



**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ**

**ΣΧΟΛΗ ΓΕΩΠΟΝΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ**

**Τμήμα Γεωπονίας, Φυτικής Παραγωγής και Αγροτικού Περιβάλλοντος  
Εργαστήριο Ανθοκομίας και Αρχιτεκτονικής Τοπίου**

### **Πτυχιακή διατριβή**

**«Ανάπτυξη μιας μεθοδολογίας μέτρησης της περιεκτικότητας του αιθέριου  
ελαίου τριανταφυλλιάς (*Rosa damascena*) σε υδατικό εναιώρημα»**



**Επιβλέπων Επ. Καθηγητής: Χρήστος Λύκας**

**Όνομα: Γεωργία Χατζηαναγνώστου**

**A.E.M.:1677**

**Βόλος, 2019**

**«Ανάπτυξη μιας μεθοδολογίας μέτρησης της περιεκτικότητας του  
αιθέριου ελαίου τριανταφυλλιάς (*Rosa damascena*) σε υδατικό  
εναιώρημα»**

**“Development a methodology for measuring the content of *Rosa  
damascena* essential oil in aqueous suspension”**

**Επιβλέπων:**

Χρήστος Λύκας, Επίκουρος Καθηγητής Π.Θ.

**Μέλη:**

Νικόλαος Τσιρόπουλος, Καθηγητής Π.Θ.

Σπύρος Πετρόπουλος, Επίκουρος Καθηγητής Π.Θ.

## ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

Ευχαριστίες .....	4
Περίληψη .....	5
Abstract .....	6
Εισαγωγή .....	7
1. Τριανταφυλλιά <i>Rosa damascena</i> .....	7
1.1 Γενικά .....	7
1.2 Καλλιέργεια .....	8
1.3 Προϊόντα .....	11
a. Συστατικά αιθέριου ελαίου <i>Rosa damascena</i> .....	12
b. Παραλαβή αιθέριου ελαίου .....	14
c. Ποιότητα αιθέριου ελαίου .....	17
d. Νόθευση αιθέριου ελαίου .....	17
2. Γαλακτωματοποίηση .....	18
Υλικά και μέθοδοι .....	21
Αποτελέσματα και συζήτηση.....	27
Συζήτηση .....	38
Συμπέρασμα .....	40
Βιβλιογραφία .....	42

## **ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ**

Θα ήθελα να ευχαριστήσω τον επιβλέποντα Επίκουρο Καθηγητή κ. Χρήστο Λύκα για την ανάθεση αυτού του θέματος και τη δυνατότητα που μου έδωσε να ασχοληθώ με τον κλάδο των Αρωματικών φυτών και των αιθέριων ελαίων, για τις συμβουλές και τις ιδέες που προσέφερε κατά τη διάρκεια του πειράματος και για τη βοήθειά του κατά τη συγγραφή της παρούσας εργασίας.

Θα ήθελα, επίσης, να ευχαριστήσω τον Καθηγητή κ. Νικόλαο Τσιρόπουλο για την πολύτιμη βοήθειά του για να έρθει εις πέρας το πείραμα της παρούσας μελέτης, για τη βοήθεια και καθοδήγηση που μου παρείχε καθ' όλη τη διάρκεια του πειράματος, τις πολύτιμες γνώσεις που μου προσέφερε, καθώς και για την εμπιστοσύνη του στους χώρους του Εργαστηρίου Αναλυτικής Χημείας και Γεωργικής Φαρμακολογίας, όπου πραγματοποιήθηκε το πείραμα.

Τέλος, θέλω να ευχαριστήσω την στήριξη και την κατανόηση της οικογένειας μου που έδειξαν όλα τα χρόνια των σπουδών μου και την ψυχολογική στήριξη και βοήθεια των φίλων μου κατά τη διάρκεια των πειραμάτων και την συγγραφή της εργασίας.

## ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Στην παρούσα εργασία παρουσιάζεται η διαδικασία ποσοτικής μέτρησης αιθέριου ελαίου σε ροδόνερο. Το πείραμα διεξήχθη στο εργαστήριο Αναλυτικής Χημείας και Γεωργικής Φαρμακολογίας του Τμήματος Γεωπονίας, Φυτικής Παραγωγής και Αγροτικού Περιβάλλοντος.

Στα πλαίσια της μελέτης αυτής παρατίθενται γενικές πληροφορίες για την τριανταφυλλιά του είδους *Rosa damascena*, του αιθέριου ελαίου τριανταφυλλιάς και για τη γαλακτωματοποίηση. Επίσης, γίνεται περιγραφή της διαδικασίας του πειράματος και τέλος παρουσιάζονται, αναλύονται και συγκρίνονται τα αποτελέσματα.

Η τριανταφυλλιά *Rosa damascena* είναι ένα ευρέως γνωστό φυτό για την παραγωγή αιθέριου ελαίου. Το αιθέριο έλαιο είναι γνωστό για την υψηλή του ποιότητα και για τις πολλαπλές χρήσεις στην βιομηχανία τροφίμων και αρωμάτων. Η παραγωγή αιθέριου ελαίου και οι απαιτήσεις στην αγορά αυξάνονται συνεχώς. Το ροδόνερο που είναι δευτερογενές προϊόν της απόσταξης περιέχει αιθέριο έλαιο σε μικρή ποσότητα και έχει πολλές χρήσεις στην αρωματοθεραπεία και στη βιομηχανία τροφίμων.

Στην εκπόνηση του πειράματος εφαρμόστηκαν διάφορες μέθοδοι για τη διάλυση του αιθέριου ελαίου σε νερό, για τη μέτρηση απορρόφησης του διαλύματος-εναιωρήματος σε φασματοφωτόμετρο. Χρησιμοποιήθηκαν οι διαλύτες ισοπροπανόλη και τετραϋδροφουράνιο, ο γαλακτωματοποιητής TWEEN 20, λουτρό υπερήχων και εφαρμογή διαφορετικών επιπέδων θέρμανσης. Η μέτρηση της απορρόφησης πραγματοποιήθηκε σε φασματοφωτόμετρο στα μήκη κύματος 500nm, 560nm, 600 nm, 640 nm, 670 nm και 700 nm. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι καλύτερη διαδικασία για τη μέτρηση της περιεκτικότητας αιθέριου ελαίου τριανταφυλλιάς *Rosa damascena* σε υδατικό εναιώρημα ήταν η εφαρμογή θέρμανσης με χρήση γαλακτωματοποιητή TWEEN 20 στο μήκος κύματος 500 nm.

## ABSTRACT

In present study, is presented the process for measuring the content of *Rosa damascena* essential oil in aqueous suspension. The experiment carried out in the laboratory of Analytical Chemistry and Agricultural pharmacology of Department of Agriculture Crop Production and Rural Environment.

*Rosa damascena* is a well-known plant for the production of essential oil. The essential oil is popular for its high quality and multiple uses in food and fragrance industry. The essential oil production and market requirements are constantly increasing. The rose water, which is secondary distillate contains traces of essential oil and it is used in aromatic treatment and food industry.

In the experiment various methods have been applied to dissolve the essential oil in water, to measure the absorbance of the solution using spectrophotometer. In the experiment were used the solvents isopropanol and tetrahydrofuran (THF), the emulsifier TWEEN 20, ultrasonic bath and different heating levels. The measurements were made on the spectrophotometer at wavelengths 500 nm, 560 nm, 600 nm, 640 nm, 670 nm and 700 nm. The results showed that the best technique for measuring the content of *Rosa damascena* essential oil in aqueous suspension was the heating application using the emulsifier TWEEN 20 at the wavelength 500 nm.

## ΕΙΣΑΓΩΓΗ

### 1. Τριανταφυλλιά *Rosa damascena*, Οικ. Rosaceae

#### 1.1 Γενικά

Η τριανταφυλλιά αποτελεί ένα από τα πιο γνωστά φυτά σε όλο τον κόσμο. Οι κυριότερες καλλιέργειες βρίσκονται στο Ιράν, στη Τουρκία, στη Βουλγαρία, στη Γαλλία και σε μικρότερες εκτάσεις στο Μαρόκο, στη Ρωσία και στην Ινδία.

Η τριανταφυλλιά ανήκει στην οικογένεια Rosaceae και το είδος που καλλιεργείται για την παραγωγή αιθέριου ελαίου είναι κυρίως το *Rosa damascena*. Άλλα είδη που καλλιεργούνται σε μικρότερη έκταση για την παραγωγή αιθέριου ελαίου είναι το *Rosa centifolia* και *Rosa gallica*. Είναι ένα ανθεκτικό, πολυετές και θαμνώδες φυτό με μεγάλο ριζικό σύστημα. Φτάνει περίπου στα ένα με δύο μέτρα.

Το είδος *Rosa damascena* πιθανώς να προέρχεται από τη διασταύρωση του *Rosa gallica*, το οποίο είναι αυτοφυές στα βουνά του Καυκάσου, με το *Rosa moschata* ή με το *Rosa Phoenicia*. Το είδος αυτό είναι γνωστό από την αρχαιότητα και υπάρχουν ενδείξεις ότι προήλθε από την Ασία. Πιθανολογείται ότι στην Ευρώπη διαδόθηκε από τους Σταυροφόρους και έκτοτε καλλιεργείται για τις φαρμακευτικές ιδιότητες του αιθέριου ελαίου της.

Η τριανταφυλλιά *Rosa damascena* καλλιεργείται σε Ιράν, Βουλγαρία και Τουρκία κυρίως και τα τελευταία χρόνια και στην Ελλάδα, στο νομό Κοζάνης. Η τριανταφυλλιά *Rosa damascena* καλλιεργείται στην Τουρκία για 120 χρόνια και ονομάζεται “Isparta Rose” και στη Βουλγαρία για 340 χρόνια περίπου και ονομάζεται “Kazanlak Rose” και τα αιθέρια έλαια που παράγονται είναι γνωστά στην αγορά ως Τούρκικο ροδέλαιο και Βουλγάρικο ροδέλαιο, αντίστοιχα. Είναι φυτό πολυετές, ανθεκτικό, με μεγάλο ριζικό σύστημα. Τα άνθη έχουν χρώμα ροζ και είναι τα πιο αρωματικά στον κόσμο.

Η περίοδος άνθισης είναι από τον Μάιο μέχρι τον Ιούνιο και ανθοφορεί πάνω στα ετήσια στελέχη των φυτών και για το λόγο αυτό έχουν μικρή περίοδο ανθοφορίας.

Η ανθοφορία ξεκινάει το δεύτερο έτος της και έρχεται σε πλήρη απόδοση το τέταρτο έτος. (Γεωργακοπούλου-Βογιατζή, 2009). Η απόδοση σε ροδοπέταλα κυμαίνεται από 200-500 κιλά το στρέμμα και εξαρτάται από τη ποικιλία του καλλιεργούμενου φυτού, τις εδαφικές και καιρικές συνθήκες που επικρατούν και τις αγρονομικές τεχνικές στην καλλιέργεια. Οι αποδόσεις σε αιθέριο έλαιο κυμαίνονται

από 0,01%-0,05%. Για την παραγωγή ενός λίτρου ροδέλαιου απαιτούνται 3-5 τόνοι ροδοπέταλα.

Το αιθέριο έλαιο της *Rosa damascena* που παράγεται είναι πολύ γνωστό παγκοσμίως και έχει πολλές χρήσεις. Χρησιμοποιείται στην βιομηχανίες αρωμάτων και τροφίμων, στην αρωματοθεραπεία και έχει πολλές φαρμακευτικές ιδιότητες. Είναι ένα ευρέως γνωστό πολύτιμο αιθέριο έλαιο και οι απαιτήσεις στην αγορά έχουν αυξηθεί παγκοσμίως.

Στο Ιράν βρίσκεται η μεγαλύτερη παραγωγή τριαντάφυλλων *Rosa damascena*. Η ποιότητα του παραγόμενου ροδόενου στην περιοχή του Kashan στο Ιράν είναι από τις υψηλότερες παγκοσμίως. Στην καρδιά της ερήμου καλλιεργείται τριαντάφυλλο με 2-3 αρδεύσεις ετησίως και εύρος αποδόσεων σε λουλούδια από 2-7 τόνους ανά εκτάριο.

Ο σκοπός της εργασίας είναι η δημιουργία μιας μεθόδου η οποία να μπορεί με μια απλή εργαστηριακή τεχνική (φασματοφωτομετρία) να εκτιμήσει την περιεκτικότητα μιας μικρής ποσότητας αιθέριου ελαίου σε ροδόενο *Rosa damascena*. Το ροδόενο το οποίο είναι δευτερογενές προϊόν της απόσταξης των ροδοπέταλων είναι αρωματισμένο επειδή περιέχει ίχνη αιθέριου ελαίου. Επειδή είναι δύσκολο να μετρηθεί φασματοφωτομετρικά χωρίς τη δημιουργία γαλακτώματος χρειάζεται να ακολουθηθούν κάποιες τεχνικές διάλυσης του αιθέριου ελαίου σε νερό για την αποτελεσματικότερη μέτρησή του.

## 1.2 Καλλιέργεια

Η φύτευση γίνεται σε υψόμετρο πάνω των 600 μέτρων και δεν επιθυμεί έντονα καιρικά φαινόμενα και δυνατούς ανέμους γιατί μπορεί να βλάψουν τα μπουμπούκια τον Μάρτιο και τα άνθη το Μάιο. Η τοποθεσία φύτευσης πρέπει να είναι προσεκτικά μελετημένη γιατί αν και τα φυτά είναι ανθεκτικά τους χειμερινούς μήνες, την περίοδο εμφάνισης των μπουμπουκιών το Μάρτιο είναι ευαίσθητα στις χαμηλές θερμοκρασίες και τους παγετούς. Η ευαισθησία στη θερμοκρασία εξαρτάται από το στάδιο ανάπτυξης των φυτών. Γενικά, οι τριανταφυλλιές καλλιεργούνται σε ένα εύρος θερμοκρασιών ημέρας από 20°C έως 30°C και νύχτας 18°C έως 20°C. Εάν η θερμοκρασία νύχτας είναι χαμηλή (10-12°C) κατά τη διάρκεια της άνθισης μειώνεται η ποιότητα του αιθέριου ελαίου.

Η σχετική υγρασία της ατμόσφαιρας τους μήνες της ανθοφορίας πρέπει να είναι πάνω από 60% για να μην υπάρξει εξάτμιση του αιθέριου ελαίου από τα πέταλα και



στη συνέχεια υποβάθμιση της παραγωγής. Οι καιρικές συνθήκες επηρεάζουν την παραγωγή κατά την περίοδο βλάστησης. Έχει βρεθεί ότι χαμηλή ένταση φωτισμού με χαμηλή θερμοκρασία και 88% σχετική υγρασία αυξάνει την παραγωγή των άνθων *Rosa damascena* και τη ποσότητα και ποιότητα του αιθέριου ελαίου.

Η *Rosa damascena* πολλαπλασιάζεται αγενώς κυρίως με μοσχεύματα και με εμβολιασμό (ενοφθαλμισμό ή εκκεντρισμό). Τα μοσχεύματα αποτελούν την οικονομικότερη και ευκολότερη μέθοδο. Οι παράγοντες από τους οποίους εξαρτάται η επιτυχία της ριζοβολίας των μοσχευμάτων είναι η ηλικία και το τμήμα του μοσχεύματος, η εποχή κοπής, οι συνθήκες ανάπτυξης (υπόστρωμα, θερμοκρασία, υγρασία) και η χρήση ρυθμιστών ανάπτυξης.

Τα μοσχεύματα προέρχονται από στελέχη 1 έτους και κόβονται λίγο πριν την ξυλοποίησή τους σε μήκος περίπου 20-25cm και διάμετρο 0,75–1,25cm. Η ριζοβολία τους επιτυγχάνεται 3 μήνες μετά την φύτευση τους και η μεταφύτευση τους πραγματοποιείται 9-12 μήνες μετά. Σε γενικές γραμμές η ιδανική θερμοκρασία για την επιτυχή ριζοβολία των μοσχευμάτων αλλά και την ανάπτυξη τους είναι 19-27°C. Επιπροσθέτως, για τη ριζοβολία των μοσχευμάτων απαιτείται καλός φωτισμός και σχετική υγρασία ατμόσφαιρας πάνω από 60%.

Η κατάλληλη εποχή φύτευσης των ριζωμένων μοσχευμάτων είναι από τον Νοέμβριο μέχρι νωρίς την άνοιξη. Οι αποστάσεις φύτευσης ποικίλουν ανάλογα με τη ποικιλία και το έδαφος, όμως συνήθως βέλτιστη ανάπτυξη της καλλιέργειας παρουσιάζεται σε αποστάσεις 1,5\*1,5 μέτρα.

Οι τριανταφυλλιές αναπτύσσονται καλά σε ελαφρώς όξινα εδάφη με εύρος pH από 6 έως 7,5. Τα ασβεστούχα εδάφη δεν είναι κατάλληλα για την καλλιέργεια ειδικά όταν το νερό άρδευσης είναι αλκαλικό.

Η σωστή λίπανση είναι απαραίτητη για τη σωστή ανάπτυξη του φυτού και την παραγωγή καλής ποιότητας άνθων και αιθέριου ελαίου. Η συγκέντρωση των βασικών θρεπτικών στοιχείων του εδάφους μειώνεται αισθητά κατά τη διάρκεια της έκπτυξης των οφθαλμών μέχρι την πλήρη ανθοφορία. Η συνήθης πρακτική είναι βασική λίπανση με κοπριά και λιπάσματα πλούσια σε κάλιο και φώσφορο, ώστε να εξασφαλίζεται η σωστή τροφοδότηση στοιχείων στο φυτό. Εφαρμογές με άζωτο (N) γενικά αυξάνουν τη απόδοση σε αιθέριο έλαιο καθώς με αυτό το τρόπο αυξάνεται η απόδοση σε άνθη. Το άζωτο εφαρμόζεται σε δύο δόσεις, η πρώτη στο κλάδεμα και η δεύτερη 15 μέρες μετά. Κατάλληλες στο έδαφος συγκεντρώσεις των NO<sub>3</sub>-N είναι 35-180 ppm, NH<sub>4</sub>-N είναι 0-20 ppm, P είναι 5-50 ppm και K είναι 50-300 ppm. Στη Βουλγαρία έχει

εκτιμηθεί ότι συγκομίζονται ετησίως 64 kg άζωτο, 8,7 kg φωσφόρος και 36 kg κάλιο ανά εκτάριο. Πείραμα που πραγματοποιήθηκε στο CSIR-Institute of Himalayan Bioresource Technology στο οποίο πραγματοποιήθηκε εφαρμογή διαφόρων πρακτικών λίπανσης απέδειξε ότι με εφαρμογή λιπάσματος 90:80:90 kg NPK ανά εκτάριο υπάρχει μεγαλύτερη παραγωγή λουλουδιών και παράγεται περισσότερο αιθέριο έλαιο. Η σωστή διαχείριση των συστατικών των λιπασμάτων είναι σημαντική για την ισορροπία της παραγωγής άνθων και την παραγωγή υψηλής ποιότητας αιθέριο έλαιο. Προτείνεται ανάλυση εδάφους και φυλλοδιαγνωστική για τις ακριβείς ποσότητες των απαιτήσεων.

Η καλλιέργεια του φυτού *Rosa damascena* έχει απαιτήσεις σε νερό τόσο στο στάδιο της βλαστικής ανάπτυξης όσο και στο στάδιο της ανθοφορίας. Η διατήρηση της υγρασίας του εδάφους κατά την διάρκεια της καλλιεργητικής περιόδου στο 85% της υδατοϊκανότητας έχει ως αποτέλεσμα την υψηλότερη απόδοση σε άνθη. Η άρδευση κατά τη διάρκεια του καλοκαιριού μπορεί να είναι μία φορά τη βδομάδα και κατά τη διάρκεια του χειμώνα μία φορά το δεκαπενθήμερο. Σε πολλές περιοχές η καλλιέργεια της *Rosa damascena* είναι μη αρδευόμενη. Η καλλιέργεια ροδώνων επωφελείται από την υγρασία και τις βροχές, ανάλογα με τις κλιματολογικές συνθήκες των περιοχών. Όταν επικρατούν άφθονες βροχές παράγονται άνθη με περισσότερο αιθέριο έλαιο.

Το κλάδεμα επηρεάζει την απόδοση των φυτών και εξαρτάται από την ποικιλία, το κλίμα και τη πρακτική της καλλιέργειας. Το ετήσιο κλάδεμα, το οποίο πραγματοποιείται 45-60 cm από το έδαφος, είναι απαραίτητο για την παραγωγή νέας βλάστησης και τη διαμόρφωση των θάμνων. Συνιστάται ελαφρύ και ήπιο κλάδεμα το οποίο έχει θετική επίδραση στο βάρος των πετάλων και την περιεκτικότητά τους σε αιθέριο έλαιο. Η ανθοφορία ξεκινάει περίπου 70-90 μέρες μετά το κλάδεμα.

Η περίοδος συγκομιδής ξεκινά από το πρώτο δεκαπενθήμερο του Μαΐου και διαρκεί από δύο έως πέντε εβδομάδες ανάλογα με τις καιρικές συνθήκες. Οι καιρικές συνθήκες επηρεάζουν άμεσα την ποιότητα και την ποσότητα της παραγωγής. Η συγκομιδή μπορεί να διαρκέσει μόνο δυο εβδομάδες εάν ο καιρός είναι ξηρός και ζεστός. Αντίθετα η συγκομιδή μπορεί να διαρκέσει έως έξι εβδομάδες εάν ο καιρός είναι δροσερός και με κάποιες βροχοπτώσεις. Η συγκομιδή των ανθών γίνεται τις πρωινές ώρες, από το χάραμα μέχρι την ανατολή του ηλίου, γιατί περιέχουν το μέγιστο του αιθέριου ελαίου και το δυνατότερο άρωμα. Τα άνθη πρέπει να είναι μισανοιγμένα ή ανοιχτά, πριν γίνουν ορατοί οι στήμονες. Έχει βρεθεί ότι σε αυτό το στάδιο περιέχεται το υψηλότερο ποσοστό αιθέριου ελαίου. Αντίθετα, το χαμηλότερο ποσοστό αιθέριου

ελαίου βρίσκεται σε άνθη με ανώριμα πέταλα και άθικτα σέπαλα. Τα πέταλα των λουλουδιών είναι πολύ ευαίσθητα για αυτό η συγκομιδή γίνεται με το χέρι. Για την καλύτερη απόσταξη ροδέλαιου πρέπει να αφαιρούνται οι στήμονες και να μένουν μόνο τα ροδοπέταλα. Τα άνθη πρέπει να αποστάζονται την ίδια μέρα για τη διατήρηση της υψηλής ποιότητας του αιθέριου ελαίου. Για την παραγωγή ενός λίτρου αιθέριου ελαίου απαιτούνται περίπου 3-5 τόνοι ροδοπέταλα.



Εικόνα 1: Καλλιέργεια τριαντάφυλλων *Rosa damascena*

### 1.3 Προϊόντα

- **Φυτικά προϊόντα**

Υπάρχουν προϊόντα της *Rosa damascena* όπως τα αποξηραμένα λουλούδια και τα κυνόροδα. Τα αποξηραμένα λουλούδια πωλούνται σε είδη διατροφής ως γεύση και καθαρτικές ουσίες. Τα κυνόροδα είναι τα μούρα σαν φρούτα κάτω από τα πέταλα του λουλουδιού. Είναι πλούσια σε βιταμίνες, κυρίως βιταμίνη C, μέταλλα, πολυφαινόλες, καροτενοειδή, τανίνες και λιπαρά οξέα. (Jageret al,2007; Wenziget al,2008).

- **Ροδόνηρο**

Το ροδόνηρο παράγεται κατά τη διάρκεια απόσταξης του αιθέριου ελαίου. Αποτελεί το υδατικό μέρος της απόσταξης και είναι πλούσιο σε βιταμίνες και φλαβονοειδή. Χρησιμοποιείται για τις ηρεμιστικές και χαλαρωτικές ιδιότητες και για τον αρωματισμό τροφίμων.

- **Αιθέριο έλαιο**

Το αιθέριο έλαιο είναι ένα ακριβό έλαιο που παράγεται στα πέταλα των άνθεων και εξάγεται με διάφορες εμπορικές μεθόδους. Η παραγωγή αιθέριου ελαίου *Rosa damascena* είναι ευρέως διαδεδομένη καθώς πάνω από το 50% των παγκόσμιων εταιριών αρωματοποιίας εφοδιάζονται από αυτό το έλαιο. Έχει την ισχυρή οσμή των φρέσκων τριαντάφυλλων. Χρησιμοποιείται σε καλλυντικά, φάρμακα, στην αρωματοθεραπεία και σε τρόφιμα. Έχει πολλές θεραπευτικές ιδιότητες όπως χαλαρωτικό, αντιφλεγμονώδες, αντιοξειδωτικό, αντισηπτικό, αντιβακτηριδιακό, αντικαταθλιπτικό, τονωτικό στομάχου και καρδιάς, ρυθμίζει την ακανόνιστη έμμηνο ρύση και είναι ευεργετικό ενάντια του διαβήτη και του ιού HIV. Έχει μικρή απόδοση σε αιθέριο έλαιο, όπως προαναφέρθηκε, της τάξεως 0,01%-0,05%. Λέγεται και ρευστός χρυσός εξαιτίας της υψηλής τιμής του που ανέρχεται στα 8000 € ανά κιλό αιθέριου ελαίου.

Έχει ανοιχτό κίτρινο χρώμα που μερικές φορές όμως εμφανίζει μια απαλή πρασινωπή απόχρωση. Όταν ψύχεται, μετατρέπεται σε μια διάφανη μαλακή μάζα, η οποία υγροποιείται πάλι από τη θερμότητα των χεριών. Το σημείο πήξης βρίσκεται μεταξύ 15°C και 22°C. (Κατσιώτης, Χατζοπούλου,2016). Τα τελευταία χρόνια απόδοση αιθέριου ελαίου από τη βουλγαρική αυξήθηκε από 0,032-0,049% (w/w) (Κονatchevaetal,2002). Η μορφή των άνθεων και η τοποθεσία της καλλιέργειας επηρεάζουν τη σύνθεση του ροδέλαιου. Επίσης, άλλοι παράγοντες που επηρεάζουν τη σύνθεση του αιθέριου ελαίου είναι η μέθοδος παραγωγής και οι συνθήκες αποθήκευσης των συγκομισμένων προϊόντων. Τα φυτά που αναπτύσσονται σε κρύα κλίματα παράγουν αιθέριο έλαιο με υψηλότερο ποσοστό κηρώδους ουσίας στεαροπτένιο, η οποία είναι άοσμη και χωρίς αξία συστατικό. Απαιτείται στη συνέχεια περισσότερη επεξεργασία για την απομάκρυνσή της. Τα συστατικά που βρίσκονται σε μεγαλύτερη περιεκτικότητα στο έλαιο είναι η γερανιόλη και η κιτρονελλόλη.

- a. **Συστατικά αιθέριου ελαίου *Rosa damascena***

Όλα τα συστατικά του αιθέριου ελαίου *Rosa damascena* συμβάλλουν στη διαμόρφωση του αρώματος και για αυτό το λόγο είναι δύσκολη η αντικατάστασή τους με τεχνητά αρώματα. Οι παράγοντες που επηρεάζουν τη διαφορά στη σύσταση του αιθέριου ελαίου είναι η προέλευση του φυτικού υλικού, η φύση των πετάλων των άνθεων, η μέθοδος παραλαβής του ελαίου και ο τρόπος καλλιέργειας. Τα κυριότερα συστατικά που περιέχονται στο ροδέλαιο είναι μονοτερπενικές αλκοόλες

(κιτρονελλόλη, γερανιόλη, νερόλη, λιναλοόλη, α-τερπινεόλη, τερπινεν-4-όλη). Επίσης, εμφανίζονται και αλκοόλες, υδρογονάνθρακες, αλδεΐδες, εστέρες, κετόνες, οξείδια αιθέρων, φαινόλες και σεσκιτερπένια.

**Table 2. Twenty-One Years of Turkish Gülbirlik Rose Oil (1986-2002 and 2008-2011)**

Compound	Main components (%)	
	Min.	Max.
Citronellol	30.9	43.9
Geraniol	9.3	14.4
Nonadecane	8.2	14.7
Nerol	5.2	10.7
1-nonadecene	2.0	4.9
methyl eugenol	2.1	4.0
Heneicosane	2.5	4.2
geranyl acetate	1.0	2.3
phenylethyl alcohol	1.2	2.0
β-caryophyllene	0.7	1.6
citronellyl acetate	0.7	1.4
germacrene D	0.7	1.4
Linalool	0.6	2.1
(2E, 6E)-farnesol	0.6	1.4

Εικόνα 2: Συστατικά αιθέριου ελαίου *Rosa damascena*

#### ○ **Κιτρονελλόλη (Citronellol)**

Αποτελεί το 23 με 43% της σύστασης του αιθέριου ελαίου. Είναι το βασικό συστατικό του αρώματος του τριαντάφυλλου και προσδίδει το χαρακτηριστικό γλυκό άρωμα. Πιστεύεται ότι στοιχείο υψηλής ποιότητας αιθέριου ελαίου είναι το μεγάλο ποσοστό κιτρονελλόλης. Η σύσταση της κιτρονελλόλης στο ροδέλαιο εξαρτάται από την προέλευση του φυτικού υλικού *Rosa damascena* (22-50% στο βουλγάρικο τριαντάφυλλο και 25-55% στο τούρκικο) και τη μέθοδο απόσταξης των πετάλων, όπου με τη παραδοσιακή μέθοδο είναι 25-39% και με τη βιομηχανική μέθοδο είναι 31-43%.

#### ○ **Γερανιόλη (Geraniol)**

Η γερανιόλη είναι ένα από τα κύρια συστατικά του αιθέριου ελαίου τριαντάφυλλου και αποτελεί το 2,1 με 18% της σύστασής του. Ενισχύει το άρωμα των τριαντάφυλλων, όμως σε πολύ υψηλά ποσοστά αποδίδει ένα ανεπιθύμητο άρωμα χορταριού. Το ποσοστό της γερανιόλης στο ροδέλαιο εξαρτάται, όπως και στη κιτρονελλόλη, από τη προέλευση του φυτικού υλικού (14-16% στο βουλγάρικο τριαντάφυλλο και 8-16% στο τούρκικο) και τη μέθοδο της απόσταξης των πετάλων, όπου με τη παραδοσιακή μέθοδο παρουσιάζεται 20-32% και με τη βιομηχανική 9-17%.

Πείραμα που πραγματοποιήθηκε στο CSIR-Institute of Himalayan Bioresource Technology απέδειξε ότι στα φυτά που είχε εφαρμοστεί λίπανση με 90:40:90 kg NPK ανά εκτάριο είχαν το μεγαλύτερο ποσοστό γερανιόλης στο αιθέριο έλαιό τους (26,2%). Η σχέση κιτρονελλόλης/γερανιόλης είναι ο βασικός χαρακτήρας του αιθέριου ελαίου *Rosa damascena* και χρησιμοποιείται συχνά ως μέτρο ποιότητας.

- **Νερόλη (Nerol) και άλλες αλκοόλες**

Η νερόλη αποτελεί ένα σημαντικό συστατικό του αιθέριου ελαίου τριαντάφυλλου που προδίδει φρεσκάδα στο άρωμά του και περιέχεται σε ποσοστό 0.7-7,5% στο ροδέλαιο. Η φαινυλ-αιθανόλη είναι η αλκοόλη που προσδίδει τη χαρακτηριστική μυρωδιά του τριαντάφυλλου σ' ένα ροδέλαιο. (Κατσιώτης, Χατζοπούλου, 2016). Η φαινυλ-αιθανόλη περιέχεται σε πολύ μικρά ποσοστά και λιναλοόλη εμφανίζεται σε ίχνη στο ροδέλαιο.

- **Υδρογονάνθρακες**

Οι υδρογονάνθρακες του αιθέριου ελαίου *Rosa damascena* αποτελούνται από αλκένια, αλκάνια, σεσκιτρεπένια και μονοτερπένια και αποτελούν το 20% των συστατικών του ροδέλαιου.

- **Εστέρες**

Οι εστέρες αποτελούν ένα μικρό ποσοστό των συστατικών του ροδέλαιου. Προσθέτουν φρεσκάδα στο άρωμα και έχουν στερεωτικές ιδιότητες.

- **Αλδεΐδες**

Η γερανιάλη είναι η πιο σημαντική αλδεΐδη στο αιθέριο έλαιο. Έχει επίδραση στο άρωμα του ροδέλαιου και είναι διαλυτή στο νερό.

## **b. Παραλαβή αιθέριου ελαίου**

Το αιθέριο έλαιο *Rosa damascena* παραλαμβάνεται με τη μέθοδο της απόσταξης. Η απόσταξη είναι η πιο απλή και οικονομική μέθοδος παραλαβής αιθέριων ελαίων. Οι αγρότες από παλιά χρησιμοποιούσαν μικρούς αποστακτήρες χωρητικότητας 12-15 κιλών τριαντάφυλλων. Λόγω της αύξησης της παραγωγής και των αναγκών πλέον χρησιμοποιούνται μεγάλοι, σύγχρονοι και βελτιωμένοι αποστακτήρες ατμού. Τα τελευταία χρόνια χρησιμοποιούνται τριών ειδών αποστάξεις: η παραδοσιακή υδροαπόσταξη, η σύγχρονη απόσταξη γυμνής φλόγας και οι αποστακτήρες με χρήση ατμού.

Στην απόσταξη το φυτικό υλικό που πρόκειται να αποσταχθεί τοποθετείται στον άμβυκα αποστάξεως. Το αιθέριο έλαιο αποστάζεται με το νερό που βρίσκεται

στον άμβυκα και έρχεται σε άμεση επαφή με το φυτικό υλικό ή με τη διοχέτευση ατμών. Η θέρμανση του άμβυκα γίνεται με φωτιά που βρίσκεται κάτω από αυτόν ή με ατμό που κυκλοφορεί μέσα σε χιτώνα που υπάρχει στα τοιχώματά του ή σε σωληνώσεις που βρίσκονται στο πυθμένα του. Το απόσταγμα εισέρχεται στο ψυκτήρα και τα συστατικά υγροποιούνται και διαχωρίζονται το νερό από το αιθέριο έλαιο.

Κατά την απόσταξη, τα άνθη πρέπει να βυθίζονται πλήρως στο νερό και να αναδεύονται συνεχώς. Η ταχύτητα της απόσταξης πρέπει να είναι αργή και σταθερή, χωρίς εξάρσεις της φωτιάς. Το νερό της απόσταξης δεν πρέπει να είναι σε υπερβολική ποσότητα γιατί υπάρχει πιθανότητα υδρόλυσης των συστατικών του αιθέριου ελαίου. Τέλος, η θερμοκρασία του συμπυκνωτή πρέπει να παρατηρείται προσεκτικά ώστε να προληφθούν τυχόν λάθη.

Η ταχύτητα της αποστάξεως ρυθμίζεται από την ένταση της φωτιάς ή τη ποσότητα των ατμών που κυκλοφορούν στα τοιχώματα και τις σωληνώσεις του άμβυκα. Στην αρχή η ταχύτητα πρέπει να είναι μικρή και στη συνέχεια μεγάλη για να ληφθεί το μέγιστο ποσό αιθέριου ελαίου. Στην υδροαπόσταξη πρέπει να αποφεύγεται η υπερθέρμανση του φυτικού υλικού που έχει ως αποτέλεσμα την αποσύνθεση διαφόρων συστατικών του αιθέριου ελαίου και το κίνδυνο τραυματισμού εργατών από πιθανή εκτόξευση του φυτικού υλικού. Συνήθως η απόσταξη διαρκεί 1,5 έως 3 ώρες. Σε πείραμα που πραγματοποιήθηκε εφαρμόστηκαν χρόνοι απόσταξης από 3 ώρες μέχρι 7 ώρες. Το αποτέλεσμα ήταν ότι στην απόσταξη για 5 ώρες παράγεται το υψηλότερο ποσοστό αιθέριου ελαίου. Εκτός του αιθέριου ελαίου με την απόσταξη παραλαμβάνεται και αρωματισμένο νερό, το ροδόνερο.

Η απόσταξη ανάλογα με τον τρόπο που γίνεται διακρίνεται στις εξής κατηγορίες:

- **Απόσταξη με νερό**

Η παραδοσιακή υδροαπόσταξη εφαρμόζεται από παλιά από αγρότες που βρίσκονται κοντά στις καλλιέργειες των τριαντάφυλλων και σε τρεχούμενο νερό. Το φυτικό υλικό έρχεται σε άμεση επαφή με το νερό που βράζει. Το γέμισμα του άμβυκα πρέπει να γίνεται κατά τέτοιο τρόπο ώστε το φυτικό υλικό να καλυφθεί πλήρως από το νερό και να υπάρχει στο επάνω μέρος αρκετός χώρος για να συγκεντρώνεται ο παραγόμενος ατμός. Ο αποστακτήρας αποτελείται από χαλκό με εσωτερική επίστρωση και έχει χωρητικότητα 120-150 λίτρα, θερμαίνεται σε γυμνή φλόγα και έχει την ανάγκη από ατμογεννήτρια. Το πλεονέκτημα της αποστάξεως με νερό είναι ότι είναι μια

μέθοδος που χρησιμοποιείται εύκολα και είναι οικονομική. Η μέθοδος αυτή προτιμάται για μικρής κλίμακας αποστάξεις.

- **Απόσταξη με νερό και υδρατμούς**

Στην απόσταξη με νερό και υδρατμούς τοποθετείται πλέγμα στον άμβυκα λίγο πιο πάνω από την επιφάνεια του νερού και έτσι το νερό και το φυτικό υλικό δεν έρχονται σε άμεση επαφή μεταξύ τους. Με αυτή τη μέθοδο το νερό που θερμαίνεται παράγει ατμό και συμπαρασύρει το αιθέριο έλαιο καθώς διέρχεται από το φυτικό υλικό. Τα πλεονεκτήματα της απόσταξης με νερό και υδρατμούς είναι ότι το φυτικό υλικό δεν έρχεται σε άμεση επαφή με το νερό που βράζει αλλά απαιτείται περισσότερος χρόνος για την ολοκλήρωση της απόσταξης και η απόδοση σε αιθέριο έλαιο είναι μικρότερη.

- **Απόσταξη με χρήση ατμού**

Η απόσταξη με χρήση ατμού αποτελεί το κύριο τρόπο παραλαβής αιθέριων ελαίων στη βιομηχανία. Οι άμβυκες των αποστακτών έχουν χωρητικότητα σε φυτικό υλικό 2-3 τόνους. Οι αποστακτήρες αυτής της κατηγορίας περιλαμβάνουν ένα θερμαντικό περίβλημα για την θέρμανση του φυτικού υλικού από όπου διέρχεται ατμός. Το πλεονέκτημα της απόσταξης με υδρατμούς είναι το υψηλής ποιότητας παραγόμενο αιθέριο έλαιο και η αυξημένη απόδοσή του.



*Εικόνα 3: Αποστακτήρας για την απόσταξη ροδοπέταλων *Rosa damascena* και την παραλαβή αιθέριου ελαίου στη Κοζάνη*



### **c. Ποιότητα αιθέριου ελαίου**

Η παραγωγή και η ποιότητα των αιθέριων ελαίων εξαρτώνται από το χρόνο, την ώρα συγκομιδής, τις συνθήκες καλλιέργειας, τον τύπο του αποστακτήρα και τη τεχνική απόσταξης. Για την παραγωγή ενός ροδέλαιου υψηλής ποιότητας θα πρέπει τα άνθη να συγκομίζονται το πρωί μέχρι την ανατολή του ηλίου και η απόσταξη να γίνεται όσο το δυνατόν συντομότερα. Η προσωρινή αποθήκευση των άνθεων μέχρι να αποσταχθούν, προκαλεί ζύμωση που έχει σαν άμεση συνέπεια τη διαφοροποίηση της απόδοσης σε αιθέριο έλαιο αλλά και της σύνθεσής του με υποβάθμιση της τελικής ποιότητας του. (Κατσιώτης, Χατζοπούλου, 2016). Η ζύμωση προκαλεί αύξηση του ποσοστού κιτρνελλόλης και μείωση της γερανιόλης στα συστατικά των ροδοπέταλων προκαλώντας αδύναμο άρωμα. Παράλληλα κατά τη ζύμωση τα ποσοστά νεράλης και γερανιάλης αυξάνονται με συνέπεια την ελάττωση της φρεσκάδας του αρώματος.

Έχουν πραγματοποιηθεί πολλές μελέτες για τη καταλληλότερη συντήρηση των συγκομισμένων τριαντάφυλλων. Ως μια αποτελεσματική πρακτική θεωρείται η συντήρηση των άνθεων σε θερμοκρασία 30-35°C μέσα σε καθαρό νερό. Μια άλλη πρακτική συντήρησης είναι η διατήρηση των λουλουδιών σε σακιά όμως σε συνθήκες υψηλής θερμοκρασίας μπορεί να υπάρχουν απώλειες σε αιθέριο έλαιο. Πείραμα που πραγματοποιήθηκε στη Γεωπονική Σχολή του Ισλαμικού Πανεπιστημίου Αζάντ για τον καλύτερη πρακτική αποθήκευσης των συγκομισμένων άνθεων απέδειξε ότι με την αποθήκευση για 6 ώρες στους -20°C παράγεται περισσότερο αιθέριο έλαιο. Ωστόσο, καλύτερα είναι τα άνθη να αποστάζονται όσο το δυνατόν συντομότερα.

### **d. Νόθευση αιθέριου ελαίου**

Η αλλοίωση του ροδέλαιου είναι ευρέως διαδεδομένη γιατί είναι ένα πολύ ακριβό έλαιο. Συνήθως για την παραγωγή απομιμήσεων ροδέλαιου χρησιμοποιούνται φθηνά τεχνητά αρώματα ή ένα γνήσιο αιθέριο έλαιο αναμειγνύεται με ένα συνθετικό μίγμα. Ωστόσο, λόγω της πολύπλοκης φύσης των αιθέριων ελαίων είναι σχεδόν αδύνατο να αντιγραφούν εξ' ολοκλήρου.

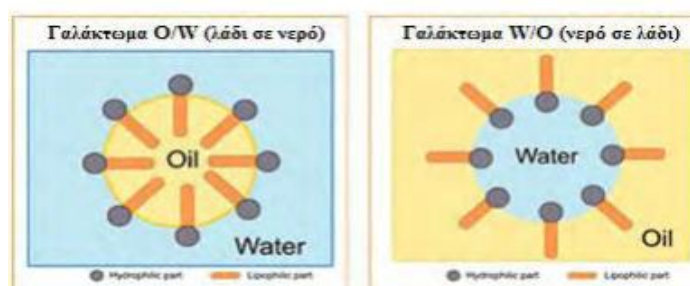
Τις περισσότερες φορές το αιθέριο έλαιο είναι νοθευμένο με τη χρήση βιομηχανικής κιτρνελλόλης ή γερανιόλης. Παρόλα αυτά η εξακρίβωση της καθαρότητας του αιθέριου ελαίου μπορεί να γίνει μόνο εξειδικευμένες χρωματογραφικές και άλλες χημικές αναλύσεις. Η κιτρνελλόλη που παράγεται βιομηχανικά από τα αιθέρια έλαια των *Palmarosa* και *Citronella* χρησιμοποιείται για τη νοθεία του ροδέλαιου των τριαντάφυλλων *Rosa damascena*. Η νόθευση

πραγματοποιείται είτε με το ψέκασμα πάνω στα φύλλα πριν από την απόσταξη είτε προσθέτοντας τα βιομηχανικά έλαια στο τελικό προϊόν. Η χρήση βιομηχανικής γερανιόλης ή κιτρονελλόλης έχει ως αποτέλεσμα τη μείωση του σημείου πήξεως, αλλά μπορεί να επανέλθει με την προσθήκη *spermaceti*. *Spermaceti* είναι μια κηρώδης ουσία που βρίσκεται στις κοιλότητες της κεφαλής του είδους φάλαινας *Physeter macrocephalus* (και σε μικρότερες ποσότητες στο λίπος άλλων φαλαινών).

Ένας άλλος τρόπος νόθευσης είναι η δημιουργία ελαίου με άρωμα τύπου τσάι-ροδέλαιου. Σε αυτή τη μέθοδο χρησιμοποιείται έλαιο του φυτού *Bulnesia sarmienti* ή αλλιώς Αγιόξυλο. Πρόκειται για ένα μικρό δέντρο που προέρχεται από την Αμερική και χρησιμοποιείται για το γερό ξύλο του και τις αρωματικές και θεραπευτικές ιδιότητες του αιθέριου ελαίου του. Η αλλοίωση του αιθέριου ελαίου του *Rosa damascena* με τη χρήση του παραπάνω ελαίου μπορεί να αναγνωριστεί με μικροσκοπική εξέταση, το οποίο κατά τη ψύξη του δημιουργεί βελονοειδείς κρυστάλλους. Επίσης, αυξάνεται το σημείο πήξεως του ροδέλαιου καθώς και η πυκνότητά του. Γενικά ένας εύκολος τρόπος αναγνώρισης ενός συνθετικού ροδέλαιου είναι η χρήση ιωδίου με το οποίο χάνει το άρωμά του σχεδόν εξ ολοκλήρου.

## 2. Γαλακτωματοποίηση

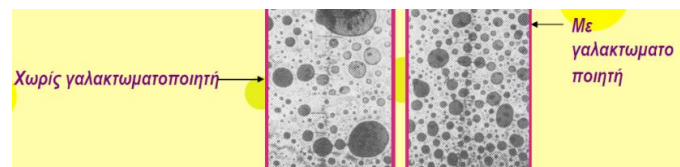
Γαλακτωματοποίηση είναι η ανάμιξη ελαίου και νερού. Είναι η διαδικασία διασποράς ενός υγρού σε ένα άλλο μη αναμειγνυόμενο με το πρώτο. Για να έχουμε διασπορά του ενός υγρού μέσα στο άλλο πρέπει να ασκηθεί μια μηχανική δύναμη και να υπερνικηθεί ή επιφανειακή τους τάση δίνοντας στα δύο υγρά τη δυνατότητα να πολλαπλασιάσουν την έκταση της επιφάνειας επαφής τους (Φιωτάκης, 2012) Ένα σύστημα που συνίσταται από σταγονίδια ελαίου διεσπαρμένα σε υδατική φάση χαρακτηρίζεται ως γαλάκτωμα ελαίου σε νερό. Αντιθέτως, ένα σύστημα που συνίσταται από διεσπαρμένα σταγονίδια νερού σε συνεχή φάση ελαίου καλείται γαλάκτωμα νερού σε έλαιο.



Εικόνα 4: Γαλακτώματα ελαίου σε νερό και νερό σε έλαιο

Προκειμένου να μετατραπούν δύο μη αναμίξιμα υγρά σε γαλάκτωμα, ακολουθείται μια διαδικασία που καλείται ομογενοποίηση και διακρίνεται στην πρωτογενή και τη δευτερογενή. Ως πρωτογενής ομογενοποίηση, χαρακτηρίζεται η μετατροπή των δύο υγρών σε γαλάκτωμα (γαλακτωματοποίηση), ενώ ως δευτερογενής χαρακτηρίζεται η μείωση του μεγέθους των σωματιδίων σε ένα ήδη υπάρχον γαλάκτωμα. Για την παρασκευή ενός γαλακτώματος, αρχικά οι δύο φάσεις θερμαίνονται ξεχωριστά έως ότου η θερμοκρασία να φτάσει μέχρι τη θερμοκρασία τήξης των λιπαρών συστατικών (5- 10°C πάνω από το σημείο τήξης του υλικού με το υψηλότερο σημείο τήξης). Στη συνέχεια, η εσωτερική φάση προστίθεται στην εξωτερική με σταθερό ρυθμό και συνεχή ανάδευση, ενώ τέλος ακολουθεί ψύξη μέχρι τους 35°C περίπου και προσθήκη των θερμοευαίσθητων ή πτητικών ουσιών.

Για να δημιουργηθεί ένα γαλάκτωμα το οποίο να είναι σταθερό για σχετικά μεγάλο χρονικό διάστημα είναι απαραίτητη η χρήση ενός γαλακτωματοποιητή. Οι γαλακτωματοποιητές κατηγοριοποιούνται σε δύο βασικές ομάδες: τα μακρομόρια (πρωτεΐνες) και τους γαλακτωματοποιητές μικρού μοριακού βάρους (surfactants). Οι γαλακτωματοποιητές έχουν την ιδιότητα να ελαττώνουν την επιφανειακή τάση και να περιορίζουν την ανάμιξη υγρών σχηματίζοντας μονομοριακά στρώματα στη διεπιφανειακή επιφάνεια και με το σχηματισμό στερεοχημικών ηλεκτρικών φραγμών οι οποίοι αποτρέπουν τη συγχώνευση των σταγονιδίων της εν διασπορά φάσης.



Εικόνα 5: Μοριακή απεικόνιση της διαφοράς διαλυμάτων με τη χρήση γαλακτωματοποιητή

Αποτελούνται από ένα υδρόφιλο και ένα λιπόφιλο (υδρόφοβο) τμήμα. (Αρβανιτογιάννης, 2001). Η παρασκευή τους προέρχεται από βιολογικά υλικά ή από τεχνητά λιπαρά οξέα. Η καταλληλότητα των γαλακτωματοποιητών για τη σταθεροποίηση ελαίου σε νερό ή το αντίθετο εξαρτάται από τη σχέση υδρόφιλο τμήμα/λιπόφιλο τμήμα. Όταν ο λόγος είναι 3-6 τότε ο γαλακτωματοποιητής είναι κατάλληλος για τη σταθεροποίηση των γαλακτωμάτων νερού μέσα σε λάδι. Όταν ο λόγος είναι 8-18 είναι κατάλληλος για τη σταθεροποίηση γαλακτωμάτων ελαίου μέσα σε νερό.

Το Polysorbate 20 (κοινές εμπορικές επωνυμίες περιλαμβάνουν Scattics , Alkest TW 20 και Tween 20 ) είναι ένα μη ιονικό τασιενεργό τύπου πολυσорβικού που

σχηματίζεται από την αιθοξυλίωση της σορβιτάνης πριν από την προσθήκη λαυρικού οξέος. Η σταθερότητα και η σχετική μη τοξικότητα του επιτρέπουν να χρησιμοποιείται ως απορρυπαντικό και γαλακτωματοποιητής σε πολλές οικιακές, επιστημονικές και φαρμακολογικές εφαρμογές. Στην πράξη αυτά κατανέμονται σε 4 διαφορετικές αλυσίδες, οδηγώντας σε ένα εμπορικό προϊόν που περιέχει ένα φάσμα χημικών ουσιών (Chunhee, You-Lo, 2001)

Έρευνα που έγινε στο Πανεπιστήμιο SULEYMAN DEMIREL – ISPARTA στην Τουρκία το 2002 απέδειξε ότι η εφαρμογή του TWEEN 20 στο νερό άρδευσης των φυτών τριαντάφυλλων *Rosa damascena* αύξησε τη περιεκτικότητα του αιθέριου ελαίου στα ροδοπέταλα δεν είχε όμως σημαντική διαφορά στη σύσταση του αιθέριου ελαίου.

Η εφαρμογή υπερήχων σε μικρογαλακτώματα που έχουν ήδη παρασκευαστεί, καθίσταται πολύ αποτελεσματική διαδικασία για τη μείωση του μεγέθους των σωματιδίων. Η αποτελεσματικότητα αυτής της διεργασίας εξαρτάται κυρίως από το πλάτος ταλάντωσης και το χρόνο κατεργασίας και έτσι η ενέργεια των υπερήχων διασπά τα μεγαλύτερα σταγονίδια σε μικρότερα. Σημαντικός είναι ο χρόνος παραμονής του γαλακτώματος στους υπερήχους στο μέγεθος των σταγονιδίων. Όσο αυξάνεται ο χρόνος παραμονής αυξάνεται και η ποσότητα της ενέργειας, γεγονός που οδηγεί σε μεγαλύτερη διάσπαση των σταγονιδίων και μείωση του μεγέθους τους. Παρ' όλο που η μέθοδος αυτή είναι εύκολη στην εφαρμογή της, παρουσιάζει ορισμένα μειονεκτήματα καθώς δεν προκαλεί τη βέλτιστη κατανομή του μεγέθους των νανοσταγονιδίων και επιπροσθέτως, εξαιτίας της εισαγωγής ενέργειας σε μεγάλες ποσότητες υπάρχει κίνδυνος να προκληθούν βλάβες στα συστατικά.

Μια επιπλέον μέθοδος με ευρεία εφαρμογή για την παρασκευή ομοιόμορφων νανογαλακτωμάτων, περιλαμβάνει τη χρήση συσκευών μικρορευστοποίησης με την εφαρμογή υψηλής πίεσης, ώστε να προκληθεί ρήξη των σταγονιδίων του συμπυκνωμένου γαλακτώματος. Τα νανο-γαλακτώματα είναι διασπορές λαδιού σε νερό και σχηματίζονται με διάρρηξη η οποία προκαλείται με υψηλή διάτμηση και τα σταγονίδια τους έχουν ακτίνες κάτω των 100nm. Τα νανογαλακτώματα έχουν την τάση να διαχωρίζονται αυθόρμητα στις αρχικές τους φάσεις, αλλά παρ' όλα αυτά, παρουσιάζουν σχετικά υψηλή σταθερότητα για αρκετά χρόνια λόγω του πολύ μικρού μεγέθους των σωματιδίων τους και του φαινομένου της στερεικής σταθεροποίησης που αναπτύσσεται μεταξύ τους.

## ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

Στο πείραμα που πραγματοποιήθηκε χρησιμοποιήθηκαν δύο εμπορικά αιθέρια έλαια *Rosa damascena*. Σε όλο του πείραμα χρησιμοποιήθηκε το αιθέριο έλαιο *Rosa damascena* του Συνεταιρισμού Αρωματικών, Φαρμακευτικών & Οπωροκηπευτικών Φυτών Βοΐου Κοζάνης και στο τέλος πραγματοποιήθηκαν μετρήσεις με το αιθέριο έλαιο *Rosa damascena* της φαρμακευτικής εταιρείας fito<sup>+</sup>.

Για την δημιουργία των παρασκευασμάτων, προστέθηκε αρχικά σε φιαλίδιο των 100 mL η ποσότητα του αιθέριου ελαίου *Rosa damascena* με τη χρήση ειδικής σύριγγας των 50  $\mu$ L και στη συνέχεια έγινε προσθήκη απιονισμένου νερού μέχρι τη συμπλήρωση του τελικού όγκου.

Στη πρώτη δοκιμή χρησιμοποιήθηκαν αιθέριο έλαιο *Rosa damascena* του Συνεταιρισμού Αρωματικών, Φαρμακευτικών & Οπωροκηπευτικών Φυτών Βοΐου Κοζάνης και απιονισμένο νερό. Στον Πίνακα 1α αναγράφονται τα παρασκευάσματα:

*Πίνακας 1α: Περιεκτικότητα αιθέριου ελαίου και τελικός όγκος σε παρασκευάσματα*

<b>Παρασκευάσματα</b>	<b>Ποσότητα αιθέριου ελαίου (<math>\mu</math>L)</b>	<b>Περιεκτικότητα αιθέριου ελαίου (%)</b>	<b>Τελικός όγκος (mL)</b>
<b>Π<sub>1</sub></b>	10	0,01	100
<b>Π<sub>2</sub></b>	20	0,02	100
<b>Π<sub>3</sub></b>	30	0,03	100

Σε αυτή τη δοκιμή χρησιμοποιήθηκε αρχικά ομοιογενοποιητής IKA T25 για την ανάδευση των συστατικών. Δημιουργήθηκε νέο παρασκεύασμα ΟΠ<sub>2</sub>, το οποίο είχε ίδια συστατικά με το παρασκεύασμα Π<sub>2</sub>. Ο ομοιογενοποίηση εφαρμόστηκε στο παρασκεύασμα ΟΠ<sub>2</sub>, για 30 δευτερόλεπτα και για 60 δευτερόλεπτα. Έπειτα, το παρασκεύασμα ΟΠ<sub>2</sub> τοποθετήθηκε σε λουτρό υπερήχων TRANSSONIC 460/H για 10 λεπτά και στη συνέχεια αναδεύτηκε στον ομοιογενοποιητή για 30 δευτερόλεπτα. Πραγματοποιήθηκε μέτρηση απορρόφησης στο φασματοφωτόμετρο OPTIZEN POP στα μήκη κύματος 500 nm, 560 nm, 600 nm, 640nm, 670nm, 700nm. Πραγματοποιήθηκαν 2 επαναλήψεις για τις τρεις διαφορετικές χρήσεις του ομοιογενοποιητή.

Στη συνέχεια του πειράματος τα παρασκευάσματα Π<sub>1</sub>, Π<sub>2</sub>, Π<sub>3</sub> και Π<sub>4</sub> διαχειρίστηκαν χωρίς τη χρήση ομογενοποιητή με τη διαδικασία που περιγράφεται παρακάτω.

Στη δεύτερη δοκιμή του πειράματος χρησιμοποιήθηκε ο διαλύτης ισοπροπανόλη στις ποσότητες που αναγράφονται στον παρακάτω Πίνακα 1β:

*Πίνακας 1β: Περιεκτικότητα αιθέριου ελαίου και τελικός όγκος με χρήση ισοπροπανόλης σε παρασκευάσματα*

Παρασκευάσματα	Ποσότητα αιθέριου ελαίου (μL)	Περιεκτικότητα αιθέριου ελαίου (%)	Ποσότητα ισοπροπανόλης (mL)	Περιεκτικότητα ισοπροπανόλης (%)	Τελικός όγκος (mL)
Δ <sub>1</sub> Π <sub>1</sub>	20	0,019	2,5	2,43	102,5
Δ <sub>1</sub> Π <sub>2</sub>	20	0,017	15	13,04	115
Δ <sub>1</sub> Π <sub>3</sub>	20	0,016	20	16,6	120
Δ <sub>1</sub> Π <sub>4</sub>	10	0,01	25	25	100
Δ <sub>1</sub> Π <sub>5</sub>	20	0,02	25	25	100
Δ <sub>1</sub> Π <sub>6</sub>	30	0,03	25	25	100

Στη τρίτη δοκιμή του πειράματος χρησιμοποιήθηκε ο διαλύτης τετραϋδροφουρανίο (THF) σε ποσότητες που αναγράφονται στον Πίνακα 1γ.

*Πίνακας 1γ: Περιεκτικότητα αιθέριου ελαίου και τελικός όγκος με χρήση Τετραϋδροφουρανίου (THF) σε παρασκευάσματα*

Παρασκευάσματα	Ποσότητα αιθέριου ελαίου (μL)	Περιεκτικότητα αιθέριου ελαίου (%)	Ποσότητα THF (mL)	Περιεκτικότητα THF (%)	Τελικός όγκος (mL)
Δ <sub>2</sub> Π <sub>1</sub>	20	0,019	5	4,76	105
Δ <sub>2</sub> Π <sub>2</sub>	20	0,018	10	9,09	110
Δ <sub>2</sub> Π <sub>3</sub>	20	0,018	20	18,18	110
Δ <sub>2</sub> Π <sub>4</sub>	20	0,02	20	20	100
Δ <sub>2</sub> Π <sub>5</sub>	20	0,02	15	15	100

- ο Δοκιμή με χρήση διαλύματος TWEEN σε παρασκευάσματα με αιθέριο έλαιο *Rosa damascena*

Στην τέταρτη δοκιμή του πειράματος χρησιμοποιήθηκε ο γαλακτωματοποιητής TWEEN 20. Ο συγκεκριμένος γαλακτωματοποιητής για να χρησιμοποιηθεί αραιώθηκε με νερό και παρασκευάστηκαν διαλύματα TWEEN 20 με συγκεντρώσεις 0,25%, 0,5% και 1%. Για την αραιώσή του ποσότητες 0,125g, 0,25g και 0,5 g του γαλακτωματοποιητή, αντίστοιχα, ζυγίστηκαν σε ζυγό ακριβείας και έπειτα προστέθηκε απιονισμένο νερό σε ογκομετρικές φιάλες των 50 mL. Οι ποσότητες του αιθέριου ελαίου *Rosa damascena* του Συνεταιρισμού Αρωματικών, Φαρμακευτικών & Οπωροκηπευτικών Φυτών Βοΐου Κοζάνης και η περιεκτικότητα σε TWEEN 20 που χρησιμοποιήθηκαν για την παρασκευή εναιωρημάτων αναγράφονται στον παρακάτω Πίνακα 1δ:

*Πίνακας 1δ: Περιεκτικότητα αιθέριου ελαίου και τελικός όγκος με χρήση Tween 20 σε παρασκευάσματα*

Παρασκευάσματα	Ποσότητα αιθέριου ελαίου (μL)	Περιεκτικότητα αιθέριου ελαίου (%)	Περιεκτικότητα TWEEN 20 (% w/v)	Τελικός όγκος (mL)
Δ <sub>3</sub> Π <sub>1</sub>	20	0,019	0,007	103,5
Δ <sub>3</sub> Π <sub>2</sub>	20	0,019	0,011	105
Δ <sub>3</sub> Π <sub>3</sub>	20	0,018	0,022	110
Δ <sub>3</sub> Π <sub>4</sub>	20	0,019	0,023	105
Δ <sub>3</sub> Π <sub>5</sub>	20	0,019	0,047	105
Δ <sub>3</sub> Π <sub>6</sub>	30	0,028	0,023	105

Για την καλύτερη ανάδευση και ομογενοποίηση των συστατικών των παραπάνω παρασκευασμάτων χρησιμοποιήθηκε λουτρό υπερήχων 460/H σε διάφορους χρόνους. Στον παρακάτω Πίνακα 2 αναγράφονται οι χρόνοι που εφαρμόστηκαν για κάθε παρασκεύασμα:

*Πίνακας 2: Χρόνοι τοποθέτησης των παρασκευασμάτων στο λουτρό υπερήχων*

<b>Χρόνος στο USonic (λεπτά)</b>	<b>Παρασκευάσματα</b>
<b>5</b>	Π <sub>1</sub> , Π <sub>2</sub> , Π <sub>3</sub>
<b>10</b>	Π <sub>1</sub> , Π <sub>2</sub> , Π <sub>3</sub> , Π <sub>4</sub> , Δ <sub>1</sub> Π <sub>1</sub> , Δ <sub>1</sub> Π <sub>4</sub> , Δ <sub>1</sub> Π <sub>5</sub> , Δ <sub>1</sub> Π <sub>6</sub> , Δ <sub>2</sub> Π <sub>2</sub> , Δ <sub>3</sub> Π <sub>2</sub> – Δ <sub>3</sub> Π <sub>6</sub>
<b>15</b>	Π <sub>1</sub> , Π <sub>2</sub> , Π <sub>3</sub> , Δ <sub>2</sub> Π <sub>3</sub>
<b>20</b>	Π <sub>2</sub> , Δ <sub>1</sub> Π <sub>2</sub> , Δ <sub>1</sub> Π <sub>3</sub> , Δ <sub>1</sub> Π <sub>4</sub> , Δ <sub>1</sub> Π <sub>5</sub> , Δ <sub>1</sub> Π <sub>6</sub> , Δ <sub>2</sub> Π <sub>4</sub> , Δ <sub>2</sub> Π <sub>5</sub> , Δ <sub>3</sub> Π <sub>2</sub>
<b>25</b>	Π <sub>1</sub> , Π <sub>3</sub> , Δ <sub>2</sub> Π <sub>1</sub>
<b>30</b>	Δ <sub>3</sub> Π <sub>1</sub>
<b>45</b>	Δ <sub>3</sub> Π <sub>1</sub>

Η θερμοκρασία σε όλα τα παρασκευάσματα κυμάνθηκε από 20°C (θερμοκρασία δωματίου) έως 35°C (θερμοκρασία μετά την εφαρμογή των υπερήχων).

Μετά την εφαρμογή υπερήχων πραγματοποιήθηκε μέτρηση απορρόφησης των διαλυμάτων σε φασματοφωτόμετρο OPTIZEN POP. Για τη μέτρησή τους, δείγματα από τα παρασκευάσματα μεταφέρθηκαν σε κυψελίδες χαλαζία και η απορρόφηση μετρήθηκε στα μήκη κύματος 500 nm, 560 nm, 600 nm, 640nm, 670nm, 700nm. Στο φασματοφωτόμετρο πραγματοποιήθηκαν δύο επαναλήψεις στις μετρήσεις για το κάθε παρασκεύασμα σε χρονικό διάστημα 5 λεπτών. Το δείγμα αναφοράς (blank) περιείχε καθαρό νερό. Να σημειωθεί ότι για τους διαλύτες ισοπροπανόλη και



τετραϋδροφουρανιο και για τον γαλακτωματοποιητή TWEEN 20 έγινε έλεγχος απορρόφησης σε όλο το φάσμα κυμάτων του φασματοφωτόμετρου.

Στην πέμπτη δοκιμή του πειράματος εφαρμόστηκε θέρμανση. Αρχικά δημιουργήθηκαν νέα παρασκευάσματα τα συστατικά των οποίων αναγράφονται στον Πίνακα 3:

*Πίνακας 3: Περιεκτικότητα αιθέριου ελαίου και τελικός όγκος με χρήση Tween 20 και εφαρμογή θέρμανσης σε παρασκευάσματα*

<b>Παρασκευάσματα</b>	<b>Ποσότητα αιθέριου ελαίου (μL)</b>	<b>Περιεκτικότητα αιθέριου ελαίου (%)</b>	<b>Περιεκτικότητα TWEEN 20 (% w/v)</b>	<b>Τελικός όγκος (mL)</b>
<b>θΔ<sub>3</sub>Π<sub>1</sub></b>	5	0,0047	0,023	105
<b>θΔ<sub>3</sub>Π<sub>2</sub></b>	10	0,0095	0,023	105
<b>θΔ<sub>3</sub>Π<sub>3</sub></b>	15	0,014	0,023	105
<b>θΔ<sub>3</sub>Π<sub>4</sub></b>	20	0,019	0,023	105
<b>θΔ<sub>3</sub>Π<sub>5</sub></b>	25	0,023	0,023	105
<b>θΔ<sub>3</sub>Π<sub>6</sub></b>	30	0,028	0,023	105

Στη λεκάνη του TRANSSONIC αυξήθηκε η θερμοκρασία του νερού στους 50°C. Οι φιάλες με τα νέα παρασκευάσματα τοποθετήθηκαν για 5 λεπτά στο υδατόλουτρο μέχρι να αποκτήσουν την ίδια θερμοκρασία και έπειτα έγινε η εφαρμογή υπέρηχων για 10 λεπτά. Στο τέλος μετρήθηκε η απορρόφηση στο φασματοφωτόμετρο στα μήκη κύματος που προαναφέρθηκαν.

Στην έκτη δοκιμή του πειράματος δημιουργήθηκαν νέα παρασκευάσματα με τα συστατικά των παρασκευασμάτων θΔ<sub>3</sub>Π<sub>1</sub>, θΔ<sub>3</sub>Π<sub>2</sub>, θΔ<sub>3</sub>Π<sub>3</sub>, θΔ<sub>3</sub>Π<sub>4</sub>, θΔ<sub>3</sub>Π<sub>5</sub> και θΔ<sub>3</sub>Π<sub>6</sub> και χρησιμοποιήθηκε το αιθέριο έλαιο *Rosa damascena* της φαρμακευτικής εταιρείας fito<sup>+</sup>. Στα νέα παρασκευάσματα θ'Δ<sub>3</sub>Π<sub>1</sub>, θ'Δ<sub>3</sub>Π<sub>2</sub>, θ'Δ<sub>3</sub>Π<sub>3</sub>, θ'Δ<sub>3</sub>Π<sub>4</sub>, θ'Δ<sub>3</sub>Π<sub>5</sub> και θ'Δ<sub>3</sub>Π<sub>6</sub> ακολουθήθηκε όλη η διαδικασία με την θέρμανση στους 50°C, η εφαρμογή υπέρηχων για 10 λεπτά και τέλος, η μέτρηση απορρόφησης στο φασματοφωτόμετρο.

Στα παραπάνω παρασκευάσματα εφαρμόστηκαν από τέσσερις έως οκτώ επαναλήψεις για την κάθε δοκιμή και για κάθε επανάληψη παρασκευάστηκε νέο διάλυμα.

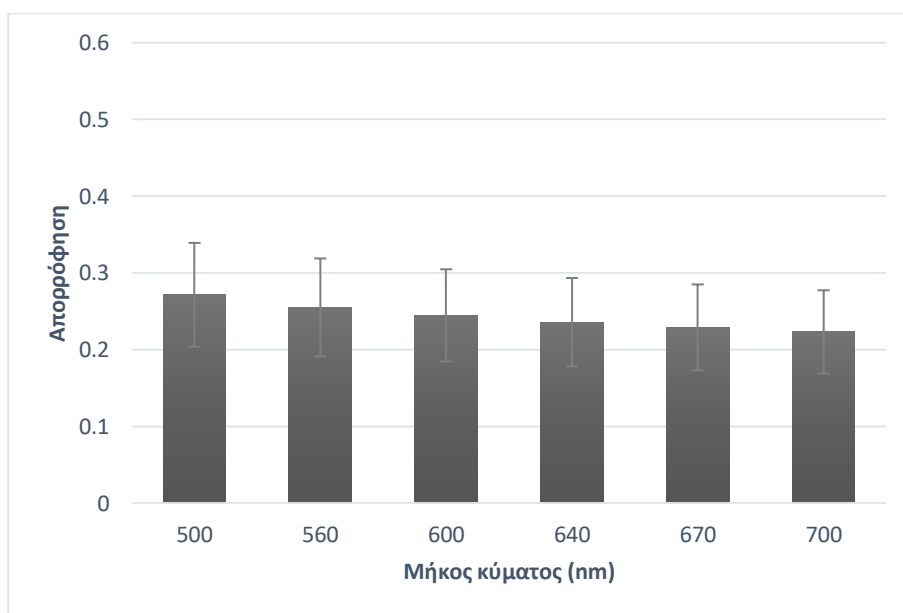
Για την επεξεργασία των αποτελεσμάτων η στατιστική ανάλυση των δεδομένων πραγματοποιήθηκε με τη βοήθεια του προγράμματος SPSS και τα διαγράμματα δημιουργήθηκαν σε Excel 2013.

## ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΣΥΖΗΤΗΣΗ

### Αποτελέσματα απορρόφησης των δοκιμών με αιθέριο έλαιο και νερό

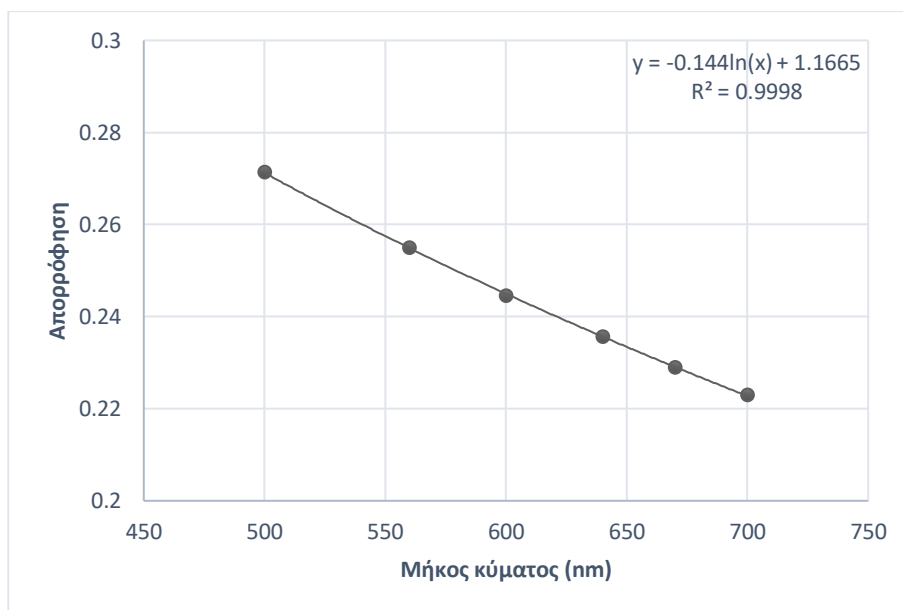
Από τη στατιστική ανάλυση που πραγματοποιήθηκε σε παρασκευάσματα απευθείας προσθήκης αιθέριου ελαίου σε νερό μεταξύ των απορροφήσεων στα μήκη κύματος 500 nm, 560 nm, 600 nm, 640 nm, 670 nm και 700 nm στα παρασκευάσματα Π1, Π2 και Π3 δεν υπήρχαν στατιστικές σημαντικές διαφορές στα παρασκευάσματα Π1 και Π3. Στο παρασκεύασμα Π2 υπήρχαν σημαντικές στατιστικές διαφορές μεταξύ των απορροφήσεων και κυρίως αυτή σε μήκος κύματος 500 nm διέφερε στατιστικά σημαντικά με τις υπόλοιπες απορροφήσεις. (560 nm, 600 nm, 640 nm, 670 nm, 700 nm).

Στο Σχήμα 1 απεικονίζονται η μέση τιμή της απορρόφησης και η τυπική απόκλιση στο φάσμα 500 nm – 700 nm στο παρασκεύασμα Π2.



Σχήμα 1: Απορρόφηση συναρτήσει του μήκους κύματος και οι τυπικές αποκλίσεις στο παρασκεύασμα Π2

Στο Σχήμα 1 παρατηρούνται οι μεγάλες τυπικές αποκλίσεις των απορροφήσεων. Επίσης, παρατηρείται ότι στο μήκος κύματος 500 nm υπάρχει η μεγαλύτερη απορρόφηση, η οποία μειώνεται με την αύξηση του μήκους κύματος.

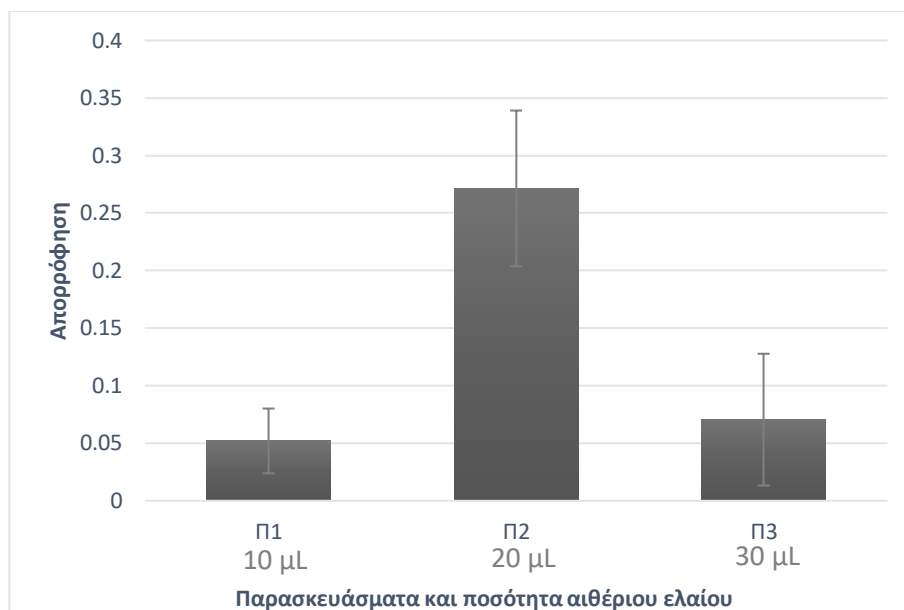


Σχήμα 2: Απορρόφηση συναρτήσει του μήκους κύματος στο παρασκεύασμα Π2

Στο Σχήμα 2 παρουσιάζεται η μαθηματικοποίηση της σχέσης απορρόφησης – μήκους κύματος στο παρασκεύασμα Π2. Προκύπτει το συμπέρασμα ότι η τιμή του μέσου όρου απορρόφησης μειώνεται με την αύξηση του μήκους κύματος με πολύ καλό συντελεστή συσχέτισης και δημιουργείται μια λογαριθμική εξίσωση.

Στο μήκος κύματος 500 nm παρατηρείται η υψηλότερη απορρόφηση οι επόμενες αναλύσεις που πραγματοποιήθηκαν αφορούσαν το μήκος κύματος 500 nm.

Στην στατιστική ανάλυση που πραγματοποιήθηκε μεταξύ των παρασκευασμάτων Π<sub>1</sub>, Π<sub>2</sub> και Π<sub>3</sub> στα 500 nm διέφεραν στατιστικά σημαντικά το Π<sub>1</sub> με το Π<sub>2</sub> και το Π<sub>2</sub> με το Π<sub>3</sub>. Στο Σχήμα 5 φαίνονται οι τυπικές αποκλίσεις μεταξύ των παρασκευασμάτων:



Σχήμα 3: Απορρόφηση συναρτήσει των παρασκευασμάτων Π1, Π2 και Π3 στο μήκος κύματος 500 nm

Στο Σχήμα 5 φαίνεται ότι στο παρασκεύασμα Π2 η απόλυτη μέση τιμή της απορρόφησης είναι η υψηλότερη, όμως το αναμενόμενο αποτέλεσμα ήταν η υψηλότερη απορρόφηση να προκύπτει στο παρασκεύασμα Π3, επειδή έχει την υψηλότερη περιεκτικότητα αιθέριου ελαίου. Επίσης, στο παρασκεύασμα Π3 παρατηρείται μεγάλη τυπική απόκλιση, ενώ στο παρασκεύασμα Π1 παρατηρείται μικρή τυπική απόκλιση.

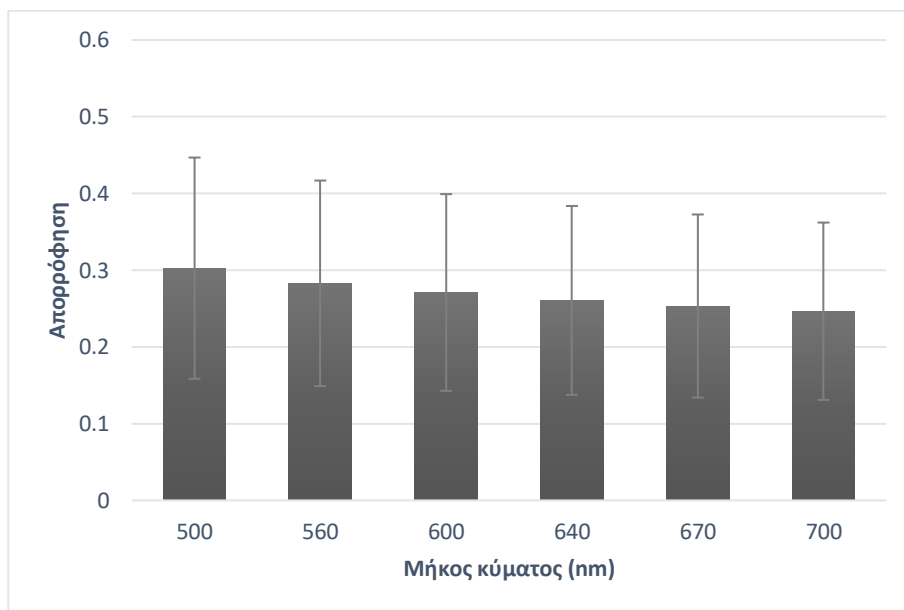
Σε αυτή τη δοκιμή το αποτέλεσμα που προκύπτει δεν είναι αξιόπιστο. Η αναξιοπιστία του αποτελέσματος οφείλεται είναι η εμφανής κακή διάλυση του αιθέριου ελαίου στο νερό σε κάποια παρασκευάσματα, όπου ήταν εμφανές το έλαιο στην επιφάνεια του διαλύματος και για το λόγο αυτό δεν συνεχίστηκε το πείραμα με αυτή τη τεχνική.

### **Αποτελέσματα απορρόφησης των δοκιμών με χρήση TWEEN 20**

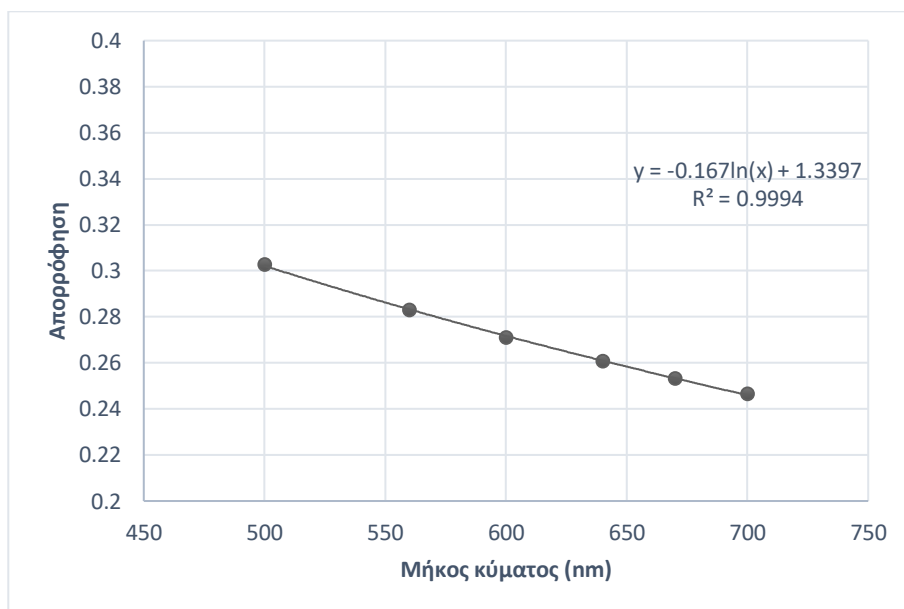
Στη δοκιμή με τη χρήση γαλακτωματοποιητή TWEEN 20 πραγματοποιήθηκαν επαναλήψεις με διαφορετικές συγκεντρώσεις του γαλακτωματοποιητή και παρατηρήθηκε καλύτερη ομογενοποίηση του αιθέριου ελαίου στο νερό. Ωστόσο, αν και μεταξύ των επαναλήψεων είχε ακολουθηθεί η ίδια διαδικασία παρατηρήθηκαν διαφορές στα εναιωρήματα (παρασκευάσματα) που προέκυψαν.

Τα Σχήματα 4 και 5 είναι ενδεικτικά της απορρόφησης στη δοκιμή με τη χρήση TWEEN 20. Στο Σχήμα 4 απεικονίζεται η μέση τιμή απορρόφησης στο φάσμα 500

nm – 700 nm και οι τυπικές αποκλίσεις και στο Σχήμα 5 απεικονίζεται η τάση μείωσης της απόλυτης τιμής της απορρόφησης με την αύξηση του μήκους κύματος.



Σχήμα 4: Ενδεικτική απεικόνιση της απορρόφησης συναρτήσει του μήκους κύματος στη δοκιμή με TWEEN 20



Σχήμα 5: Ενδεικτική απεικόνιση της απορρόφησης συναρτήσει του μήκους κύματος στη δοκιμή με TWEEN 20

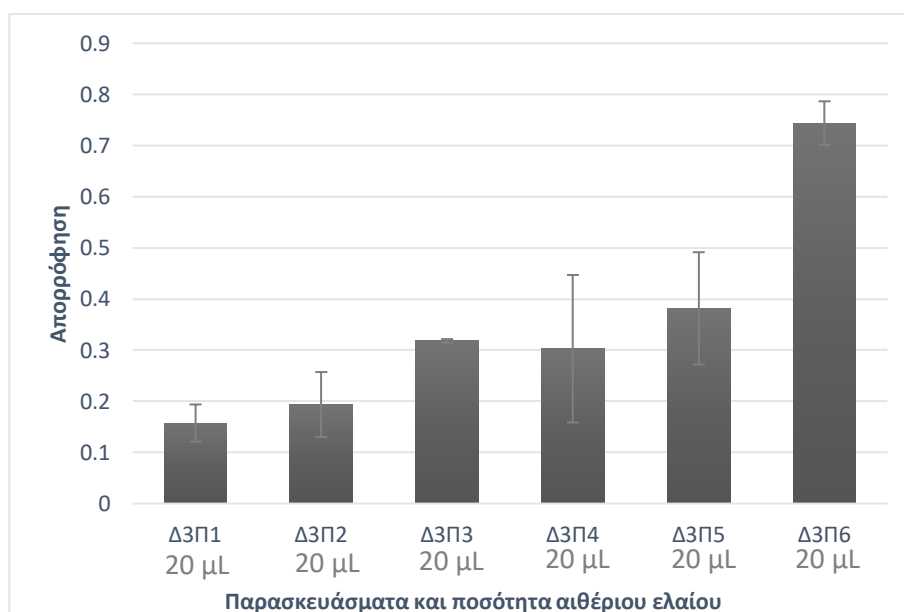
Στο Σχήμα 4 παρατηρούνται μεγάλες τυπικές αποκλίσεις των φασμάτων. Στο σχήμα 5 παρατηρείται η μείωση της απόλυτης μέσης τιμής της απορρόφησης καθώς

αυξάνεται το μήκος κύματος με συντελεστή συσχέτισης του μέσου όρου με τα μήκη κύματος σχεδόν 1 και προκύπτει μια λογαριθμική συνάρτηση.

Από την στατιστική ανάλυση που πραγματοποιήθηκε για τα παρασκευάσματα Δ3Π1-Δ3Π6 στο μήκος κύματος 500 nm στατιστικά σημαντικά διαφέρουν τα εξής παρασκευάσματα:

- Δ3Π1 και Δ3Π2 με Δ3Π4, Δ3Π5 και Δ3Π6
- Δ3Π3 με το Δ3Π6
- Δ3Π4 με το Δ3Π5 και Δ3Π6
- Δ3Π5 με το Δ3Π6

Στο Σχήμα 6 απεικονίζεται η μέση τιμή απορρόφησης και οι τυπικές αποκλίσεις μεταξύ των παρασκευασμάτων Δ3Π1-Δ3Π6 στο μήκος κύματος 500 nm.



Σχήμα 6: Απορρόφηση συναρτήσει της περιεκτικότητας των παρασκευασμάτων σε TWEEN 20 και αιθέριο έλαιο

Στα παρασκευάσματα Δ3Π1, Δ3Π2, Δ3Π3, Δ3Π4 και Δ3Π5 δεν υπάρχουν μεγάλες διαφορές στις μέσες τιμές απορρόφησης. Στο παρασκεύασμα Δ3Π6 υπάρχει η μέγιστη απόλυτη μέση τιμή απορρόφησης η οποία είναι σχεδόν διπλάσια από τα υπόλοιπα παρασκευάσματα. Επίσης, στο παρασκεύασμα Δ3Π3 παρατηρείται πολύ μικρή τιμή τυπικής απόκλισης και στο Δ3Π4 πολύ μεγάλη τιμή τυπικής απόκλισης.

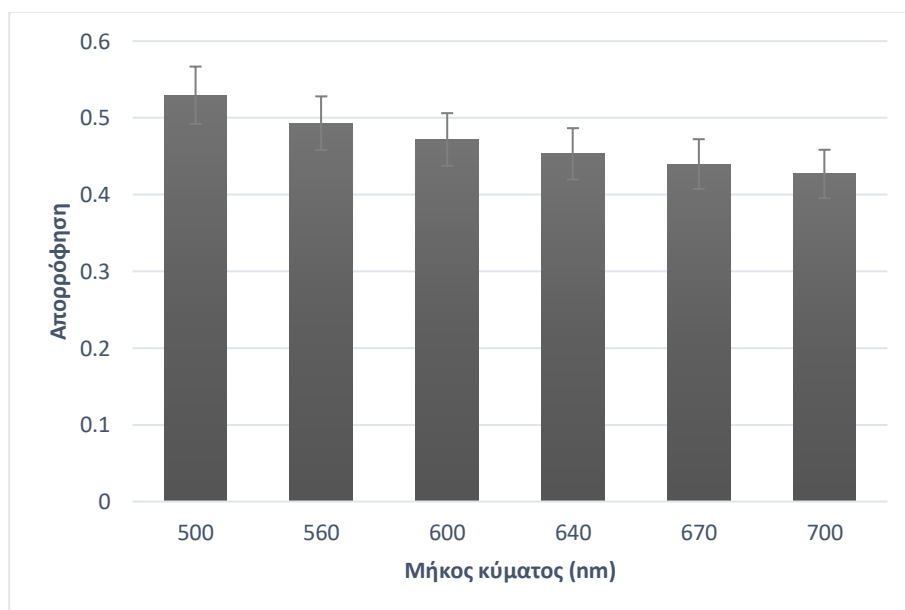
Από τα αποτελέσματα της στατιστικής ανάλυσης παρατηρείται ότι μεταξύ των παρασκευασμάτων Δ3Π1 και Δ3Π2 δεν υπάρχει στατιστική σημαντική διαφορά όμως

διπλασιάζοντας την ποσότητα του TWEEN 20 υπάρχει διαφορά. Επομένως προκύπτει το συμπέρασμα ότι η ποσότητα TWEEN 20 επηρεάζει την απορρόφηση στο μήκος κύματος 500 nm. Επίσης το παρασκεύασμα Δ3Π6 διαφέρει στατιστικά σημαντικά με τα υπόλοιπα γιατί σε αυτό υπάρχει μεγαλύτερη ποσότητα αιθέριου ελαίου.

### **Αποτελέσματα απορρόφησης των δοκιμών με θέρμανση**

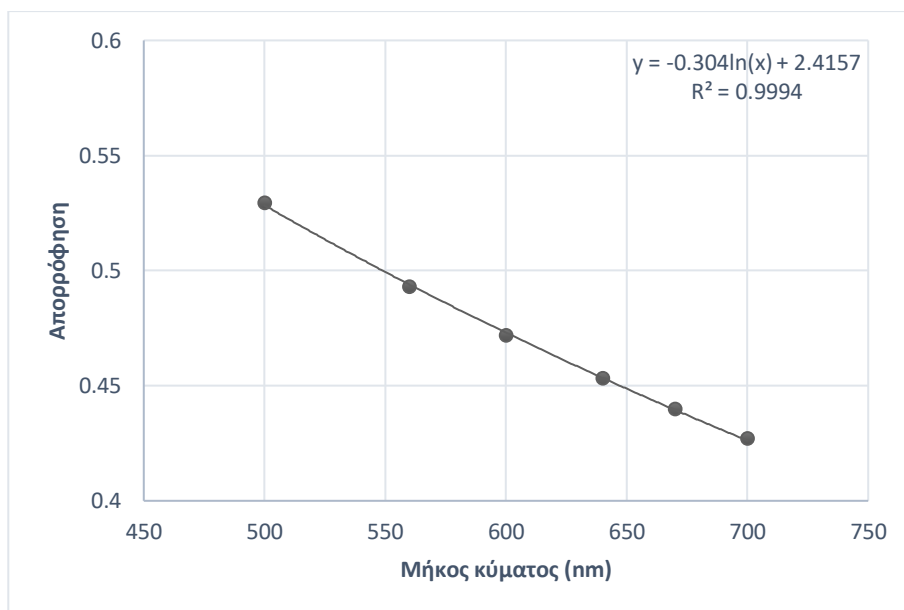
Στη δοκιμή με εφαρμογή θέρμανσης παρατηρήθηκε η καλύτερη ομογενοποίηση των συστατικών των παρασκευασμάτων συγκριτικά με τις προηγούμενες μεθόδους και η μεγαλύτερη επαναληψιμότητα μεταξύ των επαναλήψεων.

Τα Σχήματα 7 και 8 είναι ενδεικτικά της απορρόφησης με τη δοκιμή θέρμανσης. Στο Σχήμα 7 απεικονίζεται η απόλυτη μέση τιμή και οι τυπικές αποκλίσεις στο φάσμα 500 nm- 700 nm και στο σχήμα 8 απεικονίζεται η τάση μείωσης της απόλυτης μέση τιμή της απορρόφησης με την αύξηση του μήκους κύματος.



*Σχήμα 7: Ενδεικτική απεικόνιση της απορρόφησης συναρτήσει του μήκους κύματος και οι τυπικές αποκλίσεις στη δοκιμή με εφαρμογή θέρμανσης*



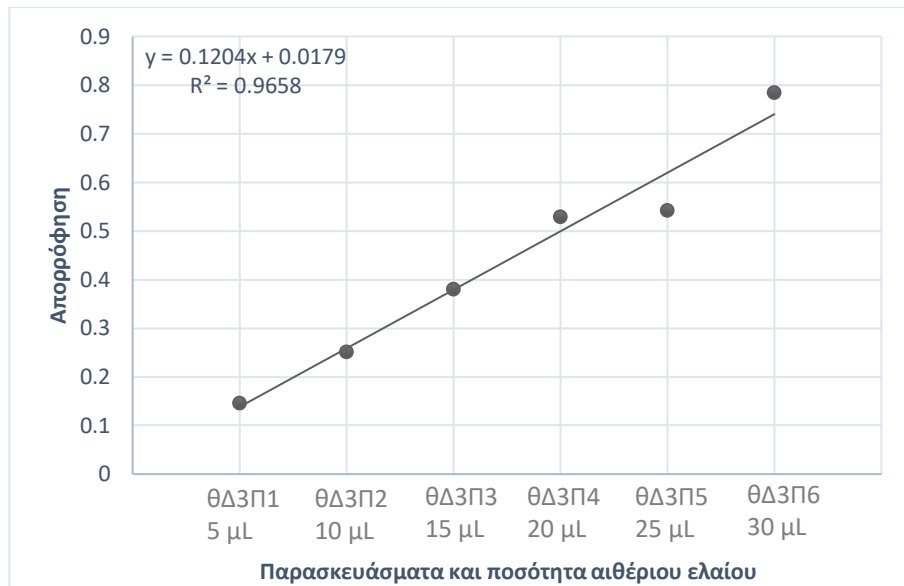


Σχήμα 8: Ενδεικτική απεικόνιση της απορρόφησης συναρτήσει του μήκους κύματος στη δοκιμή με εφαρμογή θέρμανσης

Στο Σχήμα 7 οι τυπικές αποκλίσεις των φασμάτων είναι πολύ μικρές. Συγκρίνοντας τις τυπικές αποκλίσεις του Σχήματος 4 το οποίο είναι μια ενδεικτική απεικόνιση της απορρόφησης συναρτήσει του μήκους κύματος στη δοκιμή με TWEEN 20 και του Σχήματος 7 παρατηρούμε ότι στο Σχήμα 7 οι τυπικές αποκλίσεις είναι πολύ μικρότερες του Σχήματος 4. Επομένως, προκύπτει το συμπέρασμα ότι στη δοκιμή με θέρμανση υπάρχει μεγαλύτερη επαναληψιμότητα των αποτελεσμάτων.

Στο σχήμα 8 η λογαριθμική συνάρτηση που προκύπτει από την μείωση της απόλυτης μέσης τιμής απορρόφησης καθώς αυξάνεται το μήκος κύματος έχει πολύ καλό συντελεστή συσχέτισης, ο οποίος είναι σχεδόν 1.

Στο σχήμα 9 απεικονίζεται η συνάρτηση των παρασκευασμάτων θΔ3Π1-θΔ3Π6 στο μήκος κύματος 500 nm.



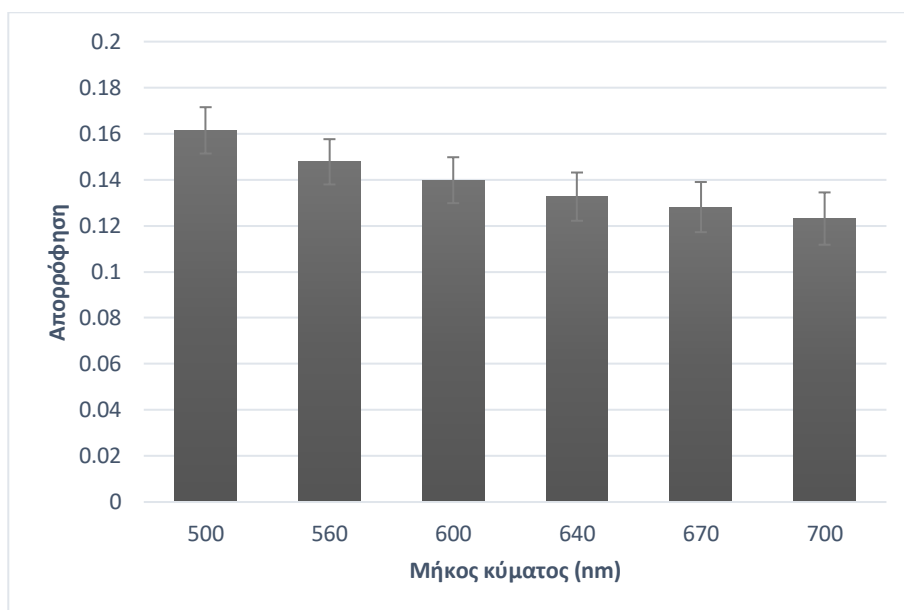
Σχήμα 9: Απορρόφηση συναρτήσει της περιεκτικότητας σε αιθέριο έλαιο *Rosa damascena* του Συνεταιρισμού Αρωματικών, Φαρμακευτικών & Οπωροκηπευτικών Φυτών Βοΐου Κοζάνης και TWEEN 20 στα 500 nm, με θέρμανση

Στο Σχήμα 9 προκύπτει μια γραμμική συνάρτηση της απορρόφησης συναρτήσει της περιεκτικότητας του αιθέριου ελαίου (παρασκευάσματα ΘΔ3Π1-ΘΔ3Π6) η οποία έχει καλό συντελεστή συσχέτισης. Καθώς αυξάνεται η περιεκτικότητα του αιθέριου ελαίου στα παρασκευάσματα αυξάνεται και η μέση τιμή της απορρόφησης.

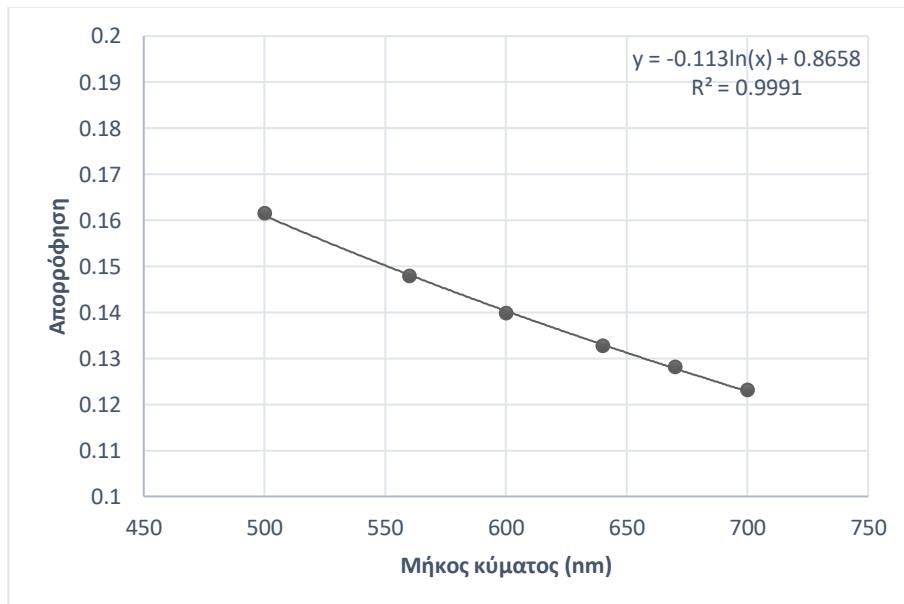
Από τη στατιστική ανάλυση που πραγματοποιήθηκε στα παρασκευάσματα ΘΔ3Π1-ΘΔ3Π6 δεν διέφεραν στατιστικά σημαντικά τα παρασκευάσματα ΘΔ3Π4 με ΘΔ3Π5. Από το συγκεκριμένο αποτέλεσμα προκύπτει το πόρισα ότι γίνεται να διακριθεί η ποσότητα αιθέριου ελαίου στο ροδόνερο στην τάξη των 10 μL αλλά όχι στην τάξη των 5 μL.

### **Αποτελέσματα απορρόφησης της δοκιμής με σκεύασμα αιθέριου ελαίου της εταιρίας fito+**

Τα Σχήματα 10 και 11 είναι ενδεικτικά της απόλυτης μέσης τιμής της απορρόφησης στο φάσμα 500 nm – 700 nm για τη δοκιμή με τη χρήση TWEEN 20 σε διαφορετικό σκεύασμα αιθέριου ελαίου της εταιρίας fito+ και με εφαρμογή θέρμανσης. Στο σχήμα 10 φαίνονται οι τυπικές αποκλίσεις των απορροφήσεων και στο σχήμα 11 φαίνεται η τάση μείωση της απορρόφησης με την αύξηση του μήκους κύματος.



Σχήμα 10: Ενδεικτική απεικόνιση της απορρόφησης συναρτήσεως του φάσματος και οι τυπικές αποκλίσεις στη δοκιμή με σκεύασμα αιθέριου ελαίου της εταιρίας fito+

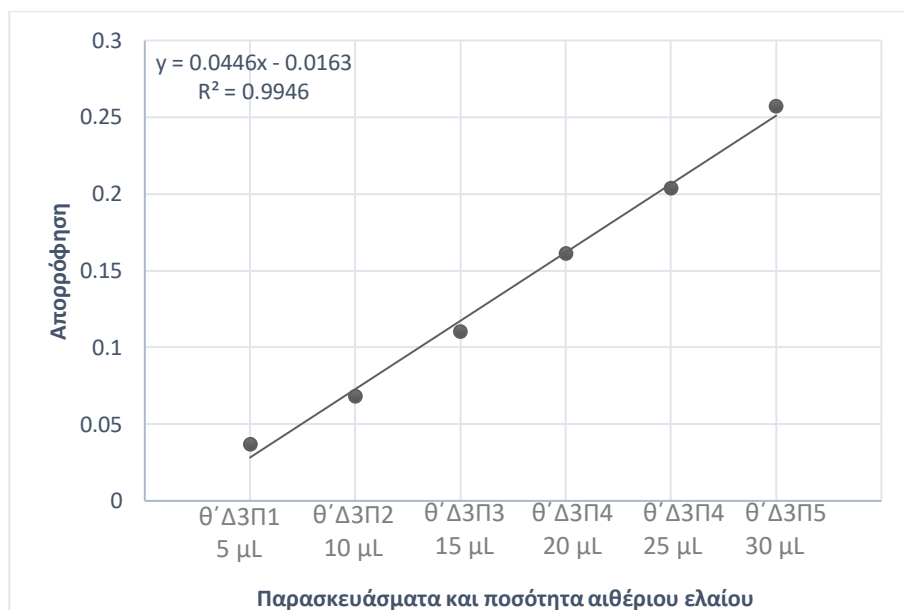


Σχήμα 11: Ενδεικτική απεικόνιση της απορρόφησης συναρτήσεως του φάσματος στη δοκιμή με σκεύασμα αιθέριου ελαίου της εταιρίας fito+

Στο Σχήμα 10 οι τυπικές αποκλίσεις που απεικονίζονται είναι πολύ μικρές επομένως υπάρχει καλή επαναληψιμότητα των αποτελεσμάτων. Στο Σχήμα 11 η τάση

μείωσης της απορρόφησης αυξανόμενου του μήκους κύματος σχηματίζει μια λογαριθμική συνάρτηση με πολύ καλό συντελεστή συσχέτισης.

Στο Σχήμα 12 απεικονίζεται η γραμμική τάση της απορρόφησης στα παρασκευάσματα θ'Δ3Π1-θ'Δ3Π6.



Σχήμα 12: Απορρόφηση συναρτήσει της περιεκτικότητας σε αιθέριο έλαιο της φαρμακευτικής εταιρίας fito+ και TWEEN 20 στα 500 nm, με θέρμανση

Στο Σχήμα 12, όπου απεικονίζεται η απορρόφηση συναρτήσει της περιεκτικότητας σε αιθέριο έλαιο της φαρμακευτικής εταιρίας fito+ (παρασκευάσματα θ'Δ3Π1, θ'Δ3Π2, θ'Δ3Π3, θ'Δ3Π4, θ'Δ3Π5 και θ'Δ3Π6) δημιουργείται μια γραμμική τάση, η οποία αυξάνεται καθώς αυξάνεται η περιεκτικότητα του αιθέριου ελαίου στα παρασκευάσματα με πολύ καλό συντελεστή συσχέτισης.

Στη στατιστική ανάλυση που πραγματοποιήθηκε στα παρασκευάσματα θ'Δ3Π1-θ'Δ3Π6 στα 500 nm διέφεραν στατιστικά σημαντικά όλα τα παρασκευάσματα. Το συμπέρασμα αυτού του αποτελέσματος είναι ότι μπορεί να γίνει διάκριση του αιθέριου ελαίου σε ροδόνηρο και στη τάξη των 5 μL.

#### **Αποτελέσματα απορρόφησης σε συνάρτηση με το χρόνο**

Μετά την εφαρμογή υπέρηχων πραγματοποιούνταν δυο επαναλήψεις μετρήσεων στο φασματοφωτόμετρο OPTIZEN POP σε χρονικό διάστημα 5 λεπτών. Από τη

στατιστική ανάλυση που πραγματοποιήθηκε σε όλα τα παρασκευάσματα μεταξύ του χρόνου δεν διέφεραν στατιστικά σημαντικά μεταξύ τους. Προκύπτει το συμπέρασμα ότι ο χρόνος που περνάει μεταξύ των υπερήχων και της μέτρησης στο φασματοφωτόμετρο δεν επηρεάζει το αποτέλεσμα της απορρόφησης.

#### **Αποτελέσματα δοκιμών ομογενοποιητή, ισοπροπανόλης και τετραϋδροφουρανίου (THF)**

Τα πειράματα που αφορούσαν τη χρήση ομοιογενοποιητή και των διαλυτών ισοπροπανόλη και τετραϋδροφουρανίου (THF) δεν ολοκληρώθηκαν γιατί στη μέθοδο με τη χρήση ομοιογενοποιητή το αιθέριο έλαιο δεν διαλύθηκε στο νερό, το διάλυμα εμφάνιζε αφρό και το έλαιο κολλούσε στο υλικό του ομοιογενοποιητή, και με τους διαλύτες δεν πραγματοποιήθηκε πλήρης διάλυση του αιθέριου ελαίου στα παρασκευάσματα.

## ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Το πείραμα με τίτλο φασματοφωτομετρική μέθοδος για την ποσοτική μέτρηση αιθέριου ελαίου σε αρωματισμένο νερό και αποστάγμα παρουσιάστηκε στο 1<sup>ο</sup> Διεθνές Συμπόσιο Φυσικής, Μηχανικής και Τεχνολογίες Βιοϊατρικής. Σκοπός του συγκεκριμένου πειράματος ήταν η βελτίωση των μεθόδων προσδιορισμού πτητικών συστατικών αρωματισμένου νερού και αποστάγματος νωπών υλικών τριαντάφυλλου με τη φασματοφωτομετρία.

Στο πείραμα πραγματοποιήθηκε υδροαπόσταξη ροδοπέταλων για την παραλαβή ροδόενου. Έπειτα 1 mL αποστάγματος διαλύθηκε σε αιθανόλη σε αναλογία 1:4. Η αιθανόλη χρησιμοποιήθηκε επειδή εξαλείφει τη σύνθεση των υδρόφοβων ενώσεων στα τοιχώματα της κυψελίδας. Ο προσδιορισμός της συγκέντρωσης του αιθέριου ελαίου πραγματοποιήθηκε με δύο τρόπους. Ο πρώτος τρόπος ήταν με βαθμονόμηση και ο δεύτερος ήταν με τη σύγκριση με ένα γνωστό δείγμα. Η μέτρηση πυκνότητας των διαλυμάτων πραγματοποιήθηκε με φασματοφωτόμετρο SF-103 σε φάσμα μήκους κύματος 200 nm – 300 nm. Χρησιμοποιήθηκαν κυψελίδες πάχους 1 cm.

Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι το σταθερότερο μέγιστο παρουσιάστηκε στο φάσμα 250 – 280 nm. Επίσης, τα δείγματα ήταν επαναλήψιμα και δεν υπήρχε τυπικό σφάλμα.

Το συμπέρασμα του πειράματος ήταν ότι η χρήση μονοχρωματικού φωτός στο φασματοφωτόμετρο αυξάνει την ακρίβεια των μετρήσεων. Επίσης, η συγκεκριμένη μέθοδος είναι εφαρμόσιμη σε άχρωμα διαλύματα. Τέλος, τα αποτελέσματα που προκύπτουν είναι γρήγορα χωρίς μεγάλα σφάλματα. Αυτή η μέθοδος μπορεί να εφαρμοστεί με ακρίβεια όταν υπάρχει μικρή διαθεσιμότητα υδατικού αποστάγματος.

Συγκρίνοντας τα δύο πειράματα παρατηρούνται πολλές διαφορές. Η σημαντικότερη είναι τα διαφορετικά φάσματα που χρησιμοποιήθηκαν. Όπως αναλύθηκε στο πείραμα της πτυχιακής στα 500 nm υπήρχε η μέγιστη απορρόφηση. Στο παραπάνω πείραμα χρησιμοποιήθηκαν μικρότερα μήκη κύματος 200 – 300 nm με ιδανικότερο φάσμα τα 250 nm – 280 nm οπότε προκύπτει το συμπέρασμα ότι στο πείραμα της πτυχιακής πιθανόν να υπήρχαν καλύτερα αποτελέσματα σε μικρότερα μήκη κύματος. Επίσης, στο πείραμα που προαναφέρθηκε δεν έγινε κάποια γαλακτωματοποίηση του μίγματος. Πραγματοποιήθηκε αραίωση του απεσταγμένου αρωματισμένου νερού με αιθανόλη, η οποία είναι λιποδιαλυτική. Όμως δεν μπορεί να

γίνει σύγκριση των δύο πειραμάτων καθώς στο πείραμα της πτυχιακής παρασκευαζόταν μίγματα με αιθέριο έλαιο γνωστής συγκέντρωσης ενώ στο παραπάνω πείραμα χρησιμοποιήθηκε αρωματισμένο νερό απόσταξης ροδοπέταλων το οποίο περιείχε ήδη αιθέριο έλαιο και δεν χρειαζόταν να γίνει ομοιογενοποίηση του ελαίου με το νερό.

## ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑ

Συνοψίζοντας και συγκρίνοντας τα παραπάνω αποτελέσματα όλων των μεθόδων προκύπτει το συμπέρασμα ότι η χρήση του γαλακτωματοποιητή TWEEN 20 και η εφαρμογή θέρμανσης είναι η ασφαλέστερη μέθοδος, όμως η διάκριση του αιθέριου ελαίου σε ροδόνερο μπορεί να γίνει μόνο στην τάξη των 10  $\mu\text{L}$ . Οι γραμμικές συναρτήσεις των δυο διαφορετικών ελαίων είναι διαφορετικές επομένως, δεν γίνεται να χρησιμοποιηθεί μια γενική συνάρτηση για όλα τα είδη των ελαίων. Από κάθε αιθέριο έλαιο προκύπτει μια διαφορετική συνάρτηση. Στην περίπτωση που είναι γνωστό το αιθέριο έλαιο που υπάρχει στο ροδόνερο μπορεί να χρησιμοποιηθεί η συνάρτησή του και να βρεθεί η ποσότητα αιθέριου ελαίου που περιέχεται στο ροδόνερο.

Για την ασφαλέστερη εκπόνηση του πειράματος είναι απαραίτητες οι επαναλήψεις των παρασκευασμάτων. Διαθέτοντας περισσότερα αποτελέσματα θα είναι ευκολότερη η στατιστική ανάλυση και θα υπάρχει η δυνατότητα απόρριψης δειγμάτων που αποκλίνουν από τα υπόλοιπα.

Η φασματοφωτομετρία είναι μια απλή τεχνική εκτίμησης της ποσότητας αιθέριου ελαίου σε ροδόνερο όμως το σημαντικότερο μειονέκτημα της φασματοφωτομετρίας αποτελεί η καθαρότητα του δείγματος. Η ύπαρξη ακόμα και ελάχιστων προσμίξεων στην ένωση, είναι αρκετή ώστε να δώσει πολλές ανεξήγητες απορροφήσεις και να δυσκολέψει την ερμηνεία του φάσματος.

Όπως αποδείχτηκε παραπάνω στο μήκος κύματος 500 nm υπάρχει η μεγαλύτερη απορρόφηση η οποία μειώνεται καθώς αυξάνεται το μήκος κύματος. Σε φάσμα μικρότερο των 500 nm πιθανόν να παρατηρούνταν καλύτερα αποτελέσματα. Σε πείραμα στο οποίο εφαρμόστηκε φασματοφωτομετρία για την ποσοτική μέτρηση αιθέριου ελαίου σε αρωματικό νερό τριαντάφυλλου πραγματοποιήθηκαν μετρήσεις στο φάσμα 200 nm – 300 nm και η μέγιστη απορρόφηση των φυσικών τερπενοϊδών συστατικών παρατηρήθηκε στο φάσμα 250 nm – 280 nm.

Οι διαφορές στα δύο διαφορετικά σκευάσματα αιθέριου ελαίου *Rosa damascena* πιθανόν να οφείλονται στο διαφορετικό χρώμα των δύο ελαίων. Το πρώτο αιθέριο έλαιο που χρησιμοποιήθηκε ήταν σχεδόν άσπρο και ελαφρώς με κίτρινο υποτόνο ενώ το δεύτερο αιθέριο έλαιο ήταν πορτοκαλί γεγονός το οποίο επηρέασε στην μέτρηση της απορρόφησης στο φασματοφωτόμετρο. Επίσης, μπορεί να οφείλονται σε διαφορετικά ποιοτικά συστατικά των δυο σκευασμάτων. Πιθανόν κάποιο από αυτά ή και τα δυο να είχαν υποστεί αλλοίωση είτε εσκεμμένα για να νοθευτεί είτε ακούσια



λόγω κακής αποθήκευσης ή λάθος διαδικασία παραγωγής. Στο εμπόριο υπάρχουν πολλά σκευάσματα τα οποία δεν περιέχουν καθαρό αιθέριο έλαιο *Rosa damascena* αλλά προσμίξεις με αυτό. Η δημιουργία μιας γενικής πρότυπης καμπύλης ποσοτικής μέτρησης αιθέριου ελαίου σε ροδόνερο είναι σχεδόν αδύνατη γιατί τα περισσότερα σκευάσματα του εμπορίου περιέχουν προσμίξεις με αιθέριο έλαιο *Rosa damascena* σε διαφορετικές περιεκτικότητες το καθένα και τα αποτελέσματα είναι σε κάθε περίπτωση διαφορετικά. Για το λόγο αυτό πρέπει να δημιουργείται μια πρότυπη καμπύλη για κάθε αιθέριο έλαιο.

## **ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ**

### **Ελληνική Βιβλιογραφία:**

1. Βύρων Σκρουμπής, 1988. Αρωματικά φυτά και αιθέρια έλαια. Εκδόσεις Σύγχρονη Παιδεία, Θεσσαλονίκη
2. Ιωάννης Σ. Αρβανιτογιάννης, 2001. Στοιχεία τεχνολογίας, μεταποίησης και συσκευασίας τροφίμων. Εκδόσεις UNIVERSITY STUDIO PRESS, Θεσσαλονίκη
3. Κωνσταντίνος Φιωτάκης, 2012. Στοιχεία Χημείας-Κοσμητολογία. (<http://iek-varis.att.sch.gr/himeia%2014-11-12.pdf> , τελευταία πρόσβαση 2/2/2019)
4. Κωνσταντίνα Φλεκκα, 2017. Χρήση νανοτεχνολογιας για την βελτίωση των Χαρακτηριστικών των αιθέριων ελαίων στα Καλλυντικά. Μεταπτυχιακή διπλωματική εργασία, Πάτρα
5. Μαρία Λάλια-Καντούρη, Στέργιος Παπαστεφάνο, 2012. Γενική και ανόργανη χημεία. Εκδόσεις Ζήτη, Θεσσαλονίκη
6. Στάυρος Θ. Κατσιώτης, Πασχαλίνα Σ. Χατζοπούλου, 2016. Αρωματικά φαρμακευτικά φυτά και αιθέρια έλαια. Εκδόσεις Κυριακίδη, Θεσσαλονίκη
7. Αιωρήματα Γαλακτώματα/Χημεία Κολλοειδών Συστημάτων. Σημειώσεις μαθήματος Χημείας Εαρινού εξάμηνου Ακ. Έτους 2017-18, Πανεπιστήμιο Πάτρας. ([https://eclass.upatras.gr/modules/document/file.php/CMNG2128/LECT2\\_28-02-2018.pdf](https://eclass.upatras.gr/modules/document/file.php/CMNG2128/LECT2_28-02-2018.pdf) , τελευταία πρόσβαση, 2/2/2019)

### **Ξένη βιβλιογραφία:**

1. Daniela Nedeltcheva-Antonova, Petya Stoicheva, Liudmil Antonov, 2017. Chemical profiling of Bulgarian rose absolute (*Rosa damascena* Mill.) using gas chromatography – mass spectrometry and trimethylsilyl derivatives. *Industrial Crops & Products*, 108 (2017) 36-43
2. E. Semenova, V. Presnyakova, D. Goncharov, M. Goncharov, E. Presnyakova, S. Presnyakov, I. Moiseeva, S. Kolesnikova, 2017. Spectrophotometric method for quantitative measuring essential oil in aromatic water and distillate with rose smell. 10.1088/1742-6596/784/1/012053

3. Hasan Baydar, Nilgün Göktürk Baydar, 2005. The effects of harvest date, fermentation duration and Tween 20 treatment on essential oil content and composition of industrial oil rose (*Rosa damascena* Mill.). *Industrial Crops and Products* 21 (2005) 251–255
4. Kenneth S. Norris, George W. Harvey. A Theory for the Function of the Spermaceti Organ of the Sperm Whale (*Physeter catodon* L.). (<https://ntrs.nasa.gov/search.jsp?R=19720017437>, τελευταία πρόσβαση 3/1/2019)
5. O. Rasoulia, N. Ahmadi, S. Rashidi Monfaredb, F. Sefidkonec, 2018. Physiological, phytochemicals and molecular analysis of color and scent of different landraces of *Rosa damascena* during flower development stages. *Scientia Horticulturae* 231 (2018) 144–150
6. Probir Kumar Pall, Rakesh Deosharan Singh, 2013. Understanding crop-ecology and agronomy of *Rosa damascena* Mill. for higher productivity. *Australian Journal of Crop Science*, 1835-2707
7. Rakesh Kumar, Saurabh Sharma, Swati Sood, Munish Kaundal & Vijai K. Agnihotri, 2017. Effect of manures and inorganic fertilizers on growth, yield, and essential oil of damask rose (*Rosa damascena* Mill.) and chemical properties of soil in western Himalayas. *Journal of Plant Nutrition*, 1532-4087
8. Saurabh Sharma, Rakesh Kumar, 2018. Influence of Harvesting Stage and Distillation Time of Damask Rose (*Rosa damascena* Mill.) Flowers on Essential Oil Content and Composition in the Western Himalayas. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 0976-5026
9. Zeinolabedi Seify, Mehrab Yadegari, Abdollah Ghasemi Pirbalouti, 2017. Essential oil composition of *Rosa damascena* Mill. Produced with different storage temperatures and durations. *Horticultural Science and Technology* 36(4):552-559, 2018
10. K. Hüsnü Can Baser, Ayten Altintas, Mine Kürkcüoğlu, 2012. Turkish Rose: A Review of the History, Ethnobotany, and Modern Uses of Rose Petals, Rose Oil, Rose Water, and Other Rose Products. American Botanical Council (<http://cms.herbalgram.org/herbalgram/pdfs/HG96-Rose.pdf> , τελευταία πρόσβαση 2/2/2019)