

ΓΕΩΠΟΝΙΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ

ΓΕΝΙΚΟ ΤΜΗΜΑ

ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ:

«Θετικές επιστήμες στη Γεωπονία» ΚΛΑΔΟΣ ΙΙΙ  
ΜΕΛΕΤΗ ΚΑΙ ΑΞΙΟΠΟΙΗΣΗ ΦΥΣΙΚΩΝ ΠΡΟΪΟΝΤΩΝ  
ΤΟΜΕΑΣ ΧΗΜΙΚΩΝ ΚΑΙ ΦΥΣΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ

## ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

**Κατσιμπίρη Κ. Φωτεινή**

«Εγκλεισμός συστατικών αιθερίου ελαίου λεβάντας σε β-  
κυκλοδεξτρίνη»



Επιβλέπων καθηγητής:

**Κωνσταντίνος Μπεθάνης**

**ΑΘΗΝΑ, ΙΟΥΛΙΟΣ 2010**

ΓΕΩΠΟΝΙΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ

ΓΕΝΙΚΟ ΤΜΗΜΑ

ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ:

«Θετικές Επιστήμες στη Γεωπονία» ΚΛΑΔΟΣ ΙΙΙ  
ΜΕΛΕΤΗ ΚΑΙ ΑΞΙΟΠΟΙΗΣΗ ΦΥΣΙΚΩΝ ΠΡΟΪΟΝΤΩΝ  
ΤΟΜΕΑΣ ΧΗΜΙΚΩΝ ΚΑΙ ΦΥΣΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ

## **ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ**

**Κατσιμπίρη Κ. Φωτεινή**

«Εγκλεισμός συστατικών αιθερίου ελαίου λεβάντας σε β-  
κυκλοδεξτρίνη»

Επιβλέπων καθηγητής:

***Κωνσταντίνος Μπεθάνης***

**Εξεταστική επιτροπή:**

Μόσχος Πολυσίου

Αθανάσιος Χούντας

Βιολέττα Κωνσταντίνου

Πέτρος Ταραντίλης

**ΑΘΗΝΑ, ΙΟΥΛΙΟΣ 2010**

## Ευχαριστίες

Θα ήθελα να ευχαριστήσω:

Τους καθηγητές μου κ.κ. Κώστα Μπεθάνη και Πέτρο Ταραντίλη, για την υπομονή που έδειξαν.

Τον κ. Χρήστο Παππά για την ολοκλήρωση της φασματοσκοπικής μελέτης.

Τον κ. Μόσχο Πολυσίου, γιατί μου δόθηκε η δυνατότητα συμμετέχοντας σ' Ευρωπαϊκό Πρόγραμμα, να κάνω πρακτική στην Γαλλία και να ειδικευτώ στην Υγρή Χρωματογραφία και Φασματογραφία Μάζας,

Τα φιλόξενα εργαστήρια Φυσικής και Χημείας και ιδιαιτέρως την Φραντζέσκα Τσορτέκη και τον Χάρη Κανάκη, για την καλή συνεργασία που είχαμε,

Τις φίλες μου Αλεξάνδρα Μαρσέλη-Καπετανάκη και Βασιλική Γιόβα-Νικολάου για την πολύτιμη συμβολή τους.

## Περίληψη

Αποστάχθηκε φυτικό υλικό λεβάντας του είδους *L.latifolia*. Το έλαιο που παραλήφθηκε, αναλύθηκε χρωματογραφικά με GC-MS. Οι κυριότερες ενώσεις που ανιχνεύθηκαν είναι: η καμφορά, η λιναλοόλη και η ευκαλυπτόλη (1,8 κινεόλη).

Με σκοπό να ελεγχθεί η ικανότητα εγκλεισμού τους, οι ενώσεις αυτές παραλήφθηκαν από το εμπόριο και διαμορφώθηκαν σε μίγματα και σύμπλοκα με β-κυκλοδεξτρίνη.

Τα μίγματα και σύμπλοκα με β-κυκλοδεξτρίνη αναλύθηκαν φασμασκοπικά με FT-IR με τη μέθοδο διάχυτης ανάκλασης (DRIFTS). Εντοπίστηκε ότι τα φάσματα των μιγμάτων διαφέρουν σημαντικά από τα φάσματα των συμπλόκων και συμπεραίνουμε ότι έλαβε χώρα η συμπλοκοποίηση, των κυριότερων συστατικών του αιθερίου ελαίου λεβάντας *L.latifolia*, με αποτέλεσμα:

- 1) Την αύξηση της διαλυτότητάς τους, έτσι ώστε να παρασκευασθούν προϊόντα κατάλληλα για την βιομηχανία
- 2) Την προστασία τους από οξειδώσεις
- 3) Την ελάττωση της πτητικότητάς τους
- 4) Την αργή απελευθέρωσή τους

Ως επόμενο βήμα της παρούσας μελέτης προτείνεται η ανάμειξη αιθερίου ελαίου λεβάντας με β-κυκλοδεξτρίνη και η μελέτη των φυσικοχημικών ιδιοτήτων του προϊόντος αυτού με χρωματογραφικές, φασματοσκοπικές και άλλες τεχνικές.

## Abstract

Vegetable material of lavender *L.latifolia* was distilled. The essential oil that is delivered, has been analysed chromatographically with GC-MS. The main components that have been verified is: camphor, linalool and 1,8 cineole.

These three chemical components were commercially pursued and were formatted into complexes and mixtures with  $\beta$ -cyclodextrin.

The complexes and mixtures with  $\beta$ -cyclodextrin, were spectroscopically analyzed with FT-IR by the method DRIFTS (Diffuse Reflectance Fourier Transformed Infrared Spectroscopy). The complexes spectras were far different from the mixtures spectras, so it is testified that the complexation of the three main components of lavender *L.latifolia* has taken place. This fact can have as result:

- 1) Their optimization of solubility
- 2) Their diminution of volatility
- 3) Their slow release

As next step of this study is suggested, mixing of essential oil of lavender with  $\beta$ -cyclodextrin and the study of physicochemical properties of the product, with chromatographical, spectroscospical or other techniques.

## Περιεχόμενα

Ευχαριστίες.....	3
Περίληψη.....	4
Abstract .....	5
Περιεχόμενα .....	6
Θεωρητικό Μέρος.....	9
Βοτανική Ταξινόμηση1).....	9
Εισαγωγή .....	9
Η οικογένεια Lamiaceae .....	10
Τα είδη του γένους Lavandula .....	10
Η ταξονομία του γένους Lavandula.....	10
Ταξινόμηση .....	11
Φυτοχημεία του γένους Lavandula.....	15
Εισαγωγή .....	15
Δευτερογενείς μεταβολίτες .....	15
Ο ρόλος των δευτερογενών μεταβολιτών.....	16
Υδραρωματικές ενώσεις .....	17
Αιθέρια έλαια.....	17
Τεχνητά αιθέρια έλαια .....	17
Ρητίνες.....	17
Βάλσαμα .....	18
Τερπένια .....	18
Βιοσύνθεση των τερπενίων .....	19
Μονοτερπένια του γένους Lavandula .....	21
In vitro καλλιέργειες.....	23
Συnergισμός .....	23
Φυσική παραλαβή και συνθετική παρασκευή της καμφοράς .....	23
Βιοσυνθετική οδός σχηματισμού της καμφοράς.....	24
Τριτερπενοειδή .....	24

Φλαβονοειδή .....	25
Φλαβονοειδή των φύλλων .....	25
Φλαβονοειδή ανθέων .....	25
Υδροξυκιναμωμικά οξέα και κουμαρίνες .....	25
Απόσταξη- Εκχύλιση.....	26
Εισαγωγή .....	26
Συγκομιδή .....	26
Λειτουργία των αποστακτήρων .....	26
Ιδιότητες των ατμών.....	27
Μεταφορά μάζας .....	28
Μεταφορά θερμότητας.....	28
Εκχύλιση με διαλύτη .....	29
Μεταφορά μάζας .....	31
Χρωματογραφικές Τεχνικές Ανάλυσης .....	32
Χρωματομετρικοί παράμετροι.....	32
Αέρια χρωματογραφία .....	34
Η τεχνική της εκλούσεως.....	35
Επίδραση της θερμοκρασίας .....	36
Φασματογραφία Μάζας.....	37
Οργανολογία.....	37
Ερμηνεία φασμάτων μάζας .....	37
GC-MS .....	37
Φασματοσκοπία FT-IR.....	38
Οργανολογία FT-IR .....	38
Τρόπος λειτουργίας.....	40
Επεξεργασία των φασμάτων FT-IR.....	42
Τεχνικές προετοιμασίας δείγματος για λήψη φάσματος.....	43
Κυκλοδεξτρίνες και προϊόντα εγκλεισμού .....	47
Παράγωγα κυκλοδεξτρίνης.....	48
Υδρόφιλες και υδρόφοβες κυκλοδεξτρίνες.....	49
Σύμπλοκα εγκλεισμού των κυκλοδεξτρινών .....	50
Τεχνικές συμπλοκοποίησης .....	53

Θερμοδυναμική κατανόηση της συμπλοκοποίησης (στοιχειομετρία 1:1) .....	54
Κυκλοδεξτρίνες και Φάρμακα.....	56
Άλλες εφαρμογές των κυκλοδεξτρινών.....	57
Πειραματικό Μέρος .....	59
Απόσταση.....	59
Χρωματογραφία GC-MS .....	60
Αποτελέσματα .....	65
Συμπλοκοποίηση.....	67
Φασματοσκοπία FTIR .....	69
Φασματοσκοπική μελέτη των συμπλόκων της β-κυκλοδεξτρίνης με καμφορά, λιναλοόλη και ευκαλυπτόλη.....	69
Συμπεράσματα και συζήτηση.....	78
Βιβλιογραφία.....	79
Παράρτημα .....	82



## Θεωρητικό Μέρος

### Βοτανική Ταξινόμηση

#### *Εισαγωγή*

Το αυξημένο ενδιαφέρον στη βιομηχανία για τα φαρμακευτικά και αρωματικά φυτά, ωθεί την έρευνα για την καλλιέργεια και την παραγωγή των φυτών ως τη χρήση και κατανάλωσή τους. Μεσολαβούν πολλές επιστήμες και βιομηχανίες δευτερογενούς παραγωγής και μεταποίησης όπως δασοκομίας, γεωργικές, χημικές, τροφίμων, φαρμακευτικές, καλλυντικών και αρωματικών υλών.

Ως πρώτες ύλες χρησιμοποιούνται ρίζες, ριζώματα, βολβοί, φύλλα, φλοιοί, άνθη, καρποί καθώς και σπόροι. Από αυτά τα υλικά παράγονται κόμμεα, ρητίνες, αιθέρια (πτητικά) έλαια, δεσμευμένα έλαια, κηροί, χυμοί, εκχυλίσματα ως φαρμακευτικές και αρωματικές ύλες που διατίθενται σε παγκόσμιες αγορές.

Τα Φυσικά Προϊόντα δεν είναι πάντα ασφαλή προϊόντα. Το γεγονός αυτό πρέπει να ληφθεί υπ' όψη από τις βιομηχανίες μεταποίησης. Για παράδειγμα πολλά φυσικά προϊόντα προκαλούν αλλεργικές διαταραχές ενώ τα αντίστοιχα συνθετικά τους όχι.

Σήμερα, με τον όρο «φυσική επιλογή» εννοούμε την ικανότητα του φυτού να υπερβαίνει ασθένειες, το κλιματικό στρες και τις συνέπειες που προκαλούνται από τον άνθρωπο. Η μεταφορά τμημάτων DNA δίνει ανερχόμενες λύσεις σε αδιέξοδες χρήσεις του φυτικού υλικού.

Μερικοί προμηθευτές φυτικών πρώτων υλών είναι τώρα σε θέση να πιστοποιήσουν οργανικές καλλιέργειες φαρμακευτικών φυτών. Η Ευρωπαϊκή Ένωση στην ντιρεκτίβα CVO/EU Νο 2029/91 αναφέρει λεπτομερώς τους υποχρεωτικούς ελέγχους ποιότητας που πρέπει να διεξαχθούν σε όλα τα στάδια παραγωγής και διάθεσης οργανικών προϊόντων.

Η Εθνοφαρμακολογία και η Εθνοβοτανολογία διαθέτουν ένα δυναμικό για την Ιατρική και Φαρμακευτική Επιστήμη. Οι μέθοδοι ανίχνευσης φαρμακολογικής ενεργότητας έχουν καταστεί με αυξανόμενο ρυθμό αξιόπιστοι σε συχνώς διαδραματίζοντα ένζυμα σε βιοδοκιμές καταργώντας τη χρήση πειραματόζωων.

Χρησιμοποιώντας τις βιοδοκιμές σε ακατέργαστους φυτικούς χυμούς και εκχυλίσματα, οι προς ανίχνευση ενώσεις στοχεύονται εξειδικευμένα. Με τη βοήθεια ρομποτικών συσκευών, όλα τα είδη ενός γένους εντοπίζονται άμεσα. Ωστόσο το φυτικό υλικό θα πρέπει να αναγνωρίζεται και να κατηγοριοποιείται από ειδικό επιστήμονα (Balchin, 2002)

### ***Η οικογένεια Lamiaceae***

Καλλιεργείται κυρίως για τα αιθέρια έλαια, τα οποία χρησιμοποιούνται στην αρωματοποιία, στην κοσμετολογία, στην βιομηχανία τροφίμων. Από την οικογένεια Lamiaceae είδη που περιέχουν αιθέρια έλαια είναι ο βασιλικός (sweet basil), το ύσσωπο (hyssop), η λεβάντα (lavender), η μαντζουράνα (sweet marjoram), η μέντα (peppermint), η ρίγανη (oregano), το δενδρολίβανο (rosemary), το θυμάρι (thyme) κ.ά. (Bruneton, 1999)

### ***Τα είδη του γένους Lavandula***

Περιλαμβάνουν την *L.angustifolia*, την *L.latifolia*, την *L.pinnata*, την *L.lanata*, την *L.dentata* (French Lavender), την *L. Stoechas* (Spanish Lavender) και υβρίδια όπως τύποι *L.x intermedia* (lavandin) καθώς και τις πολυπληθείς ποικιλίες τους.

Τα είδη του γένους *Lavandula* παρουσιάζουν μια ποικίλη αντιμικροβιακή δράση και μερικά είδη παρουσιάζουν μειωμένη αντιμυκητιακή δράση, ενώ η αντιοξειδωτική δράση ποικίλει επίσης. Μερικά είδη παρουσιάζουν ακαρεοκτόνο δράση και έχουν εντομοκτόνες ιδιότητες σε χαμηλό επίπεδο. Το γένος *Lavandula* έχει χαμηλή τοξικότητα: ακόμα και σε αδιάλυτη μορφή το αιθέριο έλαιο μπορεί να χρησιμοποιηθεί σε εγκαύματα με θεραπευτική δράση που δεν έχει αποδειχθεί ιατρικά και φαρμακευτικά, ωστόσο και αλλεργικές δερματίτιδες έχουν αναφερθεί ως περιστατικά (Balchin, 2002)

### ***Η ταξινόμια του γένους Lavandula***

Το λατινικό όνομα *Lavandula* προέρχεται από την αρχαία χρήση του φυτού, για το αρωμάτισμα του νερού στο μπάνιο. Παράγεται από τη λατινική λέξη *lavare*, που σημαίνει πλένομαι.

Η *Lavandula* ήταν γνωστή στους πρώτους βοτανικούς συγγραφείς και οι πρώτες αναφορές βρέθηκαν στα γραπτά των πρώιμων Ελλήνων σοφών όπως ο Θεόφραστος (370-285 π.Χ.).

Η πιο πρόσφατη μονογραφία “A Taxonomic Study of the Genus *Lavandula*” είναι του Chaytor το 1937, όπου ένα υπολογίσιμο πλήθος νέων ειδών και ποικιλιών έχει περιγραφεί.

### ***Ταξινόμηση***

Το γένος σε όρους γενικής μορφολογίας καθορίζεται από τους λοβούς του νέκταρ που βρίσκονται απέναντι από την ωοθήκη και δε διαφοροποιούνται (όπως στην περίπτωση άλλων γενών της οικογένειας *Lamiaceae*). Ο συνδυασμός του συμπαγούς στήμονα (κυρτού προς τα κάτω) με το σωλήνα της στεφάνης και βράκτια είναι χαρακτηριστικός. Πολλά είδη είναι εξαιρετικά αρωματικά χάρη στην παρουσία αιθερίων ελαίων που φέρονται σε αδένες που σκεπάζουν το περισσότερο τμήμα του φυτού. Συνήθως ποικίλουν από ξυλώδεις θάμνοι πάνω από ένα μέτρο ύψος έως πολυετείς θάμνοι με ξυλώδη βάση ή μονοετείς πόες.

#### α) *Lavender Spica*

Ένα από τα μεγαλύτερα λάθη στην ονομασία προήλθε από το όνομα *L. spica*. Ο σουηδός βοτανολόγος Carl Linnaeus πρώτος χρησιμοποίησε το όνομα *L. spica* για να συμπεριλάβει την *L. angustifolia* ως *L. spica* ποικιλία a και την spike lavender (*L. latifolia*) ως *L. spica* ποικιλία b. Έτσι η ονομασία *L. spica* περιελάμβανε και τις δύο, με αποτέλεσμα τη σύγχυση. Έτσι το όνομα αυτό εγκαταλείφθηκε και δόθηκε το *Lavender Angustifolia* Miller.

#### β) *Lavender angustifolia* Miller, subspecie *L. angustifolia* (*L. spica* ποικιλία a ή *L. officinalis* Chaix ή *L. Fragrance* Jord ή *L. Vera* DC)

Είναι κυρίαρχο είδος που καλλιεργείται για την παραγωγή αιθερίων ελαίων και ευρέως γνωστό για τη φυτοκομική του αξία, όπως και για τη καλλωπιστική. Είναι θάμνος έως 50 cm με όρθιο βλαστό, τετραγωνικό, ύψους 30 έως 80 cm, φύλλα αντίθετα, προμήκη, γραμμοειδή με λίγο χνούδι, τεφρά. Οι μίσχοι ανθοφορίας μήκους 10 έως 25 cm

με ένα συμπαγές στάχυ 4 έως 8 cm, πολλές φορές με μιά χαμηλότερη ταξιανθία που απέχει από το κυρίως στάχυ. Τα βράκτια είναι διευρυμένως ρομβικά, τα υψόφυλλα είναι ελάχιστα. Ο κάλυκας είναι με δεκατρία νεύρα σε κυκλική σύνδεση. Η στεφάνη είναι συμμετρική με σχεδόν διπλάσιο μήκος από τον κάλυκα με προεξέχοντες λοβούς χρώματος μπλέ/μωβ, άσπρου και σπανιότερα ροζ/ βιολέ. Η άνθηση είναι από τα μέσα Ιουνίου έως τον Ιούλιο. Αυτοφύεται στην Ιταλία, Γαλλία και Ισπανία σε ορεινές περιοχές πάνω από 1500 μέτρα αλλά καλλιεργείται και ευδοκimeί σε χωράφια ασβεστούχα, φτωγά – μέτριας γονιμότητας, ξηρικά. Αυτό το είδος παράγει το καλύτερης ποιότητας αιθέριο έλαιο και είναι φυτό αρωματικό, φαρμακευτικό, μελισσοτροφικό, καλλωπιστικό και χρησιμοποιείται στην αρωματοποιία, τη σαπωνοποιία και τη φαρμακευτική. Στην αρχαιότητα οι Έλληνες το χρησιμοποιούσαν κατά των δερματικών παθήσεων. Το υπέργειο τμήμα θεωρείται αντιδιαρροϊκό, αεραγωγό, τονωτικό, διουρητικό, αντισπασμωδικό, αντισηπτικό, αντιασθματικό, αντικαταρροϊκό και χολαγωγό (Σκρουμπής,1998).



**Εικόνα 1.** *L. angustifolia*

γ) Lavender latifolia Medik (L. spica ποικιλία b ή L. latifolia Villers)

Θάμνος ύψους 50 έως 70 (100) cm. Φύλλα τεφρά γραμμοειδή. Οι μίσχοι ανθοφορίας είναι διακριτικά διακλαδωμένοι σχηματίζουν ένα στάχυ, άνθους έως 25 cm ύψους. Τα στάχυα διαθέτουν διακεκομμένα 5 έως 8 cm μήκος. Τα βράκτια είναι επιμήκη στο σχήμα και τα υψόφυλλα διακριτά σε 4 mm μήκος. Ο κάλυκας είναι με 13 νέυρα σε κυκλική σύνδεση. Η στεφάνη είναι συμμετρική σε χρώμα μπλε έως μωβ. Η ανθοφορία είναι από τα μέσα Ιουλίου. Αυτοφύεται στην Νοτιοδυτική και Νότιο Κεντρική Ευρώπη σε υψόμετρο 1000 έως 1200 μέτρα. Καλλιεργείται περιστασιακά για το αιθέριο έλαιο χαμηλής ποιότητας και ως καλλωπιστικό. (Balchin, 2002)



**Εικόνα 2.** *L. latifolia*

δ) *L x intermedia* (Lavandin ή USA: *L. hortensis*)

Στείρο υβρίδιο της *L. Angustifolia* και *L. Latifolia*. Είναι φυτό μεγαλύτερης διάρκειας ζωής και ύψους 60 έως 150 cm. Έχει χαμηλή βάση και σχήμα – V. Έχει πρασινογκρίζα φύλλα στενότερα όχι χνουδωτά, μίσχους ανθέων και στάχυα μακρύτερα. Έχει επίσης πλάγιους ανθοφόρους βλαστούς και γόνιμα βράκτια ρομβοειδή και υψόφυλλα 1 έως 4 mm μήκος. Ο κάλυκας διαθέτει 13 νεύρα με κυκλική έως ελλειπτική σύνδεση. Η στεφάνη είναι συμμετρική που ποικίλει σε χρώματα λιλιά/ μωβ έως άσπρο. Τα άνθη είναι με έντονη οσμή καμφοράς που ανθίζουν από Ιούλιο, Αύγουστο και πολλές φορές συνεχίζουν έως το Φθινόπωρο. Ευδοκιμεί σε εδάφη ελαφρώς όξινα στη Γαλλία, Ιταλία και Ισπανία. Έχουν υψηλότερη παραγωγή αιθερίου ελαίου αλλά χαμηλότερης ποιότητας με μεγάλο ποσοστό καμφοράς. Χρησιμοποιείται στη σαπωνοποιία, κοσμετολογία, στα απορρυπαντικά και ως καλλωπιστικό. Υβρίδια: *L x intermedia* Emeric ex Loisel (*L. hybrid* Reverchon, *L x hortensis* Hy) (Balchin, 2002)

## **Φυτοχημεία του γένους *Lavandula***

### ***Εισαγωγή***

Η ετήσια παραγωγή λεβάντας εκτιμάται στους 462 τόννους (van Wyk, Wink, 2005). Η γνώση της Φυτοχημείας των ειδών του γένους *Lavandula* επικεντρώνεται στα αιθέρια έλαια (μονο-, σεσκι-τερπένια) που εμφανίζονται στα γένη. Οι μελέτες των πτητικών συστατικών των πιο εμπορεύσιμων ειδών *L.angustifolia*, *L.latifolia* και του υβριδίου τους έχει αποκαλύψει πάνω από 150 ενώσεις, πολλές από αυτές σε ελάχιστη ποσότητα. Οι ενώσεις που δίνουν τη χαρακτηριστική οσμή της λεβάντας περιγράφονται ως τερπενοειδή. Τα διτερπενοειδή δεν είναι αντιπροσωπευτικά στα είδη του γένους *Lavandula*. Τα τριτερπενοειδή έχουν αναφερθεί.

Το έλαιο λεβάντας (lavender oil) αποστάζεται από την *L.angustifolia* και απαρτίζεται κυρίως από λιναλοόλη και λιναλοϋλικό εστέρα. Η σύνθεσή του ποικίλει εξαιτίας της γενετικής σταθερότητας των φυτών που παράγουν το έλαιο, των ποικιλιών, και εξαρτάται από την θερμοκρασία, την ποσότητα νερού, τα λιπάσματα, την εποχή του χρόνου, την γεωγραφική κατανομή κ.λ.π. Η χημική του σύνθεση επίσης ποικίλει στα διαφορετικά υβρίδια που δίνουν μεγαλύτερα φυτά με υψηλότερη απόδοση σε αιθέριο έλαιο και γι' αυτόν τον λόγο καλλιεργούνται πιο συχνά.

Τα είδη του γένους *Lavandula* είναι επίσης, πλούσια σε φαινορικά συστατικά. 19 φλαβόνες και 8 ανθοκυανίνες έχουν βρεθεί σ' αυτά τα φυτά. Πολλά από αυτά χαρακτηρίζουν την οικογένεια όπως οι γλυκοζίτες της υπολαετίνης και σκουτελλαρεΐνης. Το μπλε πιγμέντο που είναι σύμπλοκο του σιδήρου και εστέρας του καφφεϊκού οξέως, φαίνεται να είναι μοναδικό. Οι φαρμακευτικές ιδιότητες της λεβάντας παραμένουν και στα αιθέρια έλαιά της (Balchin, 2002).

### ***Δευτερογενείς μεταβολίτες***

Με αυτόν τον όρο προσδιορίζονται ουσίες οι οποίες σχηματίζονται στα φυτά αλλά δε συμμετέχουν ενεργά στις μεταβολικές διαδικασίες. Ως δευτερογενής μεταβολισμός ορίζονται οι περιφερειακοί, παράπλευροι μηχανισμοί, ως το τέρμα των αντιδράσεων του πρωτογενή μεταβολισμού. Μέσω βιοσυνθετικών οδών και αλληπάλληλων ενζυμικών αντιδράσεων συντίθενται πολύπλοκες ενώσεις από απλά

πρόδρομα μόρια, όπως το ακετυλο συνένζυμο Α (acetyl-Co-A), το σικιμικό και μεβαλονικό οξύ, τα α-αμινοξέα. Ως δευτερογενείς μεταβολίτες θεωρούνται οι φαινολικοί μεταβολίτες, τα πολυκετίδια, τα αλκαλοειδή, τα στεροειδή, τα τερπένια (Samuelsson, 2004). Στην παρούσα εργασία θα μελετήσουμε τρεις ενώσεις από τα τερπενοειδή, την λιναλοόλη, την καμφορά και την 1,8-κινεόλη.

### ***Ο ρόλος των δευτερογενών μεταβολιτών***

Πρόκειται για ενώσεις μεγάλου ενδιαφέροντος αφού τα περισσότερα φυτά χρησιμοποιούνται ως πηγές φαρμάκων, αρωμάτων και βαφών από την αρχαιότητα. Η χρήση των φυσικών αυτών προϊόντων, έδωσε έναυσμα για τη δημιουργία ενός νέου κλάδου της φαρμακευτικής, εκείνου της φαρμακογνωσίας (pharmacognosy), όπου πολλές αρχές της παραδοσιακής ιατρικής έχουν ταυτοποιηθεί. Οι ενώσεις αυτές δρουν και ως αντιοξειδωτικά, αιχμαλοτίζοντας ενεργοποιημένα είδη οξυγόνου, αποτρέποντας την κυτοτοξικότητα. Χρησιμοποιούνται ως πρόσθετα και ενισχυτικά γεύσης και αρώματος. Οι ενώσεις αυτές έχουν αποδειχθεί χρήσιμες στην αποκωδικοποίηση και μελέτη βασικών βιολογικών δραστηριοτήτων και μπορούν να βελτιωθούν με τη βοήθεια της συνθετικής χημείας δίνοντας δραστικότερα παράγωγα. Υπό τον όρο ότι η βιοποικιλία τους μπορεί να διατηρηθεί, τα φυτά θα εξακολουθούν να είναι πλούσιες πηγές νέων φαρμάκων και χημικών ουσιών. Έχει εκτιμηθεί ότι υπάρχουν κατά προσέγγιση 500.000-750.000 είδη ανώτερων φυτών στη γη, από τα οποία έχουν ερευνηθεί ως προς τα χημικά τους συστατικά όχι περισσότερα από το 10%. Από το σύνολο των φαρμάκων που κυκλοφορούν, περισσότερο από το 25% είναι φυτικής προέλευσης.

Η δομή των προϊόντων δευτερογενούς μεταβολισμού λαμβάνεται υπόψη και στην κατάταξη των φυτών, η οποία ως γνωστό μπορεί να γίνει είτε με συγκριτικές μορφολογικές μελέτες (plant taxonomy) είτε ανάλογα με τη διασπορά σ'αυτά των δευτερογενών μεταβολιτών και ο τρόπος λέγεται χημειοταξινόμηση (chemotaxonomy ή chemosystematics). Στη δεύτερη περίπτωση όμοιοι δευτερογενείς μεταβολίτες σε διαφορετικά φυτά οδηγούν σε συσχετισμό ως προς το μηχανισμό ανάπτυξης των φυτών αυτών και αποτελούν μέσο σύγκρισης για την κατάταξή τους. Οι δευτερογενείς μεταβολίτες, που καθοδηγούν τη χημειοταξονομική τους μελέτη, ονομάζονται ταξονομικοί δείκτες (Ραγκούση, 1996).



Θεωρήθηκε ότι οι ενώσεις αυτές συμβάλλουν στην ομαλή σχέση μεταξύ του φυτικού οργανισμού και του περιβάλλοντός του και ο ρόλος τους είναι φυτοπροστατευτικός.

### ***Υδραρωματικές ενώσεις ( Πολυμένης, 1985)***

Ονομάζονται οι ενώσεις που προκύπτουν από μερική ή πλήρη υδρογόνωση των αρωματικών ενώσεων. Ανήκουν στην ευρύτερη κατηγορία των αλεικυκλικών ενώσεων και δεν παρουσιάζουν αρωματικό χαρακτήρα. Οι υδραρωματικές ενώσεις όπως π.χ. τα τερπενοειδή, βρίσκονται σε πολλά φυσικά προϊόντα.

### ***Αιθέρια έλαια***

Ονομάζονται τα πτητικά υγρά μίγματα με ελαιώδη σύσταση που παραλαμβάνονται κυρίως κατά την απόσταξη με υδρατμούς, αλλά και με εκχύλιση ή απλή εκθλιψη ορισμένων φυτικών ιστών. Χρησιμοποιήθηκαν ως φάρμακα, καρυκεύματα και αρώματα. Μερικά από αυτά είναι: το τερεβινθέλαιο (νέφτι), το ροδέλαιο, το δαφνέλαιο, το ευκαλυπτέλαιο, το κιτρέλαιο κ.ά.

Είναι άχρωμα ή κιτρινωπά και πτητικά. Η κηλίδα που αφήνουν σε χαρτί εξαφανίζεται με θέρμανση. Είναι μίγματα πολλών σωμάτων κυρίως τερπενοειδών. Οι ερευνητικές εργασίες πάνω στα αιθέρια έλαια έπαιξαν σημαντικό ρόλο στην ανάπτυξη και εξέλιξη της Οργανικής Χημείας το 19<sup>ο</sup> αιώνα.

### ***Τεχνητά αιθέρια έλαια (Essences)***

Ονομάζονται τα μίγματα εστέρων του οξικού οξέος με μέσες αλκοόλες ή μέσων οξέων με κατώτερες και μέσες αλκοόλες τα οποία έχουν πολύ ευχάριστη οσμή και χρησιμοποιούνται ως υποκατάστατα των φυσικών αιθερίων ελαίων.

### ***Ρητίνες***

Ονομάζονται διάφορα ημίρρευστα ή στερεά φυτικά εκκρίματα, άμορφα σώματα, κίτρινα μέχρι καστανόχρωμα, με λάμψη και θραύση γυαλιού, αδιάλυτα στο νερό, διαλυτά σε οργανικούς διαλύτες.

Μερικές από αυτές είναι το κολοφώνιο (έκκριμα κωνοφόρων), η μαστίχα ( από τον σχίνο τον μαστιχοφόρο), το ήλεκτρο (κεχριμπάρι) που είναι ορυκτή ρητίνη κ.ά.

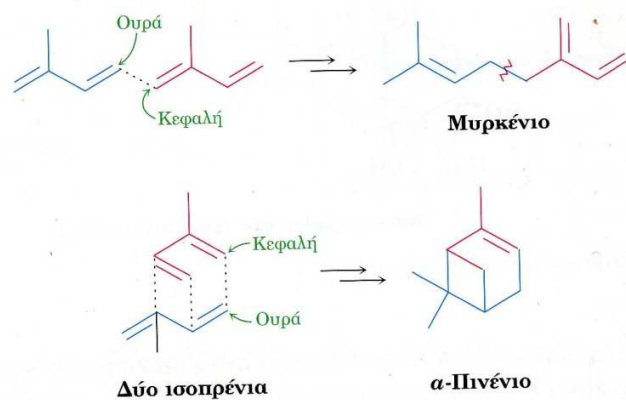
### **Βάλσαμα**

Ονομάζονται διαλύματα ή γαλακτώματα ρητινών σε αιθέρια έλαια. Ένα από αυτά είναι η τερεβινθίνη (ή ρετσίνι).

### **Τερπένια ( McMurry,2005)**

Παραλαμβάνονται σε μορφή μιγμάτων. Μερικά είναι υδρογονάνθρακες (άκυκλοι), άλλα υδραρωματικές ενώσεις με γενικό τύπο  $C_{10}H_{16}$  και πολλαπλάσια αυτών και άλλα υδραρωματικές οξυγονούχες ενώσεις με γενικούς τύπους  $C_{10}H_{16}O$ ,  $C_{10}H_{18}O$ ,  $C_{10}H_{20}O$  ή και πολλαπλάσια.

Σύμφωνα με τους Wallach (1887) και Leopold Ruzicka (1953) για τον σχηματισμό τους ισχύει ο κανόνας του ισοπρενίου, όπου μπορεί να θεωρηθεί ότι τα τερπένια προέρχονται από την συνένωση κεφαλής-ουράς μονάδων ισοπρενίου (2-μεθυλο-1,3-βουταδιένιο), με τον άνθρακα 1 κεφαλή και τον άνθρακα 4 ουρά. Χαρακτηριστική περίπτωση αποτελούν το μυρκένιο και το α-πινένιο.



Σχήμα 1. Σχηματισμός τερπενίων με βάση τον κανόνα ισοπρενίου

Ανάλογα με τον αριθμό ισοπρενικών μονάδων που περιέχουν, τα τερπένια ταξινομούνται σε μονοτερπένια (10 άτομα άνθρακα, 2 ισοπρενικές μονάδες), σεσκιτερπένια (15 άτομα άνθρακα, 3 ισοπρενικές μονάδες) κ.λ.π.

<i>Αριθμός ατόμων άνθρακα</i>	<i>Μονάδες ισοπρενίου</i>	<i>Ταξινόμηση</i>
10	2	Μονοτερπένιο
15	3	Σεσκιτερπένιο
20	4	Διτερπένιο
25	5	Σεστερτερπένιο
30	6	Τριτερπένιο
40	8	Τετρατερπένιο

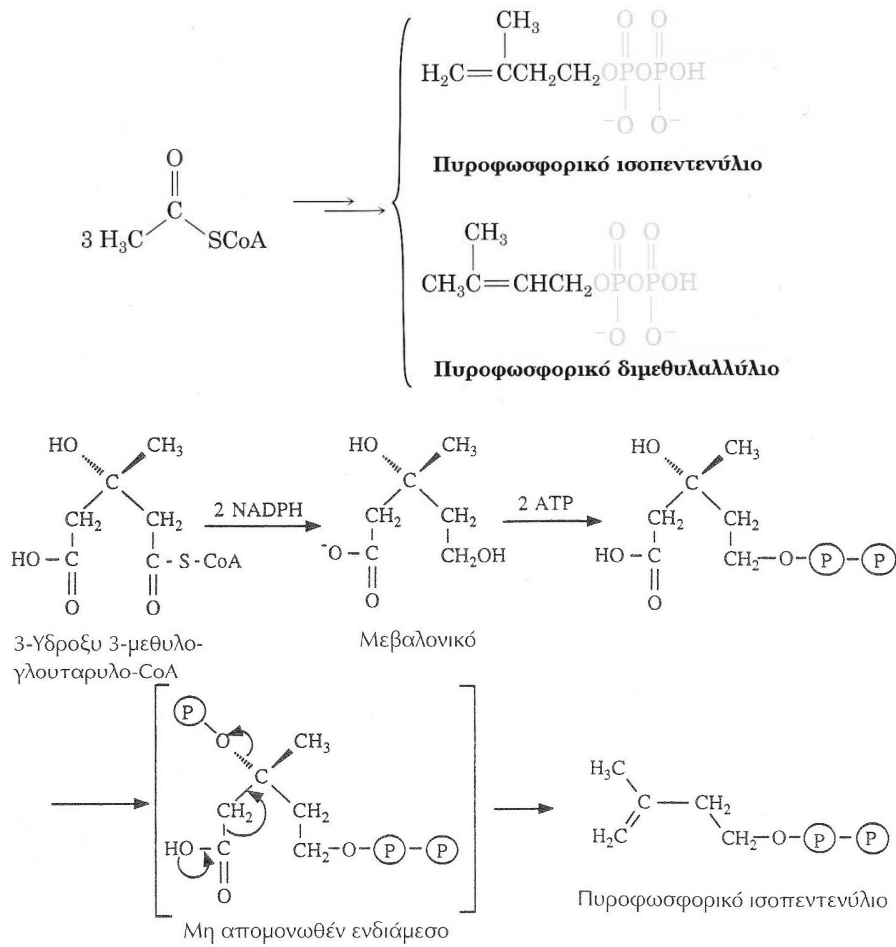
**Πίνακας 1.** Ταξινόμηση τερπενίων με βάση τον αριθμό ισοπρενικών μονάδων

### **Βιοσύνθεση των τερπενίων**

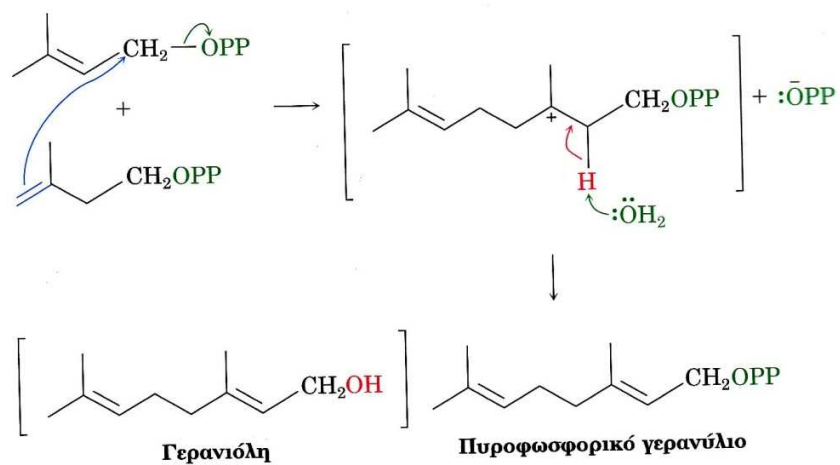
Το ισοπρένιο δεν είναι η βιολογικά πρόδρομη ένωση των τερπενίων. Στη φύση, υπάρχει το «ενεργό ισοπρένιο», το πυροφωσφορικό ισοπεντενύλιο που προέρχεται από την βιοσυνθετική οδό του μεβαλονικού οξέος. Η οδός αυτή ξεκινά από το ακετυλοσυνένζυμο και από το οξικό οξύ.

Στο πυροφωσφορικό διμεθυλαλλύλιο, η πρωτοταγής αλλυλική πυροφωσφορική ομάδα (συντομογραφικά OPP) αποτελεί καλή αποχωρούσα ομάδα και η υποκατάστασή της από τον πυρηνόφιλο δεσμό C=C του πυροφωσφορικού ισοπεντενυλίου οδηγεί στο σχηματισμό του πυροφωσφορικού γερανυλίου, πρόδρομη βιοσυνθετικά ένωση όλων των μονοτερπενίων.

Περαιτέρω αντίδραση του πυροφωσφορικού γερανυλίου με πυροφωσφορικό ισοπεντενύλιο, οδηγεί στο σχηματισμό πυροφωσφορικού φαρνεσυλίου, πρόδρομη βιοσυνθετικά ένωση όλων των σεσκιτερπενίων κ.ο.κ.



Σχήμα 2. Βιοσύνθεση από το ακετυλο-συνένζυμο



Σχήμα 3. Το OPP καλή αποχωρούσα ομάδα

**Μονοτερπένια του γένους *Lavandula***

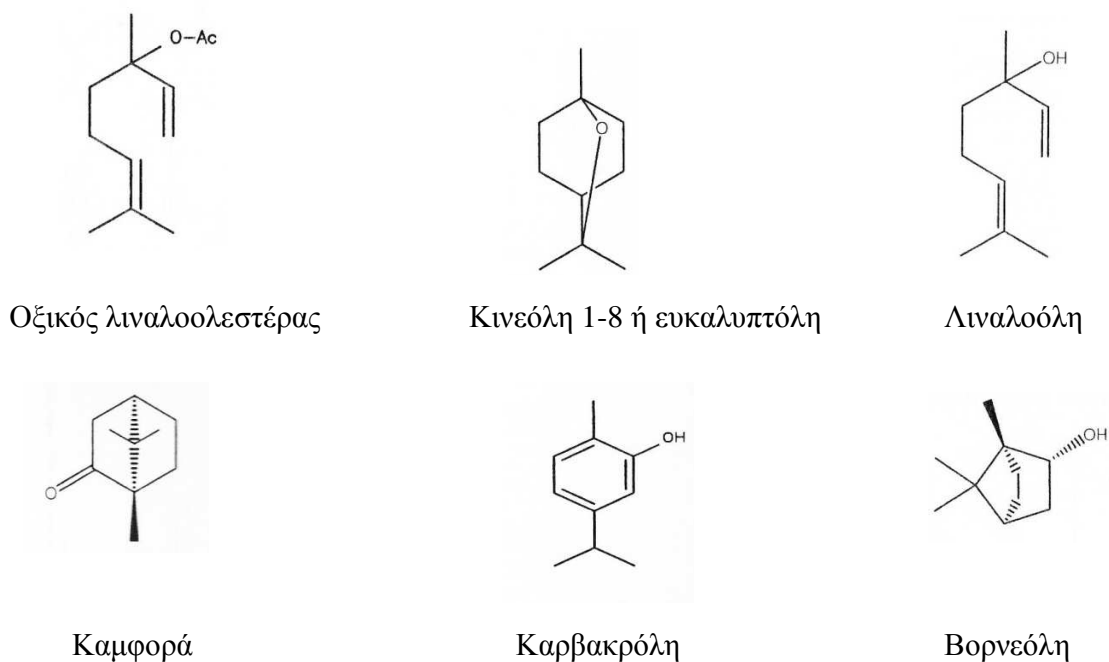
Το ποσό του αιθερίου ελαίου αυξάνεται με την ανάπτυξη του φυτού. Η σύνθεση ποικίλει σε διαφορετικές χώρες, σε διαφορετικό υψόμετρο και με την ηλικία του φυτού.

Το αιθέριο έλαιο της *L.angustifolia* (lavender oil) έχει πυκνότητα 0.878-0.892 g/ml και περιέχει όχι λιγότερο από 35% εστέρες (οξικό λιναλοϋλεστέρα). Τα κύρια συστατικά του ελαίου είναι οξικός λιναλοϋλεστέρας (linalyl acetate), λιναλοόλη (linalool), cis-οσιμένιο (cis-ocimene), οξικός λαβαντουλυλεστέρας (lavandulyl acetate). Η περιεκτικότητα σε λιναλοόλη είναι 25-38% (appellation d'origine "de Haute Provence") και το περιεχόμενο σε λάδι 0.3-1.

Το αιθέριο έλαιο της *L.latifolia* (spike lavender oil) έχει πυκνότητα 0.894-0.915 g/ml και περιέχει μικρό ποσό εστέρων και υψηλό ποσοστό ελεύθερων αλκοολών. Κύρια συστατικά του είναι η λιναλοόλη, η 1,8-κινεόλη (1,8-cineole), η καμφορά (camphor), το α- και β- πινένιο, η βορνεόλη.

Το αιθέριο έλαιο των υβριδίων (lavandin oil), έχει πυκνότητα 0.89 g/ml και περιέχει 20-28% εστέρες (οξικό λιναλοϋλεστέρα) (Bajaj, 1991)

Στο σχήμα φαίνονται τα κύρια συστατικά των αιθερίων ελαίων της λεβάντας.



**Σχήμα 4.** Κύρια συστατικά αιθερίου ελαίου λεβάντας

Οι τερπενικές αλκοόλες είναι υψηλώς εκτιμημένες για το αρωμά τους, τις θεραπευτικές ιδιότητες και την ήπια επίδραση στο δέρμα και στις κυτταρικές μεμβράνες. Μαζί με τις φαινολες κατατάσσονται ανάμεσα στις πιο ισχυρές αντιμικροβιακά ενώσεις αιθερίων ελαίων.

Τα εναντιομερή της λιναλοόλης, περισσότερο η R-μορφή, βρίσκονται στα αιθέρια έλαια της λεβάντας. Η παρουσία περισσότερου από 5% της S-μορφής στο αιθέριο έλαιο της λεβάντας είναι ισχυρός δείκτης ωρίμανσης. Ισχυρά αποτελέσματα στο Κεντρικό Νευρικό Σύστημα *in vivo*, περιλαμβάνουν ηρεμιστική, σπασμολυτική και υποθερμική δράση. Εμφανίζεται παρεμποδιστικό αποτέλεσμα ελευθέρωσης ακετυλοχολίνης κατά το χρόνο διάνοιξης της νευρομυϊκής σύνδεσης καθώς και τοπική αναισθητική δράση.

Η κινεόλη, είναι φαινολική ένωση και περιέχεται στη λεβάντα σε ποσοστό 0.3-1.5% ενώ στο δενδρολίβανο 15-50%. Αιθέρια έλαια εμπλουτισμένα σε κινεόλη προτιμούνται για ιατρική χρήση. Διαθέτουν αντισηπτικές ιδιότητες και παρεμποδίζουν ιούς. Είναι τα πιο αποτελεσματικά εναντίον των ιών της γρίπης.

Οι τερπενικοί εστέρες σχηματίζονται με την αντίδραση των τερπενικών αλκοολών με το οξικό οξύ. Είναι οι πιο διαδεδομένες ενώσεις στα αιθέρια έλαια και βρίσκονται στα άνθη σε μικρά ποσά. Έχουν διακριτικά αρώματα. Ο οξικός λιναλοϋλεστέρας είναι δείκτης υψηλής ποιότητας στο έλαιο της λεβάντας.

Οι μονοτερπενικές κετόνες είναι κυκλικές ενώσεις στις οποίες μία ομάδα καρβονυλίου συνδέεται με δύο άτομα άνθρακα. Παράγονται με οξείδωση αλκοολών και είναι μόρια σχετικά σταθερά.

Η καμφορά είναι ένωση που περιέχεται στο δενρολίβανο. Περιέχει δύο ενωμένους δακτύλιους. Εμφανίζεται σε μερικές ποικιλίες λεβάντας. Είναι ανεπιθύμητο συστατικό στο αιθέριο έλαιο της λεβάντας. Είναι επίσης τονωτικό του Κεντρικού Νευρικού Συστήματος και έχει μυκολυτικές ιδιότητες. Σε υψηλές δόσεις είναι ένωση τοξική.

Το αιθέριο έλαιο της λεβάντας αναμειγνύεται συχνά με άλλα έλαια ή κλάσματα παραγόμενα από φυτά που περιέχουν λιναλοόλη και λιναλοϋλικό εστέρα ή συνθετικά συστατικά ή ακόμα και με ακετυλίωση. Υπάρχει ένα ζήτημα στην αναγνώριση τέτοιων

αναμείξεων, παρόλο που οι εναντιομερείς κολώνες χρωματογράφου, είναι χρήσιμο εργαλείο στην σύγχρονη ανίχνευση (Pengelly, 2004)

### ***In vitro* καλλιέργειες**

Λαμβάνει χώρα κρυοσυντήρηση κάλλων (συσσωμάτωμα κυττάρων) σε υγρό άζωτο (-175°C) οι οποίοι έχουν τη δυνατότητα αναγέννησης και επανακαλλιέργειας ιστών (tissue culture) και οφθαλμών (bud culture), όπου η γενετική σταθερότητα του υλικού διατηρείται αναλλοίωτη. Η εμφάνιση καταβολικών ενζύμων μπορεί να ελέγξει το ρυθμό της μεταβολής της σύνθεσης του αιθέριου ελαίου.

Έλλειψη συσσωρεύσης μονοτερπενίων σε καλλιέργειες κάλλων μπορεί να οφείλεται στην έλλειψη ή χαμηλή δραστηριότητα ενός καταβολικού ενζύμου ένα στάδιο πιο πριν. Το ένζυμο αυτό βιομετασχηματίζει κάποιες μονοτερπενοειδείς αλδεύδες στις αντίστοιχες τους πρωτοταγείς. Η καλλιέργεια ιστών της *L. angustifolia* επιτρέπει τον σχηματισμό τεσσάρων σειρών κάλλων που περιέχουν πάνω από το 20% των μονο- και σεσκιτερπενοειδών που βρίσκονται στα φύλλα και στα άνθη του αρχικού φυτού. Η προμεταχείριση του κάλλου με τροφοδοσία κατά παλμούς με μεβαλονικό οξύ, δεν παρουσιάζει σημαντική επίδραση, προκειμένου να διεγερθεί η συσσωρεύση τερπενοειδών (Bajaj, 1991)

### ***Συνεργισμός (Synergism)***

Ονομάζεται η συνεργιστική δράση δύο ή περισσότερων παραγόντων ώστε να προκύψει ένα συνδυασμένο αποτέλεσμα των επιμέρους μερών (π.χ. των προσθετικών παραγόντων). Η διαδικασία αυτή αναφέρεται σε κύκλους φαρμακευτικών φυτών (herbal medicine circles), παρόλο που είναι δύσκολο κανείς να το αποδείξει. Η πρωτογενής εφαρμογή αυτής της σύλληψης συναντάται στις παραδοσιακές μεθόδους συνδυασμού φαρμακευτικών φυτών σε συνταγές, ωστόσο, στα σύγχρονα χρόνια έχει εφαρμοστεί με χρήση συνδυασμένων παραγόντων ενεργών συστατικών στο ίδιο φυτό (Pengelly, 2004).

### ***Φυσική παραλαβή και συνθετική παρασκευή της καμφοράς***

Η καμφορά παραλαμβάνεται από το ξύλο της καμφοράς της φαρμακευτικής (*Cinnamum Camphora*), που είναι φυτό ιθαγενές της Ταϊβάν, με απόσταξη με υδρατμούς. Ακολουθεί εξάχνωση, οπότε παραλαμβάνεται η καμφορά καθαρή.

Πρόκειται για κυκλική μονοκετόνη και μπορεί να παρασκευαστεί συνθετικά από το α-πινένιο, που βρίσκεται σε μεγάλα ποσά στο τερεβινθέλαιο.

Είναι στερεό, κρυσταλλικό, διαφανές σώμα με έντονη χαρακτηριστική οσμή καυστική πικρή γεύση που τελικά αφήνει δροσιστικό αίσθημα. Εξαχνώνεται εύκολα, διαλύεται ελάχιστα στο νερό, ενώ στην αλκοόλη, τον αιθέρα ή το χλωροφόρμιο σε μεγάλα ποσά (Πολυμένης, 1985).

### ***Βιοσυνθετική οδός σχηματισμού της καμφοράς***

Ο σχηματισμός του πυροφωσφορικού γερανυλοεστέρα (GPP) είναι το αρχικό στάδιο σχηματισμού των μονοτερπενίων. Ο σχηματισμός των κυκλικών μονοτερπενίων περιλαμβάνει θεωρητικά την ενδομοριακή πυρηνόφιλη προσβολή του C-1 του νεφυλικού κατιόντος από τον διπλό δεσμό, που οδηγεί στον σχηματισμό του ενδιάμεσου α-τερπινυλικού κατιόντος.

Πειραματικά έχει αποδειχθεί ότι η αντίδραση λαμβάνει χώρα χωρίς ελεύθερο νεφυλικό ή λιναλοϋλικό ενδιάμεσο κατιόν. Έχει αποδειχθεί ότι ο σχηματισμός μονο- και δικυκλικών ενώσεων από το GPP περιλαμβάνει μονοτερπενικές κυκλάσες που δρουν με ένα μηχανισμό ισομερείωσης-κυκλοποίησης. Κατά τη διάρκεια αυτής της αντίδρασης ο GPP ιονίζεται σ' ένα ζεύγος ιόντων όπου η αντίδραση υποβοηθείται από δισθενές μεταλλικό κατιόν ( $Mn^{2+}$  ή  $Mg^{2+}$ ). Στη συνέχεια το αλλυλικό κατιόν ισομερίζεται σε 3R ή 3S πυροφωσφορικού λιναλοϋλεστέρα (LPP) που παραμένει δεσμευμένος, ο οποίος μετά από περιστροφή του C-2-C-3 δεσμού (στη μορφή *cis*) ιονίζεται ξανά και κυκλοποιείται σε 4R- ή 4S-α-τερπινυλικό κατιόν. Οι πιο γνωστές κυκλάσες είναι ικανές να καταλύσουν το σχηματισμό των υδρογονανθράκων και δρουν στερεοειδικά. Στη συνέχεια γίνεται μετατροπή σε πυροφωσφορικό βορνυλοεστέρα. Μετά από υδρόλυση προς βορνεόλη οξειδώνεται από την NAD-δεσμευμένη αφυδρογονάση και δίνει την καμφορά (Bruneton, 1999).

### ***Τριτερπενοειδή***

Το ουρσολικό και το ολεανολικό οξύ είναι χαρακτηριστικά τριτερπένια των *Lamiaceae*.



### **Φλαβονοειδή**

#### **Φλαβονοειδή των φύλλων**

Τα κύρια φλαβονοειδή στα φύλλα των *Lavandula* είναι φλαβονικοί γλυκοζίτες. Πέντε διαφορετικές υποκατηγορίες είναι οι απλοί φλαβονικοί γλυκοζίτες, οι φλαβονικοί C-γλυκοζίτες, οι 6-υδροξυφλαβονικοί 7-γλυκοζίτες και οι 8-υδροξυφλαβονικοί 7-και 8-γλυκοζίτες. Η κατανομή τους στα είδη είναι ένδειξη κάποιας ταξονομικής σημασίας και είναι χαρακτηριστική για τα *Lamiaceae* ειδικότερα οι φλαβόνες με υδροξυλίωση στις θέσεις 6- και 7-.

Οι συνήθεις φλαβονικοί γλυκοζίτες, απιγενίνη και λουτεονίνη 7-γλυκοζίτες και 7-γλυκουρονίτες είναι τα κύρια συστατικά φλαβονοειδών των *Lavandula*.

#### **Φλαβονοειδή ανθέων**

Στα πέταλα, όπου το χρώμα είναι μωβ-βιολέ ή βιολέ, τα κύρια πιγμέντα βασίζονται στις ενώσεις δελφινιδίνη και μαλβιδίνη. Όλα τα πιγμέντα έχουν υπολείμματα p-κουμαρικού οξέος με 5-γλυκόζη.

#### **Υδροξυκιναμωμικά οξέα και κουμαρίνες**

Δύο υδροξυκιναμωμικοί εστέρες, του ροσμαρινικού και χλωρογενικού οξέος εντοπίζονται στα φύλλα των *Lavandula*. Έχουν ανιχνευτεί επίσης η κουμαρίνη και η ερνιαρίνη (Balchin, 2002).

## **Απόσταξη- Εκχύλιση**

### ***Εισαγωγή***

Δύο είδη των φυτών *Lavandula* και το υβρίδιό τους προκαλούν το ενδιαφέρον της αρωματοβιομηχανίας. Σ' αυτές τις τρεις κατηγορίες υπάρχουν χιλιάδες διαφορετικοί γενότυποι που παράγουν διαφορετικά είδη ελαίων με διαφορετική κάθε φορά εμπορική αξία.

Το έλαιο είναι προστατευμένο σε μικρούς σφαιρικούς αδένες στους τριχοειδείς κάλυκες των ανθέων σε απορροφητική επιφάνεια και παραλαμβάνεται με υδροαπόσταξη (απόσταξη με υδρατμούς).

### ***Συγκομιδή***

Η λεβάντα συλλέγεται το καλοκαίρι. Τα άνθη που συλλέγονται νωρίτερα, απαιτείται να μαραθούν στον ήλιο. Τα φυτά κόβονται στα 6 έως 10 cm του μίσχου τους μαζί με τα άνθη.

Παραδοσιακά, τα φυτά συλλέγονται με το χέρι, ενώ με σύγχρονες μεθόδους, αυτόματοι συλλέκτες συλλέγουν τα άνθη σε ειδικούς δίσκους που μεταφέρονται στον αποστακτήρα. Τα άνθη πριν τη συγκομιδή πρέπει να είναι ώριμα.

### ***Λειτουργία των αποστακτήρων***

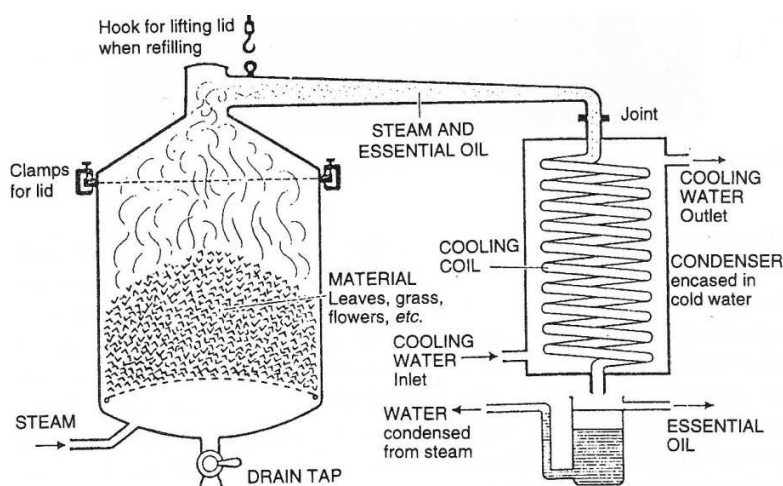
Στο παρελθόν οι αποστακτήρες περιελάμβαναν κάθετους κυλίνδρους με δίσκους σε ύψος 150 mm από την βάση, όπου ο ατμός τροφοδοτούνταν από έναν βραστήρα. Σήμερα, πολλοί αποστακτήρες περιλαμβάνουν μεγάλα ορθογώνια παραλληλεπίπεδα δοχεία όπου ο ατμός διοχετεύεται από μια σειρά σωλήνων στους δίσκους.

Το κάθετο ύψος των δίσκων από τη βάση πρέπει να είναι τουλάχιστον 1,3 m. Το ποσό της φυτικής ύλης θα πρέπει να είναι επαρκές ώστε μέσω του ατμού να συλλέγεται ποσότητα που να συμφέρει οικονομικά.

Από την άλλη μεριά, το ύψος του φορτίου θα πρέπει να είναι ρυθμισμένο, έτσι ώστε να μην υπάρχει απώλεια ελαίου στο αχρησιμοποίητο απεσταγμένο ύδωρ.

Η διάμετρος του αποστακτήρα εξαρτάται από το μέγεθος του βραστήρα. Για παροχή ατμού 3 Kg/min, η επιφάνεια του οριζόντιου φορτίου θα πρέπει να είναι κοντά στο 1m<sup>2</sup>. Η πυκνότητα του ελαίου θα πρέπει να είναι περίπου 275 Kg/m<sup>3</sup>.

Μία ροή υπέρθερμου ατμού τροφοδοτεί την επιφάνεια του φυτικού υλικού. Η θερμοκρασία προσεγγίζει σταδιακά το σημείο ζέσεως του νερού (100°C). Όταν η θερμοκρασία φτάσει στην κορυφή της στήλης, ο ατμός αναγκάζει το έλαιο του φυτικού υλικού να εξαερωθεί. Μία ροή ατμού στην κορυφή της στήλης οδηγεί το μίγμα ατμών προς τον συμπυκνωτήρα. Αφού το μίγμα ψυχθεί, το ύδωρ και το έλαιο διαχωρίζονται σύμφωνα με τις πυκνότητές τους. Έτσι λοιπόν ο ατμός παρασύρει το έλαιο προς εξάτμιση και μ' αυτόν τον τρόπο το έλαιο παραλαμβάνεται από το φυτό (Balchin, 2002)



**Εικόνα 3.** Συσκευή απόσταξης με υδρατμούς

### **Ιδιότητες των ατμών**

Η απόσταξη είναι μια φυσική διεργασία στην οποία λαμβάνονται υπόψη η λανθάνουσα θερμότητα εξάτμισης, δηλαδή η θερμότητα που απαιτείται για να μεταβληθεί ένα υγρό σε ατμό χωρίς να αυξηθεί η θερμοκρασία του, καθώς επίσης και η τάση ατμών δηλαδή η πίεση των κορεσμένων ατμών ενός υγρού σε δεδομένη θερμοκρασία.

Η απόσταξη με υδρατμούς γίνεται σε θερμοκρασία κάτω από τη θερμοκρασία βρασμού του ύδατος και σε ατμοσφαιρική πίεση. Ισχύει:

$$P_{\text{υδ}} + P_{\text{ελ}} = P_{\text{ατμ}}$$

Όπου  $P_{\text{υδ}}$ = μερική πίεση, τάση ατμών ύδατος

$P_{\text{ελ}}$ = μερική πίεση, τάση ατμών ελαίου

$P_{\text{ατμ}}$ = ατμοσφαιρική πίεση

(Balchin, 2002)

### **Μεταφορά μάζας**

Ισχύει το παρακάτω ισοζύγιο:

$$D+B=V+L$$

Όπου

D= παροχή αποστάγματος

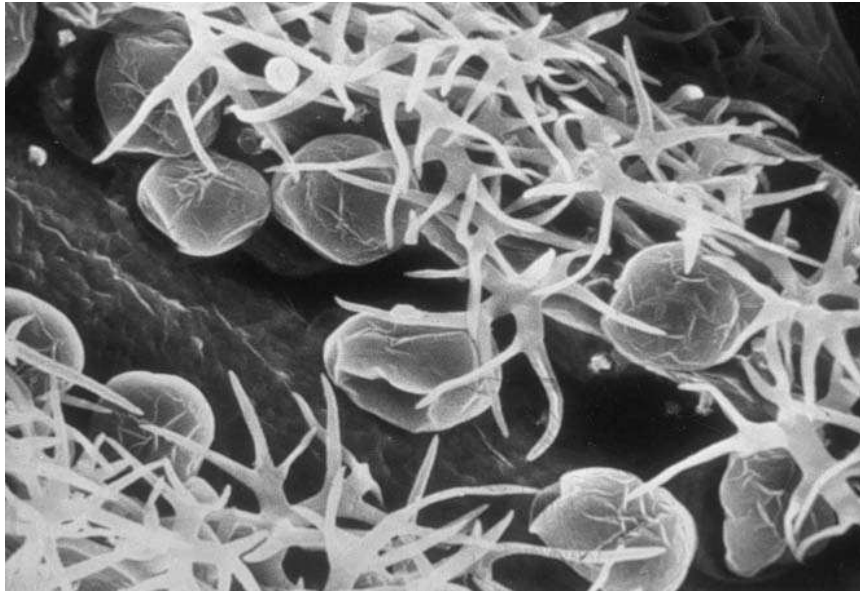
B=παροχή υπολείμματος

V=ροή ατμών στο άνω και κάτω τμήμα της στήλης

L=ροή υγρού στο άνω και κάτω τμήμα της στήλης (Μαρίνος-Κουρής, Παρλιάρου-Τσάμη, 1994)

### **Μεταφορά θερμότητας**

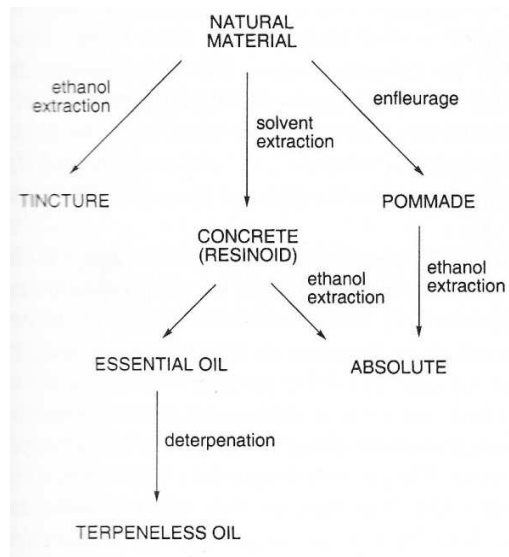
Όταν ο ατμός έρχεται σε επαφή με τους ελαιώδεις αδένες της λεβάντας δημιουργούνται στρώματα ομογενούς ελαίου στην φυτική επιφάνεια. Στην περίμετρο κάθε ελαιώδους στρώματος δημιουργείται μια διεπιφάνεια ελαίου-ύδατος. Το έλαιο δεν αναμειγνύεται με το ύδωρ, όταν όμως η φυτική επιφάνεια είναι απορροφητική και τριχοειδής όπως εκείνη της λεβάντας, εμφανίζονται στη διεπιφάνεια τριχοειδή φαινόμενα, τα οποία ρυθμίζουν την ποσότητα ατμού-ύδατος στη διεπιφάνεια και απαιτούν περισσότερη σχετική υγρασία και θερμότητα. Διαφορετικά δεν επιτυγχάνεται μεγάλη αναλογία ελαίου-ύδατος (Balchin, 2002).



**Εικόνα 4.** Ελαιώδεις αδένες στους κάλυκες ώριμης λεβάντας

### **Εκχύλιση με διαλύτη**

Στο σχήμα δίνονται διάφορες πιθανές διεργασίες εκχύλισης με διαλύτη, προκειμένου να παραλάβει κανείς διαφορετικά προϊόντα.



**Σχήμα 5.** Εκχύλιση αιθερίων ελαίων

Η εκχύλιση με αιθανόλη δεν χρησιμοποιείται ευρέως για τα φυτικά υλικά, λόγω της υψηλής περιεκτικότητάς τους σε νερό σε σχέση με το έλαιο.

Η εκχύλιση με λίπος (enfleurage) χρησιμοποιήθηκε μέχρι τον 20ο αιώνα αλλά είναι χωρίς εμπορική σημασία. Το φυτικό υλικό έρχεται σε επαφή με καθαρό λίπος. Στα άνθη για παράδειγμα, τα πέταλα συμπιέζονται με ένα λεπτό στρώμα λίπους. Τα αιθέρια έλαια διαχύνονται μέσα στο λίπος, η λιπαρή ύλη λιώνει και γίνεται φιλτράρισμα προκειμένου να απομακρυνθεί η στερεή ύλη (μαραμένα πέταλα). Με ψύξη σχηματίζεται μια αλοιφή (pomade), που όμως δεν είναι σε εύχρηστη μορφή. Για αυτόν τον λόγο γίνεται εκχύλιση με αιθανόλη. Λόγω των δεσμών με οξυγόνα, τα πτητικά έλαια είναι διαλυτά στην αλκοόλη. Το λίπος που χρησιμοποιήθηκε στην αρχή καθώς και το λίπος από το φυτό είναι αδιάλυτα στην αιθανόλη και έτσι διαχωρίζονται από τα πτητικά έλαια. Με απόσταξη απομακρύνεται η αιθανόλη και αυτό που απομένει ονομάζεται «απόλυτο» (absolute).

Η πιο σημαντική εκχύλιση είναι η εκχύλιση με διαλύτη. Τυπικοί διαλύτες για την εκχύλιση είναι ο πετρελαϊκός αιθέρας, η ακετόνη, το εξάνιο και ο οξικός αιθυλεστέρας. Μεγάλο ενδιαφέρον παρουσιάζει το διοξείδιο του άνθρακα ως διαλύτης εκχύλισης. Η διεργασία ονομάζεται εκχύλιση με υπερκρίσιμο διοξείδιο του άνθρακα ( $T_c = 31.1^\circ\text{C}$ ,  $P_c = 73\text{atm}$ ,  $d_c = 0.460\text{g/cc}$ ). Στην πραγματικότητα οι τιμές των πιέσεων είναι κάτω από την κρίσιμη τιμή της πίεσης και το μέσο εκχύλισης είναι υποκρίσιμο υγρό διοξείδιο του άνθρακα. Παρόλα αυτά, η τιμή της πίεσης που απαιτείται για να υγροποιηθεί το  $\text{CO}_2$  στην επιθυμητή θερμοκρασία δεν είναι αμελητέα, γι' αυτό απαιτείται ακριβή συσκευή. Αυτό έχει ως συνέπεια την αύξηση της τιμής του ελαίου, όμως το  $\text{CO}_2$  έχει το πλεονέκτημα ότι απομακρύνεται εύκολα, χωρίς να αφήνει υπολείμματα.

Το προϊόν τέτοιων εκχυλίσεων ονομάζεται σύγκριμα (concrete ή resinoid). Στη συνέχεια μπορεί να εκχυλιστεί με αιθανόλη προς απόλυτο, ή να αποσταχθεί και να δώσει το καθαρό αιθέριο έλαιο (essential oil). Ακολούθως το έλαιο αποτερπενιοποιείται. Ο όρος 'αποτερπενιοποίηση' εδώ δεν είναι χημικά δόκιμος. Με αυτόν τον όρο υπονοείται ότι απομακρύνονται οι μονοτερπενικοί υδρογονάνθρακες, αφήνοντας τους οξυγονωμένους και ενισχύοντας την ένταση της οσμής του ελαίου. Σε πολλές περιπτώσεις, όπου το concrete είναι μεγάλου ιξώδους, γίνεται διαλυτοποίηση σε διαλύτη υψηλού σημείου ζέσεως και στη συνέχεια συναπόσταξη του προϊόντος με αυτόν τον διαλύτη (Pybus, Sell, 1999).

**Μεταφορά μάζας**

Στην εκχύλιση ισχύει το παρακάτω ισοζύγιο μάζας:

$$F+S=E+R$$

Όπου

F=παροχή τροφοδότησης

S=παροχή διαλύτη

E=παροχή εκχυλίσματος

R=παροχή υπολείμματος

(Μαρίνος-Κουρής, Παρλιάρου-Τσάμη, 1994).

## **Χρωματογραφικές Τεχνικές Ανάλυσης (Πολυσίου, Ταραντίλης, 2007)**

Η χρωματογραφική ανάλυση είναι μια μέθοδος τεχνικών φυσικού διαχωρισμού συστατικών μίγματος. Ο διαχωρισμός πετυχαίνεται με κατανομή των συστατικών μεταξύ δύο φάσεων, μιας στατικής και μιας κινητής (φέρουσας) που βρίσκονται μέσα στην χρωματογραφική στήλη. Η αρχή της χρωματογραφίας είναι παρόμοια με αυτήν της εκχύλισης και της κλασματικής απόσταξης. Ουσίες που κατανέμονται περισσότερο στην κινητή φάση διαχωρίζονται διαδοχικά από άλλες που κατανέμονται στην στατική φάση.

Ο διαχωρισμός βασίζεται στις διαφορές των φυσικοχημικών ιδιοτήτων των συστατικών ενός μίγματος όπως είναι το σημείο ζέσεως, η πολικότητα, το μέγεθος των μορίων. Η κινητή φάση καθώς διέρχεται μέσα από την χρωματογραφική στήλη προκαλεί διαφορετική μετατόπιση των συστατικών του μίγματος επάνω στην στατική φάση, με αποτέλεσμα τον διαχωρισμό των συστατικών του μίγματος και την έξοδό τους από την στήλη σε διαφορετικούς χρόνους.

Στην έξοδο της στήλης υπάρχει σύστημα ανίχνευσης και καταμέτρησης της ποσότητας του κάθε συστατικού άρα έχουμε και ποσοτικό προσδιορισμό ενώ σε πολλές περιπτώσεις και ποιοτικό.

### ***Χρωματομετρικοί παράμετροι***

Συντελεστής κατανομής

Η ισορροπία κατανομής μιας ουσίας ανάμεσα στη στατική και κινητή φάση περιγράφεται με τον λόγο κατανομής της συγκέντρωσης

$$K = C_s / C_m$$

Όπου  $C_s$  = συγκέντρωση ουσίας στη στατική φάση

$C_m$  = συγκέντρωση ουσίας στην κινητή φάση

Όσο μεγαλύτερος είναι ο συντελεστής κατανομής μιας ουσίας τόσο βραδύτερα μετακινείται αυτή και τόσο αργότερα εξέρχεται. Με αυτόν τον τρόπο επιτυγχάνεται ο διαχωρισμός των συστατικών ενός μίγματος αφού εξ' αιτίας των διαφορετικών συντελεστών κατανομής αυτά κινούνται με διαφορετικές ταχύτητες μέσα στη στήλη και εξέρχονται από αυτήν σε διαφορετικούς χρόνους.



#### Χρόνος συγκράτησης $t_R$ (retention time)

Είναι ο χρόνος που μεσολαβεί μεταξύ της εισαγωγής του δείγματος και της εμφάνισης του μεγίστου κάθε κορυφής, δηλαδή της έκλουσης του κάθε συστατικού στο άλλο άκρο της στήλης.

#### Ύψος κορυφής $Y$

Είναι η απόσταση του μεγίστου της κορυφής από την βασική γραμμή του χρωμογραφήματος. Το εμβαδό της κάθε κορυφής (προσεγγιστικά βάση  $\times$  ύψος/2) είναι ανάλογο της συγκέντρωσης της αντίστοιχης ουσίας στο δείγμα που εξετάζεται.

#### Νεκρός όγκος (dead volume)

Όταν στην στήλη διέλθει αέρας ή άλλο αέριο το οποίο δεν συγκρατείται από αυτήν, η πρώτη κορυφή αντιπροσωπεύει τους ατμούς της στήλης. Η απόσταση (στο χρωματογράφημα) από την εισαγωγή του μείγματος ως το υψηλότερο σημείο της κορυφής του αέρα καλείται νεκρός όγκος.

#### Διαχωριστική ικανότητα

Το σπουδαιότερο χαρακτηριστικό μιας χρωματογραφικής στήλης είναι η ικανότητά της να διαχωρίζει τα συστατικά ενός μίγματος με παρόμοιο χημικό χαρακτήρα. Η δυνατότητα αυτή εκφράζεται με τον όρο διαχωριστική ικανότητα (resolution) και βελτιώνεται με:

Την αύξηση του  $\Delta t_r = t_1 - t_2$ . Επιτυγχάνεται με αύξηση του μήκους  $L$  της στήλης, αύξηση του ποσού της στατικής φάσης, επιλογή στατικής φάσης και κινητής φάσης.

Ελάττωση του πλάτους των κορυφών επιτυγχάνεται με χρήση περισσότερο ομοιόμορφου υλικού πλήρωσης, περισσότερο προσεκτικό γέμισμα της στήλης, χρήση μικρότερων σωματιδίων πλήρωσης, αύξηση του εμβαδού της μεσεπιφάνειας μεταξύ των δύο φάσεων, επιλογή βέλτιστης ταχύτητας ροής, ελάττωση του μεγέθους του δείγματος, της διαμέτρου της στήλης.

Για να έχουμε μεγαλύτερη απόσταση μεταξύ των κορυφών (να βελτιώσουμε την διαχωριστική ικανότητα) μπορούμε να μεταβάλλουμε την θερμοκρασία ή την φύση των φάσεων, να ελαττώσουμε το πλάτος των κορυφών.

### ***Αέρια χρωματογραφία***

Διακρίνεται σε Αέρια-Στερεή όταν η στατική φάση είναι στερεό και Αέρια-Υγρή όταν η στατική φάση είναι υγρό σε στερεό φορέα.

Στην Αέρια-Υγρή χρωματογραφία ο διαχωρισμός των συστατικών γίνεται επάνω σε μη πτητικό υγρό (στατική φάση) που είναι καθηλωμένο ομοιόμορφα επάνω σε αδρανές, πορώδες με μεγάλη επιφάνεια στερεό υλικό. Ο διαχωρισμός οφείλεται στην κίνηση των συστατικών μέσα στην στήλη με διαφορετικές ταχύτητες που εξαρτώνται από τις διαφορετικές τάσεις ατμών και αλληλεπιδράσεις τους με την στατική φάση (π.χ. διαλυτότητα στην υγρή φάση, αναλογία υγρής φάσεως προς αδρανές, χρόνος χρησιμοποιήσεως στασίμου φάσεως).

Πλεονεκτήματα της αέριοχρωματογραφίας είναι η μεγάλη ευαισθησία, η ταχύτητα. Τα συστατικά μπορούν να επανακτηθούν όπως στην μορφή τους στο αρχικό μίγμα. Η μέθοδος εφαρμόζεται σε πτητικές ενώσεις.

#### **Κινητή φάση**

Την αποτελεί το φέρον αέριο που πρέπει να είναι αδρανές να μην αντιδρά με την στατική φάση ή με τις προς διαχωρισμό ενώσεις και να είναι απαλλαγμένο από προσμείξεις. Χρησιμοποιούνται κυρίως το άζωτο  $N_2$ , το ήλιο  $He$ , το αργό  $Ar$ , το υδρογόνο  $H_2$ . Τροφοδοτείται από φιάλη εφοδιασμένη με βαλβίδα-ρυθμιστή πίεσεως, έτσι ώστε η ροή να είναι σταθερή. Η επιλογή του φέροντος αερίου γίνεται με βάση τον τύπο του χρησιμοποιούμενου ανιχνευτή.

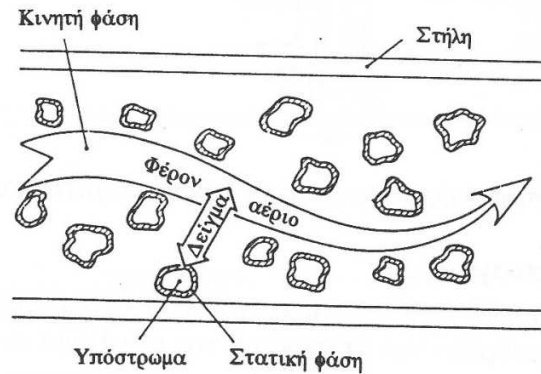
#### **Στατική φάση (Υγρή και Στερεή για την Αέρια-Υγρή χρωματογραφία)**

Η υγρή ταξινομείται σε τρεις κατηγορίες:

α) πολική, β) σχετικά πολική, γ) μη πολική

Η καταλληλότερη υγρή φάση είναι εκείνη η οποία είναι παρόμοιας πολικότητας με το δείγμα. Σε πολλές περιπτώσεις (συστατικά με το ίδιο σημείο ζέσεως αλλά

διαφορετική χημική σύσταση) ο διαχωρισμός επιτυγχάνεται με χρήση ως υγρά φάση ενώσεων με διαφορετική πολικότητα.



**Εικόνα 5.** Κινητή και στατική φάση

### **Η τεχνική της εκλούσεως**

Κατά την χρησιμοποίηση της τεχνικής αυτής το προς ανάλυση δείγμα εισάγεται στη στήλη παρασυρόμενο από συνεχές ρεύμα αδρανούς (φέροντος) αερίου. Κάθε συστατικό του μίγματος έχει διαφορετικό συντελεστή διαλυτότητας (κατανομής) και κατανέμεται κατά χαρακτηριστική αναλογία μεταξύ της αεριώδους φάσης (κινητής) και της στασιμότητας, με ταχύτητα ανάλογη του συντελεστή.

Σε συνθήκες συνθήκες τα συστατικά του μίγματος διαχωρίζονται και εκλούνται μεμονωμένα στην έξοδο της στήλης σε διαφορετικά χρονικά διαστήματα (Σκρουμπής, 1964).

### **Ανιχνευτής**

Είναι το όργανο που μετράει διαφορές στη σύσταση του υλικού το οποίο εκλούεται από την στήλη. Σήμερα χρησιμοποιούνται οι διαφορικοί ανιχνευτές λόγω μεγαλύτερης ευαισθησίας, όπου μετράται η συγκέντρωση κάθε συστατικού στο φέρον αέριο. Ένας συνήθης ανιχνευτής είναι ο ανιχνευτής ιονισμού φλόγας (Flame Ionisation Detector, FID).

Αποτελείται από τον καυστήρα αερίου στο άκρο του οποίου καίγεται μίγμα υδρογόνου παρουσία αέρα. Όταν εξέρχεται από την στήλη κάποιο συστατικό, αυτό καίγεται και παράγονται θετικά και αρνητικά ιόντα, τα οποία συλλέγονται από δύο

ηλεκτρόδια. Η κίνηση των ιόντων δημιουργεί ασθενές ηλεκτρικό ρεύμα, το οποίο καταγράφεται.

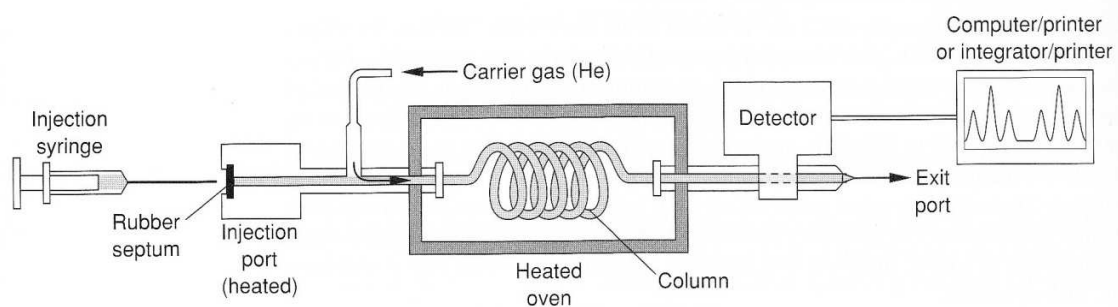
### **Επίδραση της θερμοκρασίας**

Η θερμοκρασία της στήλης μέσα στον κλίβανο διατηρείται σταθερή σε όλη την διάρκεια της ανάλυσης (ισόθερμη ανάλυση) ή μεταβάλλεται με βάση προκαθορισμένο πρόγραμμα (θερμοπρογραμματιζόμενη ανάλυση).

Στην ισόθερμη ανάλυση παρουσιάζεται η δυσκολία να αναλυθεί μείγμα με συστατικά διαφορετικών σημείων ζέσεως με μια δοκιμή. Σ' αυτήν την περίπτωση είναι απαραίτητο να χρησιμοποιηθεί μια μέση θερμοκρασία, έτσι όμως τα πολύ πτητικά συστατικά δεν διαχωρίζονται σωστά και τα λιγότερο πτητικά παρουσιάζουν κορυφές με μεγάλο πλάτος. Επίσης σε μεγάλες θερμοκρασίες πρακτικώς όλα τα συνήθη οργανικά υγρά (υγρή φάση, στάσιμη) γίνονται πτητικά και ασταθή, γεγονός που εντείνεται με την καταλυτική επίδραση του αδρανούς στερεού της στάσιμης φάσης. Στην περίπτωση πολικών υγρών η στερεοχημική εκλεκτικότητα ελαττώνεται επίσης.

Προκειμένου να ξεπεραστούν αυτά τα μειονεκτήματα η ανάλυση μπορεί να αρχίσει σε χαμηλή θερμοκρασία, για να διαχωριστούν καλλίτερα τα πτητικά και να αυξάνεται με συγκεκριμένο ρυθμό και μεγάλο εύρος, για να φτάσουν τα λιγότερο πτητικά στην έξοδο της στήλης ταχύτερα και με μικρότερο πλάτος στην βάση κάθε κορυφής (μεγαλύτερη ένταση, μικρότερος συνολικός χρόνος ανάλυσης). Έτσι βελτιώνεται η διαχωριστική ικανότητα της στήλης.

Επίσης ο ανιχνευτής πρέπει να είναι αρκετά θερμός ώστε τα συστατικά του δείγματος να μην συμπυκνώνονται μέσα σε αυτόν (Σκρουμπής, 1964).



**Εικόνα 6.** Σχηματική διάταξη αέριου χρωματογράφου

## Φασματογραφία Μάζας

Πρόκειται για μία σύγχρονη μέθοδο ταυτοποίησης ουσιών, κατά την οποία ηλεκτρόνια σχετικά υψηλής ενεργειακής στάθμης προσκρούουν σε μόρια μιας ένωσης, που βρίσκεται στην αέρια φάση και παράγουν ιόντα με θετικό συνήθως φορτίο. Τα παραγόμενα ιόντα διαχωρίζονται στη συνέχεια με βάση το λόγο της μάζας προς το φορτίο τους,  $m/e$ . Παρουσιάζει αυξημένη ευαισθησία και υψηλή ικανότητά για ταυτοποίηση ουσιών.

### Οργανολογία

Ένας φασματογράφος μάζας αποτελείται από τα ακόλουθα τμήματα: α) το σύστημα εισαγωγής δείγματος, β) το θάλαμο παραγωγής ιόντων, γ) τον αναλυτή μαζών, δ) τον ανιχνευτή – συλλέκτη ιόντων, ε) τον ενισχυτή και στ) τον καταγραφέα.

### Ερμηνεία φασμάτων μάζας

Με την ερμηνεία των φασμάτων μάζας επιτυγχάνεται η ταυτοποίηση πολύπλοκων ενώσεων.

Το πρώτο ιόν που ταυτοποιείται είναι το μοριακό ιόν. Από την κορυφή του μοριακού ιόντος και των ισοτοπικών κορυφών του υπολογίζεται το μοριακό βάρος της ουσίας. Το σχετικό ύψος της μητρικής κορυφής ελαττώνεται κατά τη σειρά:

αρωματικές ενώσεις > συζυγείς ολεφίνες > αλικυκλικές > θειαιθέρες > κανονικοί υδρογονάνθρακες > μερκαπτάνες > κετόνες > αμίνες > εστέρες > αιθέρες > καρβοξυλικά οξέα > διακλαδισμένοι υδρογονάνθρακες > αλκοόλες

Βασική κορυφή λέγεται η μεγαλύτερη κορυφή που παρατηρείται και βάσει της οποίας μετρούνται τα ύψη των άλλων κορυφών.

### GC-MS

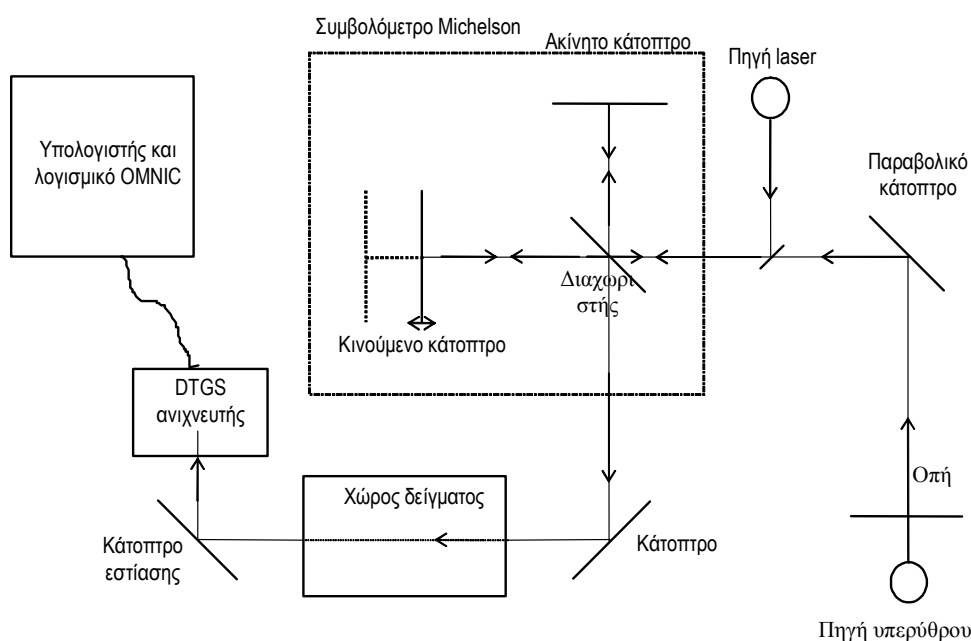
Ο συνδυασμός φασματομετρίας μαζών και αέριας χρωματογραφίας GC-MS αποτελεί ένα πολύ ισχυρό μέσο ταυτοποίησης πολύπλοκων μιγμάτων. Ο αέριος χρωματογράφος (GC) χρησιμοποιείται για το διαχωρισμό των ουσιών, ενώ το φασματόμετρο μαζών (MS) χρησιμεύει για την ταυτοποίησή τους. Η τεχνική GC-MS αποτελεί ίσως το καλύτερο αναλυτικό εργαλείο για την ταυτοποίηση και ποσοτικό προσδιορισμό των πτητικών ουσιών.

## Φασματοσκοπία FT-IR

Η υπέρυθη φασματοσκοπία με μετασχηματισμό Φουριέρ, (Fourier Transform Infrared Spectroscopy FT-IR), είναι μία από τις πιο σημαντικές σύγχρονες φασματοσκοπικές τεχνικές με πολλές εφαρμογές. Τα φάσματα λαμβάνονται σχετικά εύκολα και στη συνέχεια συγκρίνονται, είτε ολόκληρα, είτε ορισμένες ταινίες απορρόφησής τους με άλλα γνωστά. Με τον τρόπο αυτό, είναι δυνατή, σε συνδυασμό με άλλες τεχνικές, η ταυτοποίηση αγνώστων οργανικών ουσιών, αλλά και η πιστοποίηση της καθαρότητάς τους. Για το λόγο αυτό, η τεχνική αυτή χρησιμοποιείται πολύ συχνά στην οργανική και φαρμακευτική χημεία, στη φαρμακογνωσία και στην ανάλυση φυσικών προϊόντων, φαρμάκων, τροφίμων, πετρελαιοειδών, πολυμερών κ.α. Βρίσκει εφαρμογή σε όλες τις κλάσεις χημικών ενώσεων από τις πιο απλές μέχρι τις πιο σύνθετες.

### Οργανολογία FT-IR

Ένα τυπικό φασματοφωτόμετρο FT-IR, αποτελείται από τα εξής κύρια τμήματα: α) την πηγή υπέρυθρης ακτινοβολίας, β) την πηγή λέιζερ, γ) το συμβολόμετρο Michelson και δ) τον ανιχνευτή. Στο σχήμα 8 φαίνεται το σχηματικό διάγραμμα του φασματοφωτομέτρου FT-IR της εταιρείας Nicolet (750 Magna series).



**Σχήμα 6.** Σχηματικό διάγραμμα φασματοφωτομέτρου FT-IR της εταιρείας Nicolet (750 Magna series).

**A) Πηγή ακτινοβολίας**

Η λυχνία νικελίου – χρωμίου (Nicrome) είναι η πιο διαδεδομένη πηγή ακτινοβολίας για συστήματα μικρού κόστους. Είναι μικρής ισχύος και αερόψυκτη. Η θερμοκρασία που αναπτύσσει είναι 1200 – 1250°C και εκπέμπει συνεχή ακτινοβολία στην περιοχή του μέσο - υπέρυθρου. Τα μειονεκτήματα της πηγής αυτής είναι ότι έχει μικρή σταθερότητα και σχετικά μικρή περίοδο ζωής.

**B) Πηγή λέιζερ**

Η παραγωγή της ακτίνας λέιζερ γίνεται με τη διέγερση ατόμων ηλίου και νέου (HeNe).

**Γ) Συμβολόμετρο Michelson**

Τα φασματοφωτόμετρα FT-IR είναι χωρίς επιλογέα μήκους κύματος, αλλά η λειτουργία τους στηρίζεται στο φαινόμενο της συμβολής με τη βοήθεια ενός συμβολομέτρου Michelson. Το συμβολόμετρο αποτελείται από μία ημιδιαφανή πλάκα, (το διαχωριστή δέσμης), κατασκευασμένη από βρωμιούχο κάλιο, που δεν απορροφά στο υπέρυθρο, και δύο κάτοπτρα. Το ένα είναι σταθερό και το άλλο κινείται με σταθερή ταχύτητα.

**Δ) Ανιχνευτής**

Ο σκοπός του ανιχνευτή είναι να ανιχνεύσει την υπέρυθρη ακτινοβολία, που έχει περάσει μέσα από το δείγμα. Ένας από τους πιο συνηθισμένους τύπους ανιχνευτή, τον οποίο διαθέτει και το φασματοφωτόμετρο FT-IR της Nicolet (750 Magna series), είναι ο θερμικός, ο οποίος είναι κατασκευασμένος από δευτεριωμένη θειική τριγλυκίνη (Deuterated TriGlycine Sulfate, DTGS). Η λειτουργία του ανιχνευτή αυτού στηρίζεται στην αύξηση της θερμοκρασίας του, όταν δέχεται υπέρυθρη ακτινοβολία. Η αύξηση αυτή της θερμοκρασίας δημιουργεί μια διαφορά δυναμικού. Οποιαδήποτε διακύμανση της ενέργειας της υπέρυθρης ακτινοβολίας, λόγω απορρόφησης από το δείγμα, εκφράζεται από τον ανιχνευτή σαν μεταβολή τάσης και με τη μορφή αυτή την στέλνει στη συνέχεια στον ηλεκτρονικό υπολογιστή.

Ανιχνευτές αυτού του είδους έχουν τα πλεονεκτήματα ότι λειτουργούν σε μεγάλη περιοχή του υπέρυθρου, παράγουν μικρό «θόρυβο» και δε χρειάζονται ψύξη. Τα μειονεκτήματά τους είναι η σχετικά μικρή ευαισθησία τους και ο σχετικά μεγάλος χρόνος απόκρισής τους.

### ***Τρόπος λειτουργίας***

Η πηγή εκπέμπει υπέρυθη ακτινοβολία η οποία μέσω ενός παραβολικού κατόπτρου προσπίπτει στο διαχωριστή δέσμης. Εκεί διαχωρίζεται σε δύο δέσμες, που η μία τον διαπερνά και προσπίπτει στο κινούμενο κάτοπτρο και η άλλη κατευθύνεται στο ακίνητο. Οι δύο δέσμες επιστρέφουν στο διαχωριστή δέσμης, όπου λαμβάνει χώρα το φαινόμενο της συμβολής και προκύπτει μια συνελιγμένη δέσμη.

Η πηγή εκπέμπει μια σειρά από συχνότητες μονοχρωματικής ακτινοβολίας ( $\nu_1$ ,  $\nu_2$ , ...), οι οποίες ακολουθώντας την παραπάνω διαδικασία δημιουργούν ένα περίπλοκο σήμα: τη συνολική συνελιγμένη δέσμη, που αποτελείται από ένα μίγμα ακτινοβολιών.

Η συνολική συνελιγμένη δέσμη ακτινοβολίας μέσω κατόπτρου, εισέρχεται στο χώρο του δείγματος. Από το δείγμα απορροφώνται ολικά ή μερικά ορισμένες συχνότητες και έπειτα η δέσμη εξέρχεται, εστιάζεται σε ειδικό κάτοπτρο και κατευθύνεται προς τον ανιχνευτή. Στον ανιχνευτή προκαλείται μεταβολή στη θερμοκρασία του, με αποτέλεσμα τη μεταβολή της διαφοράς δυναμικού. Η μεταβολή της τάσης μετατρέπεται από αναλογικό σε ψηφιακό σήμα για να αναγνωριστεί από τον υπολογιστή και με τη βοήθεια του λογισμικού (OMNIC 7.1), λαμβάνεται το συμβολόγραμμα. Το συμβολόγραμμα υφίσταται μετασχηματισμό Fourier και τελικά εμφανίζεται σαν τυπικό φάσμα FT-IR.

Τα φασματοφωτόμετρα FT-IR μπορούν με τη χρήση του συμβολόμετρου, να εξετάζουν ταυτόχρονα πολλά σημεία του φάσματος. Η διαδικασία αυτή γίνεται σε 10 - 20 sec και επαναλαμβάνεται συνήθως 20 - 100 φορές. Το τελικό φάσμα προκύπτει από το μέσο όρο των επαναλήψεων, (σαρώσεων), που έχουν γίνει. Με αυτόν τον τρόπο, όταν αυξάνεται ο αριθμός των επαναλήψεων, ο «θόρυβος» μειώνεται και οι εντάσεις των απορροφήσεων βελτιώνονται σε μεγάλο βαθμό.

Η καταγραφή φασμάτων με το μετασχηματισμό Fourier παρουσιάζει, εκτός από την υψηλή ταχύτητα καταγραφής, τα πλεονεκτήματα της υψηλής διαχωριστικής ικανότητας και του χαμηλού «θορύβου». Επιπλέον, μπορούν να αφαιρεθούν ή να



προστεθούν δύο φάσματα, να μεγεθυνθεί τμήμα του φάσματος, να διορθωθεί η βασική γραμμή κ.λπ. Αρνητικοί παράγοντες για την ποιότητα των FT-IR φασμάτων είναι: α) η υγρασία του δείγματος και β) η υγρασία του χώρου τοποθέτησης του δείγματος. Η υγρασία του δείγματος πρέπει να είναι όσο το δυνατόν χαμηλότερη. Αυτό το πρόβλημα μπορεί να ξεπεραστεί με την τεχνική της λυοφιλίωσης των δειγμάτων. Η υγρασία του χώρου του δείγματος μειώνεται με την τοποθέτηση σε αυτόν αφυδραντικών (π.χ. silica gel) ή με τη διαβίβαση ξηρού αέρα ή αζώτου.

Επειδή στο χώρο των οργάνων υπάρχει ατμοσφαιρικός αέρας, το φάσμα καταγράφει και εκείνα τα αέρια συστατικά που απορροφούν στο υπέρυθρο (κυρίως υδρατμοί και διοξείδιο του άνθρακα). Γι' αυτό, πριν από τη λήψη του φάσματος του δείγματος, καταγράφεται φάσμα αναφοράς (background). Το φάσμα αναφοράς λαμβάνεται με τον υποδοχέα του δείγματος χωρίς δείγμα, αλλά περιέχοντας σκόνη βρωμιούχου καλίου ή το διαλύτη διάλυσης του δείγματος ή μόνον τον ατμοσφαιρικό αέρα. Το φάσμα αναφοράς στη συνέχεια, με τη βοήθεια του λογισμικού, αφαιρείται αυτόματα από το συνολικό φάσμα.

Πριν από την καταγραφή φασμάτων πρέπει να γίνεται ευθυγράμμιση των οπτικών μερών του φασματοφωτομέτρου. Η διαδικασία αυτή γίνεται αυτόματα μέσω του λογισμικού του οργάνου. Η ευθυγράμμιση έχει σκοπό κυρίως να είναι ίσες οι γωνίες, που σχηματίζει ο διαχωριστής δέσμης με το κινούμενο και το ακίνητο κάτοπτρο.

#### **Λόγος σήματος προς θόρυβο (Signal-to-Noise Ratio, RSN)**

Η ποιότητα ενός φάσματος καθώς και η αξιολόγησή του εξαρτάται από τον "θόρυβο" που παρουσιάζει. Ως «θόρυβος» ορίζονται εκείνα τα σήματα, τα οποία δεν αντιστοιχούν σε πραγματικές απορροφήσεις του δείγματος, αλλά σε άλλους λόγους. Για να αξιολογηθούν τα σήματα χρησιμοποιείται ο όρος «λόγος σήματος προς θόρυβο», RSN.

Οι κυριότερες αιτίες που δημιουργούν θόρυβο είναι α) η κατάσταση του δείγματος, το οποίο όταν είναι σε στερεά κατάσταση ή δεν έχει διαλυθεί πλήρως στο διαλύτη, διαχέει ένα μέρος της ακτινοβολίας, β) στην πηγή, γ) στο συμβολόμετρο, δ) στον ανιχνευτή, ε) στην ψηφιοποίηση του αναλογικού σήματος (αποδισμός), στ) στην

υψηλή διαχωριστική ικανότητα που έχει ζητηθεί και ζ) σε διάφορους θορύβους ηλεκτρονικής ή άλλης φύσης.

Το λογισμικό που υποστηρίζει όλα τα φασματοφωτόμετρα FT-IR, υπολογίζει το RSN με τη χρήση αλγορίθμων. Αυτό βοηθά στον προσδιορισμό μιας κορυφής, μικρής έντασης, αν είναι πραγματική κορυφή, δηλαδή κορυφή που οφείλεται στο δείγμα, ή πρόκειται για θόρυβο.

### ***Επεξεργασία των φασμάτων FT-IR***

Οι συνηθέστερες επεξεργασίες που γίνονται στα FT-IR φάσματα είναι η εξομάλυνση του σήματος και η διόρθωση της βασικής γραμμής. Οι επεξεργασίες αυτές στοχεύουν στη βελτίωση της του φάσματος και βοηθούν στους ποιοτικούς και ποσοτικούς προσδιορισμούς.

#### **A) Αυτόματη εξομάλυνση**

Με την εξομάλυνση δεν εξαλείφεται ο θόρυβος, αλλά μειώνεται σε μεγάλο βαθμό με τη βοήθεια μίας μαθηματικής επεξεργασίας, χωρίς να αλλοιώνεται η εικόνα του φάσματος, με αποτέλεσμα να βελτιώνεται ο λόγος RSN.

Με τη χρήση ενός αλγορίθμου, ο οποίος χρησιμοποιεί ένα πολυωνυμικό μοντέλο, τις πληροφορίες για το RSN κάποιων επιλεγμένων σημείων και με τη μέθοδο των ελαχίστων τετραγώνων, γίνεται προσαρμογή της καμπύλης του φάσματος. Η λειτουργία «αυτόματη εξομάλυνση» του λογισμικού Omnic 7.1 της εταιρείας Nicolet, εκτελεί αυτόματα την παραπάνω διεργασία.

#### **B) Διόρθωση βασικής γραμμής**

Η βασική γραμμή των φασμάτων FT-IR συνήθως αποτελείται και από σημεία των οποίων η ένταση δεν είναι μηδέν, γι' αυτό είναι απαραίτητο να γίνει διόρθωσή της. Η διόρθωση της βασικής γραμμής δε γίνεται μόνον για λόγους εμφάνισης των φασμάτων, αλλά είναι αναγκαία όταν πρόκειται να συγκριθούν δύο φάσματα ή να χρησιμοποιηθούν για ποσοτική ανάλυση.

Η διόρθωση της βασικής γραμμής γίνεται με αυτόματη διαδικασία από το λογισμικό Omnic 7.1.

**Τεχνικές προετοιμασίας δείγματος για λήψη φάσματος**

α) Υγρές ουσίες: 1-2 σταγόνες μεταξύ διαφανών πλακιδίων (παράθυρα) από υλικά που δεν απορροφούν στην περιοχή από 4000 - 600  $\text{cm}^{-1}$ . Τέτοια υλικά είναι τα NaCl, KBr, ZnSe κ.ά.

β) Στερεές ουσίες: α) Σε μορφή διαλύματος χρησιμοποιώντας κυψελίδες. β) Σε στερεή μορφή δισκίων. 1-2 mg ουσίας αναμειγνύονται με 100-150 mg KBr, πιέζονται σε υδραυλική πρέσα για τη δημιουργία στερεού δισκίου.

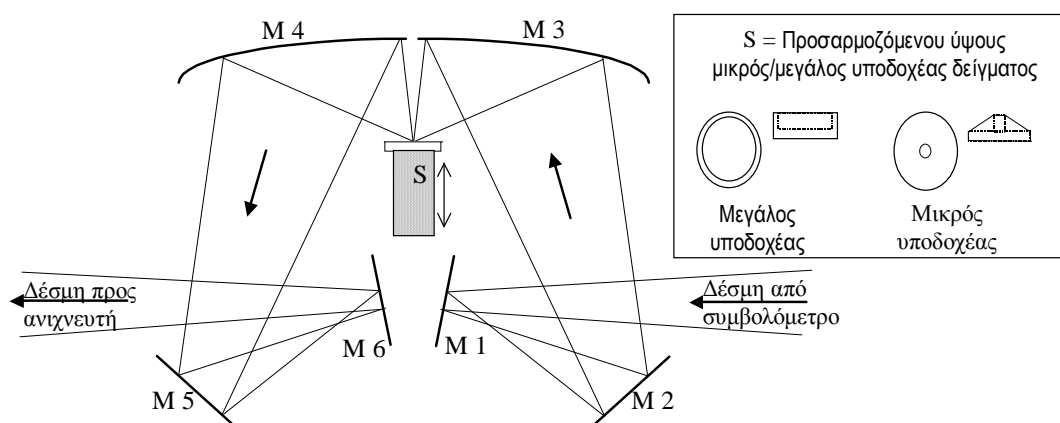
γ) Αέρια: Τα δείγματα αερίων μετρούνται σε κυψελίδες, με κατάλληλα κάτοπτρα για πολλαπλές ανακλάσεις, με μεγάλη οπτική διαδρομή και υπό πίεση.

δ) Λήψη φάσματος FT-IR με την τεχνική της διάχυτης ανάκλασης (Diffuse Reflectance Fourier Transformed Infrared spectroscopy - DRIFT)

ε) Λήψη φάσματος FT-IR με την τεχνική της εξασθενημένης ολικής ανάκλασης (Attenuated Total Reflectance spectroscopy, ATR).

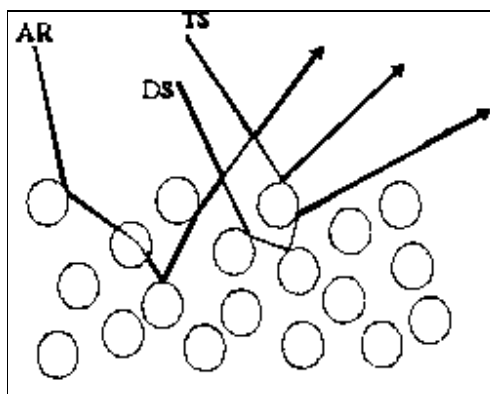
ζ) Λήψη φάσματος FT-IR με την τεχνική της διάχυτης ανάκλασης (Diffuse Reflectance Fourier Transformed Infrared spectroscopy - DRIFT)

Η φασματοσκοπία διάχυτης ανάκλασης είναι μία από τις τεχνικές λήψης FT-IR φασμάτων από δείγματα σε στερεά κατάσταση, συνήθως σε μορφή σκόνης. Για τη λήψη των φασμάτων χρησιμοποιείται ειδικό εξάρτημα για την υποδοχή του δείγματος (Σχήμα 7). Το εξάρτημα αυτό διαθέτει 6 κάτοπτρα. Τα κάτοπτρα M1, M2 και M3 εστιάζουν τη δέσμη της ακτινοβολίας που έρχεται από το συμβολόμετρο επάνω στο δείγμα, ενώ τα M4, M5 και M6 εστιάζουν την ανακλώμενη ακτινοβολία από το δείγμα προς τον ανιχνευτή. Ο χώρος όπου τοποθετείται το δείγμα (υποδοχέας) μπορεί να είναι δύο μεγεθών. Ο μεγαλύτερος έχει διάμετρο 13 mm και ύψος 2 mm ενώ ο μικρός 3 και 2 mm αντίστοιχα.



**Σχήμα 7.** Εξάρτημα με υποδοχέα δείγματος για τη λήψη φασμάτων υπέρυθρου με τη τεχνική της διάχυτης ανάκλασης (DRIFT)

Όταν η υπέρυθρη ακτινοβολία προσπέσει στην επιφάνεια του υλικού ένα τμήμα της ανακλάται (ή διαχέεται), ένα τμήμα διαθλάται και ένα τμήμα περιθλάται. Ουσιαστικά η ανάκλαση είναι το φαινόμενο στο οποίο στηρίζεται η τεχνική DRIFT. Όμως η υπέρυθρη ακτινοβολία υπόκειται σε τριών ειδών ανακλάσεις. Την απορροφητική, τη διαχυτική και την αληθινή ανάκλαση (Σχήμα 8).



**Σχήμα 8.** Τα τρία είδη ανάκλασης υπέρυθρης ακτινοβολίας σε στερεό δείγμα με μορφή σκόνης (AR: απορροφητικά ανακλώμενη, DS: διαχυτικά ανακλώμενη, TS: αληθινά ανακλώμενη)

Από τα τρία αυτά είδη ανάκλασης μόνον η απορροφητική περιέχει πληροφορίες για το δείγμα. Το μέρος της ακτινοβολίας που θα απορροφηθεί και στη συνέχεια θα ανακλαστεί, δηλαδή η απορροφητική ανάκλαση, εξαρτάται από:

- α) το μέγεθος των σωματιδίων του δείγματος,

β) τη μετωπική επιφάνεια και την πυκνότητα πακεταρίσματος του δείγματος στον υποδοχέα

γ) το δείκτη διάθλασης του δείγματος καθώς και από

δ) τη γωνία πρόσπτωσης της ακτινοβολίας επάνω στο δείγμα.

Επιπλέον είναι άμεσα συνδεδεμένη με τη συλλογή και τη διοχέτευση της ακτινοβολίας αυτής στον ανιχνευτή.

Το μέγεθος των σωματιδίων του δείγματος είναι καθοριστικός παράγοντας για την ποιότητα του φάσματος που θα ληφθεί. Όταν το μέγεθος των σωματιδίων είναι μεγάλο επικρατεί το φαινόμενο σκέδασης της ακτινοβολίας με αποτέλεσμα να αυξάνεται σημαντικά ο θόρυβος και να μειώνεται το ποσό της ακτινοβολίας που διεισδύει μέσα στο δείγμα και ως εκ τούτου να μειώνεται και η ένταση των απορροφήσεων. Όσο μειώνεται το μέγεθος των σωματιδίων που απαρτίζουν τη σκόνη, αυξάνει η ένταση των κορυφών και μειώνεται αισθητά ο θόρυβος. Ιδανικό είναι το μέγεθος το οποίο είναι μικρότερο του μήκους κύματος της ακτινοβολίας που χρησιμοποιείται. Όμως αυτό εξαρτάται από τη φύση του δείγματος και δεν μπορεί αρκετές φορές να αποκτηθεί.

Η ομαλότητα της μετωπικής επιφάνειας του δείγματος, στον υποδοχέα, μειώνει αισθητά το θόρυβο. Η ομαλότητα εξαρτάται από τη φύση του δείγματος, το μέγεθος των σωματιδίων και τον τρόπο τοποθέτησης του δείγματος. Τα στιλπνά υλικά δημιουργούν προβλήματα διότι σημαντικό μέρος της προσπίπτουσας ακτινοβολίας ανακλάται.

Η πυκνότητα του πακεταρίσματος του δείγματος ουσιαστικά εξαρτάται από την πίεση που ασκείται σε αυτό κατά την τοποθέτησή του στον υποδοχέα. Ουσιαστικές μεταβολές υπάρχουν όταν ασκούνται υπερβολικά μεγάλες πιέσεις, γιατί τότε αλλάζει ο δείκτης διάθλασης του δείγματος.

Ο υποδοχέας του δείγματος ρυθμίζεται κατά μήκος και κατά ύψος. Με τον τρόπο αυτό μεταβάλλεται η γωνία πρόσπτωσης και βελτιστοποιείται η εστίαση της προσπίπτουσας ακτινοβολίας στο δείγμα. Αυτό επιβεβαιώνεται από τη μεγιστοποίηση του σήματος IR στην οθόνη του υπολογιστή.

Η μέθοδος DRIFT χρησιμοποιείται όλο και περισσότερο τα τελευταία χρόνια γιατί είναι απλή, πάρα πολύ γρήγορη και δεν απαιτεί προηγούμενη κατεργασία του δείγματος. Η λήψη των φασμάτων γίνεται είτε με σκέτο το δείγμα είτε με ανάμειξη σε αναλογία συνήθως 1:100 με βρωμιούχο κάλιο ή χλωριούχο κάλιο. Όταν εξετάζονται μείγματα, ιδιαίτερη προσοχή πρέπει να δίνεται στην ομογενοποίηση τους.

## Κυκλοδεξτρίνες και προϊόντα εγκλεισμού

### Τι είναι οι κυκλοδεξτρίνες

Οι κυκλοδεξτρίνες αποτελούν μια οικογένεια τριών ευρέως γνωστών παραγόμενων κυκλικών ολιγοσακχαριτών και κάποιων λιγότερο γνωστών.

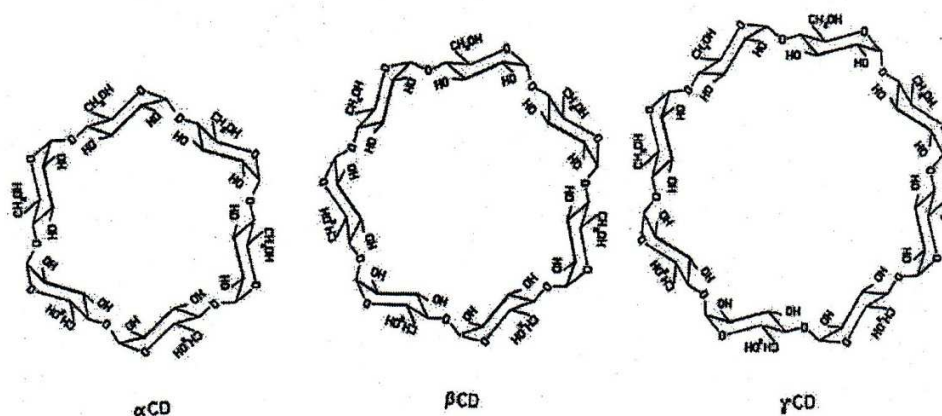
Οι τρεις κύριες κυκλοδεξτρίνες είναι κρυσταλλικές, ομογενείς, μη υγροσκοπικές ουσίες, οι οποίες αποτελούνται από μακρο-δακτύλιους σε σχήμα τόρου με μονάδες γλυκοπυρανόζης. Η α-κυκλοδεξτρίνη αποτελείται από 6 μονάδες γλυκοπυρανόζης, η β-κυκλοδεξτρίνη από 7 μονάδες και η γ-κυκλοδεξτρίνη από 8 μονάδες. Υφίσταται ο συστηματισμός  $^4C_1$  των γλυκοπυρανοζικών μονάδων και ως αποτέλεσμα, όλες οι δευτεροταγείς υδροξυλομάδες βρίσκονται από την πλευρά του δακτυλίου και όλες οι πρωτοταγείς από την άλλη πλευρά. Ο δακτύλιος στην πραγματικότητα είναι κωνικός κύλινδρος ή χαρακτηριστικά κόλουρος κώνος. Η κοιλότητα οριοθετείται από άτομα υδρογόνου και γλυκοζιτικές γέφυρες οξυγόνου. Τα μη δεσμικά ζεύγη ηλεκτρονίων των γλυκοζιτικών γεφυρών οξυγόνου κατευθύνονται προς το εσωτερικό της κοιλότητας έχοντας υψηλή ηλεκτρονιακή πυκνότητα και προσδίδοντας χαρακτήρα μιας κατά Lewis βάσης. Η ομάδα C-2-OH μιας γλυκοπυρανοζικής μονάδας μπορεί να δημιουργήσει δεσμό υδρογόνου με την γειτονική ομάδα C-3-OH. Στο μόριο της β-κυκλοδεξτρίνης δημιουργείται μια δευτεροταγής ζώνη από τετοιους δεσμούς υδρογόνου και έτσι η β-κυκλοδεξτρίνη έχει μια δομή ανελαστική. Αυτή είναι μια πιθανή ερμηνεία της χαμηλής διαλυτότητας της β-κυκλοδεξτρίνης.

Στο μόριο της α-κυκλοδεξτρίνης η ζώνη των δεσμών υδρογόνου είναι ατελής, επειδή μια γλυκοπυρανοζική μονάδα είναι σε θέση κάμψης. Κατά συνέπεια στη θέση των 6 πιθανών δεσμών υδρογόνου, 4 μπορούν να είναι αποδεκτοί.

Το μόριο της γ-κυκλοδεξτρίνης διαθέτει πιο ελαστική δομή, γι' αυτό είναι το πιο διαλυτό από τις τρεις κυκλοδεξτρίνες.

Οι κυκλοδεξτρίνες είναι τα πιο ευρέως γνώστα μόρια που σχηματίζουν σύμπλοκα ξενιστή-ξενιζόμενου μορίου. Στο τέλος του 20ου αιώνα άρχισαν να χρησιμοποιούνται βιομηχανικά, σε ποσότητες χιλιάδων τόννων. Η ανάπτυξη της τεχνολογίας των κυκλοδεξτρινών, οφείλεται σε λόγους όπως:

- Είναι ημι-φυσικά προϊόντα παραγόμενα από φυσικό υλικό, το άμυλο, με απλή ενζυμική μετατροπή.
- Το αρχικά υψηλό κόστος παρασκευής τους έπεσε σε επίπεδα αποδεκτά για τις βιομηχανίες.
- Η συμπλοκοποίηση χρησιμοποιείται ευρέως σε βιομηχανικά προϊόντα, τεχνολογίες και αναλυτικές μεθόδους (Szejtli, 2004)



Σχήμα 9. Χημική δομή α-,β-,γ-κυκλοδεξτρίνης

### Παράγωγα κυκλοδεξτρίνης

Στις κυκλοδεξτρίνες κάθε μονάδα γλυκοπυρανόζης έχει τρεις ελεύθερες ομάδες υδροξυλίου που διαφοροποιούνται ως προς την δραστηρότητά τους. Οι σχετικές δραστηρότητες των C(2) και C(3)δευτεροταγών και C(6) πρωτοταγών υδροξυλίων εξαρτώνται από τις συνθήκες αντίδρασης (pH, θερμοκρασία, αντιδραστήρια).

Ο σκοπός της παρασκευής παραγώγων είναι:

- για να βελτιωθεί η διαλυτότητα αυτών των παραγώγων κυκλοδεξτρίνης καθώς και των συμπλόκων τους
- για να βελτιωθεί η συναρμογή ανάμεσα στις κυκλοδεξτρίνες και τα ξενιζόμενα μόρια καθώς και η σταθεροποίηση των συμπλόκων τους
- για να προσελκύσουν ειδικευμένες καταλυτικές ομάδες στην ενεργή πλευρά (π. χ. Στην ενζυμική μοντελοποίηση)
- για να σχηματιστούν ακινητοποιημένες κυκλοδεξτρίνες σε δομές πολυμερών π.χ. για εφαρμογή στην χρωματογραφία.



Μόνο λίγα παράγωγα κυκλοδεξτρινών λαμβάνονται για βιομηχανική σύνθεση και χρήση. Από τις β-κυκλοδεξτρίνες, οι πιο σημαντικές είναι οι ετερογενείς, άμορφες, με μεγάλη υδατοδιαλυτότητα, μεθυλιωμένες-β-κυκλοδεξτρίνες και οι 2-υδροξυπροπυλιωμένες-β-κυκλοδεξτρίνες. Αυτά τα προϊόντα δεν κρυσταλλώνονται που είναι σημαντικό προτέρημα π.χ. για την παραγωγή υγρών φαρμάκων.

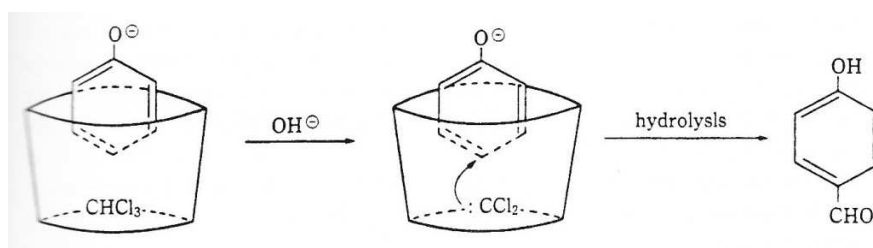
Η μεθυλιωμένη β-κυκλοδεξτρίνη είναι περισσότερο υδροφοβική από την β-κυκλοδεξτρίνη, παρόλο που σχηματίζει πιο σταθερά και διαλυτά σύμπλοκα με την χοληστερόλη (Szejtli, 2004).

Μια μερικώς μεθυλιωμένη β-κυκλοδεξτρίνη, η επτάκις (2,6-δι-Ο-μεθυλ)β-κυκλοδεξτρίνη, ή DIMEB είναι προϊόν κρυσταλλικό. Είναι εντελώς διαλυτή στο κρύο νερό και αδιάλυτη στο ζεστό.

Για ευρύτερη βιομηχανική παραγωγή, χρησιμοποιείται η πιο φθηνή σποραδικά μεθυλιωμένη β-κυκλοδεξτρίνη ή RAMEB.

Η επτάκις-σουλφοβουτύλ-β-κυκλοδεξτρίνη, είναι πολύ διαλυτή στο νερό και μη κρυσταλλική και χρησιμοποιείται ως παράγων χειρόμορφου διαχωρισμού στην τριχοειδή ηλεκτροφόριση, καθώς και ως παρεντερικός φορέας φαρμάκων, για την παρασκευή υδατικών ενέσιμων διαλυμάτων, φαρμάκων ελάχιστα διαλυτών (Szejtli, 2004).

Οι σουλφοεστέρες των κυκλοδεξτρινών μειώνουν την παροχή αίματος σε κακοήθεις ιστούς, παρεμποδίζοντας το σχηματισμό νέων αρτηριών (Szejtli, 2004).



**Σχήμα 10.** Μηχανισμός κατάλυσης με χρήση κυκλοδεξτρίνης

### Υδρόφιλες και υδρόφοβες κυκλοδεξτρίνες

Υδρόφιλες κυκλοδεξτρίνες είναι ορισμένα παράγωγα όπως η μεθυλιωμένη β-κυκλοδεξτρίνη, η υδροξυπροπυλική β-κυκλοδεξτρίνη, η διακλαδωμένη β-

κυκλοδεξτρίνη. Έχουν αποσπάσει ιδιαίτερη προσοχή λόγω του ότι η διαλυτότητά τους στο νερό είναι υπερβολικά υψηλή συγκρινόμενη με εκείνη της απλής β-κυκλοδεξτρίνης.

Τρεις τύποι είναι οι πιο γνωστοί: η σποραδικά-μεθυλιωμένη β-κυκλοδεξτρίνη (ή RAMEB) η 2,6-δι-Ο-μεθυλ-β-κυκλοδεξτρίνη (ή DIMEB) και η 2,3,6-per-Ο-μεθυλ-β-κυκλοδεξτρίνη (ή TRIMEB), όπου η διαλυτότητα εξαρτάται από τον αριθμό των μεθυλικών ομάδων που είναι προσκολλημένες σε κάθε γλυκοζιτική μονάδα (συνολικός μέσος όρος υποκατάστασης).

Όταν οι ομάδες υδροξυλίου των κυκλοδεξτρινών υποκατασταθούν από αιθυλικές, ακετυλικές ή μακρύτερες ακυλικές ομάδες (C1-C12), η διαλυτότητα των νέων κυκλοδεξτρινών στο νερό μειώνεται, αναλογικά προς το μήκος των αλύσων των ομάδων αυτών. Συμπυκνωμένα διαλύματα τριακυλιωμένων β-κυκλοδεξτρινών σε οργανικούς διαλύτες είναι κολλώδη, με μεγάλο ιξώδες και η ζελοποίηση λαμβάνει χώρα μετά από εξάτμιση των διαλυτών. Οι ιδιότητες αυτές, θα ήταν χρήσιμες για έναν φορέα αργής απελευθέρωσης (slow-release carrier) υδατοδιαλυτών φαρμάκων με σύντομο χρόνο βιολογικής ζωής. Οι μακρύτερες ακυλικές αλύσοι, σχετίζονται ωστόσο με την ικανότητα των τριακυλιωμένων β-κυκλοδεξτρινών να σχηματίσουν σύμπλοκα εγκλεισμού (Dodziuk, 2006).

### ***Σύμπλοκα εγκλεισμού των κυκλοδεξτρινών***

Σε ένα υδατικό διάλυμα η ελαφρώς απολική κοιλότητα της κυκλοδεξτρίνης καταλαμβάνεται από μόρια ύδατος που είναι αδρανή (σχέση πολικού-μη πολικού) και μπορούν άμεσα να υποκατασταθούν από κατάλληλα ξενιζόμενα μόρια που είναι λιγότερο πολικά από το νερό.

Η διαλυμένη κυκλοδεξτρίνη είναι το μόριο του ξενιστή και μέρος της ωθούσας δύναμης σχηματισμού του συμπλόκου είναι η υποκατάσταση των μορίων ύδατος «υψηλής ενθαλπίας» από το κατάλληλο ξενιζόμενο μόριο. Ένα, δύο ή και τρία μόρια κυκλοδεξτρίνης περιέχουν ένα ή και περισσότερα παγιδευμένα ξενιζόμενα μόρια. Πιο συχνή είναι η αναλογία 1:1. Ωστόσο μπορούν να συνυπάρξουν και οι αναλογίες 2:1, 1:2, 2:2 ταυτόχρονα.

Τα σύμπλοκα εγκλεισμού μπορούν να απομονωθούν σχηματισμένα ως σταθερές, άμορφες, μικροκρυσταλλικές ενώσεις. Διαλύοντας αυτά τα σύμπλοκα, αποκαθίσταται

ταχέως μια ισορροπία εκπεφρασμένη από τη σταθερά συμπλοκοποίησης  $K_a$ . Η συναρμογή της κυκλοδεξτρίνης με τα ξενιζόμενα μόρια καθώς και η απομόνωση από αυτά υπαγορεύεται από θερμοδυναμικούς παράγοντες. Διαλύοντας ένα λιγοστά διαλυτό ξενιζόμενο μόριο σ'ένα υδατικό διάλυμα κυκλοδεξτρίνης έχουμε τα παρακάτω αποτελέσματα:

α) Η συγκέντρωση του ξενιζόμενου μορίου στη διαλυμένη φάση αυξάνεται θεαματικά, ενώ η συγκέντρωση της διαλυμένης ελεύθερης κυκλοδεξτρίνης μειώνεται. Το τελευταίο φαινόμενο δεν συμβαίνει πάντα, αφού ιονισμένα ξενιζόμενα μόρια ή δεσμοί υδρογόνου δημιουργούν (π.χ. φαινολικές) ενώσεις που πιθανώς να ενισχύσουν τη διαλυτότητα της κυκλοδεξτρίνης.

β) Κατά τη συμπλοκοποίηση δεν εμφανίζεται σχηματισμός ή ρήξη ομοιοπολικού δεσμού, αλλά ηλεκτροστατικές αλληλεπιδράσεις, δυνάμεις van der Waals, δεσμοί υδρογόνου, υδροφοβικές αλληλεπιδράσεις.

γ) Οι οπτικές ιδιότητες του ξενιζόμενου μορίου μεταβάλλονται. Για παράδειγμα, οι χημικές μετατοπίσεις ανισότροπων ατόμων αλλάζουν στο φάσμα NMR. Επίσης όταν μη χειρόμορφα ξενιζόμενα μόρια εισδύουν στη χειρόμορφη κοιλότητα της κυκλοδεξτρίνης, καθίστανται οπτικώς ενεργά και εμφανίζουν φάσμα κυκλικού διχρωϊσμού. Αρκετές φορές η μέγιστη κορυφή του UV υπεριώδους /ορατού φάσματος μετατοπίζεται μερικά nm και ο φθορισμός ενισχύεται, αφού το φθορίζον μόριο μεταφέρεται από το υδατικό μέσο σε απολικό περιβάλλον.

δ) Η δραστηριότητα του εγκλεισμένου μορίου μεταβάλλεται. Σε πολλές περιπτώσεις μειώνεται π.χ. όταν το ξενιζόμενο μόριο σταθεροποιείται, αλλά σε αρκετές περιπτώσεις η κυκλοδεξτρίνη συμπεριφέρεται ως ένα τεχνητό ένζυμο, επιταχύνοντας πολλές αντιδράσεις και διαφοροποιώντας το δρόμο της αντίδρασης.

ε) Η διάχυση και η πτητικότητα (στην περίπτωση πτητικών ενώσεων) του εγκλεισμένου μορίου μειώνεται αισθητά

στ) Το υδροφοβικό ξενιζόμενο μόριο, μετά την συμπλοκοποίηση γίνεται υδρόφιλο σύμπλοκο και έτσι μεταβάλλεται η χρωματογραφική κινητικότητα.

Στη στερεή φάση:

ζ) Η συμπλοκοποιημένη ένωση είναι μοριακά διεσπαρμένη σε μια μήτρα υδατάνθρακα σχηματίζοντας μια μικροκρυσταλλική ή άμορφη σκόνη, ακόμη και με ξενιζόμενα μόρια αέρια.

η) Η συμπλοκοποιημένη ένωση προστατεύεται αποτελεσματικά από κάθε είδους αντίδραση, εκτός εκείνης με τα υδροξύλια της κυκλοδεξτρίνης ή με καταλυόμενες από αυτά αντιδράσεις

θ) Το σύμπλοκο είναι υδρόφιλο, εύκολα διαβρέξιμο και ταχέως διαλυτό (Szejtli, 2004).

Οι κυριώτεροι παράγοντες της ωθούσας δύναμης προς την διεργασία εγκλεισμού:

Οι απωστικές δυνάμεις μεταξύ του εγκλωβισμένου ύδατος και της απολικής κοιλότητας της κυκλοδεξτρίνης, καθώς και μεταξύ των μορίων ύδατος του διαλύτη και του απολικού ξενιζόμενου μορίου. Ο δεύτερος παράγων δεν υφίσταται στην κρυσταλλική μορφή.

Η ικανότητα μιας κυκλοδεξτρίνης να σχηματίσει σύμπλοκο εξαρτάται από το σχετικό μέγεθος της κυκλοδεξτρίνης προς το μέγεθος του ξενιζόμενου μορίου καθώς και από τους θερμοδυναμικούς παράγοντες μεταξύ των τριών συστατικών του συστήματος (κυκλοδεξτρίνη, ξενιζόμενο μόριο, διαλύτης)

Η θέρμανση επίσης αυξάνει την διαλυτότητα της κυκλοδεξτρίνης καθώς και εκείνη του ξενιζόμενου μορίου. Έτσι αυξάνεται και η πιθανότητα συμπλοκοποίησης. Ταυτόχρονα όμως μπορεί το σύμπλοκο να αποσταθεροποιηθεί. Αυτά τα δύο φαινόμενα πρέπει να ισοσταθμιστούν (Martin Del Valle, 2004)

Τα ξενιζόμενα μόρια δεν είναι πάντα υδατοδιαλυτά, επιβραδύνοντας την συμπλοκοποίηση.

Η χρήση οργανικού διαλύτη είναι μερικές φορές επιθυμητή . Ο διαλύτης δεν έχει πάντα καλή συναρμογή με την κυκλοδεξτρίνη και απομακρύνεται εύκολα με εξάτμιση μετά την συμπλοκοποίηση. Η αιθανόλη, ο διαιθυλαιθέρας είναι χαρακτηριστικά παραδείγματα τέτοιων διαλυτών.

Τα ξενιζόμενα μόρια που είναι πτητικά, πιθανώς να εξατμιστούν κατά τη διάρκεια της συμπλοκοποίησης, ιδιαίτερα αν χρησιμοποιείται θέρμανση. Αυτό μπορεί να

αποφευχθεί, χρησιμοποιώντας κλειστό στεγανά αντιδραστήρα ή ανακυκλοφορώντας τα πτητικά μόρια πίσω στο δοχείο ανάμειξης.

Τα σύμπλοκα σταθεροποιούνται και λόγω ανάπτυξης δεσμών υδρογόνου μεταξύ του ξενιζόμενου μορίου και των υδροξυλομάδων της πρωτοταγούς και δευτεροταγούς πλευράς της κυκλοδεξτρίνης αλλά και επιδράσεων των διπόλων.

Η α-κυκλοδεξτρίνη συμπλοκοποιεί μόρια μικρού μοριακού βάρους ή ενώσεις με αλειφατική αλυσίδα, η β-κυκλοδεξτρίνη συμπλοκοποιεί αρωματικές ενώσεις και η γ-κυκλοδεξτρίνη φιλοξενεί μεγαλύτερα μόρια όπως μακροκυκλικές ενώσεις και στεροΐδη.

### ***Η υδροφοβική κοιλότητα των κυκλοδεξτρινών (Dodziuk, 2006)***

Η κοιλότητα των κυκλοδεξτρινών έχει έναν απολικό χαρακτήρα και παρέχει ελαφρώς αλκαλικό περιβάλλον όπως προαναφέραμε, επειδή είναι περικυκλωμένη από γλυκοζιτικούς αιθέρες. Η χημική δραστηριότητα των ξενιζόμενων μορίων μεταβάλλεται με την αλλαγή στην πολικότητα όταν αυτά εισδύουν σ'ένα τέτοιο υδροφοβικό και αλκαλικό περιβάλλον. Για παράδειγμα, η φωτοαποκαρβοξυλίωση του φαρμάκου benoxaprofen, επιβραδύνεται από τον εγκλεισμό συμπλοκοποίησης με β-κυκλοδεξτρίνη. Η αντίδραση αυτή έχει παρατηρηθεί να είναι αργή σε λίγο πολικούς διαλύτες όπως η αιθανόλη και είναι ακόμα πιο αργή στην ουδέτερη μορφή του φαρμάκου από ότι στην ανιονική. Παρόλο που η επιβράδυνση αποδίδεται στο φαινόμενο του μικροδιαλύτη της κυκλοδεξτρίνης, το φάρμακο εγκλείεται στο υδροφοβικό περιβάλλον της κοιλότητας της κυκλοδεξτρίνης και η όξινη απομόνωση του φαρμάκου είναι υπό έλεγχο. Σε αντίθεση, η αποκαρβοξυλίωση των ενεργοποιημένων α-κυανο- και β-κετο-οξικών οξέων είναι ταχύτερη σε διαλύτες με χαμηλότερες διηλεκτρικές σταθερές, όπου η αντίδραση αυτή επιταχύνεται με την προσθήκη β-κυκλοδεξτρίνης.

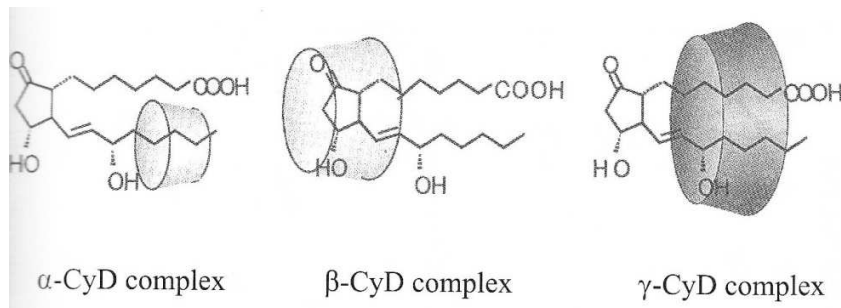
Το μέγεθος της υδροφοβικής κοιλότητας εξαρτάται από τον αριθμό των γλυκοκυρανοζικών υπολειμμάτων που συγκροτούν το όλο μόριο της κυκλοδεξτρίνης (Dodziuk, 2006).

### ***Τεχνικές συμπλοκοποίησης***

Η μέθοδος της συνιζηματοποίησης (coprecipitation), είναι η πιο ευρέως διαδεδομένη στο εργαστήριο. Η κυκλοδεξτρίνη διαλύεται στο νερό και το ξενιζόμενο

μόριο προστίθεται ανακατεύοντας το διάλυμα της κυκλοδεξτρίνης. Η συγκέντρωση της κυκλοδεξτρίνης μπορεί να φτάσει έως 20% εάν το ξενιζόμενο μόριο μπορεί να ανεχθεί υψηλότερες θερμοκρασίες. Το ίζημα συλλέγεται με φυγοκέντριση ή φιλτράρισμα, και πλένεται με μια μικρή ποσότητα ύδατος, ή άλλου διαλύτη. Εξαιτίας της χαμηλής διαλυτότητας των κυκλοδεξτρινών γενικά, απαιτούνται τεράστιες ποσότητες ύδατος.

Η μέθοδος της συμπλοκοποίησης σε πάστα (paste complexation) απαιτεί μικρή ποσότητα ύδατος που αναμειγνύεται με την κυκλοδεξτρίνη. Το τελικό σύμπλοκο ξηραίνεται ή πλένεται με μικρή ποσότητα ύδατος και συλλέγεται με φιλτράρισμα ή φυγοκέντριση (Martin Del Valle, 2004).



**Σχήμα 11.** Σύμπλοκα  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ -κυκλοδεξτρίνης

### **Θερμοδυναμική κατανόηση της συμπλοκοποίησης (στοιχειομετρία 1:1)**

Κατά τη συμπλοκοποίηση το ξενιζόμενο μόριο έρχεται σε ταχεία ισορροπία με το ελεύθερο μόριο της δραστικής ουσίας. Ισχύει:

$$K_c = \frac{\gamma_{D-CD} [D-CD]}{\gamma_{CD} [CD] \cdot \gamma_D [D]} \quad (\text{Dodziuk, 2006})$$

Όπου

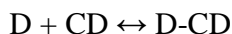
$K_c$ = σταθερά ισορροπίας ή συμπλοκοποίησης

$\gamma_{D-CD}$ = συντελεστής ενεργότητας του συμπλόκου,  $[D-CD]$ = συγκέντρωση του συμπλόκου

$\gamma_{CD}$ = συντελεστής ενεργότητας της κυκλοδεξτρίνης,  $[CD]$ = συγκέντρωση κυκλοδεξτρίνης

$\gamma_D$ = συντελεστής ενεργότητας του ξενιζόμενου μορίου της δραστικής ουσίας,  
 $[D]$ = συγκέντρωση της δραστικής ουσίας

Για ουδέτερα οργανικά μόρια με χαμηλή συγκέντρωση ( $\gamma = 1$ ) ισχύει η ισορροπία:



Ισχύει:

$$K_c = [D-CD] / [D] \cdot [CD]$$

Για την πρότυπη μοριακή ενθαλπία ισχύει:

$$H_{cd \text{ sln}} + H_{d \text{ sln}} = H_{d-cd \text{ sln}} \quad (\text{όπου sln: διαλύματος})$$

Εάν η σταθερά ισορροπίας είναι μικρή καθώς και οι συγκεντρώσεις των αρχικών αντιδραστηρίων, θα αντιδράσει μικρή συγκέντρωση ξενιστή με μικρή συγκέντρωση ξενιζόμενου μορίου προς μικρή συγκέντρωση συμπλόκου.

Αντίστοιχα, αν οι αρχικές συγκεντρώσεις είναι επαρκώς υψηλές ή η συμπλοκοποίηση είναι ισχυρή, το προστιθέμενο ξενιζόμενο μόριο αντιδρά ταχέως με τον ξενιστή από την αρχή της αντίδρασης έως το στοιχειομετρικό σημείο, καταναλώνοντας επαρκώς τον ξενιστή και παράγοντας σχεδόν σταθερό ποσό θερμότητας. Μετά το στοιχειομετρικό σημείο, το ποσό του ελεύθερου ξενιστή που παρέμεινε, μειώνεται ταχέως, όπως και το ποσό θερμότητας ακόμη και με επιπρόσθετη περίσσεια ξενιζόμενου μορίου, δίνοντας μια υψηλή αναλογία ξενιζόμενου μορίου προς ξενιστή.

Η ενέργεια Gibbs της αντίδρασης δίνεται ως συνάρτηση της θερμοκρασίας:

$$\Delta G = -RT \ln K_c$$

Και επίσης:

$$\Delta G = \Delta H - T \Delta S$$

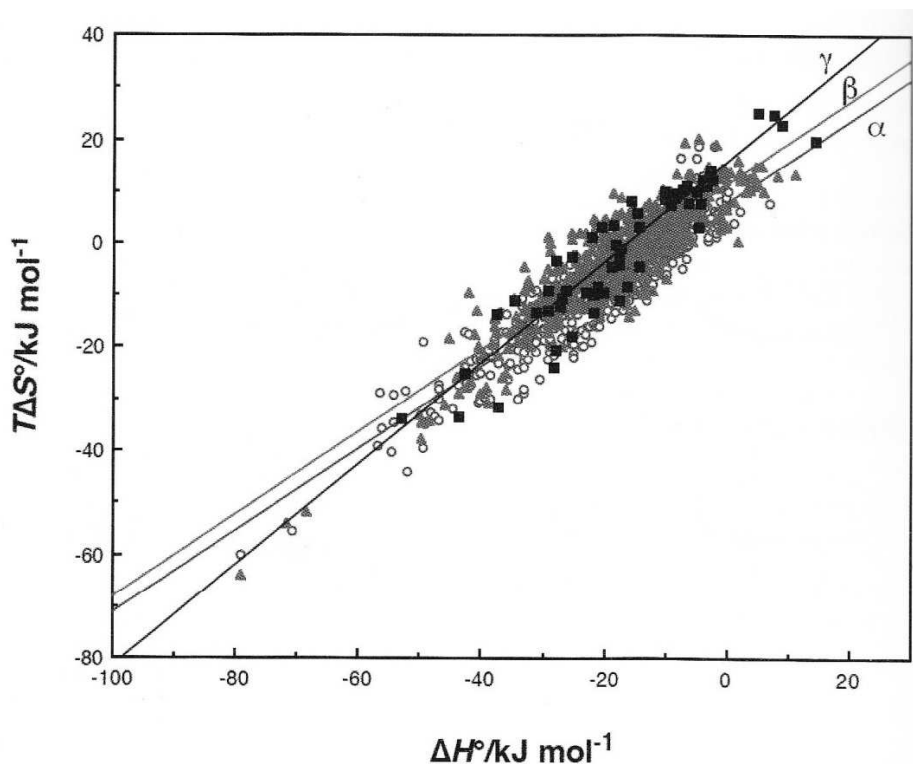
Ο σχηματισμός των συμπλόκων δίνει πολύ αρνητική  $\Delta H$  και  $\Delta S$  που μπορεί να είναι αρνητική αλλά εξαρτάται και από τις ιδιότητες του ξενιζόμενου μορίου.

Στην περίπτωση της  $\beta$ -κυκλοδεξτρίνης δημιουργούνται ισχυρά σύμπλοκα με πολύ αρνητική  $\Delta H$  και σχεδόν μηδενική  $\Delta S$ .

Η εξάρτηση ενθαλπίας-εντροπίας οδηγεί πειραματικά στη σχέση:

$$T \cdot \Delta(\Delta S^\circ) = a \cdot \Delta(\Delta H^\circ) \rightarrow \Delta(\Delta G^\circ) = (1-a) \cdot \Delta(\Delta H^\circ) \quad (\text{Dodziuk, 2006})$$

Η κλίση  $a$  της ευθείας  $T \cdot \Delta S^\circ = f(\Delta H^\circ)$  δηλώνει ότι το ενθαλπικό κέρδος  $\Delta \Delta H^\circ$  ακυρώνεται από την συνοδευόμενη ενθαλπική απώλεια  $T \cdot \Delta \Delta S^\circ$ , όπου αμφότερα επηρεάζονται από μεταβολές στον ξενιστή, στο ξενιζόμενο μόριο και στον διαλύτη. Με άλλα λόγια μόνο το κλάσμα  $(1-a)$  του ενθαλπικού κέρδους συνεισφέρει στην ενίσχυση της σταθερότητας του συμπλόκου.



**Διάγραμμα 1.** Συνάρτηση ενθαλπίας εντροπίας για τη συμπλοκοποίηση ποικίλων ξενιζόμενων μορίων με  $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\gamma$ -κυκλοδεξτρίνες.

### Κυκλοδεξτρίνες και Φάρμακα

Μορφοποιώντας τα μόρια βιοδραστικών ουσιών σε φαρμακευτικά προϊόντα, προκύπτουν δυσκολίες όπως:

- Το φάρμακο είναι ελάχιστα διαλυτό με αργή διάλυση στο στόμα και pH μεταβαλλόμενο
- Δεν είναι σε ενέσιμη μορφή, λόγω περιορισμένης διαλυτότητας σε λίγους οργανικούς διαλύτες
- Είναι ερεθιστικό σε ιστούς ή δέρμα
- Είναι ευαίσθητο σε παράγοντες όπως  $O_2$ , φως, νερό, μικροοργανισμούς κ.λ.π.
- Είναι υγρό, πτητικό ή εξαχνώσιμο, με άσχημη οσμή, ή πολύ υγροσκοπικό



- Είναι πολύ πικρό στην γεύση
- Είναι δύσκολα μορφοποιήσιμο: σε μικρές δόσεις, κολλώδες, λιπαρό, μη διαλυτό στο νερό, ασύμβατο με άλλα συστατικά

Η συμπλοκοποίηση με εγκλεισμό στην κατάλληλη κυκλοδεξτρίνη είναι λύση σε τέτοια προβλήματα:

- Ο ρυθμός διάλυσης και το όριο διαλυτότητας αυξάνεται βελτιώνοντας την βιοδιαθεσιμότητα
- Η μορφοποίηση σε β-κυκλοδεξτρίνη δίνει προϊόντα υγρά, πόσιμα ή σε ενέσιμη μορφή
- Η πικρή γεύση ( π.χ.νικοτίνη) αποκλείει το φάρμακο από την απευθείας κατανάλωση. Με την μορφή συμπλόκου β-κυκλοδεξτρίνης μπορεί να βγει στην κατανάλωση
- Πολλές ενώσεις όπως η cinnamaldehyde, λιποδιαλυτές βιταμίνες κ.ά., οξειδώνονται, εξατμίζονται ή πολυμερίζονται. Η συμπλοκοποίηση με κυκλοδεξτρίνες τις κάνει σταθερές και τις προστατεύει για μεγάλο χρονικό διάστημα. Με τη διάλυση σε νερό απελευθερώνονται
- Η άσχημη οσμή, η απώλεια ενεργών συστατικών (έλαιο σκόρδου) λόγω πολυμερισμού, αποσύνθεσης προς μη ενεργά συστατικά και εξάτμισης, αντιμετωπίζονται πολύ καλά με την συμπλοκοποίηση

Πολλές ενώσεις όπως ανόργανα οξέα, αέρια και άλατα δεν συμπλοκοποιούνται.

Ισχυρά υδρόφιλες ενώσεις, πολύ μικρά ή μεγαλομόρια όπως πεπτίδια, πρωτεΐνες, ένζυμα, σάκχαρα γενικά δεν συμπλοκοποιούνται. Παρόλα αυτά σύνθετες αλυσίδες όπως ένα αρωματικό αμινοξύ σ'ένα πολυπεπτίδιο θα αντιδράσει με υδατικά διαλύματα κυκλοδεξτρίνης (Szejtli, 2004)

#### ***Άλλες εφαρμογές των κυκλοδεξτρινών***

Την ευρύτερη εφαρμογή συναντούν οι κυκλοδεξτρίνες στις βιομηχανίες τροφίμων και καλλυντικών. Στα καλλυντικά η χρήση των κυκλοδεξτρινών γίνεται για σταθεροποίηση γαλακτωμάτων, πτητικών συστατικών, για μείωση δυσάρεστων οσμών, αποφυγή ταχείας οξείδωσης, για ελεγχόμενη απελευθέρωση αρωματικών υλών, μετατροπή υγρών συστατικών σε στερεή μορφή, βελτίωση αντιμικροβιακής δράσης. Η αλληλεπίδραση του ξενιζόμενου μορίου με τις κυκλοδεξτρίνες αποδίδει ένα υψηλό

φράγμα ενέργειας που απαιτείται για την απόδοση του αρώματος και έτσι διαρκεί περισσότερο.

Στα τρόφιμα η χρήση των κυκλοδεξτρινών περιλαμβάνει εγκλεισμό λιπαρών υλών, προσθετικών γεύσης, χρωστικών και αρωματικών υλών, σταθεροποίηση γαλακτωμάτων και ελαίων, κάλυψη οσμών, αφαίρεση πικρής γεύσης (π.χ. φλαβονοειδή, τερπενοειδή) και αύξηση υδατοδιαλυτότητας. Μειώνουν αισθητά την απαιτούμενη δόση για το επιθυμητό γευστικό αποτέλεσμα. Κατά την θερμική επεξεργασία παρουσιάζουν ανθεκτικότητα στην επίδραση της θερμοκρασίας.

Στην γεωργία οι κυκλοδεξτρίνες σχηματίζουν σύμπλοκα με μια ευρεία ποικιλία αγροχημικών όπως φυτορρυθμιστικές ουσίες, ζιζανιοκτόνα, εντομοκτόνα, εντομοαπωθητικά, μυκητοκτόνα και φερομόνες.

Στην αναλυτική χημεία βρίσκουν εφαρμογή στις χρωματογραφικές τεχνικές ως πρόσθετα στην κινητή ή την σταθερή φάση, βελτιώνοντας την ικανότητα διαχωρισμού και την ταχύτητα ανάλυσης, διαχωρίζοντας οπτικά ισομερή ή άλλα δομικά ισομερή (σε αιθέρια έλαια, ζιζανιοκτόνα κ.λ.π.). Βρίσκουν εφαρμογές στις φασματοσκοπικές τεχνικές (NMR, κυκλικός διχρωϊσμός) και στην ηλεκτροχημεία. Στην χημική βιομηχανία χρησιμοποιούνται στην κατάλυση αντιδράσεων ως χηλικά σύμπλοκα, ενώ στο περιβάλλον για την απομάκρυνση οργανικών ρυπαντών, βαρέων μετάλλων από το έδαφος, το νερό και την ατμόσφαιρα (Martin Dell Valle, 2004).

## Πειραματικό Μέρος

### Απόσταξη

Ζυγίστηκαν 45gr άνθη λεβάντας εσοδείας 2001, σε ποτήρι ζέσεως των 800ml. Τοποθετήθηκαν σε σφαιρική φιάλη των 1000ml μαζί με απεσταγμένο νερό μέχρι την μέση έως ότου απορροφηθεί το φυτικό υλικό.

Στήνουμε τον αποστακτήρα Clevenger με κάθετο ψυκτήρα. Βάζουμε απεσταγμένο νερό στη γωνία της συσκευής ώστε η σταγόνα ελαίου να εμφανιστεί ψηλά. Αλείφουμε την στρόφιγγα με σιλικόνη και διοχετεύουμε δυνατή θέρμανση στην αρχή. Στα πρώτα 20min εμφανίζεται η πρώτη σταγόνα ελαίου. Στην συνέχεια κατεβάζουμε την θερμοκρασία στο σημείο ζέσεως του νερού. Η απόσταξη διαρκεί 3h.

Παραλαμβάνουμε 1,6ml αιθερίου ελαίου λεβάντας. Η απόδοση είναι  $1,6/45=3,5\%$ . Πλένουμε με ακετόνη τον αποστακτήρα και προσθέτουμε άνυδρο  $MgSO_4$  για αφυδάτωση στο έλαιο. Αφαιρούμε το καθαρό έλαιο.

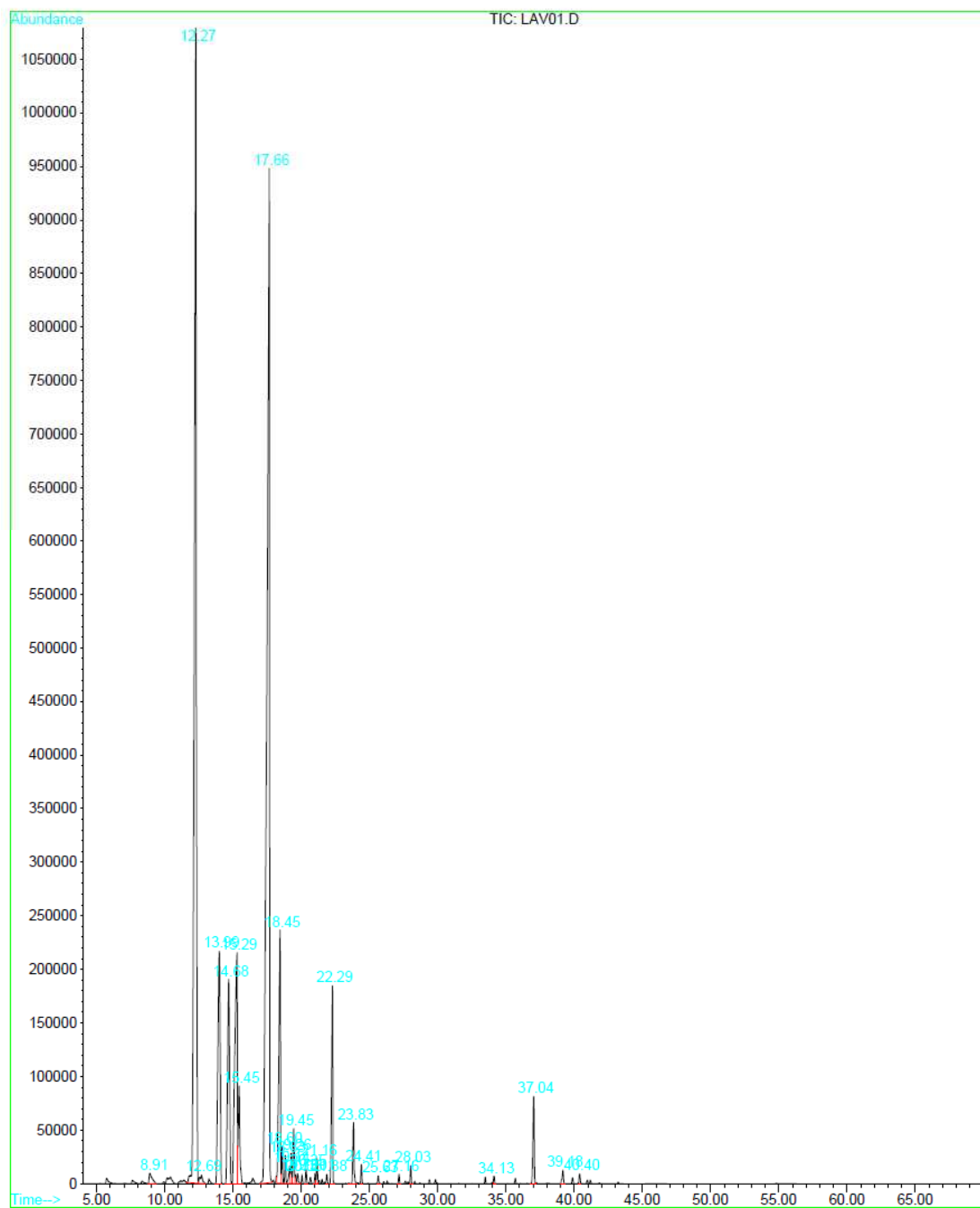
Η απόσταξη επαναλαμβάνεται. Αυτή την φορά λαμβάνουμε 40gr άνθη λεβάντας και παραλαμβάνουμε 1,5ml αιθερίου ελαίου. Έχουμε απόδοση  $1,5/40=3,7\%$  και τελικό μέσο όρο 3,6% που είναι καλή τιμή.

Το αιθέριο έλαιο λεβάντας φυλάσσεται σε ψύξη ( $4^{\circ}C$ ).

## **Χρωματογραφία GC-MS**

Δείγμα του αιθερίου ελαίου αραιώνεται 1/100 κ.ο. σε καθαρή ακετόνη (10  $\mu\text{L}$  ελαίου σε 990 $\mu\text{L}$  ακετόνη). Εισάγεται σε αέριο χρωματογράφο Hewlett Packard 5890 Series II με φασματόμετρο μάζας 5972 και φέρον αέριο He. Ο τύπος της στήλης είναι Rtx-5MS, μη πολική, με μήκος 30m, εσωτερική διάμετρο 0,25mm και πάχος υλικού επίστρωσης 0,25 $\mu\text{m}$  (στατική φάση). Η θερμοκρασία του ανιχνευτή είναι 290°C, η θερμοκρασία εισαγωγής του δείγματος είναι 220°C. Η αρχική θερμοκρασία είναι 60°C. Ο ρυθμός ανόδου είναι 3grads/min έως τελική θερμοκρασία 240°C, όπου παραμένει για 10min. Το δείγμα παραμένει συνολικά 70min. Λαμβάνουμε το παρακάτω χρωματογράφημα και τα φάσματα μάζας:

File : C:\HPCHEM\1\DATA\LAV01.D  
 Operator : Xaris  
 Acquired : 22 Jul 08 11:14 using AcqMethod CHRISTOS  
 Instrument : GC/MS Ins  
 Sample Name: lavender essential oil  
 Misc Info : HD lavender essential oil 1/100 Acetone  
 Vial Number: 1



Δείγμα 1

## Area Percent Report

Data File : C:\HPCHEM\1\DATA\LAV01.D Vial: 1  
 Acq On : 22 Jul 08 11:14 Operator: Xaris  
 Sample : lavender essential oil Inst : GC/MS Ins  
 Misc : HD lavender essential oil 1/100 Acetone Multiplr: 1.00  
 Sample Amount: 0.00

MS Integration Params: EVENTS5.E

Method : C:\HPCHEM\2\METHODS\ENVDEF.M (Chemstation Integrator)  
 Title :

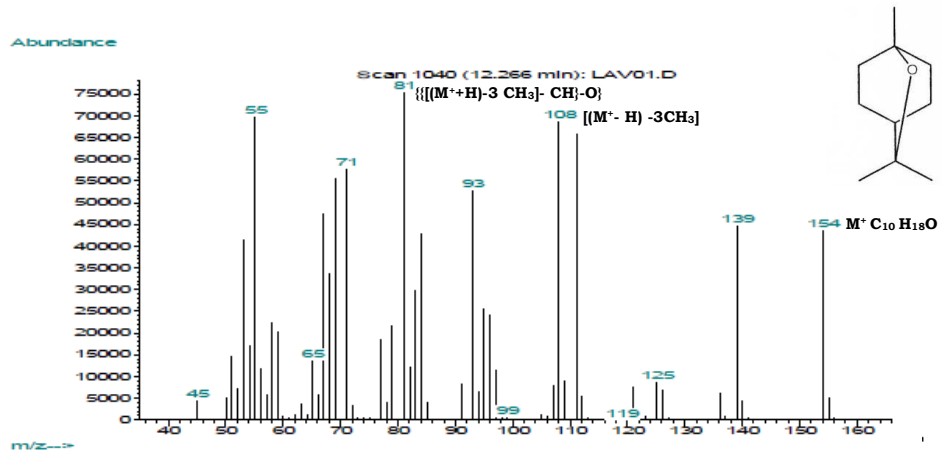
Signal : TIC

peak #	R.T. min	first scan	max scan	last scan	PK TY	peak height	raw area	corr. area	corr. % max.	% of total
1	8.910	599	616	673	BB 8	9579	1494801	1494801	1.25%	0.405%
2	12.274	954	1041	1065	BV 3	1078487	111273638	111244118	92.81%	30.105%
3	12.686	1065	1093	1128	VB 3	7846	1110538	1078922	0.90%	0.292%
4	13.992	1217	1258	1284	BB 4	216610	25710690	25710690	21.45%	6.958%
5	14.680	1313	1345	1374	BV 4	190169	20120909	20120909	16.79%	5.445%
6	15.282	1374	1421	1429	PV 6	213165	26741206	26741206	22.31%	7.237%
7	15.456	1429	1443	1475	VV 3	91172	7678419	7300166	6.09%	1.976%
8	17.656	1632	1721	1749	BV 3	943672	119856359	119856359	100.00%	32.436%
9	18.447	1790	1821	1831	VV 3	235719	19048671	18985235	15.84%	5.138%
10	18.606	1831	1841	1853	VV 2	34131	1744835	1689436	1.41%	0.457%
11	18.827	1853	1869	1883	PV 5	26006	1341580	1338842	1.12%	0.362%
12	19.144	1883	1909	1915	VV 5	16078	1086522	1077481	0.90%	0.292%
13	19.263	1915	1924	1932	VV 3	28133	1381584	1344930	1.12%	0.364%
14	19.445	1932	1947	1959	VV 3	51191	3224673	3190532	2.66%	0.863%
15	19.730	1972	1983	2012	VV 8	8999	652425	631968	0.53%	0.171%
16	20.046	2012	2023	2039	VB 5	8286	367385	366398	0.31%	0.099%
17	20.347	2048	2061	2075	BB 5	13934	729565	729565	0.61%	0.197%
18	21.004	2132	2144	2152	BV 6	9646	445503	445503	0.37%	0.121%
19	21.154	2152	2163	2175	VV 5	23402	1284440	1266800	1.06%	0.343%
20	21.875	2243	2254	2266	BB 6	8706	445037	444128	0.37%	0.120%
21	22.286	2281	2306	2326	BV 2	183502	11320610	11320610	9.45%	3.064%
22	23.829	2448	2501	2534	BV 4	56788	3586495	3586495	2.99%	0.971%
23	24.407	2559	2574	2589	BB 3	18133	913871	913871	0.76%	0.247%
24	25.634	2717	2729	2748	BB 5	7278	387256	387256	0.32%	0.105%
25	27.162	2910	2922	2933	BB 4	8810	405676	405676	0.34%	0.110%
26	28.032	3016	3032	3046	BB 3	16848	804765	803460	0.67%	0.217%
27	34.134	3790	3803	3814	VB 6	7040	384558	382215	0.32%	0.103%
28	37.039	4140	4170	4186	BV 4	80987	5325586	5325586	4.44%	1.441%
29	39.176	4418	4440	4453	BB 9	12533	835831	835831	0.70%	0.226%
30	40.403	4581	4595	4608	BB 5	9261	502366	502366	0.42%	0.136%

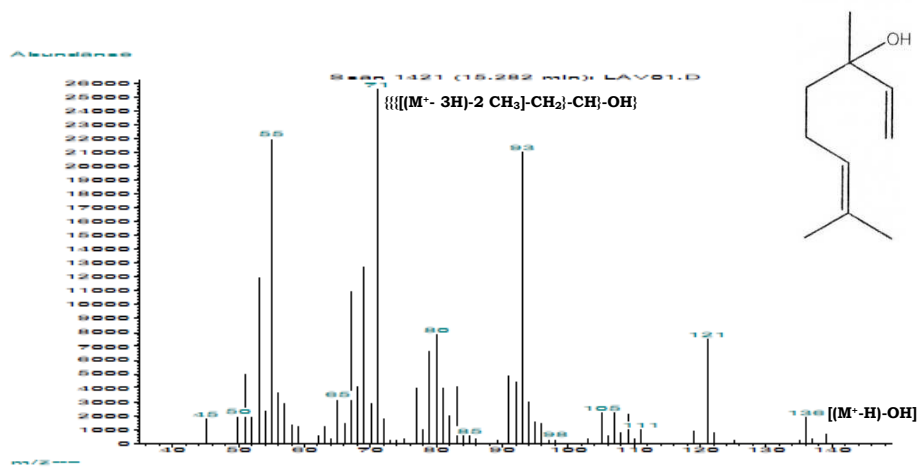
Sum of corrected areas: 369521355

LAV01.D ENVDEF.M Wed Jun 30 10:52:18 2010

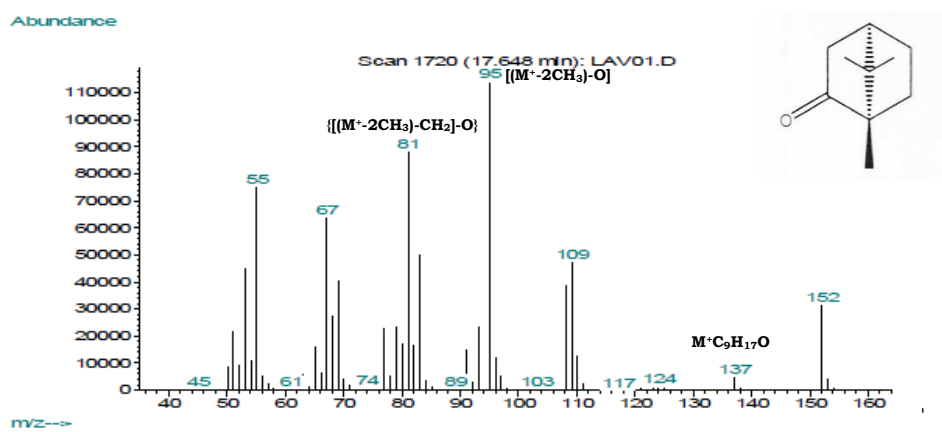
## Φασματογραφία Μάζας



## Ευκαλυπτόλη (1,8-Κινεόλη)

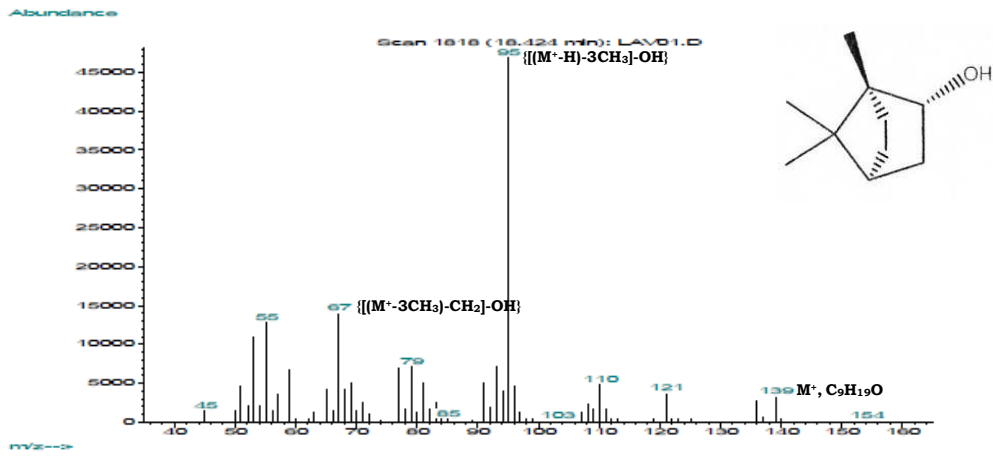


## Λιναλοόλη

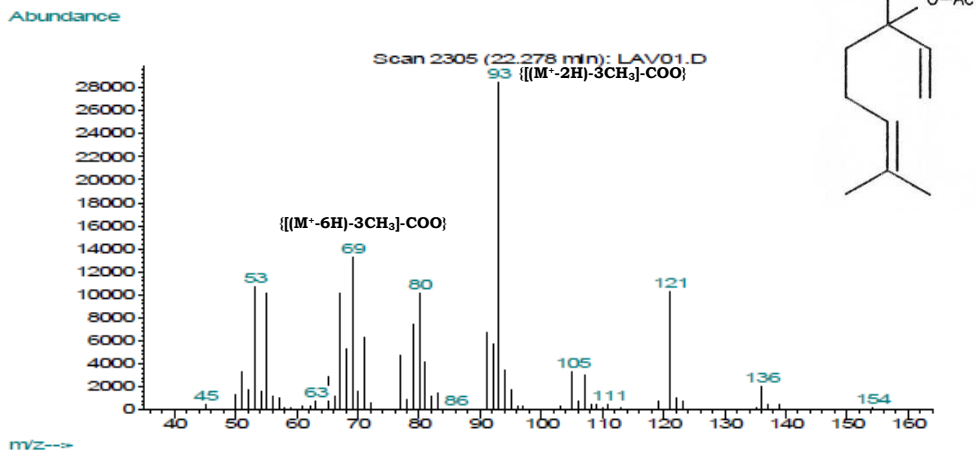


## Καμφορά

Δείγμα 1



Βορνεόλη



Οξικός εστέρας της λιναλοόλης (Οξικός λιναλοολεστέρας)

Δείγμα 1

Το χρωματογράφημα και τα φάσματα μάζας για το 2<sup>ο</sup> Δείγμα δίνονται στο Παράρτημα.



**Αποτελέσματα**

Με βάση τα δεδομένα της βάσης δεδομένων των βιβλιοθηκών του οργάνου και τη βιβλιογραφία διαπιστώθηκε ότι η κορυφή 3 του πίνακα χρωματογραφήματος του δείγματος 1 αφορά την ευκαλυπτόλη ή 1,8 κινεόλη.

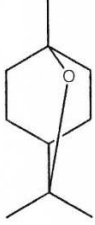
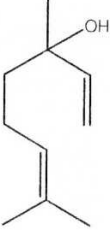
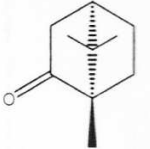
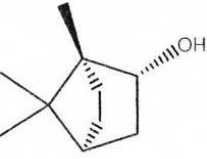
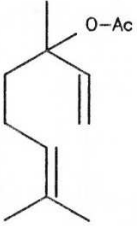
Το φάσμα μαζών της έδωσε τις παρακάτω χαρακτηριστικές κορυφές, m/z 154 μοριακό ιόν  $M^+$ , m/z 81 βασικό ιόν  $\{[(M^+ + H) - 3CH_3] - CH\} - O$ , m/z 139  $(M^+ - CH_3)$ , m/z 108  $[(M^+ - H) - 3CH_3]$ .

Η κορυφή 6 του πίνακα του χρωματογραφήματος διαπιστώθηκε ότι αφορά τη λιναλοόλη. Το φάσμα μαζών της έδωσε τις παρακάτω χαρακτηριστικές κορυφές, m/z 154 μοριακό ιόν  $M^+$ , m/z 71 βασικό ιόν  $\{[(M^+ - 3H) - 2CH_3] - CH_2\} - CH\} - OH$ , m/z 136  $[(M^+ - H) - OH]$ , m/z 93  $[(M^+ - 2CH_3) - CH_2] - OH$ .

Η κορυφή 8 του πίνακα του χρωματογραφήματος διαπιστώθηκε ότι αφορά την καμφορά. Το φάσμα μαζών της έδωσε τις παρακάτω χαρακτηριστικές κορυφές, m/z 137 μοριακό ιόν  $M^+$ , m/z 95 βασικό ιόν  $[(M^+ - 2CH_3) - O]$ , m/z 81  $[(M^+ - 2CH_3) - CH_2] - O$ .

Η κορυφή 9 του πίνακα του χρωματογραφήματος διαπιστώθηκε ότι αφορά τη βορνεόλη. Το φάσμα μαζών της έδωσε τις παρακάτω χαρακτηριστικές κορυφές, m/z 139 μοριακό ιόν  $M^+$ , m/z 95 βασικό ιόν  $[(M^+ - H) - 3CH_3] - OH$ , m/z 67  $[(M^+ - 3CH_3) - CH_2] - OH$ .

Η κορυφή 21 του πίνακα του χρωματογραφήματος διαπιστώθηκε ότι αφορά τον οξικό λιναλοοεστέρα. Το φάσμα μαζών της έδωσε τις παρακάτω χαρακτηριστικές κορυφές, m/z 184 μοριακό ιόν  $M^+$ , m/z 93 βασικό ιόν  $[(M^+ - 2H) - 3CH_3] - COO$ , m/z 69  $[(M^+ - 6H) - 3CH_3] - COO$ .

Κορυφή	$t_R$ min	Ένωση	(%)	Μοριακός Τύπος	Πιθανή Δομή	Φασματομετρικά Δεδομένα [m/z (%)]
2	12,27	Ευκαλυπτόλη	30,54	C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O		81 (100), 55 (92), 108 (90), 71 (76), 93 (70), 139 (60), <u>154</u> (47)
6	15,28	Λιναλοόλη	7,14	C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O		71 (100), 55 (86), 93 (65), 121 (30), 80 (20), 136 (18)
8	17,66	Καμφορά	32,42	C <sub>9</sub> H <sub>17</sub> O		95 (100), 81 (77), 55 (66), 67 (57), 109 (41), 152 (27), <u>137</u> (5)
9	18,45	Βορνεόλη	5,12	C <sub>9</sub> H <sub>19</sub> O		95 (100), 67 (41), 55 (39), 79 (13), <u>139</u> (7)
21	22,29	Οξικός λιναλοολεστέρας	3,03	C <sub>12</sub> H <sub>20</sub> O <sub>2</sub>		93 (100), 69 (47), 53 (26), 80 (24), 121 (24)

Πίνακας 2: GC-MS

## Συμπλοκοποίηση

Με βάση την ποσοτική ανάλυση από τον πίνακα του χρωματογραφήματος επιλέγουμε τρεις αντιπροσωπευτικές ενώσεις: Την ευκαλυπτόλη 30,10%, την λιναλοόλη 7,23% και την καμφορά 32,43%.

. Από το εμπόριο, προμηθευόμαστε τις τρεις αυτές ενώσεις, από την εταιρεία Sigma-Aldrich.

Ευκαλυπτόλη

Διάλυμα

$M_w=154,25$   $den=1,076g/ml$

Άρα 0,01mL=11mg ευκαλυπτόλης

Αναλογία 1:1 κ.β. με β-κυκλοδεξτρίνη ( $M_w=1135,12$ )

Άρα αντιστοιχούν 80,95mg βCD

Τοποθετούμε σε δοχείο με πάμα 0,01mL ευκαλυπτόλης (πηκτηκή). Από άλλο δοχείο μεταγγίζουμε την β-CD αφού έχουμε προσθέσει σ'αυτό 1-2mL απεσταγμένου ύδατος. Αναδεύουμε αργά το διάλυμα προσθέτοντας σταδιακά 60mL απεσταγμένου ύδατος σε θερμοκρασία που μειώνεται σταδιακά κάτω από 70°C.

Μίγμα

Τοποθετούμε στο ιγδίο 0,02mL ευκαλυπτόλης και 161,9 mg β-CD (διπλάσια ποσότητα από το διάλυμα) και με λειοτρίβιση διαμορφώνουμε ένα ομοιογενές μίγμα.

Λιναλοόλη

$M_w=154,25$   $den=0,87g/mL$

Διάλυμα: 0,01mL=9mg λιναλοόλης και 66,23mg βCD (αναλογία 1:1 κ.β.)

Ακολουθούμε την ίδια διαδικασία ανάμειξης (όπως στο διάλυμα ευκαλυπτόλης) και διαλύουμε με 40mL απεσταγμένου ύδατος σε θερμοκρασία που μειώνεται σταδιακά κάτω από 70°C.

Μίγμα: Τοποθετούμε στο ιγδίο 0,02mL λιναλοόλης και 132,46 mg βCD (διπλάσια ποσότητα από το διάλυμα) και με λειοτρίβιση διαμορφώνουμε ένα ομοιογενές μίγμα.

Καμφορά

$M_w=152,23$   $den=0,67g/mL$

Διάλυμα: 0,01mL=6,7mg καμφοράς και 50 mg βCD (αναλογία 1:1 κ.β.)

Ακολουθούμε την ίδια διαδικασία όπως παραπάνω. Αυτή τη φορά προσθέτουμε στο διάλυμα 3mL απεσταγμένου ύδατος (η καμφορά είναι ευδιάλυτη στο νερό) σε θερμοκρασία που μειώνεται σταδιακά κάτω από 70°C.

Μίγμα: Τοποθετούμε στο ιγδίο 10,73mg καμφοράς και 80mg βCD (αναλογία 1:1 κ.β.) και με λειοτρίβιση διαμορφώνουμε ένα ομοιογενές μίγμα.

Ακολουθεί λυοφιλίωση (υπό κενό) και φασματοσκοπία FTIR για να ανιχνευτούν τα σύμπλοκα (διαλύματα) και τα μίγματα.

## Φασματοσκοπία FTIR

### *Φασματοσκοπική μελέτη των συμπλόκων της β-κυκλοδεξτρίνης με καμφορά, λιναλοόλη και ευκαλυπτόλη*

#### Υλικό

Μελετήθηκαν με φασματοσκοπία υπερύθρου τα λυοφυλιωμένα μίγματα και σύμπλοκα (διαλύματα). Επιπλέον, λήφθηκαν φάσματα από πρότυπες ουσίες (stock solutions), με στόχο τον ποιοτικό προσδιορισμό τους στα δείγματα: β-κυκλοδεξτρίνη, καμφορά, λιναλοόλη, ευκαλυπτόλη (1,8 κινεόλη)

#### Όργανο

Φασματοφωτόμετρο υπερύθρου Nicolet, Magna-IR spectrometer 750.

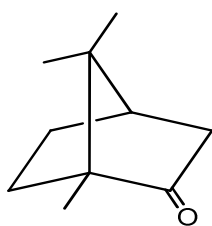
#### Μεθοδολογία

Εφαρμόστηκε η τεχνική της διάχυτης ανάκλασης (Diffuse Reflectance Fourier transformed Infrared Spectroscopy-DRIFTS) για στέρεες ουσίες. Για τη λήψη των φασμάτων χρησιμοποιήθηκε ειδικό εξάρτημα, για την υποδοχή του δείγματος, το οποίο διαθέτει 6 κάτοπτρα. Ποσότητα 1-2mg του δείγματος σε μορφή σκόνης τοποθετήθηκε στο ειδικό δισκίο και έγινε λήψη του φάσματος FT-IR. Στο δείγμα έγινε προσθήκη KBr όταν: α) η ποσότητα του δείγματος δεν επαρκούσε και β) όταν το φάσμα με καθαρό το δείγμα δεν είχε καλή υφή. Σε αυτήν την περίπτωση, τα φάσματα λήφθηκαν με βάση background το φάσμα του καθαρού KBr. Όσον αφορά τις πρότυπες ουσίες, εφαρμόστηκε η τεχνική DRIFTS επίσης.

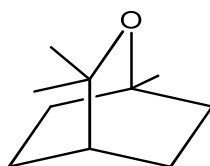
#### Επεξεργασία των φασμάτων

Όλα τα ληφθέντα φάσματα επεξεργάστηκαν με ειδικό λογισμικό του οργάνου FT-IR, που ήταν εγκαταστημένο στον ηλεκτρονικό υπολογιστή του φασματομέτρου. Το λογισμικό πρόγραμμα ήταν το OMNIC 7.1 Copyright Nicolet Instr. Corp. Οι κυριότερες επεξεργασίες που έγιναν στα φάσματα ήταν η εξομάλυνση του σήματος και η διόρθωση της βασικής γραμμής.

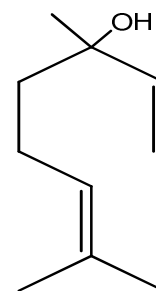
Οι χημικοί τύποι της καμφοράς, της λιναλοόλης, της ευκαλυπτόλης και της β-κυκλοδεξτρίνης φαίνονται στην παρακάτω εικόνα.



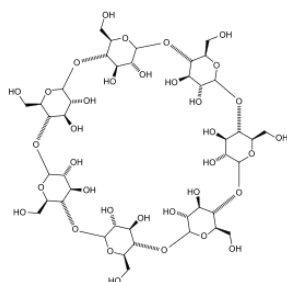
καμφορά



ευκαλυπτόλη



λιναλοόλη



β-κυκλοδεξτρίνη

**Σχήμα 12.** Οι χημικοί τύποι της καμφοράς, της λιναλοόλης, της ευκαλυπτόλης και της β-κυκλοδεξτρίνης.

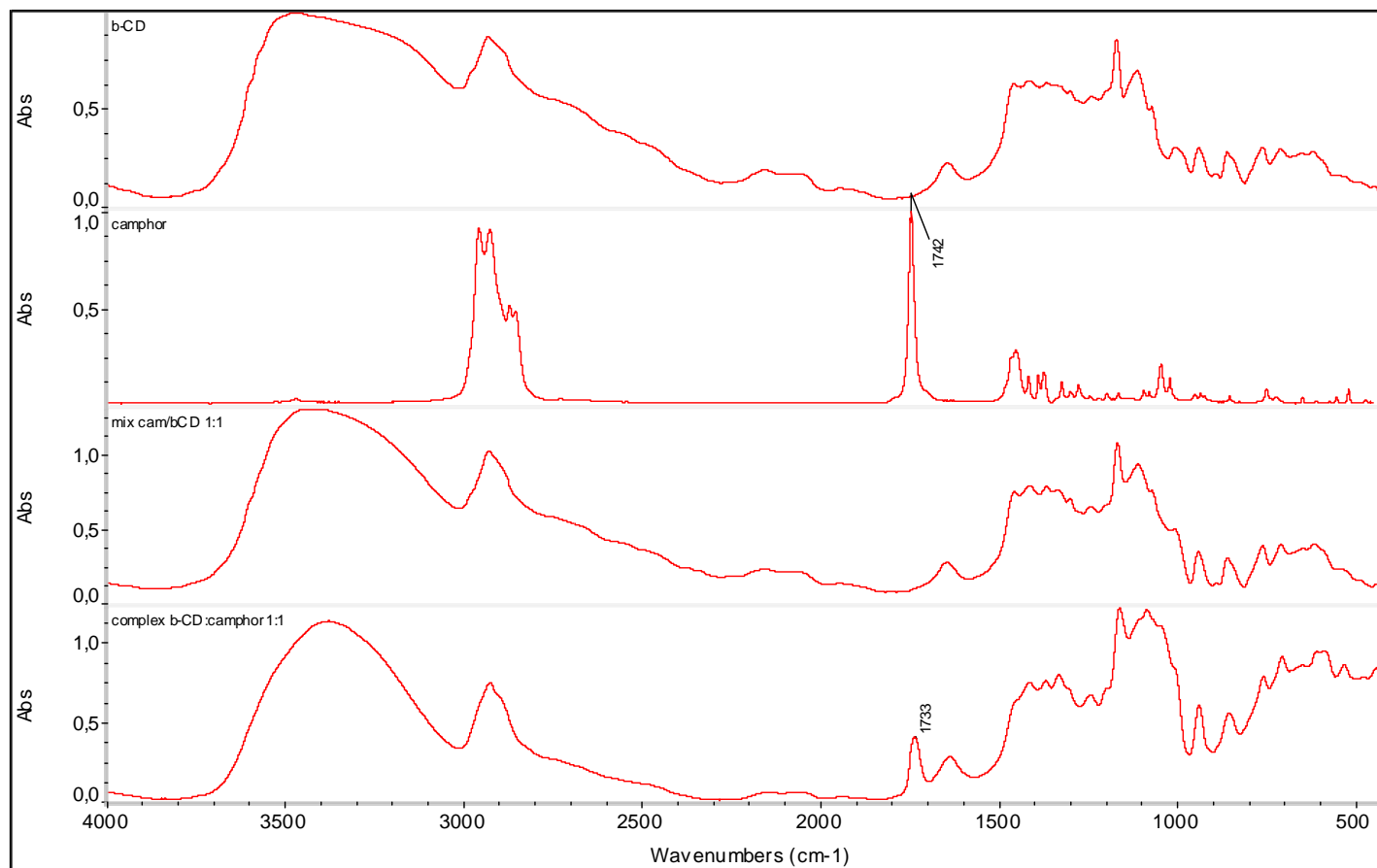
Τόσο τα μίγματα όσο και οι ενώσεις συναρμογής λυοφιλώθηκαν για ένα βράδυ.

#### **Προϊόν εγκλεισμού καμφοράς-β-κυκλοδεξτρίνης**

Στο διάγραμμα 2 φαίνεται ότι η καμφορά παρουσιάζει μια έντονη κορυφή στα  $1742\text{ cm}^{-1}$  που οφείλεται στο καρβονύλιο. Η κορυφή αυτή απουσιάζει από το φάσμα του μίγματος της καμφοράς με τη β-κυκλοδεξτρίνη, ενώ εμφανίζεται στο φάσμα του συμπλόκου της καμφοράς με τη β-κυκλοδεξτρίνη και μάλιστα μετατοπισμένη στα  $1733\text{ cm}^{-1}$ . Αυτό οφείλεται στο γεγονός ότι η καμφορά εξαχνώθηκε κατά τη διάρκεια της λυοφιλώσης από το μίγμα. Αντίθετα δεν εξαχνώθηκε διότι «προστατεύθηκε» μέσω του εγκλεισμού της στη β-κυκλοδεξτρίνη στο σύμπλοκο..

Το φάσμα της β-κυκλοδεξτρίνης παρουσιάζει 92,65 % ομοιότητα με αυτό του μίγματος ενώ μόνο 55,38 % με αυτό του συμπλόκου.

Οι παραπάνω παρατηρήσεις οδηγούν στο συμπέρασμα ότι σχηματίστηκε σύμπλοκο από τον εγκλεισμό της καμφοράς στη β-κυκλοδεξτρίνη.



**Διάγραμμα 2.** FT-IR β-κυκλοδεξτρίνης, καμφοράς, μίγματος β-κυκλοδεξτρίνης – καμφοράς και συμπλόκου β-κυκλοδεξτρίνης – καμφοράς.

**Προϊόν εγκλεισμού λιναλοόλης σε β-κυκλοδεξτρίνη**

Όπως παρουσιάζεται και στο διάγραμμα 3 η πλέον ενδιαφέρουσα φασματική περιοχή είναι από τα 1730 έως τα 800  $\text{cm}^{-1}$ . Οι αποδόσεις των πλέον αξιόλογων κορυφών της β-κυκλοδεξτρίνης και της λιναλοόλης παρουσιάζονται στους πίνακες 2 και 3.

Κυματαριθμός ( $\text{cm}^{-1}$ )	Απόδοση
1646	Προσροφημένο νερό
1460	Κάμψη των O-C-H και H-C-H
1416	Κάμψη των O-C-H και C-C-H
1170	Τάση των C-O και C-C, κάμψη C-OH του πυρανοζικού δακτυλίου
1113	Σκελετική δόνηση του C-O-C του πυρανοζικού δακτυλίου, τάση του C-OH
1070	Τάση των C-C , C-O και κάμψη του C-OH
1006	Τάση των C-C, κάμψη των O-C-H, C-C-H και C-C-O
941	Σκελετική δόνηση του γλυκοζιδικού δεσμού 1,4 των μορίων γλυκόζης
861	Τάση των C-C , C-O και κάμψη του C-C-H

**Πίνακας 3.** Οι αποδόσεις των κορυφών της β-κυκλοδεξτρίνης στη φασματική περιοχή 1730-800  $\text{cm}^{-1}$ .

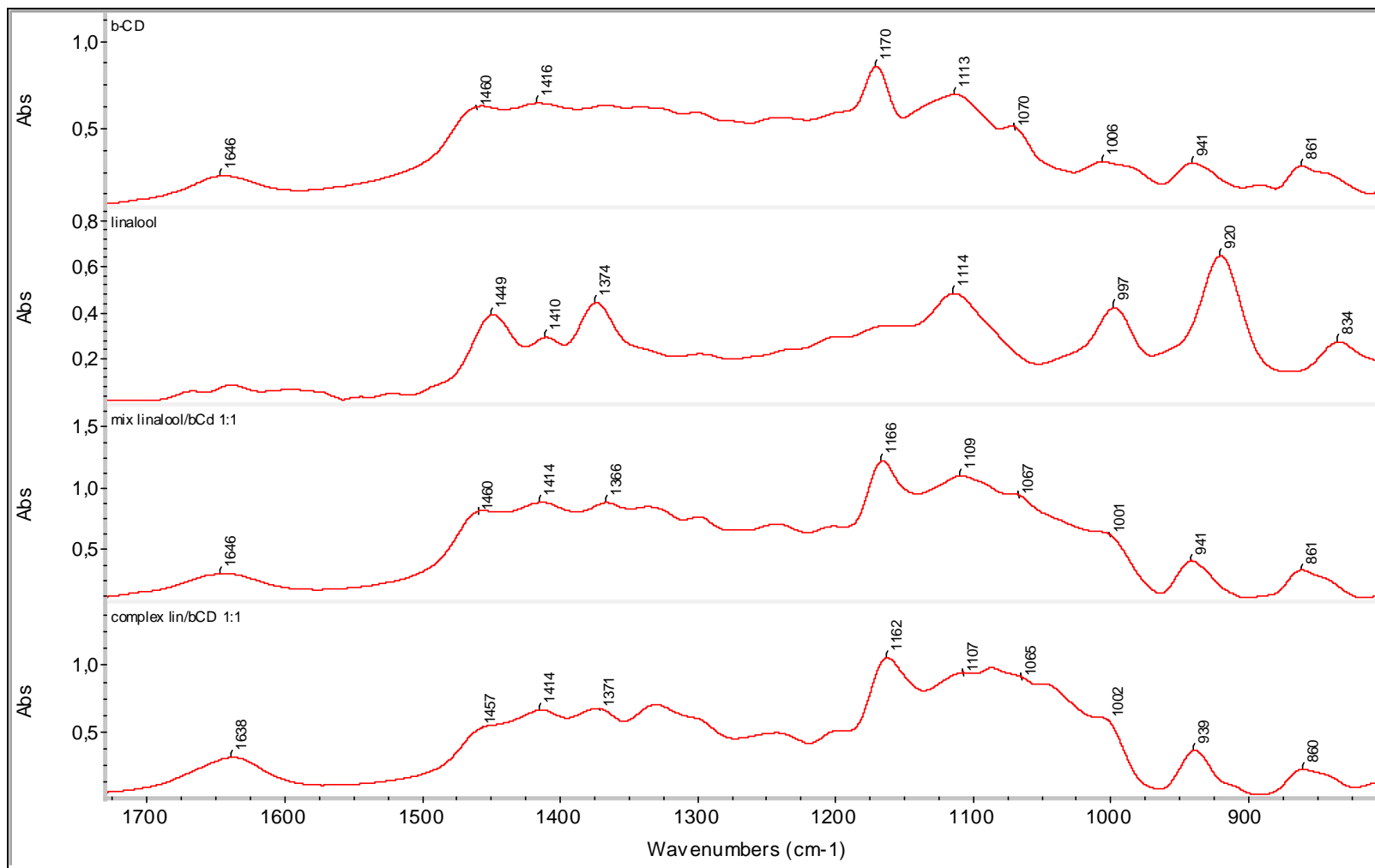


Κυματαριθμός (cm <sup>-1</sup> )	Απόδοση
1449	Ασύμμετρη παραμόρφωση –CH <sub>3</sub>
1410	Εντός επιπέδου ψαλιδισμός του –CH <sub>2</sub> –του βινυλίου
1374	Συμμετρική παραμόρφωση –CH <sub>3</sub>
1114	Τάση C-OH
997	Εκτός επιπέδου παραμόρφωση του C-H του βινυλίου
920	Παραμόρφωση του C-H
834	Εκτός επιπέδου παραμόρφωση του C-H του τριυποκατεστημένου διπλού δεσμού.

**Πίνακας 4.** Οι αποδόσεις των κορυφών της λιναλοόλης στη φασματική περιοχή 1730-800 cm<sup>-1</sup>.

Μεταξύ των φασμάτων του μίγματος και του συμπλόκου στη φασματική περιοχή 1730 - 800 cm<sup>-1</sup> οι διαφορές εντοπίζονται κυρίως στη υφή του φάσματος και στις εντάσεις των κορυφών. Οι διαφορές αυτές εντοπίζονται και από τη σύγκριση των φασμάτων του μίγματος και του συμπλόκου με αυτό της β-κυκλοδεξτρίνης. Συγκεκριμένα, ότι το φάσμα του μίγματος παρουσιάζει ομοιότητα ως προς αυτό της β-κυκλοδεξτρίνης κατά 83,62 % ενώ το αντίστοιχο του συμπλόκου κατά 60,15 %. Δηλαδή τα φάσματα του μίγματος και του συμπλόκου διαφέρουν σημαντικά. Η διαπίστωση αυτή συνηγορεί στο ότι σχηματίστηκε προϊόν εγκλεισμού λιναλοόλης σε β-κυκλοδεξτρίνη.

### Φασματοσκοπία FTIR



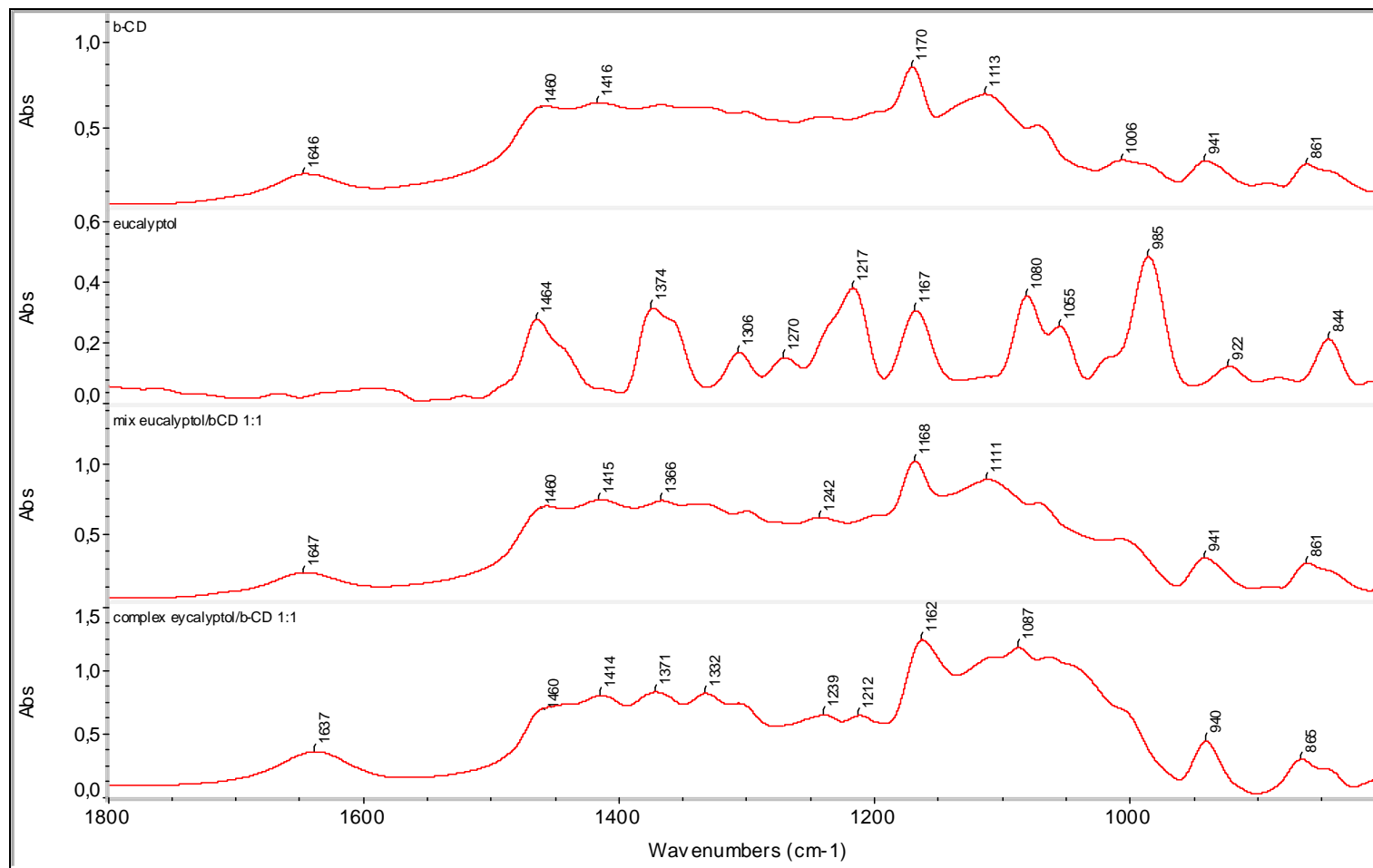
Διάγραμμα 3. *FT-IR φάσματα β-κυκλοδεξτρίνης, λιναλοόλης, μίγματος β-κυκλοδεξτρίνης – λιναλοόλης και συμπλόκου β-κυκλοδεξτρίνης – λιναλοόλης στη περιοχή 1730 – 800 cm<sup>-1</sup>.*

**Προϊόν εγκλεισμού ευκαλυπτόλης σε β-κυκλοδεξτρίνη**

Στο διάγραμμα 4 παρουσιάζεται η πλέον ενδιαφέρουσα φασματική περιοχή από τα 1800 έως τα 800  $\text{cm}^{-1}$ . Οι αποδόσεις των πλέον αξιόλογων κορυφών της β-κυκλοδεξτρίνης και της ευκαλυπτόλης παρουσιάζονται στο πίνακα 4.

Κυματαριθμός ( $\text{cm}^{-1}$ )	Απόδοση
1464	Ασύμμετρη παραμόρφωση του $-\text{CH}_3$ και ψαλιδισμός του $-\text{CH}_2-$
1374	Συμμετρική παραμόρφωση του $-\text{CH}_3$
1306	C-H κυκλικών
1270	Τάση C-O
1217	$-\text{C}(\text{CH}_3)_2-$
1167	Τάση C-C του $-\text{C}(\text{CH}_3)_2-$
1080	Ασύμμετρη τάση του C-O-C
1055	C-H κυκλικών
985	Ασύμμετρη τάση C-O
922	C-H κυκλικών
844	Σκελετική δόνηση C-C του $-\text{C}(\text{CH}_3)_2-$

**Πίνακας 5.** Οι αποδόσεις των κορυφών της ευκαλυπτόλης στη φασματική περιοχή 1800-800  $\text{cm}^{-1}$ .



**Διάγραμμα 4.** FT-IR φάσματα β-κυκλοδεξτρίνης, ευκαλυπτόλης, μίγματος β-κυκλοδεξτρίνης – ευκαλυπτόλης και συμπλόκου β-κυκλοδεξτρίνης – ευκαλυπτόλης στη περιοχή 1800 – 800 cm<sup>-1</sup>.

Μεταξύ των φασμάτων του μίγματος και της ένωσης συναρμογής της β-κυκλοδεξτρίνης στη φασματική περιοχή  $1800 - 800 \text{ cm}^{-1}$  οι διαφορές εντοπίζονται κυρίως στη υφή του φάσματος και στις εντάσεις των κορυφών. Οι διαφορές αυτές εντοπίζονται και από την σύγκριση των φασμάτων του μίγματος και του συμπλόκου με αυτό της β-κυκλοδεξτρίνης. Συγκεκριμένα το φάσμα του μίγματος παρουσιάζει ομοιότητα ως προς αυτό της β-κυκλοδεξτρίνης κατά 93,90 % ενώ το αντίστοιχο του συμπλόκου κατά 57,92 %. Δηλαδή τα φάσματα του μίγματος και του συμπλόκου διαφέρουν σημαντικά. Η διαπίστωση αυτή συνηγορεί στο ότι σχηματίστηκε προϊόν εγκλεισμού ευκαλυπτόλης σε β-κυκλοδεξτρίνη.

## Συμπεράσματα και συζήτηση

Λόγω του αυξημένου ποσοστού σε ευκαλυπτόλη και καμφορά καθώς και μειωμένου ποσοστού σε οξικό λιναλολεστέρα στο χρωματογράφημα, συμπεραίνουμε ότι η λεβάντα που μελετούμε ανήκει στο είδος *L.latifolia*.

Οι μελέτες με φασματοσκοπία FT-IR έδειξαν ότι είναι εφικτός και σχετικά εύκολος ο εγκλεισμός των τριών κυριότερων συστατικών του αιθερίου ελαίου της λεβάντας *L.latifolia*, σε β-κυκλοδεξτρίνη.

Στην περίπτωση, μάλιστα, της καμφοράς που είναι ιδιαίτερα πτητική ένωση παρατηρήθηκε ο περιορισμός της πτητικότητάς της μέσω του εγκλεισμού σε β-κυκλοδεξτρίνη.

Καταλήγουμε επομένως στο συμπέρασμα ότι η ανάμειξη του αιθερίου ελαίου με β-κυκλοδεξτρίνη θα οδηγήσει στον εγκλεισμό τουλάχιστον των κυριότερων συστατικών του με αποτέλεσμα

- 1) Την αύξηση της διαλυτότητάς τους έτσι ώστε να μπορούν να παρασκευασθούν προϊόντα κατάλληλα για την βιομηχανία
- 2) Την προστασία τους από οξειδώσεις
- 3) Την ελάττωση της πτητικότητάς τους
- 4) Την αργή απελευθέρωσή τους

Ως επόμενο βήμα της παρούσας μελέτης προτείνεται η ανάμειξη αιθερίου ελαίου λεβάντας με β-κυκλοδεξτρίνη και η μελέτη των φυσικοχημικών ιδιοτήτων του προϊόντος αυτού, με χρωματογραφικές, φασματοσκοπικές και άλλες τεχνικές.

## Βιβλιογραφία

- Adams, R. (2007). Identification of Essential Oil Components by Gas Chromatography/ Mass Spectrometry. Illinois,USA. Allured Publishing Corporation.
- Balchin, M. L. (2002). Lavender, The genus *Lavandula*. New York. Taylor & Francis.
- Bajaj, Y. P. S. (1991). Medicinal and Aromatic Plants, vol.III. Berlin. Springer-Verlag.
- Bhandari, B.R. & D'Arcy, B. R. & Padukta, I. (1999). Encapsulation of Lemon Oil by Paste Method Using  $\beta$ -Cyclodextrine: Encapsulation Efficiency and Profile of Oil Volatiles. *J. Agric.Food. Chem.* , 47, 5194-5197.
- Breitmaier, E. (2006). Terpenes, (Flavors, Fragrances, Pharmaca, Pheromones). Weinheim. Wiley.
- Bruneton, J.(1999). Pharmacognosy, Phytochemistry, Medicinal Plants. Paris. Tec&Doc.
- D'Amelio, F. S. (1999). Botanicals, A Phytocosmetic Desk Reference. USA. CRC.
- Dodziuk, H. (2006). Cyclodextrins and their complexes. Weinheim. Wiley.
- Donze, C. & Coleman, A.W. (1993).  $\beta$ -CD Inclusion Complexes: Relative Selectivity of Terpene and Aromatic Guest Molecules Studied by Competitive Inclusion Experiments. *Journal of Inclusion Phenomena and Molecular Recognition in Chemistry*, 16, 1-15.
- Kokkinou, A. & Tsorteki, Fr. & Chiniadis, L. & Bethanis, K. & Mentzafos, D. (2007). The inclusion compounds of (R)- and (S)- camfor in  $\beta$ -Cyclodextrin studied by X-ray crystallography and FTIR. *J. Inclusion Phenom. Macrocyclic Chem.*
- König, W. A. (1998). Enantioselective Capillary Gas Chromatography in the Investigation of Stereochemical Correlations of Terpenoids.(1998). *Chirality*, 10, 499-504.
- Lavagnini, I. & Magno, F. & Seraglia, R. & Traldi, P. (2007). Quantitative Applications of Mass Spectrometry. England. Wiley.
- Martin Del Valle,E. M. (2004). Cyclodextrins and their uses: a review. *Process Biochemistry*, 39, 1033-1046.

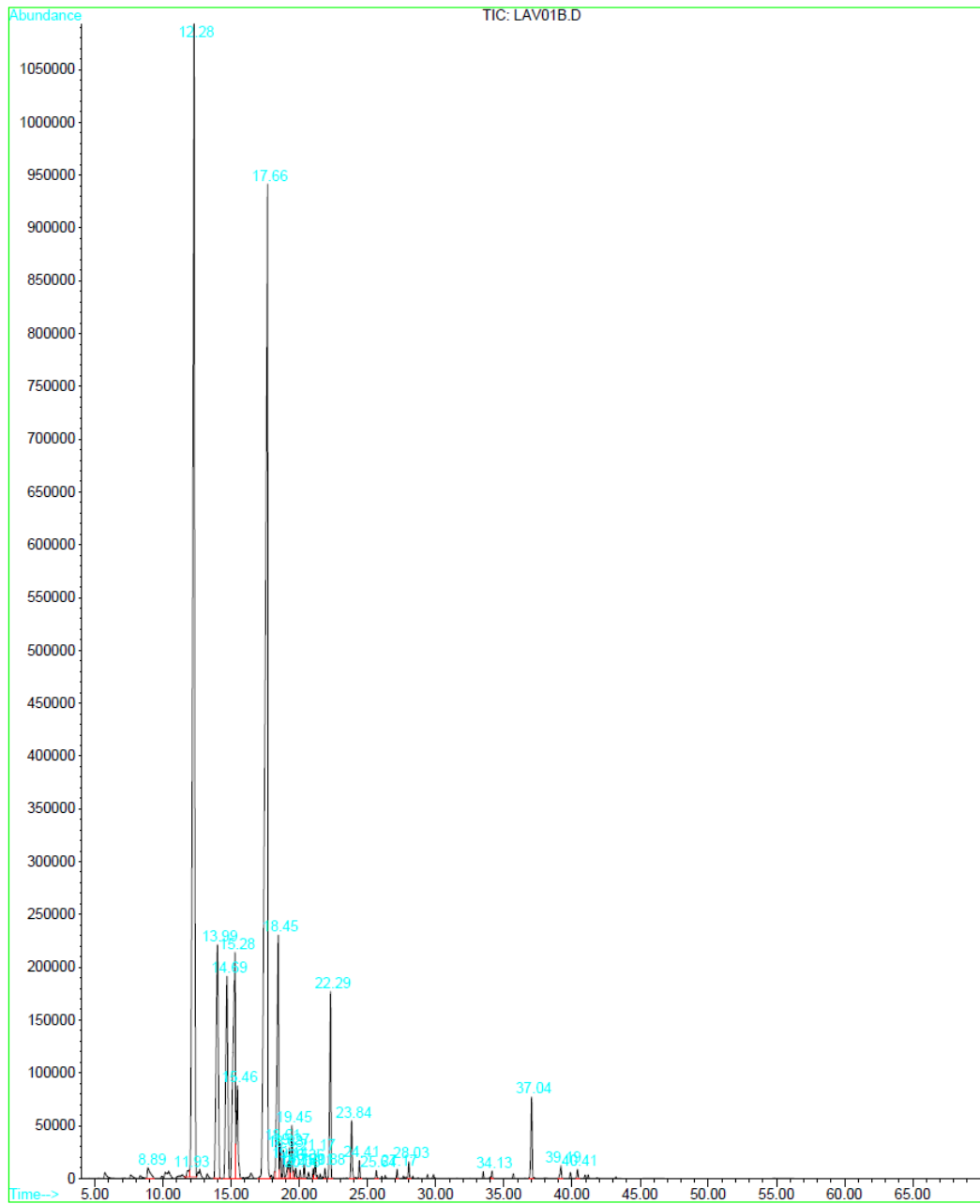
- McMurry, J. (2005). Οργανική Χημεία, τόμ. ΙΙ. Ηράκλειο. Πανεπιστημιακές Εκδόσεις Κρήτης.
- Parissakis, G.(1966). *Chromatographie et Méthodes de Séparation immediate*. Athens. Union of the Greek Chemists.
- Pengelly, A. (2004). *The Constituents of Medicinal Plants*. UK. CABI.
- Pybus, D. H. & Sell, C.S. (1999). *The Chemistry of Fragrances*. Cambridge. The Royal Society of Chemistry.
- Samuelsson, G. (2004). *Φαρμακευτικά προϊόντα φυσικής προελεύσεως*. Ηράκλειο. Πανεπιστημιακές Εκδόσεις Κρήτης.
- Schoffstall, A. M. & Gaddis, B. A. & Druelinger, M. L. (2004). *Microscale and Miniscale Organic Chemistry*. New York. McGraw Hill.
- Seigler, D. S. (1998). *Plant Secondary Metabolism*. USA. Kluwer Academic Publishers.
- Soldatov, D.V. & Terekhova, I. S. (2005). *Supramolecular Chemistry and Crystall Engineering*. *Journal of Structural Chemistry*, 46, S1-S8.
- Szejtli J. (2004). *Molecular encapsulation by Cyclodextrins*. Cyclolab Ltd. Budapest.
- Tobitsuka, K. & Miura, M. & Kobayashi, S. (2005). *Interaction of Cyclodextrines with aliphatic Acetate Esters and Aroma Components of La France Pear*. *J.Agric. Food. Chem.* 53, 5402-5406.
- Van Wyk, B. & Wink, M.(2005). *Medicinal Plants of the World*. Oregon, USA. Timber Press.
- Vermerris, W.& Nicolson, R. (2008). *Phenolic Compounds Biochemistry*. Springer.
- Von Schneider, H. (1991). *Mechanismen der molekularen Erkennung-Untersuchungen an organischen Wirt-Gast-Komplexen*. *Angewandte Chemie*, 11, 1419-1548
- Μαρίνος-Κουρής, Δ. & Παρλιάρου-Τσάμη, Ε. (1994). *Ασκήσεις Φυσικών Διεργασιών*. Αθήνα. Παπασωτηρίου.
- Παπαδογιάννης, Ι.Ν. & Σαμανίδου, Β. Φ. (1996). *Ενόργανη Χημική Ανάλυση*. Θεσσαλονίκη.
- Πολυμένης, Σ. (1985). *Οργανική Χημεία*. Αθήνα.



- Πολυσίου, Μ. Γ. & Ταραντίλης, Π. Α. (2007). Ενόργανη Ανάλυση Φυσικών Προϊόντων. Αθήνα.
- Σκρουμπής, Β. Γ. (1964). Αέριο-Υγροχρωματογραφία. Αθήνα.
- Σκρουμπής, Β. Γ. (1998). Αρωματικά, Φαρμακευτικά και Μελισσοτροφικά φυτά της Ελλάδας. Αθήνα. Αγροτύπος.

## Παράρτημα

File : C:\HPCHEM\1\DATA\LAV01B.D  
 Operator : Xaris  
 Acquired : 22 Jul 08 13:48 using AcqMethod CHRISTOS  
 Instrument : GC/MS Ins  
 Sample Name: lavender essential oil  
 Misc Info : HD lavender essential oil 1/100 Acetone  
 Vial Number: 1



Δείγμα 2

## Area Percent Report

Data File : C:\HPCHEM\1\DATA\LAV01B.D Vial: 1  
 Acq On : 22 Jul 08 13:48 Operator: Xaris  
 Sample : lavender essential oil Inst : GC/MS Ins  
 Misc : HD lavender essential oil 1/100 Acetone Multiplr: 1.00  
 Sample Amount: 0.00

MS Integration Params: EVENTS5.E

Method : C:\HPCHEM\2\METHODS\ENVDEF.M (Chemstation Integrator)  
 Title :

Signal : TIC

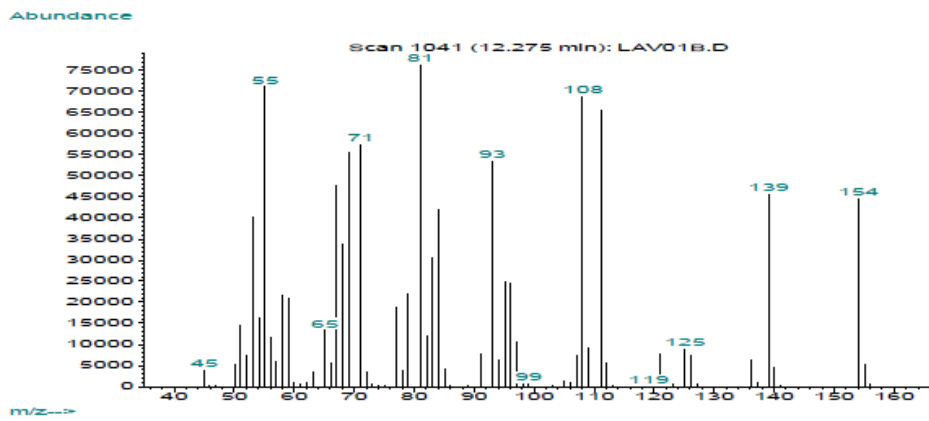
peak #	R.T. min	first scan	max scan	last scan	PK TY	peak height	raw area	corr. area	corr. % max.	% of total
1	8.896	596	614	672	BB 8	9901	1550496	1547344	1.30%	0.422%
2	11.927	954	997	999	BV 10	6724	760842	745496	0.63%	0.203%
3	12.275	999	1041	1065	VV 2	1082575	112022443	111907990	94.19%	30.540%
4	13.993	1224	1258	1284	BB 3	221272	25437710	25433947	21.41%	6.941%
5	14.689	1314	1346	1373	BV 2	191283	19864225	19864225	16.72%	5.421%
6	15.283	1373	1421	1430	PV 4	213977	26199702	26197684	22.05%	7.149%
7	15.457	1430	1443	1475	VV 6	87768	7557910	7149138	6.02%	1.951%
8	17.665	1630	1722	1751	BV 2	937376	118816731	118816731	100.00%	32.425%
9	18.449	1791	1821	1831	VV 4	228747	18819251	18758298	15.79%	5.119%
10	18.607	1831	1841	1855	VV 3	33076	1773380	1718034	1.45%	0.469%
11	18.836	1855	1870	1884	PV 4	26255	1338616	1336261	1.12%	0.365%
12	19.145	1884	1909	1916	VV 5	15559	1071355	1060844	0.89%	0.290%
13	19.272	1916	1925	1933	VV 5	28486	1381596	1343937	1.13%	0.367%
14	19.454	1933	1948	1959	VV 5	49967	3171109	3135813	2.64%	0.856%
15	19.747	1973	1985	2013	VB 9	9347	634208	615091	0.52%	0.168%
16	20.055	2014	2024	2039	BB 6	7514	345663	339890	0.29%	0.093%
17	20.356	2048	2062	2075	BB 5	14056	708084	708084	0.60%	0.193%
18	21.013	2134	2145	2153	BV 4	9210	422989	422989	0.36%	0.115%
19	21.163	2153	2164	2176	VV 4	23007	1258759	1240423	1.04%	0.339%
20	21.884	2243	2255	2266	BB 4	9474	455620	454818	0.38%	0.124%
21	22.295	2281	2307	2328	BB 2	176547	11094884	11094884	9.34%	3.028%
22	23.838	2483	2502	2534	BV 5	54588	3480030	3480030	2.93%	0.950%
23	24.408	2561	2574	2589	BB 5	16627	851002	851002	0.72%	0.232%
24	25.643	2718	2730	2750	BB 5	7383	367912	367912	0.31%	0.100%
25	27.171	2910	2923	2933	BB 4	8611	395830	395830	0.33%	0.108%
26	28.033	3017	3032	3047	BB 3	15294	785844	785844	0.66%	0.214%
27	34.135	3791	3803	3815	VB 4	7017	360395	357131	0.30%	0.097%
28	37.040	4142	4170	4187	BV 3	76895	5047286	5047286	4.25%	1.377%
29	39.185	4418	4441	4453	BB 6	11870	783959	783959	0.66%	0.214%
30	40.404	4580	4595	4611	BB 8	8563	469422	469422	0.40%	0.128%

Sum of corrected areas: 366430339

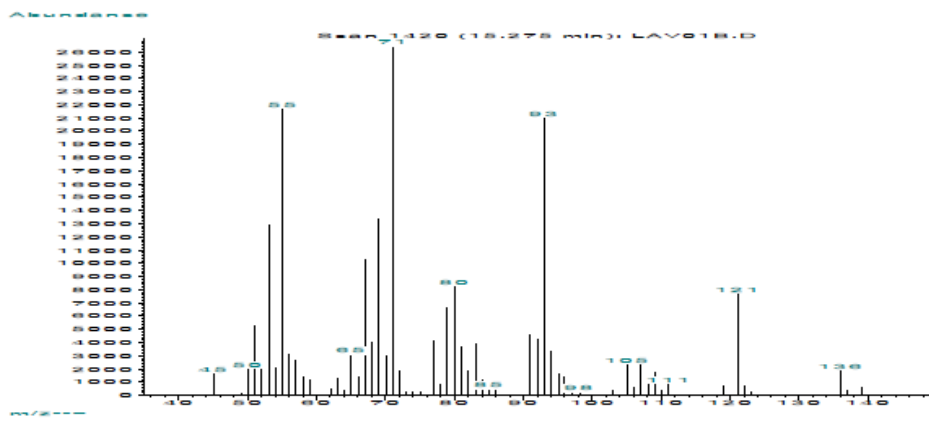
LAV01B.D ENVDEF.M

Wed Jun 30 11:05:00 2010

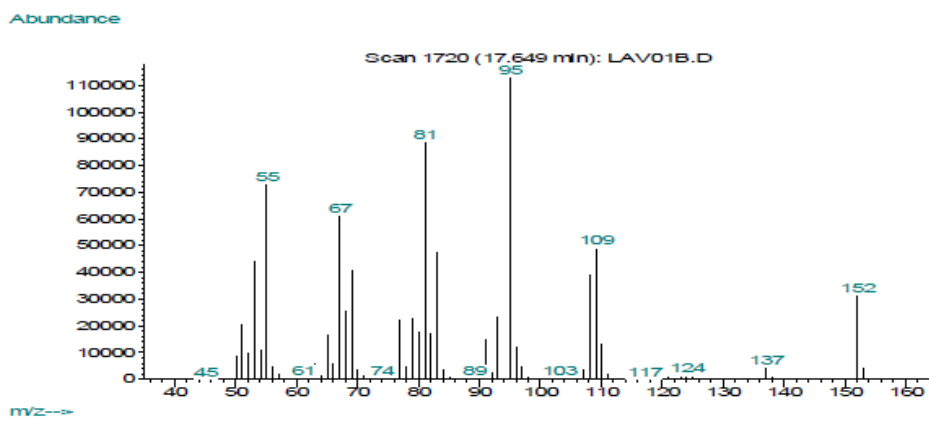
Δείγμα 2



Ευκαλυπτόλη (1,8-Κινεόλη)

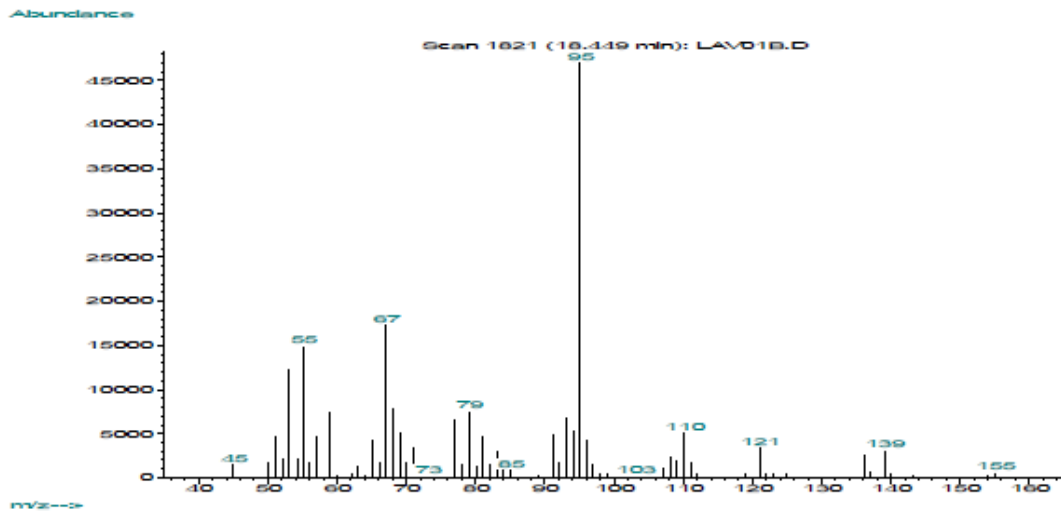


Λιναλοόλη

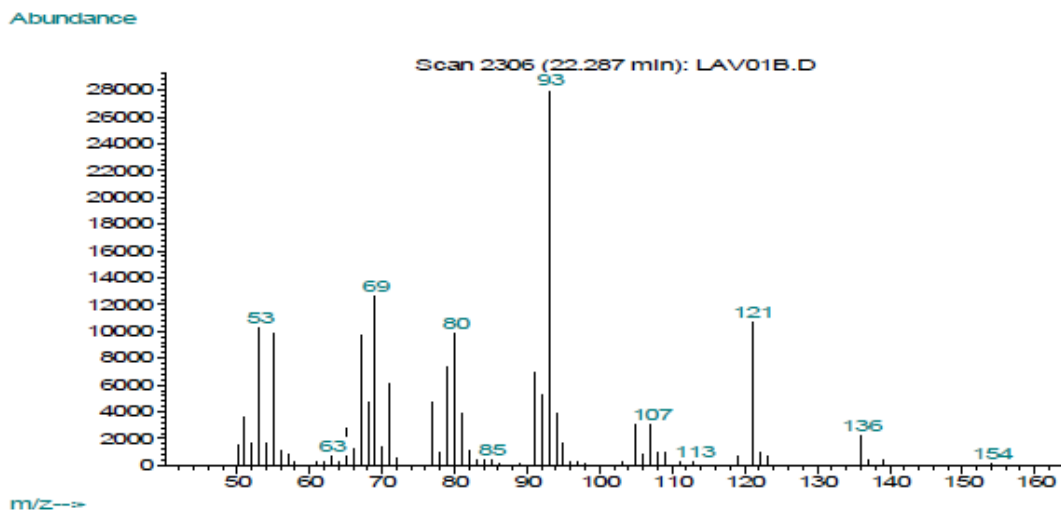


Καμφορά

Δείγμα 2



Βορνεόλη



Οξικός εστέρας της λιναλοόλης (Οξικός λιναλοολεστέρας)

Δείγμα 2