύματος της ακτινοβολίας. Ο κυκλικός Διχρωισμός (circular dichroism, CD) εκφράζεται είτε ως διαφορά απορρόφησης των δύο συνιστωσών $\Delta A = A_L - A_R$ ($A_L = A$ κυκλικά αριστερά πολωμένου και $A_R = A$ κυκλικά δεξιά πολωμένου) ή ως ελλειπτικότητα σε μοίρες. Η μη πολωμένη ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία, που είναι εγκάρσιο κύμα, μπορούμε να θεωρήσουμε ότι είναι η συνισταμένη ενός δεξιόστροφα και ενός αριστερόστροφα κυκλικά πολωμένου κύματος, που δεν έχουν μεταξύ τους διαφορά φάσης. Ο κυκλικός διχρωισμός είναι μια μέθοδος καταγραφής της διαφορετικής απορροφητικότητας ενός δείγματος σε

δεξιόστροφα και αριστερόστροφα κυκλικά πολωμένου φωτός. Αυτή η διαφορά απορροφητικότητας (που μπορεί να είναι πολύ μικρή, μέχρι μερικά μέρη ανά 10.000) σχετίζεται κατ' αρχήν με την ύπαρξη ασύμμετρων ατόμων άνθρακα (δηλ. δεσμευμένων με απλούς δεσμούς με τέσσερις διαφορετικούς υποκατάστατες). Κατά δεύτερο λόγο μπορεί να προκύψει από αλληλεπιδράσεις μεταξύ διαφορετικών τμημάτων ενός μορίου τα οποία απορροφούν φως σε διαφορετικά μήκη κύματος. Επιπλέον των ως άνω μηχανισμών, η κανονική γεωμετρική διάταξη στον χώρο ολόκληρων μορίων (π.χ. χρωστικές ανθέων, Yasuda και συν. 1990) ή τμημάτων τους (π.χ. πολυπεπτιδικών κορμών σε διάταξη α -έλικας ή β -πτυχωτής επιφάνειας, Berg και συν. 2012). Το μηχάνημα το οποίο επιτρέπει τη μέτρηση αυτών των πολύ μικρών διαφορών λέγεται φασματοπωλοσίμετρο (Εικόνα 5). Αποτελείται από μια πηγή ορατού και υπεριώδους φωτός, ένα μηχανισμό παραγωγής δεξιόστροφα και αριστερόστροφα κυκλικά πολωμένου φωτός, τον θάλαμο τοποθέτησης δείγματος και έναν ευαίσθητο φωτοπολλαπλασιαστή μέτρησης του κυκλικού διχρωισμού. Επειδή το υπεριώδες φως (κυρίως $\lambda < 200$ nm) αντιδρά με το αέριο οξυγόνο για τη παραγωγή όζοντος, το οποίο είναι πολύ αντιδραστικό με όλες τις επιφάνειες, ιδιαίτερα τα ευαίσθητα και ακριβά πρίσματα του οπτικού μηχανισμού του οργάνου, το όργανο διατρέχεται διαρκώς και αδιαλείπτως από αέριο άζωτο, ώστε να εκτοπιστεί από μέσα του όλο το ατμοσφαιρικό οξυγόνο.



Εικόνα 5: Όργανο Κυκλικού Διχρωισμού συνδεδεμένο με αέριο άζωτο

ΒΗΜΑΤΑ ΓΙΑ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΑ ΤΟΥ ΚΥΚΛΙΚΟΥ ΔΙΧΡΩΙΣΜΟΥ

1. Το αέριο N₂ (άζωτο) είναι το πρώτο πράγμα που ανοίγεται και το τελευταίο που κλείνεται. Περιέχεται σε μια όρθια οβίδα η οποία στηρίζεται στον τοίχο μέσω αλυσίδων, ώστε η 1^η στρόφιγγα να πρέπει να δείχνει μέγιστο μέχρι 200 bar (ευθέως ανάλογο της περιεκτικότητας σε άζωτο της οβίδας) και η 2^η στρόφιγγα (ρυθμός ροής N₂ από την οβίδα στο όργανο) 4-6 lit/min.
2. Ανοίγει το όργανο.
3. Ανοίγει ο ρυθμιστής θερμοκρασίας
4. Ανοίγεται λίγο τη βρύση. Θα πρέπει να τρέχει διαρκώς νερό. Προσοχή, δεν πρέπει να υπάρξει ούτε η ελάχιστη διαρροή νερού προς τον θάλαμο μέτρησης του δείγματος.
5. Ανοίγετε τον υπολογιστή.
6. Στην οθόνη του υπολογιστή παρατηρείται το εικονίδιο spectra manager και το ανοίγετε.
7. Πατάτε spectrum measurement και περιμένετε μέχρι τα 170 sec ώστε να πλημμυρίσει το μηχάνημα με άζωτο.
8. Από τη γραμμή εργαλείων πατάτε measurement-accessory-temperature και ρυθμίζετε τη θερμοκρασία που θέλετε (σταθερά θερμοκρασία, 20°C, εκτός αν κάνετε μετρήσεις σε διαφορετική σταθερή θερμοκρασία).
9. Από τη γραμμή εργαλείων πατάτε control-accessory-temperature-apply.
10. Τοποθετείτε την κυψελίδα με το δείγμα μέσα στο μηχάνημα προσέχοντας να είναι πάντα κουμπωμένη κλείνοντας πάντα στο τέλος το καπάκι του θαλάμου μέτρησης.
11. Για να αρχίσει προσαρμογή της θερμοκρασίας πατάτε το start στον ρυθμιστή θερμοκρασίας.
12. Τέλος πατάτε measurement-parameters και ρυθμίζετε τις παραμέτρους που θέλω (nm, ημερομηνία, όνομα φακέλου μήκος οπτικής διαδρομής της κυψελίδας και κατάσταση διαλύτη, επίπεδο ανάλυσης μέτρησης (συνήθως low για να μην κάνει θόρυβο), θερμοκρασία)
13. Το κλείσιμο γίνεται ακριβώς αντίστροφα από το άνοιγμα, δηλαδή πρώτα κλείνετε τον υπολογιστή, μετά το νερό, μετά τον ρυθμιστή θερμοκρασίας, μετά το όργανο και τέλος (μετά από 2 λεπτά) την παροχή αζώτου.

Για μέτρηση αναφοράς

Στο πρόγραμμα του υπολογιστή επιλέγεται το κατάλληλο baseline. Σε περίπτωση που δεν υπάρχει αναφορά άλλων δειγμάτων στην βιβλιοθήκη φασμάτων αναφοράς τυφλών δειγμάτων, παίρνετε τη κατάλληλη κυψελίδα προσθέτοντας τον συγκεκριμένο διαλύτη και καταγράφετε τη μέτρηση αναφοράς. Όταν τελειώσει η μέτρηση, πατάτε Parameters και γράφετε τα σχόλια από το baseline και αποθηκεύετε σε συγκεκριμένο φάκελο.

Βρίσκετε το κατάλληλο baseline από τον φάκελο, το επιλέγετε και πατάτε την επιλογή baseline correct, αυτόματα το όργανο θα αφαιρεί από την κάθε τιμή μέτρησης σε συγκεκριμένο μήκος κύματος την τιμή του δείγματος στον συγκεκριμένο διαλύτη για κάθε μήκος κύματος. Βάζετε μέσα στο θάλαμο μέτρησης του οργάνου το δείγμα. Αφού έχετε επιλέξει στον υπολογιστή όλες τις παραμέτρους πατάτε Ok και μετά Start. Καταγράφετε το φάσμα κυκλικού διχρωισμού του συγκεκριμένου δείγματος. Το αποθηκεύετε και επαναλαμβάνετε πατώντας rpt. Η καταγραφή γίνεται σε 2 πλαίσια. Το 1ο δείχνει το σήμα και το 2ο δείχνει είτε την απορροφητικότητα του είτε την τάση υπό την οποία βρίσκεται ο κρύσταλλος.

ΣΗΜΕΙΩΣΕΙΣ:

1. Ποτέ να μη μείνει το όργανο σε λειτουργία χωρίς άζωτο.
2. Επιτρέπει μετρήσεις διαφορών απορροφητικότητας 1:10.000 σε διάφορα μήκη κύματος.
3. Μετράει τη διαφορά απορροφητικότητας αριστερόστροφου και δεξιόστροφου κυκλικού πολωμένου φωτός.
4. Ο κρύσταλλος παράγει κυκλικά πολωμένο φως (δεξιά- αριστερά). Μετράει αλληλεπιδράσεις μορίων που απορροφούν φως. Επειδή $\Delta A = A_L - A_R$ μπορεί να έχει και αρνητική τιμή.
5. Ο κυκλικός διχρωισμός μπορεί να οφείλεται σε διάφορες αιτίες (ενδογενής οπτική ενεργότητα της ουσίας, αλληλεπιδράσεις μεταξύ μορίων ή τμημάτων μακρομορίων, κανονική γεωμετρική διάταξη αλληλεπιδρώντων μορίων στον τρισδιάστατο χώρο). Στις τελευταίες δύο περιπτώσεις τα αλληλεπιδρώντα μόρια ή τμήματα μορίων δεν χρειάζεται να έχουν ενδογενή οπτική ενεργότητα.

ΕΙΔΙΚΟΣ ΜΕΡΟΣ

Υλικά και Μέθοδοι

Διεργασία εκχύλισης:

Έγινε συλλογή του φυτού *Delphinium sp* (Δελφίνιο) από την περιοχή Κωστακίων Άρτας και το φυτό καθαρίστηκε ώστε να μείνουν μόνο τα πέταλα του. Στη συνέχεια ζυγίστηκαν τα πέταλα και το βάρος τους ήταν 0,79 g. Έγινε λειοτρίβιση σε γουδί με 7 ml διαλύματος αιθανόλης 70% (v/v). Διηθήθηκε όλο το εκχύλισμα μέσα από ένα χωνί με διηθητικό χαρτί Whatman σε ένα δοκιμαστικό σωλήνα. Κλείστηκε ο δοκιμαστικός σωλήνας και κρατήθηκε το εκχύλισμα από τη λειοτρίβιση σε γυάλινο δοχείο των 100 ml καλύπτοντάς το με αλουμινόχαρτο (Η διεργασία εκχύλισης πραγματοποιήθηκε 6 φορές, με το ίδιο βάρος πετάλων του φυτού).

Φασματομέτρηση

Χρησιμοποιήθηκαν 2 κυψελίδες χαλαζία (Q) 1 mm, προστέθηκε διάλυμα αιθανόλης 70 % (v/v) και πάρθηκε φάσμα μηδενικής απορρόφησης στα 800-220 nm. Στη συνέχεια προστέθηκε το πυκνό εκχύλισμα του Δελφινίου στην μια κυψελίδα η οποία και τοποθετήθηκε στη θέση "δείγμα" στο θάλαμο μέτρησης και ελέγχτηκε το φάσμα απορρόφησης στο ίδιο εύρος μηκών κύματος.

Αραιώσεις Εκχυλισμάτων

- ❖ Σε καινούριο δοκιμαστικό σωλήνα προστέθηκαν 750 μL διαλύματος αιθανόλης 70% (v/v) και 750 μL από το αρχικό εκχύλισμα *Delphinium* με 70% αιθανόλη. Τοποθετήθηκε σε κυψελίδα 1 mm, και ελέγχτηκε το φάσμα του αραιωμένου (1/2) εκχυλίσματος.

- ❖ Έγινε 2^η αραίωση σε καινούριο δοκιμαστικό σωλήνα και προστέθηκε 600 μL διαλύματος αιθανόλης 70 % (v/v) και 200 μL από το αρχικό πυκνό εκχύλισμα *Delphinium*. Τοποθετήθηκε σε κυψελίδα 1 mm, και ελέγχτηκε το φάσμα του αραιωμένου (1/4) εκχυλίσματος.
- ❖ Έγινε 3^η αραίωση σε καινούριο δοκιμαστικό σωλήνα προσθέτοντας 400 μL από το πυκνό εκχύλισμα και 2800 μL διαλύματος αιθανόλης 70 % (v/v) και μελετήθηκε το φάσμα του αραιωμένου (1/8) εκχυλίσματος.

Αφυδάτωση

Χρησιμοποιήθηκαν 5 σέπαλα *Delphinium sp* και έγινε αφυδάτωση για 15' υπό κενό αέρος. Τοποθετήθηκε στο Φασματοφωτόμετρο μια κυψελίδα χαλαζία (Q) 5 mm και πάρθηκε μέτρηση αναφοράς. Στη συνέχεια τοποθετήθηκε με μια λαβίδα ένα σέπαλο από το αφυδατωμένο *Δελφίνιο*, την κεντρική νεύρωση πάνω στην ίδια κυψελίδα και πάρθηκε το φάσμα. Έγινε επανάληψη στη μέτρηση. Από τα αφυδατωμένα σέπαλα, χρησιμοποιήθηκε ένα καινούριο σέπαλο, κομμένο στην άκρη, χωρίς κεντρική νεύρωση και πάρθηκε το φάσμα του. Στη συνέχεια έγινε επανάληψη στο φάσμα.

2η παρασκευή εκχυλίσματος από *Delphinium sp.* :

Συλλέχθηκαν για 2η φορά *Delphinium sp.* και καθαρίστηκε το φυτό κρατώντας τα πέταλα. Έγινε ζύγιση στα πέταλα και είχαν βάρος 0,79 g . Έγινε λειοτρίβιση με 7 mL με απιοντισμένο νερό. Διηθήκε όλο το εκχύλισμα σε ένα δοκιμαστικό σωλήνα και κρατήθηκε από τη λειοτρίβιση σε γυάλινο δοχείο των 100 mL καλύπτοντάς το με αλουμινόχαρτο.

Πάρθηκε μέτρηση αναφοράς με κυψελίδα χαλαζία (Q) 1 mm απιοντισμένο νερό. Έπειτα τοποθετήθηκε μέσα το πυκνό εκχύλισμα από *Delphinium sp.* και πάρθηκε το φάσμα απορρόφησης.

3η παρασκευή εκχύλισματος από *Delphinium sp.*:

Προσθήκη Αλάτων (Μεταλλικών Κατιόντων)

Σε καινούριο δοκιμαστικό σωλήνα έγινε εκχύλιση σε 1 g από σέπαλα του φυτού *Delphinium sp* με διάλυμα αιθανόλης 70 % (v / v). Τοποθετήθηκε σε στενή κυψελίδα 1 cm και πάρθηκε το φάσμα απορρόφησης. Στη συνέχεια προστέθηκαν μέσα στο σωλήνα λίγοι κόκκοι από Χλωριούχο Μαγνήσιο ($MgCl_2$), έγινε ανάδευση στο διάλυμα, τοποθετήθηκε στην κυψελίδα και πάρθηκε το φάσμα. Έπειτα προστέθηκαν μέσα στο σωλήνα κόκκοι από Χλωριούχο Κάλιο (KCl), τοποθετήθηκε στην κυψελίδα και μελετήθηκε το φάσμα. Τέλος προστέθηκαν στο σωλήνα λίγοι κόκκοι από δισθενή Χλωριούχο Σίδηρο ($FeCl_2$) και μελετήθηκε το φάσμα απορρόφησης του.

Επίσης από το πυκνό εκχύλισμα έγινε προσθήκη τρισθενούς χλωριούχου σιδήρου $FeCl_3$ και μελετήθηκε το φάσμα απορρόφησης.

4η παρασκευή εκχύλισματος από *Delphinium sp.*:

Έγινε συλλογή του Δελφίνιο και καθαρίστηκε κρατώντας μόνο τα πέταλα. Έγινε ζύγιση στα 0.79 g. Έγινε λειοτρίβιση με 7 mL με απιοντισμένο νερό. Διηθήθηκε όλο το εκχύλισμα μέσα από ένα χωνί με διηθητικό χαρτί σε ένα δοκιμαστικό σωλήνα. Κλείστηκε και κρατήθηκε από τη λειοτρίβιση σε γυάλινο δοχείο των 100 mL.

Χρησιμοποιήθηκαν 2 κυψελίδες χαλαζία (Q) 1 mm, και προστέθηκε απιοντισμένο νερό και μελετήθηκε φάσμα μηδενικής απορρόφησης στα 800-220 nm. Στη συνέχεια τοποθετήθηκε το εκχύλισμα του Δελφινίου και μελετήθηκε το φάσμα απορρόφησης στο ίδιο εύρος μηκών κύματος.

Κυκλικός Διχρωισμός

Χρησιμοποιήθηκε κυψελίδα χαλαζία 1 mm, προστέθηκε απιοντισμένο νερό και πάρθηκε baseline στα 650-400 nm. Στη συνέχεια τοποθετήθηκε στην κυψελίδα το πυκνό εκχύλισμα Δελφινίου (3ης παρασκευής) καταγράφοντας το σήμα και την απορροφητικότητά του (δύο φορές).

Φρέσκα σέπαλα *Delphinium sp.* για Φασματοφωτομετρία απορρόφησης και Κυκλικού Διχρωισμού

Φασματοφωτομετρία: Χρησιμοποιήθηκε κυψελίδα χαλαζία 1 mm και πάρθηκε μέτρηση αναφοράς. Αφού τελείωσε η μέτρηση τοποθετήθηκε πάνω στην κυψελίδα φρέσκο σέπαλο *Delphinium sp.* με κεντρική νεύρωση και μελετήθηκε το φάσμα απορρόφησής του

Κυκλικός Διχρωισμός: Επιλέχθηκε το κατάλληλο φάσμα αναφοράς τυφλού δείγματος στα 600-250 nm. Έπειτα έγινε καταγραφή στο σήμα και την απορροφητικότητα από το φρέσκο σέπαλο *Delphinium sp.* με κεντρική νεύρωση σε κυψελίδα 1cm.

Αφυδάτωση πετάλων *Delphinium sp.* για Φασματοφωτομετρία και Κυκλικός Διχρωισμός

Φασματοφωτομετρία: Τοποθετήθηκαν 3 πέταλα για αφυδάτωση αφήνοντάς τα για 10 λεπτά. Έπειτα πάρθηκε μέτρηση αναφοράς με μια άδεια κυψελίδα 1 mm και μόλις τελείωσε, τοποθετήθηκε πάνω της ένα αφυδατωμένο πέταλο *Delphinium sp.* με κεντρική νεύρωση παίρνοντας το φάσμα απορρόφησης του.

Κυκλικός Διχρωισμός: Επιλέχθηκε το κατάλληλο baseline στο όργανο του Κυκλικού Διχρωισμού. Έπειτα έγινε τοποθέτηση του αφυδατωμένου πέταλου *Delphinium sp.* με κεντρική νεύρωση και καταγράφηκε το σήμα και η απορροφητικότητα του στην περιοχή 600-250 nm.

5η παρασκευή εκχύλισματος από *Delphinium sp.* με προσθήκη Αιθανόλης και Οξυνισμένης Μεθανόλης:

Έγινε συλλογή του φυτού *Δελφίνιο* και καθαρίστηκε κρατώντας μόνο τα πέταλα. Χωρίστηκε σε 2 δύο δείγματα 0,50 g το καθένα. Στο 1ο δείγμα έγινε λειοτρίβιση με 10 mL διαλύματος αιθανόλης 70 % (v/v), ενώ στο 2^ο έγινε λειοτρίβιση με 10 mL οξυνισμένης μεθανόλης. Διηθήθηκε όλο το εκχύλισμα από το 1ο δείγμα μέσα από ένα χωνί με διηθητικό χαρτί σε ένα δοκιμαστικό σωλήνα. Κρατήθηκε το εκχύλισμα από τη λειοτρίβιση σε γυάλινο δοχείο των 100 mL.

Διηθήθηκε όλο το εκχύλισμα και από το 2ο δείγμα μέσα σε ένα δοκιμαστικό σωλήνα. Κρατήθηκε το εκχύλισμα από τη λειοτρίβιση σε γυάλινο δοχείο.

Χρησιμοποιήθηκαν 2 κυψελίδες χαλαζία (Q) 1 mm, προστέθηκε διάλυμα αιθανόλης 70 % (v/v) και πάρθηκε φάσμα μηδενικής απορρόφησης στα 800-220 nm. Στη συνέχεια προστέθηκε το εκχύλισμα του Δελφινίου σε 70% αιθανόλης και μελετήθηκε το φάσμα απορρόφησης στο ίδιο εύρος μηκών κύματος.

Χρησιμοποιήθηκαν 2 κυψελίδες χαλαζία (Q) 1 mm, προστέθηκε διάλυμα οξυνισμένης μεθανόλης και μελετήθηκε το φάσμα μηδενικής απορρόφησης στα 800-220 nm. Στη συνέχεια προστέθηκε το εκχύλισμα Δελφινίου σε οξυνισμένη μεθανόλη και μελετήθηκε το φάσμα απορρόφησης στο ίδιο εύρος μηκών κύματος.

Διαδικασία Χρωματογραφίας στο φυτό *Delphinium sp.*(1^η)

Σε αυτή τη διαδικασία πάρθηκε φάσμα απορρόφησης από το εκχύλισμα Δελφινίου της 2^{ης} παρασκευής και φτιάχτηκε ένα διάλυμα για χρωματογραφία λεπτής στοιβάδας FORESTALL (30:3:10). Μέσα στην επαγωγό εστία σε ένα ποτήρι ζέσεως με μέτρηση ογκομετρικής φιάλης προστέθηκαν 23,25 mL νερό (H₂O), 69,7ml οξικό οξύ (CHCOOH) και 6.97 ml πυκνό υδροχλωρικό οξύ (HCl). Στη συνέχεια χρησιμοποιήθηκε χαρτί χρωματογραφίας διαστάσεων 9 x 2 cm, έγινε προσθήκη μιας σταγόνας όγκου 3 μL με μικροσταγονόμετρο από το εκχύλισμα στο χαρτί χρωματογραφίας και τοποθετήθηκε στο γυάλινο δοχείο της χρωματογραφίας λεπτής στοιβάδας σε κάθετη θέση και αφέθηκε μέχρι να διαχωριστούν οι ουσίες που περιέχονται στο εκχύλισμα του Δελφινίου.

Διαδικασία Χρωματογραφίας στο φυτό *Delphinium sp.*(2^η)

Σε αυτή τη διαδικασία πάρθηκε φάσμα απορρόφησης από το εκχύλισμα Δελφινίου της 2^{ης} παρασκευής και φτιάχτηκαν 2 διαλύματα για χρωματογραφία με Βουτανόλη. Στο πρώτο διάλυμα για την χρωματογραφία λεπτής στοιβάδας με Βουτανόλη (4:1:5) προστέθηκε σε ένα ποτήρι ζέσεως με μέτρηση ογκομετρικού κυλίνδρου 10,44 νερό (H₂O) 39,55 mL βουτανόλη (C₄H₁₀O) και 7,91 mL οξικό οξύ (CHCOOH). Ενώ στο δεύτερο διάλυμα για την χρωματογραφία λεπτής στοιβάδας με Βουτανόλη (10:2,5:3,3) προστέθηκε σε ένα ποτήρι ζέσεως με μέτρηση

ογκομετρικού κυλίνδρου 6,6 νερό (H₂O), 5 mL οξικό οξύ (CHCOOH) και 20 mL βουτανόλη (C₄H₁₀O₅). Στη συνέχεια χρησιμοποιήθηκε χαρτί χρωματογραφίας διαστάσεων 9 x 2 cm, προστέθηκε μια σταγόνα όγκου 3 μL με μικροσταγονόμετρο από το εκχύλισμα στο χαρτί χρωματογραφίας και τοποθετήθηκε στο γυάλινο δοχείο της χρωματογραφίας λεπτής στοιβάδος σε κάθετη θέση μέχρι να φτάσει το δείγμα της χρωματογραφίας κοντά στο όριο του μέσου και να διαχωριστούν οι ουσίες που περιέχονται στο εκχύλισμα του Δελφινίου.

Διαδικασία Χρωματογραφίας στο φυτό *Delphinium sp.*(3^η)

Σε αυτή τη διαδικασία πάρθηκε φάσμα απορρόφησης από το εκχύλισμα Δελφινίου της 2^{ης} παρασκευής και φτιάχτηκε ένα διάλυμα για χρωματογραφία λεπτής στοιβάδας με Βουτανόλη(10:2,5:3,3). Σε ένα ποτήρι ζέσεως με μέτρηση ογκομετρικού κυλίνδρου προστέθηκαν 25 ml νερό (H₂O), 5ml οξικό οξύ(CHCOOH) και 20 ml βουτανόλη (C₄H₁₀O₅). Στη συνέχεια χρησιμοποιήθηκαν 3 χαρτιά Whatman χρωματογραφίας διαστάσεων 9 x 2 cm, έγινε προσθήκη μιας σταγόνας από τα εκχυλίσματα του Δελφινίου, από τα οποία το πρώτο(1^ο) εκχύλισμα είναι με απιοντισμένο νερό, το δεύτερο(2^ο) εκχύλισμα είναι με 70% αιθανόλη και το τρίτο (3^ο) εκχύλισμα είναι με οξυνισμένη μεθανόλη ,τα χαρτιά χρωματογραφίας τοποθετήθηκαν στο γυάλινο δοχείο της χρωματογραφίας σε κάθετη θέση μέχρι να φτάσει το δείγμα της χρωματογραφίας κοντά στο όριο του μέσου και να διαχωριστούν οι ουσίες που περιέχονται στο εκχύλισμα του Δελφινίου.

Αραιώσεις *Delphinium sp.* (4ης παρασκευής) για Φασματοφωτομετρία και Κυκλικό Διχρωισμό

Πάρθηκε φάσμα μηδενικής απορρόφησης με κυψελίδα 1 mm, οι οποίες ως κυψελίδες αναφοράς τυφλού δείγματος περιείχαν διάλυμα 70% αιθανόλης (v/v) για μέτρηση στην περιοχή 800-220 nm.

- ❖ Σε καινούριο δοκιμαστικό σωλήνα προστέθηκαν 750 μL διαλύματος αιθανόλης 70% (v/v) και 750 μL από το αρχικό εκχύλισμα *Delphinium* με 70% αιθανόλη. Τοποθετήθηκε σε κυψελίδα 1 mm, και πάρθηκε το φάσμα του αραιωμένου (1/2) εκχυλίσματος.
- ❖ Έγινε 2^η αραίωση σε καινούριο δοκιμαστικό σωλήνα όπου προστέθηκαν 750 μL διαλύματος αιθανόλης 70 % (v/v) και 200 μL από το αρχικό πυκνό εκχύλισμα *Delphinium*. Τοποθετήθηκε σε κυψελίδα 1 mm, και μελετήθηκε το φάσμα του αραιωμένου (1/4) εκχυλίσματος.
- ❖ Έγινε 3^η αραίωση σε καινούριο δοκιμαστικό σωλήνα προσθέτοντας 400 μL από το πυκνό εκχύλισμα και 2800 μL διαλύματος αιθανόλης 70 % (v/v) και μελετήθηκε το φάσμα του αραιωμένου (1/8) εκχυλίσματος.

Κυκλικός Διχρωισμός

Για την εφαρμογή του κυκλικού διχρωισμού χρησιμοποιήθηκε μια κυψελίδα χαλαζία 1cm, προστέθηκε διάλυμα αιθανόλης 70%(v/v) και μελετήθηκε το φάσμα αναφοράς (baseline) στα 600-400 και στα 400-250nm. Έπειτα τοποθετήθηκε μέσα στο όργανο του Κυκλικού Διχρωισμού το αραιωμένο 1/2 εκχύλισμα Δελφινίου σε 70 % (v/v) αιθανόλη καταγράφοντας το σήμα και την απορροφητικότητά του. Μόλις τελείωσε έγινε επανάληψη. Στην συνέχεια καταγράφηκε το σήμα και η απορροφητικότητα του αραιωμένου 1/4 εκχυλίσματος, επίσης σε 70 % (v/v) αιθανόλη, στο ίδιο εύρος μηκών κύματος.

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Delphinium sp.

Εκχύλιση πετάλων *Delphinium sp* σε νερό.

Η εκχύλιση πετάλων Δελφινίου με νερό δίνει εκχύλισμα το οποίο έχει χρώμα σχεδόν ταυτόσημο με το ίδιο το πέταλο (Εικόνες 6,7). 1^η εκχύλιση δελφινίου με νερό. Βάρος πετάλων: 0,79 gr σε Όγκο νερού: 7 mL. Το εκχύλισμα διατηρήθηκε σε θερμοκρασία δωματίου για μια εβδομάδα χωρίς να αλλάξει το χρώμα του.

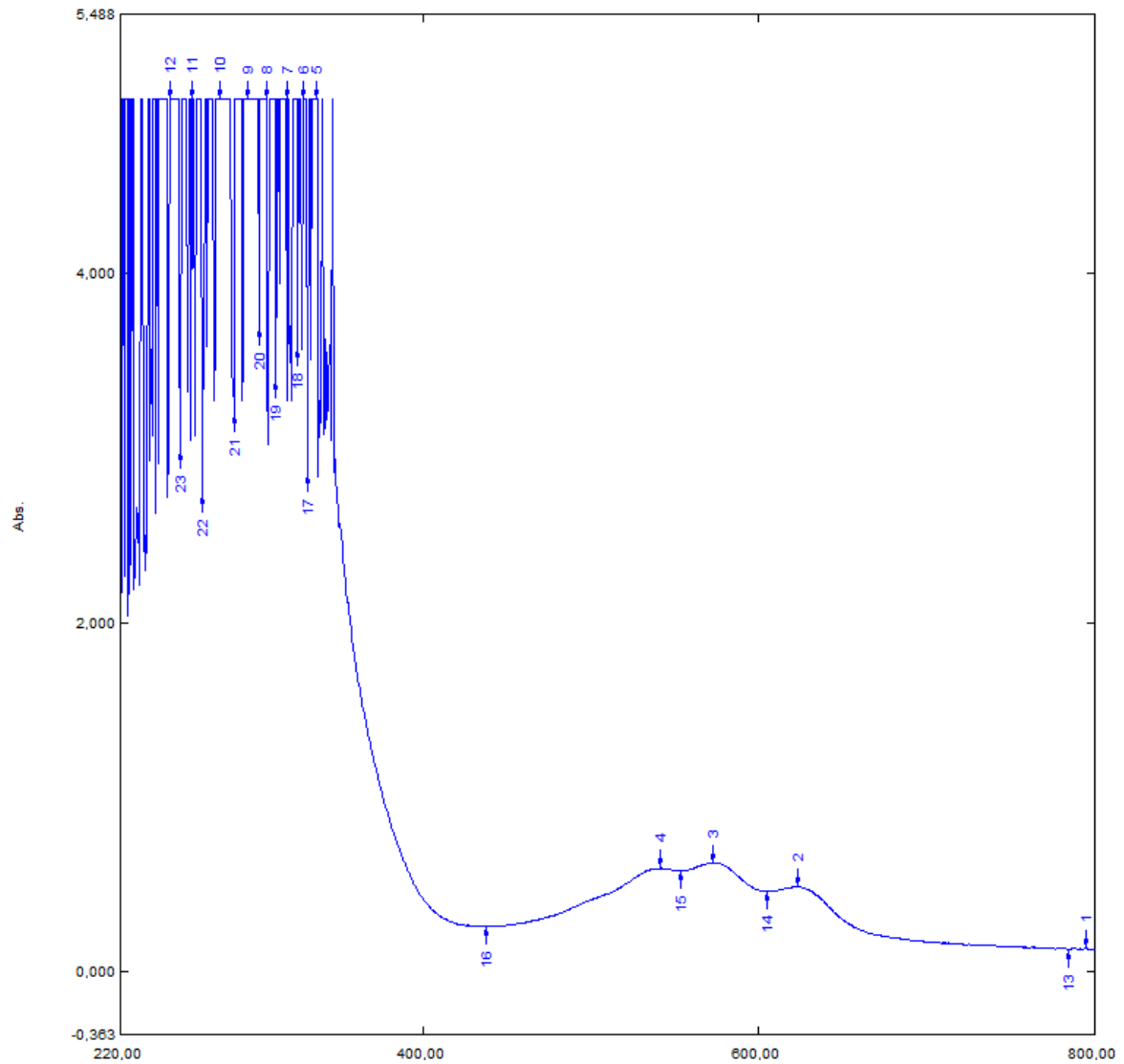


Εικόνα 6-7: Εκχύλιση χρωστικών από πέταλα Δελφινίου (6.αριστερά). Προκύπτουν πυκνό εκχύλισμα *Delphinium sp.* εκχυλισμένο σε νερό (7. δεξιά)

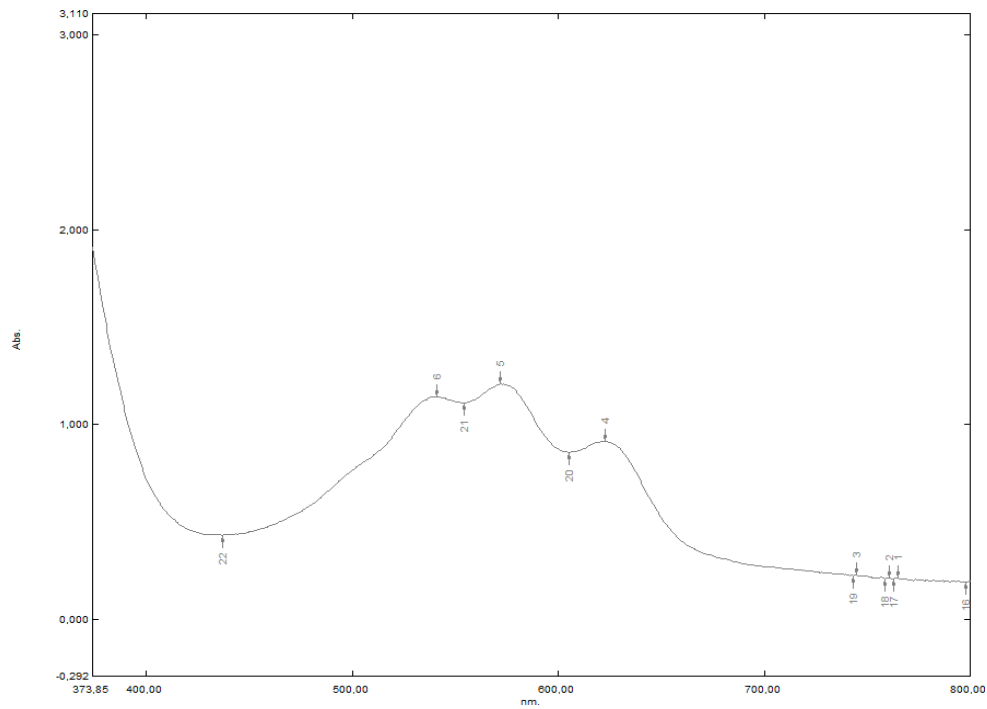
Το εκχύλισμα σε απιοντισμένο νερό υποβλήθηκε σε φασματοσκοπία απορρόφησης ορατού- υπεριώδους (Φάσμα 1) στην περιοχή 800-220 nm. Το φάσμα στην περιοχή του ορατού (800-400nm) εμφανίζει μια τριπλή κορυφή στα σημεία 2, 3, 4, και κοιλάδες στα 14, 15, καθώς και ένα «ώμο» στα 500 nm. Το φάσμα στην υπεριώδη περιοχή (400-220 nm) είναι πολύ έντονο και υπερβαίνει τις τεχνικές δυνατότητες του οργάνου ($A < 3,00$). Επειδή δεν υπάρχει κυψελίδα μικρότερης οπτικής διαδρομής, το φάσμα στην περιοχή του υπεριώδους φωτός θα μελετηθεί σε πολύ μεγαλύτερη αραιώση (παρακάτω).

Από τις λεπτομερές φάσμα στο ορατό είμαστε σε θέση να υπολογίσουμε με ακρίβεια τα μήκη κύματος στις κορυφές απορρόφησης, στις κοιλάδες, στον ένα ώμο, καθώς και το ημιπλάτος γωνίας απορρόφησης

(half bandwidth), δηλ. το πλάτος της ζώνης απορρόφησης μεταξύ των δυο τιμών λ στις οποίες η απορρόφηση ισούται με $A_{\max} / 2$. Αυτό το σχήμα απορρόφησης, δηλ. τριπλή κορυφή με αυτήν του μεγαλύτερου λ να είναι μεταξύ 600-630nm, είναι χαρακτηριστική πολλών φασμάτων χρωστικών ανθοκυανών.



Φάσμα 1: Πυκνό εκχύλισμα *Delphinium sp.* σε κυψελίδα 1mm



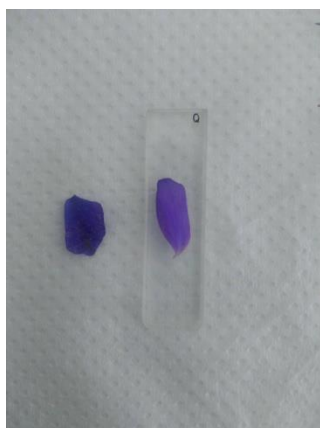
Φάσμα 1.1: Πυκνό εκχύλισμα *Delphinium sp.* σε κυψελίδα 1mm (800-400 nm)

ΠΙΝΑΚΑΣ 1. Φασματοσκοπικά χαρακτηριστικά απορρόφησης εκχυλίσματος δελφινίου στο ορατό, ταξινομημένα από $\lambda_{\text{ελάχιστο}}$ (λ_{min}) μέχρι $\lambda_{\text{μέγιστο}}$ (λ_{max}) όπως προκύπτουν στα Φάσματα 1. και 1.1

	Κοιλάδα 1 $A(\lambda_{\text{nm}})$	Ωμος $A(\lambda_{\text{nm}})$	Δευτερεύουσα κορυφή 1, A_1 , ($\lambda_1 \text{nm}$)	A_{κ}/A_1	Κοιλάδα 2 $A(\lambda_{\text{nm}})$	Κύρια κορυφή A_{κ} , ($\lambda_{\kappa} \text{nm}$)	Κοιλάδα 3 $A(\lambda_{\text{nm}})$	Δευτερεύουσα κορυφή 2, A_2 , ($\lambda_2 \text{nm}$)	A_{κ}/A_2
Κορυφές			0,951 (543)	1,06 1		1,010 (571)		0,718 (624)	1,407
Κοιλάδες	0,250 (436)				0,912 (554)		0,660 (605,5)		
Ωμος		0,562 (500)							
Πλάτος ζώνης στο ήμισυ της μέγιστης απορρόφησης, $\Delta\lambda/2, \text{nm}$	145,5								

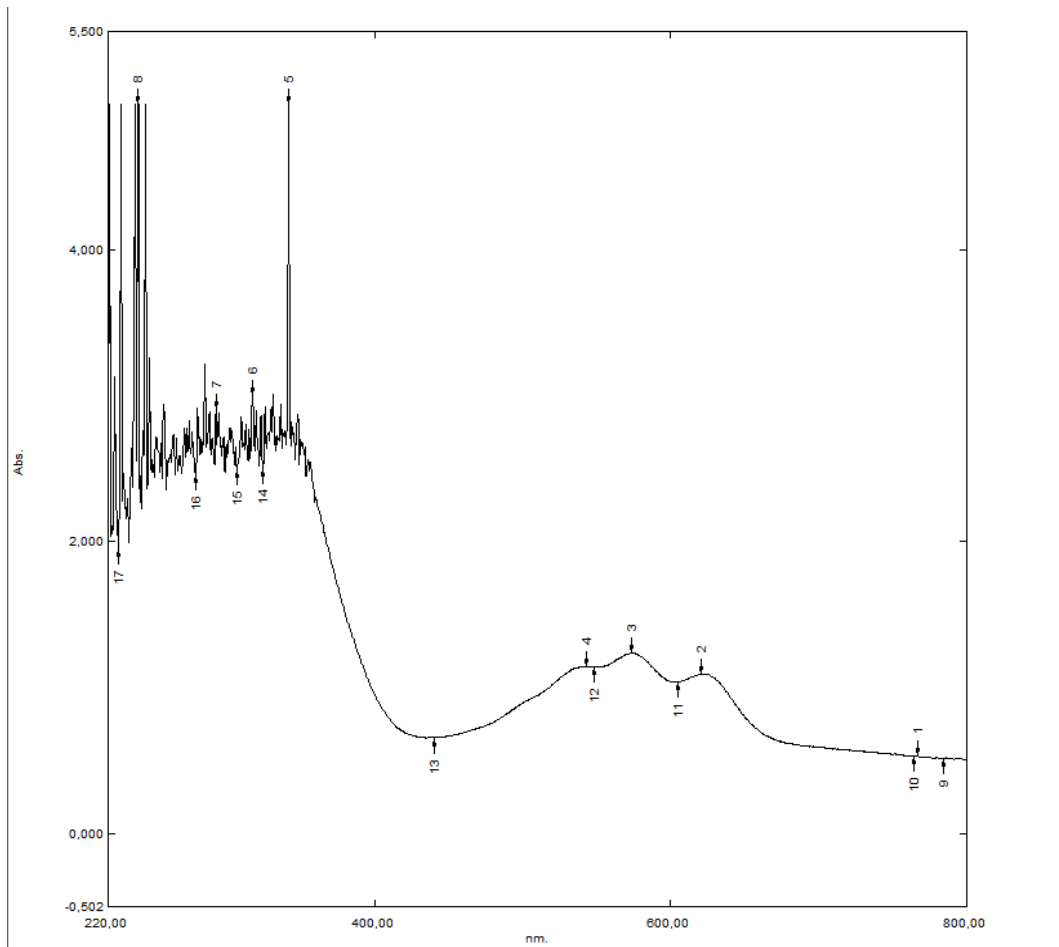
1.Φάσμα πετάλου δελφινίου σε ορατό και υπεριώδες φως

Φρέσκα πέταλα (είτε έντονου είτε πιο αχνού χρώματος), τοποθετήθηκαν πάνω σε κυψελίδες χαλαζία και πάρθηκε φάσμα απορρόφησης στην περιοχή 800-220 nm (Εικόνα 8.)

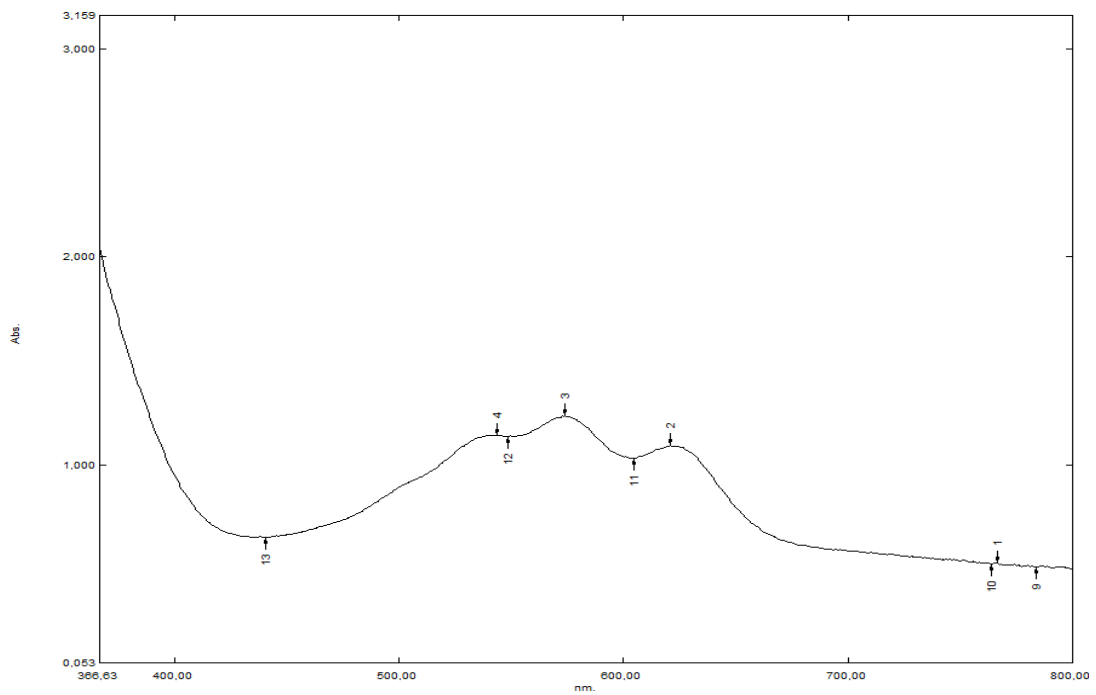


Εικόνα 8: Σέπαλα με έντονο και αχνό χρώμα του φυτού *Delphinium sp*

Τα φάσματα απορρόφησης των πετάλων Δελφινίου δείχνουν πολύ παρόμοιο σχήμα κορυφών στο ορατό μέρος του φάσματος, με το αντίστοιχο φάσμα εκχυλίσματος σε απιοντισμένο νερό. Αντίθετα, στην περιοχή του υπεριώδους φάσματος (400-220 nm) βλέπουμε πολύ μεγάλη απορροφητικότητα, πάνω από το όριο αξιοπιστίας του οργάνου ($A < 3,000$). Σε αυτή την περιοχή υπάρχουν «σφήνες(spikes)» απορροφητικότητας οι οποίες μάλλον οφείλονται σε σχετική αστάθεια λόγω πολύ μεγάλης απορροφητικότητας.



Φάσμα 2: Φάσμα από σέπαλο *Delphinium sp.* με έντονο χρώμα από την Εικόνα 8.



Φάσμα 2.1: Φάσμα από σέπαλο *Delphinium sp.* με έντονο χρώμα από την Εικόνα 8.

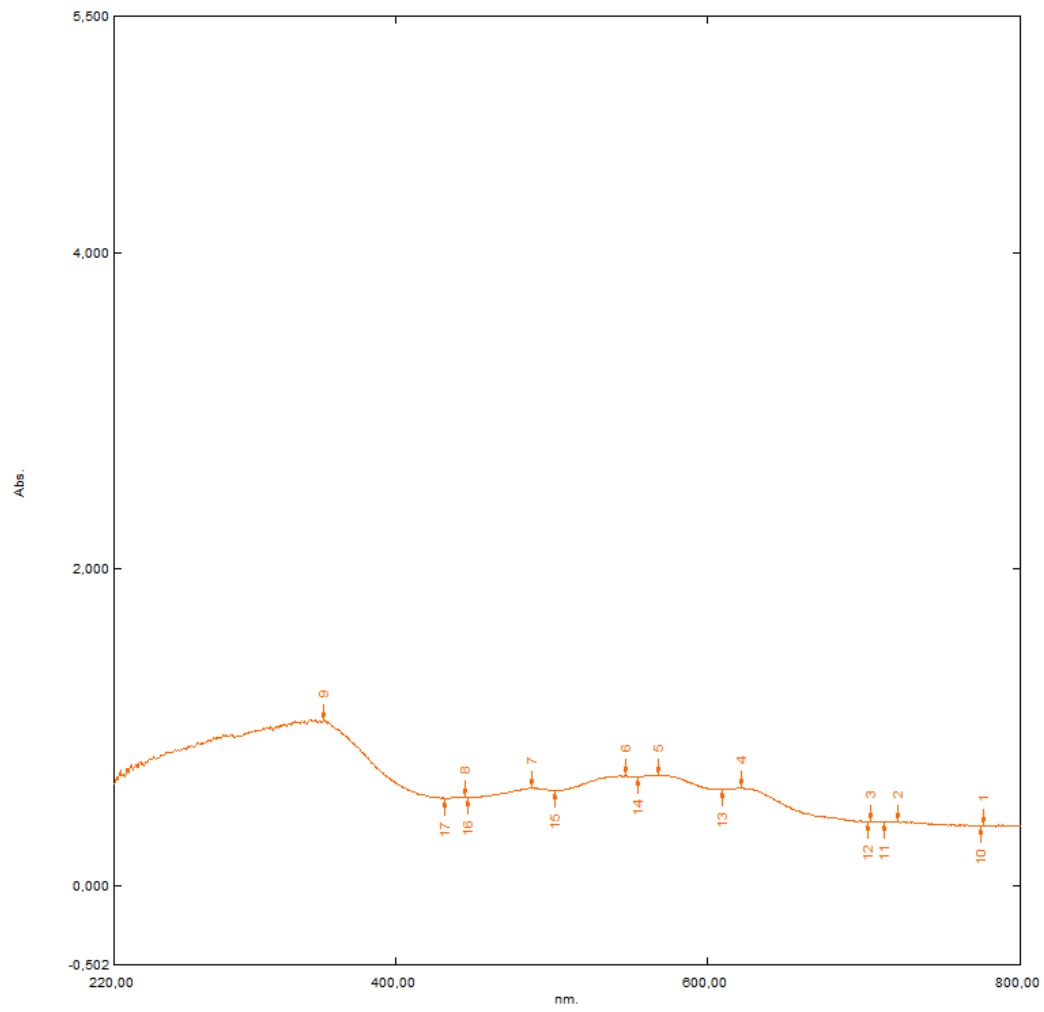
(800-400 nm)

Από το φάσματα 2 και 2.1 κατασκευάστηκε ένας αντίστοιχος πίνακας για τα φασματοσκοπικά χαρακτηριστικά απορροφητικότητας του σέπαλου από *Delphinium sp* στην περιοχή του ορατού φωτός (800-400 nm).

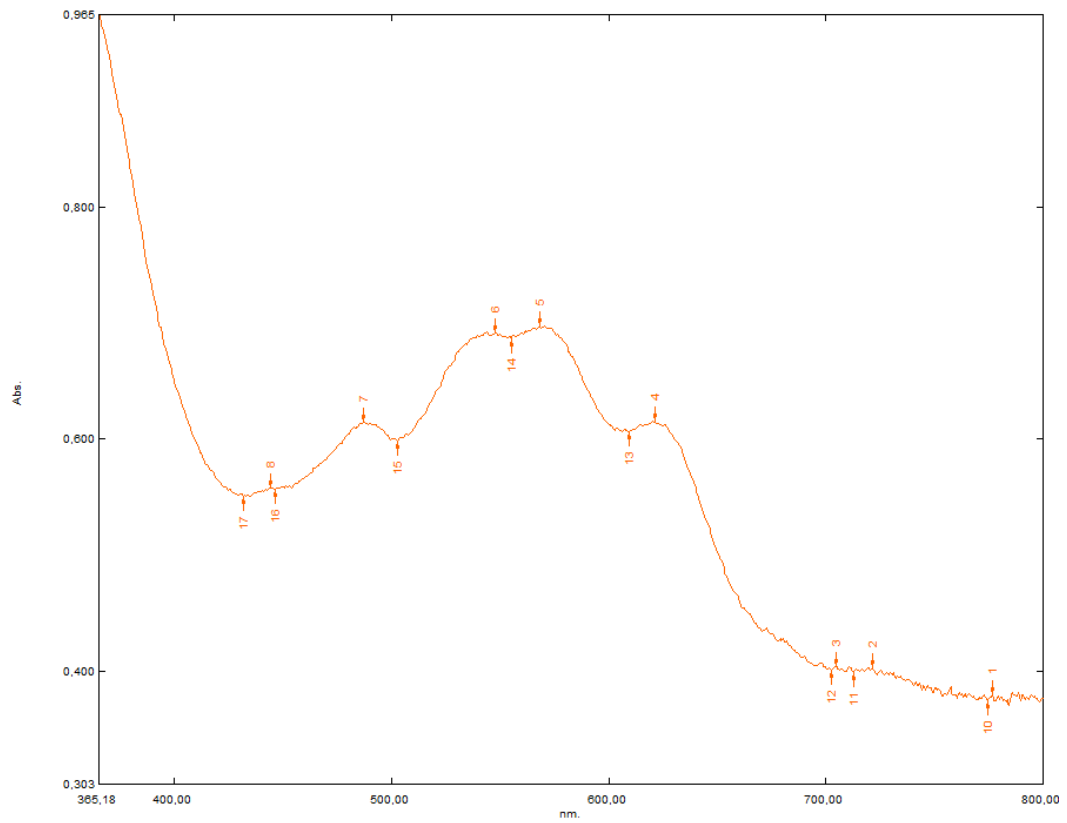
ΠΙΝΑΚΑΣ 2. Φασματοσκοπικά χαρακτηριστικά απορρόφησης στο ορατό σέπαλου δελφινίου με έντονη απορρόφηση, ταξινομημένα από λ_{ελάχιστο} (λ_{min}) μέχρι λ_{μέγιστο}(λ_{max}) όπως προκύπτουν από τα Φάσματα 2. και 2.1

	Κοιλιάδα 1 A(λnm)	Ωμος A(λnm)	Δευτερεύουσα κορυφή 1, A ₁ , (λ ₁ nm)	A _κ /A ₁	Κοιλιάδα 2 A(λnm)	Κύρια κορυφή A _κ , (λ _κ nm)	Κοιλιάδα 3 A(λnm)	Δευτερεύουσα κορυφή 2, A ₂ , (λ ₂ nm)	A _κ /A ₂
Κορυφές			0,677 (543)	1,139		0,771 (573)		0,601 (622)	1,283
Κοιλιάδες	0,190 (441)				0,665 (548)		0,549 (605)		
Ωμος		0,425 (500)							
Πλάτος ζώνης στο ήμισυ της μέγιστης απορρόφησης, Δλ/2,nm	153								

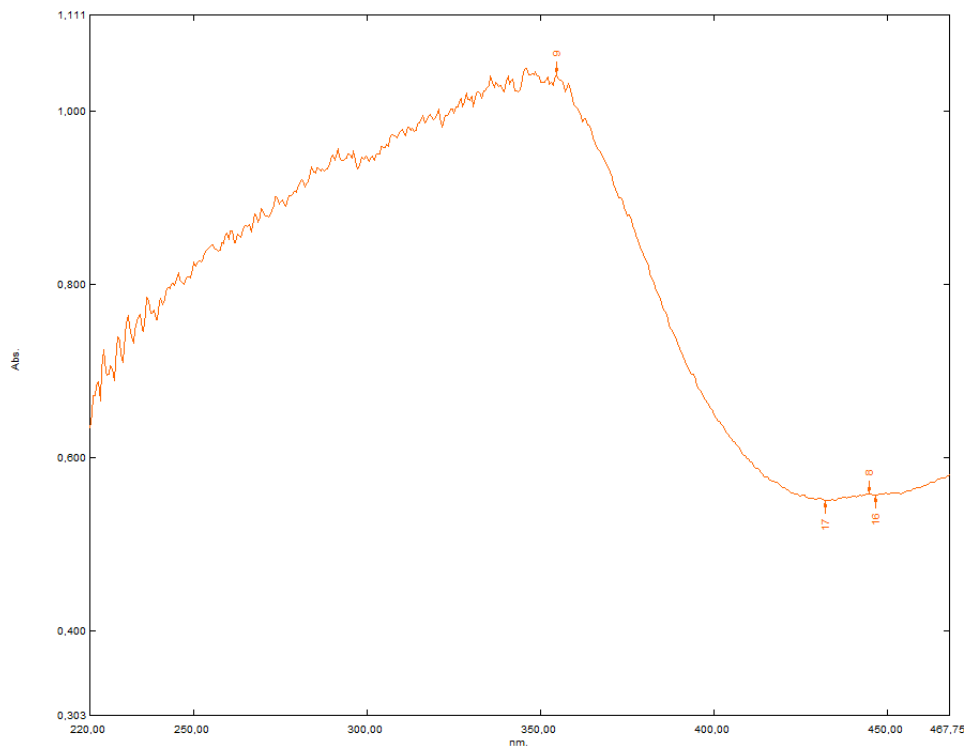
Η παρουσία ενός πιο αχνού σέπαλου δελφινίου (Εικόνα 8), επιτρέπει να παρθεί και από αυτό το φάσμα απορρόφησης στην περιοχή 800-220 nm. Διαπιστώθηκε ότι πράγματι το πιο αχνό σέπαλο επιτρέπει ένα αξιόπιστο φάσμα τόσο στην περιοχή του ορατού όσο και του υπεριώδους, επειδή η απορρόφηση είναι λιγότερο έντονη και μέσα στα όρια της αξιοπιστίας του οργάνου (Φάσμα 3). Επιπλέον, επιτρέπει να γίνει κατάρτιση σε αντίστοιχο πίνακα φασματοσκοπικών χαρακτηριστικών απορροφητικότητας στη περιοχή του εγγύς έως μέσου υπεριώδους (400-220 nm, Πίνακας 4).



Φάσμα 3: Φάσμα από σέπαλο του φυτού *Delphinium sp.* με αγνό χρώμα από την Εικόνα 8.



Φάσμα 3.1: Φάσμα από στέπαλο του φυτού *Delphinium sp.* με αχνό χρώμα από την Εικόνα 8.(800-400 nm)



Φάσμα 3.2: Φάσμα από στέπαλο του φυτού *Delphinium sp.* με αχνό χρώμα από την Εικόνα 8.(400-220 nm)

ΠΙΝΑΚΑΣ 3. Φασματοσκοπικά χαρακτηριστικά απορρόφησης στο ορατό σέπαλου δελφινίου με αχνή απορρόφηση, ταξινομημένα από λ_{\min} μέχρι λ_{\max}

	Κοιλιάδα 1 (17) * $A(\lambda_{nm})$	Δευτερεύουσα κορυφή 1' (7) $A_1, (\lambda_1\text{-nm})$	Κοιλιάδα 2 (15) $A(\lambda_{nm})$	Δευτερεύουσα κορυφή 1, (6) $A_1, (\lambda_1\text{nm})$	Κοιλιάδα 3 (14) $A(\lambda_{nm})$	$A_{\kappa 1}/A_1$	Κύρια Κορυφή (5) $A_{\kappa}, (\lambda_{\kappa}\text{nm})$	Κοιλιάδα 4 (13) $A(\lambda_{nm})$	Δευτερεύουσα κορυφή 2,(4) $A_2, (\lambda_2\text{nm})$	Κοιλιάδα 5 (12) $A(\lambda_{nm})$	Δευτερεύουσα κορυφή 2' (2), $A_2, (\lambda_2'\text{-nm})$	A_{κ}/A_2
Κορυφές		0,237 (487)		0,314 (544)		1,021	0,321 (570)		0,237 (620)		0,029 (721)	1,354
Κοιλιάδες	0,175 (430)		0,225 (504)		0,312 (554)			0,225 (606)		0,026 (702)		
Πλάτος ζώνης στο ήμισυ της μέγιστης απορρόφησης, $\Delta\lambda/2, \text{nm}$	ΔΜΝΥ**											

*Οι αριθμοί σε παρένθεση στους τίτλους δείχνουν τις κορυφές και τις κοιλάδες στο Φάσμα 3.1

**ΔΜΝΥ: Δεν Μπορεί Να Υπολογιστεί, λόγω της παρουσίας της Δευτερεύουσας κορυφής 1' η οποία συνεισφέρει επιπλέον απορρόφηση, ώστε να μην πέφτει η καμπύλη απορρόφησης κάτω από το μισό του μέγιστου πριν αρχίσει να απορροφά έντονα εξ αιτίας της ζώνης του εγγύς υπεριώδους.

Είναι φανερό ότι το συγκεκριμένο πέταλο με αχνό χρώμα περιέχει μια επιπλέον προφανή ζώνη απορρόφησης με κορυφή στα 487 nm (Δευτερεύουσα κορυφή 1') καθώς και μια πολύ μικρότερης ένταση δευτερεύουσα κορυφή με μέγιστο στα 721 nm. Εξ αιτίας της νέας αξιοσημείωτης δευτερεύουσας κορυφής στα 487 nm αυξάνει το πλάτος της καμπύλης απορρόφησης έτσι ώστε δεν μπορεί πια να υπολογιστεί το

πλάτος ζώνης στο ήμισυ της μέγιστης απορρόφησης, με δεδομένη την ακόμη μεγαλύτερη ζώνη απορρόφησης στο εγγύς υπεριώδες (παρακάτω).

ΠΙΝΑΚΑΣ 4. Φασματοσκοπικά χαρακτηριστικά απορρόφησης στο υπεριώδες σέπαλου δελφινίου με αχνή απορρόφηση, ταξινομημένα από $\lambda_{\text{ελάχιστο}} (\lambda_{\text{min}})$ μέχρι $\lambda_{\text{μέγιστο}} (\lambda_{\text{max}})$

	Δευτερεύουσα κορυφή 1, A_1 , ($\lambda_2 \text{nm}$)	Κοιλάδα 1 $A(\lambda \text{nm})$	Κύρια κορυφή (9), A_{κ} , ($\lambda_{\kappa} \text{nm}$)	Κοιλάδα 1 (17)* $A(\lambda \text{nm})$	A_{κ}/A_1	$A_{\kappa \text{uv}}/A_{\kappa \text{vis}}$
Κορυφές	0,571 (289)		0,653 (355)		1,144	0,653/0,321 = 2,034
Κοιλάδες		0,561 (300)		0,175 (430)		
Πλάτος ζώνης στο ήμισυ της μέγιστης απορρόφησης, $\Delta\lambda/2, \text{nm}$	189					

*Οι αριθμοί στη παρένθεση αναφέρονται στο Φάσμα 3.2

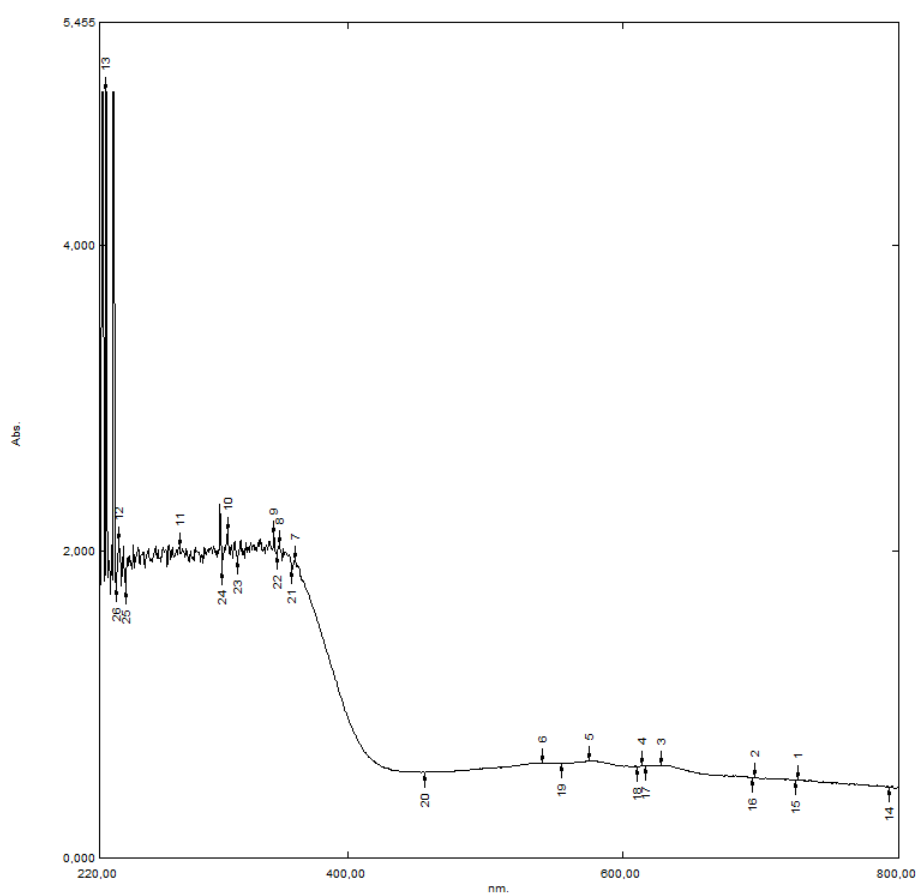
Το συγκεκριμένο πέταλο έχει ιδιαιτερότητες και στο ορατό και στο υπεριώδες όπως φαίνεται από τους Πίνακες 3 και 4, και η περίπτωση του (ασυνήθιστη σε σχέση με τα φάσματα εκχυλισμένων χρωστικών και άλλων πετάλων) παραπέμπει σε αξιοσημείωτη παρουσία μιας κορυφής στα 487 nm και απουσίας του ώμου στα 500 nm, ενώ παράλληλα η μέγιστη απορρόφηση στο υπεριώδες σε σχέση με την αντίστοιχη του ορατού είναι συγκριτικά χαμηλή ($A_{\kappa \text{uv}}/A_{\kappa \text{vis}} = 2,034$). Συνεπώς, αυτού του είδους το άνθος χρήζει περαιτέρω διερεύνησης.

Κατά την διάρκεια της πτυχιακής αυτής προέκυψαν και άνθη δελφινίου από την Εθνική Οδό Ιωαννίνων-Άρτας, τα οποία είχαν αχνό μπλέ χρώμα, το οποίο οφειλόταν σε χρωματισμό κυρίως σε πολλές λεπτές ραβδώσεις κατά μήκος του μεγάλου άξονα του πετάλου, επιπλέον αρκετά έντονου χρωματισμού στο τελικό του άκρο (Εικόνα 12).

Το αντίστοιχο φάσμα (Φάσμα 7) δείχνει πολύ μικρή απορροφητικότητα στο ορατό και αρκετά έντονη απορροφητικότητα ($A \approx 2,000$) στο υπεριώδες.

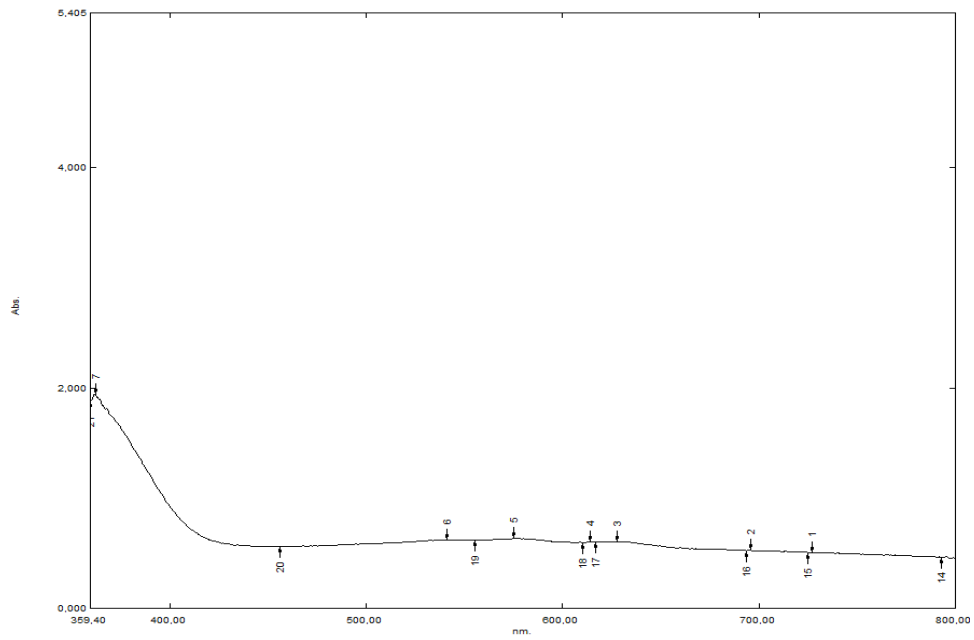


Εικόνα 9: Σέπαλο *Delphinium sp* (σε μπλε χρωματισμό μόνο σε ραβδώσεις και στο τελικό άκρο, αλλά λευκό χρωματισμό στο υπόλοιπο σέπαλο)

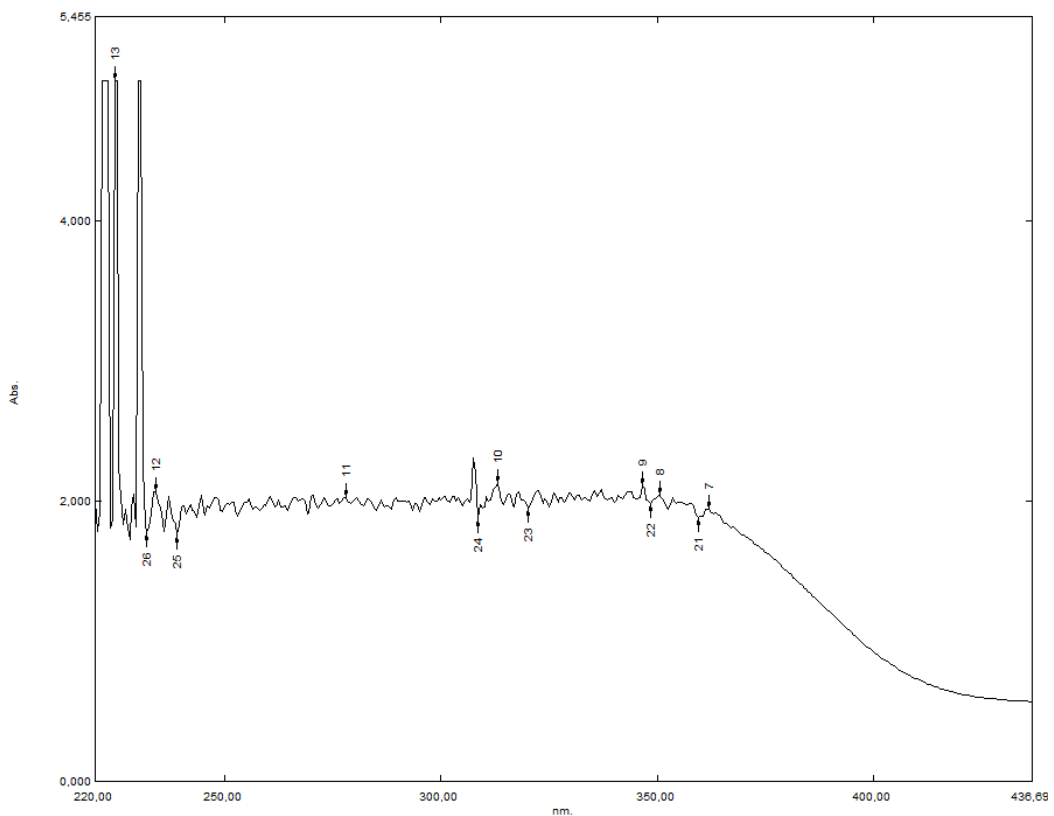


Φάσμα 4: Φάσμα από σέπαλο *Delphinium sp* (σε μπλε χρωματισμό μόνο σε ραβδώσεις και στο τελικό άκρο, αλλά λευκό χρωματισμό στο υπόλοιπο σέπαλο), του δείγματος στην Εικόνα

9.



Φάσμα 4.1: Φάσμα από σέπαλο *Delphinium sp* (σε μπλε χρωματισμό μόνο σε ραβδώσεις και στο τελικό άκρο, αλλά λευκό χρωματισμό στο υπόλοιπο σέπαλο), του δείγματος στην Εικόνα 9. (800-400 nm)



Φάσμα 4.2: Φάσμα από σέπαλο *Delphinium sp* (σε μπλε χρωματισμό μόνο σε ραβδώσεις και στο τελικό άκρο, αλλά λευκό χρωματισμό στο υπόλοιπο σέπαλο), του δείγματος στην Εικόνα 9. (400-220 nm)

ΠΙΝΑΚΑΣ 5. Φασματοσκοπικά χαρακτηριστικά απορρόφησης στο ορατό σέπαλου δελφινίου με λευκό υπόβαθρο και μπλε ραβδώσεις (Εικόνα 9, Φάσμα 4), ταξινομημένα από $\lambda_{\text{ελάχιστο}} (\lambda_{\text{min}})$ μέχρι $\lambda_{\text{μέγιστο}} (\lambda_{\text{max}})$

	Κοιλάδα 1 $A(\lambda\text{nm})$	Ωμος $A(\lambda\text{nm})$	Δευτερεύουσα κορυφή 1, $A_1, (\lambda_1\text{nm})$	A_K/A_1	Κοιλάδα 2 $A(\lambda\text{nm})$	Κύρια κορυφή $A_K, (\lambda_K\text{nm})$	Κοιλάδα 3 $A(\lambda\text{nm})$	Δευτερεύουσα κορυφή 2, $A_2, (\lambda_2\text{nm})$	Κοιλάδα 4 $A(\lambda\text{nm})$	Δευτερεύουσα κορυφή 3, $A_2, (\lambda_3\text{nm})$	A_K/A_2
Κορυφές			0,161 (540)	1,130		0,182 (575)		0,140 (614)		0,140 (628)	1,300
Κοιλάδες	0,084 (456)				0,140 (561)		0,133 (612)		0,126 (616)		
Ωμος											
Πλάτος ζώνης στο ήμισυ της μέγιστης απορρόφησης, $\Delta\lambda/2, \text{nm}$	162										

ΠΙΝΑΚΑΣ 6. Φασματοσκοπικά χαρακτηριστικά απορρόφησης στο υπεριώδες σέπαλου δελφινίου με λευκό υπόβαθρο και μπλε ραβδώσεις (Εικόνα 9, Φάσμα 4.2), ταξινομημένα από $\lambda_{\text{ελάχιστο}} (\lambda_{\text{min}})$ μέχρι $\lambda_{\text{μέγιστο}} (\lambda_{\text{max}})$

		Κύρια κορυφή (10)*, $A_K, (\lambda_K\text{nm})$	A_{KUV}/A_{KVIS}
Κορυφές		0,797 (316)	0,797/0,175 = 4,55
Κοιλάδες			
Πλάτος ζώνης στο ήμισυ της μέγιστης απορρόφησης, $\Delta\lambda/2, \text{nm}$	ΔMNY^{**}		

*Οι αριθμοί στη παρένθεση αναφέρονται στο Φάσμα 4.2

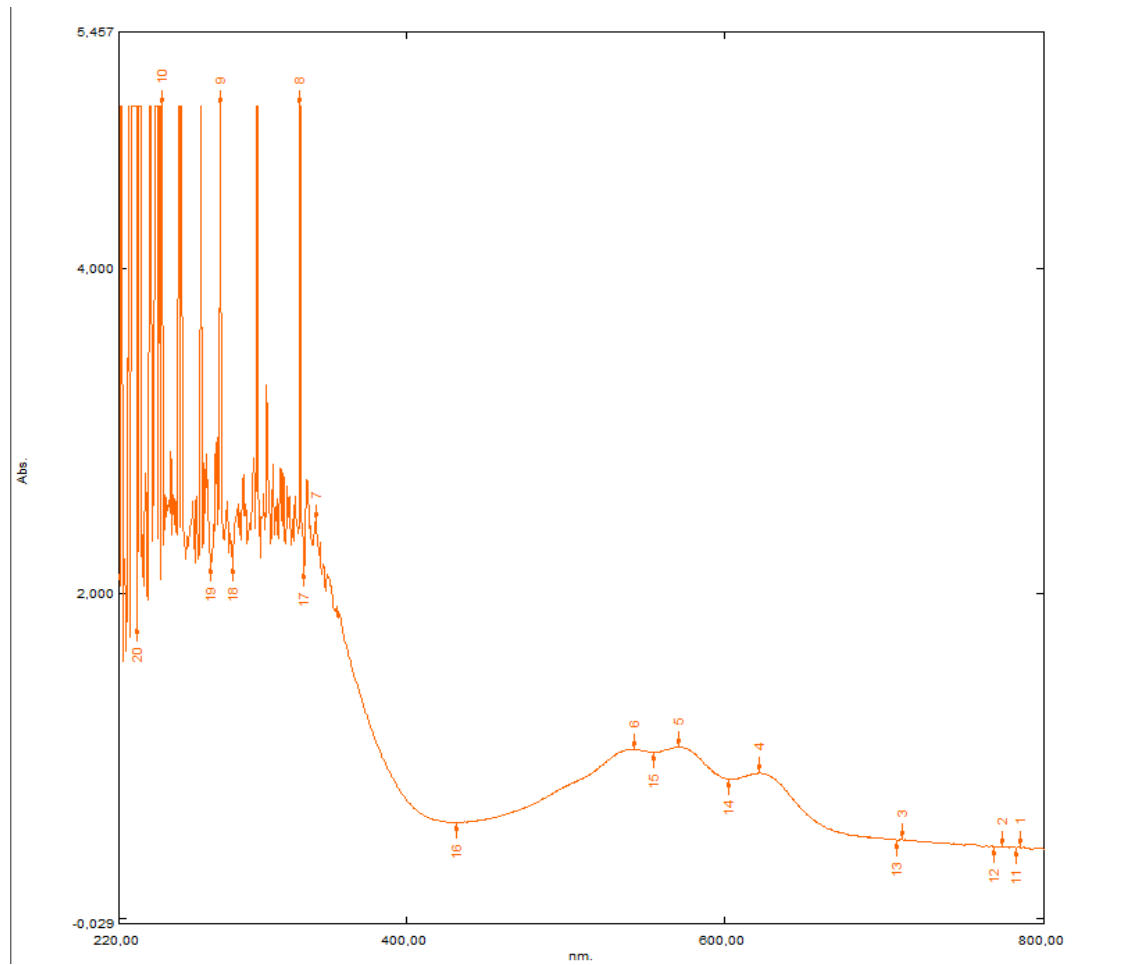
**ΔΜΝΥ: Δεν μπορεί να υπολογιστεί λόγω του ότι η ζώνη απορρόφησης δεν διαγράφεται έστω και ως πεπλατυσμένη Γκαουσιανή καμπύλη.

Το φάσμα του συγκεκριμένου πετάλου με λευκό υπόβαθρο και μπλε ραβδώσεις δεν δίνει σημαντικές πληροφορίες στο υπεριώδες λόγω της μιας και πολύ εκτεταμένης έκτασης απορρόφησης (έναρξη περ. 410 nm, συνεχής κορυφή από περ. 350 μέχρι 230 nm). Αντίθετα, το φάσμα στο ορατό προσομοιάζει προς αυτό του έντονα χρωματισμένου δελφινίου, ως προς τη θέση των κορυφών και την μεταξύ τους απορροφητικότητα.

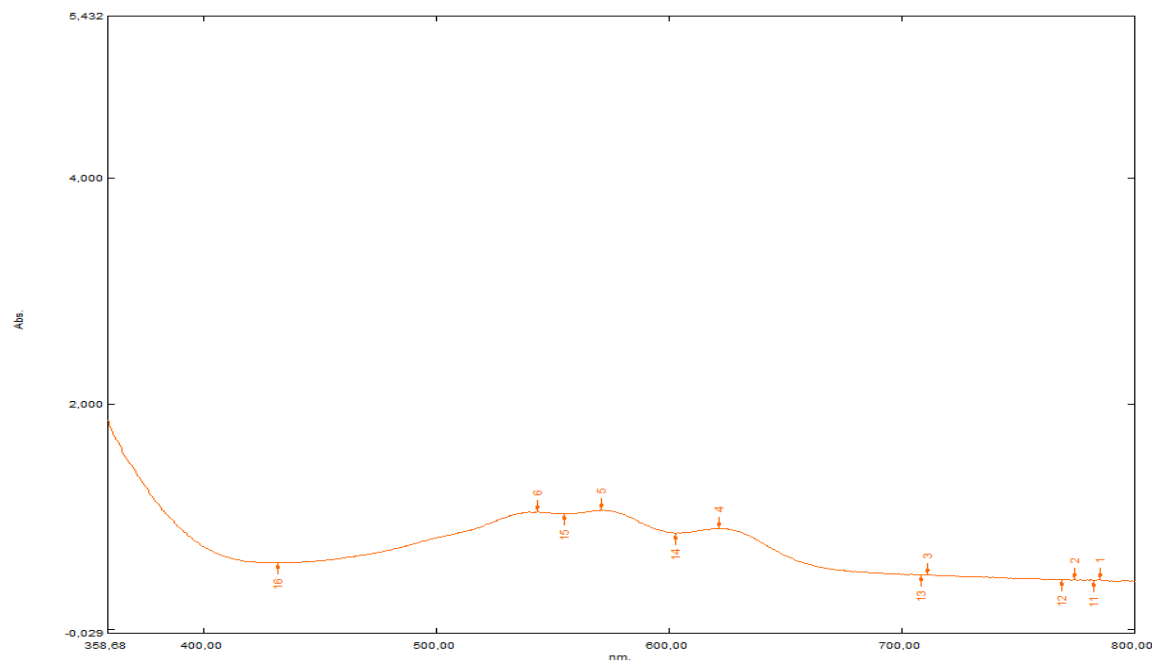
Για να μπορέσουμε να πάρουμε φάσμα κυκλικού διχρωισμού ολόκληρου πετάλου, έπρεπε αφυδατωθεί το πέταλο ώστε να είναι ευκολότερη η λήψη φάσματος (Εικόνα 10). Το φάσμα απορρόφησης του αφυδατωμένου πετάλου φαίνεται στο Φάσμα 5.



Εικόνα 10: Διάταξη αφυδάτωσης σέπαλου του *Delphinium sp.* Η κωνική φιάλη για επίτευξη κενού αέρος περιέχει απιοντισμένο νερό και ένα ή περισσότερα πέταλα. Το λάστιχο συνδέεται με την βρύση όπου έχει προσαρμοστεί συσκευή επίτευξης κενού αέρος με συνεχή ροή νερού.



Φάσμα 5 :Φάσμα αφυδατωμένου σέπαλου *Delphinium sp.*



Φάσμα 5.1 :Φάσμα αφυδατωμένου σέπαλου *Delphinium sp.*(800-400 nm)

ΠΙΝΑΚΑΣ 7. Φασματοσκοπικά χαρακτηριστικά απορρόφησης στο ορατό αφυδατωμένου σέπαλου δελφινίου(Φάσμα 5), ταξινομημένα από λ_{ελάχιστο} (λ_{min}) μέχρι λ_{μέγιστο}(λ_{max})

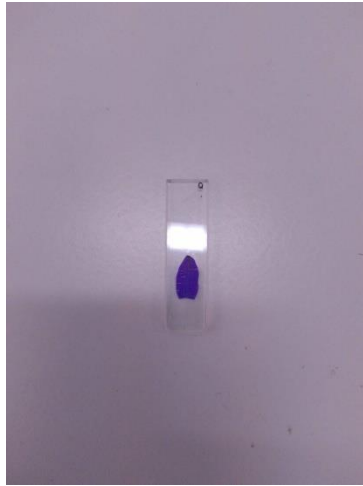
	Κοιλάδα 1 (16) A(λnm)	Ωμος A(λnm)	Δευτερεύουσα κορυφή 1 (6), A ₁ , (λ ₁ nm)	A _κ /A ₁	Κοιλάδα 2 (15) A(λnm)	Κύρια Κορυφή (5) A _κ , (λ _κ nm)	Κοιλάδα 3 (14) A(λnm)	Δευτερεύουσα κορυφή 2, A ₂ , (λ ₂ nm)	A _κ /A ₂	A _{κuv} /A _{κvis}
Κορυφές			0,614 (540)	1,0 46		0,642 (569)		0,442 (621)	1,4 52	3,261 **
Κοιλάδες	0,162 (431)				0,581 (554)		0,409 (602)			
Ωμος		0,381 (500)								
Πλάτος ζώνης στο ήμισυ της μέγιστης απορρόφησης, Δλ/2,nm	148									

*Οι αριθμοί σε παρένθεση αφορούν κορυφές και κοιλάδες στα Φάσματα 5 και 5.1

** Η απορρόφηση στο υπεριώδες (Φάσματα 5 και 5.2) είναι πολύ έντονη και ασταθής, οπότε ο συγκεκριμένος λόγος έχει αρκετό περιθώριο σφάλματος

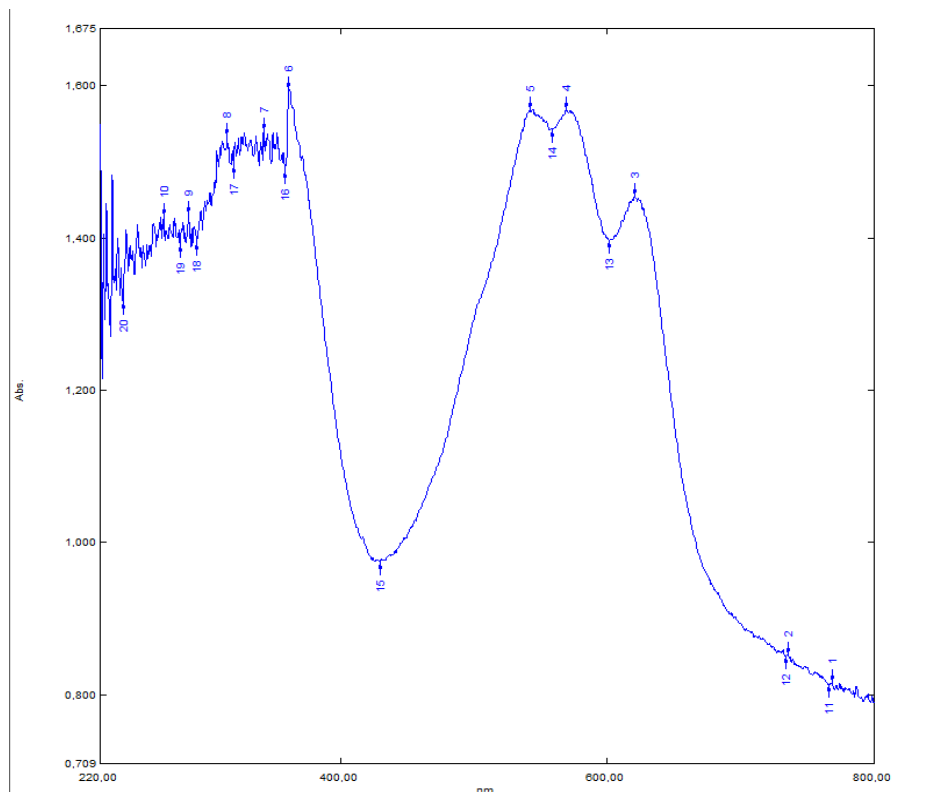
ΠΑΡΑΤΗΡΗΣΕΙΣ

Στα φάσματα παρατηρήθηκαν διαφορές μεταξύ τους τόσο στην τοποθέτηση τους πάνω στη κυψελίδα αλλά και από την περιοχή από την οποία συλλέχθηκαν. Σε περίπτωση που το σέπαλο τοποθετηθεί πολύ χαμηλά στη κυψελίδα προκύπτει φάσμα που μόνο εν μέρει προσομοιάζει με το φάσμα των εκχυλισμένων σε νερό χρωστικών του πετάλου (συγκρίνατε Εικόνες 8, 10, 11 και 12, και τα αντίστοιχα Φάσματα 2, 3, 4, 5, 6, και 7).



Εικόνα 11:Σέπαλο (μη αφυδατωμένο) *Delphinium sp* (σε λάθος θέση στη κυψελίδα, πιο συγκεκριμένα πιο χαμηλά από τη μέση της κυψελίδας)

(* η λευκή επιφάνεια σε σχήμα ορθογώνιου παραλληλογράμμου είναι αντανάκλαση του φωτός την ώρα της φωτογραφίας)

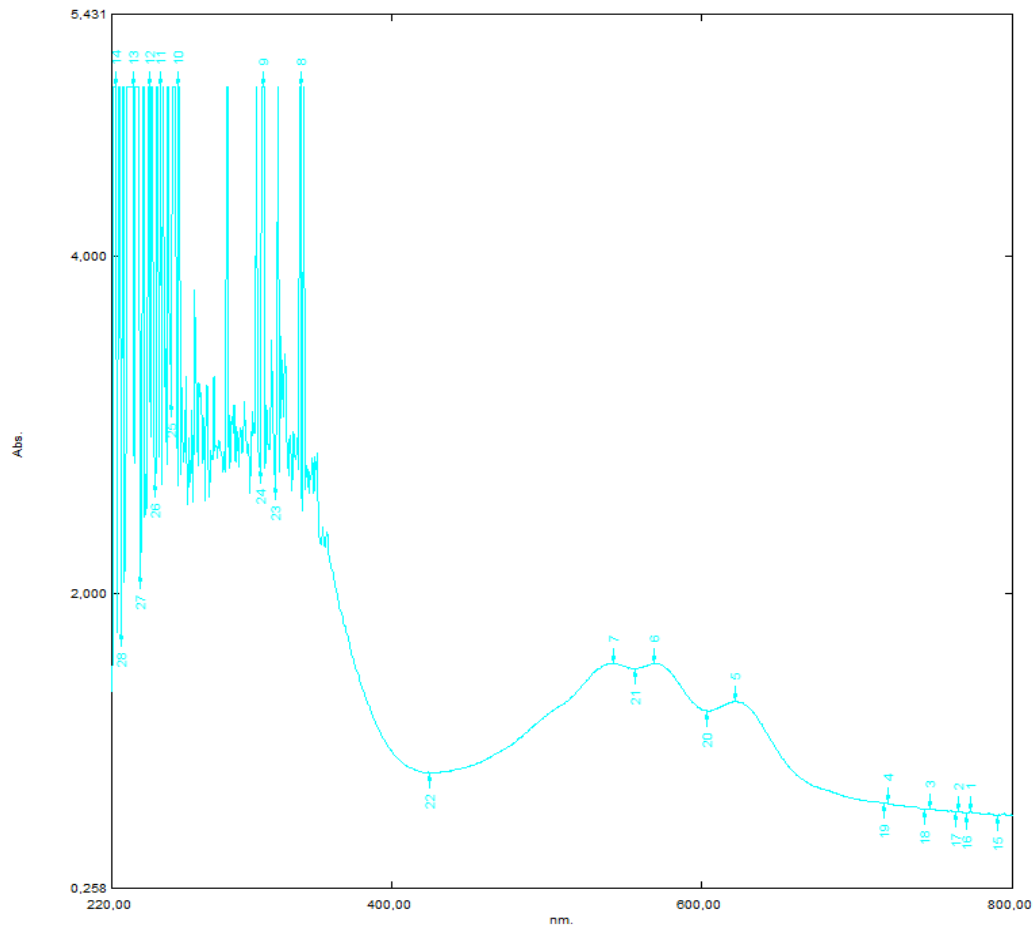


Φάσμα 6: Φάσμα από σέπαλο (μη αφυδατωμένο) *Delphinium sp* (σε λάθος θέση στη κυψελίδα 1mm, (όπως φαίνεται στην Εικόνα 10). Προσέξτε το τελείως διαφορετική μορφή του φάσματος στη μη απορροφούσα περιοχή 800-650, καθώς και στη περιοχή του υπεριώδους φωτός.

Χαρακτηριστικά παρατηρήθηκε ότι με τη λάθος τοποθέτηση του σέπαλου από το άνθος, χαμηλά στην κυψελίδα, έχει σχετικά απότομη αύξηση της απορροφητικότητας στη μη απορροφούσα περιοχή 800-650 nm, καθώς και τελείως διαφορετικής μορφής φάσμα πρωτίστως στο υπεριώδες, αλλά και στο ορατό. Η τοποθέτηση του σέπαλου στην πορεία της δέσμης φωτός (δηλ. λίγο πιο ψηλά από ότι ήταν προηγουμένως, βλ. Εικόνα 11), επιτρέπει να παρθεί φάσμα που μοιάζει πάρα πολύ με αυτό του μη αφυδατωμένου πετάλου (Φάσματα 2, 3, 4, 5 και 7), αλλά και του υδατικού εκχυλίσματος πετάλου (Φάσμα 1).



Εικόνα 12: Σέπαλο(μη αφυδατωμένο) *Delphinium sp* (σε σωστή θέση στη κυψελίδα)



Φάσμα 7: Φάσμα από σέπαλο(μη αφυδατωμένο) *Delphinium* sp (σε σωστή θέση, Εικόνα 12, στη κυψελίδα μήκους οπτικής διαδρομής 1 mm)

Με όλους τους απαραίτητους υπολογισμούς όπως και προηγουμένως, προκύπτουν οι παρακάτω μετρήσεις για τα χαρακτηριστικά του δεύτερου αφυδατωμένου σέπαλου, της Εικόνας 12, Φάσματος 7.

ΠΙΝΑΚΑΣ 8. Φασματοσκοπικά χαρακτηριστικά απορρόφησης στο ορατό του δεύτερου αφυδατωμένου σέπαλου δελφινίου (Εικόνα 12, Φάσμα 7Α), ταξινομημένα από λ_{ελάχιστο} (λ_{min}) μέχρι λ_{μέγιστο} (λ_{max})

	Κοιλάδα 1 (22)* A(λnm)	Ωμος A(λnm)	Δευτερεύουσα κορυφή 1 (7), A ₁ , (λ ₁ nm)	A _κ /A ₁	Κοιλάδα 2 (21) A(λnm)	Κύρια Κορυφή(6) A _κ , (λ _κ nm)	Κοιλάδα 3 (20) A(λnm)	Δευτερεύουσα κορυφή 2 (5), A ₂ , (λ ₂ nm)	A _κ /A ₂	A _κ uv/A _κ vis
Κορυφές			0,866 (536)	1,0 26		0,888 (564)		0,644 (619)	1,3 79	2,377/0,888 = 2,678 **
Κοιλάδες	0,222 (423)				0,822 (553)		0,600 (601)			
Ωμος		0,577 (500)								

*Οι αριθμοί σε παρένθεση αφορούν κορυφές και κοιλάδες στο Φάσμα 7

** Η απορρόφηση στο υπεριώδες (Φάσμα 7) είναι πολύ έντονη και ασταθής, οπότε ο συγκεκριμένος λόγος έχει αρκετό περιθώριο σφάλματος

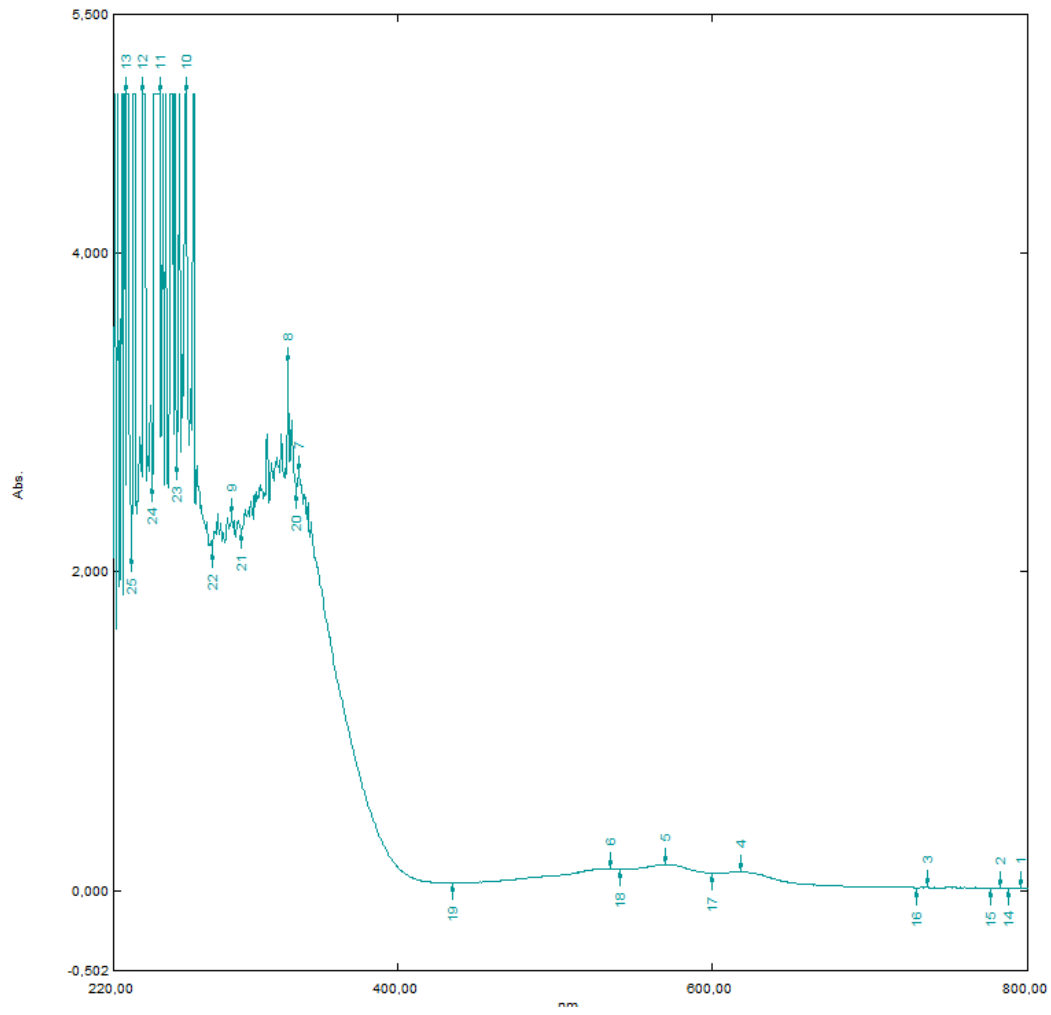
Συνοψίζοντας τα μέχρι τώρα αποτελέσματα, παρατηρήθηκε ότι τα φάσματα ανέπαφων ή αφυδατωμένων σέπαλων μοιάζουν πολύ μεταξύ τους καθώς και με το φάσμα υδατικού εκχυλίσματος πετάλων δελφινίου. Η ομοιότητα αυτή δεν μπορεί να είναι τυχαία, μια και αφορά πολλές κορυφές και κοιλάδες στο ορατό μέρος του φάσματος. Η μόνη αξιοσημείωτη διαφορά είναι στο αχνό σέπαλο δελφινίου, το οποίο επιδεικνύει επιπλέον κορυφές στο ορατό και μια τελείως διαφορετική μορφή απορρόφησης στο υπεριώδες.

Φάσματα εκχυλισμάτων σεπάλων

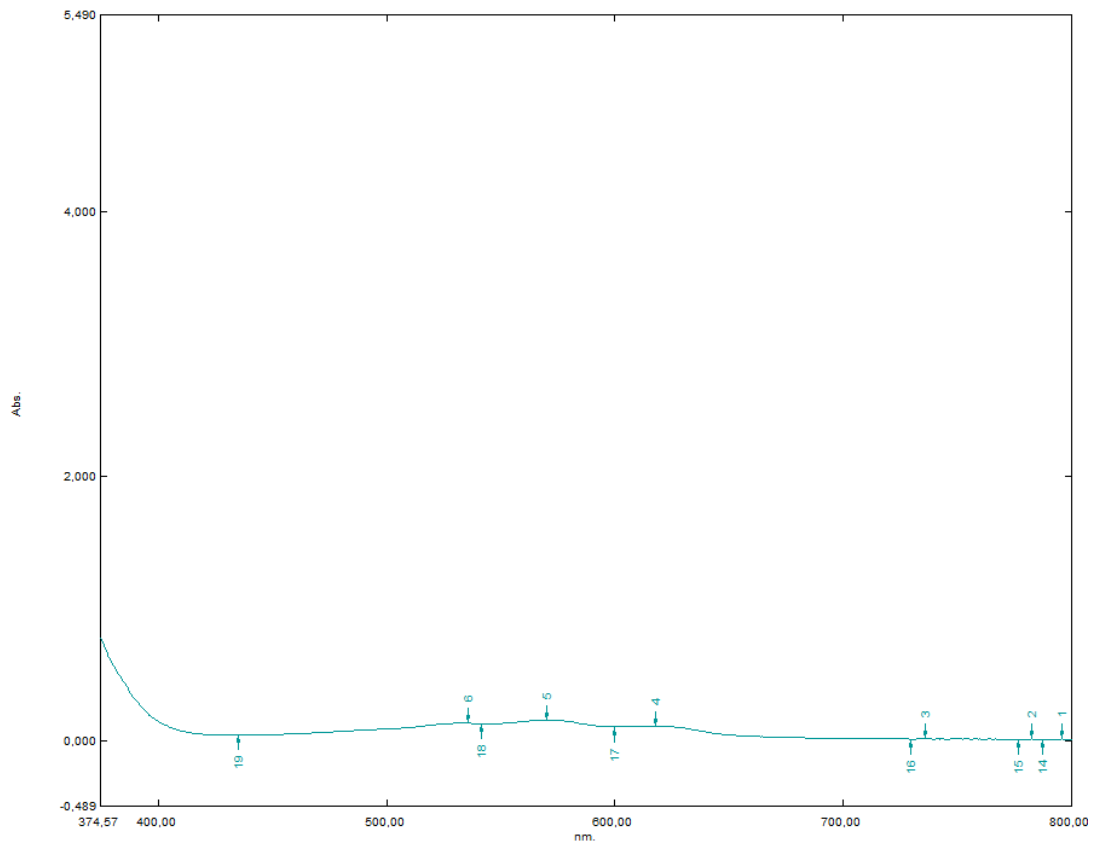
Στράφηκε τώρα η προσοχή στα εκχυλίσματα σεπάλων σε 70 % (v/v) αιθανόλης. Αυτός ο διαλύτης επιλέχθηκε εξ αιτίας της τυχαίας παρατήρησης στο εργαστήριο από προηγούμενες ομάδες ότι κατά την διάρκεια ξεπλύματος γυαλικών που είχαν χρησιμοποιηθεί σε εκχύλιση σεπάλων με οξυνισμένη μεθανόλη, το διάλυμα έκπλυσης 70 % αιθανόλης οδηγούσε σε χρωματισμό (από κατάλοιπα χρωστικών) πολύ παρόμοιο αν όχι ίδιο με το χρώμα του ανέπαφου σεπάλου στο συγκεκριμένο άνθος. Το διάλυμα αυτό έχει το πλεονέκτημα ότι διατηρεί (τουλάχιστον για διάστημα μερικών ημερών) άσηπτες συνθήκες.



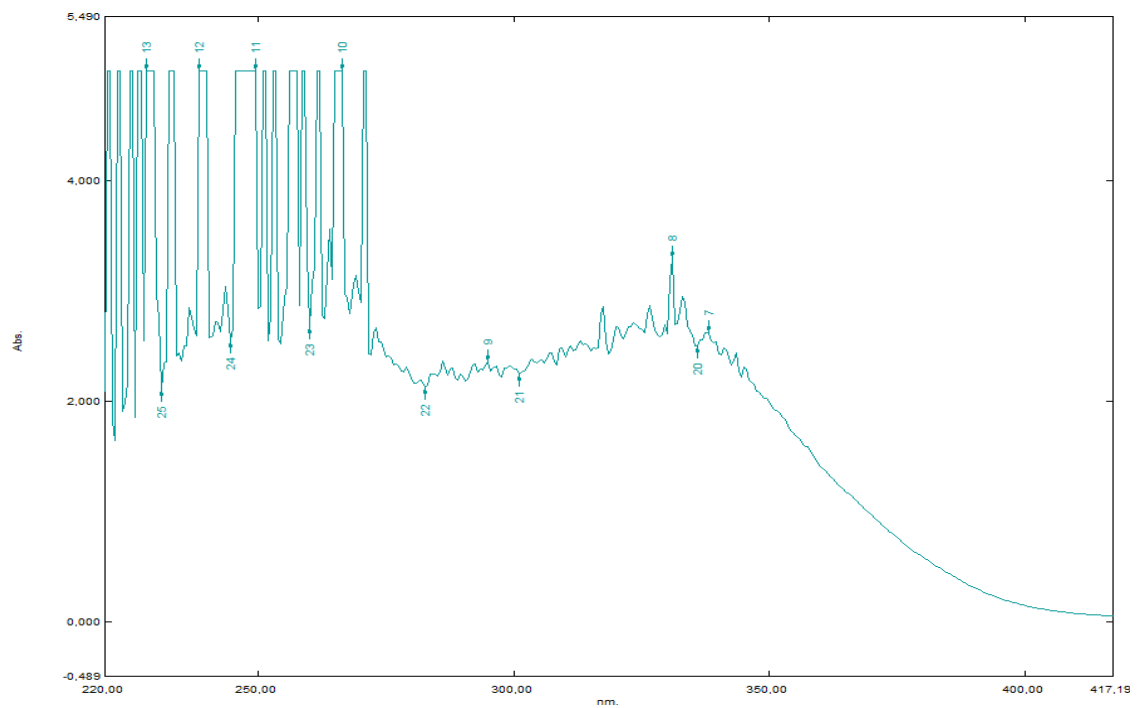
Εικόνα 13: Φωτογραφία του αραιωμένου (1:2) εκχυλίσματος των σέπαλων του φυτού *Delphinium sp.* (70% EtOH) (1:2)



Φάσμα 8: Φάσμα απορρόφησης του αραιωμένου(1:2)εκχυλίσματος σέπαλων σε διάλυμα70% EtOH, από το φυτού *Delphinium sp.* σε κυψελίδα 1mm



Φάσμα 8.1: Φάσμα απορρόφησης του αραιωμένου(1:2)εκχυλίσματος σέπαλων σε διάλυμα70% EtOH, από το φυτού *Delphinium sp.* σε κοψελίδα 1mm (800-400 nm)



Φάσμα 8.2: Φάσμα απορρόφησης του αραιωμένου(1:2)εκχυλίσματος σέπαλων σε διάλυμα70% EtOH, από το φυτού *Delphinium sp.* σε κοψελίδα 1mm (400-220 nm)

ΠΙΝΑΚΑΣ 9. Φασματοσκοπικά χαρακτηριστικά απορρόφησης στο ορατό αραιωμένου εκχυλίσματος (1:2 σε 70 % αιθανόλη) σέπαλου δελφινίου (Εικόνα 13, Φάσματα 8 και 8.1), ταξινομημένα από λ_{ελάχιστο} (λ_{min}) μέχρι λ_{μέγιστο}(λ_{max})

	Κοιλάδα 1 (22) A(λnm)	Ωμος A(λnm)	Δευτερεύουσα κορυφή 1 (7), A ₁ , (λ ₁ nm)	A _κ /A ₁	Κοιλάδα 2 (21) A(λnm)	Κύρια Κορυφή ή (6) A _κ , (λ _κ nm)	Κοιλάδα 3 (20) A(λnm)	Δευτερεύουσα κορυφή 2 (5), A ₂ , (λ ₂ nm)	A _κ /A ₂	A _{κuv} /A _{κvis}
Κορυφές			0,138 (536)	1,070		0,148 (570)		0,091 (619)	1,379	2,762/0,148 = 18,662**
Κοιλάδες	0,038 (437)				0,081 (541)		0,086 (601)			
Ωμος		-----								
Πλάτος ζώνης στο ήμισυ της μέγιστης απορρόφησης, Δλ/2, nm	157									

*Οι αριθμοί σε παρένθεση αφορούν κορυφές και κοιλάδες στο Φάσμα 8 και 8.1

** Η απορρόφηση στο υπεριώδες (Φάσμα 8) είναι πολύ έντονη και ασταθής, οπότε ο συγκεκριμένος λόγος έχει αρκετό περιθώριο σφάλματος

ΠΙΝΑΚΑΣ 10. Φασματοσκοπικά χαρακτηριστικά απορρόφησης στο υπεριώδες αραιωμένου εκχυλίσματος (1:2 σε 70 % αιθανόλη) σέπαλου δελφινίου (Εικόνα 13, Φάσμα 8.2), ταξινομημένα από λελάχιστο (λ_{\min}) μέχρι λ_{\max}

		Κοιλάδα 1 (22)* A (λ nm)	Δευτερεύουσα κορυφή 1 (9)* A (λ nm)	Κοιλάδα 2 (21)* A (λ nm)	Κύρια κορυφή (8), A _κ , ($\lambda_{κ}$ nm)	A _{κuv} /A _{κvis}
Κορυφές			2,285 (293)		2,762** (330)	2,947/0,175 = 4,55 **
Κοιλάδες		2,140 (281)		2,238 (299)		
Πλάτος ζώνης στο ήμισυ της μέγιστης απορρόφησης, $\Delta\lambda/2$,nm	Δ MNY***					

*Οι αριθμοί στη παρένθεση αναφέρονται στο Φάσμα 8.2

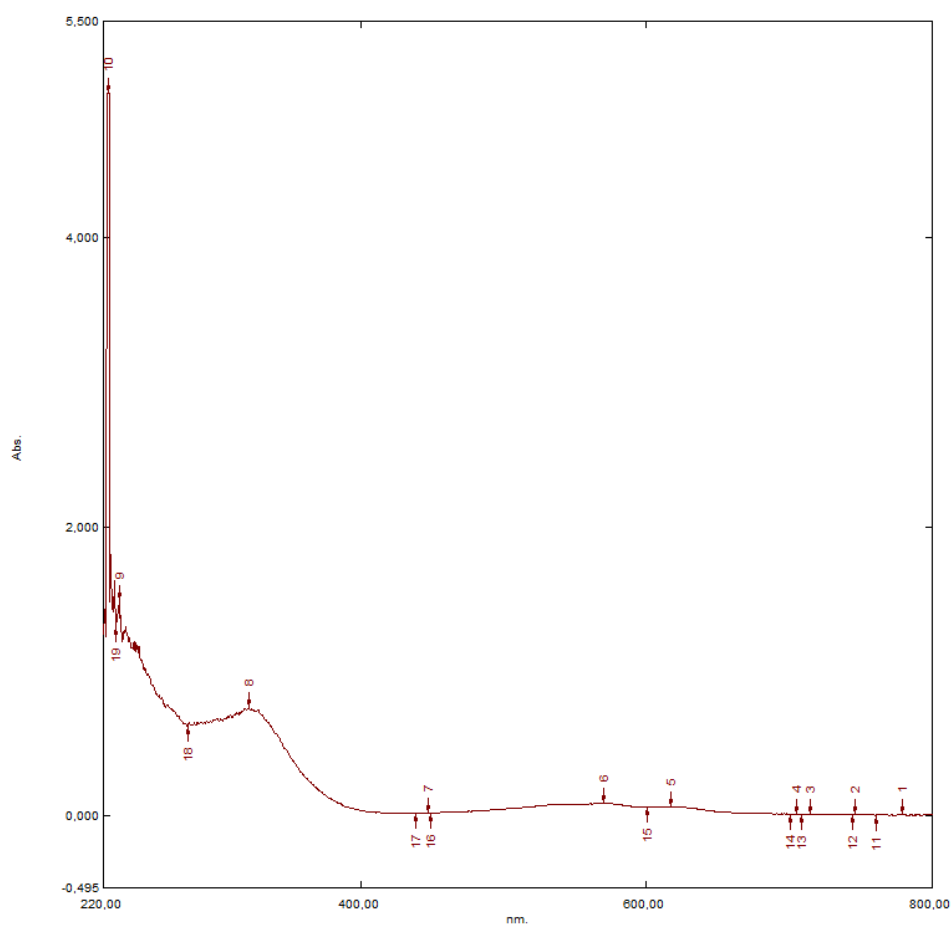
** οι μετρήσεις $A > 2,000$ δεν μπορούν να θεωρηθούν πολύ αξιόπιστες, ιδιαίτερα αυτές που είναι $A \gg 2,000$. Το ίδιο ισχύει και για τις όποιες μεταβλητές βασίζονται πάνω σε τέτοιες τιμές

*** Δ MNY: Δεν μπορεί να υπολογιστεί λόγω του ότι η ζώνη απορρόφησης δεν διαγράφεται έστω και ως πεπλατυσμένη Γκαουσιανή καμπύλη.

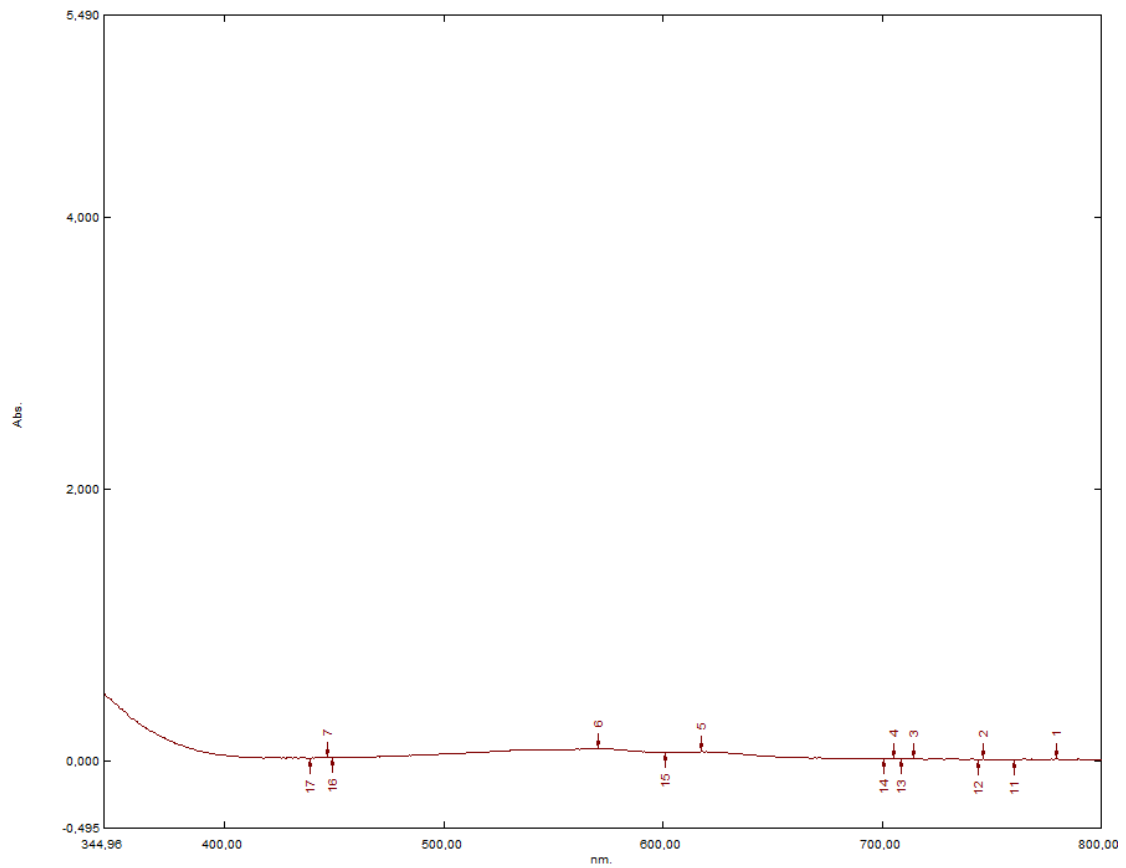
Θα εξεταστούν τα αποτελέσματα των αραιώσεων συνολικά, όμως προς στιγμήν αρκεί να παρατηρηθεί ότι οι τιμές απορροφητικότητας στο υπεριώδες φως των εκχυλισμάτων σε 70 % αιθανόλη είναι σαφώς μεγαλύτερες του 2,000. Αυτό είναι εν πολλοίς αναπόφευκτο για να είναι δυνατή η μέτρηση απορροφητικότητας στο ορατό και υπεριώδες συνάμα. Στις περιπτώσεις σέπαλων (αφυδατωμένων και μη) δεν υπάρχει η παραμικρή επιλογή. Απλά στις περιπτώσεις πάρα πολύ αχνών σέπαλων ή σέπαλων μόνο με ραβδώσεις, αποτελούν μοναδικές ευκαιρίες για σχετικά αξιόπιστες καταγραφές του φάσματος απορρόφησης στο ορατό και στο υπεριώδες.



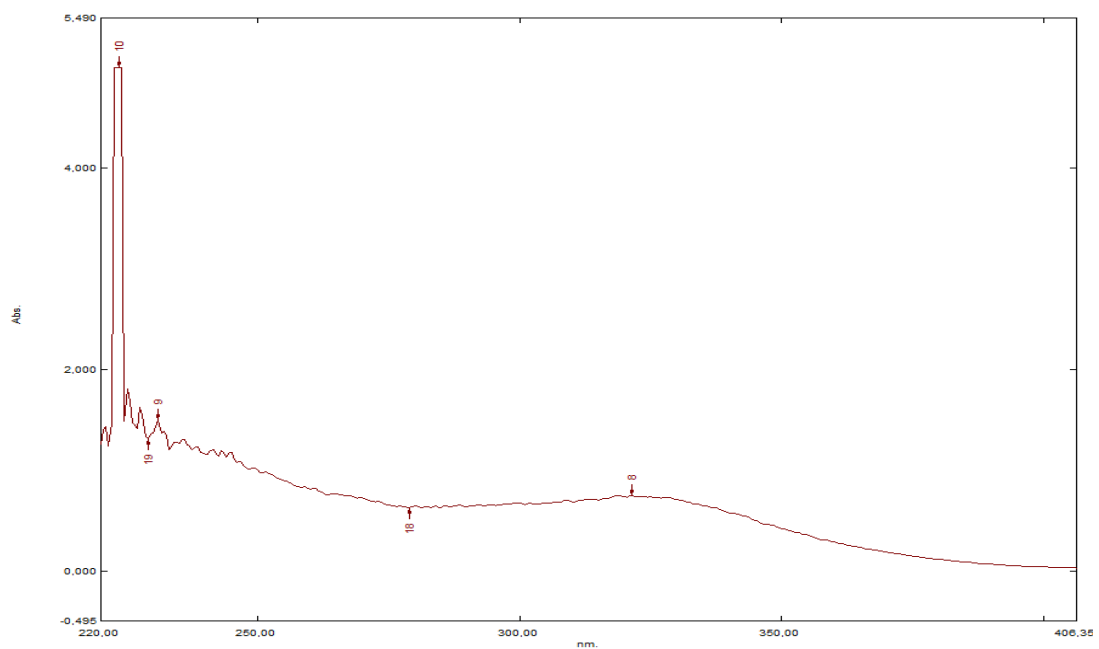
Εικόνα 14: Αραιωμένο (1:4) εκχύλισμα σέπαλων του φυτού *Delphinium sp.* σε 70 % (v/v) EtOH σε κυψελίδα 1 mm.



Φάσμα 9: Φάσμα απορρόφησης του αραιωμένου (1:4) εκχυλίσματος σέπαλων σε διάλυμα 70% EtOH, από το φυτού *Delphinium sp.* σε κυψελίδα 1 mm



Φάσμα 9.1: Φάσμα απορρόφησης του αραιωμένου (1:4) εκχυλίσματος σέπαλων σε διάλυμα 70% EtOH, από το φυτό *Delphinium sp.* σε κυψελίδα 1 mm στο ορατό (800-400 nm)



Φάσμα 9.2: Φάσμα απορρόφησης του αραιωμένου (1:4) εκχυλίσματος σέπαλων σε διάλυμα 70% EtOH, από το φυτό *Delphinium sp.* σε κυψελίδα 1 mm (400-220 nm)

ΠΙΝΑΚΑΣ 11. Φασματοσκοπικά χαρακτηριστικά απορρόφησης στο ορατό αραιωμένου εκχυλίσματος (1:4 σε 70 % αιθανόλη)σέπαλου δελφινίου(Εικόνα 14, Φάσματα 9 και 9.1),ταξινομημένα από λ_{ελάχιστο} (λ_{min}) μέχρι λ_{μέγιστο}(λ_{max})

	Κοιλάδα 1 (22) A(λnm)	Ωμος A(λnm)	Δευτερεύουσα κορυφή 1 (7), A ₁ , (λ ₁ nm)	A _κ / A ₁	Κοιλάδα 2 (21) A(λnm)	Κύρια Κορυφή (6) A _κ , (λ _κ nm)	Κοιλάδα 3 (20) A(λnm)	Δευτερεύουσα κορυφή 2 (5), A ₂ , (λ ₂ nm)	A _κ / A ₂	A _{κuv} /A _κ vis
Κορυφές			0,866 (536)			0,888 (570)		0,644 (619)	1,3 79	2,377/0, 888 = 2,678 **
Κοιλάδες	0,222 (437)				0,822 (541)		0,600 (601)			
Ωμος		0,577 (500)								
Πλάτος ζώνης στο ήμισυ της μέγιστης απορρόφησης, Δλ/2, nm	157									

*Οι αριθμοί σε παρένθεση αφορούν κορυφές και κοιλάδες στο Φάσμα 8 και 8.1

** Η απορρόφηση στο υπεριώδες (Φάσμα 8) είναι πολύ έντονη και ασταθής, οπότε ο συγκεκριμένος λόγος έχει αρκετό περιθώριο σφάλματος

ΠΙΝΑΚΑΣ 12. Φασματοσκοπικά χαρακτηριστικά απορρόφησης στο υπεριώδες αραιωμένου εκχυλίσματος (1:4 σε 70 % αιθανόλη) σέπαλου δελφινίου (Εικόνα 14, Φάσμα 9.2), ταξινομημένα από λ_{ελάχιστο} (λ_{min}) μέχρι λ_{μέγιστο} (λ_{max})

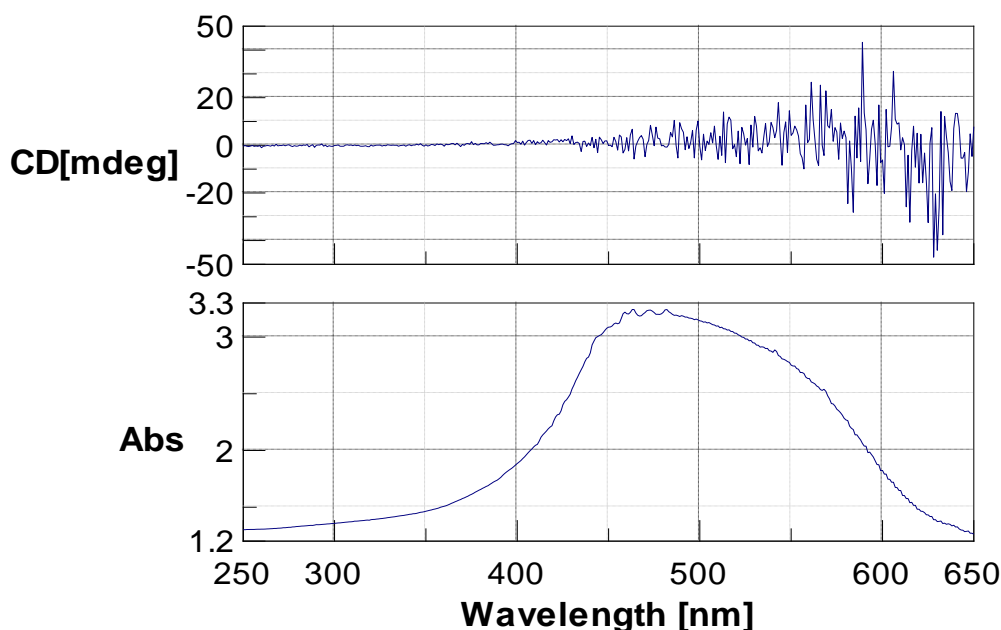
		Κοιλάδα 1 (22)* A (λ nm)	Κύρια κορυφή (8), A _κ , (λ _κ nm)	A _{κuv} /A _{κvis}
Κορυφές			0,755 (321)	0,755/0,175 = 4,55
Κοιλάδες		0,604 (279)		
Πλάτος ζώνης στο ήμισυ της μέγιστης απορρόφησης, Δλ/2, nm	ΔΜΝΥ**			

*Οι αριθμοί στη παρένθεση αναφέρονται στο Φάσμα 8.2

**ΔΜΝΥ: Δεν μπορεί να υπολογιστεί λόγω του ότι η ζώνη απορρόφησης δεν διαγράφεται έστω και ως πεπλατυσμένη Γκαουσιανή καμπύλη.

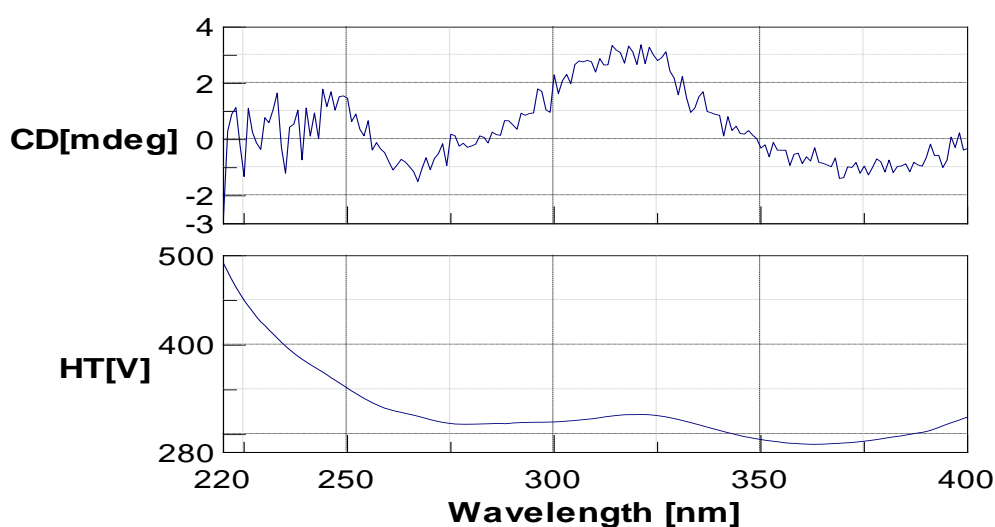
ΚΥΚΛΙΚΟΣ ΔΙΧΡΩΙΣΜΟΣ ΣΤΟ ΕΚΧΥΛΙΣΜΑ ΤΟΥ

Delphinium sp.

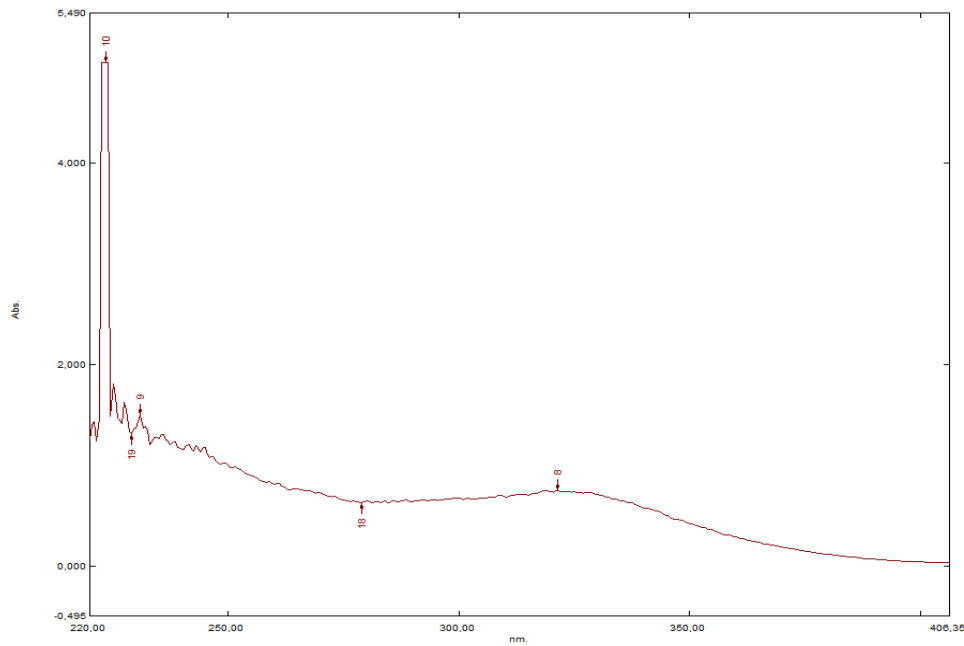


Φάσμα 10: Φάσμα κυκλικού διχρωϊσμού από αφυδατωμένο σέπαλο *Delphinium sp.* (650-250 nm) σε κυψελίδα 1mm (Εικόνα 10). Το αντίστοιχο φάσμα απορρόφησης είναι το Φάσμα 5.

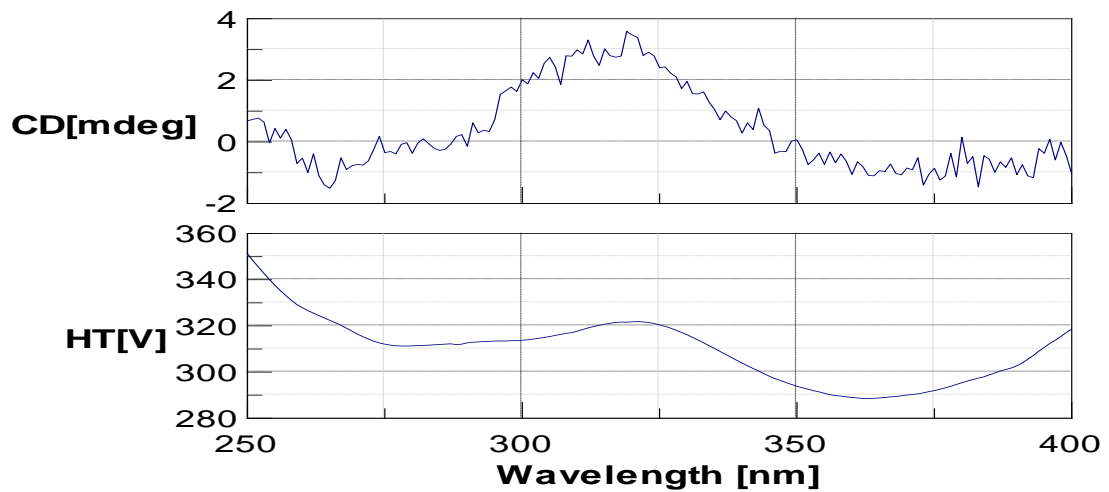
Στο αφυδατωμένο σέπαλο παρατηρείται φάσμα κυκλικού διχρωϊσμού με διπλή αντίστροφη κορυφή στην περιοχή 650-500 nm η οποία μάλλον υποδηλώνει αλληλεπίδραση μεταξύ χρωμοφόρων ουσιών.



Φάσμα 11: Φάσμα κυκλικού διχρωϊσμού εκχυλίσματος *Delphinium sp.* (1/4 αραιώση σε 70% EtOH) στην περιοχή 400-220 nm) σε κυψελίδα 1mm.



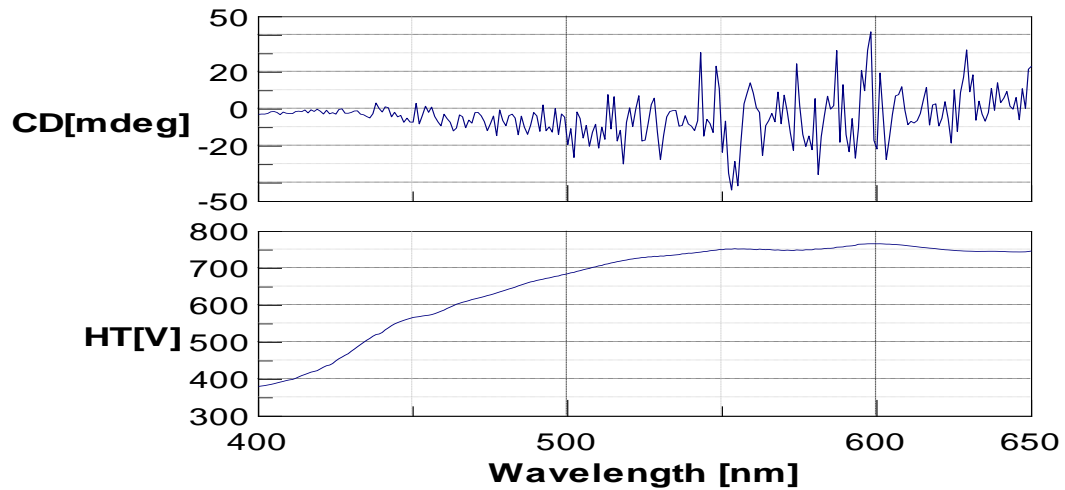
Φάσμα απορρόφησης του αραιωμένου (1:4) εκχυλίσματος σέπαλων σε διάλυμα 70% EtOH, από το φυτό *Delphinium sp.* σε κυψελίδα 1 mm (400-220 nm)



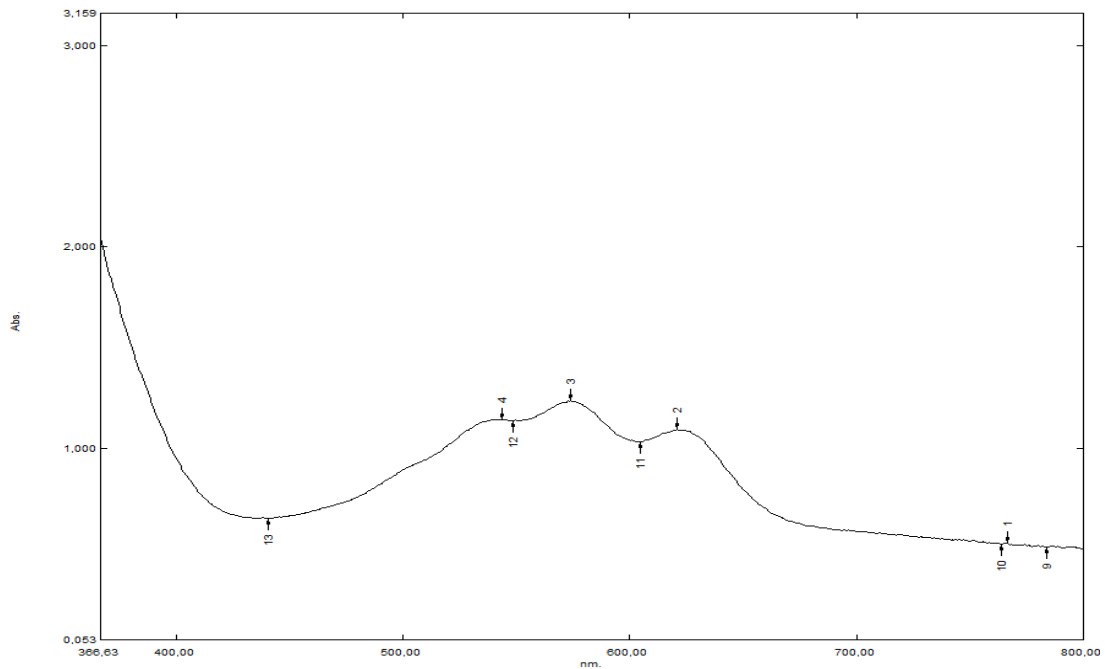
Φάσμα 12: Φάσμα κυκλικού διχρωϊσμού εκχυλίσματος *Delphinium sp.* (αραίωση 1/4 σε 70% EtOH στη περιοχή 400-250 nm) σε κυψελίδα 1 mm

Στα δύο φάσματα κυκλικού διχρωϊσμού στη περιοχή του εγγύς υπεριώδους (400-250/220 nm) αραιωμένου υδατικού εκχυλίσματος (1/4) υπάρχει μια σχετικά μεγαλύτερη θετική κορυφή στα περ. 320 nm, καθώς και δύο μικρότερης έντασης αρνητικές κορυφές στα 375 nm και στα 265 nm. Με δεδομένες τις έντονες απορροφήσεις στη περιοχή αυτή και που οι κορυφές τους όμως δεν ταυτίζονται με τις θετικές και αρνητικές

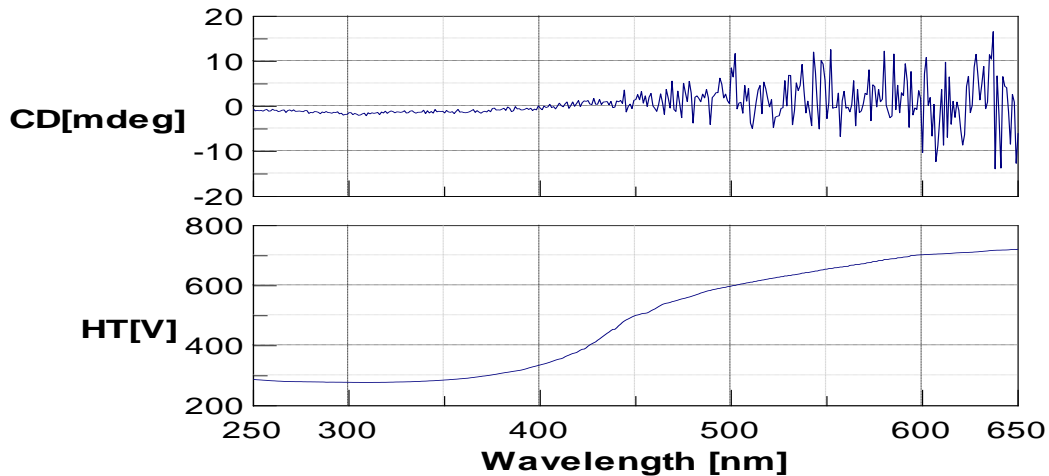
κορυφές του φάσματος κυκλικού διχρωϊσμού, το πιθανότερο είναι ότι έχουμε να κάνουμε με αλληλεπίδραση μεταξύ διάφορων χρωμοφόρων ουσιών (ενίοτε και ταυτόσημης χημικής δομής).



Φάσμα 13: Φάσμα κυκλικού διχρωϊσμού εκχυλίσματος *Delphinium sp* (600-400 nm) σε κυψελίδα 1mm.



Πυκνό εκχύλισμα *Delphinium sp.* σε κυψελίδα 1mm (800-400 nm)



Φάσμα 14: Φάσμα κυκλικού διχρωϊσμού από σέπαλο του φυτού *Delphinium sp* (650-250 nm) σε κυψελίδα 1mm

Το φάσμα κυκλικού διχρωϊσμού του πετάλου με έντονο χρωματισμό δείχνει επίσης αρνητική και θετική ζώνη στο ορατό, καθώς και μια ελαφρώς αρνητική ζώνη στο υπεριώδες. Όμως, η τελευταία δεν μπορεί να αξιολογηθεί λόγω του ότι η απορρόφηση είναι πολύ έντονη, πέρα από την επιτρεπόμενη.

Συμπερασματικά, παρατηρήθηκε στα εκχυλίσματα σέπαλων δελφινίου ότι υπάρχει οπτική ενεργότητα ενδεικτική ύπαρξης αλληλεπιδράσεων μεταξύ των χρωστικών, τόσο στο ορατό όσο και στο υπεριώδες. Αντίθετα, μόνο η οπτική ενεργότητα στο ορατό μπορεί να τεκμηριωθεί στα σέπαλα (ανέπαφα ή αφυδατωμένα) λόγω της μεγάλης απορρόφησης στο υπεριώδες.

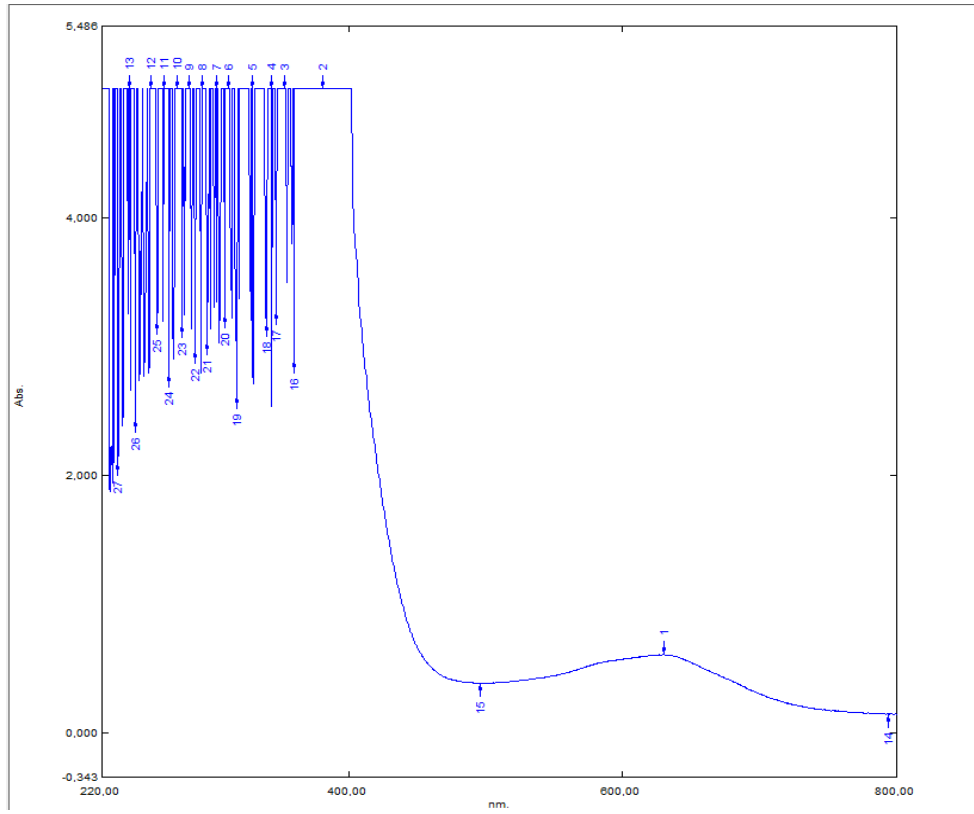
Μελλοντικές έρευνες θα πρέπει να εστιάσουν στην φύση των εμπλεκόμενων χρωστικών καθώς και την ακριβή τρισδιάστατη δομή του όλου συμπλόκου.

ΠΡΟΣΘΗΚΗ ΟΞΕΟΣ/ΒΑΣΗΣ Ή ΜΕΤΑΛΛΙΚΩΝ ΚΑΤΙΟΝΤΩΝ ΑΠΟ ΑΝΟΡΓΑΝΑ ΑΛΑΤΑ ΣΕ ΕΚΧΥΛΙΣΜΑΤΑ ΔΕΛΦΙΝΙΟΥ

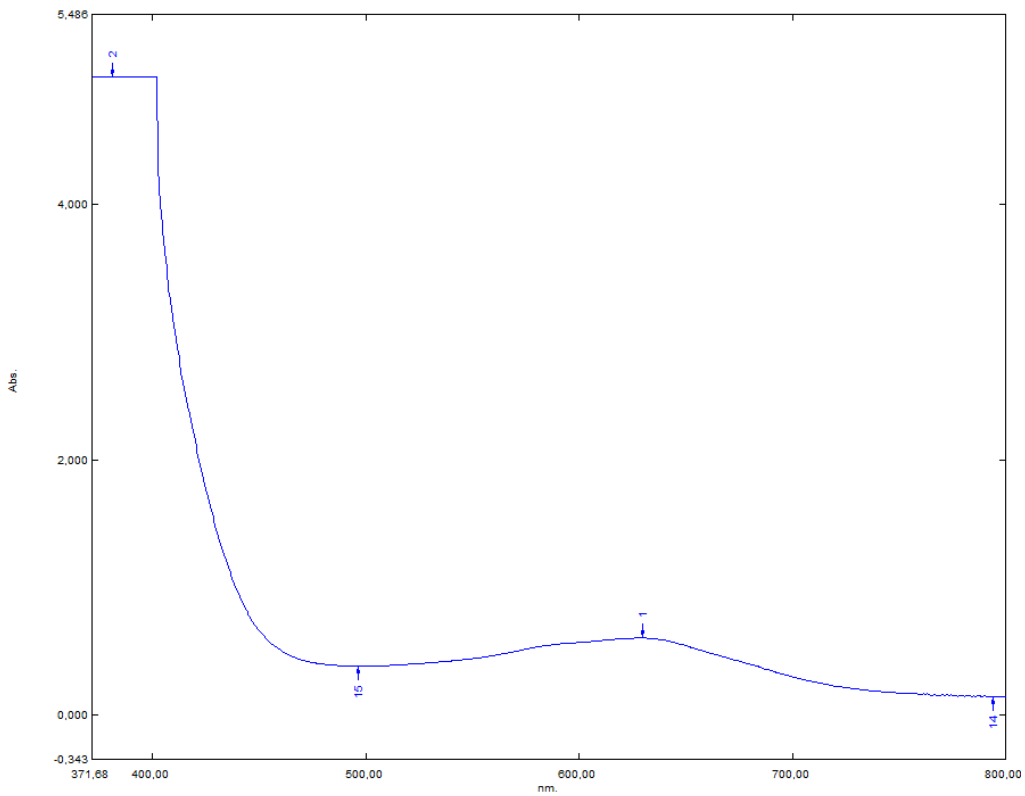
Στα παρακάτω πειράματα μελετήσαμε την αντίδραση εκχυλισμάτων δελφινίου σε νερό, μετά από προσθήκη οξέος ή βάσης, ή μεταλλικών κατιόντων από ανόργανα άλατα. Στο επόμενο πείραμα είδαμε ότι η προσθήκη των αλάτων στο εκχύλισμα του φυτού *Delphinium sp* αλλάζει το χρωματισμό του από μωβ σε πράσινο σκούρο (NaOH) και ροζ (HCl). Στην προσθήκη των αλάτων παρατηρούμε αλλαγή στο φάσμα τους σε σχέση με το φάσμα του εκχυλίσματος σε νερό με λιγότερες κορυφές.



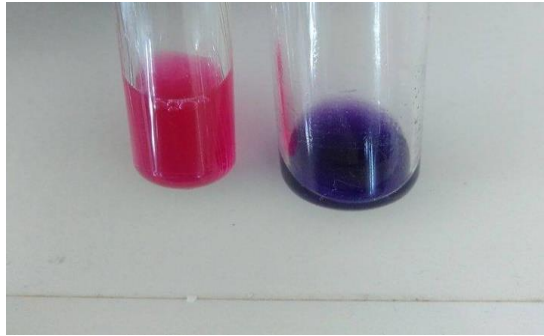
Εικόνα 15: Προσθήκη ισχυρής βάσης (NaOH, αριστερά) σε υδατικό εκχύλισμα του φυτού *Delphinium sp*



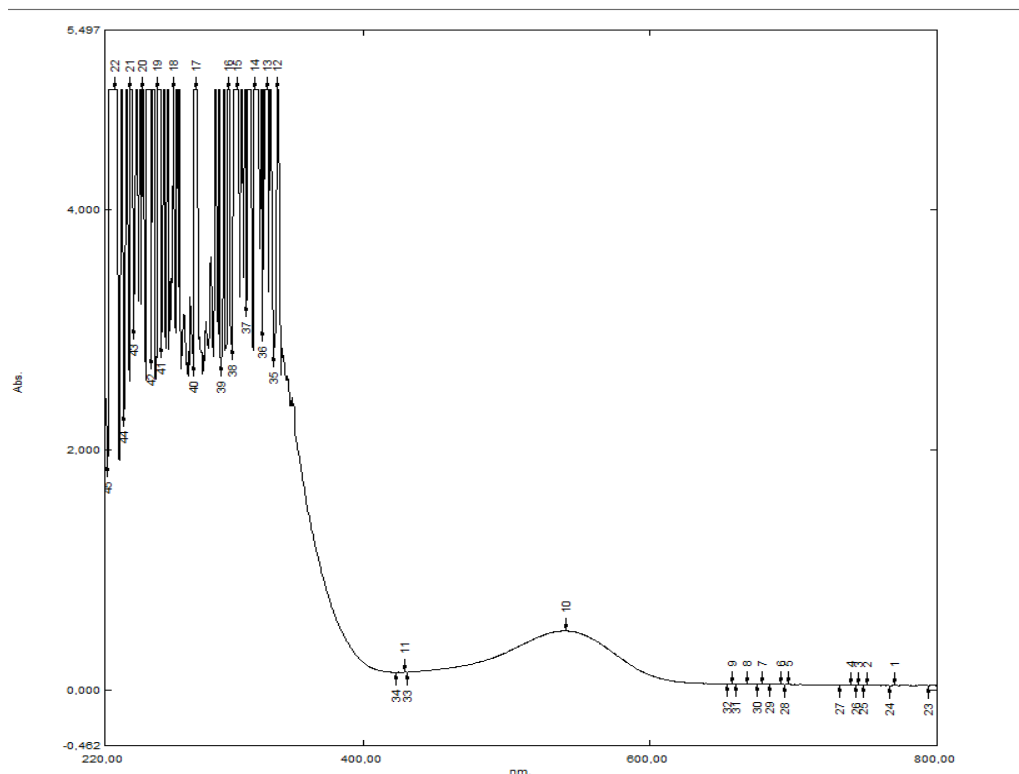
Φάσμα 15: Προσθήκη ισχυρής βάσης (NaOH) σε υδατικό εκχύλισμα του φυτού *Delphinium sp*



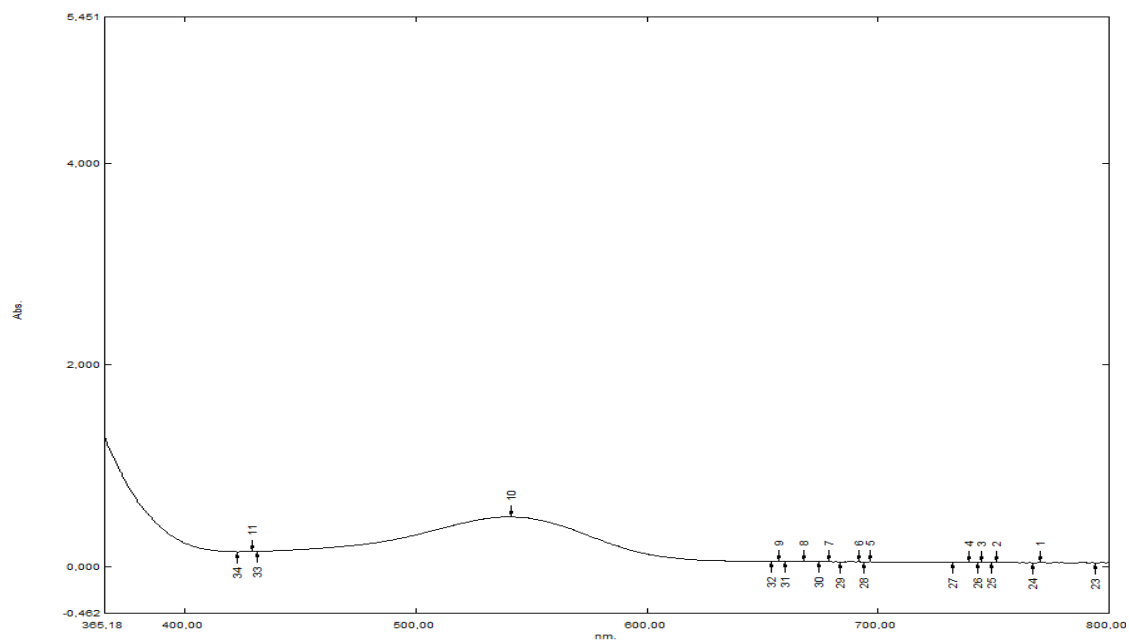
Φάσμα 15.1: Προσθήκη ισχυρής βάσης (NaOH) σε υδατικό εκχύλισμα του φυτού *Delphinium sp*(800-400 nm)



Εικόνα 16: Προσθήκη αλάτων (HCl) σε εκχύλισμα του φυτού *Delphinium sp*



Φάσμα 16: Προσθήκη πυκνού οξέος (HCl) σε υδατικό εκχύλισμα του φυτού *Delphinium sp*



Φάσμα 16.1: Προσθήκη πυκνού οξέος (HCl) σε υδατικό εκχύλισμα του φυτού *Delphinium sp* (800-400 nm)

ΠΙΝΑΚΑΣ 13. Αδρή περιγραφή των φασματοσκοπικών χαρακτηριστικών εκχυλίσματος σέπαλων δελφινίου μετά από προσθήκη ισχυρής βάσης ή οξέος

		Κοιλάδα 1 <i>A</i> (λ nm)	Ωμος <i>A</i> (λ nm)	Δευτερεύουσα κορυφή 1, <i>A</i> ₁ , (λ ₁ nm)	<i>A</i> _κ / <i>A</i> ₁	Κοιλάδα 2 <i>A</i> (λ nm)	Κύρια κορυφή <i>A</i> _κ , (λ _κ nm)	Κοιλάδα 3 <i>A</i> (λ nm)	Δευτερεύουσα κορυφή 2, <i>A</i> ₂ , (λ ₂ nm)	<i>A</i> _κ / <i>A</i> ₂
Εκχύλισμα ή σέπαλο *	Κορυφές			0,677 (543)	1,1 39		0,77 1 (573)		0,601 (622)	1,2 83
«	Κοιλάδες	0,190 (441)				0,665 (548)		0,549 (605)		
«	Ωμος		0,4 25 (500)							
«	Πλάτος ζώνης στο ήμισυ της μέγιστης απορρόφησης	153								

	$\Delta\lambda/2, \text{nm}$								
--	------------------------------	--	--	--	--	--	--	--	--

Προσθήκη Ισχυρής Βάσης (NaOH)	Κορυφές/κοιλιάδες/Ωμοί**	—	0,266 (585)	— —	—	0,444 (629)	—	—	
“	Πλάτος ζώνης στο ήμισυ της μέγιστης απορρόφησης $\Delta\lambda/2, \text{nm}$	182							
Προσθήκη Ισχυρού Οξέος (HCl)	Κορυφές/κοιλιάδες/Ωμοί**	—	—	— —	—	0,404 (542)	— —	—	—
“	Πλάτος ζώνης στο ήμισυ της μέγιστης απορρόφησης $\Delta\lambda/2, \text{nm}$	77							

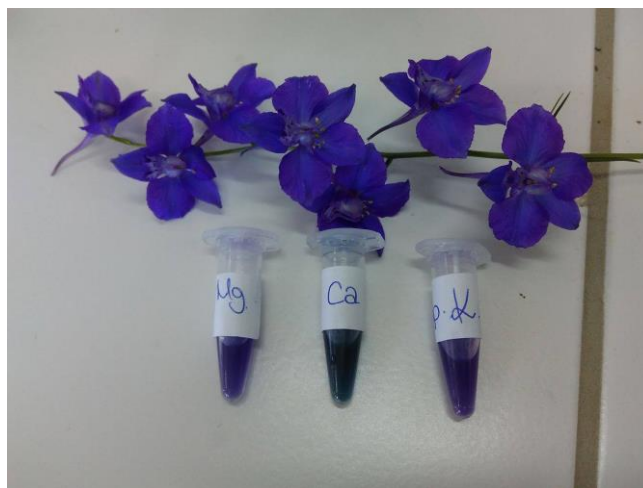
*Μικροδιαφορές ενδέχεται να υπάρχουν, όπως τεκμαίρεται από τα διάφορα φάσματα και πίνακες. Τα δεδομένα είναι από το Φάσμα 2, Πίνακα 2.

**Η προκύπτουσα καμπύλη μετά τη προσθήκη οξέος είναι σχεδόν τέλεια Γκαουσιανή, ενώ μετά τη προσθήκη βάσης είναι αρκετά πεπλατυσμένη, με ώμο στα 585 nm.

Προσθήκη μεταλλικών κατιόντων

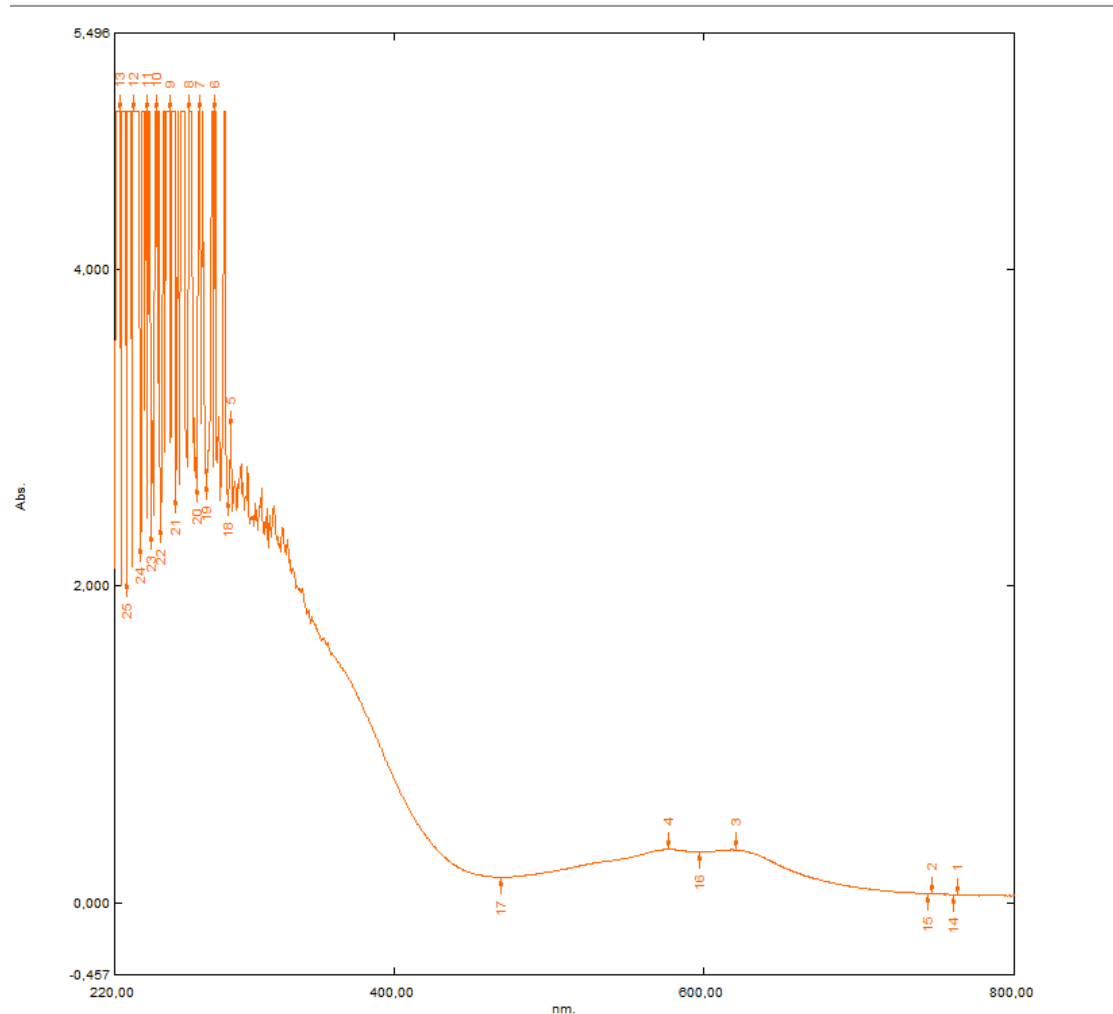
Στη συνέχεια στράφηκε η προσοχή στην αντίδραση των υδατικών εκχυλισμάτων δελφινίου με μεταλλικά κατιόντα που προκύπτουν από ανόργανα άλατα. Η βιβλιογραφία παρέχει πολλά παραδείγματα συμπλοκών συναρμογής διάφορων ανθοκυανών με ή χωρίς άλλες συγχρωστικές (π.χ. καροτένιο) και ποικίλα μεταλλικά κατιόντα, από K^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+} , Fe^{2+} , $Fe^{3+}Al^{3+}$. (Yoshidaetal.,2009, Itoetal., 2019). Στόχος μας ήταν να ελέγχθη αν η προσθήκη συγκεκριμένων μεταλλικών κατιόντων από ανόργανα άλατα επέφεραν οποιεσδήποτε αλλαγές στο φάσμα απορρόφησης και αν ναι τί είδους αλλαγές ήταν αυτές. Επιλέχθηκαν τα χλωριούχα άλατα διότι το ανιόν χλωρίου είναι παρόν εντός και εκτός κυττάρου σε αξιοσημείωτες συγκεντρώσεις (περ. 90 mM) οπότε δεν αναμένεται να συνεισφέρει αξιοσημείωτα στην αλλοίωση της όποιας αντίδρασης με χρωστικές ανθέων. Επίσης, μέχρι σήμερα δεν έχει αναφερθεί έστω και ένα παράδειγμα συμπλοκοποίησης σε φυσιολογικό pH χυμοτοπίου με ανθοκυανίνες, των συγκεκριμένων ή και άλλων χρωστικών με Cl^- .

1.Άμεσα μετά τη προσθήκη μεταλλικών κατιόντων

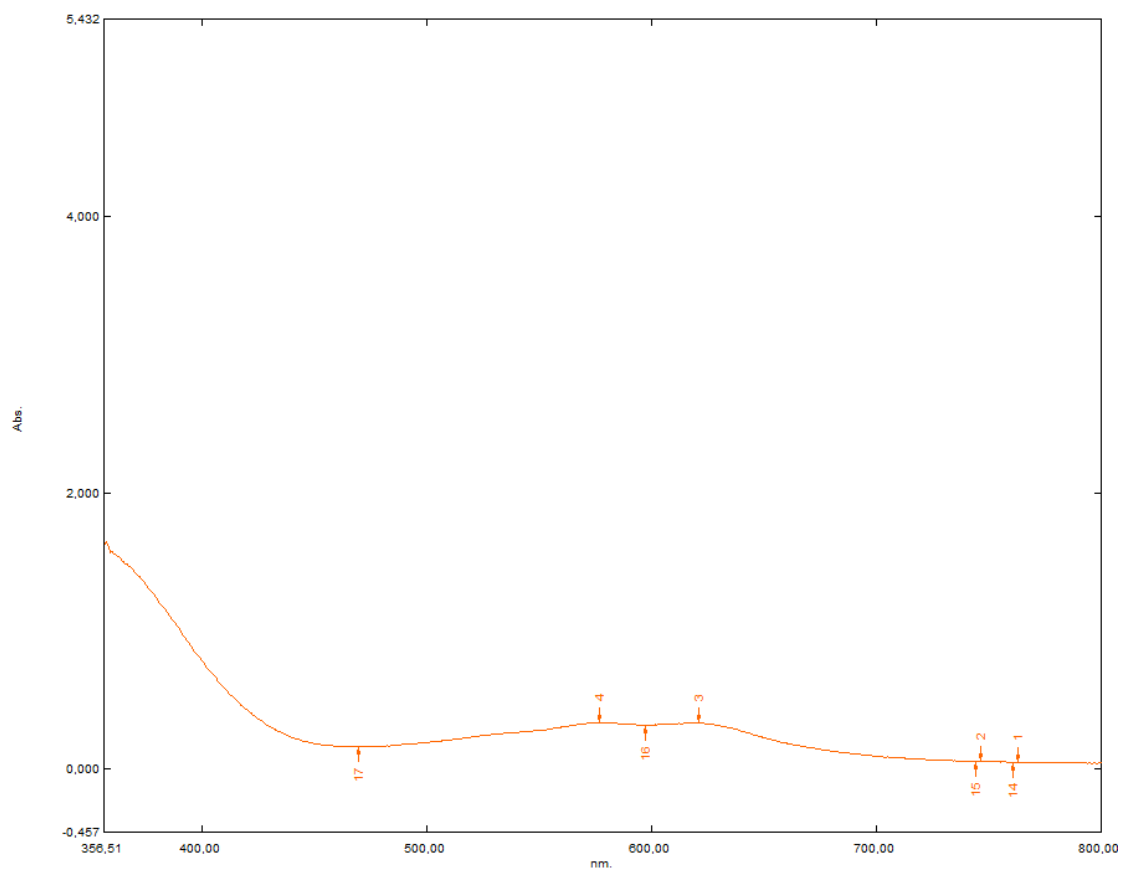


Εικόνα 17: Προσθήκη ($CaCl_2$, $MgCl_2$, KCl) σε υδατικό εκχύλισμα του φυτού *Delphinium sp.* για διαπίστωση τυχόν μεταλλικών κατιόντων στο εκχύλισμα και στο χυμοτόπιο in-situ.

Η προσθήκη λίγων κόκκων CaCl_2 προσδίδει στο υδατικό εκχύλισμα δελφινίου έντονο πράσινο χρώμα, ενώ δεν παρατηρείται μεγάλη αλλοίωση στο χρώμα του εκχυλίσματος μετά τη προσθήκη αντίστοιχων κόκκων MgCl_2 , ή KCl (Εικόνα 17). Για να γίνει καλύτερη κατανόηση για την φύση των αλλαγών, πάρθηκαν τα αντίστοιχα φάσματα απορρόφησης.



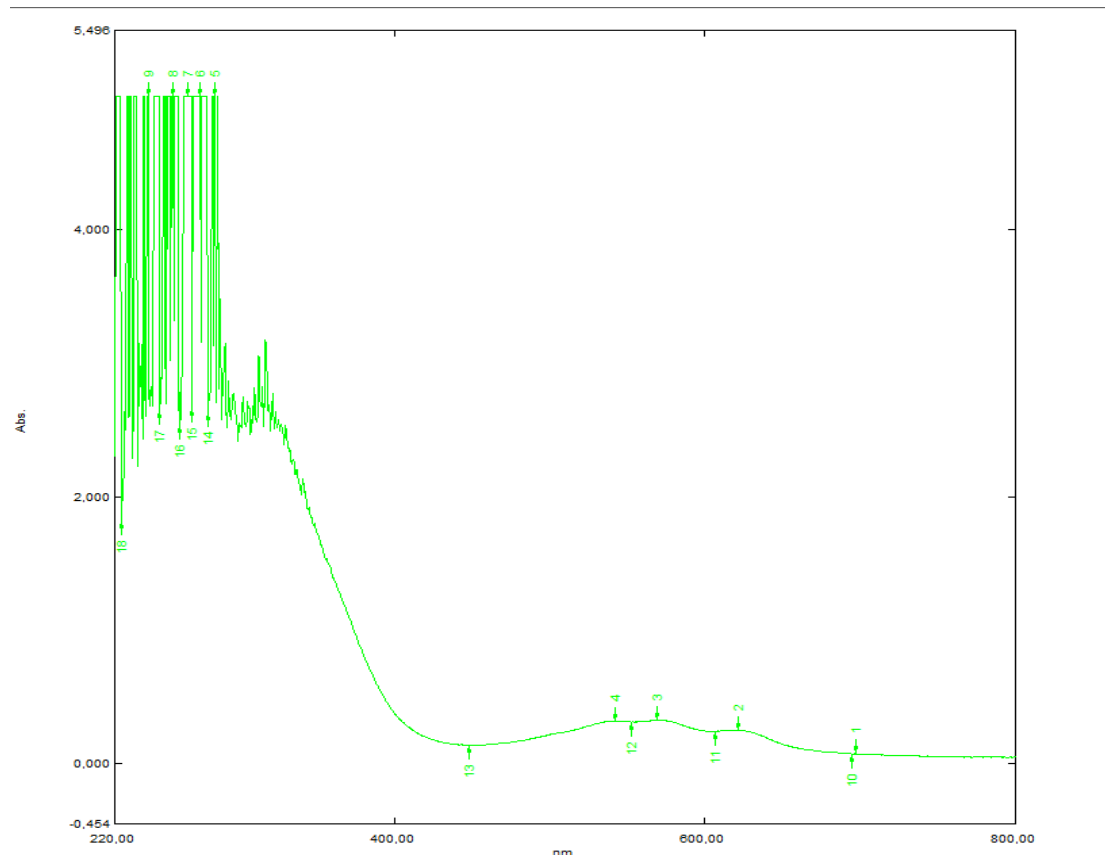
Φάσμα 17: Προσθήκη CaCl_2 σε εκχύλισμα του φυτού *Delphinium sp*



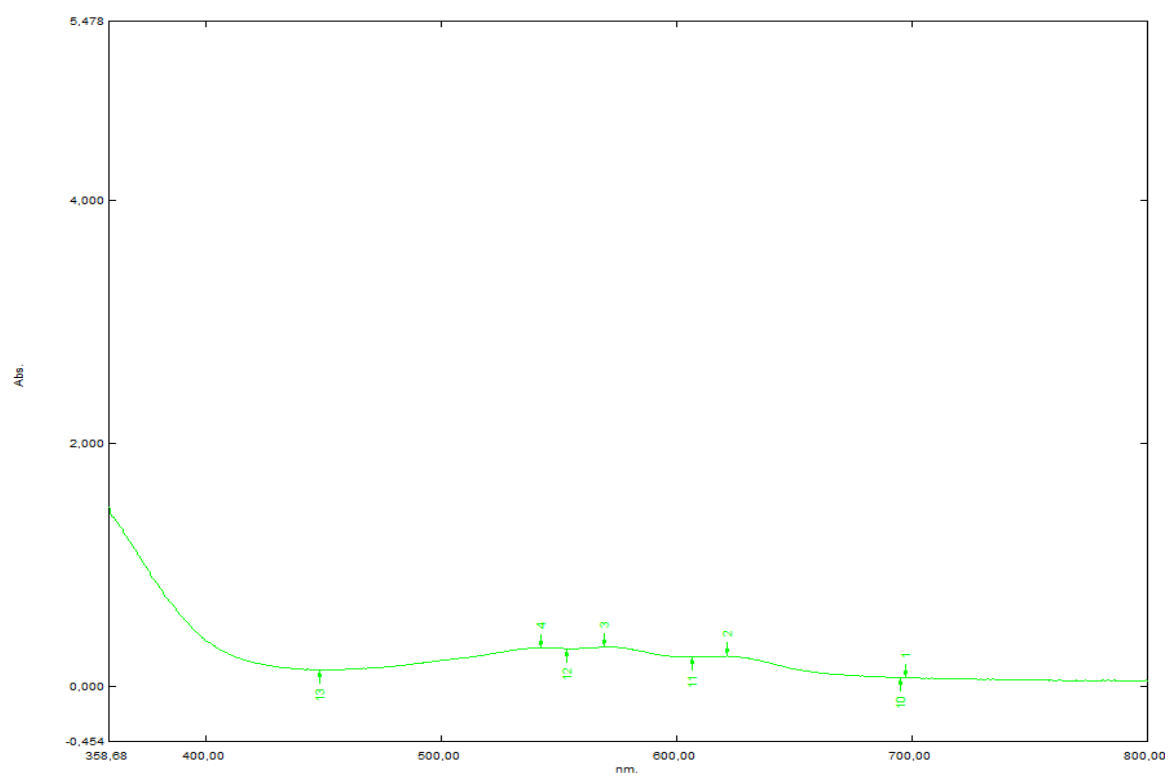
Φάσμα 17.1 : Προσθήκη CaCl_2 σε εκχύλισμα του φυτού *Delphinium sp* (800-400 nm)

ΠΑΡΑΤΗΡΗΣΕΙΣ

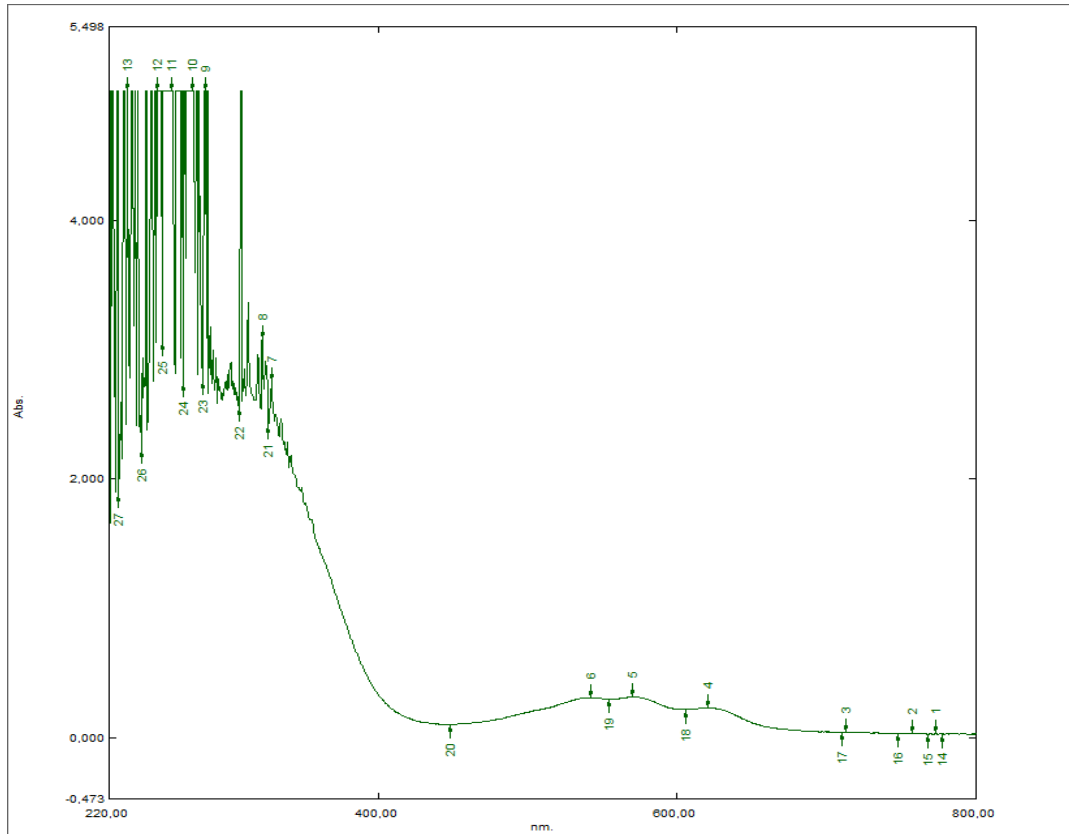
Τα φάσματα απορρόφησης του υδατικού εκχυλίσματος δελφινίου μετά από προσθήκη CaCl_2 δείχνουν δύο μόνο κορυφές στο ορατό (στα **580 nm** και **620 nm**) και ελάχιστο στα 473 nm, ενώ υπάρχει ένα «ώμος» στη περιοχή του υπεριώδους, ακριβώς μετά τα 400 nm. Όλα τα ανωτέρω, επιβεβαιώνουν την αλλαγή χρώματος με την προσθήκη ιόντων ασβεστίου και είναι συμβατά με την απουσία ιόντων ασβεστίου από τις χρωστικές μέσα στα χυμοτόπια του άνθους.



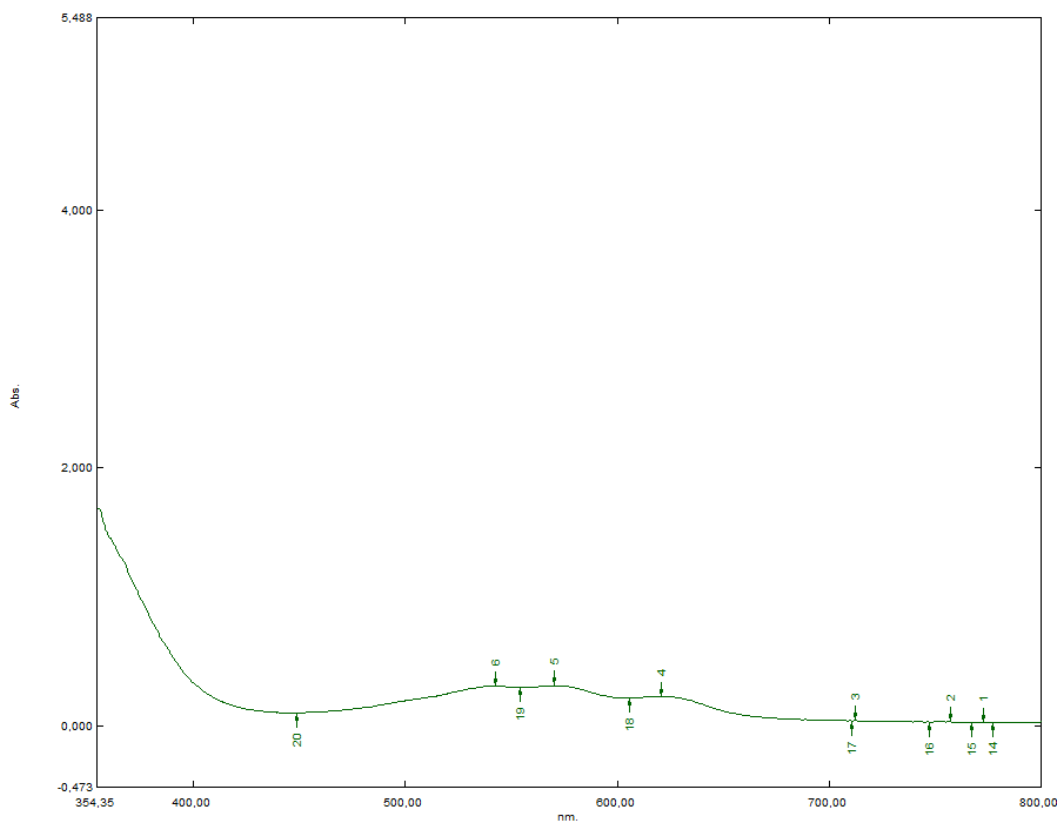
Φάσμα 18: Προσθήκη $MgCl_2$ σε εκχύλισμα του φυτού *Delphinium sp*



Φάσμα 18.1: Προσθήκη $MgCl_2$ σε εκχύλισμα του φυτού *Delphinium sp* (800-400 nm)



Φάσμα 19: Προσθήκη KCl σε εκχύλισμα του φυτού *Delphinium sp*



Φάσμα 19.1: Προσθήκη KCl σε εκχύλισμα του φυτού *Delphinium sp* (800-400 nm)

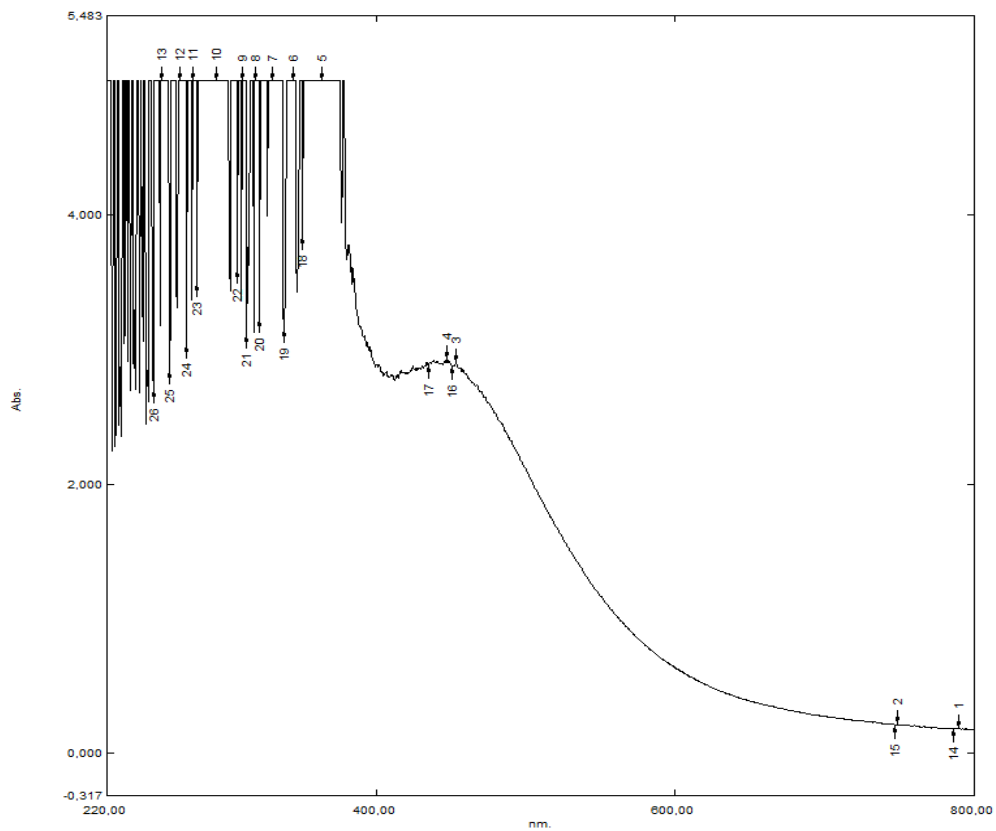
Παρατηρήθηκε αλλαγή χρώματος στο χλωριούχο ασβέστιο(CaCl_2), επειδή, κατά πάσα πιθανότητα, το κατιόν ασβεστίου αντικατέστησε το κατιόν μαγνησίου σε πιθανό σύμπλοκο συναρμογής του δεύτερου με μια ή περισσότερες χρωστικές/συγχρωστικές του δελφινίου, και προέκυψε αυτό το σκούρο πράσινο χρώμα. Ενώ το χρώματα όπως και τα φάσματα των MgCl_2 και KCl είναι περίπου ίδια, με ελαφρές αυξήσεις στην απορροφητικότητα και ελαφρά μετατόπιση των κορυφών/κοιλιάδων. Η διακριτή και συγκεκριμένη σχεδόν κατ' αναλογία αύξηση της απορρόφησης στο ορατό φάσμα τόσο με την προσθήκη μαγνησίου όσο και με την προσθήκη καλίου, είναι συμβατά με την παρουσία μαγνησίου και καλίου στο σύμπλοκο συναρμογής των χρωστικών στο χυμοτόπιο, καθώς και στα εκχυλίσματα με νερό και 70 % αιθανόλη.

2. Παρατηρήσεις 24 ώρες μετά την προσθήκη μεταλλικών κατιόντων

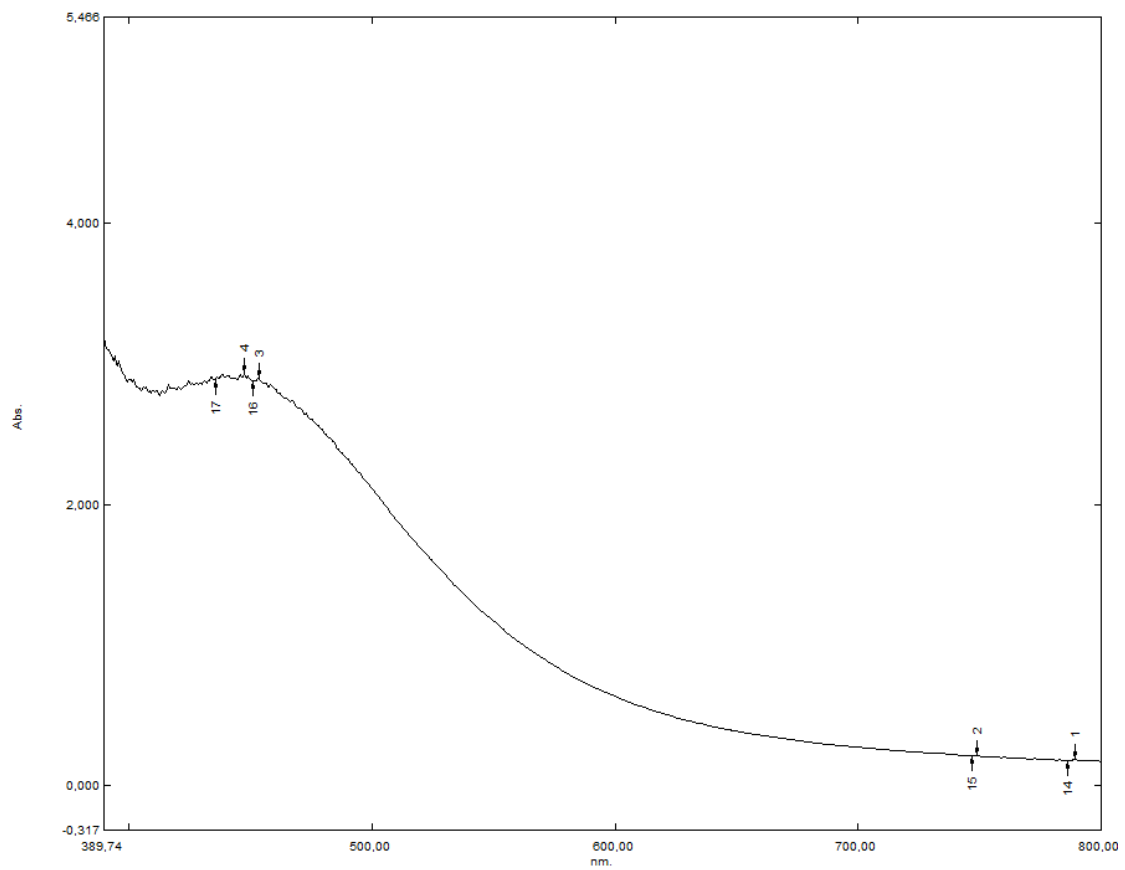
Έχει αλλάξει τελείως το χρώμα από το εκχύλισμα με τη προθήκη FeCl_3 και αυτό φαίνεται στο φάσμα από το 800-400 nm που είναι το ορατό φως.



Εικόνα 18: Προσθήκη (CaCl_2 , MgCl_2 , KCl , FeCl_3) σε εκχύλισμα του φυτού *Delphinium sp* για εντοπισμό μετάλλων.



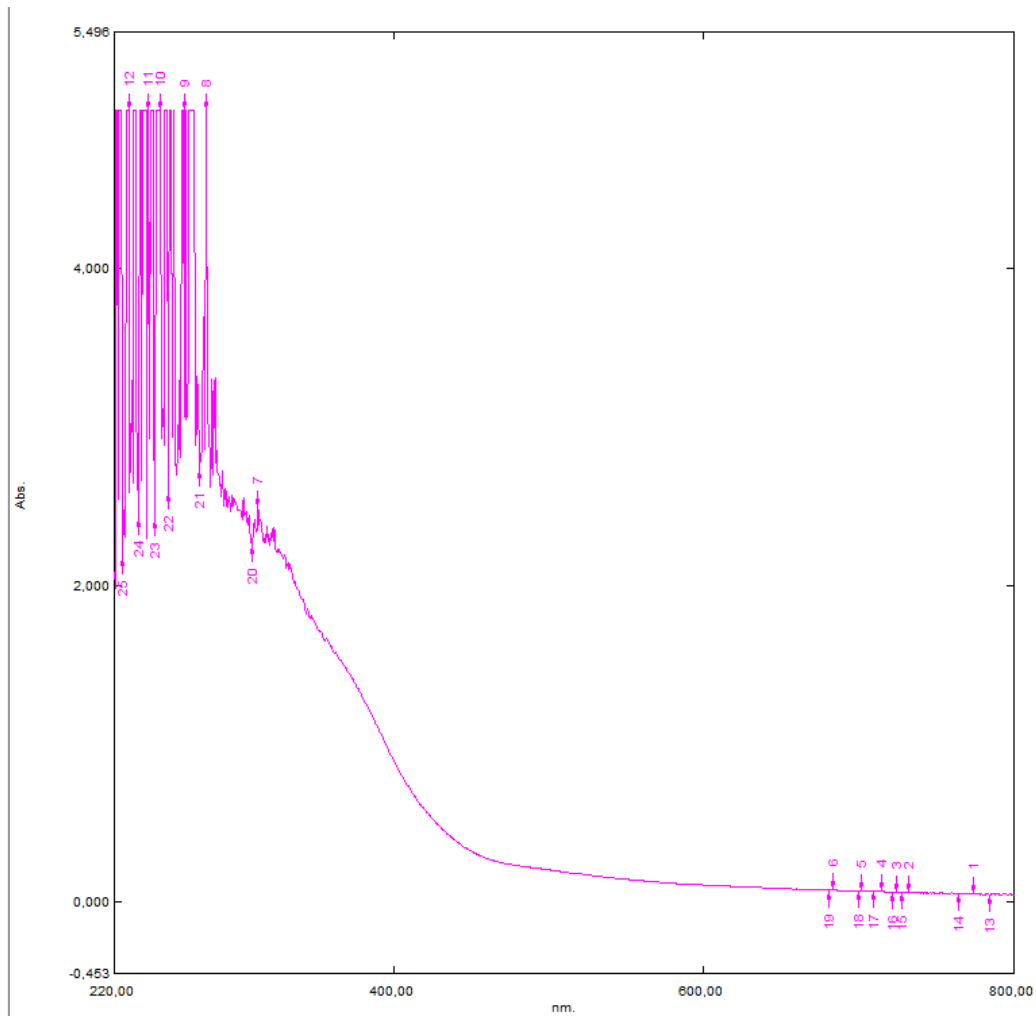
Φάσμα 20: Φάσμα μετά από προσθήκη FeCl₃ σε εκχύλισμα του φυτού *Delphinium sp* σε μήκος οπτικής διαδρομής 1 mm.



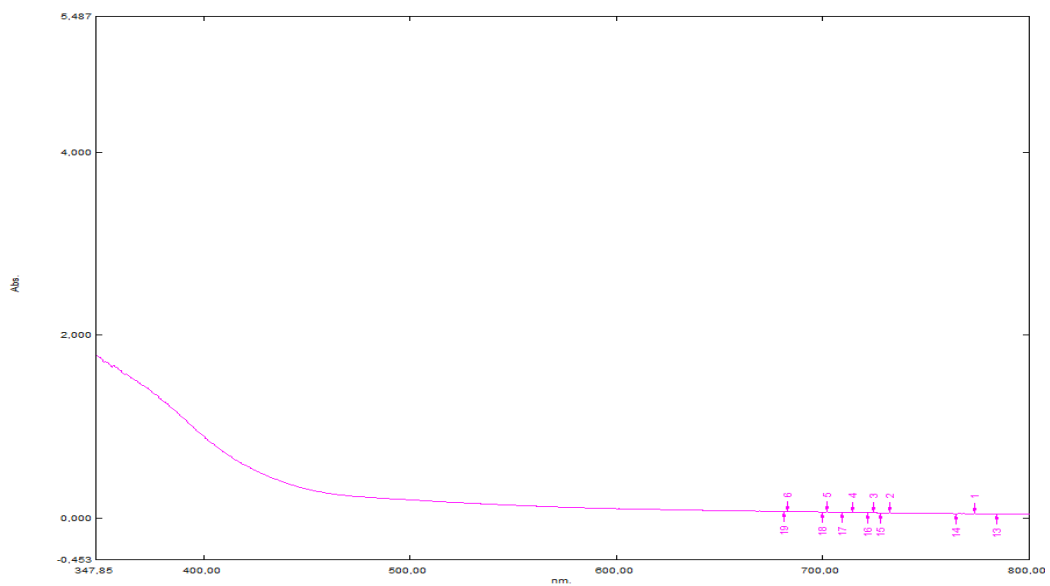
Φάσμα 20.1 : Προσθήκη FeCl₃ σε εκχύλισμα του φυτού *Delphinium sp* (800-400 nm)

ΠΑΡΑΤΗΡΗΣΕΙΣ

Έγινε επανάληψη των φασμάτων των CaCl₂, MgCl₂, KCl και παρατηρήσαμε ότι και μετά από 24 ώρες τα MgCl₂ και KCl τα εκχυλίσματα δεν έχουν αλλάξει χρώμα ούτε τα φάσματα μορφή που σημαίνει ότι οι χρωστικές του δελφινίου έχουν ιδιαίτερη σύνδεση με τα συγκεκριμένα μέταλλα.

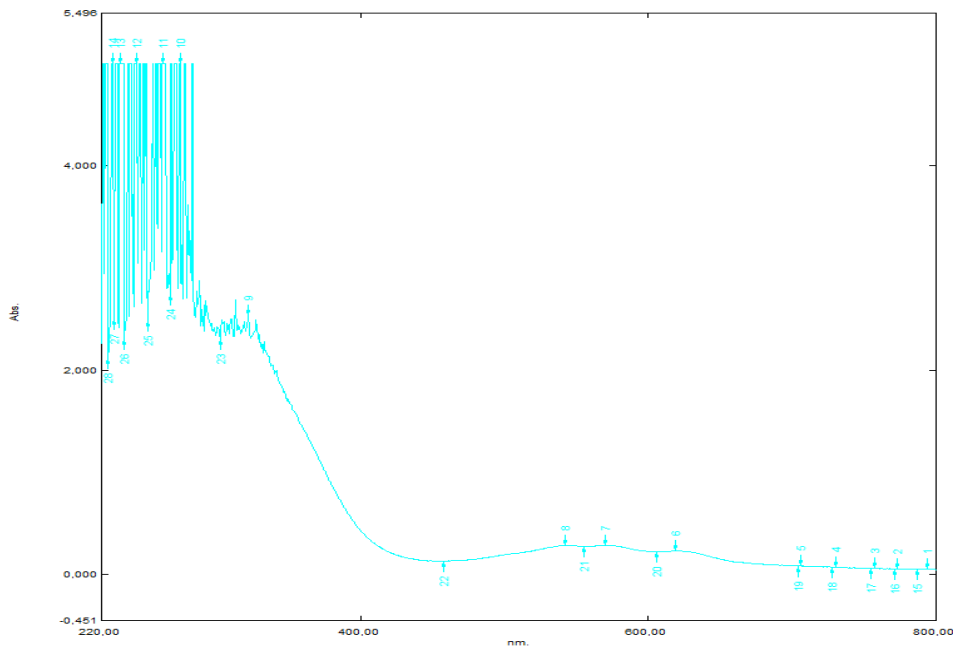


Φάσμα 21 : Φάσμα υδατικού εκχυλίσματος του σέπαλου από το φυτό *Delphinium sp* μετά από προσθήκη CaCl_2 και παραμονή σε θερμοκρασία δωματίου για 24hrs

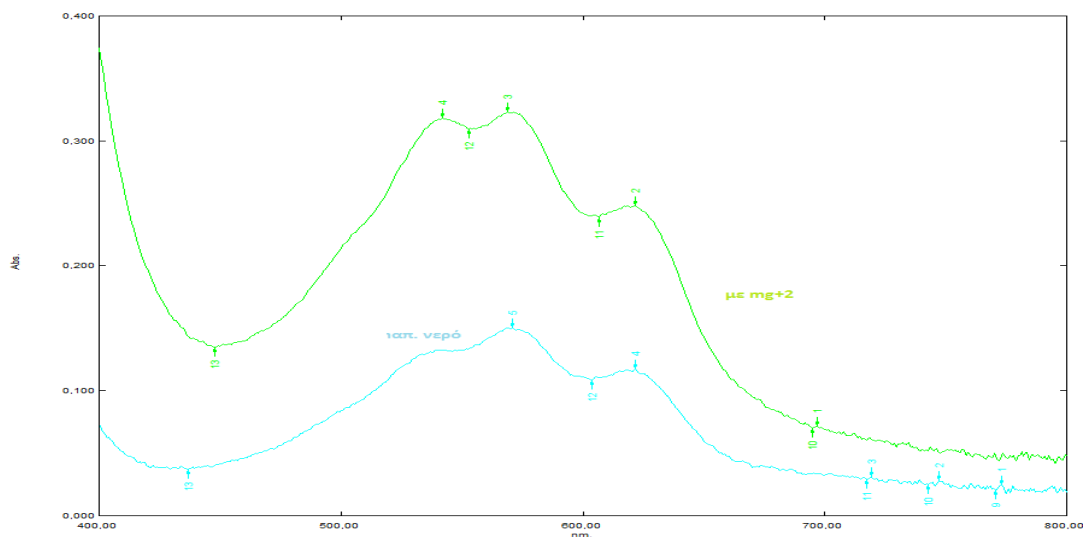


Φάσμα 21.1: Φάσμα απορρόφησης εκχυλίσματος σέπαλου του φυτού *Delphinium sp* στο ορατό φως(800-400 nm)μετά από προσθήκη CaCl_2 (24hrs επώαση σε θερμοκρασία δωματίου)

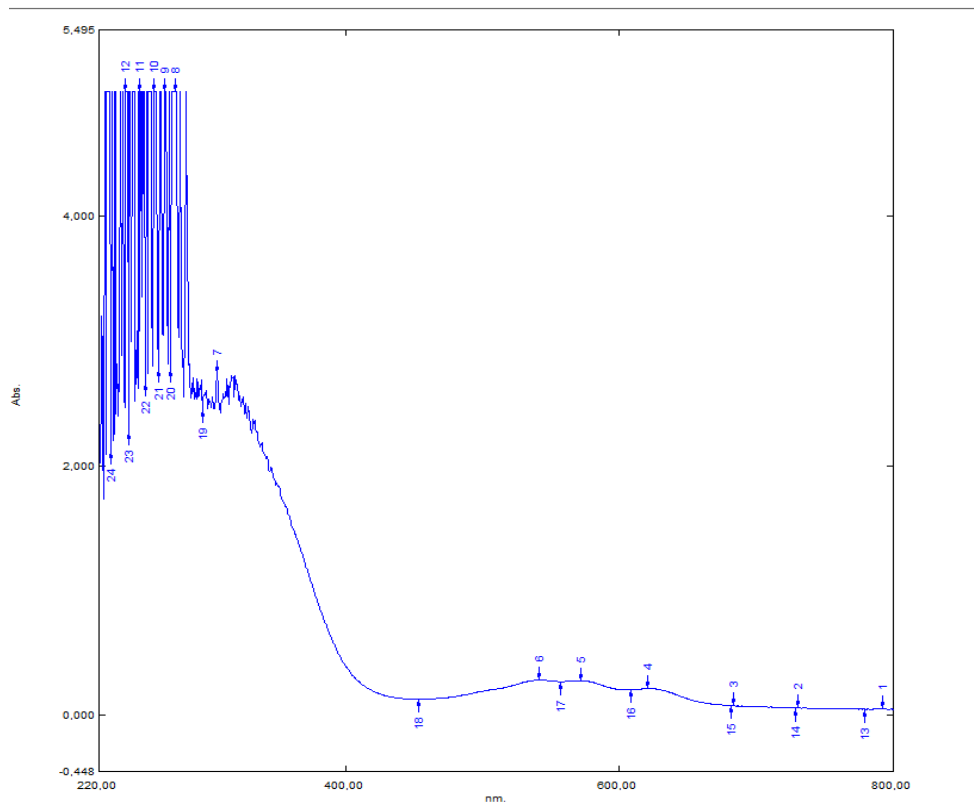
Μετά από 24 ώρες έχει εξαφανιστεί η όποια αλληλεπίδραση ιόντων τρισθενούς σιδήρου ή ασβεστίου με τις χρωστικές, όπως φαίνεται και από την εικόνα και τα αντίστοιχα φάσματα.



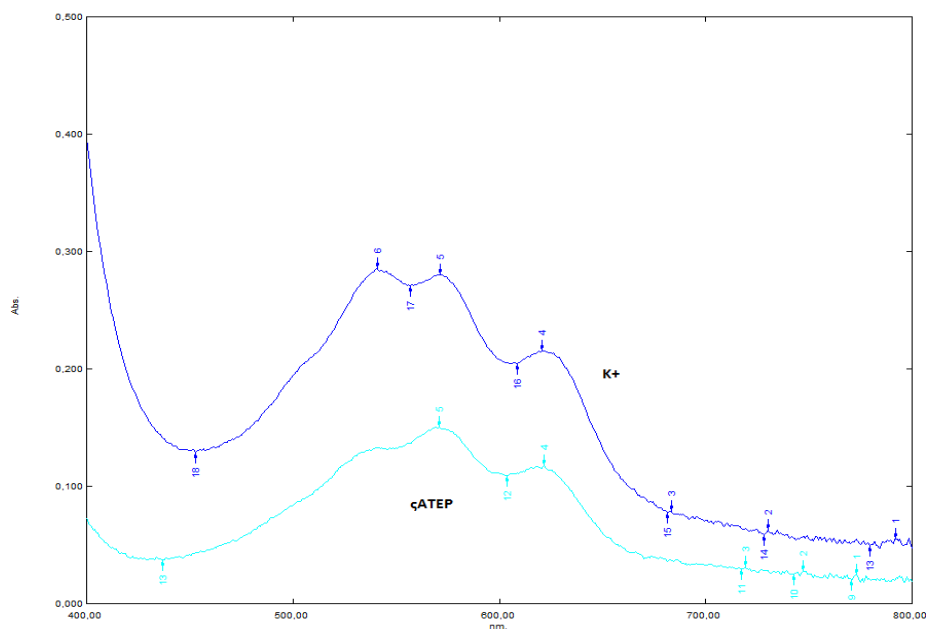
Φάσμα 22: Φάσμα απορρόφησης μετά από προσθήκη $MgCl_2$ (και 24hrs σε θερμοκρασία δωματίου) σε εκχύλισμα του φυτού *Delphinium sp.*, μήκος οπτικής διαδρομής 1 mm.



Φάσμα 22.1: Λεπτομέρειες στο ορατό από φάσμα απορρόφησης μετά από προσθήκη $MgCl_2$ (24hrs σε θερμοκρασία δωματίου) σε εκχύλισμα του φυτού *Delphinium sp.*, στη περιοχή (800-400 nm) μήκος οπτικής διαδρομής 1 mm (πράσινο χρώμα). Σε τυρκουάζ φαίνεται ως σημείο αναφοράς το φάσμα εκχυλίσματος (αραιωμένου 1:2) χωρίς προσθήκη κάποιου μεταλλικού κατιόντος.



Φάσμα 23: : Φάσμα απορρόφησης μετά από προσθήκη KCl (24hrs σε θερμοκρασία δωματίου) σε εκχύλισμα του φυτού *Delphinium sp.*, μήκος οπτικής διαδρομής 1 mm

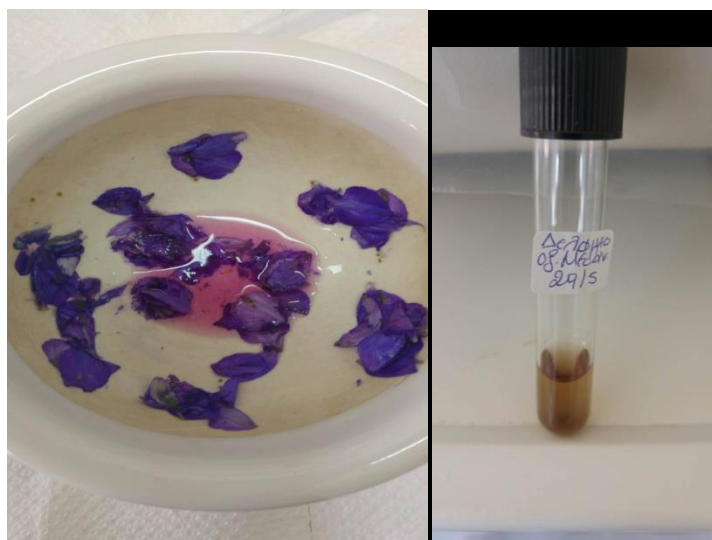


Φάσμα 23.1: Λεπτομέρειες στο ορατό από φάσμα απορρόφησης μετά από προσθήκη KCl (24hrs σε θερμοκρασία δωματίου) σε εκχύλισμα του φυτού *Delphinium sp.*, στη περιοχή (800-400 nm) μήκος οπτικής διαδρομής 1 mm (μπλε χρώμα). Σε τυρκουάζ φαίνεται ως σημείο αναφοράς το φάσμα εκχυλίσματος (αραιωμένου 1:2) χωρίς προσθήκη κάποιου μεταλλικού κατιόντος.

Συμπερασματικά, παρατηρήθηκε ότι η προσθήκη κατιόντων καλίου ή μαγνησίου επιφέρει μικρές αλλά παρατηρήσιμες αλλαγές στο φάσμα απορρόφησης του ορατού (ιδιαίτερα καθιστώντας τη δευτερεύουσα κορυφή 1 στα 540 nm ως ίση σχεδόν σε απορρόφηση με την κύρια κορυφή). Αυτό παραπέμπει στο φάσμα αχού σέπαλου, το οποίο ενδεχόμενα να έχει ήδη κορεσμό αυτών των μετάλλων με τα σύμπλοκα χρωστικών, σε πιθανή αντίθεση με το πέταλο με έντονο χρώμα, όπου να υπάρχει μια μικρή έλλειψη αυτών των κατιόντων. Περαιτέρω πειράματα θα πρέπει να καταγράψουν την φύση των συγκεκριμένων αλληλεπιδράσεων μετάλλων-χρωστικών δελφινίου.

ΣΥΓΚΡΙΣΗ ΤΗΣ ΕΚΧΥΛΙΣΗΣ ΧΡΩΣΤΙΚΩΝ ΑΠΟ ΠΕΤΑΛΑ ΔΕΛΦΙΝΙΟΥ ΧΡΗΣΙΜΟΠΟΙΩΝΤΑΣ ΑΠΙΟΝΤΙΣΜΕΝΟ ΝΕΡΟ, 70 %ΑΙΘΑΝΟΛΗ ΚΑΙ ΟΞΥΝΙΣΜΕΝΗ ΜΕΘΑΝΟΛΗ

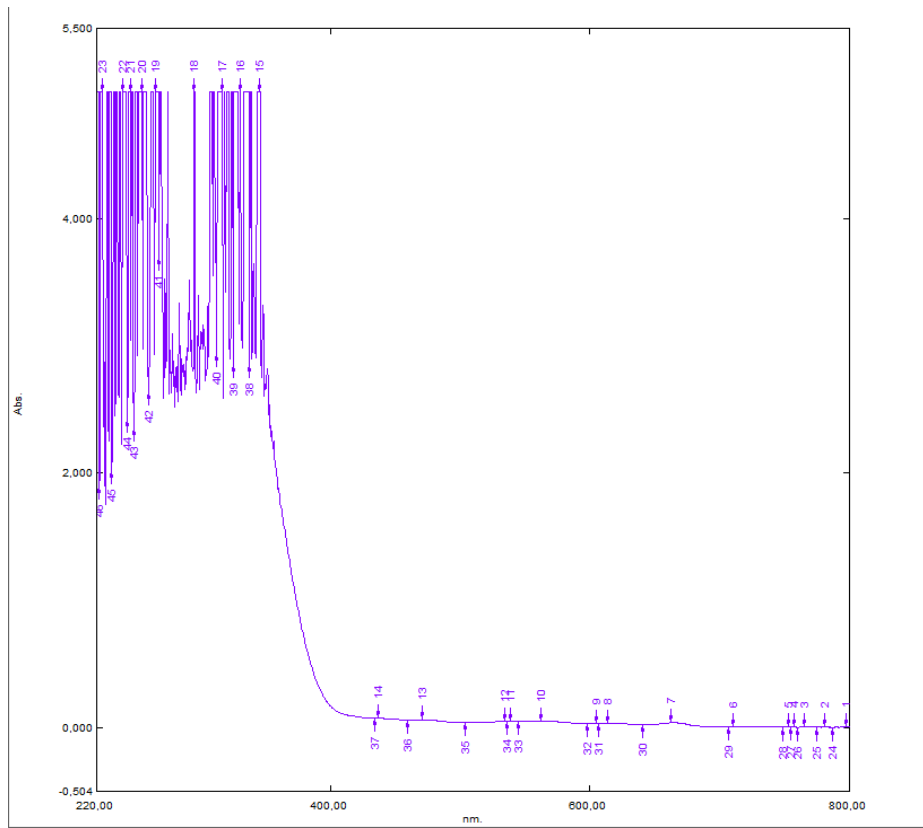
Η οξυνισμένη μεθανόλη είναι ο πιο κοινώς χρησιμοποιούμενος διαλύτης για εκχύλιση χρωστικών ανθέων (Harbone,). Κατά την εκπόνηση προηγούμενων πτυχιακών (Χρήστου Βαενά, Φασματοσκοπικά και φθορισμομετρικά χαρακτηριστικά χρωστικών ανθέων *Lunaria Annuia*, *Salvia officinalis* κ.α., προκαταρκτικά αποτελέσματα, και Μπορμπότσιαλου Ν., Στεφανίδου Γ. και Μπάδα Π. Φασματοσκοπικά χαρακτηριστικά γαλάζιων χρωστικών ανθέων) παρατηρήθηκε ότι για άνθη από κάποια συγκεκριμένα είδη (όπως *S. Officinalis*) η χρήση οξυνισμένης μεθανόλης αμέσως μετά την έκθεση των πετάλων στο διάλυμα, οδηγούσε σε εκχύλιση χρωστικών αλλά σε διάστημα ενός ή περισσότερων λεπτών σε αλλοίωση του όποιου χρώματος σε ένα ανοιχτό καφέ έως σκούρο γκριζο-μαύρο. Στην εκχύλιση χρωστικών από πέταλα δελφινίου που έγινε με οξυνισμένη μεθανόλη, παρατηρήθηκε μια παρόμοια αλλαγή τόσο στο χρώμα όσο και στο φάσμα του που υπήρχε μείωση στην απορρόφηση του.



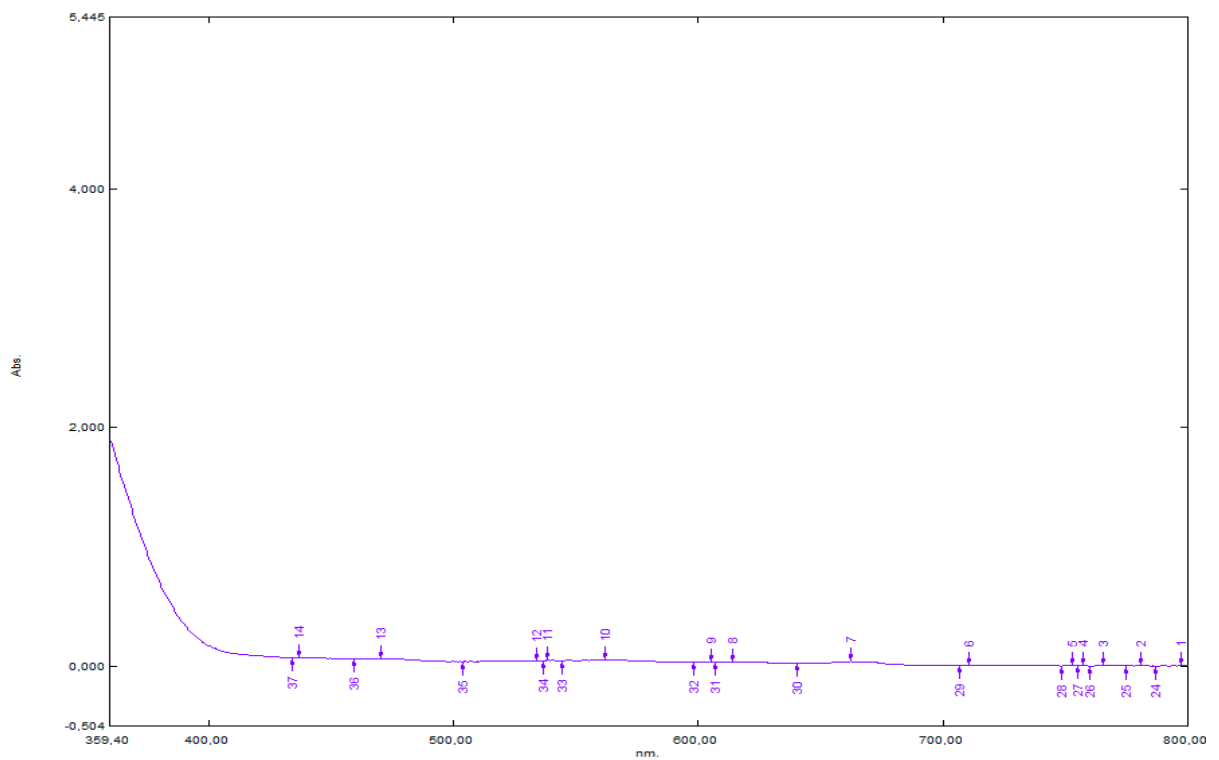
A.

B.

Εικόνα 19-20: Εκχύλιση του φυτού *Delphinium* σπμε οξυνισμένη μεθανόλη. Α. Ακριβώς μετά τη προσθήκη του διαλύτη. Β. Η διαδικασία της εκχύλισης μετά από μερικά λεπτά οδηγεί σε ένα ανοιχτό καφέ χρώμα.



Φάσμα 24: Εκχύλισμα *Delphinium sp* με οξυρισμένη μεθανόλη



Φάσμα 24.1: Φάσμα από εκχύλισμα πετάλων *Delphinium sp* με οξυρισμένη μεθανόλη, στο ορατό(800-400 nm).

Επίσης η αλλαγή αυτή φαίνεται και στα εκχύλιμα με νερό, 70% αιθανόλη και οξυρισμένης μεθανόλης.



Εικόνα 21: Εκχύλιση με απιονισμένο νερό



Εικόνα 22: Εκχύλιση με 70% αιθανόλη



Εικόνα 23: Εκχύλιση με οξυρισμένη μεθανόλη

ΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΑ ΛΕΠΤΗΣ ΣΤΙΒΑΛΔΑΣ

A. Με διαλύτη ανάπτυξης το διάλυμα Forestal

ΠΑΡΑΤΗΡΗΣΕΙΣ

Όταν διαποτιστεί το χαρτί σιγά σιγά από το διαλύτη που περιέχει το δοχείο, τότε εκκλύονται τα συστατικά του εκχυλίσματος του φυτού *Delphinium sp* και γίνεται ο διαχωρισμός τους. Με τη μετακίνηση των συστατικών μπορούμε να εκτιμήσουμε και ποιες είναι αυτές οι ουσίες που διαχωρίστηκαν.



Εικόνα 24-25: Διαδικασία χρωματογραφίας Forestal



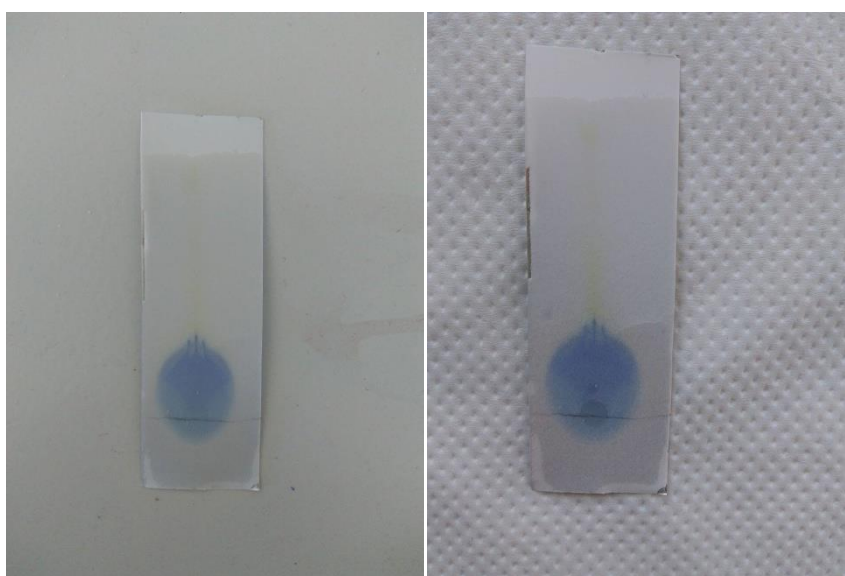
Εικόνα 26: Αποτελέσματα χρωματογραφίας Forestal

B. Με διαλύτη ανάπτυξης το διάλυμα νερού-βουτανόλης-οξικού οξέος (4:1:5)

Στα παρακάτω χρωματογραφήματα το αρχικό δείγμα είναι πυκνό εκχύλισμα από σέπαλα δελφινίου σε νερό.



Εικόνα 27: Διαδικασία χρωματογραφίας με Βουτανόλη



Εικόνα 28-29: Αποτελέσματα χρωματογραφίας με Βουτανόλη

Γ. Με διαλύτη ανάπτυξης το διάλυμα Βουτανόλης-Νερού-Οξικού οξέος (10:2,5:3,3)



Εικόνα 30: Διαδικασία χρωματογραφίας εκχύλιματος δελφινίου σε οξυρισμένη μεθανόλη με διαλύτη ανάπτυξης το διάλυμα Βουτανόλης-Νερού-Οξικού οξέος (10:2,5:3,3)



Εικόνα 31: Αποτελέσματα χρωματογραφίας διαλύτη ανάπτυξης το διάλυμα Βουτανόλης-Νερού-Οξικού οξέος (10:2,5:3,3), από πυκνό εκχύλισμα σέπαλων δελφινίου σε οξυρισμένη μεθανόλη(αριστερά), εκχύλισμα σε 70 % αιθανόλη(στη μέση), και εκχύλισμα σε νερό (δεξιά).

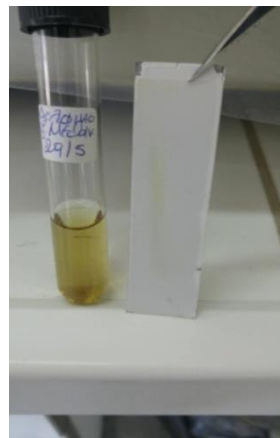
Παρακάτω φαίνεται η φωτογραφία τόσο του αρχικού υλικού όσο και του αποτελέσματος της χρωματογραφίας λεπτής στιβάδας στο συγκεκριμένο διαλύτη.



Εικόνα 32: Αποτελέσματα χρωματογραφίας με απιονισμένο νερό



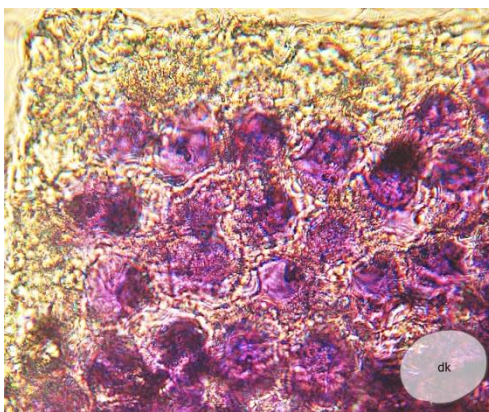
Εικόνα 33: Αποτελέσματα χρωματογραφίας με 70% EtOH



Εικόνα 34: Αποτελέσματα χρωματογραφίας με οξυνομένη μεθανόλη

ΕΓΚΑΡΣΙΕΣ ΤΟΜΕΣ ΣΤΟ ΦΥΤΟ *Delphinium sp*

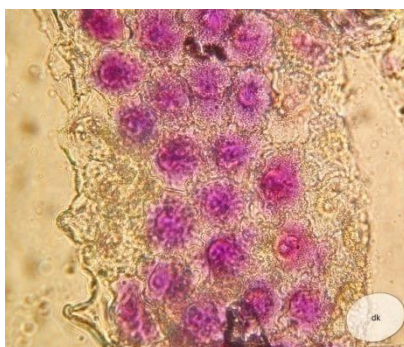
Με τη βοήθεια του Κου. Δημήτρη Κύρκα, έγιναν εγκάρσιες τομές σε σέπαλα δελφινίου και στη συνέχεια παρατηρήθηκαν κάτω από μικροσκόπιο. Στις παρακάτω φωτογραφίες φαίνεται ότι υπάρχουν αρκετές στρώσεις κυττάρων μέσα στο σέπαλο, τα κύτταρα των οποίων περιέχουν χυμοτόπια με τις χρωστικές που δίνουν το έντονο μπλε χρώμα του δελφινίου.



Εικόνα 35: Εγκάρσια τομή στο *Delphinium sp*
(πηγή: Δημήτριος Κύρκας)



Εικόνα 36: Εγκάρσια τομή στο *Delphinium sp*
(πηγή: Δημήτριος Κύρκας)



Εικόνα 37: Εγκάρσια τομή στο *Delphinium sp*
(πηγή: Δημήτριος Κύρκας)

Οι φακοί του μικροσκοπίου έχουν μικρή χρωματική εκτροπή, έτσι ώστε το χρώμα το οποίο στις φωτογραφίες των σέπαλων και των εκχυλισμάτων σε νερό και 70 % αιθανόλη είναι σκούρο μπλε, στις συγκεκριμένες φωτογραφίες των κυτταρικών τομών φαίνεται να είναι κόκκινο προς ροζ. Είναι προφανές όμως ότι οι τομές δείχνουν τα χυμοτόπια να καταλαμβάνουν περίπου την μισή επιφάνεια σε κάθε κυτταρική τομή, άρα είναι συγκριτικά μεγάλα οργανίδια.

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΣΥΖΗΤΗΣΗ ΤΩΝ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ ΓΙΑ ΤΗΝ ΜΕΛΕΤΗ ΤΩΝ ΦΑΣΜΑΤΟΣΚΟΠΙΚΩΝ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΗΚΩΝ ΤΟΥ ΦΥΤΟΥ *Delphinium sp*

Η έρευνα περιλαμβάνει το αυτοφύες Ελληνικό φυτό *Delphinium sp* (Δελφίνιο) που οι χρωματισμοί των πετάλων του αποτελούνται από μπλε χρώμα.

Ο στόχος της έρευνας ήταν να καταγραφούν τα φάσματα απορρόφησης σε ορατό και υπεριώδες, τόσο των ανέπαφων και των αφυδατωμένων πετάλων, όσο και των εκχυλισμάτων του σε απιοντισμένο νερό, σε διάλυμα 70% αιθανόλης και οξυνισμένης μεθανόλης. Στη συνέχεια πραγματοποιήθηκε η καταγραφή μερικών φασμάτων κυκλικού διχρωϊσμού σε πέταλα καθώς και σε εκχυλίσματα των πετάλων του φυτού. Το διάλυμα 70% αιθανόλης επιλέχθηκε επειδή σε προηγούμενη εργασία με τα εκχυλίσματα του φυτού *Campanula versicolor* βρέθηκε να διατηρεί τα φασματοσκοπικά χαρακτηριστικά και το χρώμα του ανέπαφου πετάλου (Ιωάννης Αράπης, Δ. Κύρκας, Γ.Κ Παπαδόπουλος, μέρος πτυχιακής εργασίας του πρώτου).

Μελετήθηκαν τα φάσματα απορρόφησης σε ορατό και υπεριώδες (800-220 nm) εκχυλισμάτων των πετάλων του φυτού *Delphinium sp* και έγινε σύγκριση των φασμάτων με ανέπαφο πέταλο είτε με αφυδατωμένο πέταλο.

Παρατηρήθηκε ότι στην εκχύλιση του *Delphinium sp* με διάλυμα 70% αιθανόλης δεν παρουσίασε αλλαγή στο χρωματισμό του, αλλά κατά τη διάρκεια των αραιώσεων υπήρξαν χρωματικές διαβαθμίσεις ως το πιο αχνό χρώμα και μείωση στο φάσμα απορρόφησης που αντιστοιχεί με το νόμο Lambert-Beer, δηλαδή η απορροφητικότητα είναι ανάλογη της αραιώσης, αποδεικνύοντας ότι το διάλυμα 70% αιθανόλης διατηρεί ένα μεγάλο μέρος των αλληλεπιδράσεων μεταξύ των χρωστικών που περιέχει το πέταλο του φυτού.

Κατά την παρατήρηση των πετάλων σε τρεις (3) διαφορετικές περιπτώσεις (έντονο χρώμα- αχνό χρώμα- αφυδατωμένο πέταλο)

αποδείχθηκε ότι δεν υπάρχει διαφοροποίηση στο ορατό φως (800-400 nm) αλλά στην περίπτωση του αχνού χρώματος υπάρχει μείωση της απορρόφησης στο υπεριώδες φως (400-220 nm). Φάσματα κυκλικού διχρωισμού σέπαλων και εκχυλίσματος σε νερό ή 70 % αιθανόλη έδειξαν διαδοχικές αρνητικές και θετικές κορυφές τόσο στο ορατό όσο και στο εγγύς υπεριώδες (εκτός στα σέπαλα για το τελευταίο όπου η απορρόφηση είναι πολύ έντονη), ένδειξη που είναι συμβατή με την ύπαρξη αλληλεπιδράσεων μεταξύ των χρωστικών.

Στη συνέχεια σε εκχύλισμα του φυτού με απιοντισμένο νερό έγινε προσθήκη NaOH και HCl και παρατηρήθηκε αλλαγή τόσο στο χρωματισμό του εκχυλίσματος, πράσινο σκούρο και ροζ αντίστοιχα, όσο και στο φάσμα απορρόφησης τους που αποδεικνύει την αλλαγή ιοντικών μορφών της(ων) χρωστικής(ών) και συνεπώς αλλαγή του χρωματισμού.

Για τον εντοπισμό μετάλλων στο εκχύλισμα έγινε προσθήκη των CaCl_2 , MgCl_2 , KCl και FeCl_3 . παρατηρήθηκε αλλαγή μόνο στην προσθήκη των CaCl_2 (επειδή το ασβέστιο αντικατέστησε το μαγνήσιο και προέκυψε αυτό το σκούρο χρώμα) και FeCl_3 , όπου εκτός της αλλαγή χρώματος του εκχυλίσματος υπάρχει και απότομη αύξηση της απορρόφησης του. Αντίθετα, η προσθήκη MgCl_2 ή KCl έδειξε μικρές ποιοτικές και συνάμα ποσοτικές αλλαγές στα φάσματα απορρόφησης χωρίς όμως να αλλάζει το χρώμα, γεγονός που είναι συμβατό με την περίπτωση ύπαρξης συμπλοκών συναρμογής των χρωστικών με ιόντα μαγνησίου και καλίου, όπως συμβαίνει σε άλλες μπλε χρωστικές ανθέων.

Στην εκχύλιση του φυτού *Delphinium sp* με οξυρισμένη μεθανόλη παρατηρήθηκε μεγάλη αλλαγή στον χρωματισμό (αχνό καφέ) και σημαντική μείωση στο φάσμα απορρόφησης του.

Στη διαδικασία των χρωματογραφιών (με διαλύτες ανάπτυξης Forestal και μείγματα με βάση τη Βουτανόλη) παρατηρήθηκε διαχωρισμός των συστατικών του εκχυλίσματος του φυτού *Delphinium sp*, τόσο στο εκχύλισμα με απιοντισμένο νερό, 70% αιθανόλης, όσο και στο εκχύλισμα με οξυρισμένη μεθανόλη, όπου φάνηκε μια κίτρινη και τουλάχιστον μια μπλε χρωστική

Συμπερασματικά, η μελέτη του αυτοφυούς ελληνικού φυτού *Delphinium sp* με μπλε άνθη κατά την εαρινή περίοδο Μαΐου – Ιουνίου έδωσε ένα εύρος αξιολογών αποτελεσμάτων όσον αφορά τις ιδιότητες

των συγκεκριμένων χρωστικών στο ορατό και υπεριώδες, τα οποία πρέπει με περαιτέρω διερεύνηση να φτάσουν στη ταυτοποίηση των χρωστικών και των μεταλλικών κατιόντων με τα οποία συμπλοκοποιούνται, καθώς και τη τρισδιάστατη δομή του συνολικού συμπλόκου.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

Πηγές από ιστοσελίδες:

<http://www.haniotikanea.gr/%CE%B4%CE%B5%CE%BB%CF%86%CE%AF%CE%BD%CE%B9%CE%BF-%CE%B7-%CE%B1%CE%B3%CF%81%CE%B9%CE%BF%CF%83%CF%84%CE%B1%CF%86%CE%AF%CE%B4%CE%B1/>

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

<https://fr.wikipedia.org/wiki/Delphinium>

<http://www.fytokomia.gr/permalink/4167.html>

<https://el.wikipedia.org/wiki/%CE%A7%CF%81%CF%89%CE%BC%CE%B1%CF%84%CE%BF%CE%B3%CF%81%CE%B1%CF%86%CE%AF%CE%B1>

https://el.wikipedia.org/wiki/%CE%91%CE%B9%CE%B8%CE%B1%CE%BD%CF%8C%CE%BB%CE%B7#%CE%A6%CF%85%CF%83%CE%B9%CE%BA%CE%AD%CF%82_%CE%B9%CE%B4%CE%B9%CF%8C%CF%84%CE%B7%CF%84%CE%B5%CF%82

<https://kentromeletisarxaiasthourias.wordpress.com/category/%CE%B1%CE%B3%CE%B3%CE%B5%CE%B9%CE%BF%CF%83%CF%80%CE%B5%CF%81%CE%BC%CE%B1/%CE%B4%CE%B9%CE%BA%CE%BF%CF%84%CF%85%CE%BB%CE%AE%CE%B4%CE%BF%CE%BD%CE%B1/ranunculaceae/>

<http://www.naturalmedicinalherbs.net/herbs/d/delphinium-staphisagria=stavesacre.php>

http://mediplantepirus.med.uoi.gr/pharmacology/plant_details.php?id=33

5

https://eclass.duth.gr/modules/document/file.php/ALEX01106/Lectures/p_hysico_05.pdf

<https://slideplayer.gr/slide/2398415/>

<https://eclass.upatras.gr/modules/document/file.php/CMNG2164/TLC.pdf>

Πηγές από βιβλία:

John M. Clark, Jr., Robert L. Switzer., *ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗ ΒΙΟΧΗΜΕΙΑ*, Πανεπιστημιακές Εκδόσεις Κρήτης, 1992, Ηράκλειο.

Paul G. Hewitt., *ΟΙ ΕΝΝΟΕΙΣ ΤΗΣ ΦΥΣΙΚΗΣ*, Τόμος II, Πανεπιστημιακές Εκδόσεις Κρήτης, 1997, Ηράκλειο.

Πηγές από περιοδικά:

Yoshida K., Mori Mi., Kondo T., Blue flower color development by anthocyanins: from chemical structure to cell physiology. *Nat. Prod. Rep.*, 26, 857–964, 2009

Hashimoto F., et al., Changes in flower coloration and sepal anthocyanins of cyanic *Delphinium* cultivars during flowering. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 66(8), 1652-1659, 2002

Πηγές από Μαρίνα Μαγουλά:

Φωτογραφίες

Διεργασίες

Αποτελέσματα