

# **ΓΕΩΠΟΝΙΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ**

**ΣΧΟΛΗ ΤΡΟΦΙΜΩΝ, ΒΙΟΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΚΑΙ ΑΝΑΠΤΥΞΗΣ  
ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ ΚΑΙ ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ ΤΟΥ ΑΝΘΡΩΠΟΥ  
ΔΙΑΤΜΗΜΑΤΙΚΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΥΤΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ  
«ΑΜΠΕΛΟΥΡΓΙΑ-ΟΙΝΟΛΟΓΙΑ»  
ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΟΙΝΟΛΟΓΙΑΣ**



**ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΣΥΣΤΑΤΙΚΩΝ ΤΟΥ ΑΡΩΜΑΤΟΣ ΚΑΙ ΤΗΣ ΓΕΥΣΗΣ ΕΙ-  
ΔΩΝ ΞΥΛΟΥ ΜΕΤΑ ΑΠΟ ΕΚΧΥΛΙΣΗ ΚΑΙ ΚΛΑΣΜΑΤΟΠΟΙΗΣΗ ΑΥΤΩΝ**

**ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΜΕΛΕΤΗ**

**ΧΑΤΖΗΧΑΡΑΛΑΜΠΟΥΣ Μ. ΑΡΓΥΡΩ**

**ΧΗΜΙΚΟΣ**

**ΑΘΗΝΑ, 2018**

# ΓΕΩΠΟΝΙΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ

ΣΧΟΛΗ ΤΡΟΦΙΜΩΝ, ΒΙΟΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΚΑΙ ΑΝΑΠΤΥΞΗΣ  
ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ ΚΑΙ ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ ΤΟΥ ΑΝΘΡΩΠΟΥ  
ΔΙΑΤΜΗΜΑΤΙΚΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ  
«ΑΜΠΕΛΟΥΡΓΙΑ-ΟΙΝΟΛΟΓΙΑ»  
ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΟΙΝΟΛΟΓΙΑΣ



**ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΣΥΣΤΑΤΙΚΩΝ ΤΟΥ ΑΡΩΜΑΤΟΣ ΚΑΙ ΤΗΣ ΓΕΥΣΗΣ ΕΙ-  
ΔΩΝ ΞΥΛΟΥ ΜΕΤΑ ΑΠΟ ΕΚΧΥΛΙΣΗ ΚΑΙ ΚΛΑΣΜΑΤΟΠΟΙΗΣΗ ΑΥΤΩΝ**

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΜΕΛΕΤΗ

ΧΑΤΖΗΧΑΡΑΛΑΜΠΟΥΣ Μ. ΑΡΓΥΡΩ

ΧΗΜΙΚΟΣ

ΑΘΗΝΑ, 2018

ΓΕΩΠΟΝΙΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ  
ΣΧΟΛΗ ΤΡΟΦΙΜΩΝ, ΒΙΟΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΚΑΙ ΑΝΑΠΤΥΞΗΣ  
ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ ΚΑΙ ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ ΤΟΥ ΑΝΘΡΩΠΟΥ  
ΔΙΑΤΜΗΜΑΤΙΚΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΥΤΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ «ΑΜΠΕΛΟΥΡΓΙΑ-ΟΙΝΟΛΟΓΙΑ»  
ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΟΙΝΟΛΟΓΙΑΣ

**ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΣΥΣΤΑΤΙΚΩΝ ΤΟΥ ΑΡΩΜΑΤΟΣ ΚΑΙ ΤΗΣ ΓΕΥΣΗΣ ΕΙΔΩΝ ΞΥΛΟΥ  
ΜΕΤΑ ΑΠΟ ΕΚΧΥΛΙΣΗ ΚΑΙ ΚΛΑΣΜΑΤΟΠΟΙΗΣΗ ΑΥΤΩΝ**

**Τριμελής Εξεταστική Επιτροπή:**

**Κοτσερίδης Γεώργιος** Αναπληρωτής Καθηγητής Οινολογίας, Τμήματος Επιστήμης Τροφίμων και  
Διατροφής του Ανθρώπου, του Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών

**Καλλίθρακα Σταματίνα** Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Οινολογίας, Τμήματος Επιστήμης Τροφίμων και  
Διατροφής του Ανθρώπου, του Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών

**Ρούσσος Πέτρος** Αναπληρωτής Καθηγητής Δενδροκομίας, Τμήματος Επιστήμης Φυτικής Παραγωγής, του  
Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών

## ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Σκοπός της παρούσας μεταπτυχιακής μελέτης είναι ο ποιοτικός και ο ποσοτικός προσδιορισμός των συστατικών του αρώματος και της γεύσης τεσσάρων ειδών ξύλου μετά από εκχύλιση και κλασματοποίηση τους. Τα τέσσερα είδη ξύλου που χρησιμοποιήθηκαν ήταν η Ακακία, η Γαλλική, Αμερικάνικη και Σλαβόνικη Δρυς σε την μορφή chips ή ρινισμάτων.

Στα ξύλα αυτά πραγματοποιήθηκε εκχύλιση υγρού/στερεού με διαλύτη ένα υδραλκοολικό διάλυμα αιθανόλης-νερού 50% v/v. Το εκχύλισμα που παραλήφθηκε υποβλήθηκε σε διαδοχικές εκχυλίσεις με διαλύτες αυξανόμενης πολικότητας. Τα κλάσματα από την κάθε εκχύλιση αφού εξατμίστηκαν μέχρι ξήρου με την βοήθεια αζώτου επαναδιαλυτοποιήθηκαν σε υδραλκοολικό διάλυμα 50% v/v. Προέκυψαν συνολικά εικοσιτέσσερα δείγματα με τελικό όγκο 10ml το καθένα.

Δείγμα από αυτά ξηράνθηκε και διαλύθηκε σε μεθανόλη : νερό (50: 50). Σ 'αυτά πραγματοποιήθηκε ποσοτικός και ποιοτικός προσδιορισμός φαινολικών μικρού μοριακού βάρους (LMWP) και ελλαγιταννινών με χρήση Υγρής Χρωματογραφίας Υψηλής Πίεσης (HPLC), μετά από σειρά δοκιμών για την δημιουργία κατάλληλης μεθόδου βασισμένης σε προηγούμενες μελέτες. Με την HPLC έγινε προσδιορισμός των εξής ενώσεων: Γαλλικό οξύ, (+)-κατεχίνη, βανιλικό οξύ, συριγγικό οξύ, συριγγαλδεΐδη, p-κουμαρικό οξύ, κονιφεραλδεΐδη, ναριγκίνη, ελλαγικό οξύ, βεσκαλαγίνη και κασταλαγίνη. Ο τελικός προσδιορισμός έγινε με χρήση πρότυπων καμπυλών συγκέντρωσης των πιο πάνω ουσιών που κατασκευάσαμε.

Ακολούθησε ποιοτικός προσδιορισμός των πτητικών συστατικών των δειγμάτων μας με χρήση ολφακτομετρίας. Ποσότητες από τα δείγματα υποβλήθηκαν σε εκχύλιση υγρού/υγρού με διχλωρομεθάνιο και έπειτα έγινε ανάλυση αέριας χρωματογραφίας – ολφακτομετρίας (GC-O) για καταγραφή των αρωμάτων ή οσμών που προέκυπταν και του χρόνου έκλουσης τους από τον αναλυτή.

Τα τέσσερα είδη ξύλου που εκχυλίστηκαν, αξιολογήθηκαν οσφρητικά από ένα πάνελ 10 εκπαιδευμένων δοκιμαστών οι οποίοι αξιολόγησαν την παρουσία και την ένταση των αρωμάτων βανίλιας, καρύδας, καραμέλας, καμένου ξύλου/καπνιστού, φρέσκου ξύλου, ξυσμένου μολυβιού, μοσχοκάρυδου, κανέλας/γαρύφαλλου, μαύρης σοκολάτας και αποξηραμένων φρούτων. Οι ίδιοι δοκιμαστικές μετά από αραίωση του υδραλκοολικού διαλύματος με Model Wine, αξιολόγησαν τα τέσσερα είδη ξύλου και γευστικά ως προς την οξύτητα, γλυκύτητα, στυπτικότητα, πικρή γεύση και ένταση επίγευσης.

Τα αποτελέσματα του πειράματος έδειξαν ότι υπήρχαν σε κάποιες περιπτώσεις ποσοτικές διαφορές συστατικών, οι οποίες οδηγούσαν τελικά και σε οργανοληπτικές διαφορές μεταξύ του ξύλου της Ακακίας και της Γαλλικής Δρυός. Ακόμα υπήρχαν και διαφορές ως προς το άρωμα των εκχυλισμάτων από

διαφορετικά είδη ξύλου αφού στην Ακακία επικρατούσε το άρωμα καμένου ξύλου, στην Αμερικάνικη Δρυ του φρέσκου ξύλου ενώ στην Γαλλική Δρυ του ξυσμένου μολυβιού.

**Λέξεις κλειδιά:** Ακακία, Γαλλική Δρυς, Φαινολικά μικρού μοριακού βάρους, ελλαγιταννίνες, πτητικά συστατικά, HPLC

## ABSTRACT

The purpose of this postgraduate study is the qualitative and quantitative chemical analysis of the flavour and taste components of four types of wood after extraction and fractionation. The four types of wood used for the aforementioned study were Acacia along with three types of Oak (French, American and Slavonian) in the form of chips or rasping.

The tested wood samples were subjected to liquid/solid extraction using a hydroalcoholic based solvent of a 50% v/v ethanol-water composition. The obtained extracts were subjected to successive extractions using increasing polarity solvents. The fractions of each extraction were first dried completely using nitrogen to return to their solid state before getting re-solubilised in 50% v/v hydroalcoholic solution. In total twenty-four samples were obtained with a final volume of 10 ml each.

Sample of these was dried and dissolved in a mixture of methanol: water (50:50). Quantitative and qualitative determination of low molecular weight phenolics (LMWPs) and ellagitannins was performed on those samples using HPLC, after a series of tests needed for the generation of an appropriate testing protocol which was based on previous published methods. Using the HPLC assay the following compounds were identified: Gallic acid, (+) - catechin, vanillic acid, syringic acid, syringaldehyde, p-coumaric acid, coniferaldehyde, narignin, ellagic acid, vescalagin and castalagin. The final identification was made using the standard curves of the aforementioned manufactured substances.

The specimens were then subjected to olfactometry analysis in order to qualitatively determinate their volatile components. Quantities of those samples underwent liquid / liquid extraction using dichloromethane followed by gas chromatographic-olfactometry (GC-O) analysis aimed to determine the perfumes or odors produced and record their elution time from the analyzer.

The four types of extracted wood underwent olfactory evaluation through a panel of 10 trained testers who evaluated the presence and intensity of vanilla, coconut, caramel, burnt wood / smoked, fresh wood, scraped pencil, nutmeg, cinnamon / carnation, black chocolate and dried fruits. After the dilution of the hydroalcoholic solution with Model Wine, the same group of people evaluated the four types of wood through a tasting test according to acidity, sweetness, astringency, bitter taste and after-taste strength.

The results of the experiment demonstrated that there were in few cases quantitative differences of components, which eventually led to organoleptic differences between the wood of Acacia's and the French Oak. Yet there were differences in the aroma of extracts emerged from different types of wood, for example in Acacia samples the burning aroma of wood was dominating whilst in the case of the

American Wood and French Oak the dominating aromas were fresh wood and scraped pencil respectively.

Keywords: Acacia, French Oak, Low molecular weight phenolics, ellagitannins, volatile components, HPLC

## ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Η παρούσα μεταπτυχιακή μελέτη εκπονήθηκε στο Εργαστήριο Οινολογίας του Τμήματος Επιστήμης Τροφίμων και Διατροφής του Ανθρώπου του Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών.

Σ' αυτό το σημείο θα ήθελα να ευχαριστήσω ιδιαίτερος τον Αναπληρωτή Καθηγητή Οινολογίας κ.Γιώργο Κοτσερίδη, επιβλέποντα της παρούσας μεταπτυχιακής μελέτης. Ένα μεγάλο ευχαριστώ για την καθοδήγηση του καθ' όλη την διάρκεια της εκπόνησης της μελέτης αυτής αλλά και την εμπιστοσύνη που έδειξε προς το πρόσωπο μου αναθέτοντας μου την πραγματοποίηση της. Θα ήθελα ακόμα να τον ευχαριστήσω για όλες τις πολύτιμες γνώσεις που μου μετέδωσε κατά την διάρκεια των σπουδών μου, δίνοντας μου έτσι τα απαραίτητα εφόδια για να μπορέσω να ασχοληθώ με αυτό που αγαπώ.

Ένα μεγάλο ευχαριστώ θέλω να εκφράσω στην Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Οινολογίας Σταματίνα Καλλίθρακα η οποία σε όλη την διάρκεια των σπουδών μου, όσες φορές και αν το χρειάστηκα ήταν πρόθυμη να με βοηθήσει και να μου λύσει απορίες δείχνοντας τεράστια υπομονή.

Επίσης θα ήθελα να ευχαριστήσω την κυρία Νίκη Προξενιά, η οποία καθημερινά στήριζε και στηρίζει όλους εμάς στο εργαστήριο Οινολογίας, τόσο επιστημονικά όσο και ψυχολογικά δίνοντας μας δύναμη να συνεχίσουμε αυτό που κάνουμε.

Ακόμα θέλω να ευχαριστήσω εκ βαθέων την αγαπημένη μου, υποψήφια Διδάκτορα Μαριάνθη Μπασαλέκου, τον άνθρωπο ο οποίος με στήριξε και με ανέχτηκε πιο πολύ απ' όλους σε όλη την διάρκεια της μελέτης αυτής. Μου μετέδωσε την αγάπη της για την ερευνα και μου έδωσε τις γνώσεις της αλλά και την θετική ενέργεια όσες φορές την χρειαζόμουν.

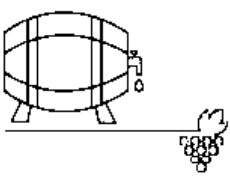
Τέλος, ένα τεράστιο ευχαριστώ στους γονείς μου Μάριο και Αννίτα, για την ενθάρρυνση, την στήριξη και την αγάπη τους σε κάθε μου βήμα, χωρίς αυτούς δεν θα βρισκόμουν εδώ.



## ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΠΕΡΙΛΗΨΗ.....	II
ABSTRACT .....	IV
ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ.....	VI
1.ΒΑΡΕΛΙΑ .....	1
1.1 Ιστορική αναδρομή.....	1
1.2 Χημική σύνθεση ξύλου.....	3
1.2.1 Φλαβονοειδή.....	4
1.2.2 Μη φλαβονοειδή.....	5
1.3 Δρυς.....	11
1.3.1 Γαλλική Δρυς.....	13
1.3.2 Αμερικάνικη Δρυς .....	13
1.3.3 Σύγκριση διαφορετικών ειδών Δρυός .....	14
1.4 Ακακία .....	15
1.5 Βαρελοποιία.....	15
1.5.1 Κατασκευή βαρελιών .....	15
1.5.2 Επιρροή καψίματος στη χημική σύνθεση του ξύλου .....	19
2.ΘΕΩΡΙΑ ΜΕΘΟΔΩΝ .....	21
2.1 Εκχύλιση.....	21
2.1.1 Εκχύλιση στερεού-υγρού (solid-liquid extraction).....	21
2.1.2 Εκχύλιση υγρού-υγρού (liquid-liquid extraction) .....	21
2.1.3 Διαλύτες.....	23
2.2 Υγρή Χρωματογραφία Υψηλής Απόδοσης (HPLC) .....	24
2.2.1 Μηχανισμοί και Είδη HPLC.....	26
2.2.2 Οργανολογία.....	27
2.3 Αέρια Χρωματογραφία – Ολφακτομετρία (GC – O) .....	30
2.3.1 Προετοιμασία του δείγματος.....	33
2.3.2 Οργανολογία.....	33
3. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ.....	35
3.1 Σχεδιασμός και στόχος πειράματος .....	35
3.2 Εκχυλίσεις υγρού/στερεού και υγρού/υγρού στα chips ξύλων .....	37
3.2.1 Εκχυλίσεις στην Acacia.....	37
3.2.2 Εκχυλίσεις σε American Oak .....	37
3.2.3 Εκχυλίσεις σε French Oak .....	38
3.2.3 Εκχυλίσεις σε Slavonian Oak .....	38

3.3 Ποιοτικός και ποσοτικός προσδιορισμός των LMWP και ελλαγιταννινών με χρήση της HPLC.....	41
3.4 Ποιοτικός προσδιορισμός αρωμάτων - Ολφακτομετρία .....	43
3.5 Οργανοληπτικός έλεγχος .....	43
3.5.1 Οσφρητική αξιολόγηση .....	44
3.3.2 Γευστική αξιολόγηση .....	44
3.6 Στατιστική Ανάλυση.....	45
4. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ .....	46
4.1 Αποτελέσματα ανάλυσης HPLC και Εκχυλίσεων.....	46
4.2 Αποτελέσματα ολφακτομετρίας .....	59
4.3 Αποτελέσματα οσφρητικής αξιολόγησης.....	63
4.3.1 Αποτελέσματα ανά ξύλο.....	66
4.4 Αποτελέσματα γευστικής αξιολόγησης.....	68
5. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ .....	71
6. ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ .....	76
7. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ .....	83



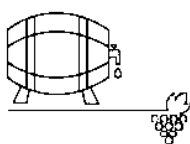
## 1.ΒΑΡΕΛΙΑ

### 1.1 Ιστορική αναδρομή

Τα βαρέλια σχεδόν με την μορφή που τα γνωρίζουμε σήμερα, φαίνεται να εφευρέθηκαν από τους Κέλτες τον 3<sup>ο</sup> αιώνα π.Χ. και αντικατέστησαν τους αμφορείς στη μεταφορά του οίνου (F. Lnnhenheimer, 2013). Στην αρχαία Μεσοποταμία τα βαρέλια αρχικά φτιάχνονταν από φοινικόδε-ντρα αν και δεν έβρισκαν εφαρμογή στο κρασί καθώς η μορφοποίηση και το λύγισμα του ξύλου από τα δέντρα αυτά δεν ήταν εύκολη, και έτσι δεν χρησιμοποιούνταν πολύ για αποθήκευση υγρών. Λαμβάνοντας υπόψη το μειονέκτημα αυτό οι έμποροι κρασιού άρχισαν να πειραματίζονται και ψάχνουν για μια καλύτερη πρώτη ύλη για την κατασκευή των βαρελιών, φτάνοντας κάποια στιγμή να δοκιμάζουν και τη Δρυ (Z. Sun, 2013) Η χρήση της δρυός στη βαρελοποιία ήταν διαδεδομένη για 2000 χρόνια περίπου ενώ τα πρώτα γραπτά που αναφέρονται στη χρήση της εντοπίζονται στην εποχή της Ρωμαϊκής Αυτοκρατορίας. Με την πάροδο του χρόνου οι οινοπαραγωγοί ανακάλυψαν ότι η χρήση των δρύνων βαρελιών και η παλαίωση του οίνου σ' αυτό, δεν ήταν απλά βολική αλλά βελτίωνε επίσης την ποιότητα και την εμφάνιση του, τη γεύση και την αίσθηση στο στόμα. Σύντομα η παλαίωση σε δρύινα βαρέλια έγινε απαραίτητη προϋπόθεση για την παραγωγή οίνων υψηλής ποιότητας (F. Lnnhenheimer ,2013, H. Johnson, J. Robinson., 2001, S. Charters., 2006). Λαμβάνοντας υπόψη τις μοναδικές μηχανικές, φυσικές και χημικές ιδιότητες του ξύλου αυτού προέκυψε να είναι ιδανικό όχι μόνο για μεταφορά του κρασιού αλλά και για βελτίωση της ποιότητας και του οργανοληπτικού του χαρακτήρα. Πράγματι τα αποτελέσματα ήταν τόσο καλά που σε ολόκληρο τον κλάδο της οινοποίησης ανά το παγκόσμιο, μέχρι και σήμερα, η δρυς αποτελεί τον βασιλιά της βαρελοποιίας. Στην Ευρωπαϊκή Ένωση υπάρχουν ακόμα και νομοθεσίες οι οποίες δίνουν το δικαίωμα σε έναν οινοπαραγωγό να προσθέσει ειδικές ενδείξεις στο κρασί του ανάλογα με τον συνολικό χρόνο παλαίωσης του και με τον χρόνο παραμονής του για οξειδωτική παλαίωση σε βαρέλια δρυός. Στην χώρα μας σύμφωνα με την *Κοινή Υπουργική Απόφαση 280580/2005 - ΦΕΚ 875/Β/28-6-2005* μπορούν να αναγραφούν στο μπουκάλι οι πιο κάτω ενδείξεις εφόσον πληρούνται οι προϋποθέσεις που ορίζει ο νόμος:

- i. «RESERVE» ή «ΕΠΙΛΕΓΜΕΝΟΣ» : Για ερυθρούς οίνους ΟΠΑΠ<sup>1</sup>, εφόσον ο ελάχιστος χρόνος συνολικής παλαίωσης πραγματοποιείται για δύο (2) έτη εκ των οποίων τουλάχιστον δώδεκα (12) μήνες σε δρύινα βαρέλια και έξι (6) μήνες σε φιάλες.

<sup>1</sup>Οίνοι με Ονομασία Προέλευσης (Ονομασία Προέλευσης Ανωτέρας Ποιότητας ή Ο.Π.Ε. / Ονομασία Προέλευσης Ελεγχόμενη).



## 1.ΒΑΡΕΛΙΑ

Για λευκούς οίνους ΟΠΑΠ, εφόσον ο ελάχιστος χρόνος συνολικής παλαίωσης πραγματοποιείται για ένα (1) έτος εκ των οποίων τουλάχιστον έξη (6) μήνες σε δρύινα βαρέλια και τρεις (3) μήνες σε φιάλες.

- ii. «GRANDE RESERVE» ή «ΕΙΔΙΚΑ ΕΠΙΛΕΓΜΕΝΟΣ» : Για ερυθρούς οίνους ΟΠΑΠ, Εφόσον ο ελάχιστος χρόνος συνολικής παλαίωσης πραγματοποιείται για τέσσερα (4) έτη εκ των οποίων τουλάχιστον δεκαοκτώ (18) μήνες σε δρύινα βαρέλια και δεκαοκτώ (18) μήνες σε φιάλες.

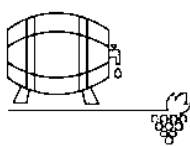
Για λευκούς οίνους ΟΠΑΠ, εφόσον ο ελάχιστος χρόνος συνολικής παλαίωσης πραγματοποιείται για ένα (1) έτος εκ των οποίων τουλάχιστον έξη (6) μήνες σε δρύινα βαρέλια και τρεις (3) μήνες σε φιάλες.

- iii. «ΚΑΒΑ» ή «CAVA» : Για ερυθρούς επιτραπέζιους οίνους με γεωγραφική ένδειξη καταγωγής (Τοπικοί οίνοι), που παραμένουν προς παλαίωση τριάντα έξι (36) μήνες, από τους οποίους τουλάχιστον δώδεκα (12) μήνες σε δρύινα βαρέλια και δώδεκα (12) μήνες σε φιάλες. Για λευκούς και ερυθρωπούς επιτραπέζιους οίνους με γεωγραφική ένδειξη καταγωγής (Τοπικοί οίνοι), που παραμένουν προς παλαίωση δώδεκα (12) μήνες, από τους οποίους τουλάχιστον έξη (6) μήνες σε δρύινα βαρέλια και έξη (6) μήνες σε φιάλες.

Τα πιο διαδεδομένα είδη δρυός που χρησιμοποιούνται στην οινοποιία είναι η Αμερικάνικη (*Quercus alba*) και η Γαλλική δρυς (*Q. Robur* ή *pedunculata* και *Q. Petraea* ή *sessilis*) των οποίων τα χαρακτηριστικά διαφέρουν και θα αναλυθούν πιο κάτω (Glabasnia A., Hofmann T., 2006), ενώ τα τελευταία χρόνια γίνονται μελέτες και σε άλλα ήδη ξύλου όπως καστανιά (*Castanea sativa*), κερασσιά (*Prunus avium*), φλαμουριά (*Fraxinus excelsior* και *F. vulgaris*), μουριά (*Morus alba* και *M. nigra*) και ακακία (*Robinia pseudoacacia*) με την οποία θα ασχοληθούμε επίσης (Sanz M., et al., 2012).

Ο οινολόγος καλείται να επιλέξει το βαρέλι που θα ταιριάζει καλύτερα με το ύφος και το στυλ που θέλει να δώσει στον παραγόμενο οίνο του και θα τον αναδεικνύει. Γνωρίζοντας τις διαφορές που παρουσιάζονται ανάλογα με το βοτανικό είδος, την γεωγραφική προέλευση, την ηλικία και τον βαθμό καψίματος του ξύλου επιλέγει τον σωστό συνδυασμό αυτών για πετύχει το αποτέλεσμα που θέλει.

Αξίζει να σημειωθεί ότι στον κλάδο της οινοποιίας σήμερα πέραν των κλασικών βαρελιών δύναται να χρησιμοποιηθεί η δρυς, ανάλογα με την νομοθεσία της εκάστοτε χώρας, και σε άλλες μορφές δίνοντας παραπλήσια αποτελέσματα. Χάνεται βέβαια το πλεονέκτημα της μικροοξυγόνωσης και



οξειδωτικής παλαίωσης που μας δίνει το βαρέλι. Στην αγορά υπάρχουν διαθέσιμες δούγιες, τουβλάκια, chips ξύλου, ρινίσματα και τέλος πούδρα ξύλου.

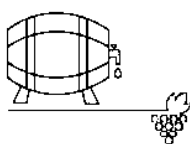
## 1.2 Χημική σύνθεση ξύλου

Τα φαινολικά συστατικά αποτελούν μία από τις πιο πολυάριθμες και ευρέως καταναμημένες ομάδες στον φυτικό κόσμο, μέχρι στιγμής έχουν δημοσιευτεί πάνω από 8000 γνωστές δομές φαινολικών (Bravo L.,1998). Οι ενώσεις αυτές διαιρούνται σε τάξεις ανάλογα με τον αριθμό των βενζοϊκών δακτυλίων και των υποκαταστατών που υπάρχουν σ'αυτούς (Πίνακας 1) (Deshpande S.S., Sathe S.K., Salunkhe D.K.,1984).

**Πίνακας 1:** Χαρακτηρισμός φαινολικών ανάλογα με τον αριθμό των βενζοϊκών δακτυλίων και της δομής του μορίου. (Deshpande S.S., Sathe S.K., Salunkhe D.K.,1984).

Structure	Phenolic Class
C <sub>6</sub>	Simple phenolics
C <sub>6</sub> -C <sub>1</sub>	Phenolic acids and related compounds
C <sub>6</sub> -C <sub>2</sub>	Acetophenones and phenylacetic acids
C <sub>6</sub> -C <sub>3</sub>	Cinnamic acids, cinnamyl aldehydes/alcohols
C <sub>6</sub> -C <sub>3</sub>	Coumarins, isocoumarins, chromones
C <sub>6</sub> -C <sub>1</sub> -C <sub>6</sub>	Benzophenones, xanthenes
C <sub>6</sub> -C <sub>2</sub> -C <sub>6</sub>	Stilbenes
C <sub>6</sub> -C <sub>3</sub> -C <sub>6</sub>	Chalcones, aurones, dihydrochalcones
C <sub>6</sub> -C <sub>3</sub> -C <sub>6</sub>	Flavones
C <sub>6</sub> -C <sub>3</sub> -C <sub>6</sub>	Flavonols
C <sub>6</sub> -C <sub>3</sub> -C <sub>6</sub>	Flavanones
C <sub>6</sub> -C <sub>3</sub> -C <sub>6</sub>	Flavanonols
C <sub>6</sub> -C <sub>3</sub> -C <sub>6</sub>	Flavan-3-ols
C <sub>6</sub> -C <sub>3</sub> -C <sub>6</sub>	Isoflavonoids
C <sub>6</sub> -C <sub>3</sub> -C <sub>6</sub>	Anthocyanidins/Anthocyanins
(C <sub>6</sub> -C <sub>3</sub> -C <sub>6</sub> ) <sub>2</sub>	Biflavonoids
C <sub>6</sub> ,C <sub>10</sub> ,C <sub>14</sub>	Benzoquinones, naphthaquinones, anthraquinones
C <sub>18</sub>	Betacyanins
Lignans, neolignans	Dimers or oligomers
Lignin	Polymers
Phlobaphenes	Polymers

Ένα άλλο σύστημα ταξινόμησης που καθιερώθηκε αφορά τη φλαβονοειδή και μη φλαβονοειδή δομή των προαναφερθέντων ενώσεων.



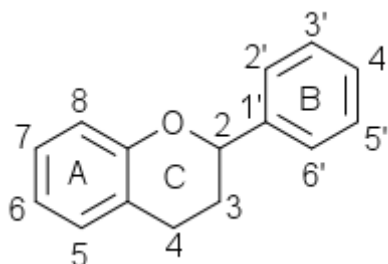
### 1.2.1 Φλαβονοειδή

Ο σκελετός των φλαβονοειδών βασίζεται στις  $C_{15}$  ( $C_6-C_3-C_6$ ) ενώσεις, και έχουν όλα κοινή δομή διφαινυλοπροπανίου με δύο αρωματικούς δακτυλίους (δακτύλιος A και B) ενωμένους μέσω μίας ομάδας τριών ατόμων άνθρακα παράγοντας έναν ετεροκυκλικό δακτύλιο με ένα άτομο οξυγόνου (δακτύλιος C). Τα φλαβονοειδή τα συναντάμε εναλλακτικά στα φυτά και σαν O- ή C-γλυκοζίδες. Οι προτιμώμενες θέσεις γλυκοζυλίωσης είναι στον  $C_3$  του C δακτυλίου, ή στον  $C_5$  του A δακτυλίου και πιο σπάνια στον  $C_7$ . Η γλυκόζη είναι το πιο κοινό σάκχαρο στα φλαβονοειδή, άλλες φορές μπορεί να έχουμε ραμνόζη, ξυλόζη και γαλακτόζη (Wollgast J., Anklam E., 2003; Ross, J.A.; Kasum, C.M., 2002; Cuyckens F., Claeys M., 2004).

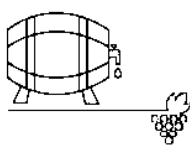
Με βάση τη στερεοχημεία του  $C_3$  καθορίζεται και η τάξη του μορίου.

Συνήθως, τα φλαβονοειδή αποτελούνται κυρίως από μονομερές φλαβανόλες (κατεχίνες και λευκανθοκυανιδίνες), πολυμερείς φλαβανόλες (προανθοκυανιδίνες), και χαλκόνες, φλαβονόλες, φλαβανόνες και ανθοκυανιδίνες, όλα αυτά από το μονοπάτι βιοσύνθεσης φλαβονοειδών. Πιο κάτω φαίνονται οι βασικές χημικές δομές των κύριων φλαβονοειδών (Πίνακας 2) (Herrmann K., 1976; Manach C., *et al.*, 2004)

**Πίνακας 2:** Βασικές χημικές δομές των κύριων φλαβονοειδών του ξύλου (φυτών) (Herrmann K., 1976).



Φλαβονοειδή	Βασική δομή
Chalcones	
Dihydrochalcones	
Aurones	



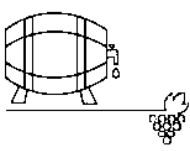
---

Flavonols	
Dihydroflavonols	
Flavanones	
Flavanols	
Isoflavonoids	
Biflavonoids	
Anthocyanidins	

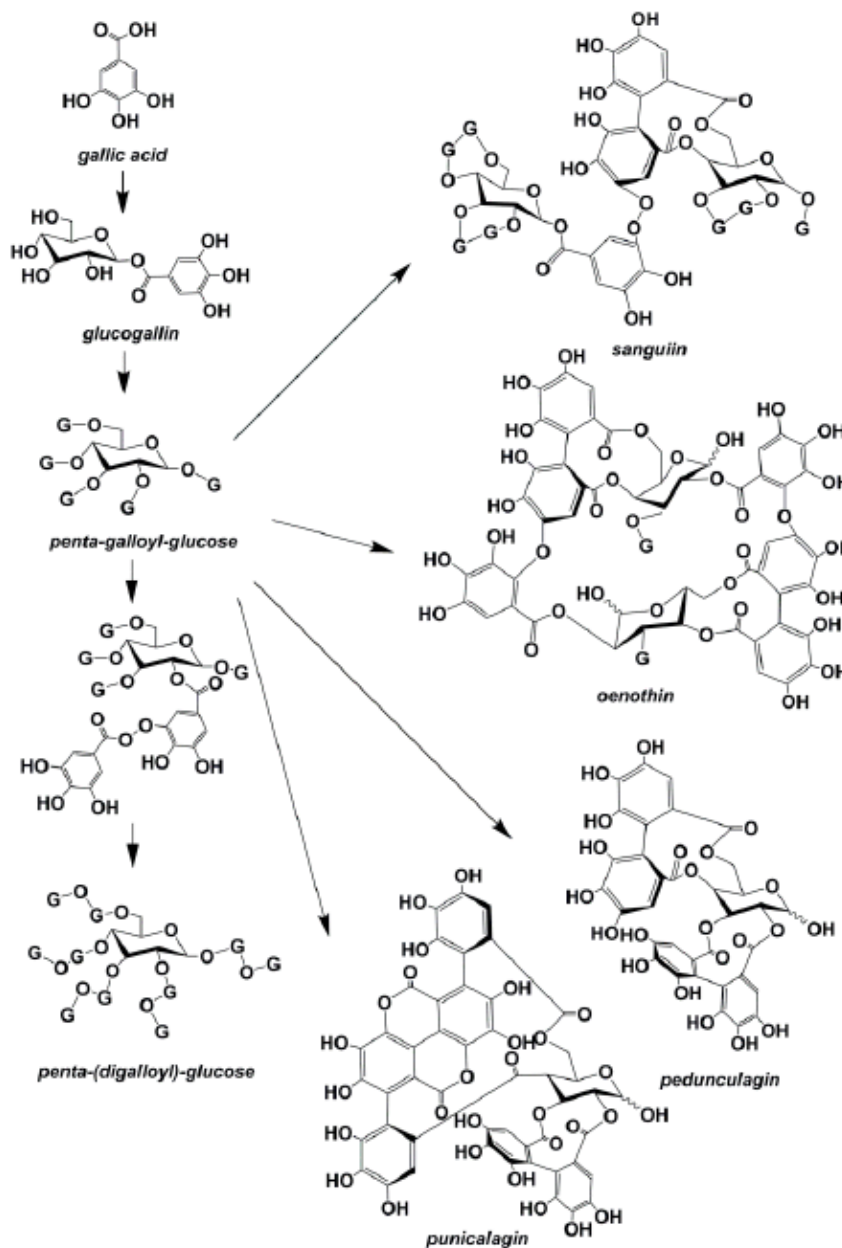
---

### 1.2.2 Μη φλαβονοειδή

Τα μη φλαβονοειδή χωρίζονται κυρίως σε υδροξυβενζοϊκά οξέα, υδροξυκιναμωμικά οξέα, πτητικές φαινόλες, στυλβένια κτλ. Τα υδροξυβενζοϊκά οξέα είναι οργανικές ενώσεις που περιέχουν επίσης φαινολικό δακτύλιο ενωμένο με μία καρβοξυλική ομάδα δίνοντας μια δομή C<sub>6</sub>-C<sub>1</sub>. Τα πιο κοινά παράγωγα των υδροξυβενζοϊκών οξέων που συναντάμε είναι το γαλλικό, βανιλικό, p-υδροξυβενζοϊκό, και συριγγικό οξύ. (Rentsch M., Wilkens A., Winterhalter P., 2009; Gonçalves J., *et al.*, 2013) Τα υδροξυκιναμωμικά οξέα, ανήκουν στα πολυφαινολικά και έχουν για βασικό σκελετό τη δομή C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>, ενώ μπορεί να υπάρξουν είτε ελεύθερα είτε δεσμευμένα με άλλα συστατικά π.χ. πολυσακχαρίτες. Επιπλέον, οι πτητικές φαινόλες δίνουν χαρακτηριστικά αρώματα, και τα στυλβένια δρουν σαν φυτοαλεξίνες (Cartea M.E., *et al.*, 2010; Crozier A., Jaganath I.B., Clifford M.N., 2006).

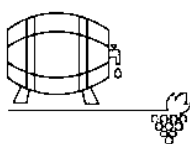


Σε αντίθεση με τα πιο πάνω οι ταννίνες, είναι ένας όρος που χρησιμοποιείται για μια μεγάλη ομάδα πολυφαινολικών, τα οποία έχουν ένα ευρύ φάσμα δομών και είναι μεσαίου-μεγάλου μοριακού βάρους. Οι ταννίνες κατατάσσονται σε δύο κύριες κατηγορίες: (α) συμπυκνωμένες και (β) υδρολύομενες (Wollgast J., Anklam E., 2000). Οι συμπυκνωμένες, γνωστές και ως προανθοκυανιδίνες έχουν ως βασική τους δομική μονάδα φλαβονοειδείς δακτυλίους όπως φαίνεται στον Πίνακα 2 (Kanerva S., 2007). Οι υδρολύομενες, όπως οι γαλλοταννίνες και οι ελλαγιταννίνες είναι πολυμερή μίας βασικής μονάδας που σχηματίζεται από ένα μόριο γλυκόζης εστεροποιημένο με πέντε μόρια γαλλικού οξέος ή με πρόδρομο του ελλαγικού (hexahydroxydiphenic acid) αντίστοιχα. Τα μοριακά τους βάρη κυμαίνονται από 500 μέχρι 5000Da, οι δομές τους παρουσιάζονται στην (Εικόνα 1) (Liu P., 2012).



Εικόνα 1: Δομές υδρολύομενων ταννινών, γαλλοταννινών και ελλαγιταννινών. (Arapitsas P., 2012)





Οι πολυφαινολικές ενώσεις που εντοπίζουμε στο ξύλο έχουν σημαντικές επιδράσεις σε παλαιωμένους οίνους. Όχι μόνο έχουν καθοριστικό ρόλο στη ωρίμανση των οίνων αλλά χαρακτηρίζονται επίσης ως παράγοντες που σχετίζονται με αντιοξειδωτικά φαινόμενα (Alañón M.E., *et al.*, 2011). Οι ενώσεις αυτές ταξινομούνται σε 3 κύριες ομάδες: πτητικές φαινόλες, φαινολικά οξέα και ελλαγιτανίνες.

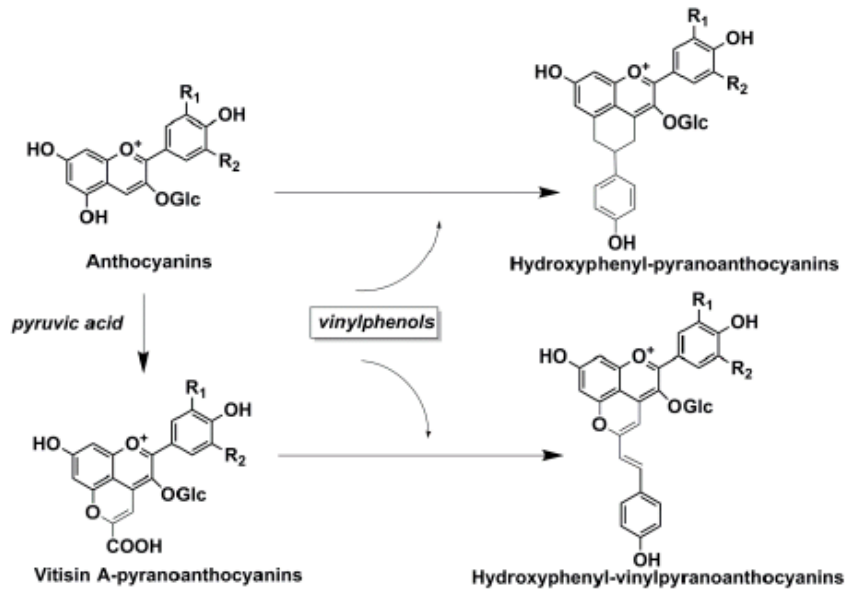
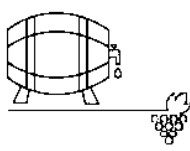
### 1.2.2.1 Πτητικές Φαινόλες

Οι πτητικές φαινόλες είναι απλές φαινόλες που συναντάμε στο ξύλο της δρυός και μπορούν να εκχυλιστούν στα κρασιά συμβάλλοντας έτσι στο μπουκέτο ενός οίνου.

Τηνη 4-βινυλφαινόλης εντοπίζονται στην δρυ, αλλά η περιεκτικότητά της μπορεί να πλησιάσει στο κατώφλι αντίληψης (605μg/L) στα κρασιά με την πάροδο του χρόνου δίνοντας οσμές που περιγράφονται σαν «φαρμακείο» κτλ (Carrillo J.D., Garrido-López Á., Tena M.T., 2006). Η 4-αιθυλφαινόλη, μία άλλη πτητική φαινόλη που βρίσκουμε σε παλαιωμένους οίνους έχει μια οσμή που περιγράφεται σαν «δέρμα», «στάβλος», «αλογίλα», «ιδρωμένη σέλλα» όταν η συγκέντρωσή της είναι πάνω από 425μg/L (Pollnitz A.P., *et al.*, 2004). Όλα τα πιο πάνω αποτελούν ελάττωμα σε έναν οίνο και είναι κοινώς γνωστά ως “Brett”. Αυτό γιατί ο σχηματισμός των φαινολών αυτών, απαιτεί την παρουσία ενζύμων για μετατροπή των πρόδρομων υδροξυκιναμμομικών οξέων στις πιο πάνω φαινόλες τα οποία δίνουν οι ζυμομύκητες *Brettanomyces*. Η παρουσία τους λοιπόν οφείλεται κυρίως σε ζύμες και όχι τόσο στην δρυ (Κοτσερίδης Γ., 2014).

Αντίθετα, η γουαϊακόλη και τα παράγωγά της έχουν μικρότερο κατώφλι αντίληψης. Η γουαϊακόλη και η 4-μεθυλγουαϊακόλη, που έχουν μυρωδιά καπνιστού και πικάντικου έχουν κατώφλι της τάξεως του 25 και 65μg/L αντίστοιχα (Marín J., *et al* 2005).

Η 4-αιθυλγουαϊακόλη με 33μg/L κατώφλι αντίληψης συμβάλλει σε πικάντικα αρώματα και αρώματα καπνιστού. Η βινυλγουαϊακόλη, με 40μg/L κατώφλι συνεισφέρει στα πικάντικα αρώματα, σε μυρωδιές γαρύφαλλου/μπαχαρικών και ξύλου(Guth H., 1997). Αυτή επίσης οφείλεται κυρίως σε προσβολές μικροοργανισμών και όχι τόσο στο ξύλο (Jarauta I., Cacho J., Ferreira V., 2005). Η 4-βινυλφαινόλη και η 4-βινυλγουαϊακόλη μπορούν να προστεθούν με ανθοκυάνες στις θέσεις C<sub>4</sub> και C<sub>5</sub> και μετά από οξείδωση ενσωματώνεται στον πυρανικό δακτύλιο δίνοντας πυρανοανθοκυάνες. Μια τέτοια προσθήκη οδηγεί σε αλλαγή του χρώματος της ανθοκυάνης σε πορτοκαλί και την προστατεύει από ενυδάτωση κάνοντας την πιο σταθερή (Schwarz M., Wabnitz T.C., Winterhalter P., 2003). Πιο κάτω βλέπουμε ένα τέτοιο παράδειγμα προσθήκης και δημιουργίας πυρανοανθοκυανών (Εικόνα 2).



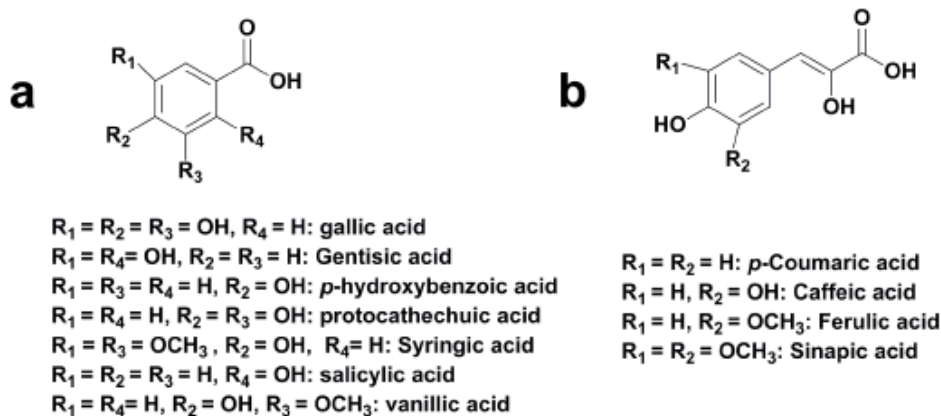
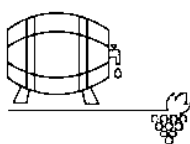
**Εικόνα 2:** Δημιουργία πυρανοανθοκυανόν, από προσθήκη βινυλφαινολών σε ανθοκυάνες (Schwarz M., Wabnitz T.C., Winterhalter P., 2003).

### 1.2.2.2 Φαινολικά Οξέα

Τα κύρια φαινολικά οξέα που ταχτοποιήθηκαν σε κάποια ξύλα δρυός μετά από την «παλαίωση» και το κάψιμο τους είναι τα υδροξυβενζοϊκά και υδροξυκιναμωμικά οξέα (De Simón B.F., 2003).

Τα υδροξυβενζοϊκά παράγονται κατευθείαν από βενζοϊκά οξέα, κάποια από αυτά είναι το γαλλικό, 2,5-διυδροξυβενζοϊκό, p-υδροξυβενζοϊκό, συριγγικό, σαλικυλικό και βανιλικό (Εικόνα 3α). Σχετικές ενώσεις είναι επίσης οι υδροξυβενζοϊκές αλδεΐδες, όπως η βανιλίνη και η συριγγαλδεΐδη (Ribéreau- Gayon P., *et al*, 2000).

Τα υδροξυκιναμωμικά οξέα και τα παράγωγα τους έχουν δομές C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>. Στα ξύλα δρυός τα πιο συχνά συναντάμε το p-κουμαρικό, καφεϊκό, φερουλικό και σιναπικό (Εικόνα 3β).



**Εικόνα 3:** Δομές: (α) Υδροξυβενζοϊκών οξέων ξύλου (β) Υδροξυκινναμωμικών οξέων ξύλου (De Simón B.F., Muiño I., Cadahía E., 2010).

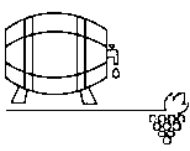
Έρευνες έδειξαν ότι το χρώμα των ερυθρών οίνων επηρεάζεται ισχυρά από την παρουσία των φαινολικών οξέων (Zhang B., *et al.*, 2015). Τα οξέα αυτά έχουν σημαντικό ρόλο στην ενίσχυση και τη σταθεροποίηση των ερυθρών χρωστικών με ένδο- και διαμοριακές αντιδράσεις συγχρωματισμού, ειδικά τα υδροξυκινναμωμικά οξέα παρέχουν περίπου 60 μέχρι 70% ενίσχυση του χρώματος στα 520nm (Eiro M.J., Heinonen M., 2002; Boulton R., 2001).

### 1.2.2.3 Ελλαγιταννίνες

Οι ελλαγιταννίνες (Εικόνα 4) συνιστούν μία από τις κύριες ομάδες πολυφαινολικών στο ξύλο. Οι δομές τους χαρακτηρίζονται από μία ή περισσότερες μονάδες hexahydroxydiphenoyl (HHDP) εστεροποιημένες με ένα μόριο σακχάρου, συχνότερα D-γλυκοπυρανόζη (Landete J.M., 2011). Οι μονάδες του HHDP συνδέονται περαιτέρω με γειτονικά μόρια γαλλικού μέσω δεσμών C-C διάρυλ(διάκυλ) αιθέρα ως αποτέλεσμα οξειδωτικών διαδικασιών σύζευξης (Ree T., 2001; Niemetz R., Gross G.G., 2005).

Οι ενώσεις αυτές έχουν μια τεράστια ποικιλομορφία λόγω των διαφορετικών δεσμών που μπορεί να σχηματίσει η μονάδα του HHDP με το τμήμα της γλυκόζης και με την έντονη τάση τους να σχηματίζουν διμερή και ολιγομερή (Niemetz R., Gross G.G., 2005). Τα μονομερή τους βεσκαλαγίνη και κασταλαγίνη βρίσκονται κατά κύριο λόγο στα είδη δρυός που χρησιμοποιούνται στην βαρελοποιία και κυριαρχούν αφού αποτελούν το 40-60% των ελλαγιταννινών (Saucier C., 2006). Τα διμερή (roburin A και roburin D) και παράγωγα της ξυλόζης (grandinin, roburin B, roburin C, roburin E) ταυτοποιούνται επίσης σε ξύλο δρυός (Michel J., 2011).

Επιπρόσθετα, οι φλαβανόλες, συμπεριλαμβανομένου των διυδρο-φλαβονολων, συχνά απαντώνται μαζί με τις ελλαγιταννίνες και δίνουν παράγωγα φλαβανο-ελλαγιταννινών (acutissimin A and B),

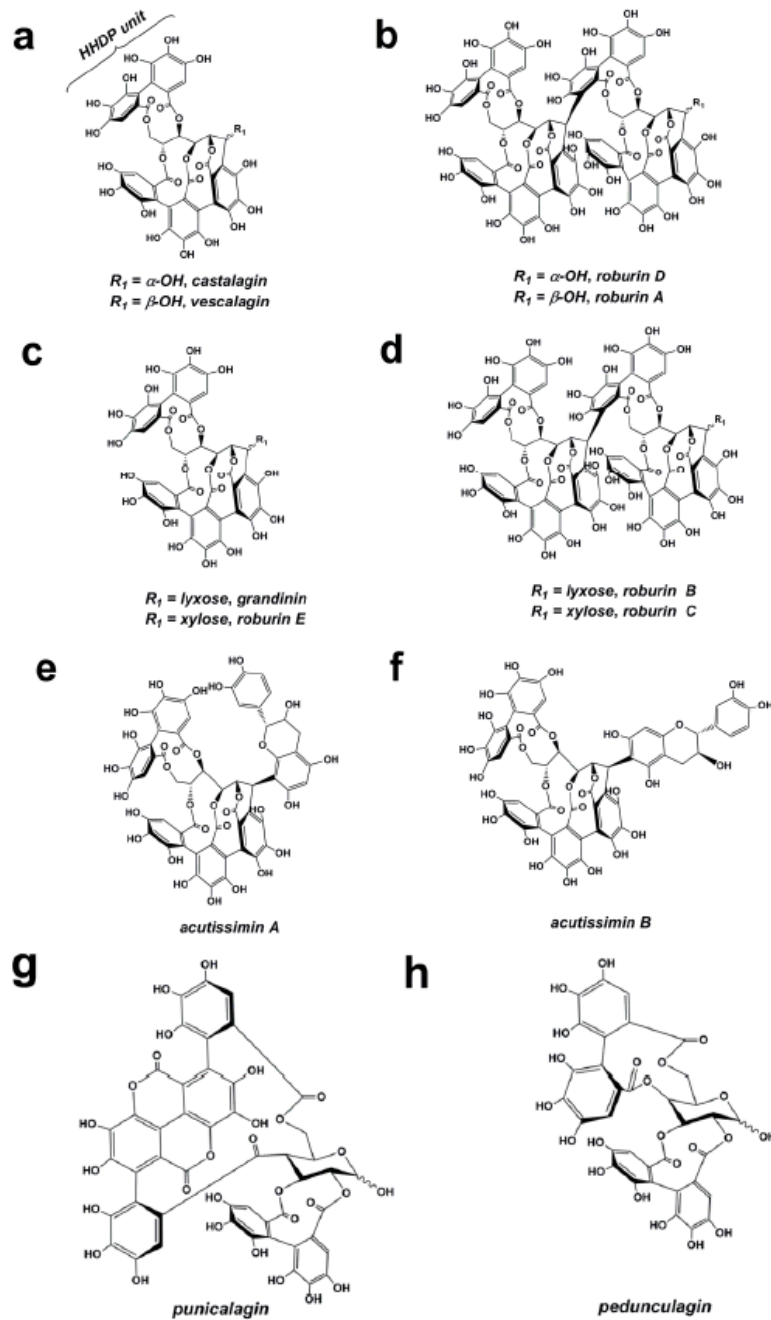
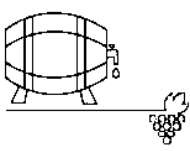


## 1.ΒΑΡΕΛΙΑ

που μπορεί να συναντήσει κανείς σε παλαιωμένα κρασιά και ούισκι. Συναντάμε επίσης και υδρολύομενες ταννίνες με διαφορετική δομή, αυτές που διαθέτουν μονάδες ελλαγικού μαζί με το σάκχαρο αντί HHDP (punicalagin, pedunculagin) (Arapitsas P., 2012). Τα επίπεδα τους στην βαρελοποιία εξαρτώνται εν μέρη από το είδος του ξύλου που χρησιμοποιούμε, όπως επίσης και από την έκταση της ξήρανσης και του καψίματος (διαδικασία κατασκευής) (Doussot F., *et al.*, 2002). Πολλές χαρακτηριστικές ιδιότητες της δρυός μπορούν να αποδοθούν στη παρουσία των ελλαγιταννινών. Για παράδειγμα τα πολυμερή αυτά είναι τοξικά για τους μικροοργανισμούς και θα μπορούσαν να προλάβουν ένα γρήγορο σάπισμα του ξύλου (Mila I., *et al.*, 1996). Οπότε προκύπτει, λόγω υψηλής συγκέντρωσης τους, η δρυς να είναι ανθεκτική σε προσβολές μυκήτων και τελικά ασυναγώνιστη στη βαρελοποιία (Mosedale J.R., Puech J.L., Feuillat F., 1999).

Ακόμα οι ελλαγιταννίνες επηρεάζουν το χρώμα του κρασιού. Εξ όσων γνωρίζουμε μία αντίδραση μεταξύ μιας ελλαγιταννίνης και μίας μωβ ή κόκκινης χρωστικής του κρασιού (φρέσκα κρασιά) μπορεί να δώσει μια νέα πορτοκαλοκόκκινη απόχρωση (σταθεροποίηση χρώματος – οξειδωτική παλαίωση) (Chassaing S., *et al.*, 2010).

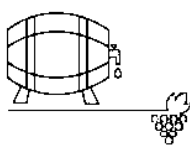
Εδώ αξίζει να σημειωθεί ότι η ακακία, για την οποία όπως προαναφέραμε έχουν αρχίσει να γίνονται έρευνες για ένταξη της στη βαρελοποιία, φαίνεται να περιέχει υψηλά ποσοστά φλαβονοειδών με χαρακτηριστικά για το ξύλο αυτό την διυδρορομπινετίνη και την ρομπινετίνη, ενώ μάλλον δεν διαθέτει υδρολύομενες ταννίνες (Sanz M., *et al.*, 2012).



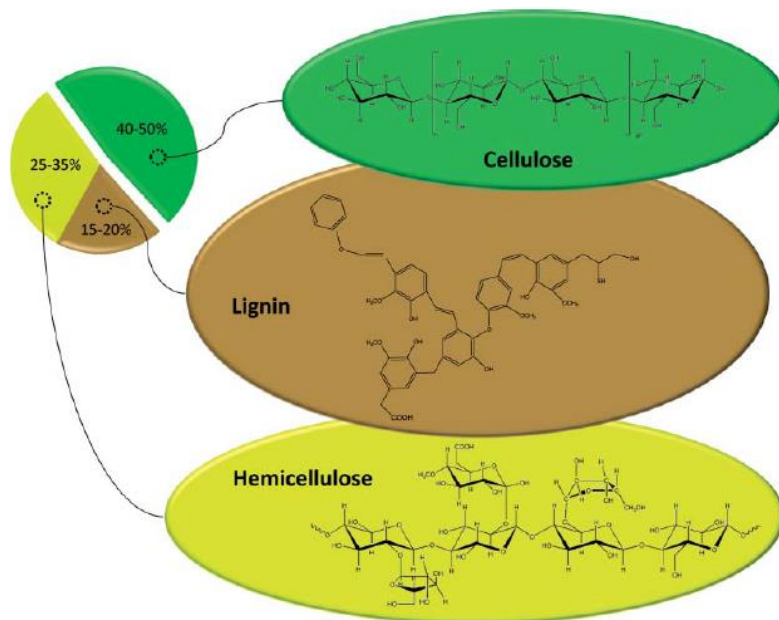
Εικόνα 4: Δομές ελλαγιταννινών (υδρολύομενων ταννινών) της δρυός (.Saucier C., et al 2006).

### 1.3 Δρυς

Η δρυς ανήκει στα αγγειόσπερμα και στην οικογένεια *Fagaceae*. Υπάρχουν περίπου 600 είδη του γένους *Quercus* παγκοσμίως και η βασική σύνθεση της δρυός δεν διαφέρει σημαντικά από ένα είδος σε άλλο. Δομούνται κυρίως από τους πιο διαδεδομένους στη φύση πολυσακχαρίτες, κυτταρίνη σε ποσοστό περίπου 40% και ημικυτταρίνη 25%. Αυτές αποτελούν τόσο τον σκελετό όσο και το εσωτερικό (μήτρα) του ξύλου. Επιπρόσθετα ένα άλλο πολυμερές που υπάρχει στα τοιχώματα των φυτών είναι η λιγνίνη σε ποσοστό ~20% (Fernández de Simón B., et al., 1996; Nonier M.F., et al.,

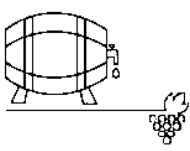


2006). Στην πιο κάτω εικόνα φαίνονται οι αναλογίες με τις οποίες τα τρία αυτά πολυμερή υπάρχουν στα διάφορα λιγνοκυτταρινούχα φυτά ( Εικόνα 5).



Εικόνα 5: Σχηματική παρουσίαση ποσοστών των τριών πολυμερών κυτταρίνη, ημικυτταρίνη και λιγνίνη στα λιγνοκυτταρινούχα φυτά (Alonso D.M. et al., 2010).

Η κυτταρίνη όπως ήδη αναφέραμε είναι ένας πολυσακχαρίτης, μια οργανική ένωση με χημικό τύπο  $(C_6H_{10}O_5)_n$ . Συνίσταται από μια γραμμική αλυσίδα μερικών εκατοντάδων έως δέκα χιλιάδων μονάδων  $\beta$  (1,4)-D γλυκόζης. Αποτελεί σημαντικό δομικό συστατικό του βασικού κυτταρικού τοιχώματος των πράσινων φυτών, πολλών ειδών αλγών και ωομυκήτων και είναι το πιο άφθονο πολυμερές στη Γη. Οι μακριές ευθείες αλυσίδες στις οποίες διατάσσεται το πολυμερές οφείλονται στη φύση των δεσμών μεταξύ των μορίων γλυκόζης ( $\beta$ -1,4 γλυκοζίτες). Η διάταξη αυτή σε συνδυασμό με το γεγονός ότι τα υδροξείδια είναι ομοιόμορφα κατανομημένα και στις δύο πλευρές του μονομερούς, επιτρέπει το σχηματισμό δεσμών υδρογόνου μεταξύ των μορίων κυτταρίνης. Οι δεσμοί υδρογόνου με τη σειρά τους έχουν ως αποτέλεσμα το σχηματισμό μιας ένωσης που αποτελείται από αρκετές παράλληλες αλυσίδες (Harmsen P.F.H., et al., 2010). Η ημικυτταρίνη, αντιπροσωπεύει μια οικογένεια πολυσακχαριτών που βρίσκονται στο φυτικό κύτταρο και έχουν διαφορετική σύνθεση και δομή ανάλογα με την πηγή τους. Οι ημικυτταρίνες είναι μικρές αλυσίδες ετερογενών πολυμερών, οι οποίες περιέχουν εξόζες (σάκχαρα με έξι άτομα άνθρακα όπως γλυκόζη, μαννόζη και γαλακτόζη) και πεντόζες (σάκχαρα με πέντε άτομα άνθρακα όπως ξυλόζη και αραβινόζη) (Harmsen P.F.H., et al., 2010). Τέλος η λιγνίνη είναι ένα σχετικώς υδρόφοβο, άμορφο και αρωματικό ετεροπολυμερές υψηλού μοριακού βάρους (>10000), αποτελούμενο κυρίως από τρεις αλκοόλες, τις co-



niferyl, synapyl και p – coumaryl. Τα συστατικά αυτά κατόπιν αφυδρογόνωσης δίνουν το σύνθετο δίκτυο της λιγνίνης. Συνδέεται με ομοιοπολικούς, και μη, δεσμούς με την κυτταρίνη και την ημι-κυτταρίνη ενώ αλληλεπιδρά και με τις πρωτεΐνες του φυτικού τοιχώματος και είναι υπεύθυνη για την σκλήρυνση του δευτερογενούς κυτταρικού τοιχώματος (Harmsen P.F.H., *et al.*, 2010). Τις ιδιότητες και τα μονομερή των συστατικών αυτών ουσιαστικά εκμεταλλευόμαστε για την κατασκευή βαρελιών και αυτά είναι που μας δίνουν μετά από τις υδρολύσεις και το κάψιμο του ξύλου στην διαδικασία κατασκευής βαρελιών τα πτητικά που έχουν τα χαρακτηριστικά αρώματα του ξύλου.

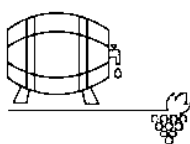
### 1.3.1 Γαλλική Δρυς

Στη Γαλλία, η ξυλεία για βαρελοποιία προέρχεται από δάση τεσσάρων βασικών περιοχών (Limousin, Centre, Burgundy, Vosges). Τα δύο είδη κόκκινης γαλλικής δρυός που υπάρχουν είναι άνισα κατανεμημένα στις περιοχές αυτές. Το πρώτο είδος, το *Q.Robur* (*pedunculata*), αναπτύσσεται ευρέως στη περιοχή του Limousin, ενώ συναντάται τόσο στη Βουργουνδία όσο και στη νότια Γαλλία. Στο Limousin τα δέντρα μεγαλώνουν σε εδάφη άργιλο-ασβεστολιθικά και πλούσια σε γρανίτη. Έχουν υψηλό δείκτη εκχυλισματικότητας όσον αφορά τα πολυφαινολικά τους συστατικά αλλά υστερούν (έχουν χαμηλές συγκεντρώσεις) σε πτητικά. Το δεύτερο είδος, το *Q.Petraea* (*sessilis*), επικρατεί στην Κεντρική Γαλλία και στο Vosges (Navarro M., *et al.*, 2016; Ribéreau-Gayon P., *et al.*, 2000). Έχουν γενικά υψηλό αρωματικό δυναμικό αλλά χαμηλά επίπεδα εκχυλισματικότητας ελαγιταννινών. Ανάλογα με την περιοχή που αναπτύσσονται λοιπόν, παρόλο που ανήκουν στο ίδιο βοτανικό είδος παρουσιάζουν διαφορές όχι μόνο στο ποσοστό ελλαγιταννινών και πτητικών αλλά και στην υφή του ξύλου (De Simón B.F., *et al.*, 2003; Prida A., *et al.*, 2006). Ανάλογα με τη διάμετρο των πόρων του ξύλου μπορεί να έχουμε τις εξής υφές:

- ❖ Λεία (<2mm): Πιο έντονο άρωμα, χαμηλότερο ποσοστό ταννινών αργής απελευθέρωσης.
- ❖ Μέτρια (2-4 mm): Άρωμα μέτριας έντασης και μέτρια περιεκτικότητα σε ταννίνες.
- ❖ Τραχιά (>4 mm): Άρωμα ελάχιστα έντονο αλλά αφθονία σε ταννίνες ταχείας απελευθέρωσης (Κοτσερίδης Γ., 2014).

### 1.3.2 Αμερικάνικη Δρυς

Στη λευκή αμερικάνικη δρυ έχουμε το είδος *Q.alba* το οποίο έχει υψηλό αρωματικό δυναμικό και είναι πλούσιο σε πτητικά, ειδικά σε μέθυλο-οκτολακτόνη (ουίσκι λακτόνη) που δίνει το χαρακτηριστικό άρωμα καρύδας, αλλά έχει μικρότερες συγκεντρώσεις ταννινών. Ένα άλλο χαρακτηριστικό της λευκής αμερικάνικης βελανιδιάς είναι το γεγονός ότι το ξύλο της παρουσιάζει επιμηκή κύτταρα τα οποία επιτρέπουν απευθείας τον πριονισμό του ξύλου για να μας δώσει τις δούγιες που θα αποτελέσουν μετέπειτα το βαρέλι, και επίσης δεν παρουσιάζονται προβλήματα διαρροών, σε αντίθεση

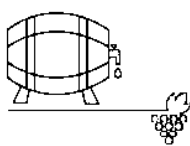


με το ξύλο της Γαλλικής του οποίου η διαμόρφωση απαιτεί να κοπούν πρώτα τα ξύλα και μετά να πριονιστούν για τον ίδιο σκοπό. Η αμερικάνικη έχει υψηλότερες συγκεντρώσεις πτητικών και χαμηλότερες υδρολυόμενων ταννινών σε σύγκριση με την γαλλική (Glabasnia A., *et al.*, 2006; Miller D.P., *et al.*, 1992).

### 1.3.3 Σύγκριση διαφορετικών ειδών Δρυός

Η αμερικάνικη δρυς όπως ήδη αναφέραμε χαρακτηρίζεται από χαμηλότερες συγκεντρώσεις στις συνολικές ελλαγιταννίνες και σημαντικά υψηλότερη περιεκτικότητα σε βανιλίνη συγκριτικά με τη γαλλική δρυ. Ωστόσο η *Q. Rubur* διαθέτει μεγαλύτερες συγκεντρώσεις γαλλικού, 3,4-δωδροξυβενζοϊκού(protocatechuic), καφεϊκού, 3,5-διμέθοξυ-4-υδοξυκινναμωμικού(sinarpic) οξέος και συνολικών φαινολικών συγκριτικά με τη *Q. alba* (Glabasnia A., *et al.*, 2006; Miller D.P., *et al.*, 1992). Παρ' όλα αυτά τα δύο κύρια είδη γαλλικής βελανιδιάς (*Q. robur*, *Q. petraea*) δεν διαφέρουν σημαντικά όσον αφορά τη περιεκτικότητα τους σε ελλαγιταννίνες (Glabasnia A., *et al.*, 2006; Miller D.P., *et al.*, 1992; Glabasnia A., Hofmann T., 2007). Κατά την διάρκεια της «συγκομιδής» της δρυός, δείγματα από γαλλική δρυ από τις περιοχές Tronçais και Vosges παρουσίασαν διπλάσιες συγκεντρώσεις σε ευγενόλη (άρωμα γαρύφαλλου) από τα αντίστοιχα δείγματα αμερικάνικης. Ωστόσο μετά από τρία χρόνια φυσικής ξήρανσης σε ανοιχτό χώρο η συγκέντρωση της ευγενόλης στα δείγματα από γαλλική δρυ μειώθηκε κατά 60 με 70%, ενώ στα δείγματα από αμερικάνικη η μείωση ήταν ελάχιστη (Sefton M.A., *et al.*, 1993). Διαφορές και μεγάλη παραλλακτικότητα φαινολικής σύνθεσης παρουσιάζεται ακόμα και ανάμεσα σε ένα είδος που καλλιεργείται σε διαφορετικές γεωγραφικές περιοχές. Παράλληλα αν εξετάσουμε τις συγκεντρώσεις βανιλίνης και ευγενόλης θα δούμε επίσης διαφορές από τη μία περιοχή στην άλλη στη Γαλλία (Limousin, center (Tronçais, Nevers, Allier), Vesges κτλ.) (Pérez-Coello M.S., Díaz-Maroto M.C., 2009; Pérez-Coello M.S., *et al.*, 1999). Μετά από έρευνες κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι ο καλύτερος τρόπος να διακρίνουμε τα διαφορετικά είδη μεταξύ τους είναι από την περιεκτικότητα σε ελλαγιταννίνες, ενώ για να διακρίνουμε τις διάφορες γεωγραφικές περιοχές είναι η περιεκτικότητα σε ευγενόλη, 2-φαινυλαιθανόλη και φαινολικές αλδεΐδες (βανιλίνη, συριγγαλδεΐδη) αφού ήταν υψηλότερη στα δείγματα ξύλου από την Ανατολική Ευρώπη (Prida A., *et al.*, 2006). Ακόμη διάφορες έρευνες υπέδειξαν ότι η σύνθεση της ισπανικής δρυός (*Q. pyrenaica*) όσον αφορά τα φαινολικά μικρού μοριακού βάρους και το ταννικό προφίλ είναι πανομοιότυπη με αυτή της γαλλικής. Κάποιες ποσοτικές διαφορές που υπάρχουν μεταξύ τους μειώνονται στην διαδικασία κατασκευής των βαρελιών (ξήρανση και κάψιμο) (Cadahía E., *et al.*, 2001). Επιπρόσθετα οργανοληπτικός έλεγχος έδειξε ότι οίνοι παλαιωμένοι σε ισπανική δρυ είχαν και πάλι παρόμοια χαρακτηριστικά με παλαιωμένους με γαλλική και αμερικάνικη οίνους. Υποστηρίζεται ότι η χρήση ξύλου από ισπανική θα αποτελούσε μια καλή εναλλακτική των





κλαστικών ειδών που χρησιμοποιούνται στη βαρελοποιία (Alañón M.E., *et al.*, 2011; Gallego L., *et al.*, 2012).

#### 1.4 Ακακία

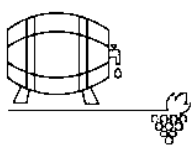
Η *Robinia pseudoacacia* γνωστή και ως «false acacia» σύμφωνα με τις λίγες δημοσιεύσεις που υπάρχουν παρουσιάζει ένα εντελώς διαφορετικό χημικό προφίλ από την δρυ (Sanz M., *et al.*, 2012). Το «στεγνό» ξύλο της ακακίας έχει υψηλές συγκεντρώσεις φλαβονοειδών και χαμηλές μη φλαβονοειδών. Οι κύριες ουσίες που διαθέτει είναι οι διυδρο-φλαβονόλες: dihydrorobinetin και fustin, tetrahydroxy και trihydroxymethoxy dihydroflavonol, η φλαβονόλη robinetin και οι φλαβονόνες robtin and butin όλα με μέσο όρο συγκεντρώσεων μεγαλύτερο των 1000μg/g ξύλου (Sanz M., *et al.*, 2012). Η ακακία φαίνεται να διαφέρει ακόμα και στο ποσοστό ταννινών συγκριτικά με τα υπόλοιπα ξύλα χωρίς να είναι εντελώς ξεκάθαρο το τοπίο, αφού σε κάποιες περιπτώσεις παρουσιάζει μόνο μικρό ποσοστό συμπυκνωμένων ταννινών και την χαρακτηρίζει η απουσία υδρολυόμενων. Τα μικρού μοριακού βάρους φαινολικά επίσης διαφέρουν, δεδομένου ότι η ακακία περιέχει δομές κυκλικών α-διύδροξυοξέων, μερικά παράγωγα γαλλικού (αλδεΐδη και εστέρες) και υδροξυκινναμωμικού οξέως (καφεΐκο και παράγωγα) και σε μικρή μόνο ποσότητα γαλλικό οξύ και ελλαγικό. Σχεδόν ανάλογα με την αύξηση του βαθμού καψίματος, αυξάνεται η συγκέντρωση των φαινολικών μικρού μοριακού βάρους (Sanz M., *et al.*, 2012; Fernandez de Simon B., *et al.*, 2014).

#### 1.5 Βαρελοποιία

##### 1.5.1 Κατασκευή βαρελιών

Η κατασκευή βαρελιών είναι μία πολύπλοκη διαδικασία και απαιτεί λεπτούς χειρισμούς και τεχνίτες που γνωρίζουν καλά την διαδικασία. Κατά τη διάρκεια της διαδικασίας κατασκευής τους λαμβάνουν χώρα διεργασίες που ανάλογα με την ένταση τους και τον τρόπο που πραγματοποιούνται επηρεάζουν τόσο το πολυφαινολικό προφίλ τους όσο και τις πτητικές τους ενώσεις (Fernández de Simón, *et al.*, 1999).

Όταν το δέντρο είναι πλέον έτοιμο για συγκομιδή (180-250 χρονών), ο κορμός κόβεται και διαχωρίζεται με το χέρι για να παρεμποδιστεί το ξεφλούδισμα του ξύλου αλλά και για να μην τραυματιστούν τα αγγεία του, τα οποία είναι σημαντικά για τη δημιουργία στεγανών βαρελιών. Το ξύλο της δρυός αρχικά χωρίζεται σε δύο, και ακολούθως σε τεταρτημόρια για να εξασφαλιστεί το ξύλο που χρειάζεται για τις δούγιες. Μετά τον διαχωρισμό και το πλάνισμα (λιμάρισμα), τα ξύλα στοιβάζονται και τοποθετούνται σε εξωτερικό χώρο (Εικόνα 6) (Κοτσερίδης Γ., 2014).



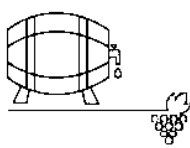
**Εικόνα 6:** Διαχωρισμός, λείανση και τοποθέτηση ξύλων από δρυ (δούγιες) πριν την διαβροχή τους στη βαρελοποιία (<http://www.mastergardenproducts.com/howbarrelsmade.htm>).

Έπειτα διαβρέχονται κάθε 3-4 μήνες και αφήνονται να ξηρανθούν και να παλαιώσουν φυσικά για μερικά χρόνια ή με τεχνητό τρόπο (Εικόνα 7) (Κοτσερίδης Γ., 2014).



**Εικόνα 7:** Δούγιες κατά την διαδικασία της διαβροχής σε εξωτερικό χώρο, για την κατασκευή βαρελιών (Κοτσερίδης Γ., 2014).

Η φυσική ξήρανση της βελανιδιάς είναι κάτι περισσότερο από μια απλή διαδικασία αφυδάτωσης. Συμβαίνει ταυτόχρονα και απώλεια υδατοδιαλυτών πολυφαινολικών ουσιών, γεγονός που συμβάλει στη μείωση της πικρής γεύσης και της στυπτικότητας των οίνων (Chatonnet P., *et al.*, 1994). Κατά τη ξήρανση, οι συγκεντρώσεις των ελλαγιταννινών μειώνονται ανάλογα με τη διάρκεια της διαδικασίας αυτής και η μείωση αυτή παρατηρείται στα πρώτα μόνο χιλιοστά του πάχους της κάθε δούγιας τα πρώτα έτη (Cadahía E., *et al.*, 2001). Η μείωση αυτή θεωρείται ότι οφείλεται εν μέρει



## 1.ΒΑΡΕΛΙΑ

στις αντιδράσεις υδρόλυσης. Από την άλλη, η διαδικασία της ξήρανσης αυξάνει τα επίπεδα των πτητικών φαινολών και των φαινολικών αλδεϋδών, συμπεριλαμβανομένης της ευγενόλης, της βανιλίνης, της συριγγαλδεϋδης, της κονιφεραλδεϋδης και της σιναμαλδεϋδης ειδικά όταν αυτή λάμβανε χώρα σε ζεστά κλίματα (Del Alamo Sanza M., *et al.*, 2004). Μετά την «παλαίωση» τους, οι δούγιες με την βοήθεια μηχανημάτων παίρνουν το κατάλληλο σχήμα για να μπορούν να συναρμολογηθούν αργότερα σε βαρέλι.

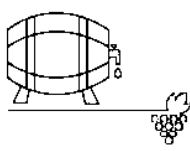
Τα ξύλα κόβονται στο κατάλληλο μήκος και έπειτα κωνικοποιούνται και στρογγυλεύονται στις άκρες. Μετά λιμάρονται στην εξωτερική πλευρά με μία ελαφριά κλίση προς τα μέσα. Αφού επιθεωρηθούν και επιλεγούν, οι δούγιες δίνονται στους βαρελοποιούς για τη συναρμολόγηση. Η διαδικασία αυτή είναι αρκετά δύσκολη, γιατί οι δούγιες πρέπει να εφαρμόζουν ακριβώς η μία με την άλλη έτσι ώστε να μην έχουμε διαρροές, πράγμα που είναι καίριας σημασίας για έναν κατασκευαστή βαρελιών. Ακόμα χρειάζεται ένα αρκετά έμπειρο μάτι για να απορρίψει τα «κομμάτια» που δεν είναι τέλεια για το βαρέλι και για να γίνει η διαδικασία σχετικά γρήγορα (Κοτσερίδης Γ., 2014).

Οι δούγιες τοποθετούνται η μία δίπλα στην άλλη μέσα σε ένα κυκλικό μεταλλικό στεφάνι που χρησιμεύει σαν εργαλείο-οδηγός για την συναρμολόγηση. Συγκρατούνται σταθερά στη θέση τους σαν «τριαντάφυλλο», όπως συνηθίζουν να την αποκαλούν, με την βοήθεια τριών στεφανών που έχουν τοποθετηθεί εκεί (Εικόνα 8) (Κοτσερίδης Γ., 2014).



*Εικόνα 8: Αρχή συναρμολόγησης βαρελιού με τοποθέτηση των ξύλων σε μεταλλικό στεφάνι (σχήμα τριαντάφυλλου)*  
(<http://www.mastergardenproducts.com/howbarrelsmade.htm>).

Στη συνέχεια υποβάλλεται σε κατεργασία με διαβροχή νερού και θέρμανσης/καψίματος με φωτιά για να λυγίσουν, να πάρουν την τελική τους μορφή και να διαμορφώσουν το τελικό τους στυλ (Εικόνα 9) (Κοτσερίδης Γ., 2014).



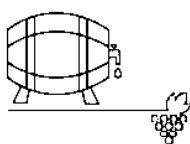
*Εικόνα 9: Διαδικασία θέρμανσης/καψίματος του βαρελιού με στόχο να αποκτήσει την τελική του μορφή, και διαμόρφωση βαθμού καψίματος (Κοτσερίδης Γ., 2014; <http://www.mastergardenproducts.com/howbarrelsmade.htm>).*

Παραδοσιακά συνηθίζεται να διαβρέχουν τα σημεία όπου εφάπτονται τα ξύλα μέσα και έξω με την βοήθεια ενός βρεγμένου ρούχου και μετά να τα θερμαίνουν με φωτιά στη μέση του βαρελιού. Η διάρκεια της θέρμανσης καθορίζει κατά κάποιον τρόπο και τις μετέπειτα οργανοληπτικές ιδιότητες που θα έχει το κρασί που παλαιώνει στο συγκεκριμένο βαρέλι. Όταν θερμαίνονται τα ξύλα ενώσεις του ξύλου υπόκεινται σε καραμελοποίηση και διάσπαση και αναπτύσσονται διάφορα αρώματα όπως βανίλιας, ψημένου ψωμιού, ξηρών καρπών κτλ που θα περάσουν αργότερα στον οίνο (Εικόνα 10).



*Εικόνα 10: Εσωτερικό βαρελιού μετά από την διαδικασία καψίματος (<http://www.mastergardenproducts.com/howbarrelsmade.htm>).*

Μετά από το λύγισμα και τη θέρμανση, ακολουθεί μία ακριβής μηχανική κατεργασία για διαμόρφωση της εσοχής που θα δεχτεί το καπάκι του βαρελιού. Τα καπάκια κόβονται έτσι ώστε το καθένα να εφαρμόζει ακριβώς στην εσοχή που δημιουργήθηκε στο βαρέλι (Εικόνα 11).



*Εικόνα 11: Κόψιμο και ακριβής εφαρμογή της κεφαλής του βαρελιού στη εσοχή που σχηματίστηκε  
(<http://www.mastergardenproducts.com/howbarrelsmade.htm>).*

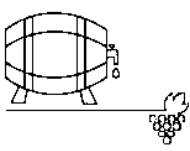
Αφού η συναρμολόγηση τελειώσει η τελική στεφανή τοποθετείται με την βοήθεια ενός σφυριού. Όταν το βαρέλι είναι έτοιμο, γίνεται αυστηρός έλεγχος της στεγανότητας, ρίχνοντας μια μικρή ποσότητα ζεστού νερού υπό πίεση μέσα στο βαρέλι. Αυτή η διαδικασία καθιστά δυνατή την άμεση ανίχνευση τυχόν διαρροών ή απλών ιχνών υγρασίας που προκαλούνται από ασυνήθιστα πορώδεις περιοχές ή κατασκευαστικό ελάττωμα (Κοτσερίδης Γ., 2014).

### 1.5.2 Επιρροή καψίματος στη χημική σύνθεση του ξύλου

Ο χρόνος καψίματος ποικίλει ανάλογα με το τι θέλει να επιτύχει ο καθένας. Η διαδικασία αυτή προκαλεί σημαντικές χημικές τροποποιήσεις σε ένα φάσμα ενώσεων του ξύλου. Ο βαθμός καψίματος επικράτησε να αναφέρεται με όρους που έχουν να κάνουν με το χρώμα που προσδίδει στο ξύλο.

- ▀ Light: για 5 λεπτά μέχρι τους 180°C.
- ▀ Medium: για 35 λεπτά μέχρι η επιφάνεια του ξύλου να έχει θερμοκρασία 160-170°C.
- ▀ Heavy : για 17.5 λεπτά μέχρι τους 230°C

Κατά την διάρκεια του καψίματος πραγματοποιούνται ποικίλες αντιδράσεις ένυδρης θερμόλυσης και πυρόλυσης ανάλογα με τον βαθμό του. Με την πυρόλυση και την θερμόλυση διασπώνται σύνθετα οργανικά μόρια σε απλούστερα, όπως οι ελλαγιτανίνες που υδρολύονται γρήγορα, η λιγνίνη



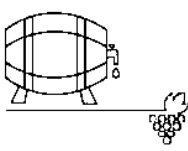
## 1.ΒΑΡΕΛΙΑ

και η ημικυταρρίνη που τροποποιούνται αργότερα (Matricardi L., Waterhouse A.L., 1999; Frangipane M.T., Santis D.D., Ceccarelli A., 2007; Cadahía E., *et al.*, 2001).

Στο καμένο ξύλο υπάρχουν μονο- και διμέθοξυφαινόλες, υψηλά επίπεδα κινναμωμικών και βενζοϊκών οξέων, και αλδεϋδών που προκύπτουν από τις μονομερείς αλκοόλες που απαρτίζουν την λιγνίνη μετά από τα φαινόμενα υδρολύσεων και οξειδώσεων που πραγματοποιούνται. Με τις διασπάσεις και την απελευθέρωση των ενώσεων αυτών παίρνουμε φαινολικές αλδεϋδες και άλλα συστατικά από το ξύλο που συμβάλουν στη βελτίωση του οργανοληπτικού χαρακτήρα του οίνου που θα μπει στο βαρέλι. Αντίθετα, τα μη καμένα δρύινα βαρέλια διαθέτουν μόνο μικρές συγκεντρώσεις πτητικών φαινολών, κυρίως ευγενόλης, και ίχνη φαινολικών αλδεϋδών (Chatonnet P., *et al.*, 1999; Sarni F., *et al.*, 1990).

Το κάψιμο ασκεί επίσης σημαντική επιρροή στη σύνθεση των ελλαγιταννινών της δρυός. Οι roburins A-E, grandinin, vescalagin και castalagin μειώνονται κατά την διαδικασία αυτή (Cadahía E., *et al.*, 2001). Παρατηρήθηκε ακόμα μία αύξηση στην περιεκτικότητα σε ελλαγικό οξύ, το οποίο μπορεί να οφείλεται στην απελευθέρωση του από μόρια ελλαγιταννινών κατά την διάρκεια της θερμικής διάσπασης (Alañón M.E., *et al.*, 2011).

Πιθανόν οι Γάλλοι βαρελοποιοί να χρησιμοποίησαν τη μέθοδο αυτή για να μειώσουν τα ποσοστά ταννινών και να περιορίσουν έτσι την στυπτικότητα των κρασιών. Ακόμα παρατηρήθηκε ότι σε μετρίου (medium) καψίματος βαρέλια εντείνεται η απώλεια ελλαγιταννινών (>90%) αλλά αυξάνονται τα πτητικά φαινολικά κατά 30%. Από την άλλη πλευρά, κάποια φαινολικά όπως γαλλικό, πρωτοκατεχουϊκό και καφεϊκό οξύ και σκοπολετίνη, είναι ευαίσθητα στη θερμική διάσπαση, και έτσι μειώνεται σημαντικά η συγκέντρωσή τους στο καμένο ξύλο δρυός (Jordão A.M., *et al.*, 2012).



## 2.ΘΕΩΡΙΑ ΜΕΘΟΔΩΝ

### 2.1 Εκχύλιση

Κυριολεκτικά, ο όρος εκχύλιση ή «απόσπαση», σε μια πιο ελεύθερη μετάφραση από την αγγλική ορολογία, μας προκαλεί την εντύπωση ότι τραβάμε κάτι από κάτι άλλο. Αυτό γίνεται πρακτικά και στη χημεία, όπου η εκχύλιση ορίζεται ως η διαδικασία διαχωρισμού των συστατικών ενός μίγματος/στερεού όταν επεξεργάζονται με έναν διαλύτη, στον οποίο κάποιο/α από αυτά είναι εκλεκτικά διαλυτό. Οι τεχνικές εκχύλισης ανάλογα με τη φύση των δύο φάσεων χωρίζονται σε :

- Εκχύλιση στερεού-υγρού
- Εκχύλιση υγρού-υγρού

#### 2.1.1 Εκχύλιση στερεού-υγρού (solid-liquid extraction)

Η εκχύλιση στερεού-υγρού είναι μια διαδικασία διαχωρισμού που βασίζεται στην εκλεκτική διαλυτότητα ενός ή περισσοτέρων από τα συστατικά ενός στερεού μίγματος σε ένα υγρό διαλύτη. Χρησιμοποιείται συνήθως ο όρος «στερεό μείγμα», όμως στην πραγματικότητα το συστατικό που πρόκειται να εκχυλιστεί δεν είναι πάντα σε στερεά μορφή. Όπως για παράδειγμα η εκχύλιση κάποιου ελαίου από καρπούς.

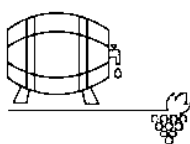
Η διαδικασία παραλαβής ενός συστατικού από ένα στερεό θεωρούμε ότι πραγματοποιείται σε δύο στάδια: α) την ανάμιξη στερεού και διαλύτη και β) τον διαχωρισμό υγρής και στερεάς φάσης. Πρακτικά ο πλήρης διαχωρισμός των δύο είναι αδύνατος, έτσι προκύπτει ένα διάλυμα ελεύθερο στερεού, η υπερκχείλιση, και ένας πολτός-μείγμα του στερεού με τον διαλύτη που δεν μπορούσε να διαχωριστεί, η υπορροή (Pawliszyn Janusz., et al., 2012).

#### 2.1.2 Εκχύλιση υγρού-υγρού (liquid-liquid extraction)

Σε αυτή την περίπτωση γίνεται εκχύλιση μίας ουσίας από έναν διαλύτη Α με την βοήθεια ενός διαλύτη Β αφού η ένωση η οποία επιθυμούμε να παραλάβουμε έχει διαφορετική διαλυτότητα στις δύο φάσεις. Η αρχή της εκχύλισης στηρίζεται στον νόμο κατανομής του Nernst ο οποίος ορίζει ότι ο λόγος των συγκεντρώσεων μιας ουσίας διαλυμένης σε δύο μη αναμειγνυόμενες υγρές φάσεις Α και Β, στην κατάσταση ισορροπίας είναι σταθερός για μια δεδομένη θερμοκρασία και πίεση.

$$\frac{C_A}{C_B} = K \quad (1)$$

Η σχέση αυτή αποδεικνύεται για μικρές συγκεντρώσεις και όταν η διαλυμένη ουσία δεν υφίσταται καμιά αλλαγή κατά την διάλυση της. Η σταθερά Κ, ονομάζεται συντελεστής κατανομής και αποτε-



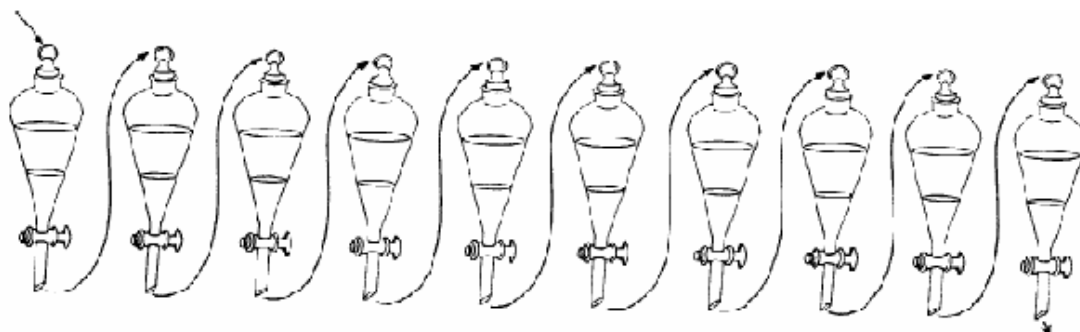
λεί χαρακτηριστική σταθερά για τη δεδομένη ένωση και το συγκεκριμένο ζεύγος των διαλυτών σε μια δεδομένη θερμοκρασία. Είναι ένα αδιάστατο μέγεθος, έτσι μπορεί να χρησιμοποιηθεί για όλες τις μονάδες συγκεντρώσεως, αρκεί να είναι εκφρασμένες το ίδιο και για τους δύο διαλύτες. Σύμφωνα με μια άλλη προσέγγιση, ο συντελεστής  $K$ , ισούται με τον λόγο των διαλυτοτήτων της ένωσης στους δύο διαλύτες (Pawliszyn Janusz., et al., 2012).

Κατά την διαδικασία της εκχύλισης υγρού-υγρού τρία στάδια είναι απαραίτητα: α) της επαφής, β) του διαχωρισμού, και γ) της ανάκτησης του διαλύτη. Αυτά μπορούν να εκτελεστούν είτε με συνεχείς είτε με ασυνεχείς λειτουργίες (Καλφόγλου Ν., 1979).

Σε μια ασυνεχή λειτουργία με ένα στάδιο οι δύο διαλύτες αναμειγνύονται (με την βοήθεια αναδευτήρα) και στη συνέχεια αφήνονται να διαχωριστούν δημιουργώντας δύο φάσεις. Το εκχύλισμα που περιέχει το επιθυμητό συστατικό Α στο διαλύτη που προσθέσαμε, και το εκχυλισθέν ή υπόλειμμα, το οποίο τώρα είναι φτωχότερο σε συστατικό Α. Με αυτή την απλή διάταξη συμβαίνουν στο ίδιο δοχείο η ανάμιξη και ο διαχωρισμός. Σε μια συνεχή λειτουργία δύο σταδίων οι αναμεικτères και οι διαχωριστές αποτελούνται από χωριστά δοχεία. Σε όλες τις περιπτώσεις οι μονάδες εκχύλισης ακολουθούνται από απόσταξη, ή μια παρόμοια λειτουργία, για να ανακτηθούν ο διαλύτης και η διαλυόμενη ουσία (Καλφόγλου Ν., 1979).

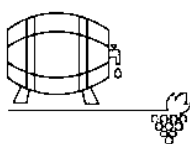
### 2.1.2.1 Διαδοχικές Εκχυλίσεις

Η διαδικασία εκχύλισης πολλών σταδίων (Εικόνα 12) με την οποία είναι εφικτό να διαχωριστούν μείγματα ουσιών με βάση τις διαφορές τους στους συντελεστές κατανομής σε ένα σύστημα δύο μη μιγνυομένων υγρών, ονομάζεται σύστημα πολλαπλής κατανομής. Σε τέτοια συστήματα πραγματοποιούνται διαδοχικές εκχυλίσεις, του υπολείμματος που προκύπτει κάθε φορά με μία καινούρια (αλλά ίση με πριν) ποσότητα διαλύτη.



**Εικόνα 12:** Σχηματική αναπαράσταση διαδοχικών εκχυλίσεων σε διαχωριστικές χοάνες  
([http://www.chem.auth.gr/content/organic\\_lab/CHEM/EXTRACT.pdf](http://www.chem.auth.gr/content/organic_lab/CHEM/EXTRACT.pdf)).





Σε μια άλλη περίπτωση διαδοχικές εκχυλίσσεις δύναται να πραγματοποιηθούν αλλάζοντας όμως κάθε φορά τον διαλύτη. Εκμεταλλευόμαστε ένα κοινό σε όλους χαρακτηριστικό στο οποίο όμως διαφέρουν, και διαδοχικά φροντίζουμε να το μειώνουμε ή να το αυξάνουμε. Ένα τέτοιο παράδειγμα αποτελεί η *πολικότητα*<sup>2</sup>. Διαδοχικές εκχυλίσσεις των υπολειμμάτων με κάποιον πιο πολικό από τον προηγούμενο διαλύτη κάθε φορά μας εξασφαλίζει εκχύλιση περισσότερων συστατικών τα οποία θέλουμε να μελετήσουμε μετέπειτα.

### 2.1.3 Διαλύτες

Καθοριστικό ρόλο στην διαδικασία της εκχύλισης παίζει ο διαλύτης που θα επιλέξουμε. Κατάλληλος διαλύτης θεωρείται αυτός που:

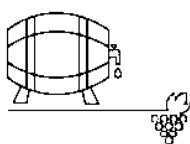
- i. Διαλύει εκλεκτικά( αν είναι δυνατόν) την ουσία που πρόκειται να εκχυλίσουμε
- ii. Δεν αντιδρά με αυτήν
- iii. Απομακρύνεται εύκολα
- iv. Δεν είναι εύφλεκτος ή τοξικός.

Οι δύο τελευταίες προϋποθέσεις, συχνά είναι δύσκολο να ικανοποιηθούν. Οι διαλύτες διακρίνονται σε δύο κύριες κατηγορίες, τους υδατικούς ή πολικούς και τους οργανικούς ή μη πολικούς. Επιλέγονται ανάλογα με τη φύση και τις φυσικοχημικές ιδιότητες της πρώτης ύλης που θα χρησιμοποιήσουμε. Οι υδατικοί διαλύτες( π.χ νερό, αραιά διαλύματα ανόργανων οξέων και βάσεων) χρησιμοποιούνται όταν η πρώτη ύλη μας είναι οργανική και μη αναμίξιμη με το νερό και επιθυμούμε την παραλαβή κάποιων πολικών ενώσεων που περιέχει. Οι οργανικοί διαλύτες (π.χ αιθέρας, χλωροφόρμιο, διχλωρομεθάνιο κλπ) από την άλλη χρησιμοποιούνται για την παραλαβή ουδετέρων οργανικών ουσιών από υδατικά διαλύματα (Καλφόγλου Ν., 1979).

Η επιλογή αυτή βασίζεται στον γενικό κανόνα «Όμοια διαλύουν όμοια». Δηλαδή μία πολική ουσία είναι διαλυτή σε ένα πολικό μέσο και μια μη πολική σε έναν μη πολικό διαλύτη. Αυτό εξηγείται με τη θεωρία και τα στάδια της πορείας διάλυσης. Συνοπτικά εάν η ενέργεια που απαιτείται για να σπάσουν οι δεσμοί των μορίων μιας ουσίας ή των μορίων του διαλύτη είναι πολύ μεγαλύτερη από την ενέργεια που αναπτύσσουν τα μόρια της ίδιας ουσίας με μόρια του διαλύτη τότε δεν μπορεί να λάβει χώρα η διάλυση (Παπαστεφάνου Σ., Κουντούρη Α.Μ., 1995).

---

<sup>2</sup> Η πολικότητα ενός μορίου δείχνει το κατά πόσον τα ηλεκτρόνια στο μόριο αυτό είναι ομοιόμορφα κατανεμημένα. Κατά τον προσδιορισμό της πολικότητας ενός μορίου, πρωτεύοντα ρόλο παίζουν η ηλεκτραρνητικότητα των ατόμων και κατά συνέπεια η φύση του δεσμού και η διπολική ροπή, και το σχήμα του μορίου.



## 2.2 Υγρή Χρωματογραφία Υψηλής Απόδοσης (HPLC)

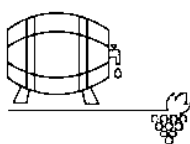
Η χρωματογραφία είναι μία ενόργανη τεχνική διαχωρισμού των συστατικών που αποτελούν τα αναλυτικά δείγματα. Το όνομα της το πήρε από τον εφευρέτη της, τον Ρώσο βοτανολόγο Mikhail Tswett στις αρχές του 20<sup>ου</sup> αιώνα. Ο ίδιος διαχώρισε πρώτη φορά κάποιες φυτικές χρωστικές (χλωροφύλλες και ξανθοφύλλες) διαβιβάζοντας διάλυμα τους μέσω ενός γυάλινου σωλήνα πληρωμένου με εξαιρετικά λεπτό ανθρακικό ασβέστιο. Οι ουσίες διαχωρίστηκαν σχηματίζοντας διάφορες χρωματιστές ζώνες στη στήλη, εξού και το χαρακτηριστικό όνομα της τεχνικής (Skoog D.A., Holler F.J., Nieman T.A., 2007).

Υπάρχουν διάφορες χρωματογραφικές μέθοδοι στην ενόργανη χημική ανάλυση, που έχουν όμως κοινές αρχές. Σε όλες τις περιπτώσεις το δείγμα κινείται σε μία κινητή φάση, της οποίας η κατάσταση μπορεί να είναι υγρή ή αέρια ή να αποτελεί υπερκρίσιμο ρευστό (ισορροπία αερίου/υγρού), δίνοντας και την κατηγορία της χρωματογραφίας που λαμβάνει χώρα.

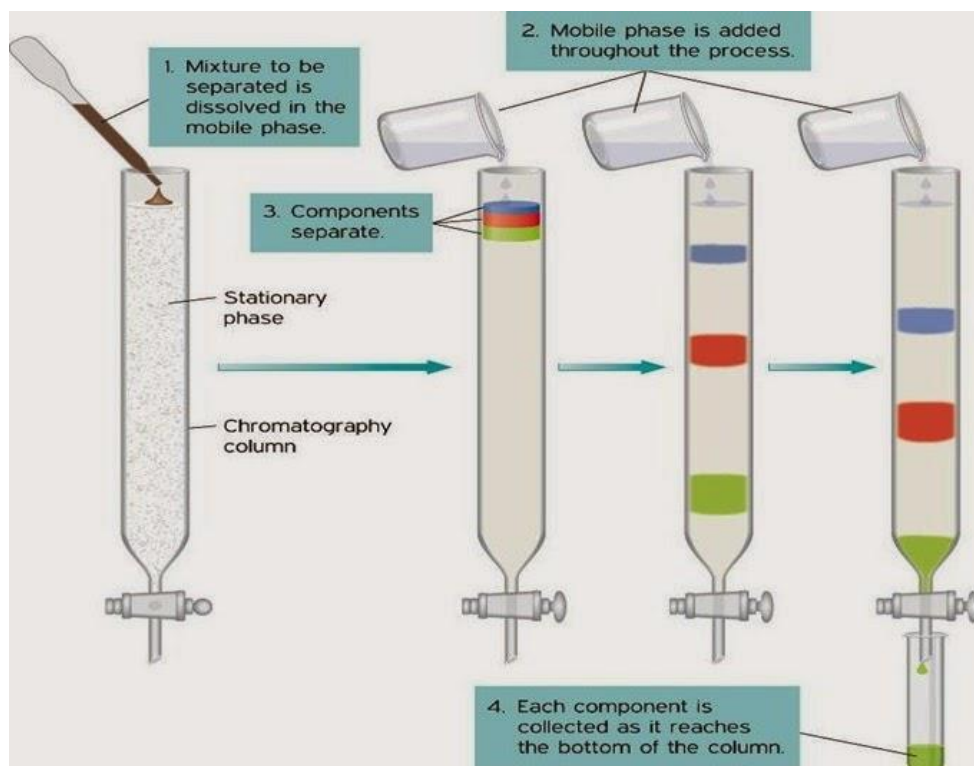
- ❖ Υγρή κινητή φάση → υγροχρωματογραφία
- ❖ Αέρια κινητή φάση → αεριοχρωματογραφία
- ❖ Υπερκρίσιμο ρευστό στη κινητή φάση → χρωματογραφία υπερκρίσιμου ρευστού

Η κινητή αυτή φάση εξαναγκάζεται να διέλθει μέσω μίας στατικής φάσης, η οποία είναι «καθηλωμένη» είτε σε κάποια στερεά επιφάνεια, είτε σε στήλη. Επιλέγεται η κατάλληλη κινητή και στατική φάση έχοντας υπόψη μας ότι τα συστατικά που αποτελούν το δείγμα θα πρέπει να κατανέμονται μεταξύ των δύο σε διαφορετικό βαθμό. Όσο μεγαλύτερη χημική συγγένεια έχει το συστατικό με την στατική φάση τόσο πιο ισχυρά κατακρατείται, μειώνεται η ευκινησία του και η έκλουση του καθυστερεί συγκριτικά με αυτά που κατακρατούνται ασθενέστερα. Επιπρόσθετα ανάλογα με το που είναι καθηλωμένη η στατική φάση έχουμε την χρωματογραφία στήλης και την επίπεδη χρωματογραφία (Skoog D.A., Holler F.J., Nieman T.A., 2007).

Η HPLC αποτελεί μία υγρή χρωματογραφία στήλης. Οι επί μέρους ουσίες (μη πτητικές) που αποτελούν ένα δείγμα διαχωρίζονται και παραλαμβάνονται από την στήλη με συνεχή προσθήκη καθαρού διαλύτη. Ο διαχωρισμός των ενώσεων βασίζεται στις διαφορές που υπάρχουν σε κάποιες ιδιότητες τους όπως είναι το σημείο ζέσεως, η πολικότητα, τα ηλεκτρικά φορτία, το μέγεθος των μορίων. Για παράδειγμα η πολικότητα επηρεάζει την σειρά έκλουσης των φλαβονοειδών. Η σειρά είναι ως εξής: φλαβανόνες < φλαβονόλες < φλαβόνες, τα υδροξυβενζοϊκά οξέα είναι πιο πολικά από τα υδροξυκιναμμοϊκά οξέα και επομένως εκλούνται πρώτα (Skoog D.A., Holler F.J., Nieman T.A., 2007).



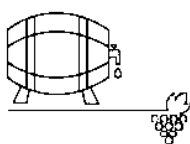
Τα συστατικά του δείγματος κατανέμονται μεταξύ της κινητής και της στατικής φάσης. Επιπλέον εισαγωγή κινητής φάσης εξαναγκάζει τον διαλύτη ο οποίος ήδη φέρει τα συστατικά να κινηθεί περαιτέρω προς την έξοδο της στήλης (Εικόνα 13). Ενώ μετακινείται πραγματοποιούνται επιπλέον κατανομές μεταξύ των δύο φάσεων (κινητής και καινούριου μέρους στατικής). Την ίδια στιγμή συμβαίνει και μία κατανομή μεταξύ του διαλύτη και της στατικής φάσης στην προηγούμενη θέση που βρισκόταν το δείγμα. Καθώς συνεχίζεται η ροή αυτή τα συστατικά μου τελικά διαχωρίζονται μέσα στη στήλη και εκλούνται δίνοντας, με την σύνδεση ανιχνευτή στην έξοδο της στήλης, χρωματογραφήματα με κορυφές σε διαφορετικό χρόνο (Skoog D.A., Holler F.J., Nieman T.A., 2007).



*Εικόνα 13: Σχηματική απεικόνιση υγρής χρωματογραφίας στήλης, διαχωρισμός των συστατικών του δείγματος (<http://slideplayer.gr/slide/11974596/>).*

Οι θέσεις των κορυφών αυτών ως προς τον χρόνο (Retention time) σε συνδυασμό με το φάσμα απορρόφησης των συστατικών εξυπηρετούν στην ταυτοποίηση των συστατικών (ποιοτικό προσδιορισμό) ενώ το εμβαδό της κάθε κορυφής αποτελεί ποσοτικό μέτρο κάθε συστατικού. Για το ποσοτικό προσδιορισμό ο αναλυτής φτιάχνει καμπύλες αναφοράς των προτύπων ουσιών για χαμηλές και για υψηλές συγκεντρώσεις, μέσω των οποίων θα προσδιορίσει και τη συγκέντρωσή τους στο δείγμα (Skoog D.A., Holler F.J., Nieman T.A., 2007).

Για να επιτευχθεί όμως η διαβίβαση της κινητής φάσης μέσα από τη στατική γίνεται χρήση αντλιών χαμηλής πίεσης όταν τα σωματίδια της στατικής φάσης είναι σχετικώς μεγάλης διαμέτρου και παρουσιάζουν μικρή αντίσταση (κλασσική υγρή χρωματογραφία στήλης), είτε με τη χρήση αντλιών

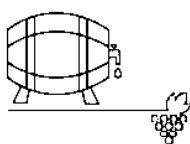


υψηλής πίεσης όταν τη στατική φάση αποτελούν πολύ μικρής διαμέτρου (άρα μεγάλης αντίστασης) σωματίδια. Στη δεύτερη περίπτωση με το μέγεθος των σωματιδίων επιτυγχάνεται και υψηλή διαχωριστική απόδοση, εξού και το όνομα της χρωματογραφικής μεθόδου – Υγρή Χρωματογραφία Υψηλής Απόδοσης (ή Πίεσης) (Skoog D.A., Holler F.J., Nieman T.A., 2007).

### 2.2.1 Μηχανισμοί και Είδη HPLC

Η HPLC μπορεί να ανάλογα με την επιλογή του υλικού πλήρωσης της στήλης και του διαλύτη να αναπτύξει διαφορετικό τρόπο διαχωρισμού των συστατικών ενός δείγματος. Τα είδη υγρής χρωματογραφίας υψηλής απόδοσης που υπάρχουν είναι τα εξής:

1. *Χρωματογραφία προσροφήσεως:* ο διαχωρισμός των ουσιών βασίζεται στο διαφορετικό βαθμό προσρόφησης στη στατική φάση. Λαμβάνουν χώρα αλληλεπιδράσεις ηλεκτροστατικής φύσης και η τεχνική αυτή βρίσκει εφαρμογή στο διαχωρισμό ουσιών με παρόμοια δομή, αλλά και με διαφορετική πολικότητα. Διακρίνεται σε κανονικής και αντίστροφης φάσης ή και σε χρωματογραφία ζεύγους ιόντων.
  - Κανονικής φάσης: Η στατική φάση είναι πολική ενώ η κινητή είναι μη πολική. Αποτελούνται συνήθως από διοξείδιο του πυριτίου,  $\text{SiO}_2$ , (ή  $\text{Al}_2\text{O}_3$ ) και χλωροφόρμιο, εξάνιο κτλ, αντίστοιχα.
  - Αντίστροφης φάσης: Εδώ αντίθετα η στατική φάση είναι λιγότερο πολική της κινητής. Τα συστατικά με μεγάλη πολικότητα παρουσιάζουν μικρό χρόνο συγκράτησης στη στήλη, αφού διαλύονται ισχυρά στην κινητή φάση. Αποτελείται από οξείδιο πυριτίου συζευγμένο με διάφορες ομάδες όπως αλκύλια, φαινύλιο, διόλες, αμινομάδες, κυανομάδες κ.ά., ενώ η κινητή φάση αποτελείται συνήθως από μίγματα μεθανόλης, ακετονιτριλίου ή τετραϋδροφουρανίου με νερό. Το υλικό πλήρωσης συνήθως έχουν υποκαταστάτες R-είναι μια οκτυλο ή μια οκταδέκυλο ομάδα  $\text{R} = -\text{C}_8\text{H}_{17}$  ή  $\text{R} = -\text{C}_{18}\text{H}_{37}$  δίνοντας τελικά μία εξαιρετικά χαμηλής πολικότητας στατική φάση.
2. *Χρωματογραφία ζεύγους ιόντων:* αποτελεί χρωματογραφία προσροφήσεως αλλά γίνεται προσθήκη ιόντων, με αντίθετο φορτίο από αυτό της ουσίας στόχου, στο αντιδραστήριο της κινητής φάσης αυξάνοντας έτσι την ισχύ κατακράτησης.
3. *Χρωματογραφία κατανομής στήλης:* ο διαχωρισμός στηρίζεται στη διαφορετική κατανομή των συστατικών μεταξύ της κινητής και της υγρής στατικής φάσης. Εφαρμόζεται στην ανάλυση ομόλογων, μη ιοντικών ενώσεων.
4. *Χρωματογραφία μοριακού αποκλεισμού (αποκλεισμού μεγέθους):* ο διαχωρισμός γίνεται με βάση το σχήμα και το μέγεθος των μορίων που αποτελούν το μίγμα που θα αναλυθεί. Βρί-



σκει εφαρμογή στην ανάλυση και το χαρακτηρισμό των πολυμερών. Τα μεγάλα σε μέγεθος μόρια έχουν μεγαλύτερη ταχύτητα και έτσι εξέρχονται πρώτα από τη στήλη. Αντίθετα τα μικρά, λόγω μεγέθους εισέρχονται στους πόρους των σωματιδίων της στατικής φάσης, καθυστερούν και βγαίνουν αργότερα.

5. Χρωματογραφία ιοντοανταλλαγής: ο διαχωρισμός οφείλεται στις ηλεκτροστατικές αλληλεπιδράσεις μεταξύ των αναλυόμενων ιόντων και των φορτισμένων ομάδων της στατικής φάσης. Όπως είναι επόμενο, η συγκράτηση στη χρωματογραφία ιοντοανταλλαγής επηρεάζεται από το αντίθετο ιόν της δραστικής ομάδας της στατικής φάσης, την ιοντική ισχύ, το pH, τον τροποποιητή της κινητής φάσης και τη θερμοκρασία.
6. Χρωματογραφία συγγενείας: στην περίπτωση αυτή ο διαχωρισμός γίνεται με τις ενώσεις προς ανάλυση να δεσμεύονται εκλεκτικά σε υποκαταστάτες. Οι υποκαταστάτες αυτοί είναι συνδεδεμένοι στην επιφάνεια του διοξειδίου του πυριτίου (υλικό πλήρωσης της στήλης). Στη κατηγορία αυτή ανήκει η Χρωματογραφία Εναντιομερών, με την οποία διαχωρίζονται εναντιομερείς μορφές ενώσεων που παρουσιάζουν χειρομορφία (Skoog D.A., Holler F.J., Nieman T.A., 2007).

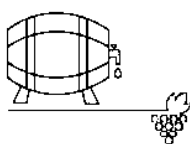
Στη βιομηχανία πλέον χρησιμοποιείται κατά κύριο λόγο η χρωματογραφία αντίστροφης φάσης. Είναι ιδανική για ποιοτικό και ποσοτικό προσδιορισμό συστατικών όπως λιπαρά οξέα, αμινοξέα, βιταμίνες, πολυφαινολικά κτλ. Αντίθετα η χρωματογραφία κανονικής φάσης εφαρμόζεται για την ανάλυση μη ιοντικών ενώσεων που διαλυτοποιούνται μόνο σε άπολους διαλύτες, αλλά και για διαχωρισμό ισομερών.

Όσον αφορά την έκλουση υπάρχουν δυο τεχνικές πραγματοποίησης της, η ισοκρατική και η βαθμιδωτή. Στην πρώτη περίπτωση η σύσταση της κινητής φάσης παραμένει σταθερή, ενώ στην δεύτερη η σύσταση της μεταβάλλεται με σταθερό ρυθμό. Καλύτερος διαχωρισμός στην αντίστροφης φάσης επιτυγχάνεται με χρήση βαθμιδωτής έκλουσης (Skoog D.A., Holler F.J., Nieman T.A., 2007).

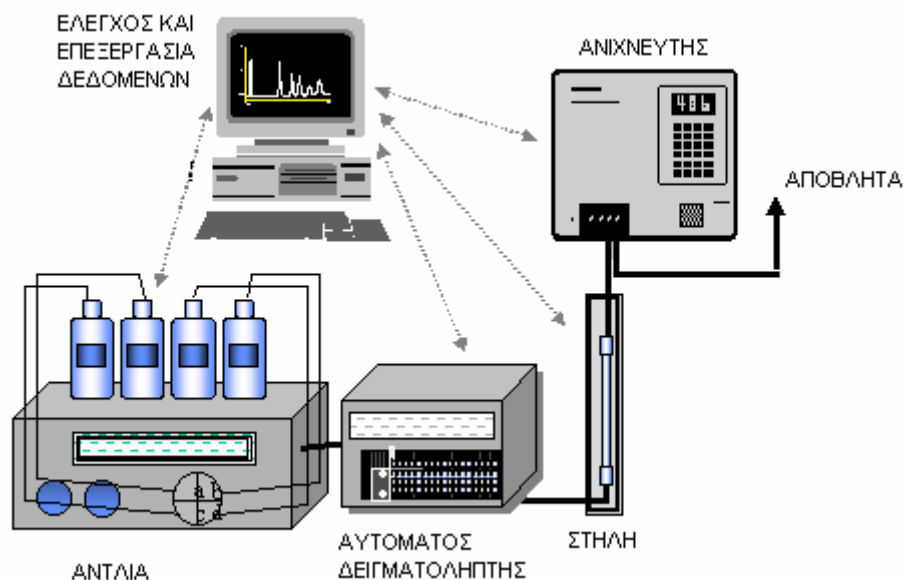
### 2.2.2 Οργανολογία

Όπως προκύπτει ένα σύστημα HPLC που συναρμολογείται σε ένα αναλυτικό εργαστήριο περιλαμβάνει τα εξής (Εικόνα 14) :

- ✓ Φιάλες αποθήκευσης διαλυτών
- ✓ Αντλία (σταθερής ροής ,σταθερής πίεσης)
- ✓ Μονάδα εισαγωγής δείγματος (βαλβίδα εισαγωγής δείγματος, αυτόματος δειγματολήπτης)



- ✓ Χρωματογραφική στήλη
- ✓ Ανιχνευτή
- ✓ Καταγραφικό

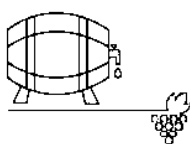


Εικόνα 14: Οργανολογία HPLC σε ένα αναλυτικό εργαστήριο (<http://docplayer.gr/8272834-Panepistimio-patron-sholi-thetikon-epistimon-tmima-himeias-diplomatiki-ergasia-gia-to-programma-metapyhiakon-spydon.html>).

### 2.2.2.1 Ανιχνευτές

Οι ανιχνευτές αποτελούν ένα πολύ σημαντικό κομμάτι των αναλυτικών τεχνικών. Ο όρος αυτός αναφέρεται σε μία μηχανική, ηλεκτρική ή χημική συσκευή που μπορεί να καταγράψει, να ταυτοποιήσει ή να δείξει κάποια αλλαγή σε μία από τις μεταβλητές του περιβάλλοντος της όπως για παράδειγμα η πίεση, θερμοκρασία, το ηλεκτρικό πεδίο, η ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία κτλ. Ένας ιδανικός ανιχνευτής πρέπει να πληρεί τα πιο κάτω χαρακτηριστικά, αν και κανένας μέχρι τώρα δεν τα συνδυάζει όλα :

1. Ικανοποιητική ευαισθησία. Αυτό διαφέρει από το είδος του ανιχνευτή και που βρίσκει εφαρμογή. Οι ευαισθησίες των σύγχρονων ανιχνευτών κυμαίνονται από  $10^{-8}$  έως  $10^{-15}$  g ουσίας/s.
2. Αναπαραγωγιμότητα και σταθερότητα.
3. Γραμμική απόκριση σε μεγάλο εύρος μεγεθών.
4. Δυνατότητα λειτουργίας σε διαφορές θερμοκρασίες, από θερμοκρασία δωματίου μέχρι τουλάχιστον  $400^{\circ}\text{C}$  (δεν είναι τόσο απαραίτητο για την HPLC) .

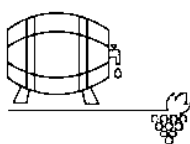


5. Χρόνους απόκρισης σύντομους και ανεξάρτητους από την ταχύτητα ροής.
6. Εξαιρετική αξιοπιστία και ευκολία στην χρήση.
7. Παρόμοια απόκριση ή προβλέψιμη για όλες τις διαχωριζόμενες ουσίες, και εκλεκτική απόκριση για μία ή περισσότερες ομάδες ενώσεων.
8. Να μην καταστρέφει το δείγμα.
9. Να έχει τον ελάχιστο δυνατό εσωτερικό όγκο για περιορισμό της διεύρυνσης κορυφών.

Υπάρχουν δύο τύποι ανιχνευτών υγρής χρωματογραφίας, αυτοί που ανταποκρίνονται σε μια βασική ιδιότητα της κινητής φάσης, όπως ο δείκτης διάθλασης, η διηλεκτρική σταθερά ή η πυκνότητα (επηρεάζονται όμως από τα εκλούόμενα συστατικά) και αυτοί που ανταποκρίνονται σε ιδιότητα του εκλουόμενου συστατικού, όπως η απορρόφηση στο υπεριώδες, ο φθορισμός. Την ιδιότητα αυτή δεν πρέπει να την έχει και η κινητή φάση (Skoog D.A., Holler F.J., Nieman T.A., 2007). Πιο κάτω αναφέρονται οι συνηθέστεροι ανιχνευτές HPLC:

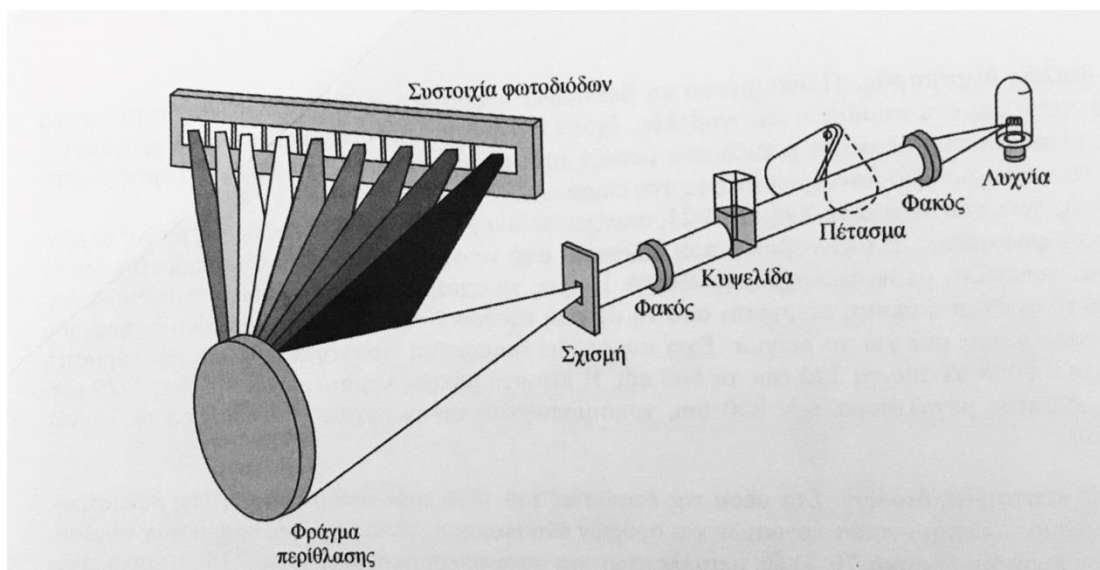
- ▶ Απορρόφησης
- ▶ Φθορισμού
- ▶ Ηλεκτροχημικός
- ▶ Δείκτη Διάθλασης
- ▶ Αγωγιμότητας
- ▶ Φασματομετρίας μαζών
- ▶ FT – IR
- ▶ Σκέδασης φωτός
- ▶ Οπτικής ενεργότητας
- ▶ Επιλογής Στοιχείου
- ▶ Φωτοϊοντισμού

Η αρχή λειτουργίας των ανιχνευτών απορρόφησης βασίζεται στην απορρόφηση μονοχρωματικής ακτινοβολίας από το δείγμα σε συγκεκριμένη περιοχή φάσματος π.χ. για την υπεριώδη περιοχή UV(190-400nm) και την ορατή περιοχή - Vis(400–780nm). Οι απορροφήσεις αυτές είναι αποτέλεσμα ενεργειακών μεταβολών στην ηλεκτρονιακή δομή των μορίων. Τα εξωτερικά ηλεκτρόνια ή ηλεκτρόνια σθένους με διέγερση ή μετάπτωση τους προκαλούν απορρόφηση ενέργειας σε συγκεκριμένες, κβαντωμένες ποσότητες. Λόγω των μεταβολών αυτών στο μόριο μιας χημικής ένωσης προκαλούνται μεταβολές της διπολικής ροπής του, η οποία είναι υπεύθυνη για την αλληλεπίδραση του χημικού μορίου και της ακτινοβολίας. Το μήκος κύματος που απορροφά μία ένωση σχετίζεται με το είδος των λειτουργικών ομάδες που διαθέτει (Skoog D.A., Holler F.J., Nieman T.A., 2007).



Μια δέσμη φωτός/ακτινοβολίας, που αποτελείται από ηλεκτρομαγνητικά κύματα, προερχόμενη από μία πηγή διέρχεται μέσα από μία κυψελίδα έκλυσης που φέρει το δείγμα μας καθώς αυτό εξέρχεται από την Χρωματογραφική στήλη. Αυτό προκαλεί τη διέγερση των ηλεκτρονίων της ουσίας μας και μεταφορά τους σε υψηλότερα ενεργειακά πεδία ( ή ακόμα μπορεί να προκαλέσει δόνηση ή περιστροφή μοριακών δεσμών ορισμένων ομάδων της ένωσης). Οι απορροφήσεις μετριοούνται με τη βοήθεια ενός φωτοανιχνευτή είτε, σε άλλες περιπτώσεις, μιας σειράς φωτοανιχνευτών και αποθηκεύονται στον υπολογιστή (Skoog D.A., Holler F.J., Nieman T.A., 2007).

Ένα τέτοιο παράδειγμα είναι ο ανιχνευτής συστοιχίας διόδων (Diode Array Detector – DAD) που χρησιμοποιείται στο δικό μας εργαστήριο. Η συστοιχία διόδων αποτελεί τον καλύτερο και αποδοτικότερο φασματοφωτομετρικό ανιχνευτή υπεριώδους. Έχει την δυνατότητα να συλλέγει δεδομένα απορρόφησης μιας εκλυόμενης ουσίας, όταν αυτή διαχωρίζεται ικανοποιητικά, σε ένα πλήρες φάσμα σε ένα μόνο δευτερόλεπτο σε αντίθεση με τους κοινούς ανιχνευτές που μπορούν να συλλέξουν δεδομένα για ένα μήκος κύματος ενός φάσματος κάθε φορά (Skoog D.A., Holler F.J., Nieman T.A., 2007). Πιο κάτω απεικονίζεται σχηματικά η λειτουργία ενός ανιχνευτή DAD (Εικόνα 15).

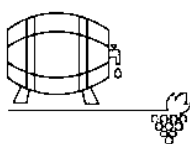


Εικόνα 15: Σχηματική απεικόνιση της λειτουργίας ενός ανιχνευτή DAD (Skoog D.A., Holler F.J., Nieman T.A., 2007).

### 2.3 Αέρια Χρωματογραφία – Ολφακτομετρία (GC – O)

Η ποιότητα των αλκοολούχων προϊόντων εξαρτάται έντονα από τη σύνθεση και τη περιεκτικότητα τους σε πτητικά συστατικά. Γενικά στη βιομηχανία ποτών το άρωμα έχει μεγάλη σημασία δεδομένου ότι συμβάλλει στην ποιότητα των προϊόντων και, ως εκ τούτου, στην αποδοχή τους από τους





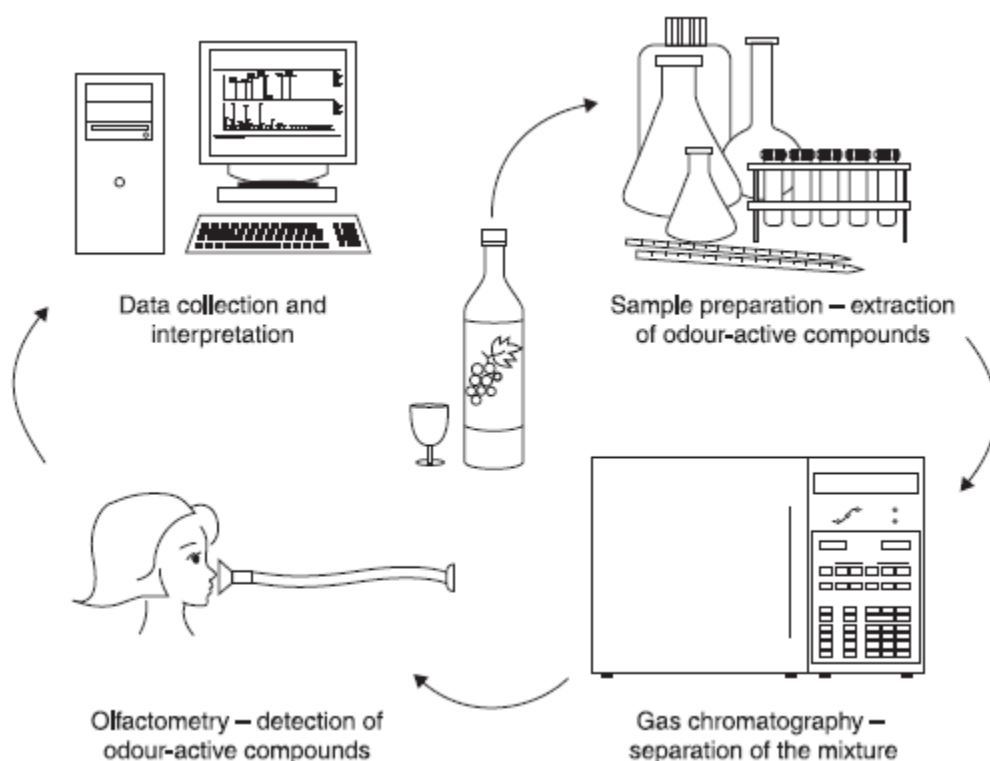
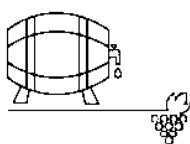
καταναλωτές. Το άρωμα αλλά και οι οσμές ενός προϊόντος οφείλονται στα πτητικά συστατικά που περιέχει, τα οποία μπορεί να προέρχονται από την πρώτη ύλη, την διαδικασία ζύμωσης αλλά και παλαιώσης (π.χ βαρέλια). Τα πτητικά συστατικά προσδιορίζονται ποσοτικά και ποιοτικά με την χρήση αέριας χρωματογραφίας η οποία έχει τις ίδιες αρχές διαχωρισμού όπως και η υγρή χρωματογραφία αλλά στην περίπτωση αυτή η κινητή φάση είναι αέριο. Όπως είναι φυσικό υπάρχουν και οι απαραίτητες αλλαγές στην οργανολογία (Plutowska B., Wardencki W., 2012).

Η ανθρώπινη αντίληψη των αρωμάτων ή των οσμών που απελευθερώνονται, εξαρτάται από τις ιδιότητες των ουσιών (πτητικότητα) αλλά και την συγκέντρωσή τους. Παρόλα αυτά το κατώφλι αντίληψης της κάθε μίας διαφέρει και έτσι δεν μπορούμε να τις συγκρίνουμε και να εξάγουμε συμπεράσματα μόνο βάσει της ταυτοποίησης τους και της συγκέντρωσής τους. Μια ουσία η οποία δίνει μεγάλες κορυφές σε ένα χρωματογράφημα, άρα έχει μεγάλη συγκέντρωση, δεν σημαίνει απαραίτητα ότι μπορεί να γίνει αντιληπτή από τον καταναλωτή ή ακόμα και από έναν εκπαιδευμένο αναλυτή, αλλά και το αντίθετο. Κατά συνέπεια η αξιολόγηση ενός δείγματος μόνο από κάποιον αναλυτή ή ακόμα και από ένα εκπαιδευμένο πάνελ δεν μπορεί να μας δώσει όλα τα στοιχεία που χρειαζόμαστε για το χημικό προφίλ του, ούτε μας επιτρέπει να κάνουμε κάποιο συσχετισμό αρωμάτων και οσμών με συγκεκριμένες ενώσεις (D'Acampora Zellner B., *et al.*, 2008).

Η GC-O είναι η καταλληλότερη αναλυτική λύση για τέτοια θέματα, καθώς επιτρέπει την αξιολόγηση των πτητικών συστατικών σε πολύπλοκα μείγματα, μέσω της συσχέτισής τους με τις χρωματογραφικές κορυφές που μας ενδιαφέρουν. Αυτό είναι εφικτό επειδή οι εκλούμενες ουσίες γίνονται αντιληπτές ταυτόχρονα από δύο «ανιχνευτές», ένας από τους οποίους είναι το ανθρώπινο οσφρητικό σύστημα. Κατά συνέπεια, η GC-O παρέχει όχι μόνο μια ενόργανη ανάλυση αλλά και μία οργανοληπτική αξιολόγηση. Ο συνδυασμός των δύο μας δίνει μια ακριβή, περιγραφική προσέγγιση για τα χαρακτηριστικά του δείγματος και ταυτόχρονα επιτρέπει την κατανόηση και την ποσοτικοποίηση ενός οργανοληπτικού χαρακτηριστικού (D'Acampora Zellner B., *et al.*, 2008).

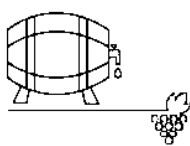
Η GC-O, προτάθηκε για πρώτη φορά από τους Fuller et al. (1964) και σήμερα αποτελεί πολύτιμη τεχνική για τον προσδιορισμό των πτητικών συστατικών σύνθετων μιγμάτων όπως τα αλκοολούχα ποτά. Κάθε ανάλυση GC-O αποτελείται από τέσσερα στάδια (Εικόνα 16):

1. Προετοιμασία του δείγματος
2. Διαχωρισμός του εκχυλίσματος
3. Ανίχνευση των πτητικών ενώσεων
4. Ερμηνεία των δεδομένων



Εικόνα 16: Τα τέσσερα στάδια του GC – O (D’Acampora Zellner B., et al., 2008).

Υπάρχουν πολλοί παράγοντες, οι οποίοι καθορίζουν την ποιότητα αποτελεσμάτων, όπως η επιλογή της μεθόδου εκχύλισης και της μεθόδου συλλογής δεδομένων, η οργανολογία του GC και άλλες αναλυτικές συνθήκες. Ο χειρισμός των δειγμάτων επηρεάζει τη σύνθεση του τελικού εκχυλίσματος και συνεπώς την ποιότητα και την ποσότητα των αρωμάτων που γίνεται αντιληπτή από τους αναλυτές. Η σωστή ανίχνευση και αξιολόγηση των πτητικών ενώσεων που εκλύονται από τη στήλη του GC εξαρτώνται επίσης από την διαχωριστική ικανότητα του GC. Η χρησιμότητα των δεδομένων μπορεί να αυξηθεί με την κατάλληλη οργανολογία καθώς και την ταυτόχρονη χρήση επιπρόσθετων ανιχνευτών. Τέλος, δεδομένου ότι η ανάλυση GC-O περιλαμβάνει την αναγνώριση και την ερμηνεία πτητικών από το ανθρώπινο οσφρητικό σύστημα, είναι σημαντικό να εξασφαλιστεί το καλύτερο δυνατό περιβάλλον (ήσυχο και «αποστειρωμένο») για βέλτιστη απόδοση από τους αξιολογητές (Plutowska B., Wardencki W., 2012; D’Acampora Zellner B., et al., 2008).



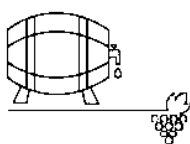
### 2.3.1 Προετοιμασία του δείγματος

Το αρωματικό προφίλ των αλκοολούχων ποτών εξαρτάται από το ποσοστό των πτητικών συστατικών που περιέχει. Παρόλα αυτά όπως έχουμε ήδη αναφέρει μια μεγάλη συγκέντρωση ενός πτητικού συστατικού σε ένα μείγμα, δεν σημαίνει απαραίτητα έντονο άρωμα. Για να έχουμε λοιπόν μια καλή συσχέτιση και η ανάλυση να αντανακλά το πραγματικό αρωματικό προφίλ ενός δείγματος θα πρέπει να διαλέξουμε προσεκτικά την μέθοδο προετοιμασίας του. Κάθε τεχνική ενδέχεται να επηρεάζει τη σύνθεση και περιεχόμενα των πτητικών που απομονώνονται κατά την προετοιμασία του δείγματος (D'Acampora Zellner B., *et al.*, 2008).

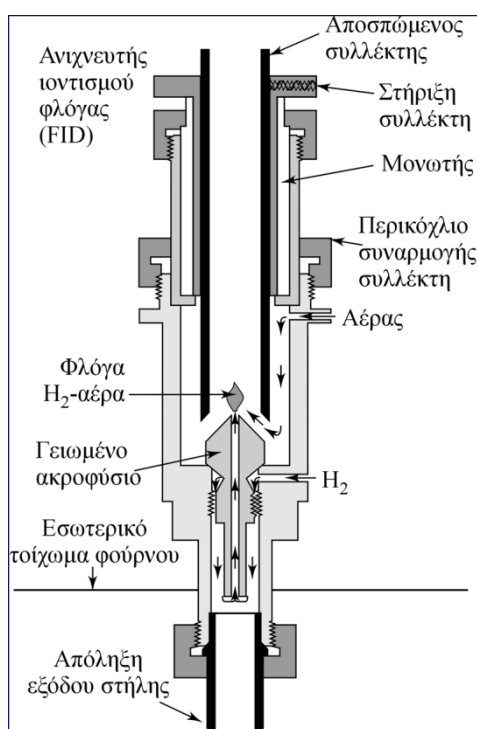
Η επιλογή της μεθόδου εκχύλισης είναι πολύ δύσκολη. Ο αναλυτής καλείται να επιλέξει μία ιδανική τεχνική η οποία θα μπορεί να απομονώσει ένα ευρύ φάσμα πτητικών ενώσεων μέσα σε ένα περίπλοκο στη χημική του σύνθεση μείγμα. Για επίλυση των προβλημάτων αυτών έχουν αναπτυχθεί διάφορες τεχνικές όπως η εκχύλιση υγρού-υγρού (LLE), συνεχής εκχύλιση υγρού-υγρού, απομάκρυνση και απόσταξη, απόσταξη μεθ' υδρατμών (SD), εκχύλιση υγρού-στερεού(SPE) κτλ (Kotseridis Y., Baumes R., 2000; D'Acampora Zellner B., *et al.*, 2008).

### 2.3.2 Οργανολογία

Στη μέθοδο GC-O η ανθρώπινη μύτη χρησιμοποιείται ως συσκευή ανίχνευσης, συνδεδεμένη παράλληλα με έναν χρωματογραφικό ανιχνευτή, π.χ. ανιχνευτή ιονισμού φλόγας (FID) ή φασματόμετρο μάζας (MS). Μια τέτοια ανάλυση απαιτεί έναν κατάλληλα εκπαιδευμένο άτομο ή ομάδα αξιολογητών οι οποίοι κατά τη διάρκεια της δοκιμής θα μυρίζουν το έκλουσμα από τη στήλη και θα είναι σε θέση να συσχετίσουν το άρωμα με τους χρόνους κατακράτησης στο χρωματογράφημα που δίνει ο παράλληλα συνδεδεμένος ανιχνευτής. Αξίζει να αναφέρουμε ότι η ανθρώπινη μύτη είναι ικανή να ανιχνεύει και να διακρίνει ορισμένες πτητικές ενώσεις στο επίπεδο των  $10^{-17}$  g, ενώ οι ανιχνευτές που χρησιμοποιούνται συνήθως στη χρωματογραφία απαιτούν, κατά κανόνα, τουλάχιστον  $10^{-13}$  g για να ταυτοποιήσουν μία ένωση (Acree and Barnard, 1984). Για να πετύχουμε όσο το δυνατόν καλύτερη απόδοση από τον αναλυτή και για να εξασφαλίζουμε ότι δεν θα χαθεί κάποιο ποσοστό εκλούσματος ένα ειδικό για την περίπτωση, γυάλινο «χωνί», στο σχήμα της μύτης είναι συνδεδεμένο στον ανιχνευτή για να εφαρμόζει ακριβώς η ανθρώπινη μύτη. Η ταυτόχρονη ανίχνευση πραγματοποιείται διαιρώντας το ρεύμα εκλούσεως έτσι ώστε να φτάσει και στους δύο ανιχνευτές. Μια τέτοια προσέγγιση επιτρέπει τόσο την περιγραφή των αρωμάτων όσο και την αναγνώριση των υπεύθυνων ενώσεων γι' αυτές, ακολουθούμενη από ποσοτικοποίηση τους (D'Acampora Zellner B., *et al.*, 2008).

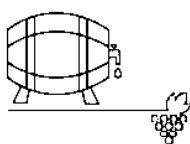


Ένας ανιχνευτής που χρησιμοποιείται συνήθως στην αέρια χρωματογραφία είναι ο ιονισμού φλόγας (FID). Η αρχή λειτουργίας του βασίζεται στην ηλεκτρική αγωγιμότητα (εξαιτίας ιονισμού), ενός αερίου η οποία θα είναι ανάλογη της συγκέντρωσης των φορτισμένων σωματιδίων σ' αυτό. Ο ανιχνευτής αποτελείται από έναν καυστήρα (Εικόνα 17), μέσα στον οποίον το έκλουσμα αναμιγνύεται με υδρογόνο και αέρα και τη συνέχεια αναφλέγεται με ηλεκτρικά μέσα. Ως αποτέλεσμα της πυρόλυσης αυτής παράγονται ιόντα και ηλεκτρόνια τα οποία άγουν τον ηλεκτρισμό μέσω της φλόγας. Εφαρμόζεται μία διαφορά δυναμικού ανάμεσα στο ακροφύσιο του καυστήρα και ενός ηλεκτροδίου συλλέκτη ~100V. Σε περίπτωση που το καιόμενο αέριο περιέχει και οργανικές ουσίες (έκλουσμα στήλης) τότε παρατηρείται σημαντική αύξηση της έντασης του ρεύματος και έτσι μπορούμε να πάρουμε μέτρηση (Skoog D.A., Holler F.J., Nieman T.A., 2007).



*Εικόνα 17: Μέρη καυστήρα ανιχνευτή FID (Skoog D.A., Holler F.J., Nieman T.A., 2007).*

Το κλάσμα από το έκλουσμα που φτάνει στον ολφакτομετρικό ανιχνευτή μπορεί να προκαλέσει ξήρανση της βλεννογόνου της μύτης του αξιολογητή, ιδιαίτερα κατά τη διάρκεια μακροχρόνιων αναλύσεων. Για να αποφευχθεί αυτό στη γραμμή μεταφοράς του δείγματος προς τον αναλυτή συνδέεται και μία παροχή υγρού αέρα έτσι ώστε να παραμένει ενυδατωμένη η μύτη και να μην έχουμε τελικά λανθασμένα αποτελέσματα (Plutowska B., Wardencki W., 2012).



## 3. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

### 3.1 Σχεδιασμός και στόχος πειράματος

Στην παρούσα μεταπτυχιακή μελέτη στόχος είναι ο ποσοτικός και ο ποιοτικός προσδιορισμός των φαινολικών ενώσεων μικρού μοριακού βάρους (**Low Molecular Weight Phenolics**) και ελλαγιταννινών που εντοπίζονται σε διαφορετικά είδη ξύλου, τα οποία χρησιμοποιούνται στη βαρελοποιία για παλαίωση οίνων και αποσταγμάτων, καθώς και ο οργανοληπτικός έλεγχος εκχυλισμάτων των ξύλων αυτών.

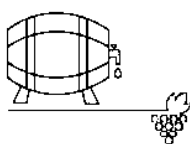
Όπως έχουμε ήδη αναφέρει σε προηγούμενο κεφάλαιο τόσο το βοτανικό είδος, όσο και η γεωγραφική προέλευση επηρεάζουν τη χημική σύνθεση του ξύλου. Έτσι μέσα από την εργασία αυτή θα μελετηθεί το χημικό προφίλ που παρουσιάζουν τέσσερα διαφορετικά είδη ξύλου, τρία εκ των οποίων ανήκουν στο ίδιο γένος (*Quercus*). Επίσης θα μελετηθεί κάτω από τις ίδιες συνθήκες το προφίλ του ξύλου μίας διαφορετικής οικογένειας, και το κατά πόσο δύναται να χρησιμοποιηθεί στην βαρελοποιία παράλληλα με την δρυ, περιορίζοντας έτσι την ευρεία χρήση της.

Για την εκπόνηση της μελέτης αυτής χρησιμοποιήθηκαν chips και ρινίσματα από:

1. Acacia
2. American Oak
3. French Oak
4. Slavonian Oak,

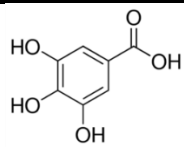
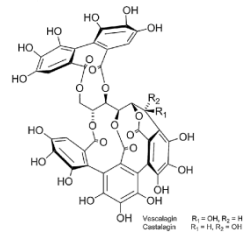
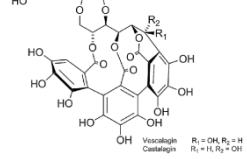
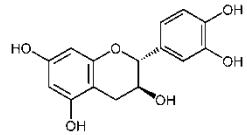
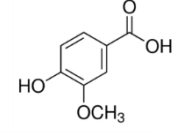
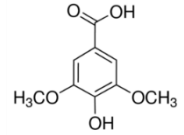
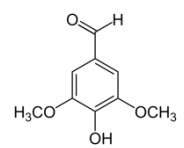
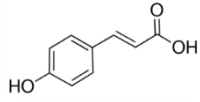
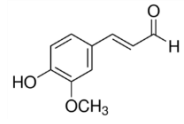
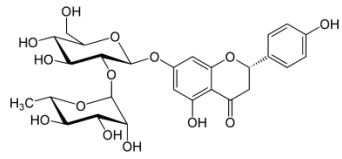
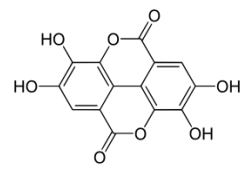
Στα chips αυτά πραγματοποιήθηκε αρχικά εκχύλιση υγρού/στερεού σε υδραλκοολικό διάλυμα 50% v/v. Ακολούθως στο εκχύλισμα έγιναν διαδοχικές εκχυλίσεις με χρήση πέντε διαφορετικών διαλυτών, διαφορετικής πολικότητας για να εξασφαλιστεί το μέγιστο της εκχύλισης για την κάθε ένωση. Τα τελικά προϊόντα υποβλήθηκαν σε εξάτμιση με άζωτο μέχρι ξηρού και επαναδιαλυτοποιήθηκαν, το καθένα, σε 10ml υδραλκοολικού διαλύματος, δίνοντας μας έτσι συνολικά 24 δείγματα.

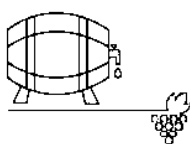
Μέρος από το κάθε δείγμα υποβλήθηκε σε ανάλυση με χρήση της HPLC – DAD για προσδιορισμό και ποσοτικοποίηση των φαινολικών μικρού μοριακού βάρους και των ελλαγιταννινών. Στον πιο κάτω πίνακα φαίνονται οι ενώσεις που προσδιορίστηκαν με την χημική δομή τους, καθώς επίσης και την κωδικοποίηση τους, όπως θα χρησιμοποιηθεί στη συνέχεια για παρουσίαση των αποτελεσμάτων (Πίνακας 3).



### 3. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

**Πίνακας 3:** Πίνακας με τα LMWP και τις ελλαγιτανίνες που προσδιορίστηκαν με χρήση HPLC με την κωδικοποίηση τους για την μεταπτυχιακή αυτή μελέτη και τη χημική τους δομή.

Χημική Ένωση	Κωδικοποίηση	Χημική Δομή
<b>Gallic Acid</b>	GA	
<b>Vescalagin</b>	VESCA	
<b>Castalagin</b>	CASTA	
		-  -
<b>(+)-Catechin</b>	CAT	
<b>Vanillic Acid</b>	VA	
<b>Syringic Acid</b>	SA	
<b>Syringaldehyde</b>	SYR	
<b>p-Coumaric Acid</b>	pC	
<b>Coniferaldehyde</b>	CON	
<b>Naringin</b>	N	
<b>Ellagic Acid</b>	EA	



### 3. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

Παράλληλα μια άλλη ποσότητα από συγκεκριμένα δείγματα που επιλέχτηκαν υποβλήθηκε σε ανάλυση ολφακτομετρίας για ποιοτικό προσδιορισμό των πτητικών συστατικών που εκχυλίστηκαν.

Τέλος η ποσότητα δειγμάτων που έμεινε χρησιμοποιήθηκε για οργανοληπτικό έλεγχο αρχικά του αρωματικού προφίλ από εκπαιδευμένο πάνελ δοκιμαστών και έπειτα από αραίωση σε Model Wine για γευστική δοκιμή από το ίδιο εκπαιδευμένο πάνελ.

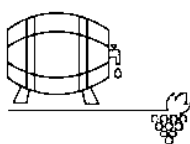
#### 3.2 Εκχυλίσεις υγρού/στερεού και υγρού/υγρού στα chips ξύλων

##### 3.2.1 Εκχυλίσεις στην Acacia

- I. 1003.23g ξύλου ακακίας αφού προσδιορίστηκε η μάζα τους σε αναλυτικό ζυγό, τοποθετήθηκαν σε γυάλινο αεροστεγές δοχείο κορεσμένο με CO<sub>2</sub>. Τα chips και τα ρινίσματα ξύλου εκχυλίστηκαν με υδραλκοολικό διάλυμα νερού/αιθανόλης 50% v/v. Η εκχύλιση πραγματοποιήθηκε πάνω σε magnetic stirrer θερμαινόμενο στους 30-32 °C. Κατά την διάρκεια των εκχυλίσεων γινόταν διοχέτευση αζώτου με σταθερή ροή. Μετά το πέρας των εκχυλίσεων το αρχικό εκχύλισμα φιλτραρίστηκε (Whatman, 30 μm) και στην συνέχεια υποβλήθηκε σε διαδικασία εξάτμισης χαμηλής θερμοκρασίας (32 °C) σε περιστροφική συσκευή αποστάξεως υπό κενό έως ξηρού. Το εκχύλισμα διατηρήθηκε για συντήρηση στους 4°C. Η απόδοση του ξηρού εκχυλίσματος ακακίας ήταν 64.412 g.
- II. Στην συνέχεια περίπου 60g από το αρχικό υπόλειμμα υποβλήθηκε σε διαδικασία υγρής-υγρής εκχύλισης. Στο υπόλειμμα προστέθηκαν 2 L ζεστού νερού(30 °C) και το ίζημα διαλύθηκε με την βοήθεια υπερήχων. Το υδατικό διάλυμα μεταφέρθηκε σε διαχωριστική χοάνη όπου εκχυλίστηκε σε θερμοκρασία δωματίου. Τα 2 L διαλύματος εκχυλίστηκαν ανά 500mL, διαδοχικά με επτάνιο (Hept), οξικό αιθυλεστέρα (EtOAc), μεθυλ-τερτ-βουτυλαιθέρα (MtBE), οξικό αιθυλεστέρα (EtOAc) και βουτανόλη (BuOH) σε αναλογία 50/50 με νερό και βουτανόλη 100%. Όλα τα λαμβανόμενα εκχυλίσματα διηθήθηκαν και στην συνέχεια υποβλήθηκαν σε διαδικασία εξάτμισης χαμηλής θερμοκρασίας (~40°C) σε περιστροφική συσκευή αποστάξεως υπό κενό.

##### 3.2.2 Εκχυλίσεις σε American Oak

- I. Με την ίδια διαδικασία που περιγράφηκε πιο πάνω πραγματοποιήθηκε εκχύλιση υγρού/στερεού στα chips αμερικάνικης δρυός των οποίων η αρχική μάζα ήταν 404.259g.
- II. Στην συνέχεια 12.837g από το αρχικό υπόλειμμα υποβλήθηκε σε διαδικασία υγρής/υγρής εκχύλισης. Στο υπόλειμμα προστέθηκε 1L ζεστού νερού (30°C) και με την βοήθεια υπερήχων διαλύθηκε το ίζημα. Το υδατικό διάλυμα μεταφέρθηκε όπως και πριν σε διαχωριστική



### 3. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

χοάνη όπου εκχυλίστηκε σε θερμοκρασία δωματίου. Το 1L εκχυλίστηκε ανά 500 mL, διαδοχικά με επτάνιο (Hept), οξικό αιθυλεστέρα (EtOAc), μεθυλ-τερτ-βουτυλαιθέρα (MtBE) οξικό αιθυλεστέρα (EtOAc) και βουτανόλη (BuOH) σε αναλογία 50:50 με νερό και βουτανόλη 100%. Όλα τα λαμβανόμενα εκχυλίσματα διηθήθηκαν και στην συνέχεια υποβλήθηκαν σε διαδικασία εξάτμισης χαμηλής θερμοκρασίας (συνήθως 40 °C) σε περιστροφική συσκευή αποστάξεως υπό κενό.

#### 3.2.3 Εκχυλίσεις σε French Oak

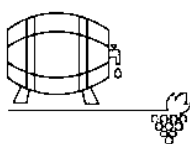
- I. Η μάζα του ξύλου Γαλλικής δρυός ήταν 1000,00g. Ακολουθήσαμε ακριβώς την ίδια διαδικασία όπως και στα προηγούμενα ξύλα. Η απόδοση του ξηρού εκχυλίσματος ήταν 45.930g.
- II. Στην συνέχεια 30.103g από το αρχικό υπόλειμμα υποβλήθηκαν σε διαδικασία εκχύλισης υγρού/υγρού (ανά 500mL) αφού προστέθηκαν σε αυτό 2L ζεστού νερού (30°C). Οι διαδοχικές εκχυλίσεις πραγματοποιήθηκαν με τους ίδιους διαλύτες και τις ίδιες συνθήκες όπως και στα άλλα ξύλα.

#### 3.2.3 Εκχυλίσεις σε Slavonian Oak

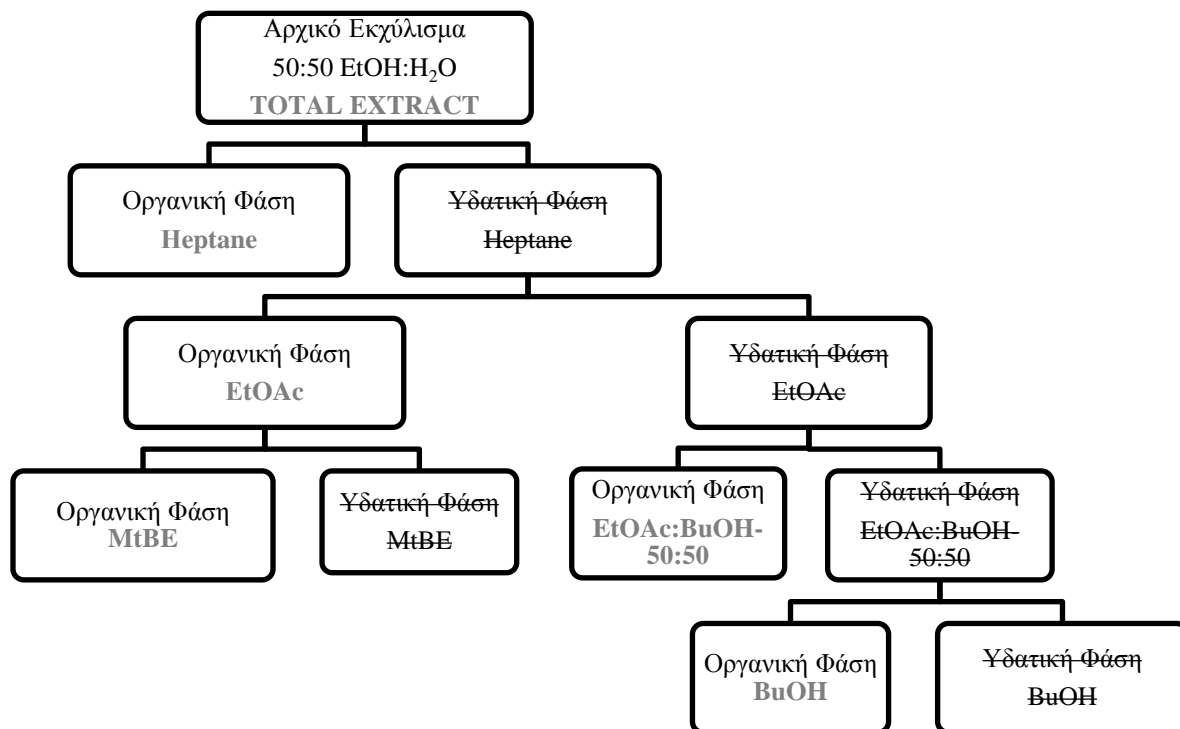
- I. Τέλος 385.549g ξύλου Σλαβόνικης Δρυός αφού ζυγίστηκαν υποβλήθηκαν σε εκχύλιση στερεού/υγρού. Τα chips και τα ρινίσματα ξύλου εκχυλίστηκαν με υδραλκοολικό διάλυμα νερού/αιθανόλης 50% v/v. Η μέθοδος συνεχίστηκε ομοίως με τα υπόλοιπα.
- II. Στην συνέχεια σε 8.235 g από το αρχικό προστέθηκε 1L νερού 30°C. Το 1L εκχυλίστηκε ανά 500 mL στις ίδιες συνθήκες με όλα τα υπόλοιπα. Όλα τα λαμβανόμενα εκχυλίσματα επίσης διηθήθηκαν και εξατμίστηκαν σε χαμηλή θερμοκρασία (~40 °C) σε περιστροφική συσκευή αποστάξεως υπό κενό.

Πιο κάτω απεικονίζονται σχηματικά οι διαδοχικές εκχυλίσεις υγρού/υγρού, με διαλύτες αυξανόμενης πολικότητας που πραγματοποιήθηκαν σε όλα τα ξύλα (Σχήμα 1). Επίσης στον πιο κάτω πίνακα (Πίνακας 4) παρουσιάζονται συνολικά τα δείγματα που προέκυψαν από τις εκχυλίσεις καθώς επίσης και η κωδικοποίησή τους, όπως χρησιμοποιείται παρακάτω.

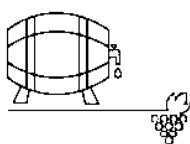




### 3. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ



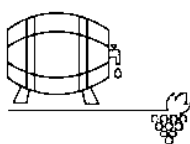
*Σχήμα 1: Σχηματική απεικόνιση των διαδοχικών εκχυλίσεων, με τους διαλύτες αυξανόμενης πολικότητας που χρησιμοποιήθηκαν για τις εκχυλίσεις υγρού/υγρού και για τα τέσσερα είδη ξύλου.*



### 3. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

**Πίνακας 4:** Συνολική καταγραφή των δειγμάτων που προέκυψαν από τις εκχυλίσεις καθώς επίσης και η κωδικοποίηση τους για την παρούσα μεταπτυχιακή μελέτη.

ΔΕΙΓΜΑ	Κωδικοποίηση
<b>TOTAL EXTRACT</b>	
1. Acacia	Ac0
2. American Oak	Am0
3. French Oak	F0
4. Slavonian Oak	S0
<b>Διαλύτης 1: Επτάνιο (Hept)</b>	
1. Acacia	Ac1
2. American Oak	Am1
3. French Oak	F1
4. Slavonian Oak	S1
<b>Διαλύτης 2: Οξικός Αιθυλεστέρας (EtOAc)</b>	
1. Acacia	Ac2
2. American Oak	Am2
3. French Oak	F2
4. Slavonian Oak	S2
<b>Διαλύτης 3: Μέθυλο-τερτ-βουτυλαιθέρας (MtBE)</b>	
1. Acacia	Ac3
2. American Oak	Am3
3. French Oak	F3
4. Slavonian Oak	S3
<b>Διαλύτης 4: Οξικός αιθυλεστέρας: Βουτανόλη (50:50) (EA : BuOH)</b>	
1. Acacia	Ac4
2. American Oak	Am4
3. French Oak	F4
4. Slavonian Oak	S4
<b>Διαλύτης 5: Βουτανόλη 100% (BuOH)</b>	
1. Acacia	Ac5
2. American Oak	Am5
3. French Oak	F5
4. Slavonian Oak	S5

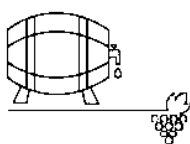


#### 3.3 Ποιοτικός και ποσοτικός προσδιορισμός των LMWP και ελλαγιταννινών με χρήση της HPLC.

Για τον προσδιορισμό των LMWP και των ελλαγιταννινών χρησιμοποιήθηκε η ίδια μέθοδος HPLC, η οποία δημιουργήθηκε μετά από σειρά διαφόρων πειραματικών δοκιμών βασιζόμενη αρχικά σε προηγούμενες μελέτες (Cadahia E., *et al.*, 1998, Cadahia E., *et al.*, 2001). Με την χρήση αυτόματης πιπέτας, από τα δείγματα των εκχυλισμάτων πήραμε 1ml και το τοποθετήσαμε σε Eppendorf safe-lock tubes και με την βοήθεια σταθερής ροής αζώτου εξατμίσαμε μέχρι ξηρού. Ακολούθως επαναδιαλυτοποιήσαμε το κάθε ξηρό υπόλειμμα σε 2mL διαλύματος μεθανόλης : νερού 50:50. Στη συνέχεια αφού περάσανε από φίλτρο σύριγγας πορότητας 0,2μm διαβιβάστηκαν σε γυάλινα vials , χωρητικότητας 2ml, του αυτόματου δειγματολήπτη για HPLC. Τα χαρακτηριστικά του προγράμματος έκλυσης που εφαρμόστηκε εμφανίζονται στον Πίνακα 5.

Για τις πρότυπες καμπύλες, ζυγίστηκε σε αναλυτικό ζυγό, σε στερεά μορφή, 1,000mg της κάθε ένωσης με εξαίρεση τις κασταλαγίνη και βεσκαλαγίνη για τις οποίες ζυγίστηκαν 2,000mg. Οι ποσότητες αυτές τοποθετήθηκαν σε ογκομετρικές φιάλες των 10mL και τελικά συμπληρώθηκαν μέχρι την χαραγή 10mL διαλύματος μεθανόλης: νερού 50:50. Προέκυψαν έτσι διαλύματα συγκέντρωσης 100mg/L και 200mg/L αντίστοιχα. Ποσότητα από τα δείγματα αραιώθηκε σε πενταπλάσιο όγκο δίνοντας αραιωμένα διαλύματα συγκέντρωσης 20mg/L. Τα διαλύματα αυτά περάσανε επίσης από φίλτρο σύριγγας πορότητας 0,2μm και ακολούθως διαβιβάστηκαν σε γυάλινα vials , χωρητικότητας 2ml, του αυτόματου δειγματολήπτη για HPLC. Από τα πυκνά πρότυπα έγιναν ενέσεις των 10, 20 και 40μL, ενώ από τα αραιά των 10, 20, 40 και 50μL. Τα αποτελέσματα που προέκυψαν χρησιμοποιήθηκαν για την δημιουργία πρότυπων καμπύλων συγκέντρωσης, οι οποίες παρατίθενται στο Παράρτημα, παράλληλα μας έδωσαν και τους χρόνους κατακράτησης την κάθε ένωσης.

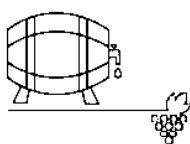
Για την παρούσα διπλωματική εργασία χρησιμοποιήθηκε ένα σύστημα HPLC Jasco (Tokyo, Japan), αποτελούμενο από μια αντλία PU-2089 plus, μια βαλβίδα έγχυσης Rheodyne model 7725i με ενσωματωμένο loop 20 μL και ένα ανιχνευτή diode array (DAD; Jasco MD-910). Η στήλη που χρησιμοποιήθηκε ήταν η Nucleosil 100-5 C<sub>18</sub> (250 x 4.6mm i.d x 5μm p.s) της εταιρίας Macherey-Nagel.



### 3. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

Πίνακας 5: Πρόγραμμα μεθόδου προσδιορισμού LMWP και ελλαγιταννινών, και εξισώσεις προτύπων καμπυλών.

Μέθοδος	Προσδιορισμός LMWP και ελλαγιταννινών				
<b>Στήλη</b>	Macherey-Nagel Nucleosil 100-5 C <sub>18</sub> (250 x 4.6mm x 5μm)				
<b>Ρυθμός ροής Διαλυτών Ανιχνευτής</b>	1mL/min diode array (DAD; Jasco MD-910)				
<b>Μήκη κύματος ανίχνευσης</b>	210 – 320nm				
<b>Μήκος κύματος εξαγωγής χρωματογραφημάτων</b>	280nm				
<b>Όγκος ένεσης</b>	40μL				
<b>Θερμοκρασία</b>	25 °C				
<b>Διαλύτες</b>	A: 0.1% v/v H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub> σε νερό καθαρότητας HPLC B: 0.1% v/v H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub> σε CH <sub>3</sub> OH καθαρότητας HPLC				
<b>Πρόγραμμα HPLC</b>	Χρόνος σε min	0	70.0	72.0	73.0
	% Διαλύτη A	100.0	0	100.0	100.0
	% Διαλύτη B	0	100.0	0	0
<b>Καμπύλες Αναφορές</b>	<i>Gallic Acid</i>	y=3E+06x-16905 R <sup>2</sup> = 0.9997			
	<i>Vescalagin</i>	y=47389x-28439 R <sup>2</sup> = 0.9888			
	<i>Castalagin</i>	y=461220x+188314 R <sup>2</sup> = 0.9809			
	<i>(+)-Catechin</i>	y=741812x-53159 R <sup>2</sup> = 0.9993			
	<i>Vanillic Acid</i>	y=1E+06x+156530 R <sup>2</sup> = 0.9975			
	<i>Syringic Acid</i>	y=2E+06x-75060 R <sup>2</sup> = 0.9993			
	<i>Syringaldehyde</i>	y=2E+06x-154948 R <sup>2</sup> = 0.9934			
	<i>p-Coumaric Acid</i>	y=4E+06x-158645 R <sup>2</sup> = 0.9976			
	<i>Coniferaldehyde</i>	y=2E+06x+685673 R <sup>2</sup> = 0.9789			
	<i>Naringin</i>	y=1E+06x-91179 R <sup>2</sup> = 0.999			
	<i>Ellagic Acid</i>	y=353301x-93964 R <sup>2</sup> = 0.9947			
<b>Έκφραση αποτελεσμάτων</b>	σε mg/L				



#### 3.4 Ποιοτικός προσδιορισμός αρωμάτων - Ολφακτομετρία

Για την ανάλυση αυτή αλλά και για επόμενες συνεχίσαμε με δείγματα από την Ακακία, Αμερικάνικη και Γαλλική Δρυ, τόσο για σκοπούς σύγκρισης όσο και γιατί παρουσίασαν μεγαλύτερο ενδιαφέρον.

Με χρήση του GC-O έγινε ένας ποιοτικός προσδιορισμός των αρωμάτων που εκχυλίστηκαν από τα τρία αυτά ξύλα. Από τα 18 δείγματα επιλέχθηκαν δύο από το κάθε ξύλο, συνολικά χρησιμοποιήθηκαν τα εξής:

- Ac1, Ac5
- Am1, Am5
- F1, F5

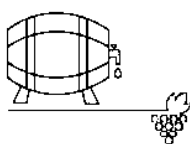
Με την βοήθεια αυτόματης πιπέτας πήραμε από το κάθε εκχύλισμα 100μL και προσθέσαμε 900μL διχλωρομεθάνιο και αφού έγινε ανάδευση αφήσαμε να γίνει εκχύλιση για μία ώρα. Ποσότητα 1μL λήφθηκε από την οργανική φάση φάση της κάθε εκχύλισης και έγινε ένεση στο αέριο χρωματογράφο. Έγινε καταγραφή των αρωμάτων και των χρόνων έκλουσης τους με την βοήθεια του ανιχνευτή Sniffer 9000. Για το κάθε δείγμα πραγματοποιήθηκαν 3 επαναλήψεις.

Ο αέριος χρωματογράφος που χρησιμοποιήθηκε για την συγκεκριμένη μεταπτυχιακή μελέτη ήταν ο GC FOCUS 230 της εταιρείας Thermo Lab Electron Corporation σε ένωση με ανιχνευτή FID συνδεδεμένο παράλληλα με ανιχνευτή Sniffer 9000. Η στήλη που χρησιμοποιήθηκε ήταν η υψηλής πολικότητας DB-WAX, της εταιρίας Agilent, τριχοειδής, (30m x 0,32mm i.d, 0,25μm film thickness).

Ως φέρον αέριο χρησιμοποιήθηκε το He με σταθερή ροή 1μL/min. Ρυθμίστηκαν οι θερμοκρασίες του εισαγωγέα και του ανιχνευτή στους 240°C και 250°C αντίστοιχα. Η θερμοκρασία του φούρνου παρέμεινε στους 60 °C για 2 λεπτά ενώ ακολούθως αυξανόταν 5°C/min μέχρι τους 130 °C. Έπειτα και μέχρι να φτάσει τους 240 °C αυξανόταν 3 °C/min όπου παρέμεινε για 15 λεπτά.

#### 3.5 Οργανοληπτικός έλεγχος

Για να σχηματιστεί μια πιο εμπειριστατωμένη άποψη για τα ποιοτικά χαρακτηριστικά των εκχυλισμάτων πραγματοποιήθηκαν δύο οργανοληπτικοί έλεγχοι, σε διάρκεια 2 βδομάδων. Ο πρώτος αφορούσε αποκλειστικά την όσφρηση και ο δεύτερος το γευστικό κομμάτι. Για τον σκοπό αυτό έλαβαν μέρος στους ελέγχους συνολικά 10 εκπαιδευμένοι δοκιμαστές, διδάσκοντες και φοιτητές του μεταπτυχιακού προγράμματος Οινολογίας του Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών. Η διαδικασία



### 3. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

έλαβε χώρα στην αίθουσα Οργανοληπτικού ελέγχου του Εργαστηρίου Οινολογίας. Τα δείγματα που δοκιμάστηκαν συνολικά ήταν τα εξής:

- Ac1, Ac2, Ac3, Ac4 και Ac5
- Am1, Am2, Am3, Am4 και Am5
- F1, F2, F3, F4 και F5

#### 3.5.1 Οσφρητική αξιολόγηση

Αφού έγινε μία πρώτη καταγραφή και αξιολόγηση των αρωμάτων που εντοπίζονταν στα υδραλκοολικά διαλύματα από μία ομάδα διδασκόντων-sommeliers, οι 10 δοκιμαστές εκπαιδεύτηκαν περαιτέρω για τις συγκεκριμένες κατηγορίες αρωμάτων με την βοήθεια πρότυπων διαλυμάτων και τεστ (A.C Noble., et al., 1987, Ron S. Jackson, 2000).

Πραγματοποιήθηκαν δύο συνεδρίες αξιολόγησης, με τα δείγματα να είναι χωρισμένα σε τρία συνολικά πάνελ, στο καθένα αντιστοιχούσε ένας τριψήφιος αριθμός ενώ δίνονταν με τυχαία σειρά. Οι δοκιμαστές κλήθηκαν να αξιολογήσουν την ένταση των κάτωθι αρωμάτων σε αριθμητική κλίμακα 0-5 (Εικόνα 18).

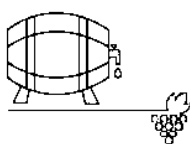
Για τον οργανοληπτικό έλεγχο των πτητικών συστατικών των δειγμάτων δημιουργήθηκε η παρακάτω φόρμα αξιολόγησης (Εικόνα 18).

Δείγμα	Αποξηραμένα Φρούτα	Μαύρη Σοκολάτα	Καραμέλα	Βανίλια	Γαρύφαλλο/Κανέλα	Μοσχοκάρυδο	Φρέσκο Ξύλο	Καμένο Ξύλο /Καπνιστό	Καρύδα	Ξυσμένο Μολύβι	Άλλο (εξηγήστε)

Εικόνα 18: Φόρμα οσφρητικής αξιολόγησης των εκχυλισμάτων.

#### 3.3.2 Γευστική αξιολόγηση

Με την βοήθεια σιφωνίου υπολογίστηκε ο ακριβής όγκος των αρχικών διαλυμάτων και αφού καταγράφηκαν αραιώθηκαν σε Model Wine (10:90), πραγματοποιήθηκαν δύο συνεδρίες αξιολόγησης. Τα αραιωμένα διαλύματα, χωρισμένα σε τρία πάνελ, με έναν τριψήφιο να αντιστοιχεί στο καθένα αξιολογήθηκαν με χρήση αριθμητικής κλίμακας 1-10 από οκτώ δοκιμαστές. Για την παρούσα μετα-



### 3. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

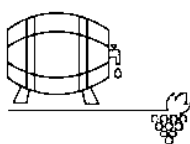
πτυχιακή μελέτη οι δοκιμαστές συμπλήρωσαν το πιο κάτω έντυπο αξιολόγησης που αφορούσε την Οξύτητα, Γλυκύτητα, Στυπτικότητα, Πικρή γεύση και Ένταση Επίγευσης (Εικόνα 19).

<b>Δοκιμαστής:</b>					
<b>Δείγματα</b>					
<b>Γευστική αξιολόγηση</b>					
Οξύτητα (χαμηλή-μέτρια-υψηλή) Κλίμακα: 1-10					
Γλυκύτητα (χαμηλή-μέτρια-υψηλή) Κλίμακα: 1-10					
Στυπτικότητα (χαμηλή-μέτρια-υψηλή) Κλίμακα: 1-10					
Πικράδα (χαμηλή-μέτρια-υψηλή) Κλίμακα: 1-10					
Ένταση Επίγευσης (μικρή - μέτρια - υψηλή) Κλίμακα: 1-10					

*Εικόνα 19: Φόρμα γευστικής αξιολόγησης των εκχυλισμάτων.*

#### 3.6 Στατιστική Ανάλυση

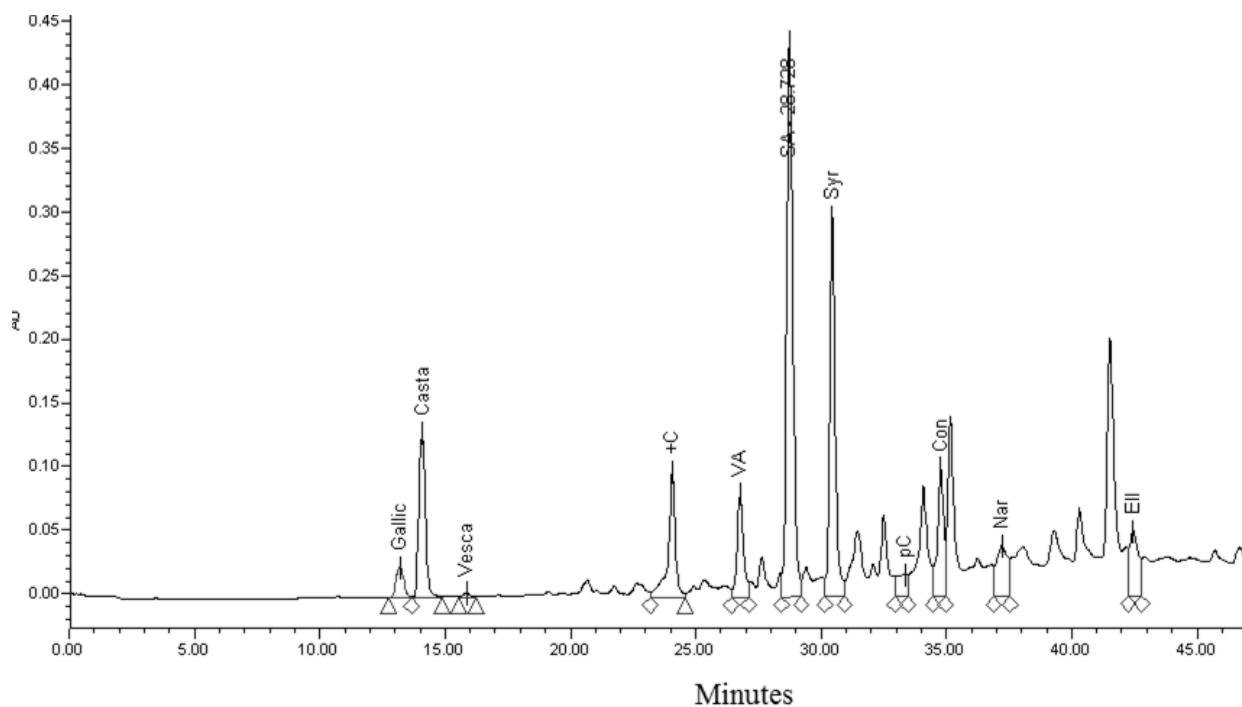
Τα αποτελέσματα επεξεργάστηκαν στατιστικά με το πρόγραμμα στατιστικής ανάλυσης JMP11. Το Tukey's HSD (honest significant difference) test χρησιμοποιήθηκε για την σύγκριση των δειγμάτων, όταν παρουσίαζαν σημαντικές διαφορές μετά τη εφαρμογή ANOVA ( $p < 0.05$ ) στα αποτελέσματα των αναλύσεων. Στα αποτελέσματα που παρουσιάζονται στη συνέχεια αναγράφεται το μέσο σφάλμα των επαναλήψεων ως  $\pm$  του μέσου όρου αυτών ή ως μπάρες όταν τα αποτελέσματα απεικονίζονται σε γράφημα. Με a, b, c κ.ο.κ χαρακτηρίζεται η στατιστική διαφορά των δειγμάτων (σε επίπεδο 0.05%), ενώ δείγματα με ίδιο γράμμα δεν παρουσιάζουν σημαντική στατιστική διαφορά μεταξύ τους.



## 4. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

### 4.1 Αποτελέσματα ανάλυσης HPLC και Εκχυλίσεων

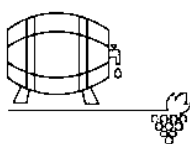
Αρχικά παρουσιάζεται ένα χαρακτηριστικό χρωματογράφημα (Γράφημα 1) στο οποίο φαίνονται οι κορυφές της κάθε ένωσης, που χρησιμοποιήθηκαν για ταυτοποίηση και ποσοτικοποίηση. Στον Πίνακα I του Παραρτήματος παρουσιάζονται αναλυτικά οι χρόνοι έκλουσης της κάθε ουσίας όπως προέκυψαν από τα πρότυπα διαλύματα διαφορετικών συγκεντρώσεων.



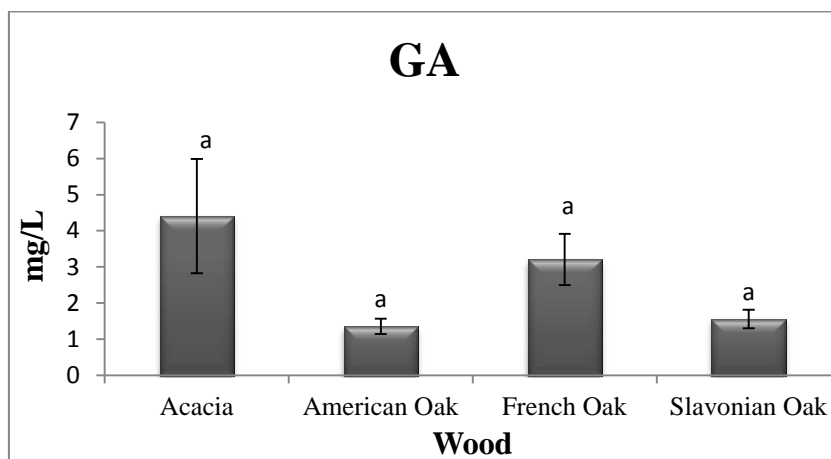
*Γράφημα 1:* Χρωματογράφημα από την ανάλυση HPLC του δείγματος F3 στα 280nm, με ένδειξη της κάθε κορυφής.

Τα αναλυτικά αποτελέσματα της μεθόδου για το κάθε ξύλο παρουσιάζονται σε μέσο όρο και με την τυπική τους απόκλιση στον Πίνακα II του Παραρτήματος.



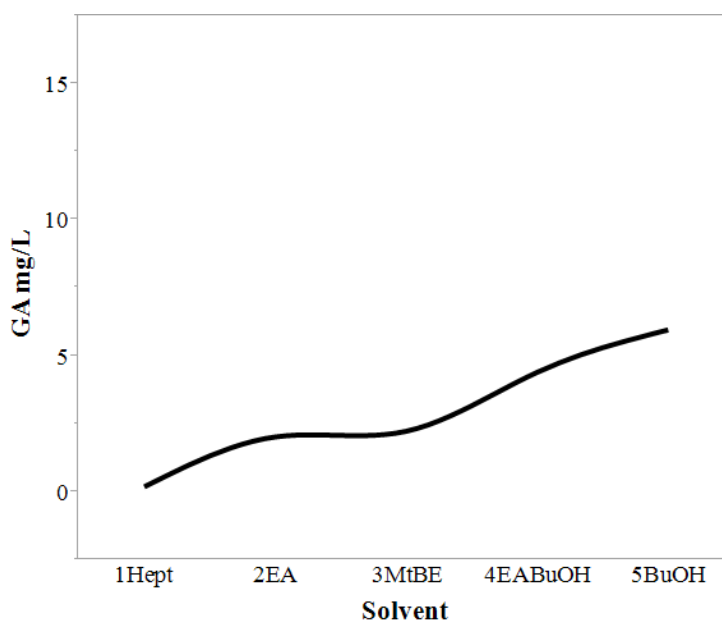


#### 4. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

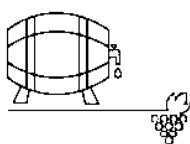


*Διάγραμμα 1:* Μέση συγκέντρωση γαλλικού οξέος στα 4 είδη ξύλου. Οι μπάρες δείχνουν το  $\pm$  τυπικό σφάλμα του μέσου όρου των τιμών. Τιμές με διαφορετικά γράμματα ανάμεσα στα ξύλα διαφέρουν στατιστικά μεταξύ τους (Tukey's test,  $p < 0.05$ ).

Στο Διάγραμμα 1 βλέπουμε τα αποτελέσματα από τους μέσους όρους συγκεντρώσεων του γαλλικού οξέος ανά είδος ξύλου. Τα αποτελέσματα είναι εκφρασμένα σε mg ανά λίτρο εκχυλίσματος, χρησιμοποιήθηκε πρότυπη ευθεία γνωστών συγκεντρώσεων γαλλικού,  $y=3E+06x-16905$ ,  $R^2 = 0.9997$ . Παρόλο που τα δείγματα δεν παρουσιάζουν στατιστική διαφορά σε επίπεδο σημαντικότητας 0.05% διακρίνουμε ότι την μεγαλύτερη συγκέντρωση GA παρουσίασε η Ακακία ενώ την μικρότερη η Αμερικάνικη Δρυς.

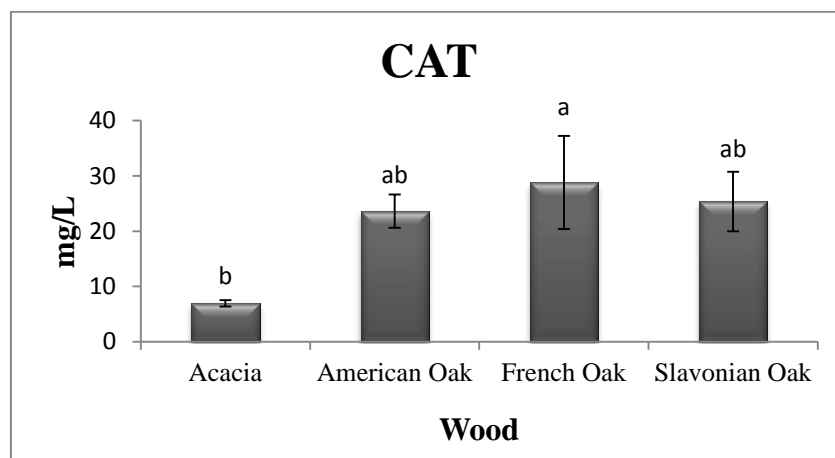


*Διάγραμμα 2:* Συνολική πορεία εκχύλισης GA στις διαδοχικές εκχυλίσεις με τους διαλύτες αυξανόμενης πολικότητας για τα τέσσερα είδη ξύλου.



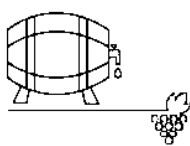
#### 4. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Όπως φαίνεται στο Διάγραμμα 2 η συγκέντρωση του GA αυξάνεται όσο αυξάνεται η πολικότητα του διαλύτη εκχύλισης. Πιο αναλυτικά στην Ακακία το GA παρουσιάζει αυξανόμενες συγκεντρώσεις όσο αυξάνεται η πολικότητα του διαλύτη όπως επίσης και η Γαλλική Δρυς, σε αντίθεση με τα άλλα είδη Δρυός τα οποία παρουσιάζουν ένα μέγιστο συγκέντρωσης τους διαλύτες μέτριας πολικότητας, και έπειτα μια φθίνουσα πορεία. Αυτό συμβαίνει γιατί έχουν μικρότερες συγκεντρώσεις GA και έχουμε πετύχει την μεταφορά του στην οργανική φάση από τις πρώτες κιόλας εκχυλίσεις, συμφωνώντας έτσι και με τα τελικά αποτελέσματα.

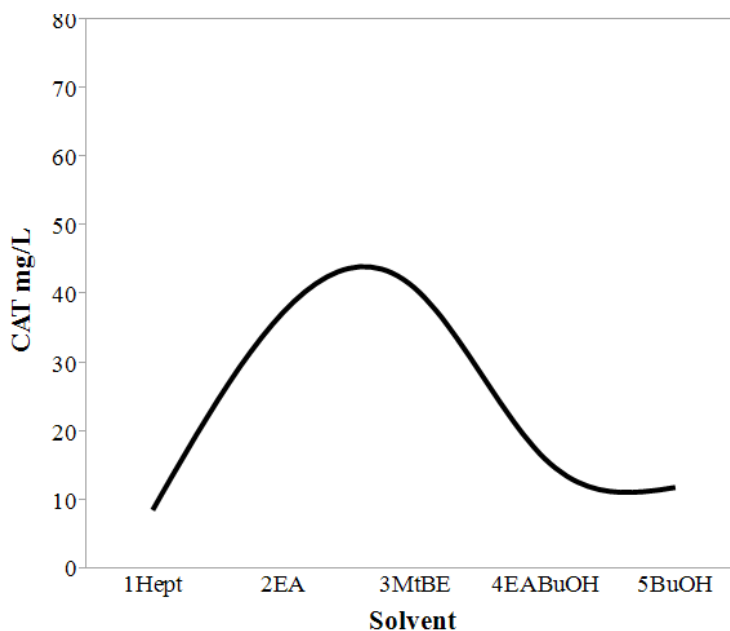


*Διάγραμμα 3: Μέση συγκέντρωση (+)-κατεχίνη στα 4 είδη ξύλου. Οι μπάρες δείχνουν το  $\pm$  τυπικό σφάλμα του μέσου όρου των τιμών. Τιμές με διαφορετικά γράμματα ανάμεσα στα ξύλα διαφέρουν στατιστικά μεταξύ τους (Tukey's test,  $p < 0.05$ ).*

Στο Διάγραμμα 3 τα αποτελέσματα είναι εκφρασμένα σε mg ανά λίτρο εκχυλίματος, χρησιμοποιήθηκε πρότυπη ευθεία γνωστών συγκεντρώσεων (+)-κατεχίνης,  $y=741812x-53159$ ,  $R^2 = 0.9993$ . Η (+)-κατεχίνη υπάρχει σε μεγαλύτερες συγκεντρώσεις στην Γαλλική Δρυ, ενώ σε μικρότερες στην Ακακία. Όπως βλέπουμε στο Διάγραμμα 3 τα δύο αυτά ξύλα παρουσιάζουν μεταξύ τους και στατιστική διαφορά σε επίπεδο σημαντικότητας 0.05%, όσο αφορά την CAT. Τα άλλα δύο είδη Δρυός δεν παρουσιάζουν στατιστικές διαφορές με κανένα από τα ξύλα.

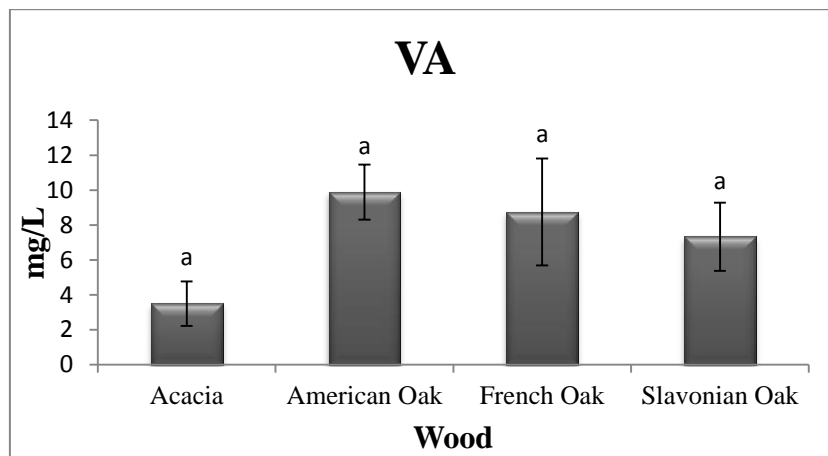


#### 4. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ



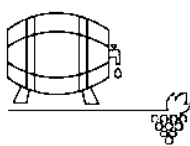
*Διάγραμμα 4:* Συνολική πορεία εκχύλισης CAT στις διαδοχικές εκχύλισεις με τους διαλύτες αυξανόμενης πολικότητας για τα τέσσερα είδη ξύλου.

Η CAT παρουσιάζει ένα μέγιστο εκχύλισης στα κλάσματα οξικού αιθυλεστέρα και μεθυλ-τερτ-βουτυλαιθέρα, δηλαδή στους μέσης πολικότητας διαλύτες σε ότι αφορά το πείραμα μας, και ακολούθως μειώνεται η συγκέντρωση της στους πολικότερους. Το ίδιο προφίλ εκχύλισης παρουσιάζουν όλα τα είδη ξύλου, αν και η γενικά Ακακία δεν είχε μεγάλες διαφορές στις συγκεντρώσεις.



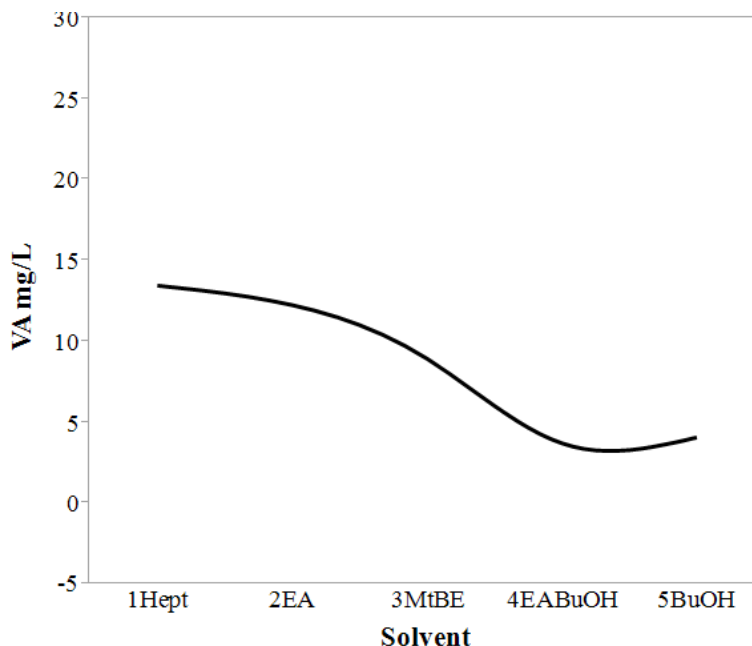
*Διάγραμμα 5:* Μέση συγκέντρωση βανιλικού οξέος στα 4 είδη ξύλου. Οι μπάρες δείχνουν το  $\pm$  τυπικό σφάλμα του μέσου όρου των τιμών. Τιμές με διαφορετικά γράμματα ανάμεσα στα ξύλα διαφέρουν στατιστικά μεταξύ τους (Tukey's test,  $p < 0.05$ ).

Τα πιο πάνω αποτελέσματα εκφρασμένα σε mg/L τα πήραμε με την βοήθεια πρότυπης ευθείας γνωστών συγκεντρώσεων,  $y=1E+06x+156530$ ,  $R^2 = 0.9975$ . Το VA δεν παρουσιάζει στατιστικές διαφορές ανάμεσα στα δείγματα. Διακρίνουμε όμως ότι μέγιστη συγκέντρωση είχαν τα δείγματα



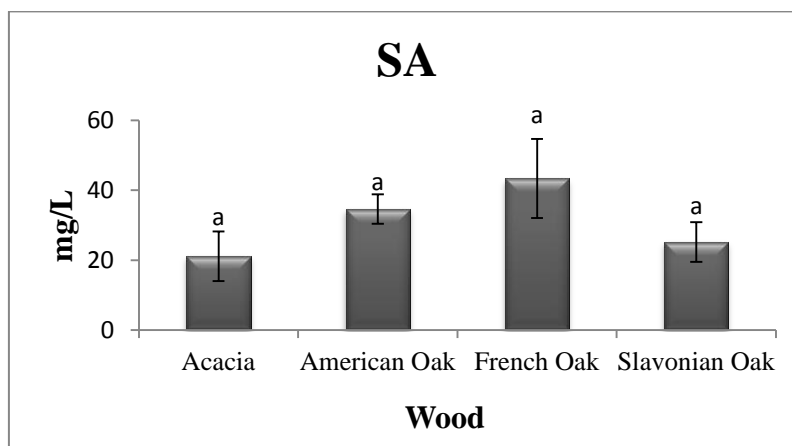
#### 4. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Αμερικάνικης Δρυός και ελάχιστη αυτά της Ακακίας. Αξίζει να σημειωθεί ότι τα τρία είδη Δρυός είχαν διαφορές της τάξεως του 1mg/L.



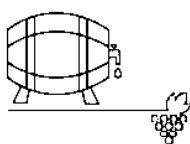
*Διάγραμμα 6:* Συνολική πορεία εκχύλισης VA στις διαδοχικές εκυλίσεις με τους διαλύτες αυξανόμενης πολικότητας για τα τέσσερα είδη ξύλου.

Το VA έχει μεγαλύτερες συγκεντρώσεις στους μικρής και μέσης πολικότητας διαλύτες, με ένα μέγιστο στους μέσης και ακολούθως μειώνεται. Με εξαίρεση και πάλι την Ακακία η οποία παρουσιάζει το μέγιστο της στον λιγότερο πολικό διαλύτη και έπειτα μειώνεται.



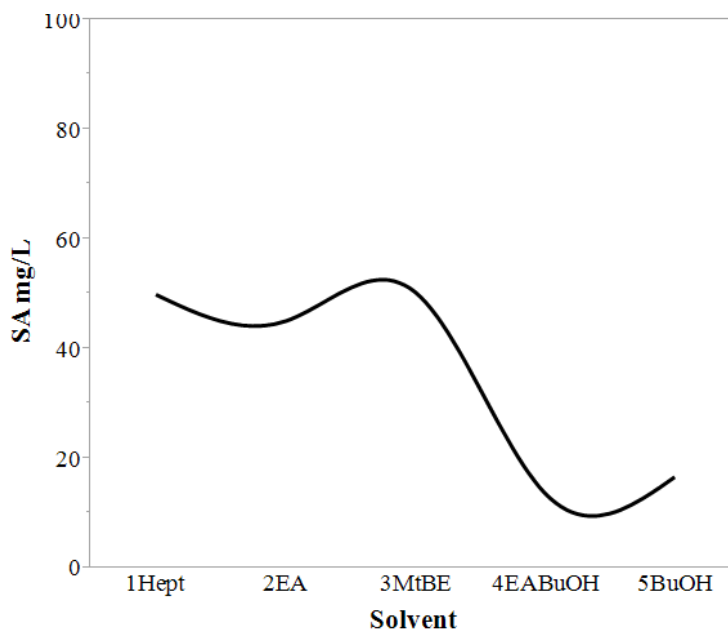
*Διάγραμμα 7:* Μέση συγκέντρωση συριγγικού οξέος στα 4 είδη ξύλου. Οι μπάρες δείχνουν το  $\pm$  τυπικό σφάλμα του μέσου όρου των τιμών. Τιμές με διαφορετικά γράμματα ανάμεσα στα ξύλα διαφέρουν στατιστικά μεταξύ τους (Tukey's test,  $p < 0.05$ ).

Στο Διάγραμμα 7 φαίνεται ο μέσος όρος συγκεντρώσεων του SA (mg/L εκχυλίσματος), οι οποίες προέκυψαν από την πρότυπη καμπύλη με εξίσωση  $y=2E+06x-75060$ ,  $R^2 = 0.9993$ . Το SA δεν είχε



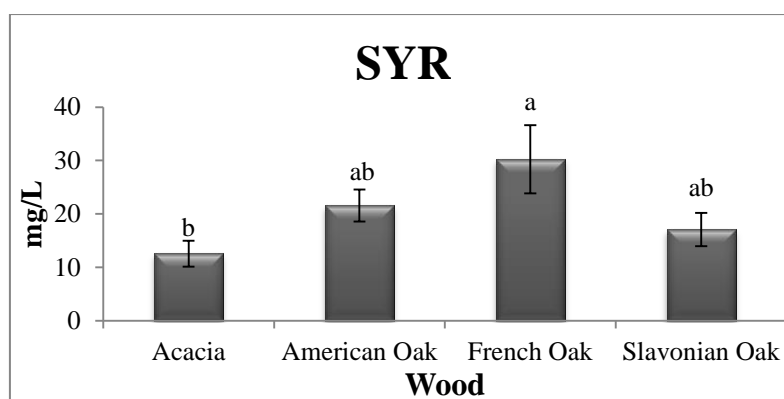
#### 4. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

στατιστικές διαφορές στα 4 είδη ξύλου, με την μεγαλύτερη συγκέντρωση να παρουσιάζεται στην Γαλλική Δρυ και την χαμηλότερη στην Ακακία για ακόμη μία φορά.



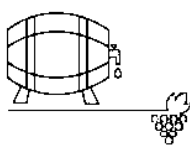
*Διάγραμμα 8:* Συνολική πορεία εκχύλισης SA στις διαδοχικές εκχυλίσεις με τους διαλύτες αυξανόμενης πολικότητας για τα τέσσερα είδη ξύλου.

Το SA συγκρίνοντας τις εκχυλίσεις του κάθε ξύλου φαίνεται να είχε τις μεγαλύτερες συγκεντρώσεις στις πρώτες εκχυλίσεις, δηλαδή στα δείγματα από τους διαλύτες μέσης πολικότητας σε ότι αφορά τα ξύλα Δρυός και μικρής πολικότητας στο ξύλο της Ακακίας. Έπειτα η εκχύλιση ακολουθεί μια φθίνουσα πορεία και μάλιστα με απότομη και μεγάλη μείωση της συγκέντρωσης του SA.



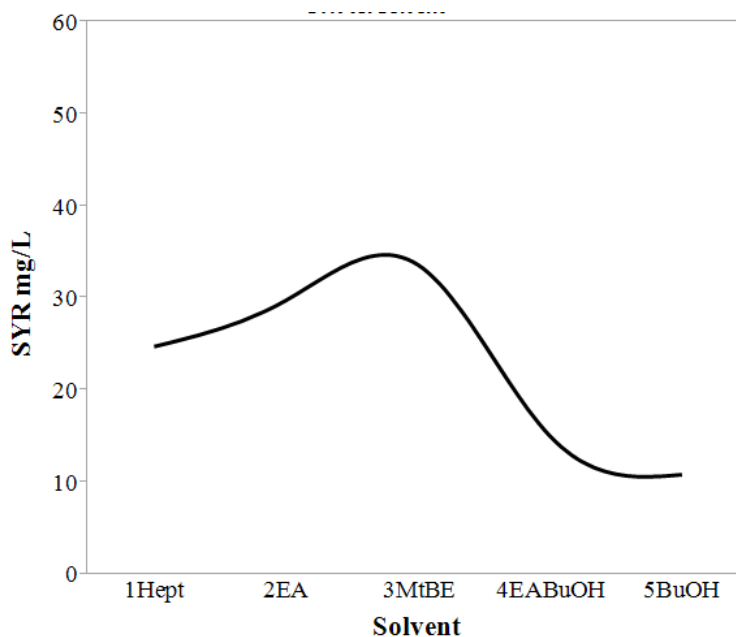
*Διάγραμμα 9:* Μέση συγκέντρωση συριγγαλδεΐδης στα 4 είδη ξύλου. Οι μπάρες δείχνουν το  $\pm$  τυπικό σφάλμα του μέσου όρου των τιμών. Τιμές με διαφορετικά γράμματα ανάμεσα στα ξύλα διαφέρουν στατιστικά μεταξύ τους (Tukey's test,  $p < 0.05$ ).

Από την εξίσωση της πρότυπης ευθείας της SYR,  $y=2E+06x-154948$ ,  $R^2 = 0.9934$  πήραμε τα αποτελέσματα για το πιο πάνω διάγραμμα. Τα τελικά αποτελέσματα είναι εκφρασμένα σε mg ανά λίτρο εκχυλίσματος. Η Ακακία και η Γαλλική Δρυς για ακόμη μια φορά, έχουν μεταξύ τους στατιστική διαφορά σε επίπεδο σημαντικότητας 0.05% στη περιεκτικότητά τους σε SYR με τις δύο να



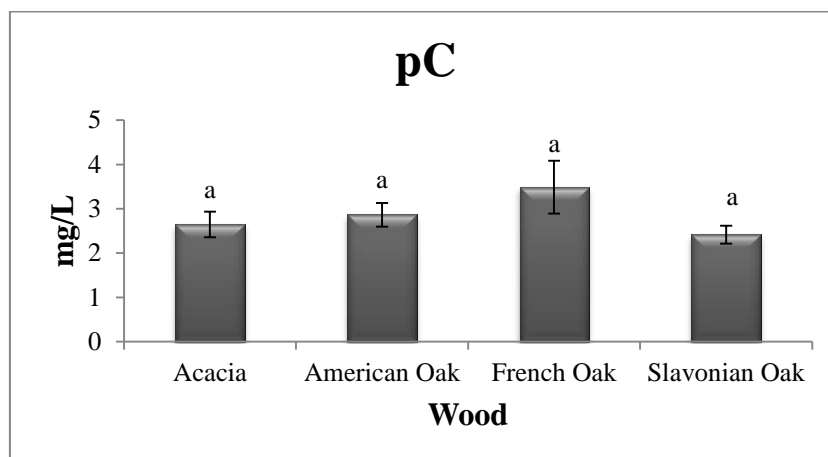
#### 4. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

έχουν την ελάχιστη και την μέγιστη περιεκτικότητα αντίστοιχα. Η Αμερικάνικη και η Σλαβόνικη Δρυς δεν έχουν στατιστικές διαφορές με τα υπόλοιπα δείγματα.



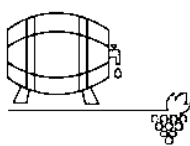
*Διάγραμμα 10: Συνολική πορεία εκχύλισης SYR στις διαδοχικές εκχυλίσεις με τους διαλύτες αυξανόμενης πολικότητας για τα τέσσερα είδη ξύλου.*

Η SYR παρουσιάζει παρόμοιο προφίλ εκχύλισης με το SA. Η Ακακία παρουσίασε το μέγιστο της εκχύλισης της στον λιγότερο πολικό διαλύτη ενώ τα ξύλα Δρυός στους μέσης πολικότητας. Μετά το μέγιστο υπήρξε απότομη μείωση της συγκέντρωσης της.



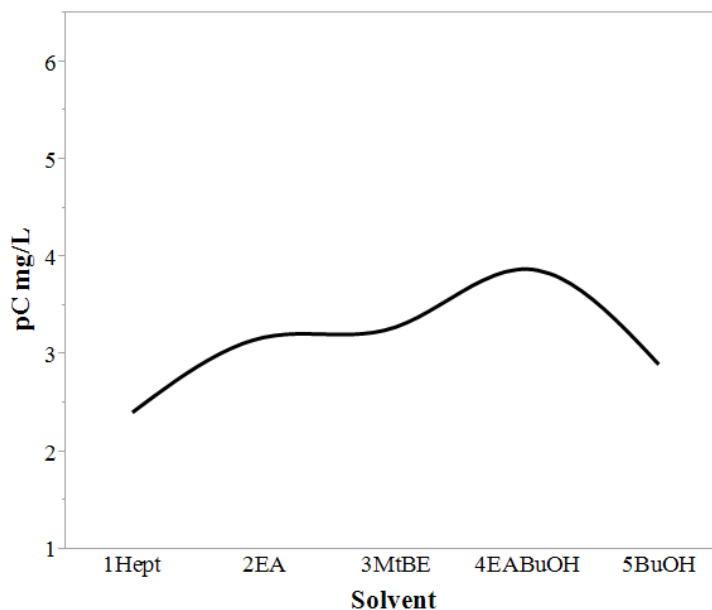
*Διάγραμμα 11: Μέση συγκέντρωση p-κουμαρικού οξέος στα 4 είδη ξύλου. Οι μπάρες δείχνουν το  $\pm$  τυπικό σφάλμα του μέσου όρου των τιμών. Τιμές με διαφορετικά γράμματα ανάμεσα στα ξύλα διαφέρουν στατιστικά μεταξύ τους (Tukey's test,  $p < 0.05$ ).*

Στο Διάγραμμα 11 παρουσιάζονται τα αποτελέσματα που προέκυψαν με την βοήθεια της πρότυπης ευθείας γνωστών συγκεντρώσεων του p-κουμαρικού  $y=4E+06x-158645$  με  $R^2 = 0.9976$ . Τα δείγματα είχαν παρόμοιες συγκεντρώσεις με πολύ μικρές διαφορές και δεν είχαν στατιστικές διαφορές.



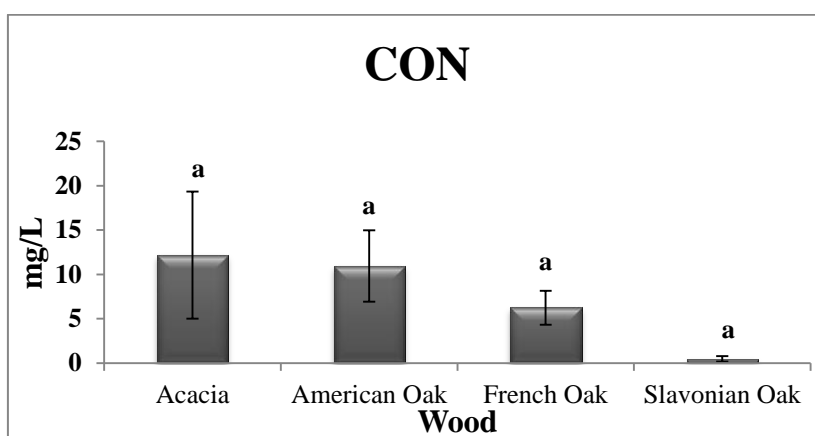
#### 4. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Παρόλα αυτά μεγαλύτερη περιεκτικότητα είχαμε στη Γαλλική Δρυ και μικρότερη στην Σλαβόνικη Δρυ.

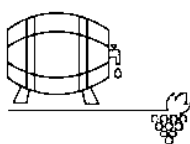


*Διάγραμμα 12:* Συνολική πορεία εκχύλισης pC στις διαδοχικές εκχυλίσεις με τους διαλύτες αυξανόμενης πολικότητας για τα τέσσερα είδη ξύλου.

Στο Διάγραμμα 12 παρουσιάζεται η συνολική πορεία εκχύλισης του pC κατά τη διαδικασία κλασματοποίησης. Όπως φαίνεται η συγκέντρωση pC αυξάνεται όσο αυξάνεται η πολικότητα του διαλύτη εκχύλισης έχοντας μέγιστο σε ένα διαλύτη με μεγαλύτερη πολικότητα αλλά μειώνεται στο κλάσμα μέγιστης πολικότητας. Εξαιρέση αποτελεί για ακόμη μια φορά η Ακακία η οποία είχε αυξανόμενη συγκέντρωση και μέγιστο στα δύο πρώτα κλάσματα και εν συνεχεία ακολουθεί φθίνουσα πορεία.

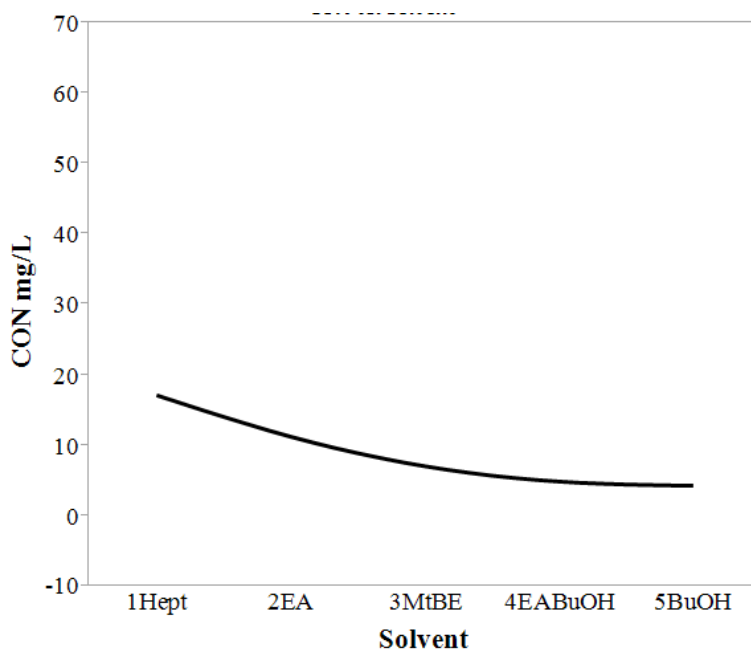


*Διάγραμμα 13:* Μέση συγκέντρωση κονιφεραλδεΐδης στα 4 είδη ξύλου. Οι μπάρες δείχνουν το  $\pm$  τυπικό σφάλμα του μέσου όρου των τιμών. Τιμές με διαφορετικά γράμματα ανάμεσα στα ξύλα διαφέρουν στατιστικά μεταξύ τους (Tukey's test,  $p < 0.05$ ).



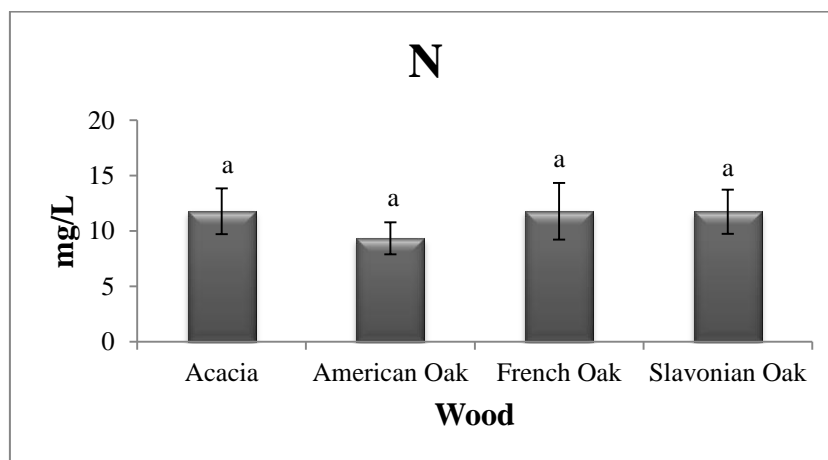
#### 4. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Ενώ τα δείγματα δεν διαφέρουν στατιστικά μεταξύ τους (Tukey's Test,  $p < 0.05$ ) διακρίνουμε, στο Διάγραμμα 13, ότι η Ακακία η οποία έχει και τις πιο ψηλές περιεκτικότητες σε CON έχει εμφανή διαφορά συγκριτικά με την Σλαβόνικη Δρυ που έχει τις χαμηλότερες. Όλες οι τελικές συγκεντρώσεις είναι εκφρασμένες σε mg CON ανά λίτρο εκχυλίσματος και προέκυψαν από την εξίσωση  $y=2E+06x+685673$  με  $R^2 = 0.9789$ .



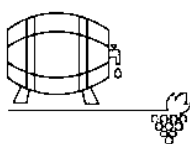
*Διάγραμμα 14:* Συνολική πορεία εκχύλισης CON στις διαδοχικές εκχυλίσεις με τους διαλύτες αυξανόμενης πολικότητας για τα τέσσερα είδη ξύλου.

Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι η εκχύλιση CON έχει αντίστροφη πορεία με την πολικότητα. Τα δείγματα μικρής πολικότητας είχαν τις μέγιστες συγκεντρώσεις CON, ενώ στους πολικούς διαλύτες είχαμε ελάχιστη, δείχνοντας ότι μπορεί να εκχυλιστεί από τα πρώτα κιάλας κλάσματα.



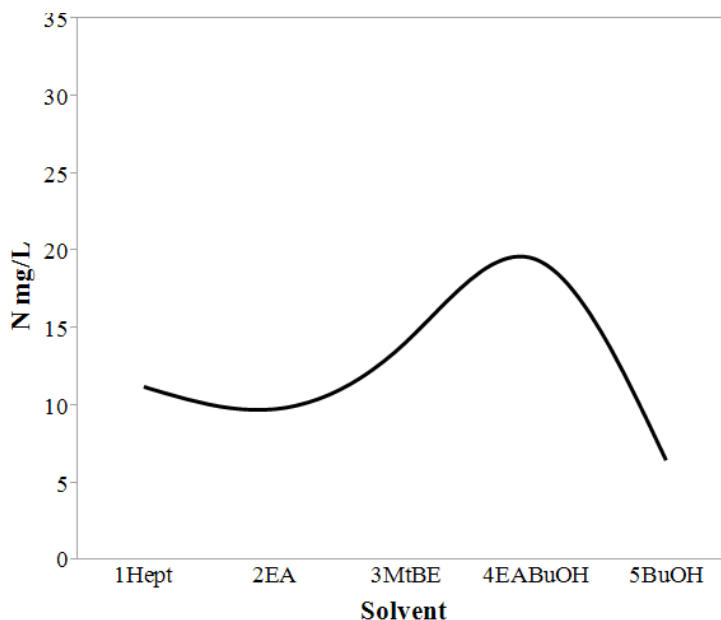
*Διάγραμμα 15:* Μέση συγκέντρωση ναριγκίνης στα 4 είδη ξύλου. Οι μπάρες δείχνουν το  $\pm$  τυπικό σφάλμα του μέσου όρου των τιμών. Τιμές με διαφορετικά γράμματα ανάμεσα στα ξύλα διαφέρουν στατιστικά μεταξύ τους (Tukey's test,  $p < 0.05$ ).





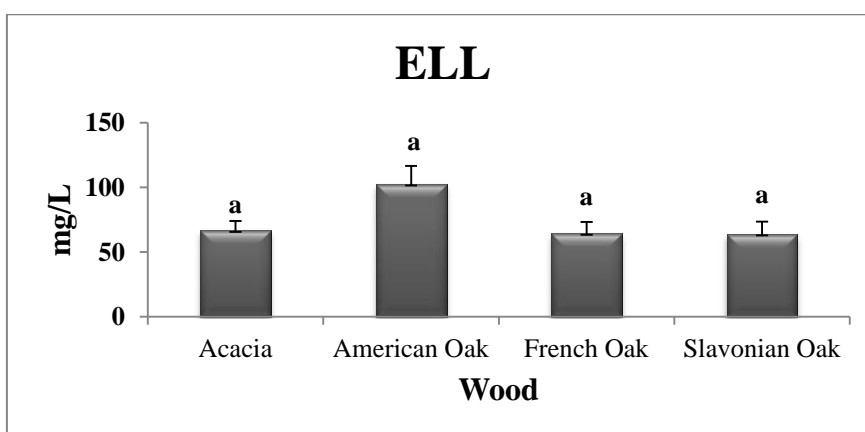
#### 4. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Με αντικατάσταση των αποτελεσμάτων (Areas) που προέκυψαν από την ανάλυση HPLC στην πρότυπη εξίσωση γνωστών συγκεντρώσεων  $y=1E+06x-91179$  και  $R^2 = 0.999$  προέκυψαν τα πιο πάνω αποτελέσματα. Ελάχιστες διαφορές υπάρχουν και στα αποτελέσματα για τη συγκέντρωση N στα διαφορετικά είδη ξύλου. Δεν διαφέρουν στατιστικά μεταξύ τους ενώ με ελάχιστη διαφορά περισσότερη N βρέθηκε στην Ακακία και λιγότερη στην Αμερικάνικη Δρυ.

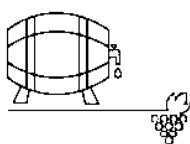


*Διάγραμμα 16:* Συνολική πορεία εκχύλισης N στις διαδοχικές εκχυλίσεις με τους διαλύτες αυξανόμενης πολικότητας για τα τέσσερα είδη ξύλου.

Στο Διάγραμμα 16 παρουσιάζεται η πορεία εκχύλισης που είχε η N. Η εκχύλιση αυξάνεται με την πολικότητα του διαλύτη, με μέγιστο σε έναν από τους πολικότερους διαλύτες (4) και έπειτα απότομη μείωση της.

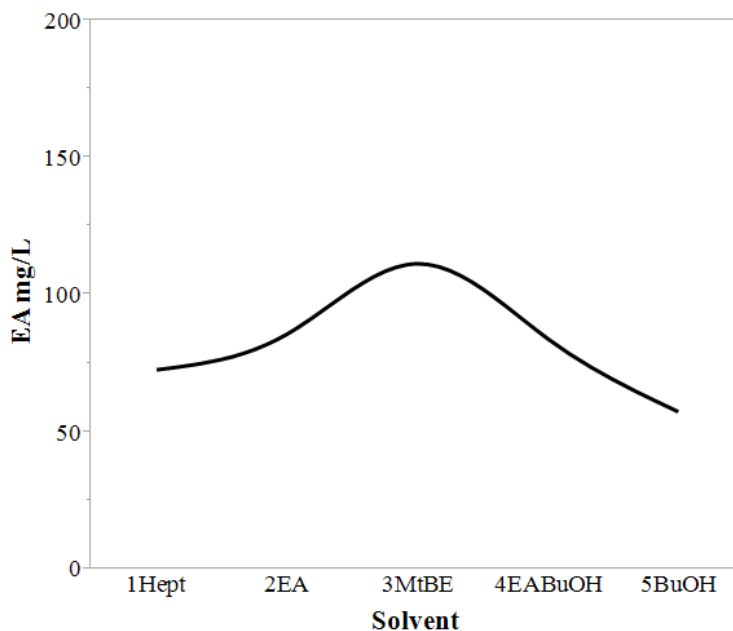


*Διάγραμμα 17:* Μέση συγκέντρωση ελλαγικού οξέος στα 4 είδη ξύλου. Οι μπάρες δείχνουν το  $\pm$  τυπικό σφάλμα του μέσου όρου των τιμών. Τιμές με διαφορετικά γράμματα ανάμεσα στα ξύλα διαφέρουν στατιστικά μεταξύ τους (Tukey's test,  $p < 0.05$ ).



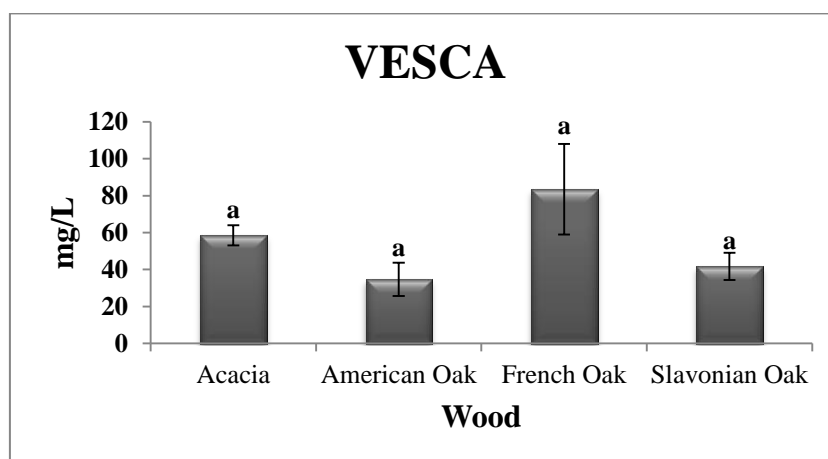
#### 4. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Στο Διάγραμμα 17 βλέπουμε για ακόμη μία φορά τα δείγματα δεν διαφέρουν στατιστικά μεταξύ τους (Tukey's Test ,  $p < 0.05$ ), μεγαλύτερη περιεκτικότητα σε ELL είχαμε στην Αμερικάνικη Δρυ και μικρότερη στην Σλαβόνικη Δρυ. Όλες οι περιεκτικότητες είναι εκφρασμένες σε mg ελλαγικού ανά λίτρο εκχυλίσματος, και προέκυψαν από την εξίσωση  $y=353301x-93964$  με  $R^2 = 0.9947$ .

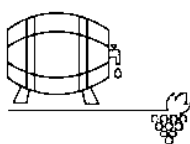


*Διάγραμμα 18: : Συνολική πορεία εκχύλισης EA στις διαδοχικές εκχυλίσεις με τους διαλύτες αυξανόμενης πολικότητας για τα τέσσερα είδη ξύλου.*

Οι εκχυλίσεις με μέσης πολικότητας διαλύτες είχαν τις υψηλότερες συγκεντρώσεις αναφορικά με τα διάφορα είδη Δρυός όπως διακρίνεται και από το Διάγραμμα 18, ενώ για την Ακακία ήταν αυτές με τους πολικότερους διαλύτες.



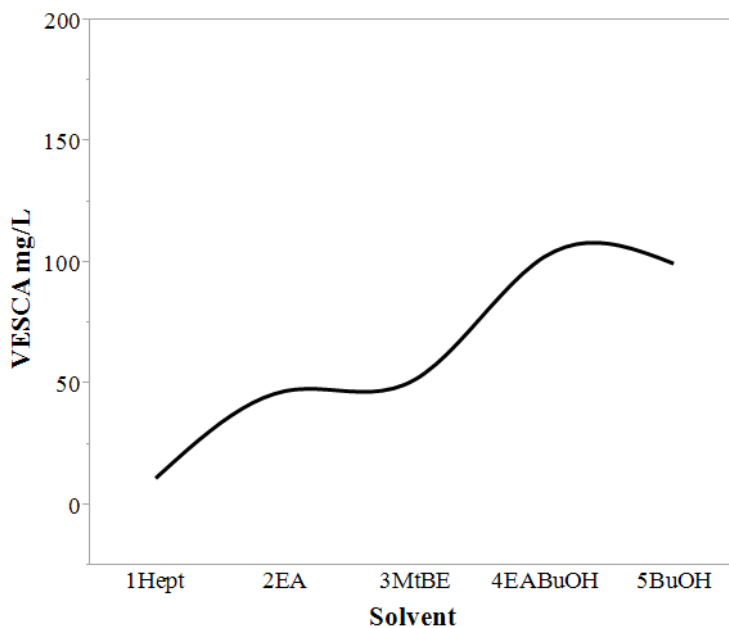
*Διάγραμμα 19: Μέση συγκέντρωση βεσκαλαγίνης στα 4 είδη ξύλου. Οι μπάρες δείχνουν το  $\pm$  τυπικό σφάλμα του μέσου όρου των τιμών. Τιμές με διαφορετικά γράμματα ανάμεσα στα ξύλα διαφέρουν στατιστικά μεταξύ τους (Tukey's test,  $p < 0.05$ ).*



#### 4. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

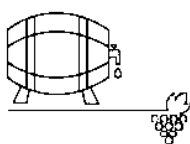
Εκτός λοιπόν από τα LMWP, με την ίδια μέθοδο προσδιορίστηκαν και οι μέσες περιεκτικότητες των τεσσάρων αυτών ξύλων σε VESCA και CASTA με την βοήθεια των πρότυπων εξισώσεων γνωστών συγκεντρώσεων,  $y=47389x-28439$  με  $R^2 = 0.9888$  και  $y=461220x+188314$  με  $R^2 = 0.9809$  αντίστοιχα.

Ενώ η παρουσία τους στην Ακακία ήταν αμφίβολη, τελικά ταυτοποιήθηκαν και οι δύο. Η VESCA υπάρχει σε μεγαλύτερη συγκέντρωση στη Γαλλική Δρυ και σε μικρότερη στην Αμερικάνικη. Μεταξύ τους τα δείγματα δεν διαφέρουν στατιστικά.

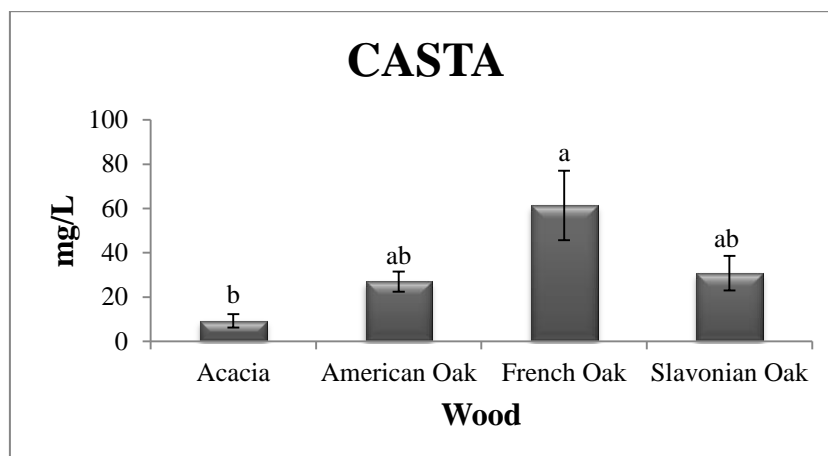


*Διάγραμμα 20: Συνολική πορεία εκχύλισης VESCA στις διαδοχικές εκχυλίσεις με τους διαλύτες αυξανόμενης πολικότητας για τα τέσσερα είδη ξύλου.*

Μεγαλύτερη εκχύλιση είχαμε σε όλες τις περιπτώσεις στους πιο πολικούς διαλύτες των οποίων τα κλάσματα παρουσίασαν και τις μέγιστες συγκεντρώσεις όπως φαίνεται πιο πάνω.

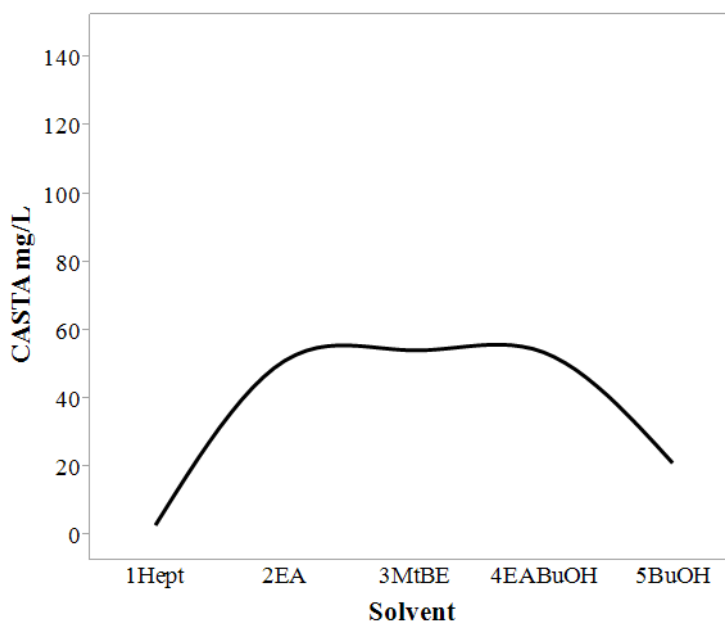


#### 4. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ



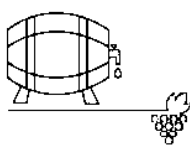
**Διάγραμμα 21:** Μέση συγκέντρωση κασταλαγίνης στα 4 είδη ξύλου. Οι μπάρες δείχνουν το  $\pm$  τυπικό σφάλμα του μέσου όρου των τιμών. Τιμές με διαφορετικά γράμματα ανάμεσα στα ξύλα διαφέρουν στατιστικά μεταξύ τους (Tukey's test,  $p < 0.05$ ).

Στο Διάγραμμα 21 βλέπουμε τις συγκεντρώσεις της CASTA, με την Γαλλική Δρυ να έχει την μεγαλύτερη και την Ακακία την μικρότερη. Τα δύο αυτά δείγματα διαφέρουν μεταξύ τους στατιστικά, ενώ η Αμερικάνικη και η Σλαβόνικη Δρυς δεν διαφέρουν με κανένα άλλο δείγμα.

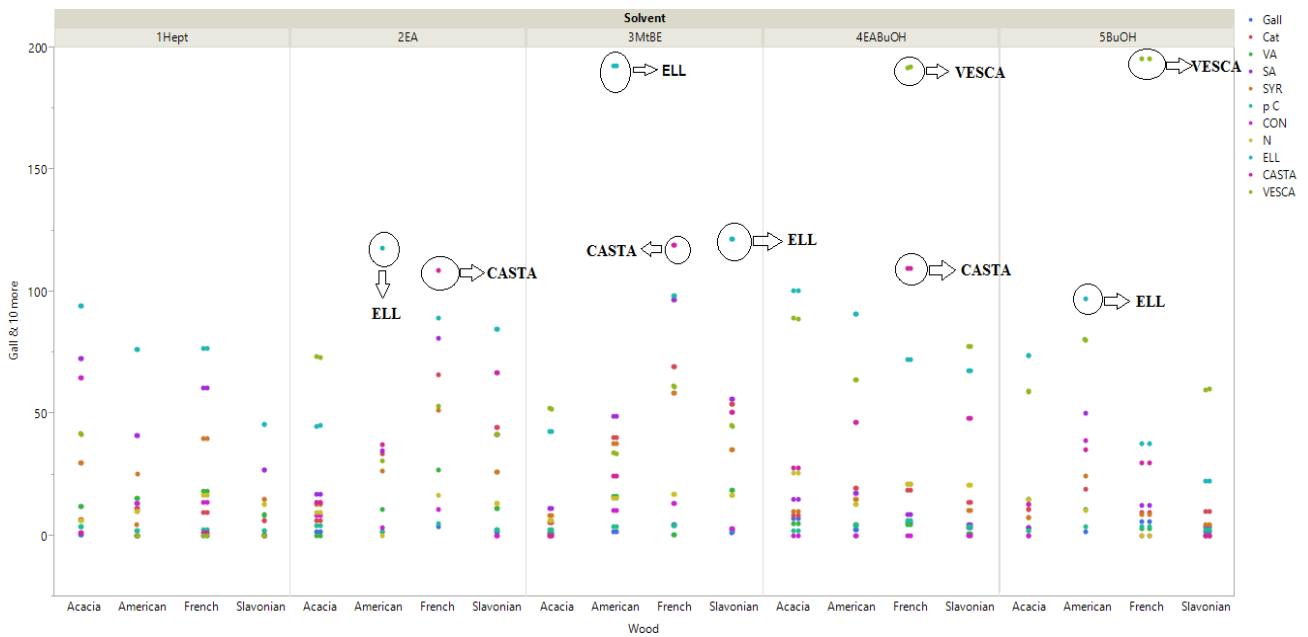


**Διάγραμμα 22:** Συνολική πορεία εκχύλισης CASTA στις διαδοχικές εκχυλίσεις με τους διαλύτες αυξανόμενης πολικότητας για τα τέσσερα είδη ξύλου.

Για την CASTA παρατηρήθηκαν μεγαλύτερες ποσότητες της ένωσης στις εκχυλίσεις με τους μέσης ίσως και μεγαλύτερης πολικότητας διαλύτες. Αξίζει να αναφέρουμε ότι στο κλάσμα του λιγότερου πολικού διαλύτη (επτάνιο) η συγκέντρωση ήταν σχεδόν μηδενική σε όλα τα είδη ξύλου.



## 4. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ



**Γράφημα 2:** Συγκεντρώσεις των ενώσεων που ποσοτικοποιήθηκαν σε mg/L συναρτήσει του ξύλου και των διαλυτών με αυξανόμενη σειρά πολικότητας.

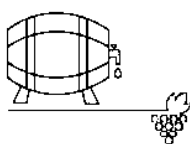
Στο Γράφημα 2 βλέπουμε τη συγκέντρωση των LMWP και ελλαγιταννινών συνολικά, συναρτήσει του ξύλου και των διαλυτών με σειρά αυξανόμενης πολικότητας. Παρατηρούμε ότι η γενική εικόνα που παρουσιάζουν οι εκχυλίσσεις είναι μεγαλύτερες συγκεντρώσεις στα πολικότερα κλάσματα. Η CASTA, VESCA και ELL είναι αυτά που υπάρχουν σε μεγαλύτερες περιεκτικότητες απ' όλες τις ενώσεις που ποσοτικοποιήθηκαν, και σε όλες τις περιπτώσεις στη Δρυ. Το ELL στο δείγμα Am3, και η VESCA στα δείγματα F4 και F5 είναι αυτά που είχαν τις μεγαλύτερες εκχυλίσσεις και τελικά συγκεντρώσεις όπως φαίνεται και στο πιο πάνω γράφημα.

### 4.2 Αποτελέσματα ολφακτομετρίας

Ο ποιοτικός προσδιορισμός των πτητικών συστατικών των εκχυλισμάτων που εξετάστηκαν έδωσε τα κάτωθι αποτελέσματα. Τα αποτελέσματα από τις έξι συνολικά επαναλήψεις για το κάθε είδος ξύλου (3 επαναλήψεις ανά διαλύτη x 2 διαλύτες για κάθε ξύλο) συνοψίζονται στον Πίνακα 6.

Ο χρόνος κατά τον οποίο ένα άρωμα ή μια οσμή άρχισε να γίνεται αντιληπτή από τον αναλυτή αναγράφεται σαν retention time (RT). Στις περιπτώσεις που η ίδια μυρωδιά στις επαναλήψεις γινόταν αντιληπτή σε διαδοχικούς χρόνους αναγράφηκαν σαν χρονικό διάστημα.

Πιο συχνά εντοπίζονταν αρώματα ξύλου, καμένου ξύλου αλλά και μπαχαρικών όπως βανίλια, κανέλα, γαρύφαλλο κτλ, αρώματα δηλαδή που ήταν αναμενόμενα να βρούμε σε εκχυλίσματα ξύλου. Άλλα αρώματα που εντοπίστηκαν όπως θα περιμέναμε ήταν καφές, αρώματα καπνιστού και κα-



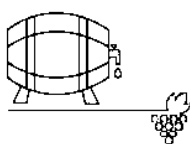
#### 4. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

βουρδισμένου. Ακόμα αναγνωρίστηκαν αρώματα που προδίδουν καραμελοποίηση σακχάρων κατά τη διαδικασία καγιμάτος του ξύλου, όπως καραμέλα και μαλλί της γριάς.

Αντίθετα από τα προαναφερθέντα αναγνωρίστηκαν και κάποιες οσμές κατά τον ποιοτικό προσδιορισμό των πτητικών συστατικών. Τέτοια παραδείγματα είναι η μούχλα, καμένο λάστιχο, βρασμένα λαχανικά, ιδρώτας κ.ο.κ.

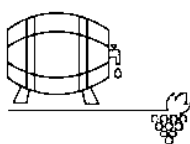
*Πίνακας 6: Αποτελέσματα ποιοτικού προσδιορισμού πτητικών συστατικών με ολφακτομετρία. Παρουσιάζεται η χρονική περίοδος RT) κατά την οποία άρχισε να γίνεται αντιληπτή μια μυρωδιά στις διάφορες επαναλήψεις, με ένδειξη για σε ποίο ξύλο αναφερόμαστε.*

RT	Smell	Acacia	American Oak	French Oak
9.95	τσιχλόφουσκα		✓	
10.10 – 12.53	καμένο ξύλο/σανίδα			✓
10.85	σοκολάτα		✓	
11.0 – 12.8	Βανίλια	✓		
12.53	ξύλο		✓	
12.82 – 14.3	γαρύφαλλο/κανέλα			✓
12.9 – 13.6	βανίλια/γλυκό		✓	
13.67 – 17.9	ξύλο/σανίδα	✓	✓	
14.32	τσιχλόφουσκα			✓
14.50 – 14.68	Ξύλο/σανίδα			✓
15.2	μαλλί της γριάς			✓
15.43	γλυκάνισσος		✓	
15.50 – 16.03	ξερό ξύλο		✓	
15.6	καραμέλα/καφές			✓
16.6	κανέλα		✓	
16.7	μπαχαρικά			✓
17.13 – 17.9	καμένο ξύλο		✓	✓
18.08	μέλι			✓
18.17 – 21.98	καμένο πριονίδι			✓
18.2	μαλλί της γριάς		✓	
18.20 – 19.10	ξύλο		✓	
19.23 – 19.57	μπαχαρικό		✓	
20.10 – 21.82	γαρύφαλλο/γλυκό	✓		
20.55 – 21.4	καραμέλα/καμένη ζάχαρη		✓	
21.5 – 22.3	σκονή		✓	
21.6	φράουλα σορμπέτ			✓
22.30 – 23.67	καμένο ξύλο	✓		
22.55	ούισκι		✓	
22.83	ξύλο/τζάκι		✓	
22.88	πιπέρι			✓
23.08	βρασμένη πατάτα		✓	
23.53	μέντα-δυσόσμος τσίχλα			✓
23.82	Βούτυρο	✓		
24.13	τσιχλόφουσκα - φράουλα		✓	
24.22	καπνός/στάχτη	✓		
24.53	πιπέρι		✓	



#### 4. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

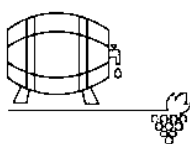
25.20 – 26.22	ρούμι/γλυκό ροδάκινο	✓	
26.39 – 28.52	ξύλο Light κάψιμο	✓	
26.55 – 26.65	κατάψυξη/μούχλα		✓
26.87 – 27.90	ξύλο/σανίδα	✓	
27.47	βανίλια		✓
27.93	σάπια φύλλα εσπεριδοειδών	✓	
28.37	Θειούχες ενώσεις		✓
28.57	βρεγμένο άχυρο		✓
28.78	πράσινο ξύλο/βλαστός	✓	
29.10 – 30.35	Καμένο ξύλο		✓
29.25	βρασμένα λαχανικά		✓
29.5	φρέσκο ξύλο	✓	
29.95 – 30.15	γαρύφαλλο		✓
30.55	φουντούκια		✓
30.68 – 31.25	ξύλο light κάψιμο	✓	
30.82 – 32.00	καμένο ξύλο/τζάκι/καφές		✓
31.27	αντισηπτικό/διαλύτες	✓	
31.4	μούχλα	✓	
31.72	λεμόνι υγρό πιάτων		✓
32.13	ποπ κορν	✓	
32.68	καφές/μόκκα	✓	
32.75 – 33.4	καμένο λάστιχο		✓
33.32	πριονίδι	✓	
33.48	ρούμι		✓
33.53	μαλλί της γριάς	✓	
33.82	καμένο ξύλο		✓
33.83	φρέσκος καπνός		✓
34	βραστή πατάτα		✓
34.18 – 34.4	διαλύτης		✓
34.22	πιπέρι λευκό	✓	
34.9 – 35.95	φρέσκο ξύλο	✓	
34.95 – 35.45	καβουρδισμένο		✓
35.9	στάβλος		✓
36.02 – 36.68	μαρμελάδα (μανταρίνι)		✓
36.7	δέρμα-παπούτσια		✓
36.72 – 37.6	βανίλια/γλυκό	✓	
36.76	αμυγδαλωτό		✓
37.00 – 38.10	κρουασάν βουτύρου/μπισκότο		✓
38.15	καμένο ξύλο		✓
38.45	στάβλος	✓	
38.6	σέλα		✓
39.12 – 41.1	πορτοκάλι	✓	✓
39.43	γλυκό		✓
39.52	κάστανο βραστό	✓	
39.58	ρούμι		✓
39.9	μοσχοκάρυδο		✓
39.98 – 40.17	διαλύτης/ acetone		✓



#### 4. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

40.18 – 41.52	γαρύφαλλο			✓
41.15	ψημένο κάστανο/ξηροί καρποί	✓		
41.53 – 42.15	μπαχάρι/ξύλο			✓
41.53	μαστίχα		✓	
41.78 – 42.72	ρούμι/κονιάκ/ξηροί καρποί	✓		
41.83	σιρόπι/κανέλα		✓	
42.30 – 42.7	φρούτα/λουλούδια/λεμονανθοί			✓
42.7 - 44.48	καμένο ξύλο	✓	✓	✓
43.28 – 43.50	σκόνη		✓	
43.58 – 44.28	θειούχες/βραστή πατάτα		✓	
44.17	δέντρα, φύλλα	✓		
44.52	βρεγμένο άχυρο	✓		
44.6 – 45.48	καμένο λάστιχο			✓
45.2 - 45.77	καμένο ξύλο	✓	✓	
45.68 - 45.8	τσιχλα-φρούτα/ αποξηραμένο βερίκοκο			✓
46.36 – 47.32	καμένο πριονίδι			✓
47.08	Μαύρο πιπέρι		✓	
47.15	πράσινο μήλο		✓	
47.47 – 50.22	διαλύτης/μέντα	✓		
48.22 – 48.47	ιδρώτας			✓
48.43 – 48.75	αλκοόλ/απόσταγμα		✓	
48.62	καμένο ξύλο			✓
48.75 – 50.88	διαλύτης-καυστικό			✓
49.17	αλκοόλες		✓	
49.19 – 49.42	φρούτα-μαρμελάδες/γλυκά		✓	
49.85 – 51.10	καμένο ξύλο		✓	
50.95	καπνός τσιγάρου			✓
51.23 – 51.30	πιπεριά			✓
51.42 – 52.68	σκόνη			✓
51.82	χαμομήλι	✓		
52.72	σιρόπι φράουλα	✓		
53.02	σκόνη/τσιμέντο	✓		





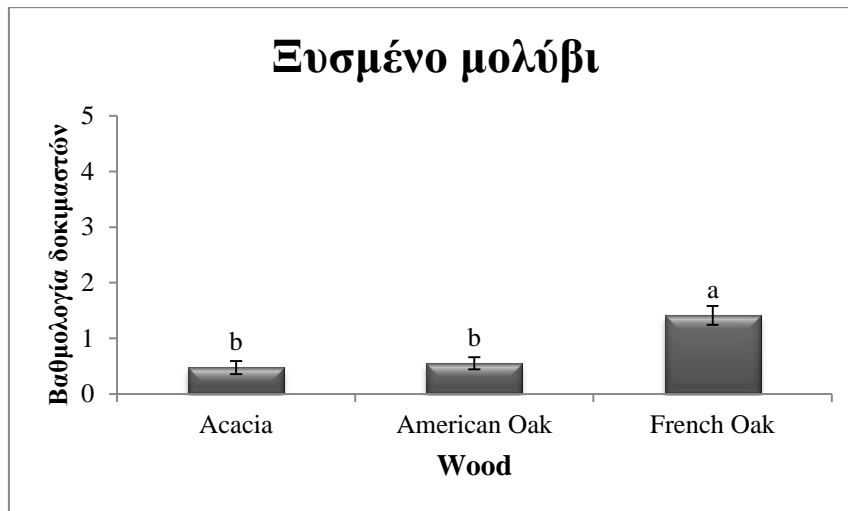
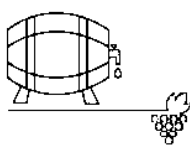
### 4.3 Αποτελέσματα οσφρητικής αξιολόγησης

Οι αναλυτικοί μέσοι όροι για κάθε είδος ξύλου παρατίθενται στον Πίνακα III του Παραρτήματος, για στατιστικές διαφορές έγινε έλεγχος με το Tukey's test,  $p < 0.05$ .



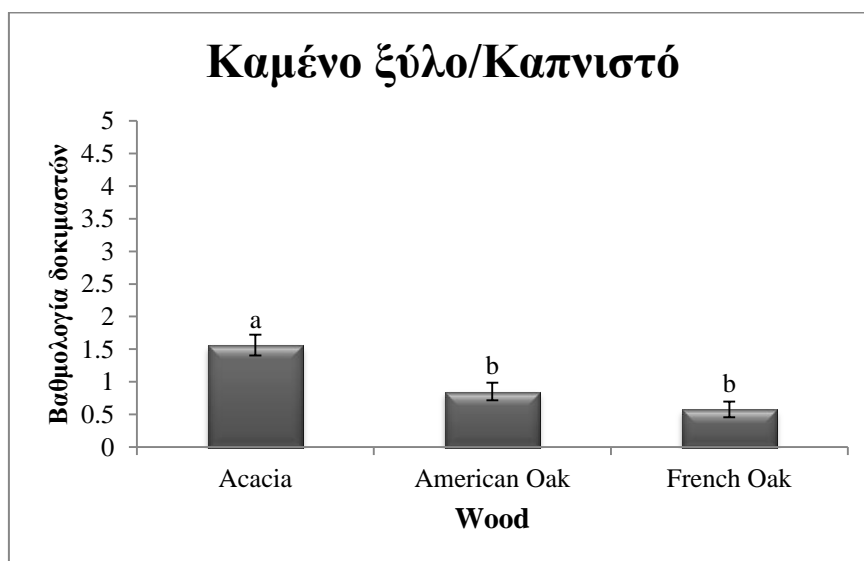
*Διάγραμμα 23: Αποτελέσματα οσφρητικής αξιολόγησης των διαλυμάτων που προέκυψαν από ξήρανση και επαναδιαλυτοποίηση των εκχυλισμάτων.*

Σύμφωνα με τους δοκιμαστές πιο έντονο ήταν το άρωμα αποξηραμένων φρούτων αλλά και κανέλας/γαρύφαλλου στην Αμερικάνικη Δρυ και λιγότερο έντονο στην Γαλλική. Ενώ ανάμεσα στο κάθε ξύλο τα δείγματα στα οποία αναγνωρίστηκε πιο έντονο το άρωμα αποξηραμένων φρούτων ήταν εκείνα από τα πιο πολικά αρχικά εκχυλίσματα, σε αντίθεση με την κανέλα/γαρύφαλλο. Όπως φαίνεται και στο πιο πάνω διάγραμμα τα αρώματα μοσχοκάρυδου, βανίλιας, καρύδας αλλά και ξυσμένου μολυβιού ήταν εντονότερα στην Γαλλική Δρυ και ασθενέστερα στην Ακακία με το τελευταίο μόνο να παρουσιάζει στατιστική διαφορά (Διάγραμμα 13) μεταξύ της Γαλλικής Δρύος και των άλλων δύο ξύλων. Ανάμεσα στα διαλύματα του κάθε ξύλου οι δοκιμαστές για όλα τα αρώματα έδωσαν μεγαλύτερη βαθμολογία σ' αυτά χαμηλής πολικότητας (πλην του μοσχοκάρυδου στην Ακακία).

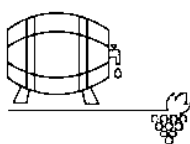


**Διάγραμμα 24:** Μέσος όρος βαθμολογίας των δοκιμαστών για το άρωμα ξυσμένου μολυβιού. Οι μπάρες δείχνουν το  $\pm$  τυπικό σφάλμα του μέσου όρου των τιμών. Τιμές με διαφορετικά γράμματα ανάμεσα στα ξύλα διαφέρουν στατιστικά μεταξύ τους (Tukey's test,  $p < 0.05$ ).

Η καραμέλα και η μαύρη σοκολάτα είχαν ελάχιστες διαφορές στους τελικούς μέσους όρους των συγκρινόμενων ξύλων. Τον μεγαλύτερο μέσο όρο στην καραμέλα είχε η Ακακία και τον μικρότερο η Γαλλική Δρυς, και τα τρία ξύλα βαθμολογήθηκαν με πιο έντονο άρωμα καραμέλας στα μικρής πολικότητας εκχυλίσματα. Η μαύρη σοκολάτα από την άλλη συγκέντρωσε μεγαλύτερη βαθμολογία στην Γαλλική Δρυ και μικρότερη στην Αμερικάνικη, χωρίς όμως να έχει παρουσιάσει συγκεκριμένο προφίλ ανάμεσα στα δείγματα ίδιων ξύλων. Τους μεγαλύτερους μέσους όρους βαθμολογιών απ'όλες τις επαναλήψεις συγκέντρωσαν τα αρώματα καμένου (Διάγραμμα 14) και φρέσκου (Διάγραμμα 15) ξύλου.

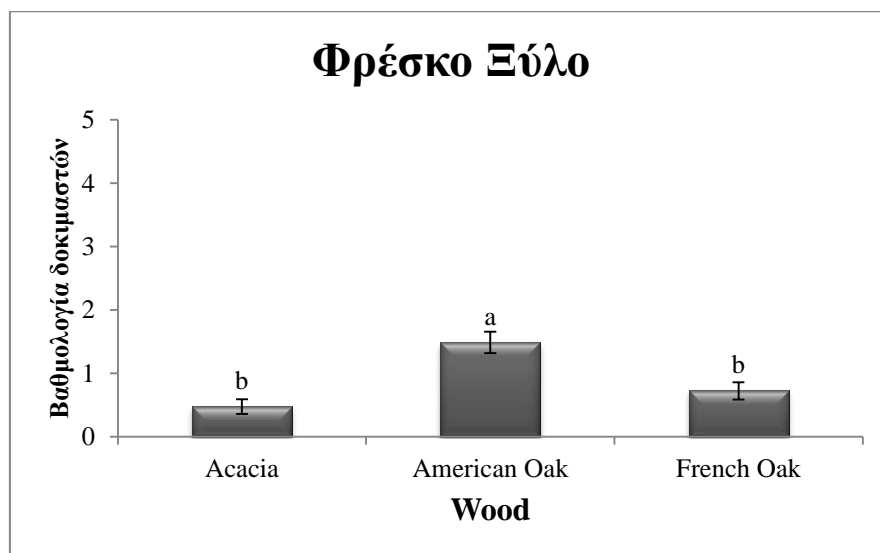


**Διάγραμμα 25:** Μέσος όρος βαθμολογίας των δοκιμαστών για το άρωμα καμένου ξύλου/καπνιστού. Οι μπάρες δείχνουν το  $\pm$  τυπικό σφάλμα του μέσου όρου των τιμών. Τιμές με διαφορετικά γράμματα ανάμεσα στα ξύλα διαφέρουν στατιστικά μεταξύ τους (Tukey's test,  $p < 0.05$ ).



#### 4. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

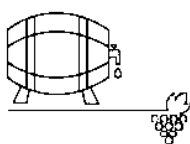
Τα δείγματα της Ακακίας διέφεραν στατιστικά με τα υπόλοιπα δείγματα σε επίπεδο σημαντικότητας 0.05%. Η Ακακία ήταν αυτή που χαρακτηρίστηκε με το εντονότερο άρωμα καμένου ξύλου και η Γαλλική Δρυς με το ασθενέστερο. Στην Ακακία τα δείγματα ανεξαρτήτως πολικότητας είχαν παρόμοια βαθμολογία, ενώ τα δείγματα Δρυός και στις δύο περιπτώσεις συγκέντρωσαν υψηλότερες βαθμολογίες στα λιγότερο πολικά εκχυλίσματα.



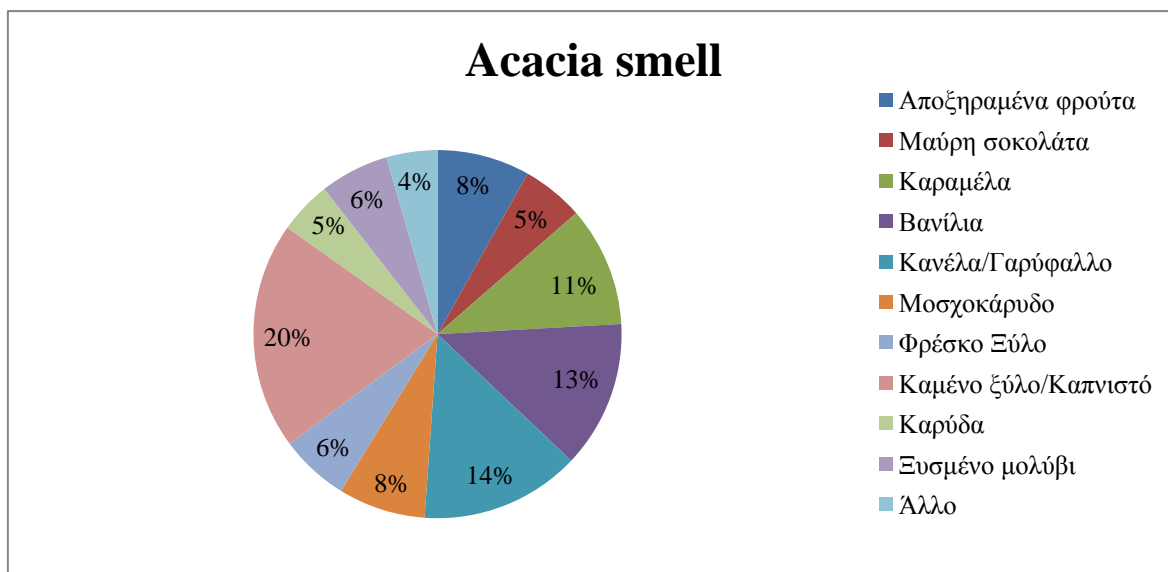
**Διάγραμμα 26:** Μέσος όρος βαθμολογίας των δοκιμαστών για το άρωμα φρέσκου ξύλου. Οι μπάρες δείχνουν το  $\pm$  τυπικό σφάλμα του μέσου όρου των τιμών. Τιμές με διαφορετικά γράμματα ανάμεσα στα ξύλα διαφέρουν στατιστικά μεταξύ τους (Tukey's test,  $p < 0.05$ ).

Σύμφωνα με τους δοκιμαστές το φρέσκο ξύλο ήταν πιο αισθητό στην Αμερικάνικη Δρυ και λιγότερο στην Ακακία. Η Αμερικάνικη Δρυς στην στατιστική ανάλυση έδειξε να διαφέρει στατιστικά ως προς το συγκεκριμένο άρωμα από τα άλλα δύο ξύλα. Η Δρυς και πάλι παρουσιάζει ίδιο προφίλ ανάμεσα στα εκχυλίσματα κάθε ξύλου, με αυτά που ήταν χαμηλότερης πολικότητας κατά τις εκχυλίσεις να έχουν μεγαλύτερο μέσο όρο βαθμολογιών σε αντίθεση με την Ακακία.

Επιπρόσθετα οι δοκιμαστές ρωτήθηκαν αν μπορούν να εντοπίσουν άλλα αρώματα εκτός των καταγεγραμμένων και να τα βαθμολογήσουν. Αν και συνολικά δεν καταγράφηκαν πολλά αρώματα τα περισσότερα βρέθηκαν στην Ακακία. Αναφέρθηκαν αρώματα όπως καφές, κονιάκ και ούισκι.

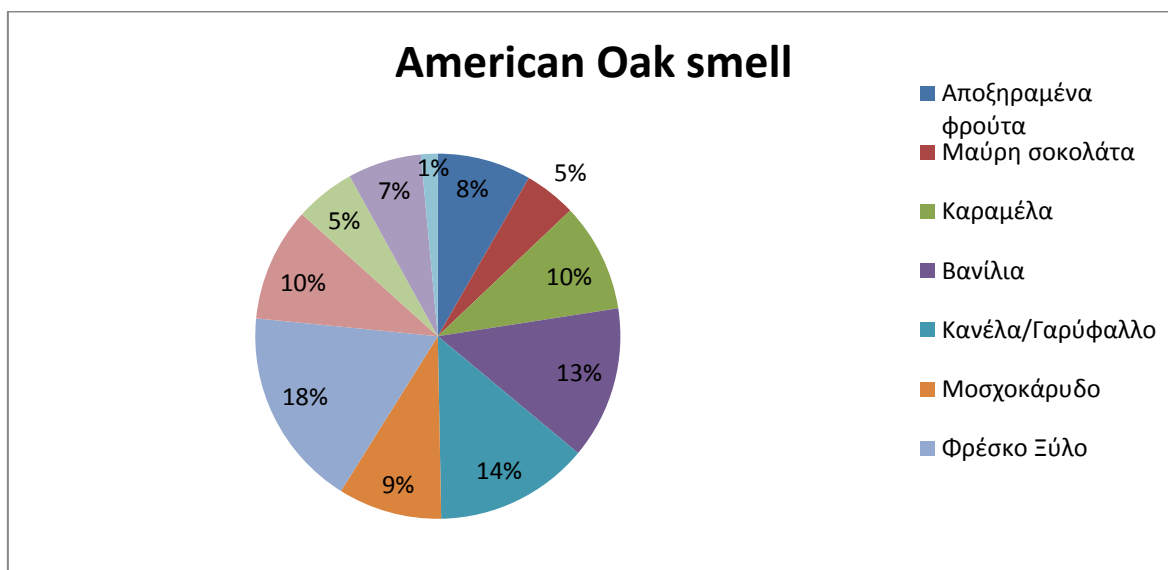


## 4.3.1 Αποτελέσματα ανά ξύλο



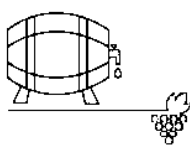
*Διάγραμμα 27: Συνολικά αποτελέσματα εκφρασμένα επί τοις % οσφρητικής αξιολόγησης για τα δείγματα από ξύλο Ακακίας.*

Βλέποντας τα αποτελέσματα ανά ξύλο διαπιστώνουμε πως στην Ακακία τα περισσότερα αισθητά αρώματα ήταν αυτά του καμένου ξύλου, κανέλας γαρύφαλλου και βανίλιας. Αντίθετα το άρωμα φρέσκου ξύλου, ξυσμένου μολυβιού, καρύδας και μαύρης σοκολάτας δεν ήταν τόσο έντονα.

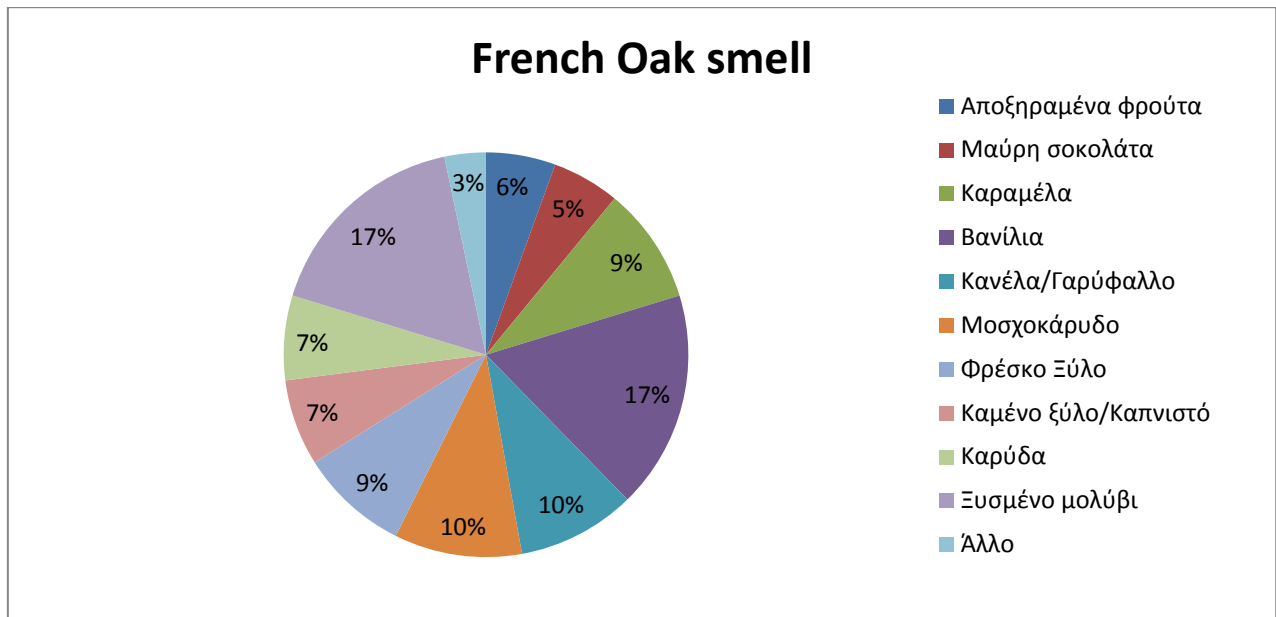


*Διάγραμμα 28: Συνολικά αποτελέσματα εκφρασμένα επί τοις % οσφρητικής αξιολόγησης για τα δείγματα από ξύλο Αμερικάνικης Δρυός.*

Στην Αμερικάνικη Δρυ σύμφωνα πάντα με τους δοκιμαστές πιο έντονα ήταν τα αρώματα Φρέσκου ξύλου και όπως και στην προηγούμενη περίπτωση κανέλας/γαρύφαλλου και βανίλιας. Τα ασθενέστερα αρώματα ήταν αυτά του ξυσμένου μολυβιού, της καρύδας αλλά και της μαύρης σοκολάτας.

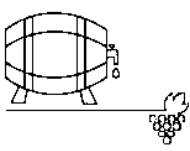


#### 4. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ



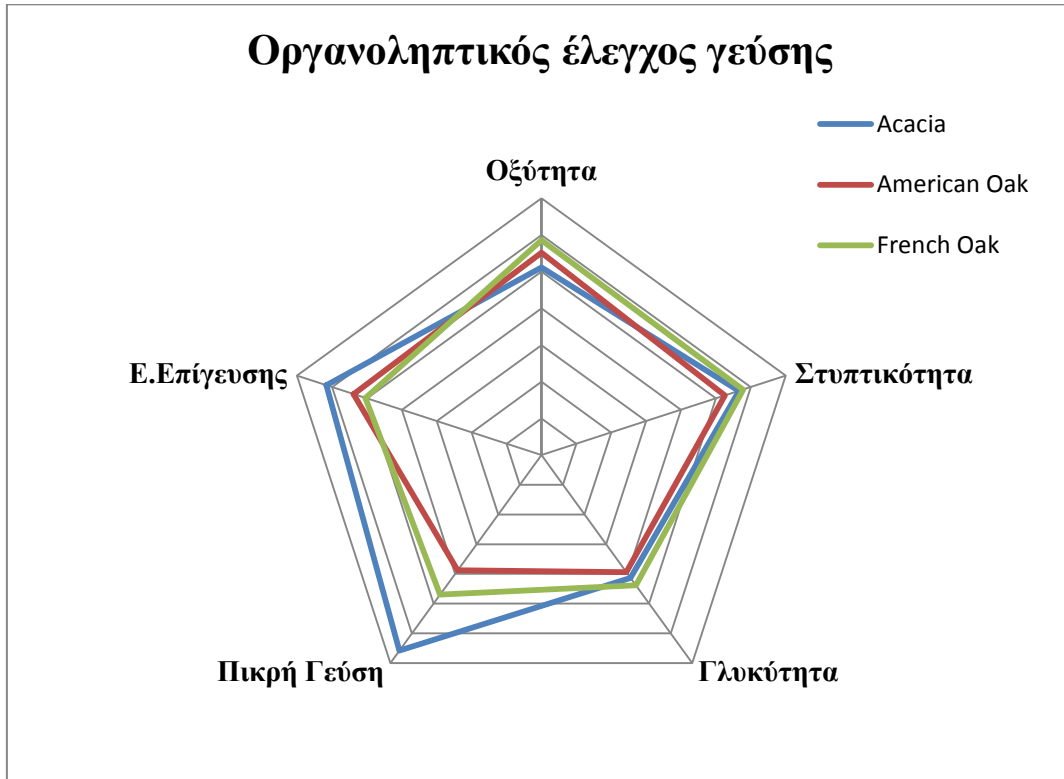
*Διάγραμμα 29:* Συνολικά αποτελέσματα εκφρασμένα επί τοις % οσφρητικής αξιολόγησης για τα δείγματα από ξύλο Γαλλικής Δρυός.

Τα δείγματα της Γαλλικής Δρυός χαρακτηρίζαν περισσότερο τα αρώματα Βανίλιας και ξυσμένου μολυβιού, ενώ λιγότερο του καμένου ξύλου, καρύδας, μαύρης σοκολάτας και αποξηραμένων φρούτων.



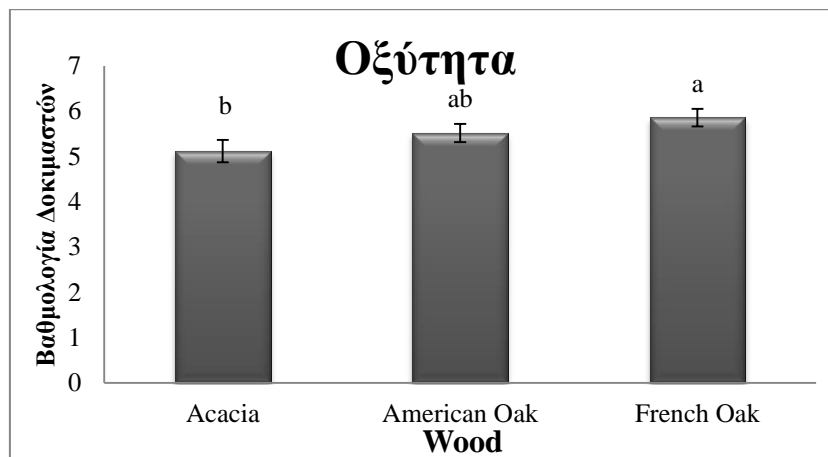
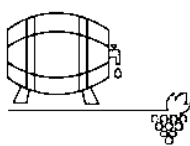
#### 4.4 Αποτελέσματα γευστικής αξιολόγησης

Οι αναλυτικοί μέσοι όροι για κάθε είδος ξύλου παρατίθενται στον Πίνακα IV του Παραρτήματος, για τις στατιστικές διαφορές έγινε έλεγχος με το Tukey's test,  $p < 0.05$ .



*Διάγραμμα 30: Αποτελέσματα γευστικής αξιολόγησης των διαλυμάτων που προέκυψαν από ξήρανση, επαναδιαλυτοποίηση και αρραίωση σε Model Wine των εκχυλισμάτων.*

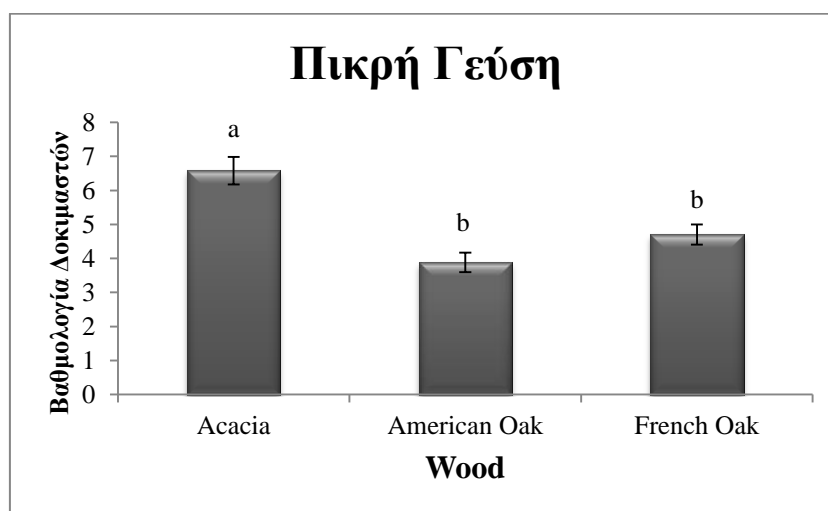
Σύμφωνα με τη βαθμολογία των δοκιμαστών τα δείγματα Γαλλικής Δρυός είχαν τη μεγαλύτερη οξύτητα ενώ της Ακακίας την μικρότερη, και διέφεραν μεταξύ τους στατιστικά ενώ η Αμερικάνικη Δρυς δεν παρουσίασε στατιστική διαφορά με κανένα. Ανάμεσα στη δείγματα ίδιου ξύλου δεν υπήρχαν ιδιαίτερες διαφορές.



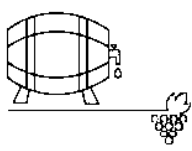
**Διάγραμμα 31:** Μέσος όρος βαθμολογίας των δοκιμαστών για την οξύτητα. Οι μπάρες δείχνουν το  $\pm$  τυπικό σφάλμα του μέσου όρου των τιμών. Τιμές με διαφορετικά γράμματα ανάμεσα στα ξύλα διαφέρουν στατιστικά μεταξύ τους (Tukey's test,  $p < 0.05$ ).

Ακόμα η Γαλλική Δρυς βαθμολογήθηκε ως το ξύλο με την μεγαλύτερη στυπτικότητα και απροσδόκητα με την μεγαλύτερη γλυκύτητα. Ενώ και στις δύο περιπτώσεις τις χαμηλότερες βαθμολογίες είχε η Αμερικάνικη Δρυς. Μεταξύ των δειγμάτων ίδιου ξύλου αν και δεν παρουσίασαν κάποιο ιδιαίτερο προφίλ, τα εκχυλίσματα με πολικότερους διαλύτες χαρακτηρίστηκαν πιο στυπτικά. Όσον αφορά τη γλυκύτητα ήταν πιο έντονη στα εκχυλίσματα μέτριας πολικότητας, χωρίς μεγάλες διακυμάνσεις στη βαθμολογία τους.

Τους μεγαλύτερους μέσους όρους για την πικρή γεύση και παρουσιάζοντας μάλιστα στατιστική διαφορά και από τα δύο άλλα ξύλα συγκέντρωσε η Ακακία, η οποία με την αύξηση της πολικότητας των εκχυλισμάτων έδειξε και μία απότομη αύξηση της πικρής γεύσης. Η Αμερικάνικη Δρυς είχε τους χαμηλότερους μέσους όρους χωρίς να φαίνεται κάποια συγκεκριμένη σχέση μεταξύ πολικότητας διαλυτών και έντασης της πικρής γεύσης. Το ίδιο ισχύει και για την Γαλλική Δρυ.

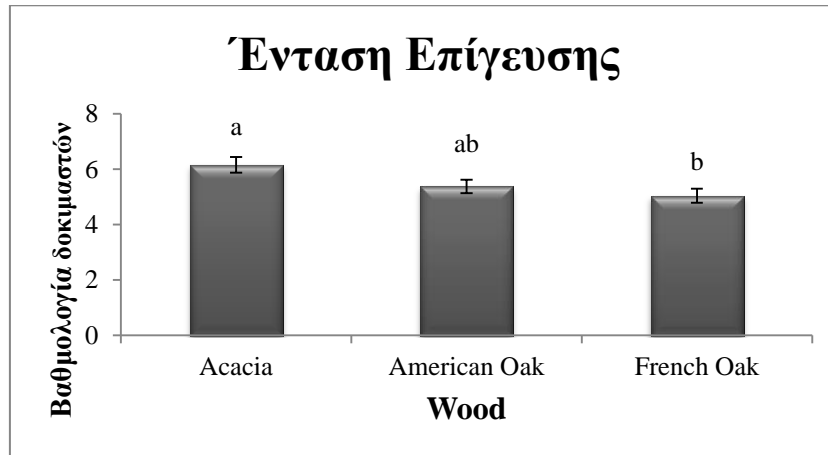


**Διάγραμμα 32:** Μέσος όρος βαθμολογίας των δοκιμαστών για την πικρή γεύση. Οι μπάρες δείχνουν το  $\pm$  τυπικό σφάλμα του μέσου όρου των τιμών. Τιμές με διαφορετικά γράμματα ανάμεσα στα ξύλα διαφέρουν στατιστικά μεταξύ τους (Tukey's test,  $p < 0.05$ ).



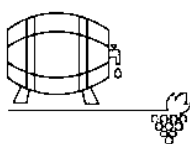
#### 4. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Τέλος την μεγαλύτερη ένταση επίγευσης, πιθανόν λόγο και της έντονης πικρής γεύσης, είχε σύμφωνα με τους δοκιμαστές και πάλι η Ακακία, ενώ την μικρότερη η Γαλλική Δρυς. Τα δύο αυτά ξύλα παρουσίασαν μεταξύ τους στατιστική διαφορά σε επίπεδο σημαντικότητας 0.05%, με την Αμερικάνικη Δρυ να μην παρουσιάζει στατιστική διαφορά με κανένα.



**Διάγραμμα 33:** Μέσος όρος βαθμολογίας των δοκιμαστών για την ένταση της επίγευσης. Οι μπάρες δείχνουν το  $\pm$  τυπικό σφάλμα του μέσου όρου των τιμών. Τιμές με διαφορετικά γράμματα ανάμεσα στα ξύλα διαφέρουν στατιστικά μεταξύ τους (Tukey's test,  $p < 0.05$ ).



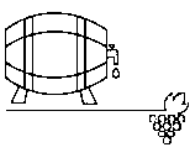


## 5. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Σκοπός της παρούσας μελέτης είναι ο ποιοτικός και ο ποσοτικός προσδιορισμός συστατικών της γεύσης και του αρώματος ειδών ξύλου, και σύγκριση αυτών. Τέσσερα είδη ξύλου, Γαλλική, Αμερικάνικη, Σλαβόνικη Δρυς και Ακακία, υποβλήθηκαν σε εκχύλιση υγρού/στερεού με υδραλκοολικό διάλυμα 50% v/v και ακολούθησε κλασματοποίηση αυτών με διαδοχικές εκχυλίσεις. Το κάθε κλάσμα αφού υποβλήθηκε σε εξάτμιση με χρήση αζώτου μέχρι ξηρού, επαναδιαλυτοποιήθηκε σε υδραλκοολικό διάλυμα. Δείγματα από το καθένα υποβλήθηκαν σε αναλύσεις HPLC, ολφακτομετρίας και οργανοληπτικού ελέγχου από εκπαιδευμένους δοκιμαστές. Έτσι πετύχαμε τον προσδιορισμό των συστατικών που μας ενδιέφεραν και εξετάσαμε την επίδραση που μπορεί να έχουν στον οργανοληπτικό χαρακτήρα ενός αποστάγματος. Παράλληλα έγινε σύγκριση των αποτελεσμάτων για το κάθε ξύλο για να διαπιστώσουμε τυχόν διαφορές. Με τα αποτελέσματα που προέκυψαν από τις προαναφερθείσες αναλύσεις οδηγούμαστε στα κάτωθι συμπεράσματα.

Κατά την διάρκεια των εκχυλίσεων τα κλάσματα των πολικότερων διαλυτών ήταν αυτά που είχαν τις μεγαλύτερες τιμές συγκεντρώσεων για κάποια συστατικά. Οι περιεκτικότητες που ξεχώρισαν όντας μάλιστα αρκετά υψηλότερες από τις υπόλοιπες, ήταν του ELL στο κλάσμα του MtBE και της VESCA στους δύο πολικότερους διαλύτες EA:BuOH και BuOH. Παρ' όλα αυτά τα κλάσματα διαλυτών μεσαίας/μικρής πολικότητας, δηλαδή EA και MtBE, ήταν αυτά που σε μία γενική εικόνα ήταν πιο πλούσια στα συστατικά που μελετούσαμε αν και δεν είχαν για όλα τις μεγαλύτερες συγκεντρώσεις. Πιο συγκεκριμένα για τα CAT, VA, SA, SYR, CON και ELL το ποσοστό εκχύλισης παρουσίασε μέγιστο σ' αυτά τα εκχυλίσματα και ακολούθως είτε υπήρχε μείωση του ποσοστού εκχύλισης του συστατικού ή απουσία του γεγονός που μας οδηγεί στο συμπέρασμα ότι είχαμε πετύχει το μέγιστο της εκχύλισης στο σημείο αυτό. Οι υπόλοιπες ενώσεις GAL, pC, N, CASTA και VESCA είχαν το μέγιστο της εκχύλισης στους πιο πολικούς διαλύτες. Σχεδόν σε όλα τα κλάσματα, τις μεγαλύτερες συγκριτικά συγκεντρώσεις είχαν τα εξής συστατικά: ELL, VESCA, CASTA ενώ σε ορισμένες περιπτώσεις και το SA. Οδηγούμαστε λοιπόν στο συμπέρασμα ότι για μελέτη των ελλαγιταννινών θα ήταν καλύτερη μια εκχύλιση με πιο πολικούς διαλύτες ενώ για τα LMWP με κάποιους μέτριας πολικότητας εξασφαλίζοντας έτσι το μέγιστο της εκχύλισης του καθενός.

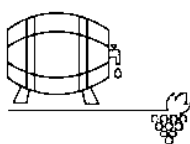
Η Γαλλική Δρυς είναι το ξύλο το οποίο είχε τις μεγαλύτερες συγκεντρώσεις στα περισσότερα φαινορικά μικρού μοριακού βάρους και πιο συγκεκριμένα στα CAT, SA, SYR και pC. Επίσης είχε την μεγαλύτερη περιεκτικότητα σε ελλαγιταννίνες, VESCA και CASTA. Τα LMWP (εκτός της CAT) αποτελούν ενώσεις οι οποίες προέρχονται από μετατροπές των μονομερών που συνθέτουν την λιγνίνη και συναντώνται επίσης σε αποστάγματα οίνων τα οποία παλαιώνουν σε δρύινα βαρέλια. (Serghei Cernîs, 2017). Η λιγνίνη και τα μονομερή της υπόκεινται σε αποικοδομήσεις και οξειδώ-



## 5. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

σεις με την βοήθεια και του οξυγόνου της ατμόσφαιρας δίνοντας μας τις ενώσεις αυτές, αλλά και μία από τις μορφές των υδροξυβενζοϊκών οξέων που συναντάμε στο ξύλο (Εικόνα I, Παράρτημα). Το γεγονός αυτό σε συνδυασμό με το γεγονός ότι οι VESCA και CASTA συνθέτονται από εστεροποιήσεις με υδροξυβενζοϊκά οξά μας οδηγούν στο συμπέρασμα ότι η Γαλλική Δρυς πιθανόν να έχει και μεγαλύτερα ποσοστά λιγνίνης από τα υπόλοιπα ξύλα που μελετήθηκαν. Σύμφωνα με τους Sanz M., *et al.*, 2012 σε μια σύγκριση μεταξύ της Ακακίας και της Γαλλικής Δρυός η δεύτερη ήταν αυτή που είχε τις μεγαλύτερες συγκεντρώσεις σε CAT, VA, SA και pC, αλλά τις μικρότερες σε GA και EA. Η μελέτη αυτή αφορούσε εκχύλιση σε διάλυμα μικρότερου αλκοολικού βαθμού και τα αποτελέσματα μας είχαν μεγάλες διαφορές σε απόλυτες τιμές, πράγμα το οποίο είναι λογικό, παρατηρούμε όμως ότι συγκριτικά τα αποτελέσματα μας συμφωνούν με την βιβλιογραφία με εξαιρέσεις το EA και το pC. Η διαφορά στο EA είναι πιθανόν να οφείλεται σε κάποιο ποσοστό υδρόλυσης των ελλαγιταννινών που περιέχονταν στα δείγματα μας. Σε μία ακόμη σύγκριση με την βιβλιογραφία σε ότι αφορά την Γαλλική Δρυ, αυτή τη φορά χρησιμοποιούμενη για παλαίωση αποσταγμάτων, τα LMWP που προέρχονται από την λιγνίνη παρουσίασαν επίσης υψηλότερες τιμές. Το γεγονός αυτό ίσως να οφείλεται στις υψηλότερες θερμοκρασίες που είχαμε κατά την εκχύλιση υγρού/στερεού, αλλά και στη μορφή που είχαμε τα ξύλα αφού η εκχύλιση είναι μεγαλύτερη και γρηγορότερη στα chips ξύλου απ' ότι στο βαρέλι (Κοτσερίδης Γ., 2014).

Η Αμερικάνικη Δρυς παρουσίασε υψηλότερες περιεκτικότητες σε VA και ELL. Η Ακακία από την άλλη έδειξε να έχει τις μεγαλύτερες συγκεντρώσεις σε GAL, CON και τις μικρότερες συγκεντρώσεις σε SYR, SA, VA και CASTA. Η CON και το VA επίσης προέρχονται από τις μετατροπές της λιγνίνης, και βλέπουμε πως η Ακακία από όλα τα LMWP έχει σε μεγαλύτερη περιεκτικότητα την CON, έτσι μπορούμε να οδηγηθούμε σε δύο συμπεράσματα. Πρώτον ότι η Ακακία (non Oak) έχει μικρότερα ποσοστά λιγνίνης από τα ξύλα Δρυός και δεύτερον έχει σε μεγαλύτερο ποσοστό conifer-yl alcohol ως δομική μονάδα της λιγνίνης. Ακόμη στα δείγματα Ακακίας εντοπίστηκαν ελλαγιταννίνες (κυρίως VESCA) των οποίων η παρουσία δεν ήταν βέβαιη, αλλά και VA που συνήθως δεν εντοπιζόταν στο ξύλο της Ακακίας. Σε δημοσίευση τους οι Fernandez de Simon B., *et al.*, 2014 συγκρίνοντας μεταξύ τους φαινολικές ενώσεις σε ερυθρό οίνο μετά από χρήση 5 διαφορετικών ξύλων ανάμεσα τους Δρυς και Ακακία δεν εντόπισαν VA στην δεύτερη, τα συγκριτικά αποτελέσματα τους πάντως συμφωνούν με τα δικά μας σε μεγαλύτερο ποσοστό. Η Σλαβόνικη Δρυς μας έδωσε κατά κύριο λόγο ένα μέτριο προφίλ, έχοντας σε ορισμένες περιπτώσεις τις χαμηλότερες περιεκτικότητες (pC, ELL, CON), ενώ σε καμία περίπτωση δεν είχε την υψηλότερη συγκέντρωση σε κάποια από τις ενώσεις που θέλαμε να προσδιορίσουμε. Γι' αυτό το λόγο τα δείγματα της δεν υποβλήθηκαν στις

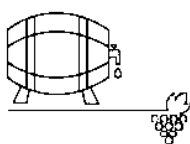


## 5. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

υπόλοιπες αναλύσεις. Στατιστικές διαφορές υπάρχουν μόνο ανάμεσα στην Ακακία και την Γαλλική Δρυ για τις ενώσεις CASTA, SYR και CAT, ενώ τα άλλο δύο είδη Δρυός δεν διαφέρουν με κανένα.

Κατά τον ποιοτικό προσδιορισμό των πτητικών ενώσεων των εκχυλισμάτων με ολφакτομετρία τα αποτελέσματα που πήραμε ήταν σχετικά αναμενόμενα. Εντοπίστηκαν κυρίως αρώματα φρέσκου ξύλου που προέρχεται από τα λιπίδια αλλά και καμένου που οφείλεται στις φουρανικές αλδεύδες από τα σάκχαρα που συναντάμε στο ξύλο. Επιπρόσθετα καταγράφηκαν αρώματα καπνιστού, πιπεράτου, καβουρδισμένου και μπαχαρικών όπως για παράδειγμα το γαρύφαλλο (ευγενόλη) και η βανίλια (βανιλίνη) τα οποία οφείλονται σε πτητικές φαινόλες και φαινολικές αλδεύδες αντίστοιχα που προέρχονται από την λιγνίνη (Κοτσερίδης Γ., 2014). Ιδιαίτερη εντύπωση έκανε το γεγονός δεν καταγράφηκε άρωμα καρύδας (μεθυλ-οκτολακτόνη) ούτε καν στα δείγματα Αμερικάνικης Δρυός όπως αναμενόταν από την βιβλιογραφία αφού η Αμερικάνικη Δρυς χαρακτηρίζεται από τα μεγαλύτερα ποσοστά της μεθυλ-οκτολακτόνης σε αντιπαραβολή με την Γαλλική Δρυ (Glabasnia A., *et al.*, 2006; Miller D.P., *et al.*, 1992). Ακόμα κατά την ολφакτομετρία καταγράφηκαν αρώματα που οφείλονται σε καραμελοποίηση των σακχάρων του ξύλου όπως μαλλί τις γριάς και καραμέλας, σε όλα τα ξύλα. Οι περισσότερες οσμές καταγράφηκαν στα δείγματα Αμερικάνικης Δρυός και τέτοιες αποτελούσαν η μυρωδιά στάβλου, σέλας, βρασμένης πατάτας και θειούχων ενώσεων. Τέλος μία ακόμη οσμή που προκάλεσε ιδιαίτερη εντύπωση κατά την ανάλυση ήταν αυτή του «καμένου λάστιχου» στην Γαλλική Δρυ.

Τα αποτελέσματα της οσφρητικής αξιολόγησης των δειγμάτων από εκπαιδευμένη ομάδα δοκιμαστών συμφωνεί με υπόλοιπα αποτελέσματα της μελέτης. Το άρωμα καρύδας συγκέντρωσε εξαιρετικά χαμηλούς μέσους όρους σε όλα τα είδη ξύλου, ενώ τους υψηλότερους μέσους όρους είχε το άρωμα καμένου ξύλου. Το άρωμα καμένου ξύλου ήταν πιο έντονο στην Ακακία η οποία διέφερε και στατιστικά ( $p < 0.05$ ) ως προς αυτό με τα δύο άλλα ξύλα. Τα άλλα πιο έντονα αρώματα ήταν αυτό του φρέσκου ξύλου στην Αμερικάνικη Δρυ η οποία είχε στατιστική διαφορά σε επίπεδο σημαντικότητας 0.05% από τα άλλα δύο ξύλα αλλά και το ξυσμένο μολύβι που ήταν πιο έντονο στην Γαλλική Δρυ αυτή τη φορά με την ίδια να διαφέρει στατιστικά ως προς αυτό από τα άλλα δύο ξύλα. Το άρωμα γαρύφαλλου/κινέλας δεν είχε μεγάλες διαφορές ανάμεσα στα ξύλα πράγμα που συμφωνεί με την βιβλιογραφία αφού αναφέρεται ότι αρχικά η Γαλλική Δρυς έχει σχεδόν διπλάσιες ποσότητες ευγενόλης αλλά κατά την ωρίμανση (seasoning) του ξύλου παρουσιάζονται σχεδόν ίδιες ποσότητες με την Αμερικάνικη Δρυ (Sefton M.A., *et al.*, 1993). Ακόμα η Γαλλική Δρυς χαρακτηρίστηκε με εντονότερο άρωμα βανίλιας ενώ η Ακακία με το λιγότερο έντονο, γεγονός που συμφωνεί με το συμπέρασμα ότι η Γαλλική Δρυς πιθανόν να έχει μεγαλύτερο ποσοστό λιγνίνης και η Ακακία λιγότερο, αφού το άρωμα βανίλιας οφείλετε στην βανιλίνη η οποία είναι παράγωγο ενός μονομε-

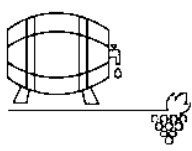


## 5. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

ρούς της λιγνίνης. Ακόμη αυτό συνάδει με το γεγονός ότι η Ακακία είχε τη μεγαλύτερη συγκέντρωση CON αλλά την μικρότερη VA άρα η μετατροπή είχε σταματήσει και δεν πήραμε ικανοποιητικές συγκεντρώσεις του ενδιάμεσου σταδίου, που είναι ο σχηματισμός βανιλίνης. Σε ότι αφορά τα κλάσματα τα περισσότερα αρώματα που εξετάστηκαν (γαρύφαλλο/ κανέλα, μοσχοκάρυδο, φρέσκο και καμένο ξύλο, καρύδα, ξυσμένο μολύβι) ήταν πιο έντονα στα πρώτα και ακολούθως μειωνόταν η έντασή τους, ενώ τα υπόλοιπα (αποξηραμένα φρούτα, μαύρη σοκολάτα, καραμέλα) ήταν πιο έντονα στα τελευταία ή/και μεσαία κλάσματα.

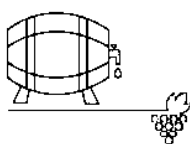
Τέλος η γευστική δοκιμή από το εκπαιδευμένο πάνελ μας έδωσε κάποια ενδιαφέροντα αποτελέσματα. Η Γαλλική Δρυς έχει πιο όξινη γεύση διαφέροντας μάλιστα στατιστικά από την Ακακία ως προς αυτό αλλά και μεγαλύτερη στυπτικότητα. Το γεγονός αυτό είναι σε αρμονία με τα αποτελέσματα της HPLC αφού τα φαινολικά οξέα έχουν πιο όξινη γεύση και οι ελλαγιτανίνες είναι στυπτικές, ενισχύοντας ταυτόχρονα ακόμη περισσότερο την οξύτητα εξηγώντας ταυτόχρονα και το γεγονός ότι ως προς την οξύτητα η Ακακία και η Γαλλική Δρυς είχαν στατιστική διαφορά σε επίπεδο σημαντικότητας 0.05%. Το ξύλο από Γαλλική Δρυ παρουσιάζει σύμφωνα με τους δοκιμαστές και πιο γλυκιά γεύση από τα υπόλοιπα χωρίς όμως να διαφέρει στατιστικά. Αξιοσημείωτο είναι πως η Ακακία συγκέντρωσε τις μεγαλύτερες βαθμολογίες από τους δοκιμαστές για την πικρή γεύση, διαφέροντας μάλιστα στατιστικά και με τα δύο άλλα είδη Δρυός. Το αποτέλεσμα αυτό συμφωνεί και πάλι με τα αποτελέσματα της HPLC αφού τα δείγματα Ακακίας είχαν τις μεγαλύτερες συγκεντρώσεις τόσο GAL όσο και N τα οποία έχουν πικρή γεύση σύμφωνα με τα μέχρι τώρα βιβλιογραφικά δεδομένα (Ribéreau- Gayon P., et al., 2000, Clark R. J. And Bakker J., 2004). Η πικρή αυτή γεύση ήταν που έκανε τους δοκιμαστές να έχουν μεγαλύτερη διάρκεια επίγευσης για το ξύλο της Ακακίας. Μιλώντας τώρα για τα κλάσματα είδαμε μια τάση αύξησης της πικρής γεύσης και της στυπτικότητας στα τελευταία, ενώ τα υπόλοιπα (γλυκύτητα, στυπτικότητα, ένταση επίγευσης) είχαν μικρές διαφορές ανάμεσα τους χωρίς να παρουσιάζουν κάποιο ιδιαίτερο προφίλ.

Συμπερασματικά, τα ξύλα που παρουσίασαν μεταξύ τους κάποιες, λίγες θα μπορούσαμε να πούμε, στατιστικές διαφορές ήταν κυρίως η Ακακία και η Γαλλική Δρυς. Για βελτιστοποίηση των αποτελεσμάτων της μελέτης αυτής και για μία καλύτερη και πιο σαφή εικόνα για το αν η Ακακία μπορεί να χρησιμοποιηθεί στην βαρελοποιία δίνοντας τα κατάλληλα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά θα μπορούσαν να πραγματοποιηθούν ακόμα περισσότερες επαναλήψεις των πειραμάτων συγκρίνοντας αποκλειστικά το ξύλο της Γαλλικής Δρυός και της Ακακίας. Προσθέτοντας μάλιστα και μια ανάλυση αέριας χρωματογραφίας για ταυτοποίηση των πτητικών που εντοπίστηκαν στα δείγματα των ξύλων μας και παρουσίασαν ιδιαίτερο ενδιαφέρον. Παράλληλα για μια πιο εμπειρισταωμένη άποψη οι αναλύσεις θα μπορούσαν να πραγματοποιηθούν και σε εκχυλίσματα τα οποία προέκυψαν από



## 5. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

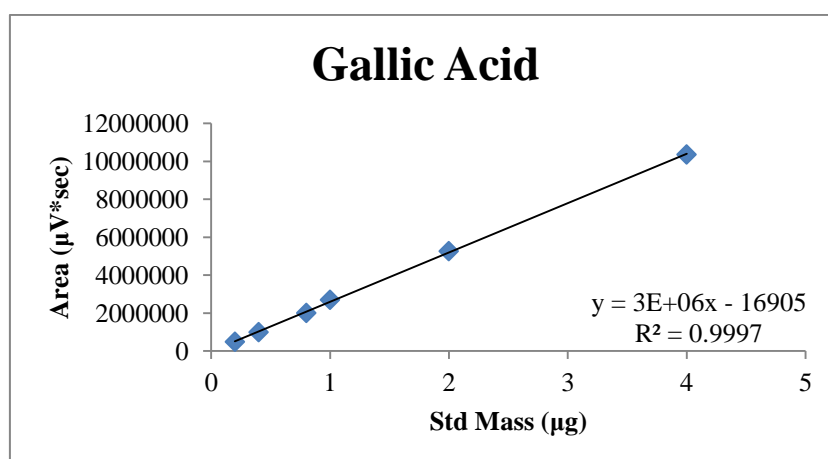
αρχική εκχύλιση με διαλύτη μικρότερου αλκοολικού βαθμού και σύγκριση των δύο, αφού είναι πιθανόν η μικρότερη συγκέντρωση αιθανόλης να οδηγήσει σε μικρότερα ποσοστά εκχύλισης των συστατικών που προσέδιδαν στα ξύλα μας αυτές τις οργανοληπτικές διαφορές.



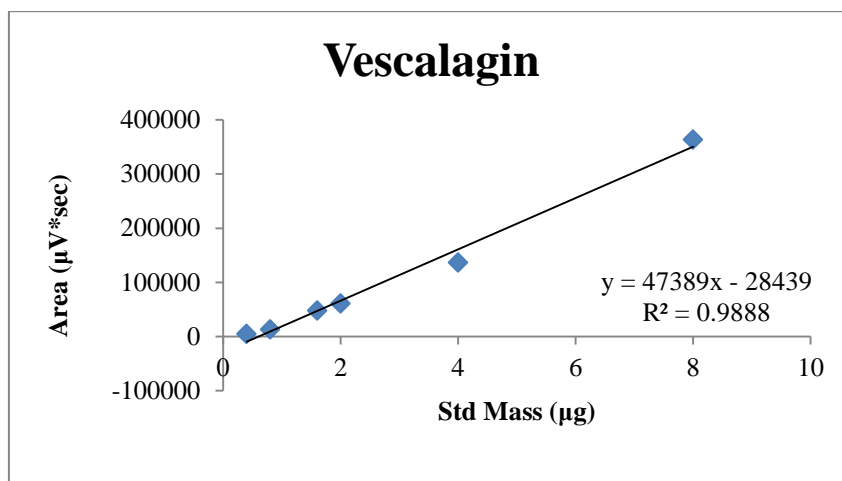
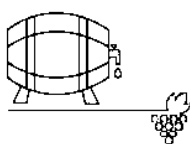
## 6. ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ

**ΠΙΝΑΚΑΣ I:** Πίνακας με τους χρόνους έκλυσης της κάθε ένωσης όπως προέκυψαν από τα πρότυπα διαλύματα. Το Retention time, προκύπτει από τον μέσο όρο των χρόνων εμφάνισης της κορυφής του κάθε συστατικού στις διάφορες συγκεντρώσεις.

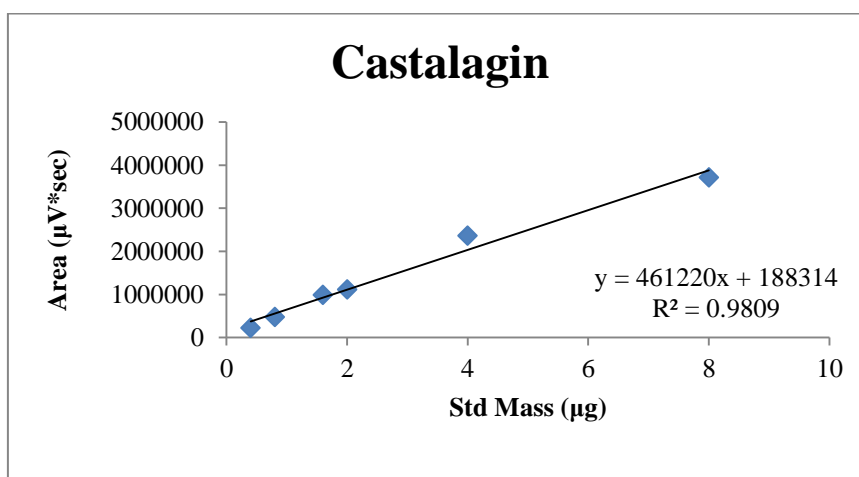
	Name	Retention Time (min)
1	Gallic Acid	12.970
2	Castalagin	15.293
3	Vescalagin	15.346
4	(+)-Catechin	23.425
5	Vanillic Acid	26.896
6	Syringic Acid	28.796
7	Syringaldehyde	30.616
8	p-Coumaric Acid	32.946
9	Coniferaldehyde	34.920
10	Naringin	36.431
11	Ellagic Acid	41.660



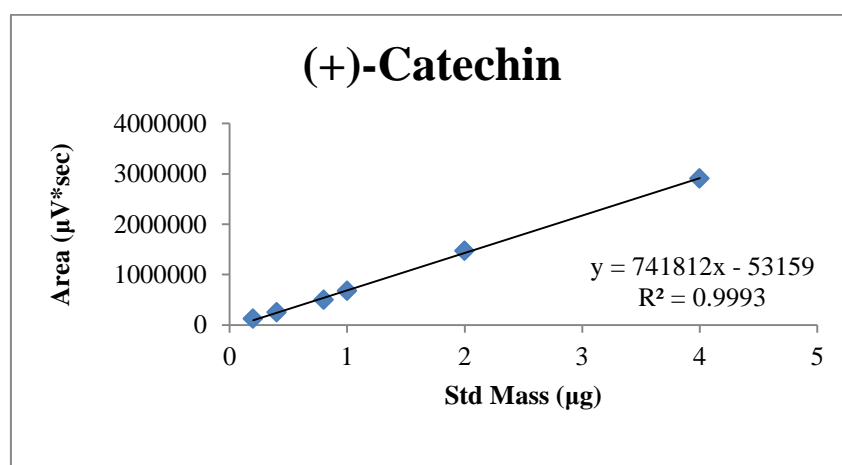
**Γραφική I:** Πρότυπη καμπύλη συγκέντρωσης Γαλλικού οξέος συναρτήσει του εμβαδού της κορυφής όπως προέκυψε από τα πρότυπα διαλύματα διαφορετικών-γνωστών συγκεντρώσεων μετά από ανάλυση και ολοκλήρωση στην HPLC.



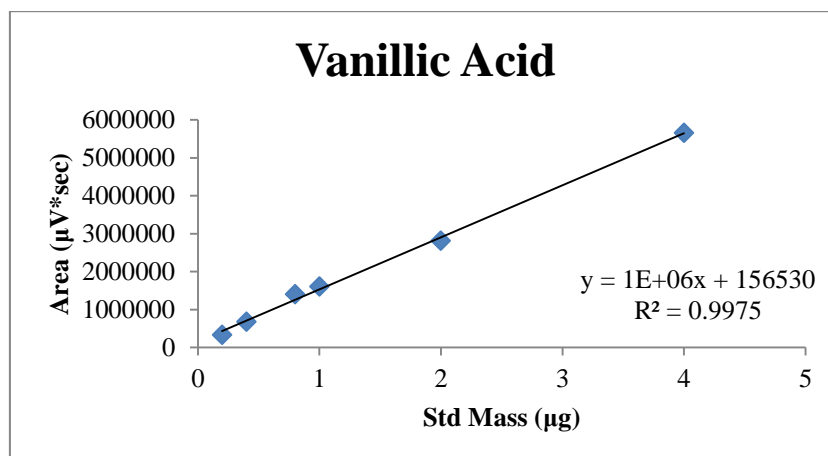
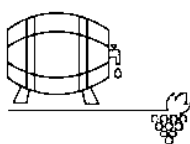
**Γραφική II:** Πρότυπη καμπύλη συγκέντρωσης βεσκαλαγίνης συναρτήσει του εμβαδού της κορυφής όπως προέκυψε από τα πρότυπα διαλύματα διαφορετικών-γνωστών συγκεντρώσεων μετά από ανάλυση και ολοκλήρωση στην HPLC.



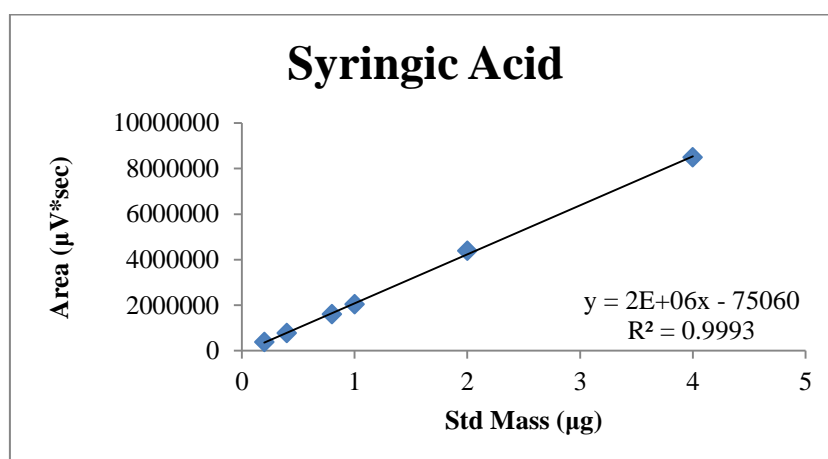
**Γραφική III:** Πρότυπη καμπύλη συγκέντρωσης κασταλαγίνης συναρτήσει του εμβαδού της κορυφής όπως προέκυψε από τα πρότυπα διαλύματα διαφορετικών-γνωστών συγκεντρώσεων μετά από ανάλυση και ολοκλήρωση στην HPLC.



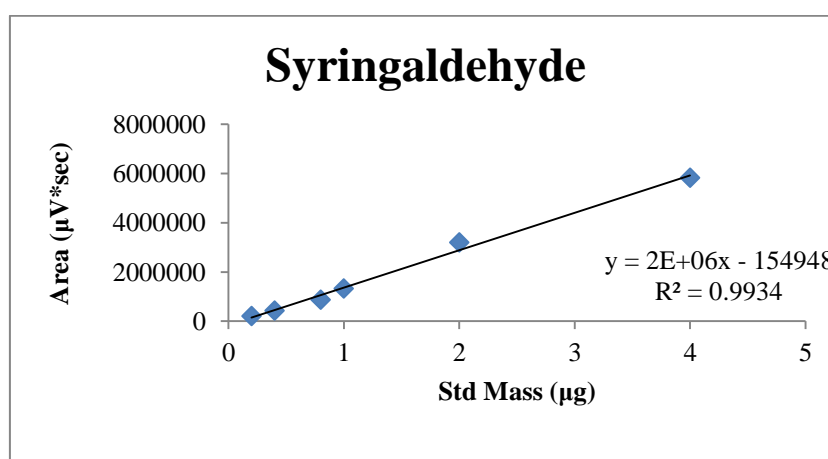
**Γραφική IV:** Πρότυπη καμπύλη συγκέντρωσης (+)-κατεχίνης συναρτήσει του εμβαδού της κορυφής όπως προέκυψε από τα πρότυπα διαλύματα διαφορετικών-γνωστών συγκεντρώσεων μετά από ανάλυση και ολοκλήρωση στην HPLC.



**Γραφική V:** Πρότυπη καμπύλη συγκέντρωσης βανιλικού οξέος συναρτήσει του εμβαδού της κορυφής όπως προέκυψε από τα πρότυπα διαλύματα διαφορετικών-γνωστών συγκεντρώσεων μετά από ανάλυση και ολοκλήρωση στην HPLC.

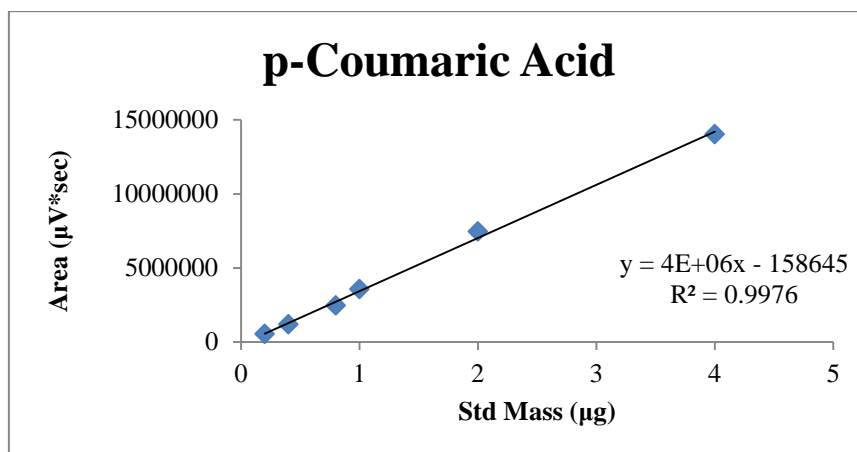
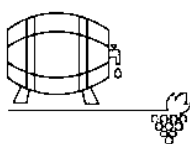


**Γραφική VI:** Πρότυπη καμπύλη συγκέντρωσης συριγγικού οξέος συναρτήσει του εμβαδού της κορυφής όπως προέκυψε από τα πρότυπα διαλύματα διαφορετικών-γνωστών συγκεντρώσεων μετά από ανάλυση και ολοκλήρωση στην HPLC.

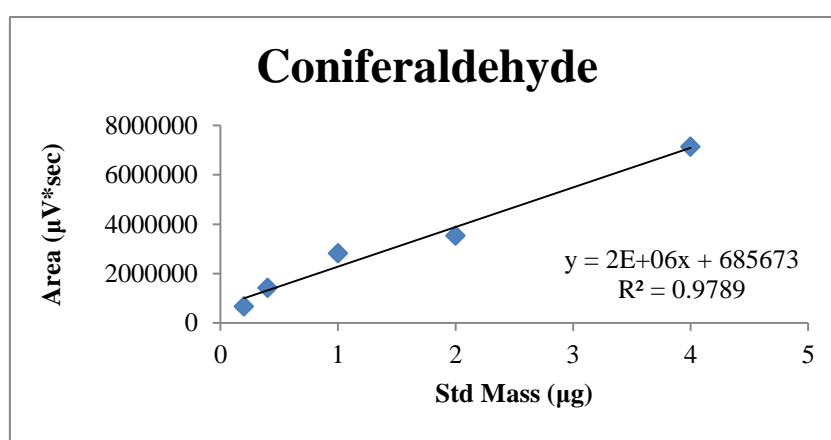


**Γραφική VII:** Πρότυπη καμπύλη συγκέντρωσης συριγγαλδεΐδης συναρτήσει του εμβαδού της κορυφής όπως προέκυψε από τα πρότυπα διαλύματα διαφορετικών-γνωστών συγκεντρώσεων μετά από ανάλυση και ολοκλήρωση στην HPLC.

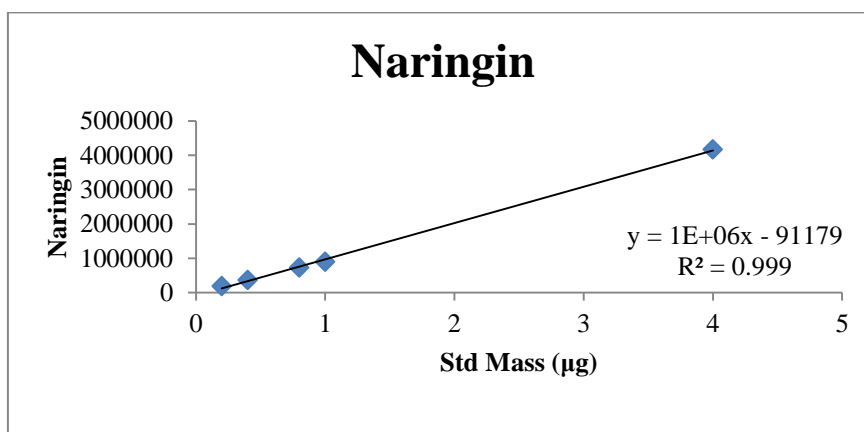




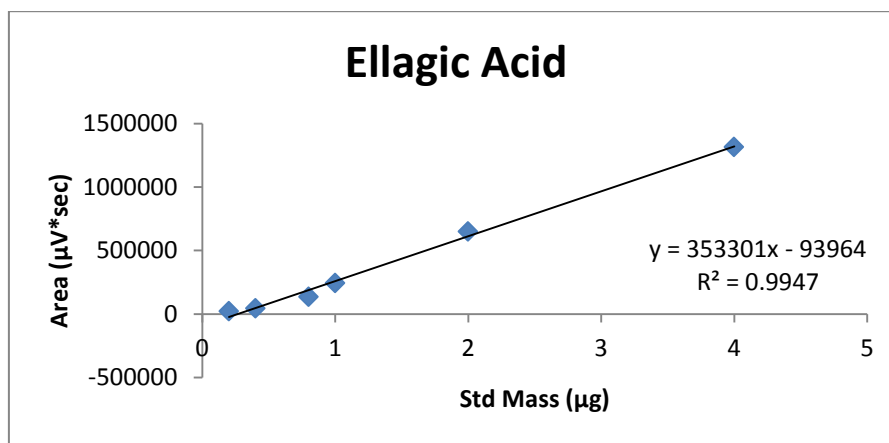
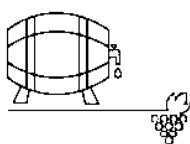
**Γραφική VIII:** Πρότυπη καμπύλη συγκέντρωσης p-κουμαρικού οξέος συναρτήσει του εμβαδού της κορυφής όπως προέκυψε από τα πρότυπα διαλύματα διαφορετικών-γνωστών συγκεντρώσεων μετά από ανάλυση και ολοκλήρωση στην HPLC.



**Γραφική IX:** Πρότυπη καμπύλη συγκέντρωσης κονιφεραλδεΐδης συναρτήσει του εμβαδού της κορυφής όπως προέκυψε από τα πρότυπα διαλύματα διαφορετικών-γνωστών συγκεντρώσεων μετά από ανάλυση και ολοκλήρωση στην HPLC.



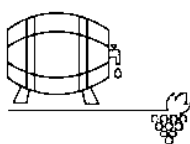
**Γραφική X:** Πρότυπη καμπύλη συγκέντρωσης ναρινγκίνης συναρτήσει του εμβαδού της κορυφής όπως προέκυψε από τα πρότυπα διαλύματα διαφορετικών-γνωστών συγκεντρώσεων μετά από ανάλυση και ολοκλήρωση στην HPLC.



**Γραφική XI:** Πρότυπη καμπύλη συγκέντρωσης Ελλαγικού οξέος συναρτήσεως του εμβαδού της κορυφής όπως προέκυψε από τα πρότυπα διαλύματα διαφορετικών-γνωστών συγκεντρώσεων μετά από ανάλυση και ολοκλήρωση στην HPLC

**ΠΙΝΑΚΑΣ II:** Αναλυτικά αποτελέσματα ανάλυσης HPLC, μέσος όρος της κάθε ένωσης συναρτήσεως με το είδος ξύλου μαζί με την τυπική απόκλιση. Με διαφορετικό γράμμα παρουσιάζονται τα δείγματα που είχαν στατιστική διαφορά ( Tukey's Test  $p < 0.05$ ) μεταξύ αποτελεσμάτων για την ίδια ένωση.

	Acacia	American Oak	French Oak	Slavonian Oak
<b>GAL</b>	4.40 ± 1.5812 a	1.36 ± 0.2110 a	3.21 ± 0.7060 a	1.56 ± 0.2599 a
<b>CAT</b>	6.95 ± 0.5719 b	23.64 ± 3.0123 a,b	28.79 ± 84046 a	25.36 ± 5.3688 a,b
<b>VA</b>	3.50 ± 1.2715 a	9.88 ± 1.5771 a	8.75 ± 3.0607 a	7.33 ± 1.9518 a
<b>SA</b>	21.11 ± 7.0790 a	34.63 ± 4.1880 a	43.39 ± 11.3470 a	25.21 ± 5.6820 a
<b>SYR</b>	12.55 ± 2.4224 b	21.59 ± 2.9994 a,b	30.23 ± 6.3750 a	17.07 ± 3.1340 a,b
<b>pC</b>	2.65 ± 0.29046 a	2.86 ± 0.26995 a	3.49 ± 0.59294 a	2.41 ± 0.20118 a
<b>CON</b>	12.18 ± 7.1603 a	10.95 ± 4.0411 a	6.24 ± 1.9039 a	0.4678 ± 0.3154 a
<b>N</b>	11.79 ± 2.0676 a	9.34 ± 1.4367 a	11.78 ± 2.5582 a	11.74 ± 2.0003 a
<b>ELL</b>	66.70 ± 7.2620 a	102.51 ± 14.0270 a	64.31 ± 9.1110 a	63.87 ± 9.7600 a
<b>VESCA</b>	58.57 ± 5.471 a	34.73 ± 8.9920 a	83.58 ± 24.5140 a	41.69 ± 7.3710 a
<b>CASTA</b>	9.20 ± 3.0360 b	27.01 ± 4.5530 a,b	61.39 ± 15.6900 a	30.82 ± 7.7900 a,b

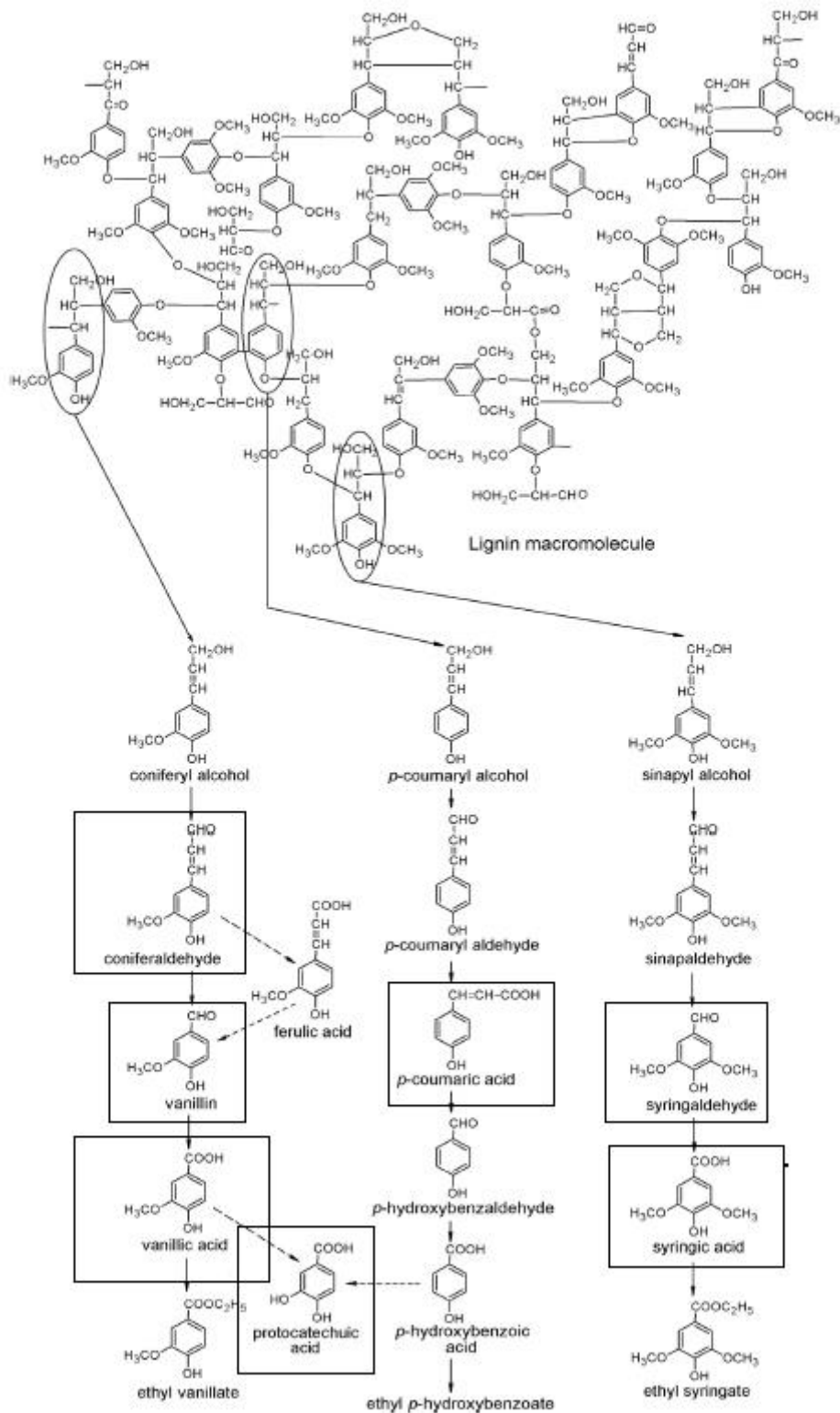
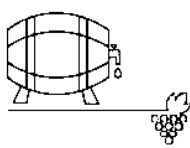


**ΠΙΝΑΚΑΣ III:** Αναλυτικά αποτελέσματα οσφρητικής αξιολόγησης. Ο μέσος όρος για το κάθε άρωμα ανά είδος ξύλου μαζί με την τυπική απόκλιση. Με διαφορετικό γράμμα παρουσιάζονται τα δείγματα που είχαν στατιστική διαφορά ( Tukey's Test  $p < 0.05$ ) μεταξύ αποτελεσμάτων για το ίδιο άρωμα.

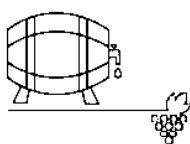
	Acacia	American Oak	French Oak
<b>Αποξηραμένα φρούτα</b>	0.64 ± 0.12734 a	0.70 ± 0.12754 a	0.46 ± 0.10958 a
<b>Μαύρη σοκολάτα</b>	0.43 ± 0.09375 a	0.39 ± 0.09328 a	0.45 ± 0.11652 a
<b>Καραμέλα</b>	0.83 ± 0.13868 a	0.81 ± 0.13442 a	0.78 ± 0.15403 a
<b>Βανίλια</b>	1.013 ± 0.10598 a	1.14 ± 0.1375 a	1.45 ± 0.14659 a
<b>Κανέλα/Γαρύφαλλο</b>	1.10 ± 0.13265 a	1.15 ± 0.1562 a	0.79 ± 0.1598 a
<b>Μοσχοκάρυδο</b>	0.60 ± 0.12273 a	0.78 ± 0.13661 a	0.85 ± 0.12591 a
<b>Φρέσκο Ξύλο</b>	0.48 ± 0.11662 b	1.49 ± 0.16969 a	0.73 ± 0.13545 b
<b>Καμένο ξύλο/Καπνιστό</b>	1.56 ± 0.15995 a	0.85 ± 0.1356 b	0.58 ± 0.12036 b
<b>Καρύδα</b>	0.36 ± 0.08938 a	0.45 ± 0.11787 a	0.56 ± 0.13053 a
<b>Ευσμένο μολύβι</b>	0.48 ± 0.11662 b	0.55 ± 0.10952 b	1.41 ± 0.16753 a
<b>Άλλο</b>	0.35 ± 0.11405 a	0.13 ± 0.06745 a	0.28 ± 0.09901 a

**ΠΙΝΑΚΑΣ IV:** Αναλυτικά αποτελέσματα γευστικής αξιολόγησης. Ο μέσος όρος για το κάθε οργανοληπτικό χαρακτηριστικό ανά είδος ξύλου μαζί με την τυπική απόκλιση. Με διαφορετικό γράμμα παρουσιάζονται τα δείγματα που είχαν στατιστική διαφορά ( Tukey's Test  $p < 0.05$ ) μεταξύ αποτελεσμάτων για χαρακτηριστικό.

	Acacia	American Oak	French Oak
<b>Οξύτητα</b>	5.12 ± 0.24849 b	5.52 ± 0.20251 a,b	5.86 ± 0.1938 a
<b>Στυπτικότητα</b>	5.66 ± 0.3412 a	5.26 ± 0.29251 a	5.78 ± 0.26386 a
<b>Γλυκύτητα</b>	4.14 ± 0.27257 a	3.94 ± 0.27167 a	4.38 ± 0.26786 a
<b>Πικρή Γεύση</b>	6.58 ± 0.40516 a	3.88 ± 0.28805 b	4.7 ± 0.29589 b
<b>Ε.Επίγευσης</b>	6.16 ± 0.28336 a	5.38 ± 0.24560 a,b	5.04 ± 0.25549 b

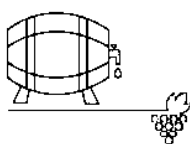


**ΕΙΚΟΝΑ 1:** Μετατροπές των μονομερών της λινγίνης κατά την διάρκεια παλαίωσης αποσταγμάτων και επαφής με το οξυγόνο (Sergei Cernis, 2017).

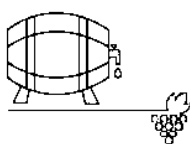


## 7. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Alañón M.E., Castro-Vázquez L., Díaz-Maroto M.C., Gordon M.H., Pérez-Coello M.S., A study of the antioxidant capacity of oak wood used in wine ageing and the correlation with polyphenol composition. *Food Chem.*, 2011, 128, 997–1002.
2. Alonso D.M., Jesse Q., Bond A., James A., Critical Review: Catalytic conversion of biomass to biofuels, Dumesic, 2010.
3. Arapitsas P., Hydrolyzable tannin analysis in food. *Food Chem.*, 2012, 135, 1708–1717.
4. Boulton R., The copigmentation of anthocyanins and its role in the color of red wine: A critical review. *Am. J. Enol. Vitic*, 2001, 52, 67–87.
5. Bravo L., Polyphenols: Chemistry, dietary sources, metabolism, and nutritional significance. *Nutr. Rev.* 1998, 56, 317–333.
6. Cadahía E., Muñoz L., Fernández de Simón B., García-Vallejo M.C., Changes in low molecular weight phenolic compounds in Spanish, French, and American oak woods during natural seasoning and toasting. *J. Agric. Food Chem.*, 2001, 49, 1790–1798
7. Cadahía E., Varea S., Muñoz L., Fernández de Simón B., García-Vallejo M.C., Evolution of ellagitannins in Spanish, French, and American oak woods during natural seasoning and toasting. *J. Agric. Food Chem.*, 2001, 49, 3677–3684.
8. Carrillo J.D., Garrido-López Á., Tena M.T., Determination of volatile oak compounds in wine by headspace solid-phase microextraction and gas chromatography-mass spectrometry. *J. Chromatogr. A* 2006, 1102, 25–36.
9. Cartea M.E., Francisco M., Soengas P., Velasco P., Phenolic compounds in brassica vegetables. *Molecules* 2010, 16, 251–280.
10. Charters S., *Wine and Society*; Butterworth-Heinemann: Oxford, UK, 2006.
11. Chassaing S., Lefeuvre D., Jacquet R., Jourdes M., Ducasse L., Galland S., Grelard A., Saucier C., Teissedre P.L., Dangles O., Physicochemical studies of new anthocyanellagitannin hybrid pigments: About the origin of the influence of oak C-glycosidic ellagitannins on wine color. *Eur. J. Org. Chem.*, 2010, 2010, 55–63.
12. Chatonnet P., Boidron J.N., Dubourdiou D., Pons M., Evolution of oakwood polyphenolic compounds during seasoning. First results. *J. Int. Sci. Vigne Vin*, 1994, 28, 337–357.
13. Chatonnet P., Cutzach I., Pons M., Dubourdiou D., Monitoring toasting intensity of barrels by chromatographic analysis of volatile compounds from toasted oak wood. *J. Agric. Food Chem.*, 1999, 47, 4310–4318.
14. *Chemistry and Biochemistry*; Springer: New York, NY, USA, 2009; pp. 509–527.

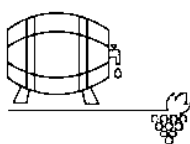


15. Clark R. J. And Bakker J., Wine Flavour Chemistry, Blackwell, 2004, p.108-111
16. Crozier A., Jaganath I.B., Clifford M.N. Phenols, polyphenols and tannins: An overview.
17. Cuyckens F., Claeys M., Mass spectrometry in the structural analysis of flavonoids. *J. Mass Spectrom*, 2004, 39, 1–15.
18. D'Acampora Zellner B., Dugo P., Dugo G., Mondello L., Gas chromatography–olfactometry in food flavour analysis, *J. of Chrom. A*, 2008, 1186 123–143
19. De Simón B.F., Hernández T., Cadahía E., Dueñas M., Estrella I., Phenolic compounds in a Spanish red wine aged in barrels made of Spanish, French and American oak wood. *Eur. Food Res. Technol.* 2003, 216, 150–156.
20. De Simón B.F., Muiño I., Cadahía E., Characterization of volatile constituents in commercial oak wood chips. *J. Agric. Food Chem.* 2010, 58, 9587–9596.
21. Del Alamo Sanza M., Nevares Dominguez I., Cárcel Cárcel L.M., Navas Gracia L., Analysis for low molecular weight phenolic compounds in a red wine aged in oak chips. *Anal. Chim. Acta.*, 2004, 513, 229–237.
22. Deshpande S.S., Sathe S.K., Salunkhe D.K., Chemistry and safety of plant polyphenols. In *Nutritional and Toxicological Aspects of Food Safety*; Plenum Press: New York, NY, USA, 1984; pp. 457–495.
23. Doussot F., de Jéso B., Quideau S., Pardon P., Extractives content in cooperage oak wood during natural seasoning and toasting; Influence of tree species, geographic location, and single-tree effects. *J. Agric. Food Chem.*, 2002, 50, 5955–5961.
24. Eiro M.J., Heinonen M., Anthocyanin color behavior and stability during storage: Effect of intermolecular copigmentation, *J. Agric. Food Chem.*, 2002, 50, 7461–7466.
25. Fernández de Simón B., Cadahía E., Conde E., García-Vallejo M.C., Low molecular weight phenolic compounds in spanish oak woods. *J. Agric. Food Chem.*, 1996, 44, 1507–1511.
26. Fernández de Simón B., Cadahía E., Conde E., García-Vallejo M.C., Evolution of phenolic compounds of Spanish oak wood during natural seasoning. First results. *J. Agric. Food Chem.*, 1999, 47, 1687–1694.
27. Fernandez de Simon B., Sanz M., Cadahia E., Martinez J., Esteruelas E., Munoz A.M., Polyphenolic compounds as chemical markers of wine ageing in contact with cherry, chestnut, false acacia, ash and oak wood. *Food Chem.*, 2014, 143, 66–76.
28. Frangipane M.T., Santis D.D., Ceccarelli A., Influence of oak woods of different geographical origins on quality of wines aged in barriques and using oak chips. *Food Chem.*, 2007, 103, 46–54.



## 7. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

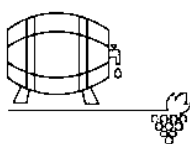
29. Fuller G.H., Steltenkamp R., Tisserand G.A., The gas chromatograph with human sensor: perfumer model, *Ann NY Acad Sci*, 1964, 116, 711–724 .
30. Gallego L., del Alamo M., Nevares I., Fernández J.A., de Simón B.F., Cadahía E., Phenolic compounds and sensorial characterization of wines aged with alternative to barrel products made of Spanish oak wood (*Quercus pyrenaica* Willd.). *Food Sci. Technol. Int.*, 2012, 18, 151–165.
31. Glabasnia A., Hofmann T., Identification and sensory evaluation of dehydro-and deoxy-ellagitannins formed upon toasting of oak wood (*Quercus alba* L.). *J. Agric. Food Chem.*, 2007, 55, 4109–4118.
32. Glabasnia A., Hofmann T., Sensory-directed identification of taste-active ellagitannins in American(*Quercus alba* L.) and European oak wood (*Quercus robur* L.) and quantitative analysis in bourbon whiskey and oak-matured red wines. *J. Agric. Food Chem.* 2006, 54, 3380–3390.
33. Gonçalves J., Silva C.L., Castilho P.C., Câmara J.S., An attractive, sensitive and high-throughput strategy based on microextraction by packed sorbent followed by UHPLC-PDA analysis for quantification of hydroxybenzoic and hydroxycinnamic acids in wines. *Microchem J.*, 2013, 106, 129–138
34. Guth H., Quantitation and sensory studies of character impact odorants of different white wine varieties. *J. Agric. Food Chem.*, 1997, 45, 3027–3032.
35. Harmsen P.F.H., Huijgen W.J.J., Bermúdez L.M., Bakker R.R.C., Literature Review of Physical and Chemical Pretreatment Processes for Lignocellulosic Bioma, 2010.
36. Herrmann K., Flavonols and flavones in food plants: A review. *Int. J. Food Sci. Technol.*, 1976, 11, 433–448.
37. In Plant Secondary Metabolites: Occurrence, Structure and Role in the Human Diet; intermolecular copigmentation. *J. Agric. Food Chem*, 2002, 50, 7461–7466.
38. Jackson R.S., *Wine Science: Principles, Practice, Perception*, Second Edition, Academic Press, 2000, p.554-562.
39. Jarauta I., Cacho J., Ferreira V., Concurrent phenomena contributing to the formation of the aroma of wine during aging in oak wood: An analytical study. *J. Agric. Food Chem.* 2005, 53, 4166–4177.
40. Johnson, H.; Robinson J., *The World Atlas of Wine*, Volume 1, Mitchell Beazley: London, UK, 2001.



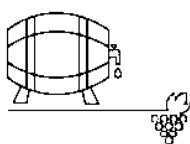
## 7. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

41. Jordão A.M., Correia A.C., DelCampo R., SanJosé M.L.G., Antioxidant capacity, scavenger activity, and ellagitannins content from commercial oak pieces used in winemaking. *Eur. Food Res. Technol.*, 2012, 235, 817–825.
42. Kanerva S., Plant Secondary Compounds and Soil Microbial Processes in Carbon and Nitrogen Cycling in Relation to Tree Species. Ph.D. Thesis, University of Helsinki, Helsinki, Finland, December 2007.
43. Kotseridis Y., Baumes R., Identification of impact odorants in Bordeaux Red grape juice, in the commercial yeast used for its fermentation, and in the produced wine, *J Agric Food Chem.*, 2000, 48, 400–406.
44. Kunisuke I., Yusuke A., Masanori K., Yoichi U., Motonaka K., *Comprehensive Natural Products II, Volume 4: Chemistry and Biology*, 2010, p. 631–671
45. Landete J.M., Ellagitannins, ellagic acid and their derived metabolites: A review about source, metabolism, functions and health. *Food Res. Int.*, 2011, 44, 1150–1160.
46. Liu P., Composition of Hawthorn (*Crataegus* spp.) Fruits and Leaves and Emblic Leafflower (*Phyllanthus emblica*) Fruits. Ph.D. Thesis, University of Turku, Turku, Finland, May 2012.
47. Lnnhenheimer F., *Amphoras and Shipwrecks: Wine from the Tyrrhenian Coast at the End of the Republic and Its Distribution in Gaul*; Wiley-Blackwell: Oxford, UK, 2013; p. 97.
48. Manach C., Scalbert A., Morand C., Rémésy C. Jiménez L.; Polyphenols: Food sources and bioavailability. *Am. J. Clin. Nutr.* 2004, 79, 727–747.
49. Marín J., Zalacain A., de Miguel C., Alonso G.L., Salinas M.R., Stir bar sorptive extraction for the determination of volatile compounds in oak-aged wines. *J. Chromatogr. A.*, 2005, 1098, 1–6.
50. Matricardi L., Waterhouse A.L., Influence of toasting technique on color and ellagitannins of oak wood in barrel making. *Am. J. Enol. Vitic.*, 1999, 50, 519–526.
51. Michel J., Jourdes M., Silva M.A., Giordanengo T., Mourey N., Teissedre P.L., Impact of concentration of ellagitannins in oak wood on their levels and organoleptic influence in red wine. *J. Agric. Food Chem.*, 2011, 59, 5677–5683.
52. Mila I., Scalbert A., Expert D., Iron withholding by plant polyphenols and resistance to pathogens and rots. *Phytochemistry*, 1996, 42, 1551–1555.
53. Miller D.P., Howell G.S., Michaelis C.S., Dickmann D.I., The content of phenolic acid and aldehyde flavor components of white oak as affected by site and species. *Am. J. Enol. Vitic.*, 1992, 43, 333–338.
54. Mosedale J.R., Puech J.L., Feuillat F., The influence on wine flavor of the oak species and natural variation of heartwood components. *Am. J. Enol. Vitic.*, 1999, 50, 503–512.

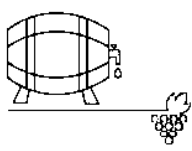




55. Navarro M., Kontoudakis N., Gómez-Alonso S., García-Romero E., Canals J.M., Hermosín-Gutiérrez I., Zamora F., Influence of the botanical origin and toasting level on the ellagitannin content of wines aged in new and used oak barrels. *Food Research International*, 2016, 87, 197–203
56. Niemetz R., Gross G.G., Enzymology of gallotannin and ellagitannin biosynthesis. *Phytochemistry*, 2005, 66, 2001–2011.
57. Noble A.C., Arnold R.A., Buechsenstein J., Leach E.J., Schmidt J.O., Stern P.M., Modification of Standardized System of Wine Aroma Terminology, *Am.J. Enol. Vitic.*, 1987
58. Nonier M.F., Vivas N., Vivas de Gaulejac N., Absalon C., Soulié P., Fouquet E., Pyrolysis–gas chromatography/mass spectrometry of *Quercus* sp. Wood: Application to structural elucidation of macromolecules and aromatic profiles of different species. *J. Anal. Appl. Pyrolysis*, 2006, 75, 181–193.
59. Pawliszyn Janusz., *Comprehensive sampling and sample preparation: Analytical Techniques for Scientists*, *Comprehensive Sampling and Sample Preparation, Volume 2*, Academic Press (imprint of Elsevier), 2012.
60. Pérez-Coello M.S., Díaz-Maroto M.C., Volatile compounds and wine aging. In *Wine Chemistry and Biochemistry*; Springer: New York, NY, USA, 2009, pp. 295–311.
61. Pérez-Coello M.S., Sanz J., Cabezudo M.D., Determination of volatile compounds in hydroalcoholic extracts of french and american oak wood. *Am. J. Enol. Vitic.*, 1999, 50, 162–165.
62. Plutowska B., Wardencki W., *Gas chromatography-olfactometry of alcoholic beverages*, Gdansk University of Technology, Poland, 2012
63. Pollnitz A.P., Pardon K.H., Sykes M., Sefton M.A., The effects of sample preparation and gas chromatograph injection techniques on the accuracy of measuring guaiacol, 4-methylguaiacol and other volatile oak compounds in oak extracts by stable isotope dilution analyses. *J. Agric. Food Chem.*, 2004, 52, 3244–3252.
64. Prida A., Boulet J.C., Ducouso A., Nepveu G., Puech J.L., Effect of species and ecological conditions on ellagitannin content in oak wood from an even-aged and mixed stand of *Quercus robur* L. And *Quercus petraea* Liebl. *Ann. For. Sci.*, 2006, 63, 415–424.
65. Prida A., Puech J.L., Influence of geographical origin and botanical species on the content of extractives in American, French, and East European oak woods. *J. Agric. Food Chem.*, 2006, 54, 8115–8126.
66. Ree T., Tannins: Classification and definition. *Nat. Prod. Rep*, 2001, 18, 641–649.

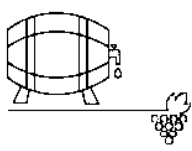


67. Rentsch M., Wilkens A., Winterhalter P., Non-flavonoid phenolic compounds. In *Wine Chemistry and Biochemistry*; Springer: New York, NY, USA, 2009, pp. 509–527.
68. Ribéreau- Gayon P., Glories Y., Maujean A, Dubourdieu D., *The Chemistry of Wine Stabilization and Treatments.*, Handbook of Enology, Vol. 2, Wiley, 2000
69. Ross J.A.; Kasum C.M., Dietary flavonoids: Bioavailability, metabolic effects, and safety. *Annu. Rev. Nutr*, 2002, 22, 19–34.
70. Sanz M., Fernandez de Simon B., Esteruelas E., Munoz A.M., Cadahia E., Hernandez M.T., Estrella I., Martinez, J., Polyphenols in red wine aged in acacia (*Robinia pseudoacacia*) and oak (*Quercus petraea*) wood barrels. *Anal. Chim. Acta.*, 2012, 732, 83–90.
71. Sarni F., Moutounet M., Puech J.L., Rabier P., Effect of heat treatment of oak wood extractable compounds. *Holzforschung*, 1990, 44, 461–466.
72. Saucier C., Jourdes M., Glories Y., Quideau S., Extraction, detection, and quantification of flavano-ellagitannins and ethylvescalagin in a bordeaux red wine aged in oak barrels. *J. Agric. Food Chem.*, 2006, 54, 7349–7354.
73. Schwarz M., Wabnitz T.C., Winterhalter P., Pathway leading to the formation of anthocyanin-vinylphenol adducts and related pigments in red wines. *J. Agric. Food Chem.*, 2003, 51, 3682–3687.
74. Sefton M.A., Francis I.L., Pocock K.F., Williams P.J., The influence of natural seasoning on the concentrations of eugenol, vanillin, and cis-and trans- $\beta$ -methyl- $\gamma$ -octalactone extracted from French and American oakwood. *Sci. Des. Aliment.*, 1993, 13, 629–643.
75. Serghei Cernîs., Analysis of lignin-derived phenolic compounds and their transformations in aged wine distillates., *Food Control* 73, 2017, 281-290
76. Skoog D.A., Holler F.J., Nieman T.A., Principles of instrumental analysis, fifth edition, Kostarakis, 2007
77. Sun Z., Accelerated Seasoning of Manuka and Oak Wood Chips Destined for Wine and Spirit Flavour. Master's Thesis, AUT University, Auckland, New Zealand, December 2013.
78. Wollgast J., Anklam E., Review on polyphenols in *Theobroma cacao* changes in composition during the manufacture of chocolate and methodology for identification and quantification. *Food Res. Int.* 2000, 33, 423–447
79. Zhang B., Liu R., He F., Zhou P.P., Duan C.Q., Copigmentation of malvidin-3-O-glucoside with five hydroxybenzoic acids in red wine model solutions: Experimental and theoretical investigations. *Food Chem*, 2015, 170, 226–233.
80. Καρφόγλου Ν., Φυσικές διεργασίες Χημικής Τεχνολογίας, Πανεπιστήμιο Πατρών, Οργανισμός Εκδόσεως Διδακτικών Βιβλίων, Αθήνα, 2005



## 7. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

81. Κοτσερίδης, Γ.,(2014/α),. Σημειώσεις/Εργαστηριακές Ασκήσεις Οινολογίας Ι, Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Τμήμα Επιστήμης Τεχνολογίας Τροφίμων και Διατροφής του Ανθρώπου, Αθήνα
82. Παπαστεφάνου Σ., Κουντούρη Λ.Μ., Γενική και Ανόργανη Χημεία, Ζήτη, 1995.



## 7. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. [http://www.chem.auth.gr/content/organic\\_lab/CHEM/EXTRACT.pdf](http://www.chem.auth.gr/content/organic_lab/CHEM/EXTRACT.pdf)
2. <https://www.e-nomothesia.gr/kat-agrotike-anaptukse/ampelourgia-oinopoiese-oinos/koine-upourgike-apophase-280580-2005.html>
3. <http://www.mastergardenproducts.com/howbarrelsmade.htm>