

**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΚΡΗΤΗΣ  
ΤΜΗΜΑ ΧΗΜΕΙΑΣ**

**ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ**

**ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΦΑΣΜΑΤΟΣΚΟΠΙΑΣ ΠΥΡΗΝΙΚΟΥ ΜΑΓΝΗΤΙΚΟΥ  
ΣΥΝΤΟΝΙΣΜΟΥ**



**Μεταπτυχιακό Δίπλωμα Ειδίκευσης**

**ΑΝΑΛΥΣΗ ΟΡΓΑΝΙΚΩΝ ΥΠΟΛΕΙΜΜΑΤΩΝ ΣΕ  
ΑΡΧΑΙΟΛΟΓΙΚΑ ΟΣΤΡΑΚΑ ΜΕ ΤΗ ΦΑΣΜΑΤΟΣΚΟΠΙΑ  
ΠΥΡΗΝΙΚΟΥ ΜΑΓΝΗΤΙΚΟΥ ΣΥΝΤΟΝΙΣΜΟΥ**

**ΕΙΡΗΝΗ ΣΙΜΟΝΕΛΑ ΤΣΑΝΑ**

**Υπεύθυνος Καθηγητής: Απόστολος Σπύρος**

**ΗΡΑΚΛΕΙΟ 2018**

**UNIVERSITY OF CRETE  
DEPARTMENT OF CHEMISTRY**

**GENERAL POSTGRADUATE PROGRAM**

**NUCLEAR MAGNETIC RESONANCE SPECTROSCOPY  
LABORATORY**



**M.Sc. Thesis**

**ANALYSIS OF ORGANIC RESIDUES IN  
ARCHAEOLOGICAL POTTERY BY NMR  
SPECTROSCOPY**

**IRENE SIMONELA TSANA**

**Thesis Supervisor: Apostolos Spyros**

**HERAKLION 2018**

*Στη μαμά μου και στον μπαμπά μου*

## **Εξεταστική Επιτροπή**

**Απόστολος Σπύρος**

*Αναπληρωτής Καθηγητής Αναλυτικής Χημείας (Επιβλέπων)*

**Δημήτριος Άγγελος**

*Καθηγητής Φυσικοχημείας*

**Σπύρος Περγαντής**

*Καθηγητής Αναλυτικής Χημείας*

## ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Αρχικά θα ήθελα να ευχαριστήσω τον επιβλέποντα καθηγητή μου, κ. Απόστολο Σπύρο για τις γνώσεις που μου μετέδωσε, τις συμβουλές και την εμπιστοσύνη που μου έδειξε αλλά και την σημαντική βοήθεια που είχα καθόλη τη διάρκεια της μεταπτυχιακής μου διατριβής.

Επιπλέον, θέλω να ευχαριστήσω και τους καθηγητές κ. Δημήτριο Άγγλο και κ. Σπύρο Περγαντή που δέχτηκαν να αξιολογήσουν την μεταπτυχιακή μου εργασία.

Θα ήθελα να ευχαριστήσω ιδιαίτερα την αρχαιολόγο κ. Έφη Σακελλαράκη, για το ενδιαφέρον της για την ανάπτυξη αυτής της συνεργασίας και τη διάθεση των αρχαιολογικών δειγμάτων, καθώς και τον αρχαιολόγο κ. Γιώργο Χαρίτο για την ιδιαίτερα εποικοδομητική συνεργασία και τις πληροφορίες που παρείχε για τα δείγματα και το γενικότερο αρχαιολογικό πλαίσιο της ανασκαφής στην Τουρκογειτονιά.

Οφείλω να ευχαριστήσω την Εφορεία Αρχαιοτήτων Ηρακλείου και το Υπουργείο Πολιτισμού και Αθλητισμού για την άδεια ανάλυσης των αρχαιολογικών κεραμικών.

Ευχαριστώ ιδιαίτερα τα μέλη του εργαστηρίου, την Δρ. Έφη Μανωλοπούλου, την Ευαγγελία Ράλλη, την Σοφία Ταχταλίδου, την Μαρία Καλιτσουνάκη, την Εύα Μπελελή και την Ελένη Στειακάκη για την βοήθεια τους τα δύο τελευταία χρόνια αλλά και για την όμορφη παρέα τους, εντός και εκτός εργαστηρίου.

Θα ήθελα να ευχαριστήσω και τους φίλους μου, Δέσποινα, Στέλα, Μαριάννα και Αποστόλη, για την βοήθεια του καθενός με τον δικό του τρόπο και την ενθάρρυνση τους.

Θέλω να πω ένα μεγάλο ευχαριστώ στη μαμά μου και τον μπαμπά μου για την στήριξή τους, σε οικονομικό και σε ηθικό επίπεδο, για την ενθάρρυνση, την διακριτικότητα και την υπομονή τους, όταν τα πράγματα ήταν δύσκολα για μένα. Τέλος, ευχαριστώ πολύ τις αδερφές μου, Έλενα και Αργυρώ που είναι πάντα δίπλα μου και με στηρίζουν σε ότι κάνω, η καθεμιά με τον δικό της όμορφο τρόπο.

## ΒΙΟΓΡΑΦΙΚΟ ΣΗΜΕΙΩΜΑ

### Προσωπικές Πληροφορίες

---

Όνοματεπώνυμο: Τσάνα Ειρήνη-Σιμονέλα  
Ημερομηνία γέννησης: 21/04/1993  
Διεύθυνση κατοικίας: Α. Παπανδρέου 50, 71305  
Τηλέφωνο κατοικίας: 2810-327774  
Κινητό Τηλέφωνο: 698 347 5693  
Διεύθυνση e-mail: [eirini\\_t@yahoo.com](mailto:eirini_t@yahoo.com)

### Εκπαίδευση και Κατάρτιση

---

1. Σήμερα: Γενικό Μεταπτυχιακό Πρόγραμμα Χημείας, κατεύθυνση Αναλυτική Χημεία, Τμήμα Χημείας, Πανεπιστήμιο Κρήτης
2. Σήμερα: Πρόγραμμα Οινολογικής Κατάρτισης, Τμήμα Χημείας, Πανεπιστήμιο Κρήτης
3. Σεπτέμβριος 2011 - Μάρτιος 2016: Πτυχίο Χημείας με βαθμό 7,42, Σχολή Θετικών και Τεχνολογικών Επιστημών, Τμήμα Χημείας, Πανεπιστήμιο Κρήτης

### Ατομικές δεξιότητες

---

Αγγλικά: Κατοχή διπλώματος Certificate of Competency in English του Πανεπιστημίου Michigan, Lower

Γαλλικά: Κατοχή διπλώματος Diplôme d' études en langue française (DEL F) B1

### Ερευνητική Εμπειρία

---

- Σεπτέμβριος 2016 - Σήμερα: Μεταπτυχιακό Δίπλωμα Ειδίκευσης, “Ανάλυση οργανικών υπολειμμάτων σε αρχαιολογικά όστρακα με τη φασματοσκοπία NMR”, Επιβλέπων Αναπληρ. Καθηγητής Σπύρος Απόστολος, Τμήμα Χημείας, Π. Κ.
- Σεπτέμβριος 2015 - Φεβρουάριος 2016: Διπλωματική εργασία, “Σύνθεση και χαρακτηρισμός ενοφθαλμισμένων συμπολυμερών PDMAEMA-*g*-mPEGBr και CH<sub>3</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>14</sub>CH<sub>2</sub>I-*g*-PDMAEMA-*g*-mPEGBr”, Επιβλέπουσα Αναπλ. Καθηγήτρια Βαμβακάκη Μαρία, Τμήμα Επιστήμης και Τεχνολογίας Υλικών, Π. Κ.

## Επαγγελματική Εμπειρία

---

Ιούλιος 2015 - Σεπτέμβριος 2015: Πρακτική άσκηση στο Θεραπευτικό-Διαγνωστικό Κέντρο "ΑΣΚΛΗΠΙΕΙΟΝ ΚΡΗΤΗΣ", ανάλυση βιολογικών δειγμάτων

## Δεξιότητες και Τεχνικές

---

*Εργαστηριακή εμπειρία σε:*

- Χρήση φασματομέτρων NMR Bruker DPX-300 και Avance-500
- Χρωματογραφία αποκλεισμού μεγέθους
- Μέτρηση γωνίας επαφής (ανάλυση διαβροχής επιφανείας και πρόσφυσης)
- Χρωματογραφία ιόντων και λήψη χρωματογραφήματος
- Απομόνωση οργανικών ενώσεων από έργα τέχνης, αρχαιολογικά αγγεία
- Χρήση λυοφιλοποιητή, φυγόκεντρο, αντλιών κενού, περιστροφικού εξατμιστήρα

## Ψηφιακή Δεξιότητα

---

- Κατοχή διπλώματος στις ενότητες Windows, Word, Excel, Internet
- Γνώση χρήσης Origin
- Χρήση λογισμικού επεξεργασίας φασμάτων NMR, TOPSPIN, WINNMR, CHENOMX

## Παρακολούθηση και Συμμετοχή σε Συνέδρια/Ημερίδες

---

1. 26-28 Μαρτίου 2016: 18<sup>ο</sup> Συνέδριο Μεταπτυχιακών Φοιτητών Χημείας, Ηράκλειο Κρήτης, Ελλάδα
2. 2-4 Μαΐου 2017: 19th Postgraduates Conference on Chemistry, Heraklion of Crete, Greece, «Compositional analysis and aging of two contemporary works of art by NMR spectroscopy», S. Melampianaki, **I.-S. Tsana**, U. Knuutinen, P. Kyllönen and A. Spyros, Ηράκλειο Κρήτης, Ελλάδα, Poster Presentation
3. 17-21 Σεπτεμβρίου 2017: 10th International Conference on Instrumental Methods of Analysis. Modern Trends and Applications, Ηράκλειο Κρήτης, Ελλάδα
4. 25-27 Ιουνίου 2018: 20<sup>ο</sup> Συνέδριο Μεταπτυχιακών Φοιτητών Χημείας, Ηράκλειο, Κρήτη, Ελλάδα, **Ε.-Σ. Τσάνα**, Α. Σπύρος, "Ανάλυση οργανικών υπολειμμάτων σε αρχαιολογικά όστρακα με τη φασματοσκοπία NMR", Ομιλία

5. 13 Δεκεμβρίου 2017: 1<sup>η</sup> Ημερίδα 2017-2018, «Φαρμακευτικά φυτά: από τη φύση και τη λαϊκή παράδοση στην ιατρική επιστήμη» συμπεριλαμβανομένου του Workshop «Μέθοδοι παραλαβής αιθέριων ελαίων από αρωματικά φυτά», Μουσείο Ιατρικής Κρήτης, Ελλάδα
  
6. 22-26 Μαΐου 2018: Αμπέλος, Κρασί, Διατροφή και Υγεία, Διεθνές Συνέδριο, Ηράκλειο Κρήτης, Ελλάδα

### **Διδακτική Εμπειρία**

---

- Φεβρουάριος 2016 - Μάιος 2017: Βοηθός στο προπτυχιακό εργαστήριο Αναλυτικής Χημείας I, πείραμα «Ανάλυση Κρασιών»
  
- Σεπτέμβριος 2016 – Δεκέμβριος 2016: Βοηθός στο προπτυχιακό εργαστήριο Αναλυτικής Χημείας II, πείραμα «Ιοντική Χρωματογραφία, Ποιοτικός και ποσοτικός προσδιορισμός κατιόντων σε δείγματα νερού»



## CURRICULUM VITAE

### Personal Information

---

Full Name: Tsana Irene-Simonela

Date of birth: 21/04/1993

Residence address: A. Papandreou 50, 71305, Heraklion Crete, Greece

Telephone number: 2810-327774

Mobile Phone: 698 347 5693

e-mail address: [eirini\\_t@yahoo.com](mailto:eirini_t@yahoo.com)

### Education

---

1. Present: M.Sc. in Chemistry, Chemistry Dept., University of Crete, Heraklion Crete, Greece
2. Present: Wine Training Program, Department of Chemistry, University of Crete, Greece
3. September 2011 - March 2016: Chemistry degree with grade 7.42, Chemistry Dept., University of Crete, Heraklion Crete, Greece

### Personal Skills

---

English: Certificate of Competency in English University of Michigan, Lower

French: Diplôme d' études en langue française (DELFF) B<sub>1</sub>

### Research Experience

---

September 2015 - February 2016: Postgraduate Thesis "Analysis of organic residues in archaeological pottery by NMR spectroscopy", supervisor Assoc. Prof. Spyros Apostolos, University of Crete, Greece

September 2016 - Present: Thesis "Synthesis and characterization of comb like copolymers PDMAEMA-g-MPEG-Br and CH<sub>3</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>14</sub>CH<sub>2</sub>I-g-PDMAEMA - g-mPEGBr", supervisor Assoc. Prof. Vamvakaki Maria, University of Crete, Greece

### Work experience

---

July 2015 - September 2015: Practical training at Therapeutic - Diagnostic Center "ASKLIPION of CRETE", analysis of biological samples

## Digital Skills

---

Certificate in units Windows, Word, Excel, Internet, ECDL Hellas

Knowledge of using Origin

Use of NMR Spectrum Processing Software, TOPSPIN, WINNMR, CHENOMX

## Skills and Techniques

---

*Laboratory experience in:*

- Acquisition of 1-D and 2-D NMR spectra (Bruker TopSpin 3.1)
- Using Bruker's DPX-300 and Avance III-500 NMR spectrometers
- Size Exclusion Chromatography
- Contact Angle Measurement (analysis of wettability and adhesion)
- Ion Chromatography and chromatograph acquisition
- Isolation of organic compounds from works of art, archaeological pottery
- Using freeze-dryer, centrifuge, vacuum pumps, rotary evaporator

## Participation in Conferences

---

1. 26 - 28 March 2016: 18<sup>th</sup> Conference of Postgraduate Students of Chemistry, Heraklion, Crete, Greece
2. 2-4 May 2017: 19<sup>th</sup> Postgraduates Conference on Chemistry, Heraklion of Crete, Greece, S. Melampianaki, **I.-S. Tsana**, U. Knuutinen, P. Kyllönen and A. Spyros\*, "Compositional analysis and aging of two contemporary works of art by NMR spectroscopy", Poster Presentation
3. 17 - 21 September 2017: 10<sup>th</sup> International Conference on Instrumental Methods of Analysis. Modern Trends and Applications, Heraklion Crete, Greece
4. 25 - 27 June 2018: 20<sup>th</sup> Conference of Postgraduate Students of Chemistry, Heraklion, Crete, Greece, **I.-S. Tsana**, A. Spyros, "Analysis of organic residues in archaeological pottery by NMR spectroscopy", Oral presentation
5. 13 December 2017: 1<sup>st</sup> Workshop 2017-2018, "Pharmaceutical Plants: From Nature and Folk Tradition to Medical Science", including the Workshop "Distillation methods of essential oils from herbs", Medical Museum of Crete, Greece

6. 22 - 26 May 2018: Vine, Wine, Food and Health, International Conference, Heraklion, Greece

### **Teaching Experience**

---

- February 2016 - May 2017: Assistant in the Undergraduate Laboratory of Analytical Chemistry I, Experiment "Wine Analysis"
  
- 2. September 2016 - December 2016: Assistant in the Undergraduate Laboratory of Analytical Chemistry II, experiment "Ion Chromatography, Qualitative and quantitative determination of cations in water samples"

## ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Στο πλαίσιο της παρούσας μεταπτυχιακής εργασίας, πραγματοποιήθηκε εφαρμογή της φασματοσκοπίας Πυρηνικού Μαγνητικού Συντονισμού (NMR) στην ανάλυση αρχαιολογικών κεραμικών οστράκων. Τα δείγματα που αναλύθηκαν προέρχονταν από ανασκαφές σε δύο αποθηκευτικούς χώρους ενός μινωικού ανακτόρου, στις Αρχάνες. Μελετήθηκαν οχτώ κεραμικά όστρακα τα οποία αποτελούνται από τα επιμέρους δείγματα, πόροι του εσωτερικού/εξωτερικού μέρους του αγγείου και δείγματα επιφανειακής κρούστας, επιφανειακού χρώματος. Επιπλέον, αναλύθηκαν πέντε δείγματα χρώματος, μινωικής προέλευσης, που βρέθηκαν στο εσωτερικό ορισμένων αγγείων κατά την ανασκαφή.

Οι μοριακοί δείκτες αποτελούν ενώσεις σε αρχαιολογικά αντικείμενα, που δίνουν πληροφορίες σχετικά με την ανθρώπινη δραστηριότητα στο παρελθόν. Η παρούσα μελέτη είχε ως στόχο την ταυτοποίηση οργανικών υπολειμμάτων, την κατανόηση της κατανομής τους στα επιμέρους δείγματα του κάθε κεραμικού και συνεπώς την διάκριση των πρώτων σε πιθανούς μοριακούς δείκτες, μικροβιακό οργανικό φορτίο ή σύγχρονους επιμολυντές για τα κεραμικά.

Χρησιμοποιήθηκαν δύο διαλύτες διαφορετικής πολικότητας για την εκχύλιση των οργανικών υπολειμμάτων, ένα υδατικό διάλυμα μεθανόλης σε αναλογία 4:1 και χλωροφόρμιο. Μέσω της λήψης μονοδιάστατων ( $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ ) και δισδιάστατων φασμάτων NMR ( $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  ομοπυρηνικής συσχέτισης, COSY, άμεσης ετεροπυρηνικής συσχέτισης  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$ , HSQC και ετεροπυρηνικής συσχέτισης μακράς εμβέλειας, HMBC) έγινε ταυτοποίηση μικρών οργανικών οξέων, σακχάρων, αλκοολών και λιπαρών οξέων.

Τα οργανικά οξέα οξικό, γλυκολικό, λακτικό, προπιονικό, υδρόξυ-προπιονικό, ηλεκτρικό, κορεσμένα λιπαρά οξέα καθώς και ο δισακχαρίτης, τριαλόζη βρέθηκε ότι αποτελούν κυρίως μικροβιακό φορτίο για τα κεραμικά όστρακα. Αντίθετα, τα σάκχαρα γλυκόζη και φρουκτόζη είναι πιθανοί μοριακοί δείκτες του μελιού. Η ταυτοποίηση μονοακόρεστων λιπαρών οξέων σχετίζεται άμεσα και ισχυρά με την ύπαρξη ελαιολάδου ενώ η 2,3-βουτανοδιόλη και η ακετοΐνη, είναι ενώσεις που μπορούν να θεωρηθούν δείκτες της ύπαρξης κρασιού. Αντίθετα, το τρυγικό οξύ, ο κύριος ιχνηλάτης του κρασιού, ταυτοποιήθηκε σε

ιχνοποσότητες και κυρίως σε δείγματα χώματος και κρούστας. Τέλος, η ταυτοποίηση του βουτυρικού οξέος σε ένα δείγμα, αν και θα μπορούσε να υποδηλώνει την παρουσία τροφίμου ζωικής προέλευσης (κρέας, γαλακτοκομικά προϊόντα) πιθανότατα είναι μικροβιακής προέλευσης.

**Λέξεις κλειδιά:** κεραμικό όστρακο, οργανικά υπολείμματα, μοριακός δείκτης, φασματοσκοπία NMR

## ABSTRACT

The present M.Sc. thesis reports the application of Nuclear Magnetic Resonance spectroscopy, NMR to the study of archaeological ceramic vessels found in two storage rooms of a Minoan palace, in Archanes, Heraklion Crete. Eight ceramic vessels and their subsamples, including the inner'/outer surface ceramic pores, crusts and topsoils, as well as five soil samples, found in contact with the ceramics during excavation, were analyzed.

Molecular markers are compounds identified in archaeological materials that provide information about human activity in the past. The identification of chemical compounds in organic residues, the observation of their distribution within the subsamples of each ceramic vessel and the discrimination of molecular markers of various food types from compounds due to microbial or modern chemical contamination, were the main objectives of the present study.

Water:methanol solutions in a ratio of 4:1 and chloroform were the solvent systems used for the extraction of the organic residues from the ceramic vessels. Small organic acids, saccharides, alcohols and fatty acids, were identified in the organic residues with the aid of one and two dimensional NMR spectroscopy. The analytical results showed that acetic acid, glycolic, lactic, propionic, hydroxy-propionic, succinic acid as well as saturated fatty acids and the disaccharide trehalose, are more or less associated with microbial contamination, since they were identified in almost all samples. By contrast, the monosaccharides glucose and fructose were only identified in one particular sample, and they are well known as the main sugars in honey. The identification of the monounsaturated fatty acid oleic acid in two specific vessels was used as evidence of olive oil storage, probably scented, while the compounds 2,3-butanediol and acetoin were proposed as wine markers in one ceramic vessel, based mainly on the stereochemistry of butanediol obtained from NMR analysis. On the contrary tartaric acid, which is the most common marker used for wine identification in ceramic vessels, was only found in minor quantities, on soil and crust samples. Finally, butyric acid identified in one ceramic sample, might be related to foods of animal origin or

dairy products, although at present a possible microbial origin cannot be excluded.

**Keywords:** ceramic vessel, organic residues, molecular marker, NMR spectroscopy

## Περιεχόμενα

	Σελίδα
<b>Κεφάλαιο 1. Εισαγωγή</b> .....	1
1.1. Ιστορικά Στοιχεία .....	1
1.1.1. Ιστορικό πλαίσιο μινωικού πολιτισμού .....	1
1.1.2. Το μινωικό ανάκτορο στις Αρχάνες .....	2
1.2. Αρχαιομετρία .....	5
1.3. Οργανικά υπολείμματα - Ορισμός και ταξινόμηση.....	7
1.4. Πολυπλοκότητα ανάλυσης οργανικών καταλοίπων σε δείγματα πολιτισμικής κληρονομιάς...	10
1.5. Τεχνικές ανάλυσης στην Αρχαιομετρία.....	13
1.5.1. Χρωματογραφικές τεχνικές συζευγμένες με φασματομετρία μάζας, φασματοσκοπία FT-IR.	13
1.5.2. Φασματοσκοπία NMR.....	17
<b>Σκοπός εργασίας</b> .....	22
<b>Κεφάλαιο 2. Πειραματικό Μέρος</b> .....	24
2.1. Ιστορικά αντικείμενα προς ανάλυση .....	24
2.2. Δειγματοληψία .....	25
2.3. Διαλύτες – Πρότυπες ενώσεις .....	28
2.4. Πειραματική διαδικασία .....	28
2.5. Λήψη φασμάτων NMR.....	29
2.5.1. Μονοδιάστατα φάσματα NMR.....	29
2.5.2. Δισδιάστατα φάσματα NMR.....	30
<b>Κεφάλαιο 3. Αποτελέσματα</b> .....	33
<b>Πολικά εκχυλίσματα, CH<sub>3</sub>OH/H<sub>2</sub>O (1:4)</b> .....	33
3.1. Ταυτοποίηση ενώσεων στους πόρους των κεραμικών αγγείων.....	33
3.2. Ταυτοποίηση οργανικών ενώσεων στα δείγματα χώματος/ επιφανειακές κρούστες.....	42
3.3. Συγκεντρωτικά αποτελέσματα πολικών εκχυλισμάτων.....	48
<b>Άπολα εκχυλίσματα, CHCl<sub>3</sub></b> .....	52
3.4. Ταυτοποίηση οργανικών ενώσεων στους πόρους των κεραμικών οστράκων .....	53
3.5. Ταυτοποίηση οργανικών ενώσεων στα δείγματα χώματος, κρούστες.....	54
3.6. Συγκεντρωτικά αποτελέσματα των άπολων εκχυλισμάτων.....	58
<b>Κεφάλαιο 4. Προσδιορισμός των ενώσεων που οφείλονται στο περιεχόμενο χρήσης των κεραμικών οστράκων</b> .....	60
<b>Πολικά εκχυλίσματα, CH<sub>3</sub>OH/H<sub>2</sub>O (1:4)</b> .....	60
4.1. Συνήθης αμφορέας, 53 .....	60
4.2. Συνήθης αμφορέας, 19.....	64



4.3. Ωοειδής αμφορέας, 86.....	67
4.4. Κάδοι 85, 27 και συνήθης αμφορέας 77.....	68
4.5. Κυλινδρικοί αμφορείς, 30 και 44.....	69
<b>Απολα εκχύλισμα, CHCl<sub>3</sub>.....</b>	<b>70</b>
4.6. Κυλινδρικοί αμφορείς 30 και 44 .....	70
4.7. Σύγκριση φασμάτων χρώματος των δειγμάτων.....	72
4.8. Διασαφήνιση του τρόπου εκχύλισης σε δείγματα πολιτισμικής κληρονομιάς.....	74
<b>Κεφάλαιο 5. Συζήτηση αποτελεσμάτων.....</b>	<b>77</b>
5.1. Οι ενώσεις 2,3-βουτανοδιόλη και ακετοΐνη ως προτεινόμενοι μοριακοί δείκτες κρασιού.....	77
5.2. Ταυτοποίηση σακχάρων σε αρχαιολογικά αγγεία .....	80
5.3. Ταυτοποίηση λιπαρών οξέων σε αρχαιολογικά κεραμικά όστρακα.....	83
5.4. Συγκεντρωτικά αποτελέσματα-πιθανοί μοριακοί δείκτες .....	84
<b>Κεφάλαιο 6. Συμπεράσματα.....</b>	<b>87</b>
<b>Βιβλιογραφία.....</b>	<b>92</b>
<b>Παράρτημα.....</b>	<b>96</b>

<b>Κατάλογος εικόνων</b>	<b>Σελίδα</b>
<b>Εικόνα 1.1.1.</b> Κάτοψη ανακτορικού κτηρίου, περιοχή Τουρκογειτονιά, Αρχάνες.	2
<b>Εικόνα 1.1.2.</b> Υψηλός κυλινδρικός αμφορέας με «ιδιαιτέρο» ρευστό περιεχόμενο.	3
<b>Εικόνα 1.1.3.</b> Κάτοψη τμήματος του χώρου 33 στην οποία φαίνεται σχηματικά η πυκνή τακτοποίηση των πύθων και των αγγείων.	4
<b>Εικόνα 1.1.4.</b> Διακοσμημένα αλάβαστρα από το χώρο 32.	4
<b>Εικόνα 1.3.1.</b> Επιφανειακό οργανικό υπόλειμμα αριστερά: κατάλοιπο τροφίμου, δεξιά: υπόλειμμα από χρήση σφραγιστικού μέσου κατά την χρήση του αγγείου.	8
<b>Εικόνα 1.3.2.</b> Όστρακο που περιέχει πιθανώς προσροφημένο κατάλοιπο.	8
<b>Εικόνα 1.3.3.</b> Σχηματική περιγραφή της προέλευσης των οργανικών υπολειμμάτων φυσικών προϊόντων. * δηλώνει προέλευση από ορυκτά	9
<b>Εικόνα 1.4.1.</b> Μία προτεινόμενη οδός αποικοδόμησης για το σχηματισμό κορεσμένων ακόρεστων υδροξυοξέων.	11
<b>Εικόνα 1.4.2.</b> Παραγωγή τερπενοειδών και λιπιδικών βιοδεικτών κατά την θέρμανση φυσικών προϊόντων και κορεσμένων λιπαρών οξέων, αντίστοιχα.	12
<b>Εικόνα 1.4.3.</b> Σχηματική αναπαράσταση των κύριων εισροών, απωλειών και μετασχηματισμών που επηρεάζουν την «επιβίωση» και τη σύσταση των οργανικών καταλοίπων στην αρχαιολογικά κεραμικά.	13
<b>Εικόνα 1.5.1.</b> Παραγωγή του συριγγικού οξέος από τη δομή του 3-γλυκοζίτη της μαλβιδίνης στη πολυμερισμένη χρωστική με αλκαλική σύντηξη μέσω του σχηματισμού μιας ένυδρης μορφής στην οποία το πυράνιο (δακτύλιος C) διασπάται σε δύο στάδια.	14
<b>Εικόνα 1.5.2.</b> Σύγκριση φασμάτων <sup>1</sup> H NMR οργανικών υπολειμμάτων αρχαιολογικών αγγείων σε σχέση με πρότυπο δείγμα ελαιολάδου (προσομοίωση) που εμπεριέχεται σε κεραμικό αγγείο.	20
<b>Εικόνα 2.2.1.</b> Δεύτερη δειγματοληψία του εσωτερικού μέρους του αγγείου με αριθμό δείγματος 19.	26
<b>Εικόνα 3.1.1.</b> Φάσμα <sup>1</sup> H NMR οργανικών υπολειμμάτων από το εσωτερικό μέρος του αγγείου 53, σε διαλύτη MeOD/D <sub>2</sub> O (1:4) και πεδίο συχνότητας 500.13 MHz.	34
<b>Εικόνα 3.1.2.</b> Φάσμα <sup>1</sup> H NMR οργανικών υπολειμμάτων από το εσωτερικό μέρος του αγγείου 53, σε διαλύτη MeOD/D <sub>2</sub> O (1:4), περιοχή από 0,7 έως 2,6 ppm και πεδίο συχνότητας 500.13 MHz.	34
<b>Εικόνα 3.1.3.</b> Φάσμα <sup>1</sup> H NMR οργανικών υπολειμμάτων από το εσωτερικό μέρος του αγγείου 53, σε διαλύτη MeOD/D <sub>2</sub> O (1:4), περιοχή από 3,6 έως 4,7ppm και πεδίο συχνότητας 500.13 MHz.	35
<b>Εικόνα 3.1.4.</b> Διάκριση των στερεοισομερών της 2,3-βουτανοδιόλης στο φάσμα του εσωτερικού μέρους του δείγματος 53. Κάτω: φάσμα πρότυπης ένωσης, πάνω: φάσμα δείγματος 53. Διαλύτης MeOD/D <sub>2</sub> O (1:4), πεδίο συχνότητας 500.13 MHz.	36
<b>Εικόνα 3.1.5.</b> Φάσμα gCOSY οργανικών υπολειμμάτων από το εσωτερικό μέρος του αγγείου 53, σε διαλύτη MeOD/D <sub>2</sub> O (1:4), περιοχή από 0,7 έως 4,7 ppm και πεδίο συχνότητας 500.13 MHz, (με Λ.Ο. συμβολίζονται τα λιπαρά οξέα).	37
<b>Εικόνα 3.1.6.</b> Φάσμα gHSQC οργανικών υπολειμμάτων από το εσωτερικό μέρος του αγγείου 53, σε διαλύτη MeOD/D <sub>2</sub> O (1:4), περιοχή από 0,7 έως 4,7ppm και πεδίο συχνότητας 500.13 MHz.	38

<b>Εικόνα 3.1.7.</b> Φάσμα HMBC οργανικών υπολειμμάτων από το εσωτερικό μέρος του αγγείου 53, σε διαλύτη MeOD/D <sub>2</sub> O (1:4), περιοχή από 0,7 έως 4,7 ppm και πεδίο συχνότητας 500.13 MHz.	39
<b>Εικόνα 3.1.8.</b> Φάσμα JRES οργανικών υπολειμμάτων από το εσωτερικό μέρος του αγγείου 53, σε διαλύτη MeOD/D <sub>2</sub> O (1:4), περιοχή από 0,7 έως 4,7 ppm και πεδίο συχνότητας 500.13 MHz.	40
<b>Εικόνα 3.1.9.</b> Φάσμα <sup>1</sup> H NMR οργανικών υπολειμμάτων από το εξωτερικό μέρος του αγγείου 77, σε διαλύτη MeOD/D <sub>2</sub> O (1:4), περιοχή από 3,6 έως 4,7 ppm και πεδίο συχνότητας 500.13 MHz.	41
<b>Εικόνα 3.2.1.</b> Φάσμα <sup>1</sup> H NMR οργανικών υπολειμμάτων από χύμα του αγγείου 86, σε διαλύτη MeOD/D <sub>2</sub> O (1:4), περιοχή από 0,7 έως 8,6 ppm και πεδίο συχνότητας 500.13 MHz.	42
<b>Εικόνα 3.2.2.</b> Φάσμα gCOSY οργανικών υπολειμμάτων από χύμα του αγγείου 86, σε διαλύτη MeOD/D <sub>2</sub> O (1:4), περιοχή από 0,7 έως 4,5 ppm και πεδίο συχνότητας 500.13 MHz. Σε τετράγωνα εμπεριέχονται οι κορυφές που συζεύγνυνται μεταξύ τους και αποδίδονται σε λιπαρά οξέα.	43
<b>Εικόνα 3.2.3.</b> Φάσμα gHSQC οργανικών υπολειμμάτων από χύμα του αγγείου 86, σε διαλύτη MeOD/D <sub>2</sub> O (1:4), περιοχή από 0,7 έως 4,6 ppm και πεδίο συχνότητας 500.13 MHz	44
<b>Εικόνα 3.2.4.</b> Φάσμα <sup>1</sup> H NMR οργανικών υπολειμμάτων από τη κρούστα του αγγείου 19, σε διαλύτη MeOD/D <sub>2</sub> O (1:4), περιοχή από 0,7 έως 5,3 ppm και πεδίο συχνότητας 500.13 MHz.	45
<b>Εικόνα 3.2.5.</b> Φάσμα gCOSY οργανικών υπολειμμάτων από τη κρούστα του αγγείου 19, σε διαλύτη MeOD/D <sub>2</sub> O (1:4), περιοχή από 0,7 έως 5,3 ppm και πεδίο συχνότητας 500.13 MHz.	46
<b>Εικόνα 3.2.6.</b> Φάσμα gHSQC οργανικών υπολειμμάτων από το χύμα του αγγείου 19, σε διαλύτη MeOD/D <sub>2</sub> O (1:4), περιοχή από 0,7 έως 5,3 ppm και πεδίο συχνότητας 500.13 MHz.	47
<b>Εικόνα 3.2.7.</b> Ταυτοποίηση της χημικής μετατόπισης του πρωτονίου του τρυγικού οξέος στο δείγμα κρούστας του αγγείου (πάνω φάσμα) με τη χρήση πρότυπης ένωσης (κάτω φάσμα). Διαλύτης MeOD/D <sub>2</sub> O (1:4).	48
<b>Εικόνα 3.4.1.</b> Φάσμα <sup>1</sup> H NMR οργανικών υπολειμμάτων στους πόρους του εσωτερικού μέρους του αγγείου 30 σε διαλύτη CDCl <sub>3</sub> , περιοχή από 0,2 έως 8 ppm και πεδίο συχνότητας 500.13 MHz.	53
<b>Εικόνα 3.4.2.</b> Φάσμα <sup>1</sup> H NMR οργανικών υπολειμμάτων στους πόρους του εξωτερικού μέρους του αγγείου με αριθμό δείγματος 86 σε διαλύτη CDCl <sub>3</sub> , περιοχή από 0,2 έως 8 ppm και πεδίο συχνότητας 500.13 MHz.	54
<b>Εικόνα 3.5.1.</b> Φάσμα <sup>1</sup> H NMR οργανικών υπολειμμάτων χύματος του κεραμικού με αριθμό δείγματος 44 σε διαλύτη CDCl <sub>3</sub> , περιοχή 0,2 - 8 ppm και πεδίο συχνότητας 500.13 MHz.	55
<b>Εικόνα 3.5.2.</b> Φάσμα <sup>1</sup> H- <sup>1</sup> H gCOSY οργανικών υπολειμμάτων χύματος του κεραμικού 44, περιοχή 0,5-3,8 ppm, διαλύτης CDCl <sub>3</sub> και πεδίο συχνότητας 500,13 MHz.	55
<b>Εικόνα 3.5.3.</b> Φάσμα <sup>1</sup> H- <sup>1</sup> H COSY οργανικών υπολειμμάτων χύματος του κεραμικού 44, περιοχή 0,5 – 5,8 ppm, διαλύτης CDCl <sub>3</sub> και πεδίο συχνότητας 500,13 MHz.	56
<b>Εικόνα 3.5.4.</b> Φάσμα <sup>1</sup> H- <sup>13</sup> C gHSQC οργανικών υπολειμμάτων χύματος του κεραμικού 44, διαλύτης CDCl <sub>3</sub> και πεδίο συχνότητας 500,13 MHz (δεξιά: φάσμα HSQC με αυξημένη ένταση).	57
<b>Εικόνα 3.5.5.</b> Φάσμα <sup>13</sup> CDEPT-135 οργανικών υπολειμμάτων χύματος 44, διαλύτης CDCl <sub>3</sub> και πεδίο συχνότητας 125,7 MHz.	58
<b>Εικόνα 3.6.1.</b> Δομή του ακόρεστου λιπαρού οξέος, ελαϊκό οξύ που ταυτοποιήθηκε στα άπολα εκχυλίσματα.	59

<b>Εικόνα 4.1.1.</b> Σύγκριση φασμάτων $^1\text{H}$ NMR του δείγματος 53, στο σημείο δειγματοληψίας 1. Διαλύτης MeOD/D <sub>2</sub> O (1:4), ποσότητες δειγμάτων κεραμικού/χώματος 100 mg.	61
<b>Εικόνα 4.1.2.</b> Σύγκριση φασμάτων $^1\text{H}$ NMR του δείγματος 53, στο σημείο δειγματοληψίας 3. Διαλύτης MeOD/D <sub>2</sub> O (1:4), ποσότητα δείγματος κεραμικού 500mg και 1,5gr χώματος.	62
<b>Εικόνα 4.1.3.</b> Σύγκριση φασμάτων $^1\text{H}$ NMR του δείγματος 53, στο σημείο δειγματοληψίας 3, στη περιοχή χημικών μετατοπίσεων από 3,4 έως 4,6 ppm. Διαλύτης MeOD/D <sub>2</sub> O (1:4), ποσότητα δείγματος κεραμικού 500 mg και 1,5 gr χώματος.	63
<b>Εικόνα 4.2.1.</b> Σύγκριση φασμάτων $^1\text{H}$ NMR του δείγματος 19, στο σημείο δειγματοληψίας 1. Διαλύτης MeOD/D <sub>2</sub> O (1:4), ποσότητα δειγμάτων 80-100 mg.	65
<b>Εικόνα 4.2.2.</b> Σύγκριση φασμάτων $^1\text{H}$ NMR του δείγματος 19, στο σημείο δειγματοληψίας 2. Διαλύτης MeOD/D <sub>2</sub> O (1:4), ποσότητα δείγματος κεραμικού, κρούστας 500 mg και 1,5 gr χώματος.	66
<b>Εικόνα 4.3.1.</b> Σύγκριση φασμάτων $^1\text{H}$ NMR του δείγματος 86. Διαλύτης MeOD/D <sub>2</sub> O (1:4), ποσότητα δειγμάτων 100 mg.	67
<b>Εικόνα 4.3.2.</b> Σύγκριση φασμάτων $^1\text{H}$ NMR χώματος του δείγματος 86. Διαλύτης MeOD/D <sub>2</sub> O (1:4), πάνω φάσμα ποσότητας δείγματος 1,5 gr, κάτω φάσμα χώματος 100mg.	68
<b>Εικόνα 4.4.1.</b> Σύγκριση φασμάτων $^1\text{H}$ NMR του δείγματος 85. Διαλύτης MeOD/D <sub>2</sub> O (1:4), ποσότητα δειγμάτων 100 mg.	69
<b>Εικόνα 4.5.1.</b> Σύγκριση φασμάτων $^1\text{H}$ NMR του δείγματος 30. Διαλύτης MeOD/D <sub>2</sub> O (1:4) και πεδίο συχνότητας 500,13 MHz.	70
<b>Εικόνα 4.6.1.</b> Σύγκριση φασμάτων $^1\text{H}$ του δείγματος 30. Διαλύτης CDCl <sub>3</sub> και πεδίο συχνότητας 500,13 MHz.	71
<b>Εικόνα 4.7.1.</b> Σύγκριση φασμάτων $^1\text{H}$ NMR χώματος των δειγμάτων 30, 44, 86, 53 και 19, διαλύτης CDCl <sub>3</sub> και πεδίο συχνότητας 500,13 MHz.	73
<b>Εικόνα 4.7.2.</b> Σύγκριση φασμάτων $^1\text{H}$ NMR χώματος των δειγμάτων 44 και 53, διαλύτης CDCl <sub>3</sub> και πεδίο συχνότητας 500,13 MHz.	73
<b>Εικόνα 4.8.1.</b> Φάσματα $^1\text{H}$ NMR εσωτερικού, εξωτερικού μέρους και χώματος του αγγείου 19 συγκριτικά με το φάσμα του τυφλού δείγματος, σε erpendorf. Διαλύτης CDCl <sub>3</sub> , περιοχή συχνοτήτων 0,2-8 ppm και πεδίο συχνότητας 500.13 MHz.	74
<b>Εικόνα 4.8.2.</b> Φάσματα $^1\text{H}$ NMR εσωτερικού, εξωτερικού μέρους και χώματος του αγγείου 19 συγκριτικά με το φάσμα του τυφλού δείγματος, σε erpendorf. Διαλύτης CDCl <sub>3</sub> , περιοχή συχνοτήτων 6,8-7,8 ppm και πεδίο συχνότητας 500.13 MHz.	75
<b>Εικόνα 4.8.3.</b> Φάσματα $^1\text{H}$ NMR εσωτερικού, εξωτερικού μέρους και χώματος του αγγείου 19 συγκριτικά με το φάσμα του τυφλού δείγματος, σε δοκιμαστικό σωλήνα. Διαλύτης CDCl <sub>3</sub> , αριστερά: αλειφατική περιοχή 0,6-2 ppm, δεξιά: αρωματική περιοχή 6,8-7,8 ppm, πεδίο συχνότητας 500.13 MHz.	76
<b>Εικόνα 4.8.4.</b> Φάσματα $^1\text{H}$ NMR τυφλών δειγμάτων, πάνω: εκχύλιση σε δοκιμαστικό σωλήνα, κάτω: εκχύλιση σε erpendorf. Διαλύτης CDCl <sub>3</sub> , περιοχή 0,2-7,8 ppm και πεδίο συχνότητας 500.13 MHz.	76
<b>Εικόνα 5.1.1.</b> Βιοσύνθεση των ενώσεων ακετοΐνη και 2,3-βουτανοδιόλη.	78
<b>Εικόνα 5.1.2.</b> Στερεοϊσομερή της 2,3-βουτανοδιόλης.	78
<b>Εικόνα 5.1.3.</b> Αναλογία των διαστεριομερών της 2,3-βουτανοδιόλης στο εσωτερικό μέρος του δείγματος 53, στο σημείο δειγματοληψίας 3.	80
<b>Εικόνα 5.2.1.</b> Χρωματογράφημα που προέκυψε από την μελέτη αγγείων που περιείχαν κρασί με γλυκανικό μέσο το μέλι, με τη χρήση της μεθόδου GC-MS.	81

**Εικόνα 5.2.2.** Δομή των σακχάρων που μελετήθηκαν όσον αφορά στην ικανότητα τους να διατηρούν σταθερή τη δομή του κυττάρου έναντι της αφυδάτωσης. (a) α,α-τριαλόζη, (b) α,β-τριαλόζη, (c) μαλτόζη, (d) α,α-γαλακτο-τριαλόζη, (e) σουκρόζη, (f) λακτόζη, (g) γλυκόζη.

83

<b>Κατάλογος πινάκων</b>	<b>Σελίδα</b>
<b>Πίνακας 2.1.1.</b> Συνοπτικές πληροφορίες σχετικά με τα αντικείμενα προς ανάλυση.	25
<b>Πίνακας 2.2.2.</b> Πληροφορίες σχετικά με την δειγματοληψία των κεραμικών αγγείων κατά την πειραματική διαδικασία.	27
<b>Πίνακας 2.2.3.</b> Εικόνες του εσωτερικού μέρους των δειγμάτων μετά τη δειγματοληψία.	27
<b>Πίνακας 3.3.1.</b> Συγκεντρωτικός πίνακας των χημικών μετατοπίσεων των $^1\text{H}$ , $^{13}\text{C}$ των ενώσεων που ταυτοποιήθηκαν στα εκχυλίσματα $\text{MeOH}, \text{H}_2\text{O}$ (1:4).	50
<b>Πίνακας 3.3.2.</b> Χημική δομή των ενώσεων που ταυτοποιήθηκαν στα εκχυλίσματα $\text{MeOH}, \text{H}_2\text{O}$ (1:4).	51-52
<b>Πίνακας 3.6.1.</b> Συγκεντρωτικός πίνακας των χημικών μετατοπίσεων $^1\text{H}$ και $^{13}\text{C}$ των άπολων εκχυλισμάτων.	59
<b>Πίνακας 4.1.1.</b> Συγκεντρωτικός πίνακας των ενώσεων που βρέθηκαν στα πολικά εκχυλίσματα του συνήθη αμφορέα 53.	64
<b>Πίνακας 4.2.1.</b> Συγκεντρωτικός πίνακας των ενώσεων που βρέθηκαν στα πολικά εκχυλίσματα του συνήθη αμφορέα 19.	66
<b>Πίνακας 5.4.1.</b> Συγκεντρωτικός πίνακας των μορίων που πιθανώς αποτελούν μοριακοί δείκτες.	85-86
<b>Πίνακας 5.4.2.</b> Συγκεντρωτικός πίνακας των ενώσεων που προέρχονται από επιμόλυνση (μικροβιακή/σύγχρονη) των κεραμικών οστράκων	86

# Κεφάλαιο 1. Εισαγωγή

## 1.1. Ιστορικά στοιχεία

### 1.1.1. Ιστορικό πλαίσιο μινωικού πολιτισμού

Με τον όρο μινωικός πολιτισμός χαρακτηρίζεται ο πολιτισμός που αναπτύχθηκε στην Κρήτη κατά την εποχή του χαλκού, ενώ υπολογίζεται ότι διήρκησε περίπου δύο χιλιετίες, από το 3000 π.Χ. ως το 1000 π.Χ. Δύο είναι τα κύρια συστήματα που χρησιμοποιούνται για την χρονολόγησή του. Το πρώτο σύστημα προτάθηκε από τον αρχαιολόγο A. Evans, και σχετίζεται με την τυπολογική εξέλιξη της κεραμικής ενώ το δεύτερο είναι εκείνο του N. Πλάτωνος, που στηρίζεται στις «βασικές ιστορικές τομές» κατά τη διάρκεια του μινωικού πολιτισμού. Χαρακτηριστικές τομές αποτελούν ιστορικά στοιχεία που σχετίζονται κυρίως με τα ανάκτορα, όπως είναι η ίδρυση, η καταστροφή, η επανοικοδόμηση και η τελική καταστροφή των ανακτόρων, που αποτέλεσαν κέντρα του πολιτισμού. Πιο συγκεκριμένα,

- 2800 π.Χ.: Έναρξη χρήσης μετάλλων (Πρωτομινωική, Μεσομινωική Κρήτη)
- 1900 π.Χ.: Ίδρυση παλαιών ανακτόρων στη Κνωσό, Φαιστό, Μάλια (Μεσομινωική Κρήτη)
- 1700 π.Χ.: Καταστροφή παλαιών ανακτόρων και ίδρυση νέων (Μεσομινωική Κρήτη)
- 1450 π.Χ.: Καταστροφή νέων ανακτόρων, εκτός εκείνου της Κνωσού (Ύστερομινωική Κρήτη)
- 1400 π.Χ.: Τελική καταστροφή του ανακτόρου της Κνωσού (Ύστερομινωική Κρήτη)
- 1100 π.Χ.: Τέλος του μινωικού πολιτισμού<sup>1</sup>

### 1.1.2. Το μινωικό ανάκτορο στις Αρχάνες

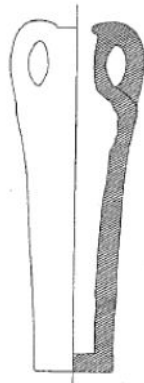
Οι Αρχάνες αποτελούν έναν από τους πιο μελετημένους τόπους της Κρήτης μετά την Κνωσό. Η έρευνα ξεκίνησε το 1912, όταν ο Ξανθουδίδης επισήμανε την ύπαρξη αρχαιοτήτων στο χωριό αυτό. Μάλιστα, ο αρχαιολόγος Α. Έβανς είχε αναφερθεί σε ένα «θερινό ανάκτορο» των βασιλέων της Κνωσού το οποίο βρίσκεται στις Αρχάνες (1922). Πολλές ήταν οι φορές που οι ανασκαφές διακόπηκαν αλλά συνεχίστηκαν μετά από αρκετά έτη από τους Εφόρους Αρχαιοτήτων, Ιωάννη Σακελλαράκη και Έφη Σακελλαράκη και ολοκληρώθηκαν το 2001. Στην εικόνα 1.1.1. φαίνεται το μινωικό ανάκτορο που βρέθηκε στην περιοχή Τουρκογειτονιά.<sup>2</sup> Το συγκρότημα αυτό χαρακτηρίζεται από υψηλής ποιότητας αρχιτεκτονική, ενώ η έκταση του που είναι ίση περίπου με εκείνη του ανακτόρου της Κνωσού, και η χρήση των διαφόρων δωματίων που έχουν ανασκαφεί μέχρι τώρα υποδηλώνουν ότι ήταν βασιλικό ανάκτορο. Σε αυτό συμβάλλουν η ανεύρεση ιερού, κεντρικής αυλής, ευρύχωρων δωματίων, η διαρρύθμιση, η τοιχογραφική αλλά και η διακόσμηση των χώρων.



**Εικόνα 1.1.1.** Κάτοψη ανακτορικού κτηρίου, περιοχή Τουρκογειτονιά, Αρχάνες.

Σημαντικά ήταν τα συμπεράσματα που προέκυψαν έπειτα από την ανασκαφή και την μελέτη του ανακτορικού κτηρίου στις Αρχάνες, όπως αναφέρεται στα πρακτικά της αρχαιολογικής εταιρείας τα έτη 1999 έως 2001, από τους αρχαιολόγους κ. Γιάννη και κ. Έφη Σακελλαράκη. Σύμφωνα με τους παραπάνω, το μινωικό κτήριο των Αρχανών ήταν ένα τριόροφο οικοδόμημα αποτελούμενο από ισόγειο, πρώτο και δεύτερο όροφο και χρονολογείται κατά

την Ύστερη Μινωική εποχή, στα μέσα περίπου της δεύτερης χιλιετίας π.Χ. Το μέγεθος, το σχήμα αλλά κυρίως η πολυτελής κατασκευή του κτηρίου των Αρχανών, μαρτυρούν την σπουδαιότητά του για την εποχή εκείνη. Επιπλέον, η εύρεση τμημάτων κατεργασμένου στεατίτη (πέτρωμα που συνίσταται κυρίως από τάλκη, πυριτικό ορυκτό του μαγνησίου με χημικό τύπο  $Mg_3Si_4O_{10}(OH)_2$ ) και χλωρίτη (αποτελεί ομάδα φυλλοπυριτικών ορυκτών), βαμμένων και διακοσμημένων αγγείων οδηγούν στο συμπέρασμα ότι υπήρξε και εργαστηριακή χρήση κάποιων χώρων του κτηρίου. Συνεπώς, γίνεται εμφανές το γεγονός ότι το ανάκτορο αυτό δεν αποτέλεσε απλά αποθηκευτικό χώρο. Οι χώροι 32 και 33 αποτελούσαν από τους σημαντικότερους χώρους του κτιρίου και επικοινωνούσαν μεταξύ τους. Συγκεκριμένα ο χώρος 32 φαίνεται να ήταν προθάλαμος στον ευρύτατο χώρο 33. Από τον μεγάλο αριθμό των πίθων και των αγγείων, 38 πίθοι και 196 αγγεία συνολικά στα δύο δωμάτια του κτηρίου, αποκαλύπτεται το γεγονός ότι χρησίμευαν κυρίως ως αποθηκευτικοί χώροι μεγάλων ποσοτήτων υγρών και ίσως και στερεών αγροτικών προϊόντων. Τα αγγεία κατηγοριοποιούνται στους εξής τύπους: α) καδόσχημα αγγεία, β) συνήθεις αμφορείς, γ) ωοειδείς αμφορείς και δ) ιδιόμορφοι υψηλοί κυλινδρικοί αμφορείς ύψους περίπου 46 εκατοστών, πολύ στερεής κατασκευής και μικρής περιεκτικότητας, που πιθανολογείται ότι έφεραν «ιδιαιτέρης αξίας» υγρό (εικόνα 1.1.2.).

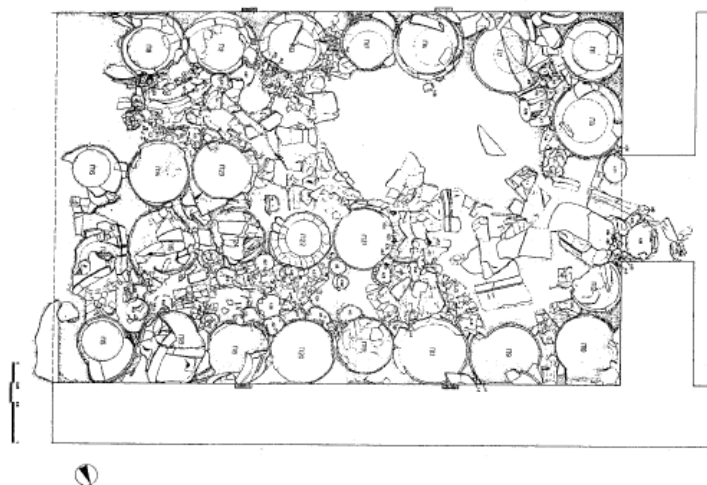


**Εικόνα 1.1.2.** Υψηλός κυλινδρικός αμφορέας με «ιδιαιτέρο» ρευστό περιεχόμενο.

Επιπλέον, οι δύο χώροι ήταν «ασφυκτικά» υπερπλήρεις με τους μεγάλους πίθους να είναι τοποθετημένοι κατά μήκος των τοίχων και τα διάφορων μεγεθών αγγεία να βρίσκονται μπροστά από τους πίθους σε ομάδες, καταλαμβάνοντας σχεδόν ολόκληρο το χώρο των δωματίων και αφήνοντας



μια μικρή δίοδο από τον χώρο 32 προς το χώρο 33. Στην επόμενη εικόνα (εικόνα 1.1.3.) φαίνεται ο μεγάλος αριθμός αγγείων και το πόσο κοντά ήταν τοποθετημένα μεταξύ τους.



**Εικόνα 1.1.3.** Κάτοψη τμήματος του χώρου 33 στην οποία φαίνεται σχηματικά η πυκνή τακτοποίηση των πήθων και των αγγείων.

Συγκεκριμένα, στο χώρο 32 πέρα από τα αποθηκευτικά αγγεία βρέθηκαν και πέντε μικρά διακοσμημένα αλάβαστρα (εικόνα 1.1.4.).



**Εικόνα 1.1.4.** Διακοσμημένα αλάβαστρα από το χώρο 32.

Σημαντική είναι η αναφορά εύρεσης σφραγισμένων, με μεταλλικό σφραγιστικό δαχτυλίδι, ψηλών αμφορέων που υποδηλώνει ότι περιείχαν εξαγωγίμα προϊόντα. Παράλληλα, η εύρεση ένας αιγυπτιακού σκαραβαίου σε έναν αμφορέα, τονίζει τις εμπορικές συναλλαγές των Μινωιτών με τους Αιγύπτιους.

Η καταστροφή του ανακτορικού κτηρίου των Αρχανών γύρω στο 1450 π.Χ., τεκμηριώνεται από τις ρωγμές που υπήρχαν στους τοίχους του οικοδήματος

αλλά και από την μετακίνηση δομών, τμημάτων και ολόκληρων τοίχων. Επιπλέον, είναι σημαντικό να αναφερθεί ότι ισχυρή πυρκαγιά έκαψε το εσωτερικό και το περιεχόμενο των χώρων του ανακτόρου καθώς βρέθηκαν κομμάτια αγγείων τα οποία είχαν λιώσει από την μεγάλη θερμοκρασία ενώ άλλα είχαν υαλοποιηθεί. Ωστόσο, η επίχωση του εσωτερικού μέρους του χώρου 33 σε ορισμένα σημεία διαδραμάτισε ιδιαίτερο ρόλο στην διατήρηση των αντίστοιχων αγγείων καθώς όπως αναφέρεται στα πρακτικά της αρχαιολογικής εταιρείας το 1999, «το μεγάλο βάθος των επιχώσεων του χώρου 33 έσωσαν το χώρο και ίσως και άλλα τμήματα του ανακτορικού κτηρίου από ανεπανόρθωτη καταστροφή».

Συνεπώς, ένα πολύ μικρό αλλά αντιπροσωπευτικό μέρος των αγγείων που βρέθηκαν κατά την ανασκαφή της περιοχής Τουρκογειτονιά των Αρχανών, επιλέχθηκε να μελετηθεί με σκοπό την ταυτοποίηση οργανικών υπολειμμάτων που επιβίωσαν κατά το πέρασμα των αιώνων και την πιθανή εύρεση του αρχικού περιεχομένου τους, που όπως αναφέρθηκε και παραπάνω, πιθανολογείται να ήταν κάποιου είδους τρόφιμα. Επιπλέον, δείγματα χώματος που βρέθηκαν στο εσωτερικό μέρος ορισμένων οστράκων μελετήθηκαν επίσης. Ωστόσο, είναι σημαντικό να τονιστεί ότι η επίχωση (δείγματα χώματος) των αγγείων που επιλέχθηκαν να μελετηθούν στην παρούσα διατριβή ήταν «αμιγώς μινωική», όπως επιβεβαιώνεται από αρχαιολογικές αναφορές.

## *1.2. Αρχαιομετρία*

Η αρχαιομετρία αποτελεί ένα διεπιστημονικό τομέα που αντιπροσωπεύει έναν εναλλακτικό τρόπο μελέτης και ανάλυσης των διαφόρων αρχαιολογικών ευρημάτων, που σύμφωνα με την παραδοσιακή οπτική της αρχαιολογίας βασίζεται στην συλλογή, καταγραφή, χρονολόγηση και ταξινόμηση των ευρημάτων, με βάση τα μορφολογικά τους χαρακτηριστικά. Συνεπώς, η αρχαιομετρία θα μπορούσε να χαρακτηριστεί ως η μετάβαση από μια περιγραφική σε μια περισσότερο ερευνητική μεθοδολογική επιστημονική προσέγγιση για το χαρακτηρισμό και την ανάλυση αρχαιολογικών αντικειμένων ή δειγμάτων από αρχαιολογικά αντικείμενα και ευρήματα.<sup>3</sup> Πιο συγκεκριμένα, ο όρος αρχαιομετρία προτάθηκε από τον καθηγητή C. Hawkes

του πανεπιστημίου της Οξφόρδης το 1958<sup>4</sup> αποτελώντας μια σύνθετη λέξη των ελληνικών λέξεων αρχαίο και μετρώ. Περιγράφει την χρήση των θετικών επιστημών και της σύγχρονης τεχνολογίας, συμπεριλαμβανομένων των σύγχρονων αναλυτικών χημικών μεθόδων, στην αρχαιολογία με σκοπό την μελέτη και την ερμηνεία αρχαιολογικών ευρημάτων.

Η ανάλυση αντικειμένων και δειγμάτων πολιτισμικής κληρονομιάς με την εφαρμογή αναλυτικών τεχνικών, ξεκίνησε τη δεκαετία του 1970 και τα τελευταία 45 χρόνια αναπτύσσεται ολοένα και γρηγορότερα λόγω της συνεχόμενης εξέλιξης των αναλυτικών τεχνικών που δίνουν την δυνατότητα προσδιορισμού πολλών ενώσεων σε αρχαιολογικά δείγματα παρέχοντας ταυτόχρονα μεγάλη ευαισθησία.<sup>5</sup>

Τα κεραμικά αγγεία απαρτίζουν συχνά ευρήματα σε αρχαιολογικούς χώρους και είναι από τα πιο αντιπροσωπευτικά δείγματα για έναν αρχαίο πολιτισμό. Αυτό αποδίδεται στο γεγονός ότι η αγγειοπλαστική αποτελούσε μια από τις σπουδαιότερες ασχολίες των αρχαίων κοινωνιών συντελώντας σημαντικά στην ομαλή λειτουργία της καθημερινότητάς τους με βασικές χρήσεις (ρόλους) των κεραμικών, την μεταφορά και φύλαξη τροφίμων.<sup>6</sup> Επιπλέον, τα κεραμικά αγγεία έχουν κατά κανόνα περιορισμένη χρησιμότητα, συνήθως παράγονται τοπικά τονίζοντας έτσι τις τοπικές ανάγκες και διατηρούνται συχνά σε αρχαιολογικά πλαίσια.<sup>7</sup>

Η ανάλυση οργανικών υπολειμμάτων σε αρχαιολογικά κεραμικά αγγεία ή όστρακα έχει αποδειχθεί πως είναι ιδιαίτερα αποτελεσματική καθώς παρέχει πληροφορίες που αφορούν στο ίδιο το όστρακο, όπως είναι η πιθανή αρχική του χρήση, η κατασκευή και η διακόσμηση του μέσω της ταυτοποίησης διαφόρων σφραγιστικών/στεγανωτικών μέσων όπως είναι τα κεριά, οι ρητίνες, η πίσσα και ασφαλτώδη («bituminous») υλικά.<sup>5</sup> Επιπροσθέτως, η ανάλυση ενώσεων που υπάρχουν σε κεραμικά αγγεία υποβοηθεί, εμμέσως, την κατανόηση των δραστηριοτήτων των αρχαίων κοινωνιών, και παρέχει σημαντικές πληροφορίες για τις κοινωνικοοικονομικές εξελίξεις, την οργάνωση της παραγωγής, το εμπόριο, τις διατροφικές και καλλιεργητικές συνήθειες των λαών.<sup>8</sup> Χαρακτηριστικό παράδειγμα, αποτελούν ενώσεις που είναι ζωικής ή φυτικής προέλευσης και αντικατοπτρίζουν την κτηνοτροφία και την γεωργία του εκάστοτε αρχαίου πολιτισμού, ενώ οργανικές ενώσεις που φαντάζουν «εξωτικές» για μια κοινωνία αποκαλύπτουν την ύπαρξη

εμπορικών συναλλαγών με απομακρυσμένα μέρη για την προμήθεια διαφόρων αγαθών.<sup>5</sup> Τέλος, μέσω της μελέτης μιας πληθώρας ενώσεων που ανιχνεύονται σε κεραμικά αγγεία είναι δυνατός ο εντοπισμός του τρόπου παρασκευής και κατανάλωσης τροφίμων από ομάδες ανθρώπων, η αξιολόγηση της περιόδου εισαγωγής στη ανθρώπινη δίαιτα συγκεκριμένων τροφίμων και η παρατήρηση πιθανών αλλαγών στις πρακτικές επιβίωσης και στην εκμετάλλευση των διαθέσιμων πόρων.<sup>9</sup>

### *1.3. Οργανικά υπολείμματα - Ορισμός και ταξινόμηση*

Ο όρος οργανικά υπολείμματα χαρακτηρίζει μια πληθώρα άμορφων (χωρίς διακριτά μορφολογικά χαρακτηριστικά) οργανικών ενώσεων που βρίσκονται συνήθως σε πολύ χαμηλές συγκεντρώσεις σε αρχαιολογικά όστρακα.<sup>9</sup> Το γεγονός ότι είναι άμορφα κάνει δυνατή την διάκρισή τους από άλλα ιστορικά αντικείμενα όπως οστά, δέρμα, δόντια, σπόρους φυτών και γύρη. Ωστόσο η ταυτοποίηση τους δεν είναι εφικτή με τη χρήση οπτικού μικροσκοπίου ή με απλή παρατήρηση όπως γίνεται στα τελευταία, αλλά είναι απαραίτητη η χημική ανάλυση τους καθώς διαφέρουν ως προς την οργανική τους σύσταση.<sup>10</sup>

Κατά την μελέτη αρχαιολογικών κεραμικών είναι δυνατή η εύρεση δύο κατηγοριών οργανικών υπολειμμάτων σε αυτά.

Την πρώτη κατηγορία αποτελούν άμορφα κατάλοιπα που είναι ορατά με γυμνό μάτι και βρίσκονται συνήθως προσκολλημένα σε μορφή κρούστας στο εξωτερικό ή και στο εσωτερικό μέρος του κεραμικού. Οφείλονται κυρίως σε καμμένα υπολείμματα τροφίμων και σφραγιστικών μέσων από πυρκαγιά, είτε σε αιθάλη. Ωστόσο, αυτού του είδους τα κατάλοιπα συνήθως δεν χρησιμοποιούνται ούτε προτιμώνται για την αξιολόγηση του περιεχομένου ενός αγγείου, καθώς είτε απομακρύνονται κατά τον καθαρισμό του οστράκου πριν τη δειγματοληψία είτε είναι αρκετά επιδεκτικά σε διαδικασίες επιμόλυνσης ή απώλειας μετά την ανασκαφή.<sup>11,12</sup> Στην εικόνα 1.3.1. παρατίθεται ο τρόπος δειγματοληψίας δύο επιφανειακών καταλοίπων.

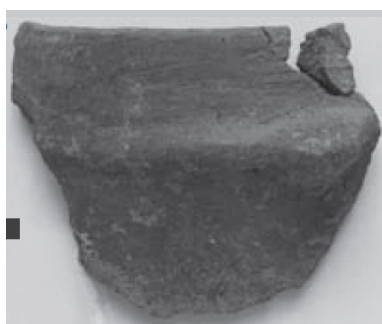
Αντίθετα, λόγω της ικανότητας των πορωδών υλικών να προσροφούν υγρές ή ημίρευστες ουσίες με τις οποίες έρχονται σε επαφή, ιχνοποσότητες οργανικών συστατικών είναι εφικτό να προσροφώνται σε μια ογκώδη, ανόργανη μήτρα

(κεραμικό) και να διατηρούνται εκεί για χιλιετίες. Έτσι, η έρευνα έχει στραφεί κυρίως στην ανάλυση των προσροφημένων υπολειμμάτων σε αγγεία καθώς αυτά αποτελούν πιο αντιπροσωπευτικά δείγματα για την εύρεση της αρχικής/κύριας χρήσης του αγγείου είτε ακόμα και για τον προσδιορισμό μιας πληθώρας χρήσεων του σκεύους, κατά το μαγείρεμα. Αυτό οφείλεται στο ότι οι ενώσεις προστατεύονται από μικροβιακές προσβολές στους πόρους του κεραμικού.



**Εικόνα 1.3.1.** Επιφανειακό οργανικό υπόλειμμα αριστερά: κατάλοιπο τροφίμου, δεξιά: υπόλειμμα από χρήση σφραγιστικού μέσου κατά την χρήση του αγγείου.<sup>12</sup>

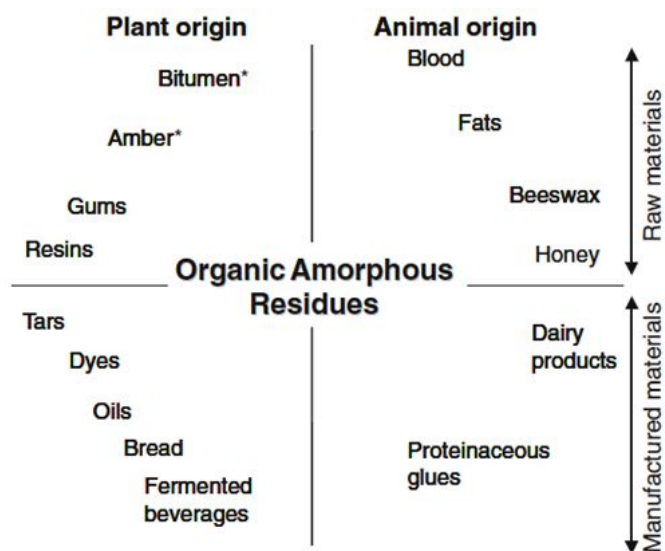
Είναι σημαντικό να τονιστεί ότι η προσρόφηση οργανικών ενώσεων είναι ευκολότερη στην περίπτωση των κεραμικών που δεν έχουν υποστεί εφυάλωση («unglazed»), αφού με αυτή τη διαδικασία οι πόροι του αγγείου σφραγίζονται.<sup>10</sup> Στην εικόνα 1.3.2. φαίνεται ένα παράδειγμα οστράκου στο οποίο δεν είναι ορατή η ύπαρξη οργανικού υπολείμματος.



**Εικόνα 1.3.2.** Όστρακο που περιέχει πιθανώς προσροφημένο κατάλοιπο.

Τα οργανικά υπολείμματα, ορατά ή μη, που απαντώνται κατά την μελέτη ιστορικών κεραμικών κατά κύριο λόγο ανήκουν στην ευρύτερη κατηγορία των φυσικών προϊόντων. Αυτό εξηγείται από το γεγονός ότι οι αρχαίοι πολιτισμοί εκμεταλλεύονταν στο έπακρο τα αγαθά της φύσης. Βιβλιογραφικά, οι ενώσεις αυτές, αναφέρονται συχνά και ως βιοδείκτες.<sup>13</sup> <sup>14</sup> Στην εικόνα 1.3.3.

παρατίθενται διάφορα φυσικά προϊόντα από τα οποία θα μπορούσαν να προέρχονται οργανικές ενώσεις που ταυτοποιούνται σε αρχαιολογικούς αμφορείς, ενώ γίνεται διάκριση μεταξύ φυτικών και ζωικών προϊόντων. Ακόμη, γίνεται διαχωρισμός μεταξύ πρώτων υλών και προϊόντων που έχουν υποστεί κάποιου τύπου επεξεργασία, όπως ζύμωση ή θέρμανση.



**Εικόνα 1.3.3.** Σχηματική περιγραφή της προέλευσης των οργανικών υπολειμμάτων φυσικών προϊόντων. \* δηλώνει προέλευση από ορυκτά.<sup>11</sup>

Αναλυτικότερα, από τις πιο χαρακτηριστικές ενώσεις που ταυτοποιούνται σε ιστορικά αγγεία είναι τα λιπαρά οξέα, με επικρατέστερα το στεατικό (C16:0) και το παλμιτικό (C18:0), τα οποία και συνήθως συσχετίζονται με υποβαθμισμένα («degraded») ζωικά λίπη.<sup>15</sup> Τα παραπάνω κορεσμένα οξέα σε συνδυασμό με τα ακόρεστα λιπαρά οξέα, ελαϊκό και λινολεϊκό οξύ (C18:1, C18:2) υποδεικνύουν την πιθανή ύπαρξη φυτικών προϊόντων σε ένα αγγείο.<sup>16</sup> Χρήσιμοι βιοδείκτες για τον προσδιορισμό της προέλευσης των λιπιδίων στα κεραμικά είναι και οι στερόλες. Η χοληστερόλη μπορεί να συσχετιστεί με ζωικά λίπη, ενώ οι β-στερόλη, η σιγμαστερόλη, η β-σιτοστερόλη και η Δ<sup>5</sup>-αβεναστερόλη αποτελούν φυτικές στερόλες.<sup>17</sup>

Τα τερπένια είναι μια κατηγορία ενώσεων που απαντάται αρκετά συχνά στις μελέτες ανάλυσης οργανικών υπολειμμάτων σε αρχαιολογικά ευρήματα. Χαρακτηριστικά παραδείγματα βιοδεικτών είναι οι ενώσεις αβιετικό οξύ, το οποίο σε υψηλές θερμοκρασίες μετατρέπεται σε ρητίνη, διυδροαβιετικό οξύ, 7-οξο-διυδροαβιετικό οξύ, το πιμαρικό οξύ και ο μεθυλικός του εστέρας. Μικρά οργανικά οξέα όπως τα οξέα τρυγικό, μαλικό, φουμαρικό, ηλεκτρικό, αζελαϊκό,

κιτρικό, αλλά και αρωματικά οξέα όπως το συριγκικό οξύ, είναι οι κυριότεροι βιοδείκτες του κρασιού.<sup>17, 18</sup>

#### *1.4. Πολυπλοκότητα ανάλυσης οργανικών καταλοίπων σε δείγματα πολιτισμικής κληρονομιάς*

Ο χημικός χαρακτηρισμός οργανικών υπολειμμάτων που βρίσκονται σε αρχαιολογικά αγγεία είναι μια πρόκληση για την Αναλυτική Χημεία καθώς πολλές είναι οι δυσκολίες που θα πρέπει να αντιμετωπιστούν. Αυτές οι δυσκολίες προκύπτουν τόσο κατά την δειγματοληψία όσο και κατά την ανάλυση τέτοιων δειγμάτων και κάνουν δυσχερή την εξαγωγή αναλυτικά ορθών συμπερασμάτων.

Κατ' αρχήν, η πολυπλοκότητα μιας τέτοιας μελέτης έγκειται στο γεγονός ότι το μέγεθος του δείγματος και κατ' επέκταση η ποσότητα του είναι συνήθως περιορισμένα. Συνεπώς, για την αποφυγή της τοπικής ετερογένειας κατά την δειγματοληψία, συνίσταται ως ασφαλής και αντιπροσωπευτική ποσότητα δείγματος προς ανάλυση τα 2-3 γραμμάρια κεραμικού, ποσότητα που όμως δεν είναι πάντα διαθέσιμη.<sup>5</sup> Επιπλέον, κατά την δειγματοληψία προσροφημένων οργανικών ενώσεων, λαμβάνονται αρκετές στρώσεις κεραμικού οι οποίες μπορεί να δώσουν αποτελέσματα όχι μόνο για την κύρια χρήση αλλά και για δευτερεύουσες χρήσεις του αγγείου (από τον εκάστοτε χρήστη), αυξάνοντας έτσι την πολυπλοκότητα της διαδικασίας ανάλυσης του δείγματος.

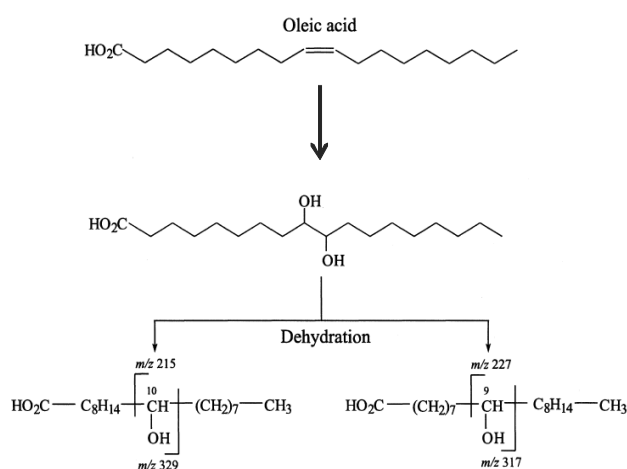
Είναι σημαντικό να σημειωθεί πως η εκχύλιση των μοριακών δεικτών είναι αποδοτικότερη όταν είναι γνωστή η χρήση του κεραμικού. Αυτό συντελεί στην επιλογή των κατάλληλων πειραματικών διαδικασιών με σκοπό την ανάκτηση του μεγαλύτερου ποσοστού του οργανικού υλικού από τους πόρους του αγγείου. Δυστυχώς όμως αυτό δεν είναι πάντα εφικτό, αφού οι πληροφορίες μας για τη χρήση διαφόρων τύπων αγγείων είναι συχνά συγκεχυμένες.<sup>7</sup>

Τα κεραμικά αγγεία από την χρήση τους ακόμη υποβάλλονται σε μια σειρά επάλληλων διεργασιών που οδηγούν στην απώλεια οργανικών υπολειμμάτων λόγω θέρμανσης κατά το μαγείρεμα είτε λόγω της πλύσης τους. Ωστόσο, οι σημαντικότερες απώλειες παρατηρούνται μετά την ταφή τους. Η «επιβίωση» των οργανικών ενώσεων σχετίζεται με την δραστικότητα τους και τις

λειτουργικές τους ομάδες. Έτσι, τα λιπαρά λόγω της υδροφοβικότητάς τους διατηρούνται καλύτερα από ότι οι υδατάνθρακες, οι πρωτεΐνες και τα νουκλεϊκά οξέα. Αυτός είναι και ο λόγος που οι περισσότερες έρευνες που έχουν αναφερθεί στη βιβλιογραφία σχετίζονται με την ανάλυση του λιπιδικού προφίλ των κεραμικών αγγείων.<sup>9</sup>

Ο βαθμός φθοράς και παλαίωσης των οργανικών ενώσεων είναι άμεσα συνδεδεμένος με την ίδια την χημική φύση τους. Πιο συγκεκριμένα, οι χημικές αλλοιώσεις που προκύπτουν οφείλονται σε διαδικασίες υδρόλυσης, οξειδωσης, αναγωγής και πολυμερισμού οι οποίες πραγματοποιούνται με την πάροδο του χρόνου.<sup>11</sup>

Χαρακτηριστικό παράδειγμα, αποτελούν τα λιπαρά οξέα καθώς στη πλειονότητα τους είναι κορεσμένα αφού υφίστανται οξειδωση των διπλών δεσμών με το πέρασμα του χρόνου. Παρακάτω αναπαριστάται σχηματικά ένας πιθανός τρόπος αποικοδόμησης των λιπαρών οξέων προς σχηματισμό υδροξυοξέων μέσω μιας αντίδρασης διυδροξυλίωσης του διπλού δεσμού του ελαϊκού οξέος (εικόνα 1.4.1).<sup>19</sup>

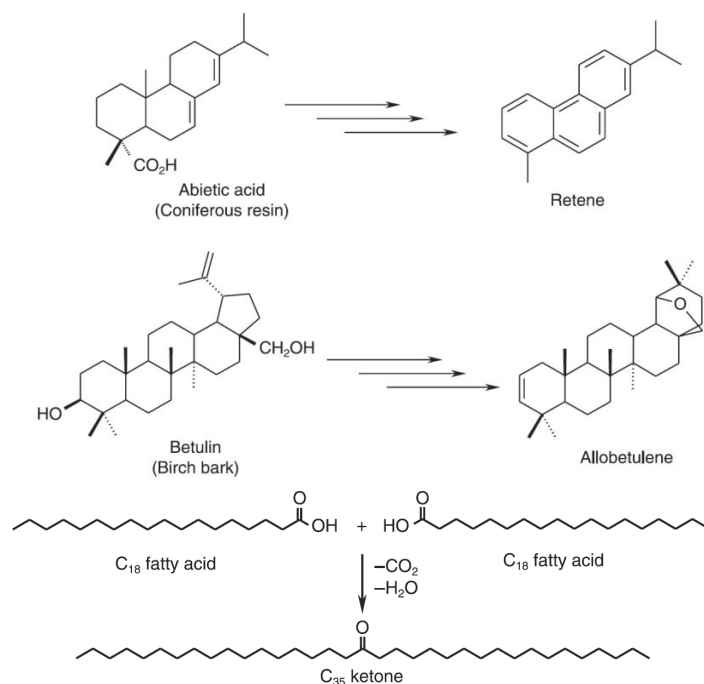


**Εικόνα 1.4.1.** Μία προτεινόμενη οδός αποικοδόμησης για το σχηματισμό κορεσμένων ακόρεστων υδροξυοξέων.<sup>19</sup>

Ένας ακόμη παράγοντας που συντελεί στην διατήρηση κάποιων ενώσεων στα κεραμικά αγγεία είναι το περιβάλλον στο οποίο είναι θαμμένα (pH, οξειδοαναγωγικό δυναμικό, θερμοκρασία, άνυδρη και υδατινή περιοχή, και βιομάζα).<sup>13</sup> Στην εικόνα 1.4.2. παρουσιάζεται η αλλοίωση ορισμένων χαρακτηριστικών βιοδεικτών κατά τη θέρμανση φυσικών προϊόντων και ο μετασχηματισμός τους σε νέες ενώσεις.<sup>20</sup> Για τα λιπαρά οξέα, οι ανοξικές συνθήκες είναι ευνοϊκές για την συντήρησή τους, ενώ οι υδατοδιαλυτές

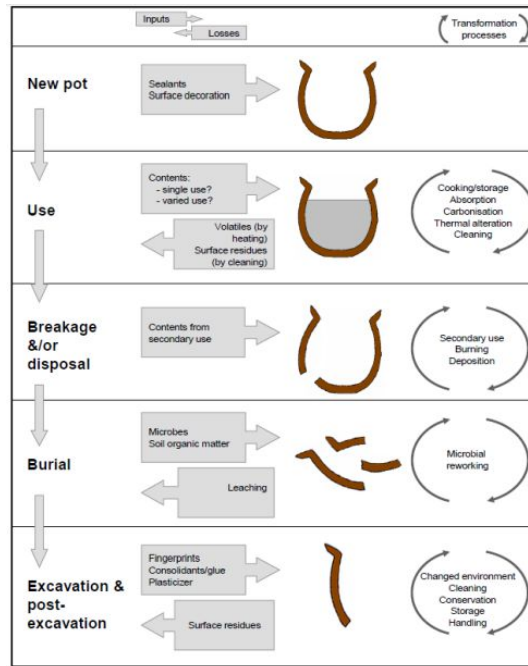


ενώσεις είναι πιθανό να απομακρυνθούν από το όστρακο μέσω διάχυσης ή έκπλυσης («leaching»), σε ένυδρα περιβάλλοντα. Για την εκτίμηση πιθανών περιβαλλοντικών επιδράσεων, συνιστάται περαιτέρω μελέτη του εδάφους που ήρθε σε επαφή με το όστρακο καθώς και σύγκριση των αναλυτικών αποτελεσμάτων του εσωτερικού και εξωτερικού μέρους του αγγείου.



**Εικόνα 1.4.2.** Παραγωγή τερπενοειδών και λιπιδικών βιοδεικτών κατά την θέρμανση φυσικών προϊόντων και κορεσμένων λιπαρών οξέων, αντίστοιχα.<sup>20</sup>

Τέλος, ενώσεις που έρχονται σε επαφή με μικροβιακό φορτίο είναι επιδεκτικές ως προς την αλλοίωση της σύστασής τους.<sup>13, 21, 22</sup> Τα παραπάνω συνοψίζονται διαγραμματικά στην εικόνα 1.4.3.



**Εικόνα 1.4.3.** Σχηματική αναπαράσταση των κύριων εισροών, απωλειών και μετασχηματισμών που επηρεάζουν την «επιβίωση» και τη σύσταση των οργανικών καταλοίπων στην αρχαιολογικά κεραμικά.<sup>21</sup>

## 1.5. Τεχνικές Ανάλυσης στην Αρχαιομετρία

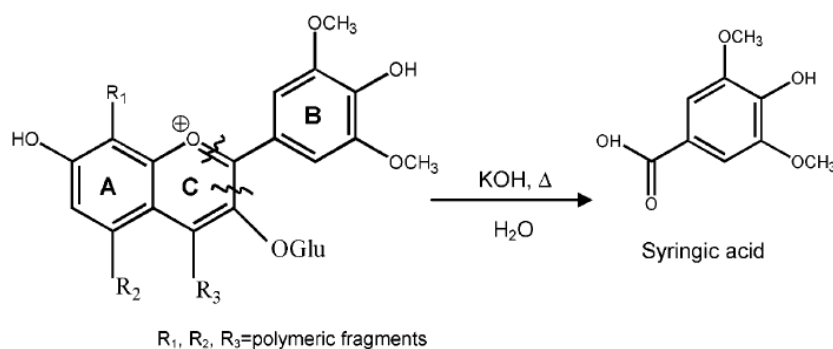
### 1.5.1. Χρωματογραφικές τεχνικές συζευγμένες με φασματομετρία μάζας, φασματομετρία FT-IR

Διάφορες χρωματογραφικές τεχνικές συζευγμένες με τη φασματομετρία μάζας αποτελούν τα κυριότερα αναλυτικά εργαλεία που χρησιμοποιούνται στην μελέτη ιστορικών αντικειμένων. Αυτό οφείλεται στα προτερήματα που παρέχουν οι τεχνικές αυτές, όπως τα πολύ χαμηλά όρια ανίχνευσης καθώς και η δυνατότητα προσδιορισμού της μοριακής δομής μιας πληθώρας οργανικών ενώσεων. Επιπλέον, το κόστος της ανάλυσης είναι χαμηλό σε σχέση με την αποτελεσματικότητα που παρέχεται.<sup>23</sup> Μια από τις πρώτες τεχνικές που χρησιμοποιήθηκε στην αρχαιομετρία είναι η αέρια χρωματογραφία με αναλογία ισοτόπων συζευγμένη με φασματομετρία μάζας, GC-C-IR-MS, η οποία δίνει τη δυνατότητα μέτρησης των σταθερών ισοτόπων άνθρακα ( $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ ) και αζώτου ( $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ ) σε μεμονωμένες ενώσεις πολύπλοκων δειγμάτων.<sup>24</sup> Επιπλέον, χρησιμοποιούνται ευρύτατα η αέρια και

η υγρή χρωματογραφία συζευγμένες με φασματομετρία μάζας, GC-MS, LC-MS (LC-MS/MS) καθώς και η φασματομετρία FT-IR.

Μια ερευνητική εργασία που πραγματοποιήθηκε το 2005<sup>16</sup> παρουσιάζει την λιπιδική ανάλυση δειγμάτων από 438 όστρακα τα οποία προέρχονταν από έξι αρχαιολογικές περιοχές της βόρειας Βρετανίας, κατά τη Νεολιθική περίοδο, 5000 π.Χ. Με τη χρήση της χρωματογραφικής τεχνικής GC-C-IR-MS βρέθηκε ότι με βάση το στεατικό και το παλμιτικό οξύ μπορεί να γίνει διάκριση των ζωικών λιπών, σε λιπαρά που προέρχονται από μηρυκαστικά, από μη μηρυκαστικά ζώα και σε λιπαρά γαλακτομικών προϊόντων. Σημαντικό ήταν το γεγονός ότι το 25% των λιπαρών ανήκαν στην κατηγορία των γαλακτομικών προϊόντων, τονίζοντας το ρόλο τους στην ανθρώπινη διατροφή εκείνη τη περίοδο.

Μια ερευνητική εργασία που δημοσιεύτηκε το 2004<sup>25</sup> είχε σκοπό την ταυτοποίηση βιοδεικτών κρασιού σε πέντε αρχαία αιγυπτιακά αγγεία τα οποία χρονολογούνταν στη Δυναστική περίοδο 3000 έως 1100 π.Χ. Με την χρήση υγρής χρωματογραφίας συζευγμένης με φασματομετρία MS/MS έγινε ταυτοποίηση του τρυγικού οξέος στα αγγεία αυτά. Επιπλέον, στην εσωτερική κρούστα ενός κεραμικού που βρέθηκε τοποθετημένο στο τάφο του βασιλιά Τουτανχαμών πραγματοποιήθηκε αλκαλική σύντηξη. Η αντίδραση αυτή (εικόνα 1.5.1.) είχε ως αποτέλεσμα την παραγωγή συριγγικού οξέος από την πιο σταθερή χημικά πολυμερισμένη μορφή της κύριας χρωστικής του κρασιού, τον 3-γλυκοζίτη της μαλβιδίνης («malvidine-3-glucoside»). Στην εργασία αυτή για πρώτη φορά κατέστη εφικτός ο προσδιορισμός του χρώματος του κρασιού που εμπεριείχονταν σε ιστορικά αγγεία.



Malvidin-3-glucoside in the polymerized pigment

**Εικόνα 1.5.1.** Παραγωγή του συριγγικού οξέος από τη δομή του 3-γλυκοζίτη της μαλβιδίνης στη πολυμερισμένη χρωστική με αλκαλική σύντηξη μέσω του σχηματισμού μιας ένυδρης μορφής στην οποία το πυράνιο (δακτύλιος C) διασπάζεται σε δύο στάδια.

Μια μελέτη που δημοσιεύτηκε το 2017<sup>26</sup> και αφορούσε στην ανάλυση κεραμικών αγγείων από δύο αρχαιολογικούς χώρους στην περιοχή του Καυκάσου, στη Γεωργία, αποτελεί τη δεύτερη χρονολογικά αρχαιότερη αναφορά σε ταυτοποίηση κρασιού στον κόσμο ως σήμερα. Κατά την έρευνα αυτή, κεραμικά καθώς και δείγματα χώματος που χρονολογούνταν στην πρώιμη Νεολιθική περίοδο (6000-5000 π.Χ.) αναλύθηκαν με τις τεχνικές LC-MS/MS, FT-IR και GC-MS. Οι δύο πρώτες τεχνικές έδειξαν ότι στα δείγματα όπου οι ενώσεις τρυγικό, μηλικό, ηλεκτρικό και κιτρικό οξύ υπήρξαν σε συγκεντρώσεις μεγαλύτερες από τις αντίστοιχες στα δείγματα χώματος, ήταν ασφαλής η υποστήριξη του ισχυρισμού ότι περιείχαν κρασί. Με την τεχνική της αέριας χρωματογραφίας συζευγμένης με την φασματομετρία μάζας, GC-MS ταυτοποιήθηκαν στα ίδια δείγματα λιπαρά οξέα που παράγονται από μικροοργανισμούς αλλά και «μοντέρνοι» επιμολυντές όπως το φθαλικό οξύ (πλαστικοποιητής) και το βεχενικό οξύ (συστατικό κρέμας χεριών).

Μια ερευνητική εργασία που δημοσιεύτηκε το 2005<sup>27</sup> αφορά στην ανάλυση τριών κεραμικών αγγείων που βρέθηκαν στην Αντίνοο, περιοχή της Αιγύπτου η οποία άκμασε κατά την Ρωμαϊκή περίοδο, 5<sup>ος</sup> – 7<sup>ος</sup> αιώνας μ.Χ. Η εύρεση μονοκαρβοξυλικών οξέων, α,ω-δικαρβοξυλικών οξέων, και διϋδροξυλιωμένων οξέων μεγάλης ανθρακικής αλυσίδας οδήγησαν στην ταυτοποίηση ελαίου φυτικής προέλευσης, ενώ οι τερπενοειδείς ενώσεις στην πιθανή ύπαρξη ρητίνης πεύκου. Οι τεχνικές που χρησιμοποιήθηκαν σε αυτή την εργασία ήταν η φασματομετρία FT-IR και η αέρια χρωματογραφία GC-MS.

Η προσπάθεια ταυτοποίησης των λιπαρών στην αυθεντική τους μορφή (χωρίς υδρόλυση) ήταν από τις πρώτες έρευνες οργανικής ανάλυσης που πραγματοποιήθηκαν στο πεδίο της αρχαιομετρίας. Έρευνα του 1990<sup>28</sup> περιγράφει την επιτυχή χρήση της αέριας χρωματογραφίας GC-MS στην ανάλυση λιπιδικών εκχυλισμάτων χωρίς την επιπρόσθετη απελευθέρωση των λιπαρών οξέων από τα σύνθετα λιπίδια («acyl lipids»). Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι ήταν εφικτή η ταυτοποίηση τόσο λιπαρών οξέων όσο και μόνο-, δι- και τριακυλογλυκερολών σε διάφορα αρχαιολογικά όστρακα. Μια πρόφατη μελέτη που δημοσιεύτηκε το 2016<sup>29</sup> πραγματοποιήθηκε με σκοπό να προσδιορίσει τις διατροφικές συνήθειες των κατοίκων ενός οικισμού στην Πάφο της Κύπρου κατά τη μεσαιωνική περίοδο (13<sup>ος</sup> αιώνας). Τα δείγματα προέρχονταν από μαγειρικά σκεύη και αναλύθηκαν με την τεχνική GC-MS. Τα

λιπαρά β-σιτοστερόλη, C-9 λιπαρό οξύ και αζελαϊκό οξύ που ταυτοποιήθηκαν απαντώνται κυρίως κατά το μαγείρεμα τροφίμων που περιέχουν φυτικά λιπαρά οξέα. Επιπλέον, ζωικά λιπαρά οξέα (χοληστερόλη και στεατικό οξύ) προσδιορίστηκαν από τα χρωματογραφήματα των οργανικών υπολειμμάτων, καθώς και τα κύρια οργανικά οξέα-βιοδείκτες του κρασιού.

Μια ακόμη έρευνα που δημοσιεύτηκε το 2016<sup>12</sup> καταδεικνύει την ικανότητα διάκρισης των λιπαρών οξέων που προέρχονται από θαλάσσιους οργανισμούς έναντι των χερσαίων ζωικών λιπαρών με τη χρήση της τεχνικής GC-MS. Η μελέτη αφορούσε στην ανάλυση αρχαιολογικών κεραμικών που πιθανολογούνταν ότι σχετίζονται με τη φαλαινοθηρία των Βάσκων, 16<sup>ος</sup>, 17<sup>ος</sup> αιώνας μ.Χ. Τα αποτελέσματα επιβεβαίωσαν την παραπάνω υπόθεση, καθώς ταυτοποιήθηκαν οι κυριότεροι βιοδείκτες θαλάσσιων ζωικών λιπαρών, όπως τα λιπαρά οξέα C16:1, C20:1, ενώ σε ιχνοποσότητες βρέθηκαν και τα ακόρεστα λιπαρά οξέα μεγάλης ανθρακικής αλυσίδας C20:5ω3, C22:6ω3 που αποτελούν τους κυριότερους βιοδείκτες ιχθυελαίου. Παράλληλα ταυτοποιήθηκαν και τα κορεσμένα λιπαρά C14:0 και C16:0.

Μια πολύ πρόσφατη μελέτη που δημοσιεύτηκε το 2017<sup>30</sup> αφορά στην ανάλυση αρχαιολογικών δοχείων μελιού και κεραμικών κυψελών που βρέθηκαν στην δυτική Ιβηρική Χερσόνησο και χρονολογούνται κατά την Ρωμαϊκή περίοδο, 2<sup>ος</sup> -5<sup>ος</sup> αιώνας μ.Χ. Τα αποτελέσματα από τη χρήση της τεχνικής GC-MS έδειξαν ότι οι κυριότερες ενώσεις που ταυτοποιήθηκαν ήταν οι μονοσακχαρίτες γλυκόζη, φρουκτόζη και γαλακτοπυρανόζη, ενώ σε χαμηλότερες συγκεντρώσεις ταυτοποιήθηκαν και κάποιοι δισακχαρίτες. Σημαντικό είναι το γεγονός της ταυτοποίησης των βιοδεικτών καπνού λεβογλουκοζάνη (levoglucosan) και υδροξυ-αβιετικού οξέος, οι οποίοι οφείλονται στη συγκομιδή του μελιού με την παραδοσιακή μέθοδο του καπνίσματος των μελισσών.

Τέλος, κατά την ανάλυση κεραμικών αγγείων<sup>31</sup> της πρώιμης κλασικής περιόδου που βρέθηκαν σε τάφο των Μάγια στον χώρο Rio Azul στη Γουατεμάλα, έγινε ταυτοποίηση των ενώσεων καφεΐνη και θεοβρωμίνη με τη χρήση της τεχνικής LC-MS. Οι ενώσεις αυτές αποτελούν ισχυρή ένδειξη της ύπαρξης κακάο στα αγγεία καθώς όπως αναφέρεται και από μελέτες, μόνο σε αυτό το «μεσοαμερικανικό εμπόρευμα», μπορούν να βρεθούν ταυτόχρονα και οι δύο ενώσεις.

### 1.5.2. Φασματοσκοπία NMR

Η φασματοσκοπία πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού στηρίζεται στις μαγνητικές ιδιότητες ορισμένων ατομικών πυρήνων όταν βρεθούν υπό την επίδραση ισχυρού μαγνητικού πεδίου.<sup>32</sup> Η αλληλεπίδραση της μαγνητικής ροπής ενός πυρήνα με ένα επιπλέον εξωτερικά εφαρμοζόμενο μαγνητικό πεδίο, έχει ως αποτέλεσμα την απορρόφηση και επανεκπομπή ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας με συχνότητα η οποία εξαρτάται από το χημικό περιβάλλον του πυρήνα.

Η ανακάλυψη της φασματοσκοπίας NMR το 1945, ήταν ιδιαίτερης σημασίας για την επιστήμη της Χημείας καθώς στη συνέχεια αναπτύχθηκαν πολλές εφαρμογές της στην ανάλυση και τον χαρακτηρισμό χημικών ενώσεων. Αναλυτικότερα, η φασματοσκοπία NMR χρησιμοποιείται ευρύτατα στην χημεία για την ταυτοποίηση της δομής μια ένωσης, τον έλεγχο της πορείας μια αντίδρασης, την μελέτη του μηχανισμού μιας αντίδρασης με τη χρήση επισημασμένων μαγνητικών ισοτόπων,  $^2\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ ,  $^{15}\text{N}$ , κ.α. Επιπλέον, η φασματοσκοπία πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού είναι ιδιαίτερα διαδεδομένη στην Αναλυτική χημεία, καθώς επιτρέπει την ανάλυση και τον προσδιορισμό της χημικής σύστασης πολύπλοκων οργανικών δειγμάτων, όπως τα τρόφιμα. Συγκεκριμένα, αποτελεί ισχυρότατο αναλυτικό εργαλείο για τον ποιοτικό και ποσοτικό προσδιορισμό των ενώσεων που περιέχονται σε τρόφιμα, ενώ συμβάλλει στον έλεγχο ποιότητας, στον προσδιορισμό της νοθείας και της γεωγραφικής τους προέλευσης.<sup>33</sup>

Είναι γνωστό από τη θεωρητική περιγραφή της φασματοσκοπίας NMR ότι «μαγνητικά ενεργοί» είναι μόνο οι πυρήνες που εμφανίζουν ιδιοστροφορμή (spin), δηλαδή που έχουν περιττό αριθμό πρωτονίων και/ή νετρονίων. Η χρήση της φασματοσκοπίας NMR είναι εφικτή και για την μελέτη ανόργανων ενώσεων/υλικών, δεδομένου ότι πολλά στοιχεία του Περιοδικού Πίνακα έχουν ένα σταθερό ισότοπο, το οποίο εμφανίζει μαγνητική ροπή, όπως πχ. τα  $^{29}\text{Si}$ ,  $^{55}\text{Mn}$ ,  $^{207}\text{Pb}$ ,  $^{39}\text{K}$ , κλπ.<sup>32</sup> Η φασματοσκοπία NMR βρίσκει εφαρμογή και στους κλάδους της Ιατρικής, της Βιολογίας, με χαρακτηριστικό παράδειγμα την χρήση μιας άλλης πτυχής της τεχνικής, της μαγνητικής τομογραφίας MRI (Magnetic Resonance Imaging), με τη χρήση της οποίας μπορεί να γίνει διάκριση καλοήθων από κακοήγη νεοπλασμάτων, διάγνωση καρκίνων του

πνεύμονα κ.α. Για την μελέτη βιομορίων όπως είναι οι πρωτεΐνες, είναι δυνατή η χρήση της πολυδιάστατης φασματοσκοπίας NMR καθιστώντας εφικτό τον προσδιορισμό της τρισδιάστατης δομής των μακρομοριακών πρωτεϊνών σε διάλυμα.<sup>33</sup>

Παρά τις πολλές εφαρμογές της φασματοσκοπίας NMR σε διάφορα επιστημονικά πεδία έρευνας όπως προαναφέρθηκε, η μέθοδος αυτή μόνο σχετικά πρόσφατα χρησιμοποιήθηκε για την ανάλυση δειγμάτων πολιτισμικής κληρονομιάς, και συγκεκριμένα η εφαρμογή της σε τέτοιου είδους δείγματα ξεκίνησε στις αρχές της δεκαετίας του 1980. Η μελέτη στερεών δειγμάτων από ιστορικά αντικείμενα έγινε εφικτή με την ανάπτυξη της τεχνικής της φασματοσκοπίας NMR υψηλής ανάλυσης στερεής κατάστασης, HR-MAS (High Resolution-Magic Angle Spinning) και τη δυνατότητα χρήσης της τεχνικής διασταυρούμενης πόλωσης (cross polarization), με την οποία ενισχύεται η ευαισθησία ενός λιγότερο άφθονου πυρήνα όπως του  $^{13}\text{C}$  με την βοήθεια του σήματος του  $^1\text{H}$ .<sup>34</sup> Επιπλέον, η δυνατότητα λήψης δισδιάστατων φασμάτων αποδείχθηκε ιδιαίτερα χρήσιμη στην μελέτη πολύπλοκων δειγμάτων πολιτισμικής κληρονομιάς.<sup>35</sup>

Είναι σημαντικό να αναφερθεί ότι η φασματοσκοπία NMR στερεής κατάστασης υπερτερεί έναντι των πιο συχνά χρησιμοποιούμενων τεχνικών στην μελέτη δειγμάτων που προέρχονται από ιστορικά αντικείμενα, διότι καθιστά εφικτή τη μέτρηση ενός δείγματος «ως έχει» (μορφή «bulk»), χωρίς να απαιτείται προκατεργασία αυτού με εκχύλιση. Επιπλέον, και η φασματοσκοπία NMR υγρής κατάστασης έχει σημαντικά πλεονεκτήματα σε σχέση με άλλες αναλυτικές τεχνικές, αφού η προκατεργασία του δείγματος είναι απλούστερη συγκριτικά με αυτή σε μεθόδους όπως η GC-MS, όπου συνήθως απαιτούνται διαδικασίες χημικής υδρόλυσης, μεθυλίωσης ή παραγοντοποίησης πριν τη μέτρηση του δείγματος.<sup>36</sup> Τέλος, η φασματοσκοπία NMR δεν είναι επεμβατική ως προς το εξεταζόμενο δείγμα όσον αφορά στη χημική σύσταση των ενώσεων που το απαρτίζουν, όπως για παράδειγμα η φασματομετρία MS, όπου οι χημικές ενώσεις θραυματοποιούνται αμετάκλητα κατά τον προσδιορισμό του μοριακού τους βάρους.

Λόγω της ισχυρής αναλυτικής της ικανότητας, ένα αρκετά ευρύ φάσμα δειγμάτων έχουν μελετηθεί έως σήμερα με τη χρήση της φασματοσκοπίας

NMR, το οποίο περιλαμβάνει την μελέτη δέρματος, οστών, συνδετικών χρωμάτων, υπολειμμάτων τροφίμων, ελαίων, κηρών, ρητινών, ακόμη και εδάφους από αρχαιολογικά ευρήματα.<sup>37 38 39</sup>

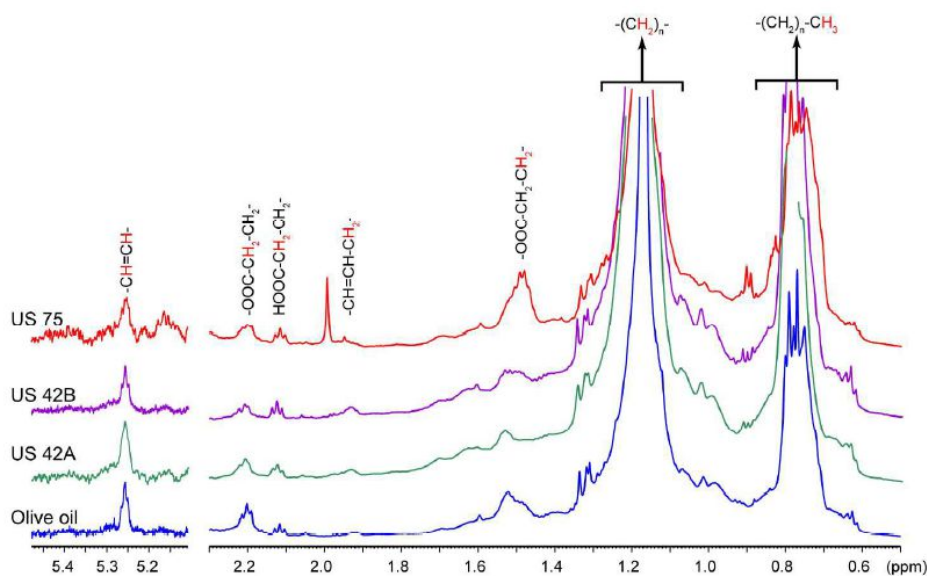
Μια ενδιαφέρουσα εφαρμογή της φασματοσκοπίας στερεής κατάστασης NMR<sup>40</sup> αποτελεί η μελέτη δειγμάτων μπάλας από καουτσούκ τα οποία είχαν κατασκευαστεί από αρχαίους Μεσοαμερικανούς κατά το 1600 π.Χ. Παρατηρήθηκε ότι η ελαστικότητα και η ευκαμψία των αντικειμένων σφαιρικούσχήματος οφείλονταν στο χυμό του φυτού *Ipomoea alba* που αναμιγνύοταν εκείνη την εποχή κατά την επεξεργασία του λατέξ, μετά την παραλαβή του από το δέντρο *Castilla elastica*. Το λατέξ αποτελείται από πολυμερικές αλυσίδες cis-1,4-πολυισοπρενίου οι οποίες διασταυρώνονται με τις χλωροσουλφονικές ομάδες («sulfonyl chloride») ή ομάδες σουλφονικού οξέος, που εμπεριέχονται στο χυμό του φυτού *Ipomoea alba*.

Ακόμη πιο πρόσφατη είναι η μελέτη δειγμάτων από ιστορικά αντικείμενα που πραγματοποιείται με τη χρήση της φασματοσκοπίας NMR υγρής κατάστασης. Μια ερευνητική εργασία του 2014<sup>41</sup> αφορά στην ανάλυση δύο δειγμάτων από αρχαιολογικά αντικείμενα που βρέθηκαν σε τάφους στο Μιλάνο και χρονολογούνται επί Ρωμαϊκής περιόδου, και πραγματοποιήθηκε με την χρήση των φασματοσκοπικών τεχνικών <sup>13</sup>C NMR και FT-IR. Μελετήθηκαν δείγματα διαφόρων ρητινών, λιβανιού και μύρου τα οποία και συγκρίθηκαν με τα αντίστοιχα φάσματα των δειγμάτων των αρχαιολογικών ευρημάτων. Τα αποτελέσματα ήταν θετικά ως προς την ταυτοποίηση τριτερπενικών ρητινών και λιβανιού, γεγονός που καταδεικνύει την χρήση του σε ταφικές τελετές, ενώ ήταν δυνατή και η παρατήρηση της γήρανσης των αρχαιολογικών δειγμάτων. Μια ακόμη πιο πρόσφατη μελέτη που δημοσιεύτηκε το 2017<sup>42</sup> παρουσιάζει την αποτελεσματικότητα του συνδυασμού των τεχνικών NMR, ATR FT-IR και SEM-EDX στην ανάλυση κεραμικών αγγείων που προέρχονταν από δύο αρχαιολογικούς χώρους, και χρονολογούνται κατά την εποχή του Χαλκού, 2000-1000 π.Χ, και του Σιδήρου, 1600 - 600 π.Χ. Τα αναλυτικά αποτελέσματα έδειξαν ότι είναι δυνατή η ταυτοποίηση ζωικών λιπών (χοληστερόλη), τρυγικού οξέος που υποδηλώνει την ύπαρξη κρασιού, υδρολυμένων τμημάτων γλυκεριδίων (μονο-, δι-γλυκερίδια), καθώς και αποδομημένων μορφών άκυλο λιπαρών οξέων (κετο-ομάδες συζευγμένες με διπλό δεσμό). Επιπλέον, ταυτοποιήθηκαν φυτικά λιπαρά που όμως βρέθηκε ότι αποτελούν



«μοντέρνους» επιμολυντές, καθώς από την εικόνα SEM είναι ευδιάκριτη η καλή διατήρηση της δομής της κυτταρίνης και της λιγνίνης.

Έρευνα που δημοσιεύτηκε τον Μάιο του 2018<sup>43</sup>, καταδεικνύει τη χρήση της φασματοσκοπίας NMR υγρής κατάστασης στη μελέτη τριών δειγμάτων από αρχαιολογικά κεραμικά που βρέθηκαν στον προϊστορικό οικισμό Castelluccio, ο οποίος αναπτύχθηκε κατά την εποχή του Χαλκού, στη Σικελία. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι και στα τρία δείγματα των κεραμικών αγγείων εμφανίστηκαν χαρακτηριστικές κορυφές κορεσμένων λιπαρών οξέων ενώ σε δύο από αυτά βρέθηκαν και κορυφές που αντιστοιχούν σε ακόρεστα λιπαρά οξέα (εικόνα 1.5.2.). Με την χρήση της αέριας χρωματογραφίας συζευγμένης με την φασματομετρία μάζας, βρέθηκε ότι τα κορεσμένα λιπαρά οξέα στεατικό και παλμιτικό υπήρχαν σε όλα τα αγγεία. Τα ακόρεστα λιπαρά οξέα ελαϊκό και λινολεϊκό ταυτοποιήθηκαν σε ένα δείγμα και αποτελούν βιοδείκτες του ελαιολάδου ενώ η ύπαρξη του ενός εκ των δύο οξέων υποστηρίζει την πιθανή φύλαξη κάποιου φυτικού ελαίου στο αγγείο.



**Εικόνα 1.5.2.** Σύγκριση φασμάτων  $^1\text{H}$  NMR οργανικών υπολειμμάτων αρχαιολογικών αγγείων σε σχέση με πρότυπο δείγμα ελαιολάδου (προσομοίωση) που εμπεριεχόταν σε κεραμικό αγγείο.

Σύμφωνα με τα παραπάνω, είναι εμφανές ότι τα τελευταία χρόνια η φασματοσκοπία NMR καθίσταται μια πολλά υποσχόμενη αναλυτική τεχνική όσον αφορά στον τομέα της αρχαιομετρίας. Αυτό αποδίδεται στο γεγονός ότι στοχεύει στο να καταστήσει αποτελεσματικότερη και ταχύτερη την ανάλυση και τον προσδιορισμό της χημικής σύστασης οργανικών υπολειμμάτων σε

δείγματα από αρχαιολογικά ευρήματα και ιστορικά αντικείμενα, παρέχοντας πολύτιμες πληροφορίες που ενισχύουν την αρχαιολογική έρευνα.

## Σκοπός εργασίας

Πρωταρχικό στόχο της παρούσας μεταπτυχιακής διατριβής αποτελεί η ανάπτυξη μιας νέας μεθοδολογίας και η εφαρμογή της φασματοσκοπίας NMR υγρής κατάστασης στην ανάλυση αρχαιολογικών κεραμικών αγγείων. Τα αγγεία αυτά βρέθηκαν έπειτα από ανασκαφές, σε δύο χώρους ενός μινωικού ανακτόρου στις Αρχάνες Κρήτης, και εκτιμάται ότι χρησιμοποιούνταν για την αποθήκευση/μεταφορά αγροτικών προϊόντων. Αναλυτικότερα, η διατριβή αφορά στην ανάλυση οκτώ κεραμικών αγγείων για τον προσδιορισμό και την ταυτοποίηση χημικών ενώσεων–μοριακών δεικτών που αναμένεται να παρέχουν πληροφορίες σχετικά με τη αρχική/κύρια χρήση των κεραμικών.

Η μελέτη των αρχαιολογικών οστράκων αποτελείται από τρία επιμέρους στάδια. Αρχικά, θα γίνει προσεκτική δειγματοληψία με κατάλληλη μεθοδολογία των κεραμικών αγγείων, ώστε τα προκύπτοντα δείγματα να είναι αντιπροσωπευτικά για την ανάλυση περιεχομένου και να δοθεί μια πλήρης εικόνα της κατανομής των ενώσεων στα όστρακα. Στη συνέχεια, θα χρησιμοποιηθούν δύο διαλύτες διαφορετικής πολικότητας με σκοπό να εκχυλιστεί το μεγαλύτερο μέρος των οργανικών υπολειμμάτων των δειγμάτων που προέκυψαν από τα αρχαιολογικά αντικείμενα. Η χρήση δύο διαλυτών εκχύλισης είναι απαραίτητη, εφόσον δεν είναι γνωστό το πιθανό περιεχόμενο του εκάστοτε κεραμικού που διατέθηκε για ανάλυση. Ακολούθως, για τον πλήρη χαρακτηρισμό των ενώσεων, θα πραγματοποιηθεί λήψη μονοδιάστατων και δισδιάστατων φασμάτων NMR ( $^1\text{H}$  NMR,  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  COSY,  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  HSQC,  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  HMBC).

Επιπλέον, πέντε δείγματα χώματος τα οποία περιέχονταν στα αγγεία, θα αναλυθούν με την ίδια πειραματική διαδικασία που αναφέρθηκε παραπάνω, με σκοπό να αποτελέσουν δείγματα αναφοράς/τυφλά δείγματα (blanks). Με αυτό το τρόπο, θα μπορέσει να γίνει εξακρίβωση της πιθανής επιμόλυνσης των αγγείων που οφείλεται σε περιβαλλοντικούς παράγοντες, είτε σε μικροοργανισμούς λόγω της μακροχρόνιας επαφής των αρχαιολογικών κεραμικών οστράκων με το έδαφος.

Τέλος, θα προσδιοριστεί η προέλευση των οργανικών υπολειμμάτων και θα γίνει συσχετισμός ορισμένων εξ αυτών, με ενώσεις που αποτελούν πιθανούς μοριακούς ιχνηλάτες τροφίμων ή των προϊόντων αποικοδόμησης τους.

## Κεφάλαιο 2. Πειραματικό Μέρος

### 2.1. Ιστορικά αντικείμενα προς ανάλυση

Τα δείγματα που αναλύθηκαν στην παρούσα μεταπτυχιακή εργασία προέρχονται από τα δωμάτια 32 και 33 του μινωικού ανακτόρου στη θέση Τουρκογειτονία, στις Αρχάνες. Λήφθηκαν από έναν εξέχοντα αποθηκευτικό χώρο και πιθανολογείται να βρίσκονταν εκεί για εμπόριο, ανταλλαγή. Τα ιστορικά αντικείμενα είναι οκτώ κεραμικά αγγεία και κατηγοριοποιούνται σύμφωνα με τον τρόπο κατασκευής τους, το σχήμα τους και συνεπώς και τη μορφή του περιεχομένου τους (στερεό ή ρευστό/ ημίρευστο περιεχόμενο), το οποίο σύμφωνα με τις αρχαιολογικές αναφορές αφορά σε αγροτικά προϊόντα, στους τέσσερις παρακάτω τύπους:

- 1) Κάδος: Είδος ανοιχτού αγγείου, ευρείας αποθηκευτικής δυναμικής και μεγάλης χωρητικότητας (περίπου 15 έως 20 Kg). Λόγω της διαμόρφωσής του, στόμιο ίδιας ή μεγαλύτερης διαμέτρου από την βάση, υποστηρίζεται ότι δεν είναι πιθανή η χρήση του για αποθήκευση ή μεταφορά υγρών προϊόντων.
- 2) Ωειδής αμφορέας: Οι αμφορείς αναφέρονται σε κλειστού τύπου δοχεία ώστε να είναι δυνατή η μεταφορά του περιεχομένου. Χρήση για αποθήκευση ή μεταφορά ρευστού προϊόντος.
- 3) Συνήθης αμφορέας: Κλειστό αποθηκευτικό αγγείο, μακράς αποθηκευτικής διάρκειας, χωρητικότητα 12-16 L. Διάμετρος στομίου πολύ πιο μικρή από τη διάμετρο της βάσης. Συνήθης χρήση για αποθήκευση ρευστών ή ημίρευστων τροφίμων.
- 4) Κυλινδρικός αμφορέας: Πολύ βαρύ όστρακο λόγω παχέων τοιχωμάτων και σύστασης πηλού. Μικρή χωρητικότητα (1,5-2 L). Πιθανή η φύλαξη ρευστού πολύτιμου περιεχομένου.

Επιπλέον, αναλύθηκαν πέντε δείγματα χώματος τα οποία βρέθηκαν στο εσωτερικό συγκεκριμένων οστράκων κατά την ανασκαφή. Στον πίνακα 2.1.1.

παρατίθενται πληροφορίες και στοιχεία για τα αρχαιολογικά όστρακα και τα δείγματα χώματος που τους αντιστοιχούν, που λήφθηκαν από την Εφορεία Αρχαιοτήτων.

**Πίνακας 2.1.1.** Συνοπτικές πληροφορίες σχετικά με τα αντικείμενα προς ανάλυση.

Δείγμα (όστρακο)	Δωμάτιο εύρεσης	Τύπος	Μέρος αγγείου	Δείγμα χώματος	Χρονιά ανασκαφής
27	32	Κάδος	Τοίχωμα (κατώτερο τμήμα)	x	1999-2001
85	32	Κάδος	Πυθμένας		1999-2001
53	32	Συνήθης αμφορέας	Κατώτερο τμήμα/πυθμένας		1999-2001
77	32	Συνήθης αμφορέας	Πυθμένας	x	1999-2001
19	33	Συνήθης αμφορέας	Πυθμένας		1999-2001
86	32	Ωοειδής αμφορέας	Τοίχωμα (κατώτερο τμήμα)		1999-2001
30	33	Κυλινδρικός αμφορέας	Τοίχωμα (κατώτερο τμήμα)	x	1999-2001
44	33	Κυλινδρικός αμφορέας	Πυθμένας		1999-2001

Με x, σημειώνονται τα δείγματα για τα οποία δεν ήταν διαθέσιμο δείγμα χώματος από το εσωτερικό μέρος του αγγείου.

## 2.2. Δειγματοληψία

Η δειγματοληψία των κεραμικών αγγείων για την ανάλυση του οργανικού υπολείμματος που έχει συντηρηθεί στους πόρους τους, γίνεται με πολύ συγκεκριμένο τρόπο, όπως έχει αναφερθεί εκτενώς στη βιβλιογραφία.<sup>44</sup> Ο τρόπος αυτός ακολουθήθηκε πιστά και στην παρούσα εργασία.

Πιο συγκεκριμένα, έγινε καθαρισμός του κάθε οστράκου με πινέλο και έπειτα με νυστέρι απομακρύνθηκε το επιφανειακό στρώμα σκόνης ή/και χώματος του κεραμικού. Αυτό έγινε με σκοπό την αποφυγή πιθανής επιμόλυνσης του οργανικού κατάλοιπου των πόρων από την επιφάνεια του αγγείου λόγω επαφής για χιλιετίες με το έδαφος. Επιπλέον, είναι σημαντικό να τονιστεί ότι σε όποιο όστρακο βρέθηκε προσκολλημένη επιφανειακή κρούστα, η τελευταία

απομακρυνόταν με προσοχή και φυλασσόταν ώστε να αναλυθεί και να μελετηθεί ξεχωριστά. Έπειτα, με τη χρήση τρυπανιού χειρός έγινε δειγματοληψία των πόρων του κεραμικού σε βάθος περίπου 2 mm και σε διαστάσεις 1cm\*1cm. Η ποσότητα δείγματος που λήφθηκε ήταν ανάλογη του μεγέθους του κάθε κεραμικού. Η παραπάνω διαδικασία ακολουθήθηκε τόσο για την εσωτερική πλευρά του οστράκου όσο και για την εξωτερική. Παρακάτω δίνεται μια αντιπροσωπευτική εικόνα του τρόπου δειγματοληψίας (εικόνα 2.2.1.).



**Εικόνα 2.2.1.** Δεύτερη δειγματοληψία του εσωτερικού μέρους του αγγείου με αριθμό δείγματος 19.

Τα δείγματα χρώματος κονιορτοποιήθηκαν σε ιγδίο ώστε να υπάρχει όσο το δυνατόν περισσότερη ομοιογένεια σε όλη τη μάζα του δείγματος.

Σε αυτό το σημείο είναι σημαντικό να τονιστεί ότι προέκυψαν παραπάνω από ένα δείγματα για το κάθε κεραμικό αγγείο καθώς αναλύθηκε το εσωτερικό και το εξωτερικό τους μέρος, σε κάποια υπήρχε κρούστα προσκολλημένη στην επιφάνειά τους ή επιπλέον δείγμα χρώματος, όπως προαναφέρθηκε. Επιπρόσθετα, σε κάποια δείγματα τα οποία είχαν μεγαλύτερο ενδιαφέρον ως προς τις ενώσεις που εκχυλίστηκαν έγινε δειγματοληψία εκ νέου σε διαφορετικά σημεία, για σύγκριση των αποτελεσμάτων ή ταυτοποίηση περαιτέρω ενώσεων καθώς είναι σημαντικό να επισημανθεί η τυχαία κατανομή του οργανικού υπολείμματος στους πόρους ενός κεραμικού αγγείου.<sup>5</sup>

Στη συνέχεια, παρατίθεται ο πίνακας 2.2.2. ο οποίος περιλαμβάνει τον αριθμό δειγματοληψιών που πραγματοποιήθηκαν για το κάθε δείγμα, την πιθανή ύπαρξη κρούστας και του μέρους του οστράκου όπου ήταν προσκολλημένη.

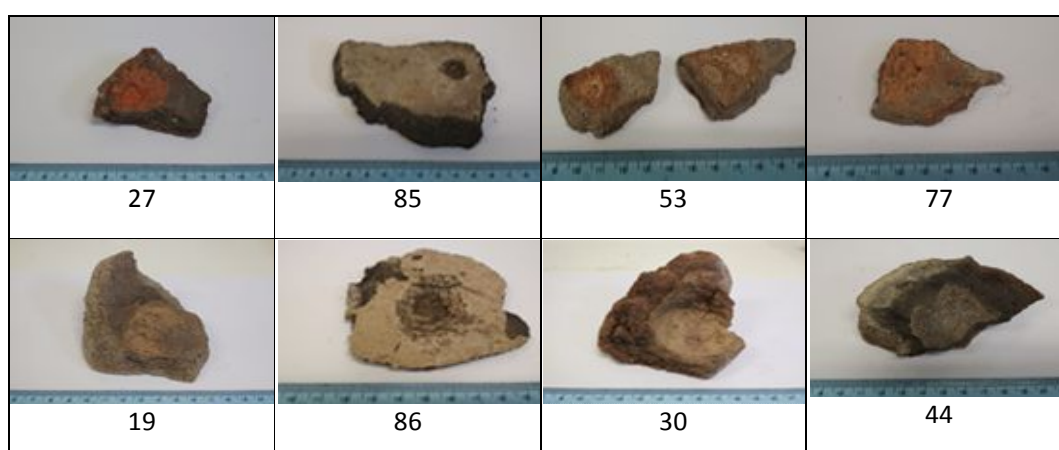
**Πίνακας 2.2.2.** Πληροφορίες σχετικά με την δειγματοληψία των κεραμικών αγγείων κατά την πειραματική διαδικασία.

Δείγμα	27	85	53	77	19	86	30	44
Δειγματοληψίες	1	1	3	1	2	1	1	1
Κρούστα/ Μέρος οστράκου	x	x	x	x	Εξωτερικό	Εσωτερικό	x	x
Επιφανειακή κρούστα/ Μέρος οστράκου	x	x	x	x	x	x	Εσωτερικό	x

Με x, σημειώνονται τα δείγματα που δεν είχαν κρούστα.

Στον πίνακα 2.2.3. φαίνονται οι εικόνες των οκτώ δειγμάτων όπως προέκυψαν μετά τη δειγματοληψία με σκοπό την λήψη των πόρων του εσωτερικού τους μέρους.

**Πίνακας 2.2.3.** Εικόνες του εσωτερικού μέρους των δειγμάτων μετά τη δειγματοληψία.





### 2.3. Διαλύτες – Πρότυπες ενώσεις

Οι διαλύτες που χρησιμοποιήθηκαν για την εκχύλιση των οργανικών ενώσεων ήταν CH<sub>3</sub>OH καθαρότητας HPLC και CHCl<sub>3</sub> υψηλής καθαρότητας για χρήση σε αναλυτικές τεχνικές, των εταιριών Chembiotin και Fisher Scientific, αντίστοιχα. Οι διαλύτες που χρησιμοποιήθηκαν για τη λήψη φασμάτων NMR ήταν δευτεριωμένη μεθανόλη (CD<sub>3</sub>OD), χλωροφόρμιο (CDCl<sub>3</sub>) περιεκτικότητας 99,8% σε δευτέριο και νερό (D<sub>2</sub>O) με 99,9% περιεκτικότητα δευτερίου, της εταιρείας Chembiotin.

Επιπλέον χρησιμοποιήθηκαν πρότυπες ουσίες για την ταυτοποίηση των ενώσεων των δειγμάτων, οι οποίες ήταν η τριαλόζη της εταιρείας AlfaAesar, το DL-τρυγικό οξύ, η μέσο-2,3-βουτανοδιόλη της Sigma-Aldrich και ένα μίγμα ρακεμικού και μέσο μορφής της 2,3-βουτανοδιόλης της εταιρείας Fluka. Το ηλεκτρικό νάτριο που χρησιμοποιήθηκε, ήταν της εταιρείας Sigma-Aldrich.

### 2.4. Πειραματική διαδικασία

Για τη λήψη φασμάτων NMR έγινε εκχύλιση των δειγμάτων με τη χρήση υδατόλουτρου υπερήχων, σε δύο διαλύτες διαφορετικής πολικότητας. Οι υπέρηχοι βοηθούν στη καλύτερη διείδυση του διαλύτη στους πόρους του κεραμικού μέσω του σχηματισμού κοιλοτήτων και συνεπώς σημείων με υψηλή πίεση και θερμοκρασία<sup>45</sup>, με αποτέλεσμα να γίνεται καλύτερη εκχύλιση των οργανικών ενώσεων. Αυτός ο τρόπος εκχύλισης είναι ο συνηθέστερος τα τελευταία χρόνια καθώς είναι εξίσου αποτελεσματικός αλλά και γρηγορότερος από παλιότερες τεχνικές εκχύλισης οργανικών υπολειμμάτων, όπως είναι η εκχύλιση με συσκευή Soxhlet<sup>46</sup>. Το χλωροφόρμιο χρησιμοποιήθηκε ώστε να εκχυλιστούν οι λιγότερο πολικές ενώσεις<sup>47</sup> και κυρίως τα λιπαρά και οι τερπενοειδείς ουσίες που πιθανώς εμπεριέχονταν στους πόρους του οστράκου. Για τις πιο πολικές ενώσεις, επιλέχθηκε ένα διάλυμα υπερκάθαρου νερού και μεθανόλης σε αναλογία 4:1<sup>25</sup>.

Αρχικά πραγματοποιήθηκε εκχύλιση 100 ή 200 mg κονιορτοποιημένου οστράκου σε 2 ml δαλύτη για 20 λεπτά σε γυάλινα φιαλίδια των 15 ml. Έπειτα έγινε μεταφορά του εκχυλίσματος σε πλαστικό φιαλίδιο (falcon/erppendorf) και έγινε φυγοκέντρηση αυτού για 15 λεπτά στις 6000

στροφές, rpm. Στη συνέχεια, το υπερκείμενο μεταφέρθηκε σε γυάλινο φιαλίδιο και έγινε απομάκρυνση του διαλύτη μέχρι ξηρού με τη χρήση αντλίας κενού ( $\text{CHCl}_3$ ) ή λυοφιλοποίηση ( $\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{MeOH}$ ). Τέλος, προστέθηκαν 600  $\mu\text{l}$  δευτεριωμένου διαλύτη. Η διαδικασία επαναλήφθηκε δύο ακόμη φορές για το κάθε δείγμα.

Όπως προαναφέρθηκε, σε κάποια δείγματα έγινε εκ νέου δειγματοληψία. Έτσι, 500 mg κεραμικού εκχυλίστηκαν σε 5 ml μίγματος διαλύτη υψηλής καθαρότητας. Στην περίπτωση των δειγμάτων χρώματος η ποσότητα που χρησιμοποιήθηκε για εκχύλιση ήταν 1,5 gr. Η πειραματική διαδικασία ήταν η ίδια όπως παραπάνω. Ωστόσο, είναι σημαντικό να σημειωθεί ότι η φυγοκέντρηση των δειγμάτων που εκχυλίστηκαν εκ νέου, έγινε σε γυάλινους δοκιμαστικούς σωλήνες.

## 2.5. Λήψη φασμάτων NMR

Η λήψη των φασμάτων NMR πραγματοποιήθηκε σε φασματόμετρο Avance-500 λειτουργικής συχνότητας 500,13 MHz για το πυρήνα  $^1\text{H}$  και 125,75 MHz για τον  $^{13}\text{C}$ . Όλες οι χημικές μετατοπίσεις αναφέρονται στην κλίμακα  $\delta$  (ppm) και ο άξονας συχνοτήτων στα φάσματα  $\text{CDCl}_3$  έχει βαθμονομηθεί με βάση τη χημική μετατόπιση του δευτεριωμένου διαλύτη, 7,26 ppm και 77,16 ppm ενώ τα φάσματα  $\text{D}_2\text{O}/\text{CD}_3\text{OD}$  (4:1) έχουν βαθμονομηθεί ως προς τη κορυφή της δευτεριωμένης μεθανόλης, 3,31 ppm και 49,00 ppm.

### 2.5.1. Μονοδιάστατα φάσματα NMR

- Φάσματα  $^1\text{H}$  NMR

Η ακολουθία παλμών για τα φάσματα  $^1\text{H}$  NMR σε διαλύτη δευτεριωμένο χλωροφόρμιο ήταν zg30 ενώ για τα φάσματα σε δευτεριωμένο νερό/μεθανόλη (4:1) χρησιμοποιήθηκε η ακολουθία παλμών zgpg με σκοπό την εξάλειψη της κορυφής του  $\text{H}_2\text{O}$ .

Το μέγεθος της ελεύθερης επαγωγικής απόσβεσης, Free Induction Decay (FID) των φασμάτων κατά την επαναφορά της μαγνήτισης στην κατάσταση ισορροπίας ήταν 64K πραγματικά δεδομένα (data points). Τα φάσματα  $^1\text{H}$

ελήφθησαν με 256 ή 512 σαρώσεις (scans). Σε κάθε φάσμα χρησιμοποιήθηκαν 16 ψευδοσαρώσεις (dummy scans) ώστε η θερμοκρασία του δείγματος και το σύστημα των σπιν των πυρήνων να φτάσουν σε δυναμική ισορροπία, πριν από την πραγματική ανάκτηση του σήματος (πρώτη σάρωση). Η χρονική διάρκεια του παλμού  $90^\circ$  ήταν 11,37  $\mu\text{s}$  ενώ του παλμού  $30^\circ$  ήταν 12  $\mu\text{s}$ . Ο χρόνος αναμονής μεταξύ δύο διαδοχικών δειγματοσημείων, data points ήταν 83,2  $\mu\text{s}$  και η χρονική διάρκεια καταγραφής σήματος 5,45 s για το διαλύτη MeOD/D<sub>2</sub>O (1:4) και 3,27 s για το διαλύτη CDCl<sub>3</sub>. Μετά τον μετασχηματισμό Fourier έγινε διόρθωση φάσης μηδενικής και πρώτης τάξης και διόρθωση της γραμμής βάσης του φάσματος (baseline correction) με ένα πολυώνυμο πέμπτης τάξης. Το φασματικό εύρος των φασμάτων <sup>1</sup>H είναι 12 ppm. Η χρονική διάρκεια λήψης ενός μονοδιάστατου πειράματος <sup>1</sup>H NMR ήταν περίπου 35 min με 70 min, ανάλογα τον αριθμό σαρώσεων (256 ή 512). Η ακολουθία παλμών για ένα τυπικό μονοδιάστατο φάσμα <sup>1</sup>H NMR δίνεται στο Παράρτημα.

- Φάσματα <sup>13</sup>C NMR

Η ακολουθία παλμών για τα μονοδιάστα φάσματα <sup>13</sup>C ήταν zgpg30 και λήφθηκαν με 64K πραγματικά δεδομένα. Το φασματικό εύρος ήταν από 0 έως 220 ppm και ο αριθμός των σαρώσεων ήταν 18432 με 16 ψευδοσαρώσεις. Η χρονική διάρκεια καταγραφής σήματος ήταν 1,98 s. Τα φάσματα dept-135 λήφθηκαν με 14336 σαρώσεις και 16 ψευδοσαρώσεις ενώ χρησιμοποιήθηκαν 64K πραγματικά δεδομένα. Το εύρος του φάσματος έφτανε τα 239 ppm και ο χρόνος λήψης ενός φάσματος ήταν 1,82 s. Τα φάσματα λήφθηκαν με εξάλειψη των συζεύξεων από το πυρήνα πρωτονίου (decoupled). Ο απαιτούμενος χρόνος για την λήψη ενός μονοδιάστατου πειράματος <sup>13</sup>C, είναι 12-16 ώρες, γεγονός που αποδίδεται στην χαμηλή αφθονία του πυρήνα άνθρακα-13.

### 2.5.2. Δισδιάστατα φάσματα NMR

- Ομοπυρηνικά φάσματα,  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  COSY

Η ακολουθία παλμών για τα δισδιάστατα ομοπυρηνικά φάσματα  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  COSY ήταν η `cosygrrrgrf` με την οποία μπορεί να γίνει εξάλειψη της κορυφής του  $\text{H}_2\text{O}$ . Το μέγεθος της FID ήταν 2048 data points για την πρώτη διάσταση (F2) και 128 για τη δεύτερη (F1). Τα ομοπυρηνικά φάσματα  $^1\text{H}$  ελήφθησαν με αριθμό σαρώσεων 160, 184 ή 224 με χρόνο αναμονής 74,8  $\mu\text{s}$  και 16 ψευδοσαρώσεις. Η χρονική διάρκεια του παλμού ήταν 12  $\mu\text{s}$ . Η χρονική διάρκεια καταγραφής σήματος ήταν 0,15 s με increment στη δεύτερη διάσταση 9,6 ms για το διαλύτη MeOD/D<sub>2</sub>O (1:4) και 0,17  $\mu\text{s}$  και 10 ms αντίστοιχα για το διαλύτη CDCl<sub>3</sub>. Το εύρος των φασμάτων ήταν 13 ppm. Η χρονική διάρκεια λήψης ενός δισδιάστατου πειράματος  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  COSY NMR ήταν περίπου 12 με 18 ώρες. Στο Παράρτημα δίνεται η ακολουθία παλμών που χρησιμοποιήθηκε για τη λήψη των ομοπυρηνικών δισδιάστατων φασμάτων NMR.

- Ομοπυρηνικά φάσματα, Jresolved

Η ακολουθία παλμών που χρησιμοποιήθηκε για τα δισδιάστατα φάσμα jres ήταν η `jresgrrrgrf`. Τα φάσματα λήφθηκαν με 2048 και 64 data points για την πρώτη (F2) και δεύτερη (F1) διάσταση, αντίστοιχα. Οι σαρώσεις ήταν 192 ή 304, με 16 ψευδοσαρώσεις. Ο χρόνος αναμονής ανάμεσα σε δύο διαδοχικά data points ήταν 97,6  $\mu\text{s}$  και η χρονική διάρκεια καταγραφής σήματος 0,20 s. Το εύρος του φάσματος στην πρώτη διάσταση ήταν 10 ppm.

- Ετεροπυρηνικά φάσματα NMR,  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  HSQC

Τα φάσματα άμεσης ετεροπυρηνικής συσχέτισης πυρήνων πρωτονίου και άνθρακα-13 λήφθηκαν με την ακολουθία παλμών `hsqcetgp` και χρησιμοποιήθηκαν 1024 και 96 πραγματικά δεδομένα, για τις διαστάσεις F2 και F1 με χρόνο αναμονής μεταξύ των δεδομένων 100  $\mu\text{s}$ . Οι σαρώσεις που λήφθηκαν για τα φάσματα ήταν 280 και οι ψευδοσαρώσεις 16. Η χρονική διάρκεια καταγραφής του σήματος ήταν 0,102 s με increment στην δεύτερη διάσταση 9,6 ms για το διαλύτη MeOD/D<sub>2</sub>O (1:4) και 0,17  $\mu\text{s}$  και 10 ms

αντίστοιχα για το διαλύτη  $\text{CDCl}_3$ . Το εύρος των φασμάτων ήταν 10 ppm και 165 ppm για τους πυρήνες  $^1\text{H}$  και  $^{13}\text{C}$ , αντίστοιχα. Η χρονική διάρκεια λήψης ενός δισδιάστατου πειράματος  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  HSQC NMR ήταν περίπου 12 ώρες. Η σχηματική αναπαράσταση της ακολουθίας παλμών των πειραμάτων HSQC δίνεται στο Παράρτημα.

- Ετεροπυρηνικά φάσματα NMR,  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  HMBC

Η ακολουθία παλμών που χρησιμοποιήθηκε για τα φάσματα ετεροπυρηνικής συσχέτισης μακράς εμβέλειας  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$ , ήταν η `hmbcgrlprndqf`. Τα φάσματα λήφθηκαν με 2048 και 64 πραγματικά δεδομένα για τις διαστάσεις F2 και F1, αντίστοιχα και ο αριθμός σαρώσεων ήταν 320 με 16 ψευδοσαρώσεις. Ο χρόνος αναμονής μεταξύ δυο διαδοχικών πραγματικών δεδομένων ήταν 71,4  $\mu\text{s}$  και η χρονική διάρκεια καταγραφής σήματος 0,146 s με `increment` 1,06 ms στην δεύτερη διάσταση. Το φασματικό εύρος ήταν 14 ppm για την F2 και 240 ppm για την F1. Για την λήψη ενός φάσματος  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  HMBC χρειάστηκαν περίπου 12 ώρες. Τέλος, στο Παράρτημα φαίνεται σχηματικά η ακολουθία παλμών για τα πειράματα HMBC που λήφθηκαν.

## Κεφάλαιο 3. Αποτελέσματα

### Πολικά εκχυλίσματα, CH<sub>3</sub>OH/H<sub>2</sub>O (1:4)

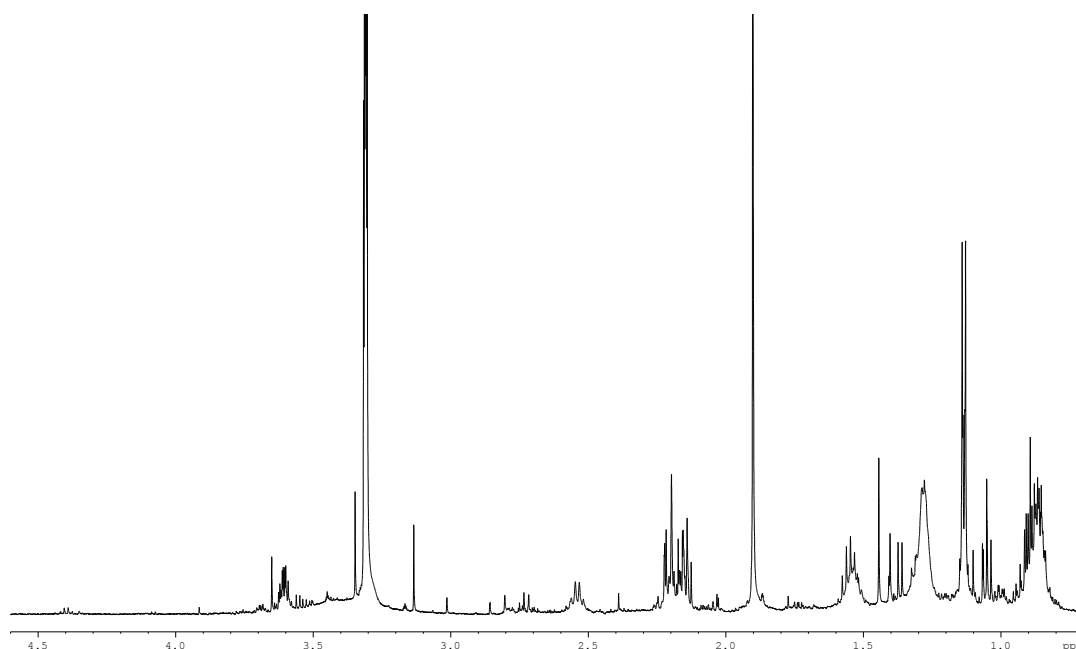
Στην ενότητα αυτή παρατίθενται τα αποτελέσματα από τις μετρήσεις των δειγμάτων που εκχυλίστηκαν σε διαλύτη CH<sub>3</sub>OH/H<sub>2</sub>O με αναλογία 1:4. Πιο συγκεκριμένα, παρουσιάζονται τα αποτελέσματα της ανάλυσης των εκχυλισμάτων από τα δείγματα πόρων των κεραμικών οστράκων, χώματος καθώς και των εκχυλισμάτων από δείγμα κρούστας που βρέθηκε προσκολλημένη σε κάποια αγγεία. Η ταυτοποίηση των ενώσεων που θα παρουσιαστούν στη συνέχεια, έγινε με τη λήψη μονοδιάστατων, δισδιάστατων φασμάτων καθώς και με τη χρήση φασμάτων πρότυπων ενώσεων. Επιπλέον, έγινε χρήση του προγράμματος Chenomx καθώς και των βάσεων δεδομένων HMDB και SDBS. Η αρίθμηση των ατόμων των ενώσεων δίνεται σε παρένθεση και αναφέρεται/αντιστοιχεί στο πίνακα 3.3.1., της υποενότητας 3.3.

#### 3.1. Ταυτοποίηση ενώσεων στους πόρους των κεραμικών αγγείων

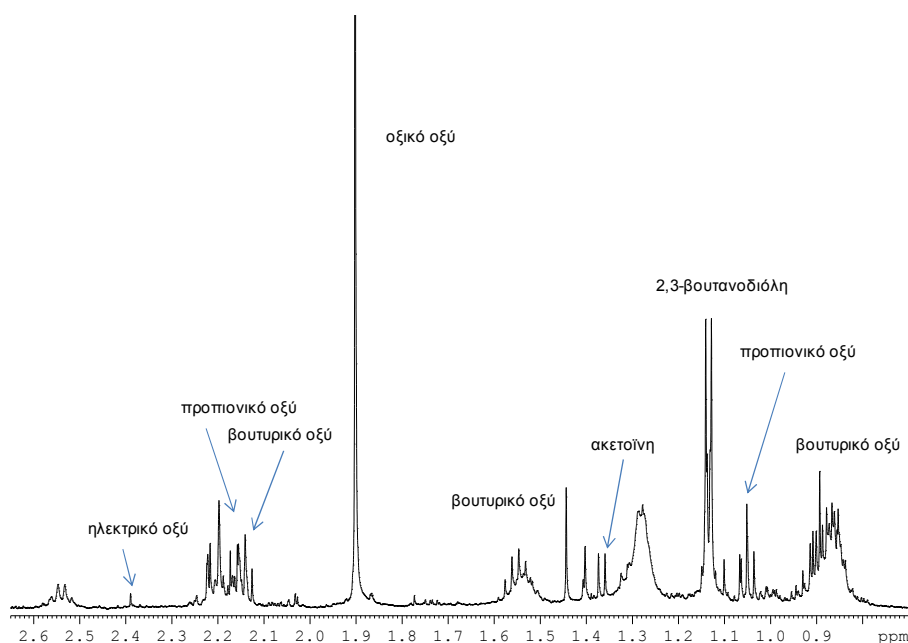
Όπως αναφέρθηκε και στο πειραματικό μέρος (2.2.), ο πιο ασφαλής τρόπος για την εξαγωγή ασφαλών συμπερασμάτων ως προς το περιεχόμενο των κεραμικών αγγείων είναι η ανάλυση του εκχυλίσματος των πόρων τους. Έτσι, σε αυτή την ενότητα παρατίθενται τα αποτελέσματα που σχετίζονται με την ανάλυση του οργανικού υπολείμματος στους πόρους των κεραμικών. Πιο συγκεκριμένα, δίνονται τα πιο χαρακτηριστικά μονοδιάστατα και δισδιάστατα φάσματα που λήφθηκαν.

Στα φάσματα <sup>1</sup>H NMR σε διαλύτη CD<sub>3</sub>OD/D<sub>2</sub>O έχει παρατηρηθεί ότι συνήθως οι κορυφές, εκτός εκείνης που αντιστοιχεί στο πρωτόνιο του φορμικού οξέος (1) στα 8,4 ppm, εμφανίζονται στην αλειφατική περιοχή, από 0,8 έως 5,2 ppm οπότε και η μελέτη των φασμάτων εστιάζεται κυρίως στη συγκεκριμένη περιοχή. Στη συνέχεια, στην εικόνα 3.1.1 παρουσιάζεται το φάσμα <sup>1</sup>H NMR του εκχυλίσματος του δείγματος που ελήφθη από το εσωτερικό μέρος του οστράκου 53.

Η υψηλότερης έντασης κορυφή του φάσματος στα 1,9 ppm, οφείλεται στην μεθυλομάδα του οξικού οξέος (3) και είναι απλή αφού δεν υπάρχουν γειτονικά πρωτόνια.



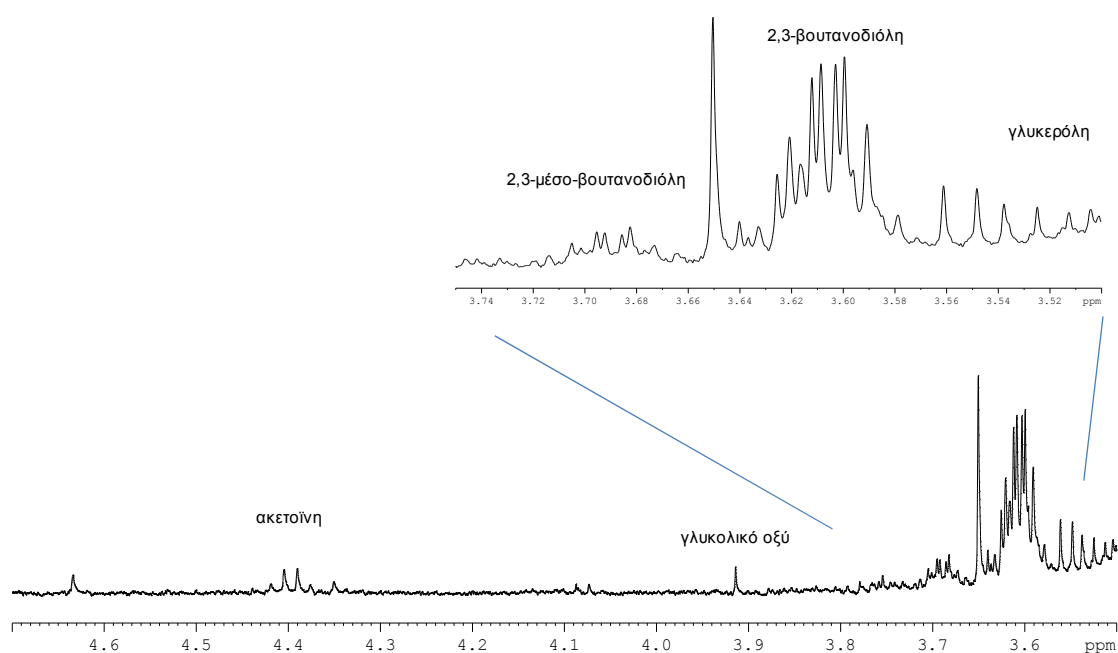
**Εικόνα 3.1.1.** Φάσμα  $^1\text{H}$  NMR οργανικών υπολειμμάτων από το εσωτερικό μέρος του αγγείου 53, σε διαλύτη MeOD/D<sub>2</sub>O (1:4) και πεδίο συχνότητας 500.13 MHz.



**Εικόνα 3.1.2.** Φάσμα  $^1\text{H}$  NMR οργανικών υπολειμμάτων από το εσωτερικό μέρος του αγγείου 53, σε διαλύτη MeOD/D<sub>2</sub>O (1:4), περιοχή από 0,7 έως 2,6 ppm και πεδίο συχνότητας 500.13 MHz.

Εστιάζοντας στην περιοχή από 0,7 έως 2,6 ppm (εικόνα 4.1.2.) φαίνεται μία τριπλή κορυφή που αντιστοιχεί στην μεθυλομάδα του προπιονικού οξέος (10). Επιπλέον, η κορυφή του μεθυλίου της 2,3-βουτανοδιόλης (19) στα 1,13 ppm

είναι διπλή λόγω της σχάσης της από το μεθινικό πρωτόνιο του γειτονικού της άνθρακα. Στο φάσμα παρατηρείται επίσης η διπλή κορυφή του μεθυλίου της ακετοΐνης (39) στα 1,37 ppm, που προκύπτει από την σχάση της με τη γειτονική μεθινική ομάδα. Επιπλέον, παρατηρείται η τριπλή κορυφή του μεθυλίου του βουτυρικού οξέος στα 0,89 ppm (13) και η τετραπλή κορυφή στα 1,55 ppm που αντιστοιχεί στα μεθυλενικά πρωτόνια του βουτυρικού οξέος (12) δίπλα από το CH<sub>3</sub>. Προχωρώντας πιο αριστερά του φάσματος, φαίνεται μια περίπλοκη πολλαπλή κορυφή η οποία προκύπτει από τόσο από την τριπλή κορυφή του βουτυρικού στα 2,14 ppm (11) όσο και από το προπανοϊκό οξύ, στα 2,16 ppm (9). Η κορυφή του ηλεκτρικού οξέος εμφανίζεται στα 2,39 ppm (14) και είναι απλή αφού το μόριο είναι συμμετρικό. Στην εικόνα 3.1.3. παρουσιάζεται το δεύτερο μέρος του φάσματος προχωρώντας σε χαμηλότερα πεδία.

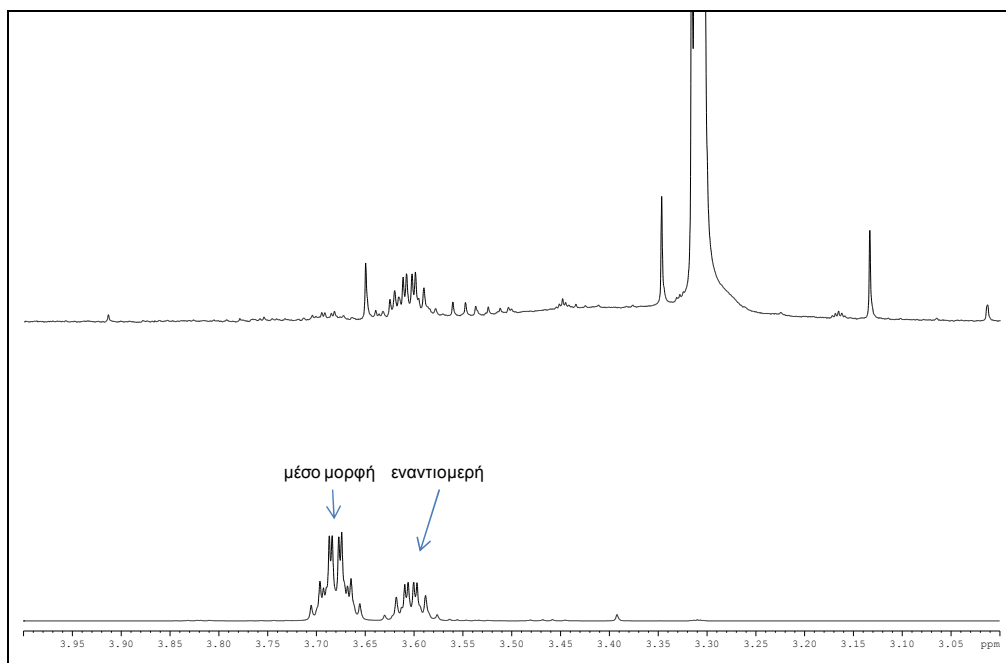


**Εικόνα 3.1.3.** Φάσμα <sup>1</sup>H NMR οργανικών υπολειμμάτων από το εσωτερικό μέρος του αγγείου 53, σε διαλύτη MeOD/D<sub>2</sub>O (1:4), περιοχή από 3,6 έως 4,7 ppm και πεδίο συχνότητας 500.13 MHz.

Στα 3,65 ppm παρατηρείται μια απλή κορυφή μεγάλης έντασης η οποία οφείλεται στην αιθυλενογλυκόλη, ένωση που αποτελεί κοινό επιμολυντή του δευτεριωμένου διαλύτη. Επιπρόσθετα, η κυριότερη κορυφή που παρατηρείται είναι μια πολλαπλή στα 3,61 ppm που ανήκει στα δύο εναντιομερή της 2,3-βουτανοδιόλης (20). Ακριβώς δίπλα, στα 3,69 ppm σε πολύ μικρότερη ένταση είναι η κορυφή της μέσο μορφής της 2,3-βουτανοδιόλης (21). Η διάκριση της



μέσο μορφής από την κορυφή των εναντιομερών της 2,3-βουτανοδιόλης έγινε μέσω της σύγκρισης του φάσματος του δείγματος με το φάσμα της πρότυπης ένωσης που αποτελείται από τη μέσο μορφή και το ρακεμικό μίγμα (εικόνα 3.1.4.).



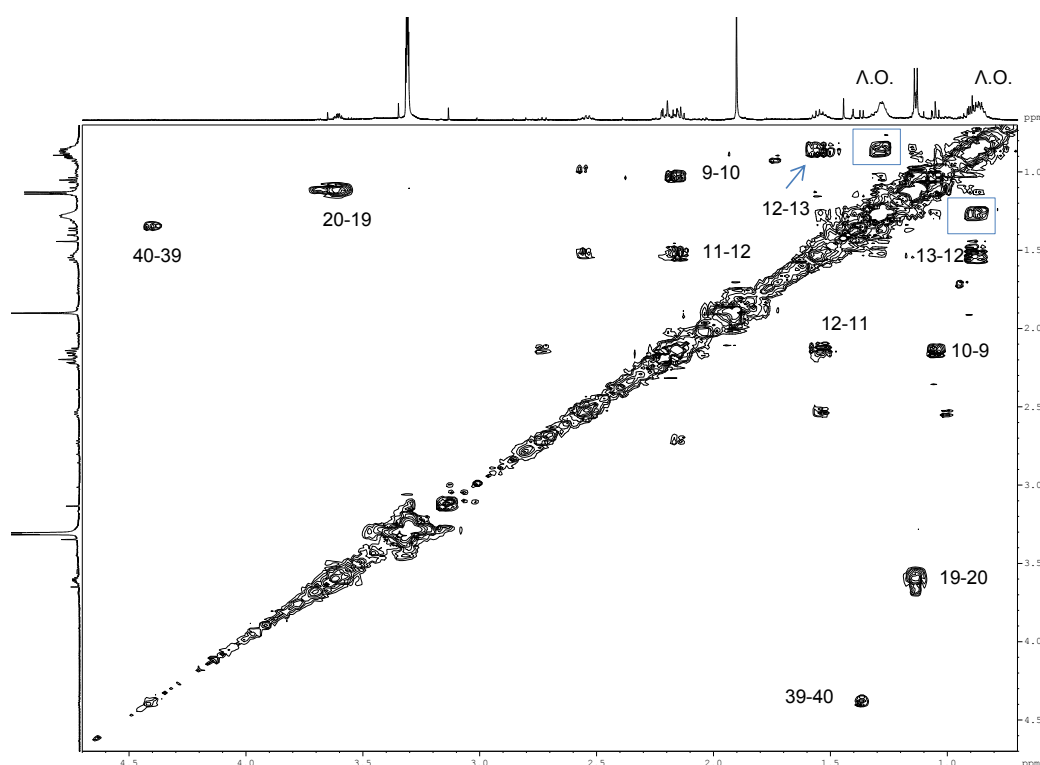
**Εικόνα 3.1.4.** Διάκριση των στερεοϊσομερών της 2,3-βουτανοδιόλης στο φάσμα του εσωτερικού μέρους του δείγματος 53. Κάτω: φάσμα πρότυπης ένωσης, πάνω: φάσμα δείγματος 53. Διαλύτης MeOD/D<sub>2</sub>O (1:4), πεδίο συχνότητας 500.13 MHz.

Συνεχίζοντας, στην εικόνα 4.1.3. φαίνεται η κορυφή της γλυκερόλης (16,18) στα 3,54 ppm. Η απλή κορυφή του γλυκολικού οξέος στα 3,91 ppm και η τετραπλή κορυφή της ακετοΐνης στα 4,40 ppm (40) είναι επίσης εμφανείς. Για τον πλήρη χαρακτηρισμό και την σαφή ταυτοποίηση των παραπάνω ενώσεων λήφθηκαν και δισδιάστατα φάσματα NMR ομοπυρηνικής και ετεροπυρηνικής συσχέτισης.

Τα δισδιάστατα φάσματα NMR έχουν δύο άξονες στους οποίους προβάλλεται το μονοδιάστατο φάσμα δύο ίδιων ή διαφορετικών ισοτόπων. Στα φάσματα ομοπυρηνικής συσχέτισης οι συχνότητες που υπάρχουν στους δύο άξονες αντιστοιχούν στον ίδιο πυρήνα, <sup>1</sup>H, και δίνουν πληροφορία που αφορά στην αλληλεπίδραση μέσω δεσμού (σύζευξη *J*) που υπάρχει μεταξύ δύο γειτονικών πρωτονίων, ή πιο σπάνια μεταξύ πρωτονίων που απέχουν τρεις δεσμούς. Επιπλέον, στα φάσματα <sup>1</sup>H - <sup>1</sup>H COSY καταγράφονται δύο τύποι κορυφών. Οι κορυφές που βρίσκονται πάνω στη διαγώνιο έχουν την ίδια συχνότητα και στους δύο άξονες του φάσματος και δεν δίνουν κάποια πληροφορία. Αντίθετα,

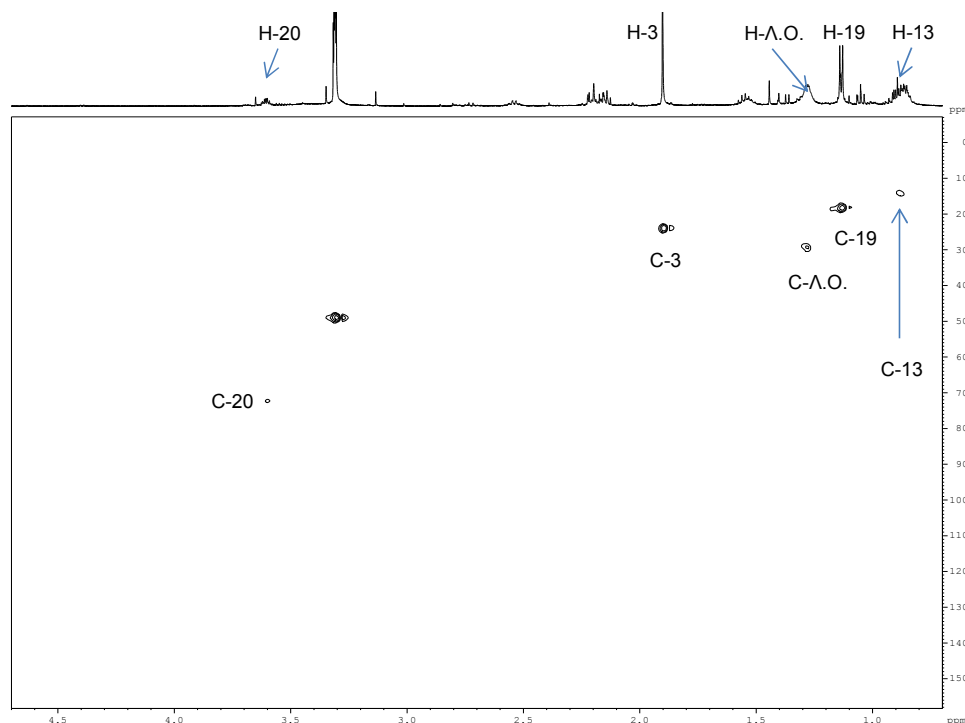
οι κορυφές που βρίσκονται εκτός της διαγωνίου και αντιδιαμετρικά μεταξύ τους, αντιστοιχούν σε διαφορετικές συχνότητες των δύο αξόνων και δηλώνουν την σύζευξη μεταξύ των πρωτονίων μιας ένωσης, άρα και τη γειτονικότητά τους στη χημική δομή της.

Στην εικόνα 3.1.5. παρατίθεται το φάσμα NMR 2D gradient COSY (gCOSY) του δείγματος 53. Όπως φαίνεται, υπάρχουν αρκετές κορυφές εκτός της διαγωνίου οι οποίες ήταν ιδιαίτερως βοηθητικές για την εύρεση των κορυφών που ανήκουν στην ίδια ένωση. Πιο συγκεκριμένα, είναι ευδιάκριτες οι κορυφές που δείχνουν την σύζευξη των πρωτονίων της 2,3-βουτανοδιόλης (19, 20). Έπειτα, σε αρκετά μεγάλη ένταση φαίνονται οι κορυφές σύζευξης μεταξύ των πρωτονίων του βουτυρικού (11,12,13) και του προπιονικού οξέος (9, 10). Σημαντική πληροφορία αποτέλεσε η σύζευξη μεταξύ των πρωτονίων της ακετοΐνης (39, 40). Επίσης εμφανής είναι η σύζευξη μεταξύ μιας μεθυλομάδας στα 0,87 ppm και ενός μεθυλενίου στα 1,26 ppm οι οποίες είναι δύο χαρακτηριστικές κορυφές λιπαρών οξέων και δηλώνουν τη σύζευξη μεταξύ των CH<sub>3</sub>-CH<sub>2</sub> πρωτονίων.



**Εικόνα 3.1.5.** Φάσμα gCOSY οργανικών υπολειμμάτων από το εσωτερικό μέρος του αγγείου 53, σε διαλύτη MeOD/D<sub>2</sub>O (1:4), περιοχή από 0,7 έως 4,7 ppm και πεδίο συχνότητας 500.13 MHz, (με Λ.Ο. συμβολίζονται τα λιπαρά οξέα).

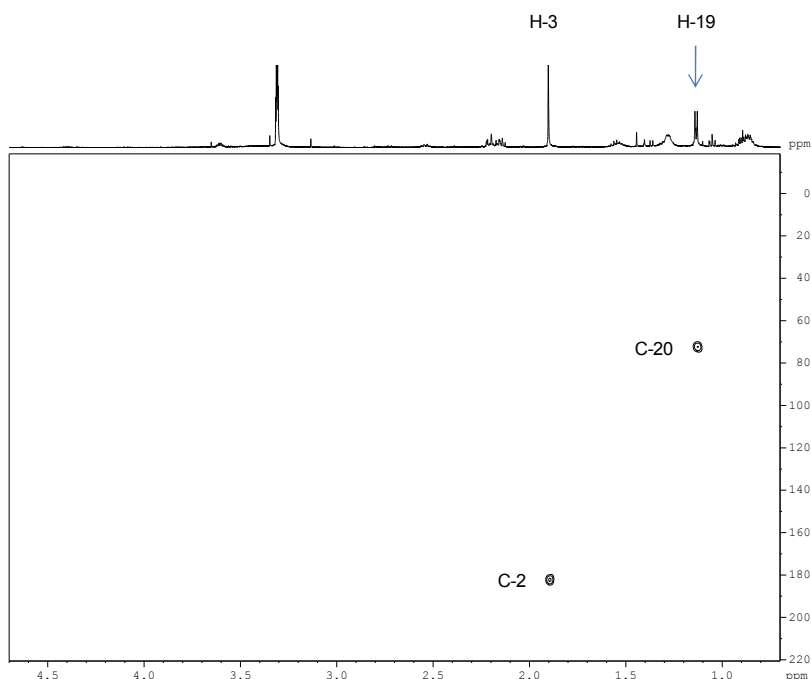
Στα φάσματα άμεσης ετεροπυρηνικής συσχέτισης υπάρχει αλληλεπίδραση μεταξύ των δύο ετεροπυρήνων (στην περίπτωση μας  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ ) μέσω σύζευξης  $J$ . Επιπλέον, δεν εμφανίζεται κάποια διαγώνιος, εφόσον μιλάμε για διαφορετικούς πυρήνες στους δύο άξονες. Στα φάσματα  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  HSQC οι κορυφές προκύπτουν λόγω της μεταφοράς ενός μέρους της μαγνήτισης από τον ένα πυρήνα ( $^1\text{H}$ ) στον άλλον ( $^{13}\text{C}$ ), έπειτα η μαγνήτιση επιστρέφει πάλι στον πυρήνα  $^1\text{H}$  με αποτέλεσμα να υπάρχει έμμεση ανίχνευση της χημικής μετατόπισης του άνθρακα μέσω του πυρήνα του πρωτονίου. Έτσι, καταγράφεται το σήμα και για τους δύο πυρήνες και κάθε κορυφή δίνει τις χημικές μετατοπίσεις του πρωτονίου και του άνθρακα με τον οποίο αυτό συνδέεται απευθείας,  $^1J$ . Αυτός είναι και ο λόγος που τα φάσματα HSQC παίζουν σημαντικό ρόλο στην ανάλυση δειγμάτων πολιτισμικής κληρονομιάς αφού μονοδιάστατα φάσματα άνθρακα NMR είναι δύσκολο να ληφθούν λόγω της χαμηλής φυσικής αφθονίας του ισότοπου C-13, και του μικρού γυρομαγνητικού του λόγου σε συνδυασμό με την μικρή ποσότητα των δειγμάτων που είναι συνήθως διαθέσιμη. Στην εικόνα 3.1.6. δίνεται το φάσμα NMR 2D gHSQC του δείγματος 53.



**Εικόνα 3.1.6.** Φάσμα gHSQC οργανικών υπολειμμάτων από το εσωτερικό μέρος του αγγείου 53, σε διαλύτη MeOD/D<sub>2</sub>O (1:4), περιοχή από 0,7 έως 4,7 ppm και πεδίο συχνότητας 500.13 MHz.

Στο παραπάνω φάσμα φαίνονται οι συζεύξεις των πυρήνων με τη μεγαλύτερη ένταση. Έτσι, είναι ευδιάκριτη η άμεση σύζευξη  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  του οξικού οξέος που είναι η ένωση με την μεγαλύτερη ένταση στο φάσμα (3). Έπειτα, είναι δυνατή η εύρεση της χημικής μετατόπισης των πυρήνων άνθρακα για την 2,3-βουτανοδιόλη (19, 20) στα 18,3 και 72,33, αντίστοιχα. Στα 29,16 ppm εμφανίζεται ο άνθρακας του μεθυλενίου των λιπαρών οξέων, ο οποίος συζεύγνυται με τα πρωτόνια της μεθυλομάδας στα 1,28 ppm. Επιπλέον, φαίνεται η σύζευξη  $^1\text{J}$  μεταξύ των H-13 και C-13 του βουτυρικού οξέος με τη χημική μετατόπιση του άνθρακα να εμφανίζεται στα 14 ppm. Δυστυχώς, οι συζεύξεις για τους υπόλοιπους πυρήνες  $^1\text{H}$  που φαίνονται στο μονοδιάστατο φάσμα NMR του δείγματος δεν εμφανίζονται στο HSQC, λόγω της πολύ μικρής συγκέντρωσης τους στο εκχύλισμα προς μέτρηση.

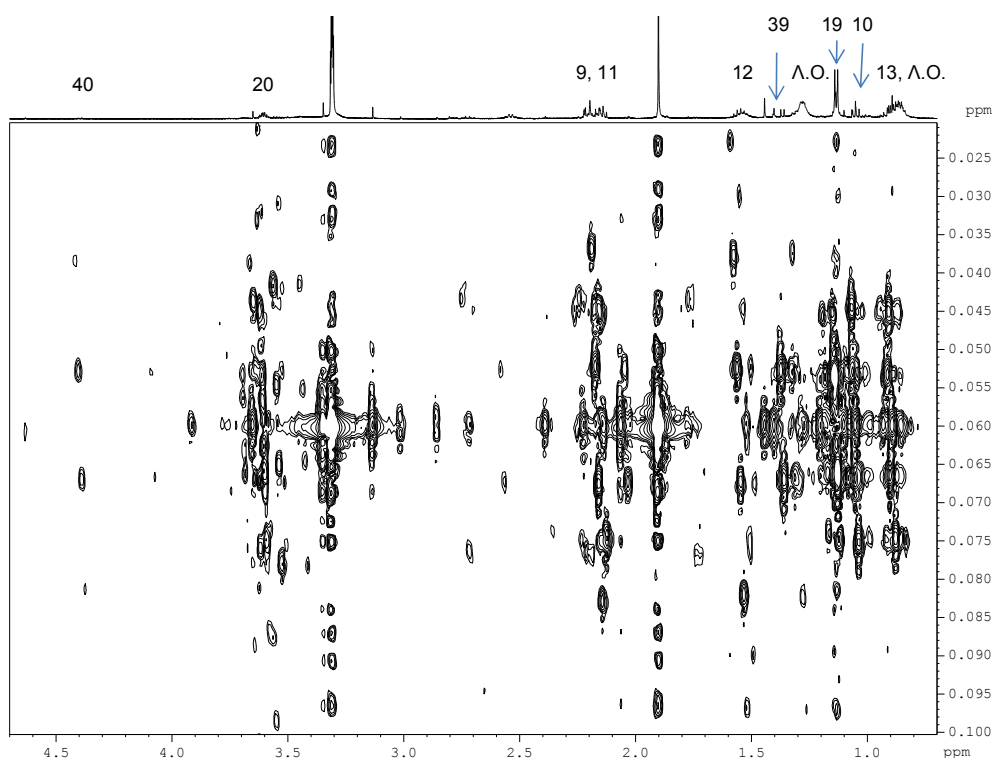
Η φασματοσκοπία ετεροπυρηνικής συσχέτισης  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  μακράς εμβέλειας, HMBC λειτουργεί με ανάλογο τρόπο όπως και το πείραμα HSQC. Ωστόσο, σε αυτή τη περίπτωση παρατηρούνται οι συσχετίσεις μεταξύ πρωτονίου και του γειτονικού του άνθρακα. Πιο συγκεκριμένα, μπορεί να παρατηρηθεί σύζευξη ενός πρωτονίου με έναν άνθρακα που έχουν απόσταση δύο ή τριών δεσμών,  $^2\text{J}$ ,  $^3\text{J}$  ενώ σπανιότερα μπορεί να φανεί και η σύζευξη  $^4\text{J}$ . Παρακάτω δίνεται το φάσμα HMBC του δείγματος 53 (εικόνα 3.1.7.).



**Εικόνα 3.1.7.** Φάσμα HMBC οργανικών υπολειμμάτων από το εσωτερικό μέρος του αγγείου 53, σε διαλύτη MeOD/D<sub>2</sub>O (1:4), περιοχή από 0,7 έως 4,7 ppm και πεδίο συχνότητας 500.13 MHz.

Οι επιπρόσθετες πληροφορίες που λαμβάνουμε δεν είναι πολλές όμως είναι σημαντικές όσον αφορά την σύζευξη  $^2J$  μεταξύ των πρωτονίων του  $\text{CH}_3$  (19) στα 18,3 και του άνθρακα της μεθινικής ομάδας  $\text{CH-OH}$  (20) της 2,3-βουτανοδιόλης στα 72,33 ppm. Επιπλέον, φαίνεται και η σύζευξη του τεταρτοταγή άνθρακα του οξικού οξέος στα 178 ppm (2) με την μεθυλομάδα (3) του μορίου στα 23,8 ppm.

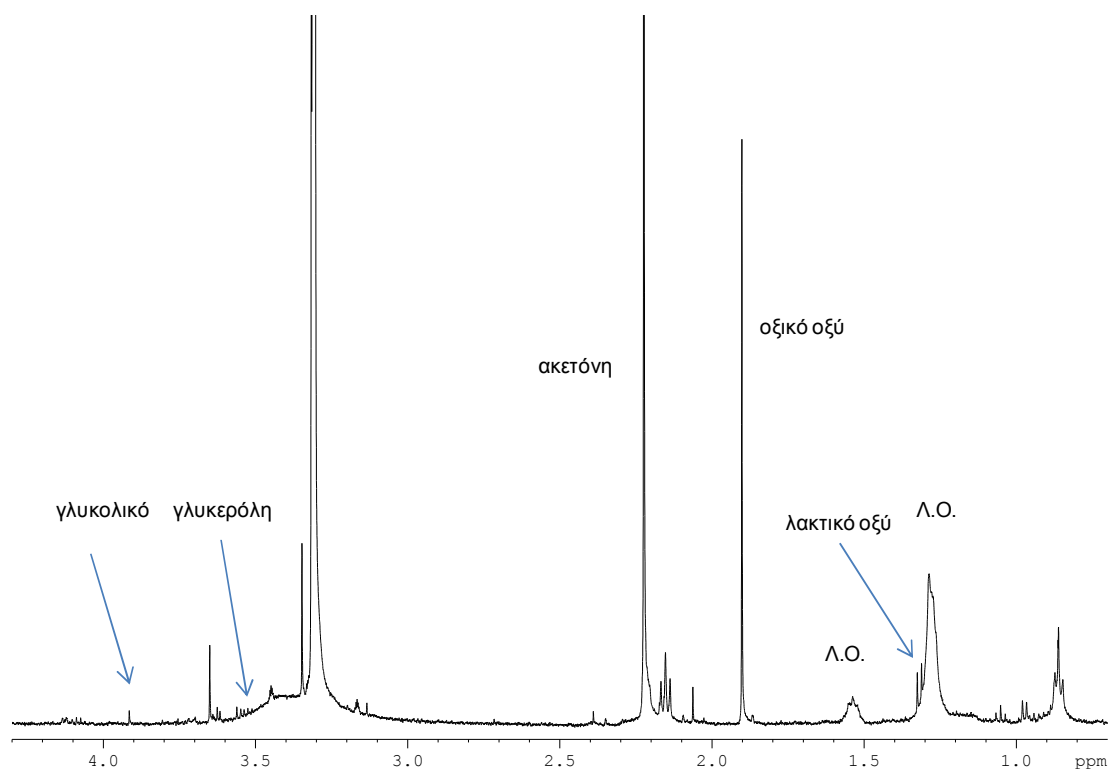
Το φάσμα JRES είναι ένα ομοπυρηνικό δισδιάστατο φάσμα όπου στον ένα άξονα (F2) εμφανίζεται η χημική μετατόπιση και στον άλλο (F1) δίνεται η σύζευξη J πρωτονίου - πρωτονίου. Η δυνατότητα που δίνει ένα τέτοιο φάσμα είναι η διάκριση της πολλαπλότητας κάποιας κορυφής όταν δεν είναι εμφανής στο μονοδιάστατο φάσμα πρωτονίου. Ωστόσο, είναι εφικτή και η διάκριση των πιθανών επιπρόσθετων κορυφών που μπορεί να συμπίπτουν σε μια μικρή περιοχή στο φάσμα και οι οποίες δηλώνουν την ύπαρξη επιπλέον ένωσης στην περιοχή αυτή. Το φάσμα JRES του δείγματος 53 φαίνεται στην εικόνα 3.1.8.



**Εικόνα 3.1.8.** Φάσμα JRES οργανικών υπολειμμάτων από το εσωτερικό μέρος του αγγείου 53, σε διαλύτη  $\text{MeOD}/\text{D}_2\text{O}$  (1:4), περιοχή από 0,7 έως 4,7 ppm και πεδίο συχνότητας 500.13 MHz.

Αναλυτικότερα, μπορεί να διακριθεί ότι τα πρωτόνια της μεθινικής ομάδας της ακετοΐνης (40) εμφανίζουν μια τετραπλή κορυφή. Με ανάλογο τρόπο

παρατηρούνται οι πολλαπλότητες των υπολοίπων πρωτονίων του φάσματος. Όπως αναφέρθηκε και νωρίτερα (2.2.), η δειγματοληψία ενός μέρους των πόρων του κεραμικού έγινε και από την εξωτερική του πλευρά. Αυτό έγινε καθώς είναι πολύ πιθανό μετά την πυρκαγιά, το περιεχόμενο κάποιων αγγείων να ήρθε σε επαφή με άλλα αγγεία και με το πέρασμα των χρόνων κάποιες οργανικές ενώσεις να προσροφήθηκαν στους πόρους του εξωτερικού μέρους τυχαίων/δίπλανών αγγείων. Επιπλέον, αυτή η δειγματοληψία αποσκοπούσε στην ευρύτερη κατανόηση της κατανομής των οργανικών ενώσεων σε ένα αγγείο που βρίσκεται υπό συνθήκες πιθανής εξωτερικής επιμόλυνσης για εξαιρετικά μεγάλα χρονικά διαστήματα (πολλούς αιώνες). Επομένως, στην εικόνα 3.1.9. παρατίθεται το μονοδιάστατο φάσμα  $^1\text{H}$  NMR που προέκυψε από την εκχύλιση των πόρων του εξωτερικού μέρους του αγγείου 77, σε διαλύτη  $\text{CH}_3\text{OH}/\text{H}_2\text{O}$  (1:4).



**Εικόνα 3.1.9.** Φάσμα  $^1\text{H}$  NMR οργανικών υπολειμμάτων από το εξωτερικό μέρος του αγγείου 77, σε διαλύτη  $\text{MeOD}/\text{D}_2\text{O}$  (1:4), περιοχή από 3,6 έως 4,7 ppm και πεδίο συχνότητας 500.13 MHz.

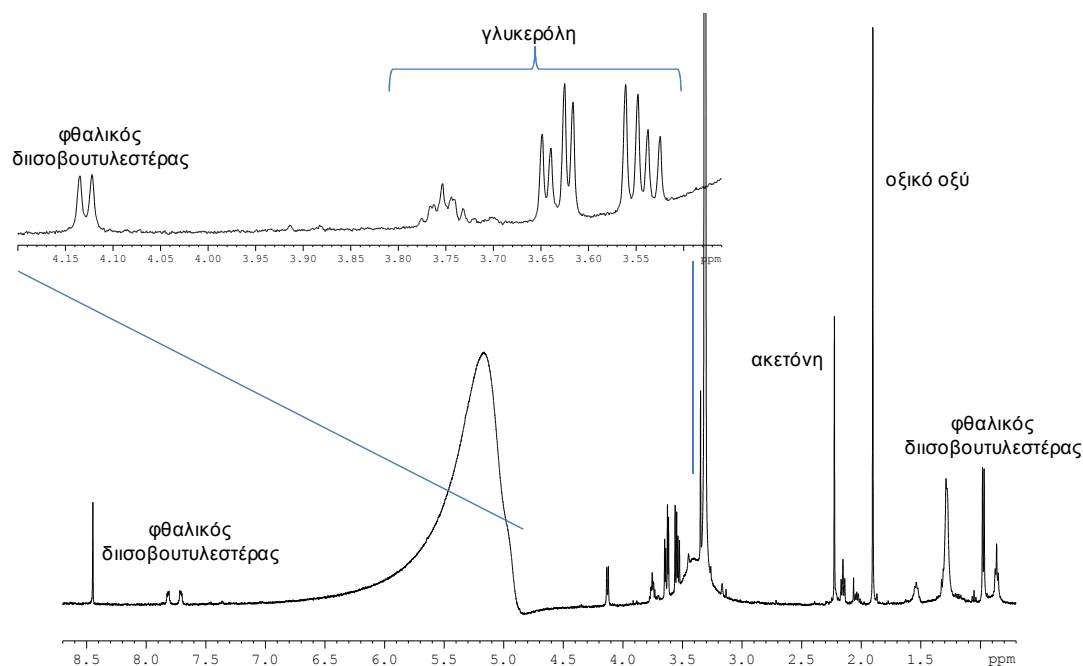
Στο φάσμα αυτό οι μεγαλύτερες κορυφές είναι εκείνη του οξικού οξέος στα 1,9 ppm (2) και της ακετόνης στα 2,22 ppm που αποτελεί κοινό επιμολυντή στους δευτεριωμένους διαλύτες και προέρχεται από τον δευτεριωμένο νερό. Οι ενώσεις που υπάρχουν και σε αυτό στο δείγμα είναι το γλυκολικό οξύ (4), η

γλυκερόλη (16,18) καθώς και οι χαρακτηριστικές κορυφές των λιπαρών οξέων. Ωστόσο είναι εμφανές ότι υπάρχουν σε πολύ μικρή συγκέντρωση.

### 3.2. Ταυτοποίηση οργανικών ενώσεων στα δείγματα χώματος/ επιφανειακές κρούστες

Τα δείγματα χώματος μελετήθηκαν με σκοπό να προσδιοριστεί η πιθανή επιμόλυνση των κεραμικών από μικροβιακό φορτίο ή από περιβαλλοντικούς παράγοντες. Παρακάτω παρατίθενται κάποια χαρακτηριστικά φάσματα δειγμάτων χώματος.

Στην εικόνα 3.2.1. παρουσιάζεται το φάσμα  $^1\text{H}$  NMR του εκχυλίσματος του χώματος που βρέθηκε στο εσωτερικό μέρος του αγγείου 86 κατά την ανασκαφή (χώρα 86).

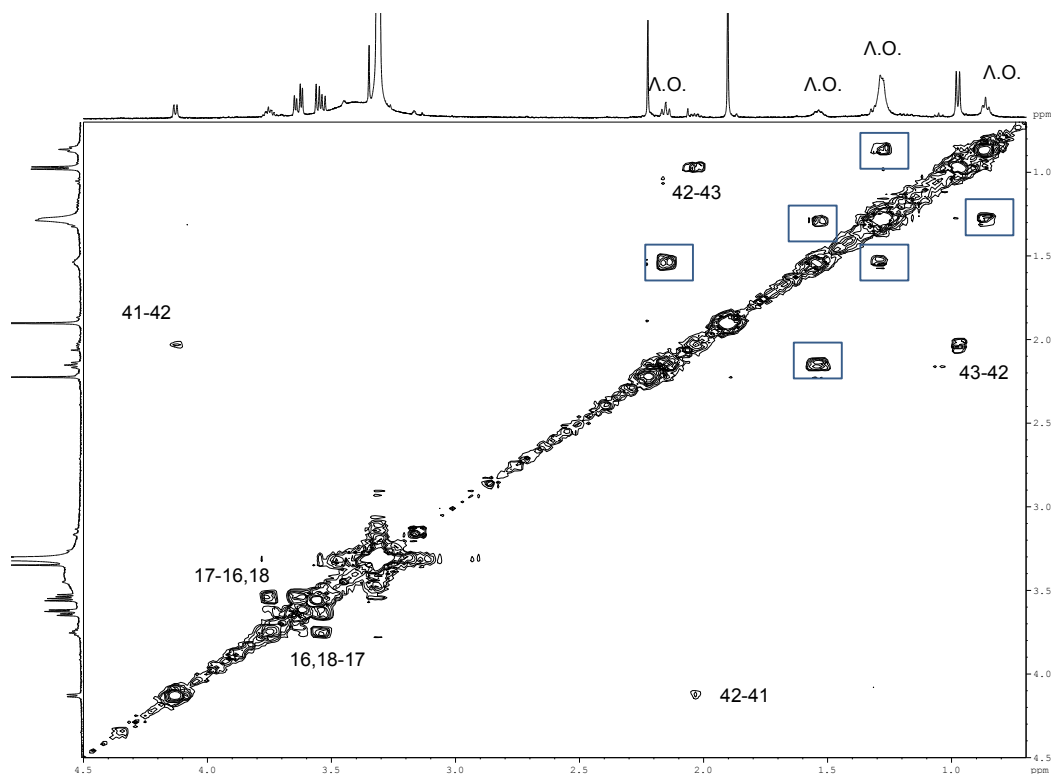


**Εικόνα 3.2.1.** Φάσμα  $^1\text{H}$  NMR οργανικών υπολειμμάτων από χώρα του αγγείου 86, σε διαλύτη MeOD/D<sub>2</sub>O (1:4), περιοχή από 0,7 έως 8,6 ppm και πεδίο συχνότητας 500.13 MHz.

Στο φάσμα αυτό παρατηρείται ότι οι κορυφές με τη μεγαλύτερη ένταση είναι το οξικό οξύ (2) και η ακετόνη που προέρχεται από το δευτεριωμένο διαλύτη. Επιπλέον, σε μεγάλη ένταση παρατηρούνται και οι πολλαπλές κορυφές της γλυκερόλης στα 3,54, 3,63 και 3,75 ppm (16,18,17). Επιπλέον, στα 0,97 ppm εμφανίζεται η διπλή κορυφή της ισοβουτυλομάδας του φθαλικού διισοβουτυλεστέρα (43). Η διπλή κορυφή στα 4,13 ppm προκύπτει από τη σχάση του μεθυλενίου της ισοβουτυλομάδας από τη γειτονική μεθινική ομάδα

της ένωσης. Στην αρωματική περιοχή παρατηρούνται δύο πολλαπλές κορυφές στα 7,71 και 7,82 ppm οι οποίες αντιστοιχούν στα αρωματικά πρωτόνια του φθαλικού διισοβουτυλεστέρα.

Για την επιβεβαίωση της ύπαρξης των ενώσεων αυτών στα φάσματα πραγματοποιήθηκε και λήψη δισδιάστατων φασμάτων. Αναλυτικότερα, στην εικόνα 3.2.2. παρουσιάζεται το φάσμα ομοπυρηνικής συσχέτισης  $^1\text{H} - ^1\text{H}$  gCOSY του δείγματος χρώματος του αγγείου 86.

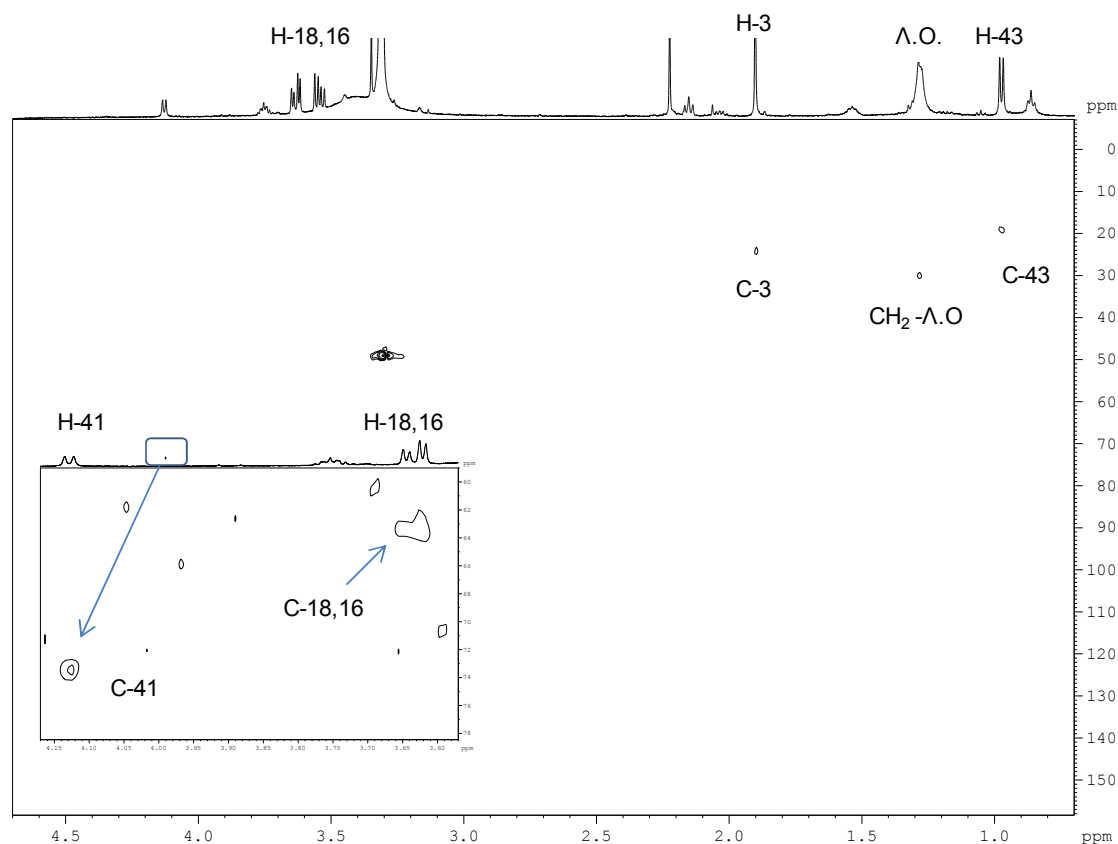


**Εικόνα 3.2.2.** Φάσμα gCOSY οργανικών υπολειμμάτων από χρώμα του αγγείου 86, σε διαλύτη MeOD/D<sub>2</sub>O (1:4), περιοχή από 0,7 έως 4,5 ppm και πεδίο συχνότητας 500.13 MHz. Σε τετράγωνα εμπεριέχονται οι κορυφές που συζεύγνται μεταξύ τους και αποδίδονται σε λιπαρά οξέα.

Στο φάσμα  $^1\text{H}-^1\text{H}$  gCOSY της εικόνας 4.2.2. φαίνεται η σύζευξη μεταξύ της μεθυλομάδας (43) και του μεθινίου της ισοβουτυλομάδας (42). Μια επιπλέον πληροφορία που λαμβάνουμε από αυτό το φάσμα είναι η σύζευξη του μεθινίου της ισοβουτυλομάδας του εστέρα με το μεθυλένιο της ένωσης (41), κορυφή που δεν ήταν ευδιάκριτη στο μονοδιάστατο φάσμα  $^1\text{H}$  NMR. Επιπλέον, παρατηρούνται οι συζεύξεις μεταξύ των πρωτονίων της γλυκερόλης (16,17,18). Στο φάσμα παρατηρούνται επίσης οι χαρακτηριστικές συζεύξεις μεταξύ γειτονικών πρωτονίων λιπαρών οξέων. Η απουσία κορυφής στα 5,4 ppm που προκύπτει από βινυλικά πρωτόνια, οδηγεί στο συμπέρασμα ότι τα λιπαρά οξέα είναι κορεσμένα.



Για την εύρεση των χημικών μετατοπίσεων των ανθράκων των ενώσεων λήφθηκε δισδιάστατο φάσμα NMR gHSQC το οποίο φαίνεται στην εικόνα 3.2.3.

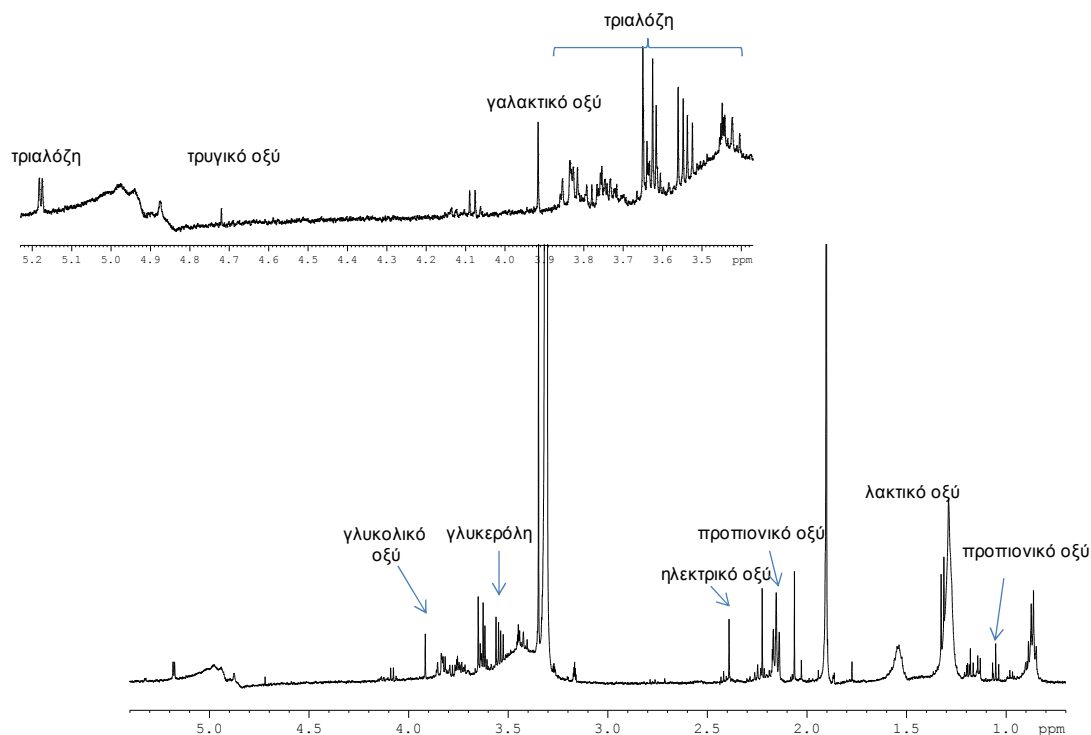


**Εικόνα 3.2.3.** Φάσμα gHSQC οργανικών υπολειμμάτων από χώμα του αγγείου 86, σε διαλύτη MeOD/D<sub>2</sub>O (1:4), περιοχή από 0,7 έως 4,6 ppm και πεδίο συχνότητας 500.13 MHz.

Στο παραπάνω φάσμα είναι φανερή η σύζευξη του μεθυλίου της ισοβουτυλομάδας του εστέρα με τον άνθρακα που είναι απευθείας συνδεδεμένη, δίνοντας έτσι την πληροφορία ότι ο άνθρακας εμφανίζεται στα 19,01 ppm (21). Εστιάζοντας στην περιοχή από 3,6 έως 4,15 ppm και από 60 έως 78 ppm για τους δύο άξονες του φάσματος, είναι εφικτή η διάκριση επιπλέον του άνθρακα (41) της ισοβουτυλομάδας στα 73,34 ppm καθώς και των ανθράκων (18,16) στα 63,4 ppm που επιβεβαιώνουν την ύπαρξη της γλυκερόλης.

Η ανάλυση των εκχυλισμάτων από τα δείγματα κρούστας πραγματοποιήθηκε με σκοπό να διευκρινιστεί αν αποτελεί κατάλοιπο τροφίμου ή προέρχεται από εξωγενείς παράγοντες, όπως χώμα προσκολλημένο στην επιφάνεια του οστράκου. Τα επόμενα φάσματα αφορούν στην ανάλυση του εκχυλίσματος του δείγματος κρούστας που βρέθηκε στην εξωτερική επιφάνεια του αγγείου 19. Στην εικόνα 3.2.4. οι κορυφές που παρατηρούνται με αρκετά μεγάλη

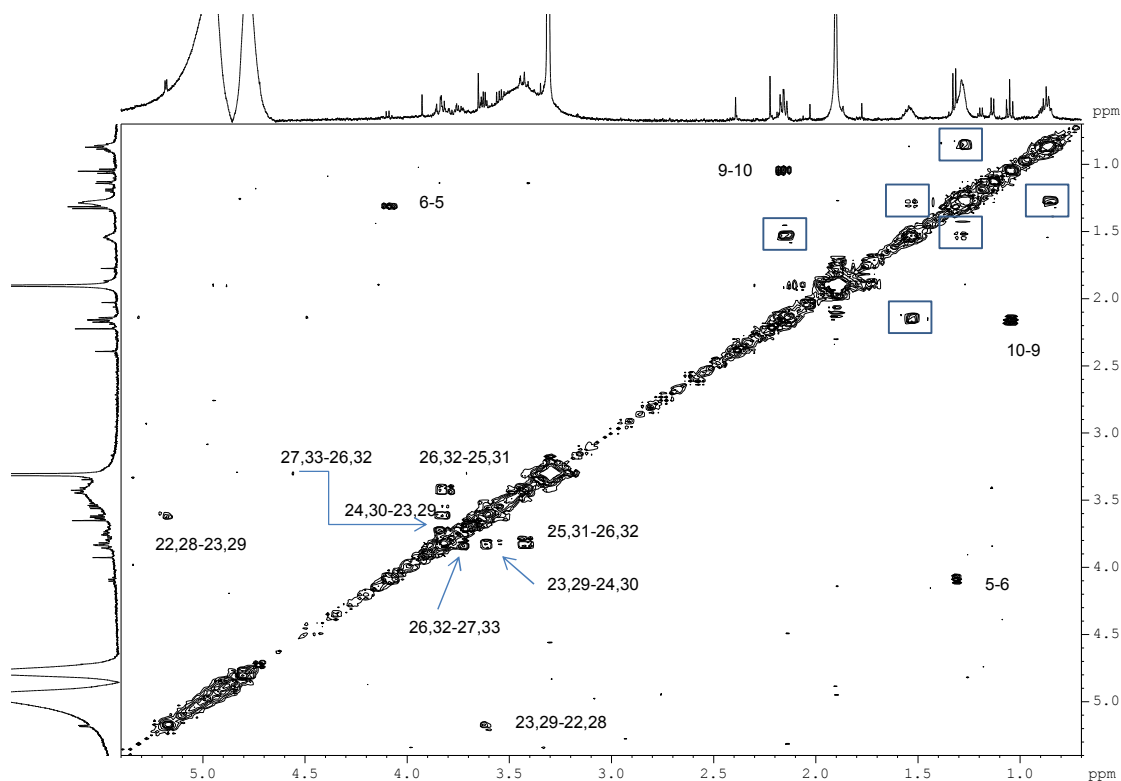
ένταση ανήκουν στα πρωτόνια του οξικού οξέος (3), του ηλεκτρικού (14) και του γλυκολικού οξέος (4).



**Εικόνα 3.2.4.** Φάσμα  $^1\text{H}$  NMR οργανικών υπολειμμάτων από τη κρούστα του αγγείου 19, σε διαλύτη MeOD/D<sub>2</sub>O (1:4), περιοχή από 0,7 έως 5,3 ppm και πεδίο συχνότητας 500.13 MHz.

Οι κορυφές του προπιονικού οξέος (9,10) είναι επίσης εμφανείς αλλά σε χαμηλότερη ένταση καθώς και η διπλή κορυφή της μεθυλομάδας του γαλακτικού οξέος (6) σε συνδυασμό με την τετραπλή κορυφή του στα 4,08 ppm (5). Ωστόσο, στο φάσμα η κυρίαρχη ένωση είναι ο διασακχαρίτης α,α'-τριαλόζη. Πιο συγκεκριμένα, οι κορυφές της τριαλόζης εμφανίζονται στην περιοχή μεταξύ των 3,3 ppm και 3,9 ppm ενώ στα 5,18 ppm εμφανίζεται η διπλή κορυφή που αντιστοιχεί στο πρωτόνιο (22,28) της ένωσης. Για την πλήρη ανάθεση των κορυφών της ένωσης πραγματοποιήθηκε η λήψη δισδιάστατων φασμάτων. Παρακάτω δίνεται το φάσμα gCOSY του εκχυλίσματος του δείγματος κρούστας του αγγείου 19. Όπως παρατηρείται στο δισδιάστατο φάσμα ομοπυρηνικής συσχέτισης καταγράφονται όλες οι συζεύξεις που αφορούν στα πρωτόνια της τριαλόζης. Αναλυτικότερα, παρατηρείται η σύζευξη ανάμεσα στα πρωτόνια (22) και (23) του ενός δακτυλίου αλλά και στα πρωτόνια (28) και (29) του δεύτερου δακτυλίου του σακχάρου. Επιπλέον, το πρωτόνιο (23) εμφανίζει μια κορυφή με

πολλαπλότητα διπλή της διπλής, καθώς βρίσκεται ανάμεσα των πρωτονίων (22) και (24) και επομένως σχάζεται και από τα δύο.

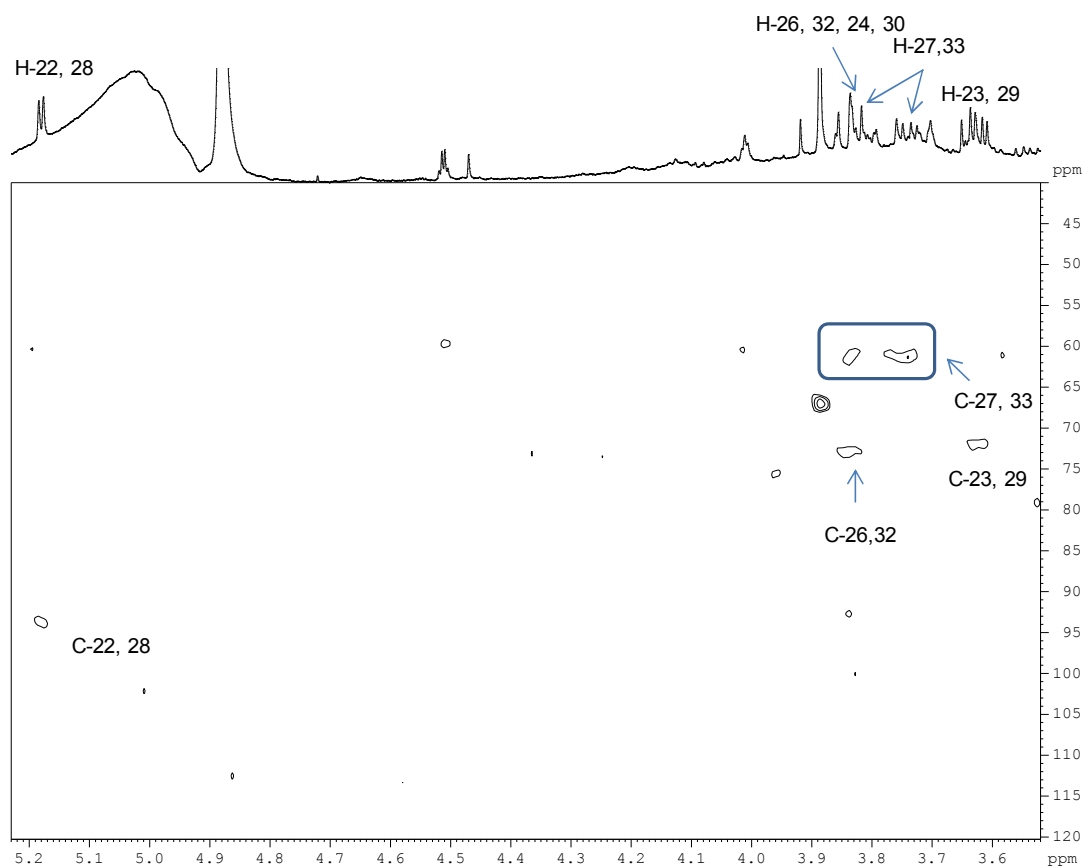


**Εικόνα 3.2.5.** Φάσμα gCOSY οργανικών υπολειμμάτων από τη κρούστα του αγγείου 19, σε διαλύτη MeOD/D<sub>2</sub>O (1:4), περιοχή από 0,7 έως 5,3 ppm και πεδίο συχνότητας 500.13 MHz.

Το ίδιο ισχύει και για τα πρωτόνια (29) και (30) οπότε και γι αυτό το λόγο υπάρχει η σύζευξη μεταξύ των κορυφών στα 3,62 ppm (23, 29) και 3,84 ppm (24, 30). Με τον ίδιο τρόπο συνεχίζεται η ανάθεση των κορυφών για την τριαλόζη. Είναι σημαντικό να αναφερθεί ότι η κορυφή στα 3,84 είναι πολλαπλή και αυτό οφείλεται στην αλληλεπικάλυψη των κορυφών της ένωσης που συμπίπτουν στη συγκεκριμένη περιοχή (24,26,30,32). Στο παραπάνω φάσμα είναι φανερό και η σύζευξη μεταξύ της μεθυλομάδας του γαλακτικού οξέος (6) με την μεθινική ομάδα της ένωσης (5).

Η εύρεση της χημικής μετατόπισης των ατόμων άνθρακα για το δισακχαρίτη πραγματοποιήθηκε μέσω του φάσματος <sup>1</sup>H-<sup>13</sup>C gHSQC. Το HSQC που δίνεται παρακάτω (εικόνα 3.2.6.) αντιστοιχεί στο εκχύλισμα που προέκυψε από το δείγμα χρώματος του αγγείου 19 καθώς σε αυτό το δείγμα το σάκχαρο ήταν σε μεγαλύτερη συγκέντρωση και ήταν δυνατή η λήψη ενός καλύτερου ετεροπυρηνικού φάσματος. Κατά την ανάλυση του φάσματος παρατηρήθηκε ότι δίνεται μια σημαντική πληροφορία. Τα πρωτόνια της μεθυλομάδας (27) που βρίσκονται σε α-θέση ως προς την υδροξυλομάδα του δακτυλίου δίνουν

διαφορετικές χημικές μετατοπίσεις, 3,74 και 3,84 ppm, αλλά έχουν τον ίδιο άνθρακα, ο οποίος έχει χημική μετατόπιση 61,25 ppm.

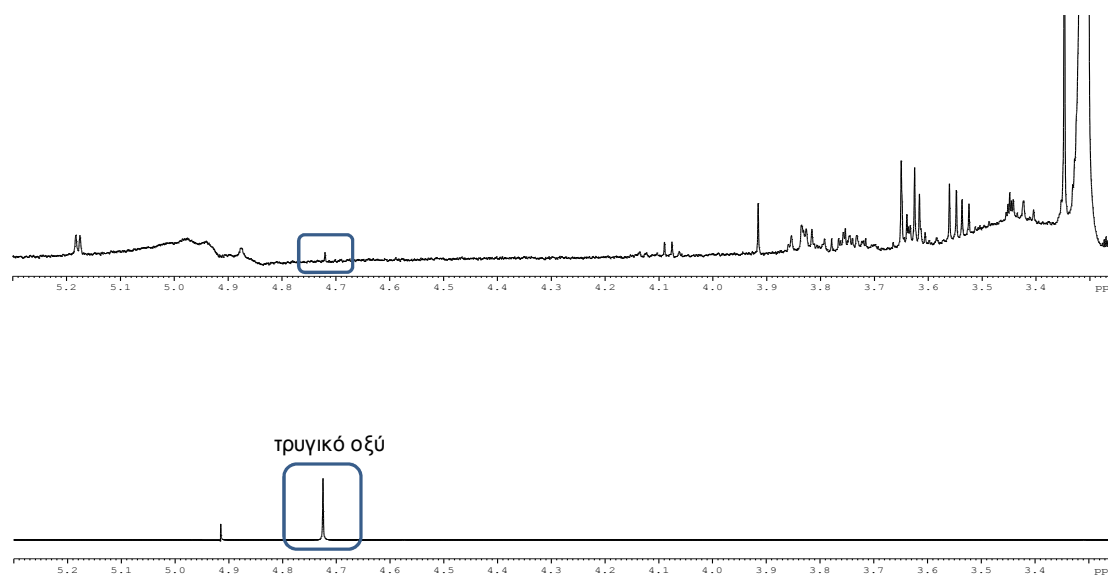


**Εικόνα 3.2.6.** Φάσμα gHSQC οργανικών υπολειμμάτων από το χώμα του αγγείου 19, σε διαλύτη MeOD/D<sub>2</sub>O (1:4), περιοχή από 0,7 έως 5,3 ppm και πεδίο συχνότητας 500.13 MHz.

Αυτό δείχνει ότι τα δύο πρωτόνια δεν είναι ισοδύναμα μεταξύ τους. Το ίδιο ισχύει και για τα πρωτόνια (33). Στα 3,84 ppm όπως αναφέρθηκε και πρωτίτερα υπάρχουν πολλές κορυφές που αλληλεπικαλύπτονται. Ωστόσο στο φάσμα HSQC δίνεται η χημική μετατόπιση των ατόμων (26, 32) στα 72,88 ppm. Επιπλέον, είναι ευδιάκριτη η απευθείας σύζευξη των πρωτονίων (22, 28) με τους άνθρακες με τους οποίους έχουν απόσταση ενός δεσμού. Έτσι, δίνεται η χημική μετατόπιση των ανθράκων (22, 28) στα 93,75 ppm.

Στο μονοδιάστατο φάσμα της κρούστας του δείγματος 19 (εικόνα 3.2.4.) παρατηρείται σε μικρή ένταση μια απλή κορυφή στα 4,72 ppm. Συγκρίνοντας την κορυφή αυτή με το φάσμα της πρότυπης ένωσης του τρυγικού οξέος (εικόνα 3.2.7.), το οποίο λήφθηκε στον ίδιο διαλύτη (MeOD/D<sub>2</sub>O 1:4), συμπεραίνεται ότι υπάρχει σε πολύ μικρή συγκέντρωση, τρυγικό οξύ στο δείγμα κρούστας. Η ταυτοποίηση ωστόσο του άνθρακα της κορυφής αυτής

δεν ήταν εφικτή λόγω της πολύ χαμηλής συγκέντρωσης. Με ανάλογο τρόπο αναλύθηκαν και μελετήθηκαν όλα τα δείγματα της παρούσας διατριβής.



**Εικόνα 3.2.7.** Ταυτοποίηση της χημικής μετατόπισης του πρωτονίου του τρυγικού οξέος στο δείγμα κρούστας του αγγείου (πάνω φάσμα) με τη χρήση πρότυπης ένωσης (κάτω φάσμα). Διαλύτης MeOD/D<sub>2</sub>O (1:4).

### 3.3. Συγκεντρωτικά αποτελέσματα πολικών εκχυλισμάτων

Σε αυτή την ενότητα παρατίθεται ο συγκεντρωτικός πίνακας 3.3.1. των ενώσεων που ταυτοποιήθηκαν συνολικά στα δείγματα που μελετήθηκαν σε διαλύτη MeOH/H<sub>2</sub>O (1:4) δίνοντας αναλυτικές πληροφορίες για τις ενώσεις. Πιο συγκεκριμένα, η αρίθμηση πραγματοποιήθηκε βάσει των ατόμων (της κάθε ένωσης) που ταυτοποιήθηκαν/ανατέθηκαν στα φάσματα NMR. Επιπλέον, δίνονται οι χημικές μετατοπίσεις <sup>1</sup>H και <sup>13</sup>C (ppm), η ανάθεση των ατόμων καθώς και η πολλαπλότητα των κορυφών. Είναι σημαντικό να αναφερθεί ότι για κάποιες ενώσεις λόγω της πολύ χαμηλής συγκέντρωσής τους στα δείγματα, δεν ήταν δυνατός ο προσδιορισμός της χημικής μετατόπισης των ατόμων άνθρακα από τα φάσματα HSQC που λήφθηκαν. Έτσι, όπου ήταν εφικτό, προσδιορίστηκε η σύζευξη J σε Hz για τις πολλαπλές κορυφές, η οποία αποτελεί χαρακτηριστική πληροφορία ταυτοποίησης για μια ένωση.

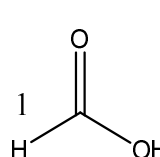
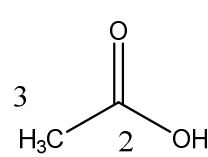
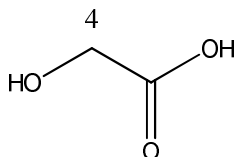
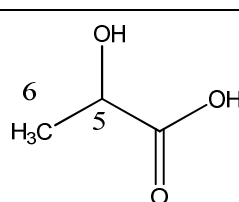
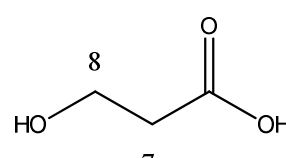
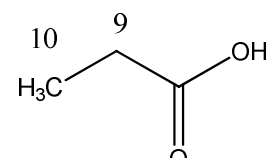
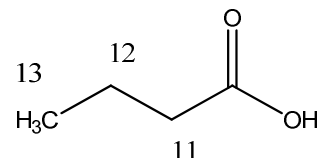
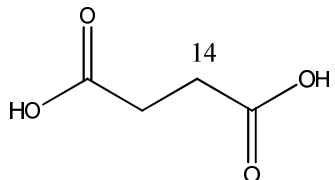
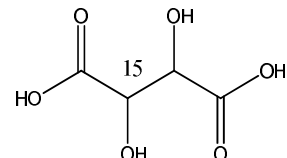
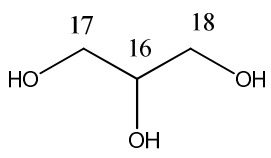
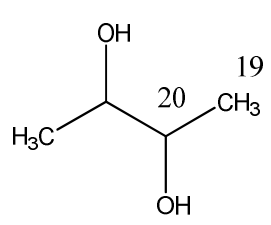
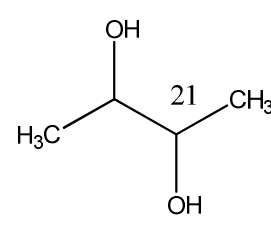
Επιπρόσθετα, δίνονται οι χημικές δομές των ενώσεων που ταυτοποιήθηκαν με τη φασματοσκοπία NMR υγρής κατάστασης (πίνακας 3.3.2.).

**Πίνακας 3.3.1.** Συγκεντρωτικός πίνακας των χημικών μετατοπίσεων των  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  των ενώσεων που ταυτοποιήθηκαν στα εκχυλίσματα MeOH, H<sub>2</sub>O (1:4).

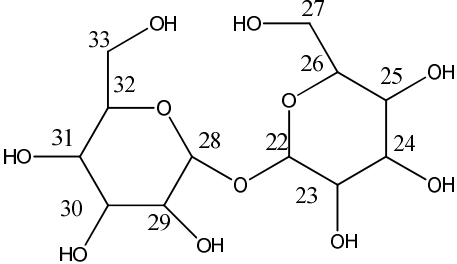
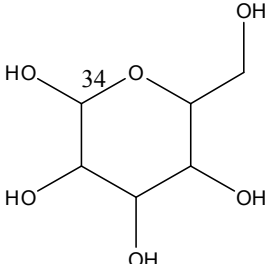
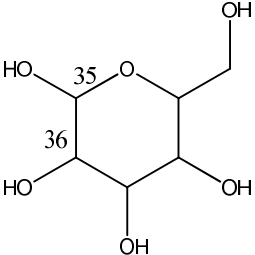
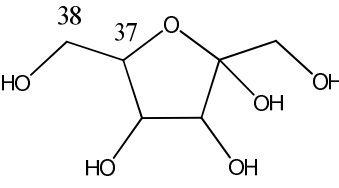
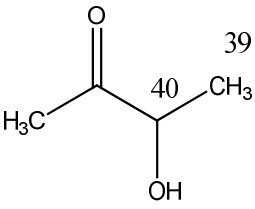
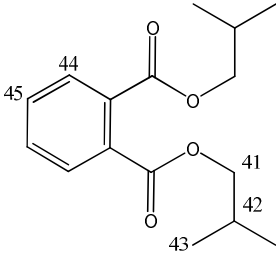
Ένωση	Ατομο	Ανάθεση	$\delta$ $^1\text{H}$ (ppm)	Πολλαπλότητα*	J (Hz)	$\delta$ $^{13}\text{C}$ (ppm)
φορμικό οξύ	1	<u>H</u> -COOH	8,44	s	-	
οξικό οξύ	2	<u>CH<sub>3</sub></u> -COOH	1,90	s	-	23,8
	3	CH <sub>3</sub> - <u>C</u> OOH	-	-	-	178
γλυκολικό οξύ	4	CH <sub>2</sub>	3,91	s	-	61,9
γαλακτικό οξύ	5	CH	4,08	q	6,85	74,7
	6	CH <sub>3</sub>	1,31	d	6,85	22,8
3-υδρόξυ προπιονικό οξύ	7	<u>CH<sub>2</sub></u> -COOH	3,78	t (td)	6,76	-
	8	<u>CH<sub>2</sub></u> -OH	2,42	t	6,76	-
προπιονικό οξύ	9	<u>CH<sub>2</sub></u> -COOH	2,16	q		38,4
	10	CH <sub>2</sub> - <u>CH<sub>3</sub></u>	1,05	t		18,6
βουτυρικό οξύ	11	<u>CH<sub>2</sub></u> -COOH	2,14	t	7,36	39,50
	12	<u>CH<sub>2</sub></u> -CH <sub>3</sub>	1,55	m	7,37	-
	13	CH <sub>3</sub>	0,89	t (td)	7,47	14
ηλεκτρικό οξύ	14	<u>CH<sub>2</sub></u> -COOH	2,39	s	-	-
τρυγικό οξύ	15	CH	4,72	s	-	-
γλυκερόλη	16, 18	<u>CH<sub>2</sub></u> -OH	3,54	m	6,57	-
	18, 16	<u>CH<sub>2</sub></u> -OH	3,63	m	-	63,4
	17	<u>CH</u> -OH	3,75	tt	5,54	-
2,3-βουτανοδιόλη	19	CH <sub>3</sub>	1,13	d	6,24	18,3
	20	CH-OH	3,61	m	-	72,33
2,3-μέσο- βουτανοδιόλη	21	CH	3,69	m	-	-
α,α'-τριαλόζη	25, 31	CH	3,43	t	9,43	-
	23, 29	CH	3,62	dd	9,93/3,90	72,03
	27, 33	CH	3,74	dd (m)	11,95/5,12	61,25
	27,33/ 26, 32 24,30	CH	3,84	m	-	61,25/72,88
	22,28	CH	5,18	d	3,87	93,75
α-D-γλυκόζη	34	ανωμερικό	5,20	d	-	-
β-D-γλυκόζη	35	ανωμερικό	4,60	d	7,89	-
	36	CH	3,22	dd	-	-
D-φρουκτόζη	37	CH	3,68	-	-	-
	38	CH <sub>2</sub>	4,02	dd	12,93	
R-ακετοΐνη	39	<u>CH<sub>3</sub></u> - CH(OH)	1,37	d	7,15	-
	40	CH	4,40	q	7,19	-
φθαλικός δισοβουτυλεστέρας	41	<u>CH<sub>2</sub></u> -OH	4,13	d	6,44	73,34
	42	CH	2,03	m	-	-
	43	CH <sub>3</sub>	0,97	d	6,74	19,01
	44	Ar-CH (o)	7,82	m	-	-
	45	Ar-CH (m)	7,71	m	-	-

\*Οι πολλαπλότητες των κορυφών συμβολίζονται ως εξής: s: απλή, d: διπλή, dd: διπλή της διπλής, t:τριπλή, q: τετραπλή, m: πολλαπλή. Με παύλα σημειώνονται οι περιοχές όπου δεν ήταν δυνατή η εύρεση των αντίστοιχων δεδομένων/αποτελεσμάτων, (o): ορθο θέση, (m): μετά θέση υποκαταστάτη.

**Πίνακας 3.3.2.** Χημική δομή των ενώσεων που ταυτοποιήθηκαν στα εκχυλίσματα MeOH,H<sub>2</sub>O (1:4).

Οργανικά οξέα			
 <p>1 H</p> <p>Φορμικό οξύ</p>	 <p>3 H<sub>3</sub>C</p> <p>2 OH</p> <p>Οξικό οξύ</p>	 <p>4 HO</p> <p>Γλυκολικό οξύ</p>	 <p>6 H<sub>3</sub>C</p> <p>5 OH</p> <p>Γαλακτικό οξύ</p>
 <p>8 HO</p> <p>7</p> <p>3-Υδροξυ- προπιονικό οξύ</p>	 <p>10 H<sub>3</sub>C</p> <p>9</p> <p>Προπιονικό οξύ</p>	 <p>13 H<sub>3</sub>C</p> <p>12</p> <p>11</p> <p>Βουτυρικό οξύ</p>	
 <p>14</p> <p>Ηλεκτρικό οξύ</p>		 <p>15</p> <p>Τρυγικό οξύ</p>	
Αλκοόλες			
 <p>17 HO</p> <p>16</p> <p>18 OH</p> <p>Γλυκερόλη</p>	 <p>OH</p> <p>19 CH<sub>3</sub></p> <p>20 OH</p> <p>D-2,3- Βουτανοδιόλη</p>	 <p>OH</p> <p>21 CH<sub>3</sub></p> <p>2,3-μέσο-Βουτανοδιόλη</p>	

**Πίνακας 3.3.2.** Χημική δομή των ενώσεων που ταυτοποιήθηκαν στα εκχυλίσματα MeOH,H<sub>2</sub>O (1:4) (συνέχεια).

Σάκχαρα	
 <p>α,α'- Τριαλόζη</p>	 <p>α-D-Γλυκόζη</p>
 <p>β-D-Γλυκόζη</p>	 <p>D-Φρουκτόζη</p>
Κετόνες	Αρωματικές ενώσεις
 <p>D-Ακετοΐνη</p>	 <p>Φθαλικός διισοβουτυλεστέρας</p>

## Άπολα εκχυλίσματα, CHCl<sub>3</sub>

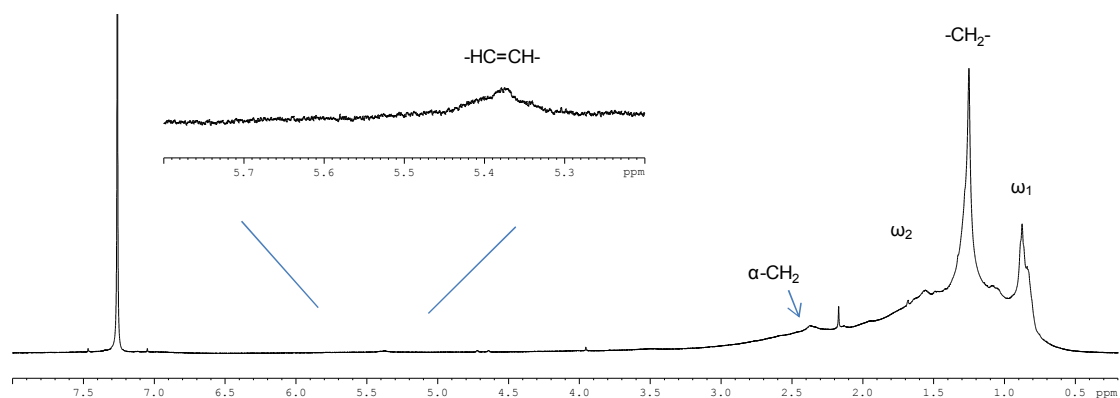
Στην ενότητα αυτή παρουσιάζονται τα αποτελέσματα που λήφθηκαν από τα εκχυλίσματα των δειγμάτων στον άπολο διαλύτη, CHCl<sub>3</sub>. Αναλυτικότερα, θα δοθούν χαρακτηριστικά φάσματα των εκχυλισμάτων που προέκυψαν από τους πόρους του εσωτερικού, του εξωτερικού μέρους των κεραμικών αλλά και από δείγματα χρώματος. Η ανάθεση έγινε με την λήψη μονοδιάστατων και δισδιάστατων φασμάτων NMR, καθώς και με τη χρήση του ισότοπου AOCs



Lipid Library που περιλαμβάνει βάση δεδομένων NMR λιπαρών οξέων. Η αρίθμηση/ονομασία των ατόμων, εμφανίζεται σε παρένθεση και έρχεται σε συμφωνία με τον πίνακα 3.6.1. και την εικόνα 3.6.1. που δίνονται στο τέλος του κεφαλαίου.

### 3.4. Ταυτοποίηση οργανικών ενώσεων στους πόρους των κεραμικών οστράκων

Στην εικόνα 3.4.1. παρατίθεται το φάσμα  $^1\text{H}$  NMR του άπολου εκχυλίσματος από τους πόρους του εσωτερικού μέρους του κεραμικού αγγείου με αριθμό δείγματος 30.

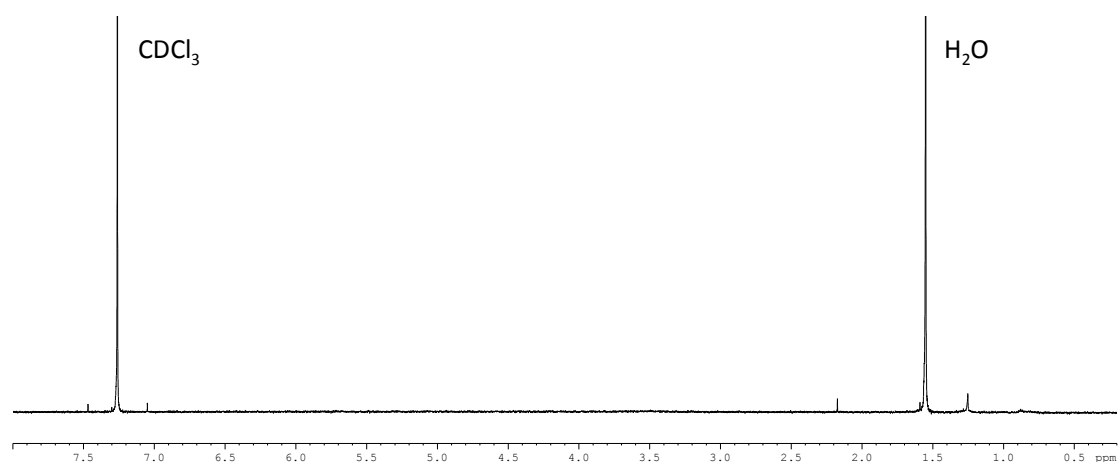


**Εικόνα 3.4.1.** Φάσμα  $^1\text{H}$  NMR οργανικών υπολειμμάτων στους πόρους του εσωτερικού μέρους του αγγείου 30 σε διαλύτη  $\text{CDCl}_3$ , περιοχή από 0,2 έως 8 ppm και πεδίο συχνότητας 500.13 MHz.

Παρατηρούνται οι χαρακτηριστικές κορυφές των λιπαρών οξέων στα 0,89 ppm, 1,26 ppm και 1,57 ppm. Επιπλέον, εστιάζοντας στην περιοχή των 5,2 ppm έως 5,8 ppm εμφανίζεται μια κορυφή στα 5,38 ppm η οποία αντιστοιχεί σε βινυλικά πρωτόνια. Οι ευρείες κορυφές που παρατηρούνται στο φάσμα οφείλονται πιθανώς στην παρουσία πλήθους πολύπλοκων προϊόντων καύσης οργανικών ενώσεων οι οποίες έχουν παρόμοια δομή και συνεπώς και παρόμοια χημική μετατόπιση.

Στα φάσματα των άπολων εκχυλισμάτων των πόρων του εξωτερικού μέρους των κεραμικών αγγείων, δεν φάνηκε να καταγράφονται κορυφές που να αντιστοιχούν σε οργανικά υπολείμματα. Αναλυτικότερα, στην εικόνα 3.4.2. δίνεται το φάσμα  $^1\text{H}$  NMR του εκχυλίσματος των πόρων του εξωτερικού μέρους του δείγματος 86. Όπως είναι φανερό, οι κορυφές με τη μεγαλύτερη

ένταση αντιστοιχούν στον δευτεριωμένο διαλύτη στα 7,26 ppm και στην υπολειμματική κορυφή του νερού, στα 1,55 ppm.

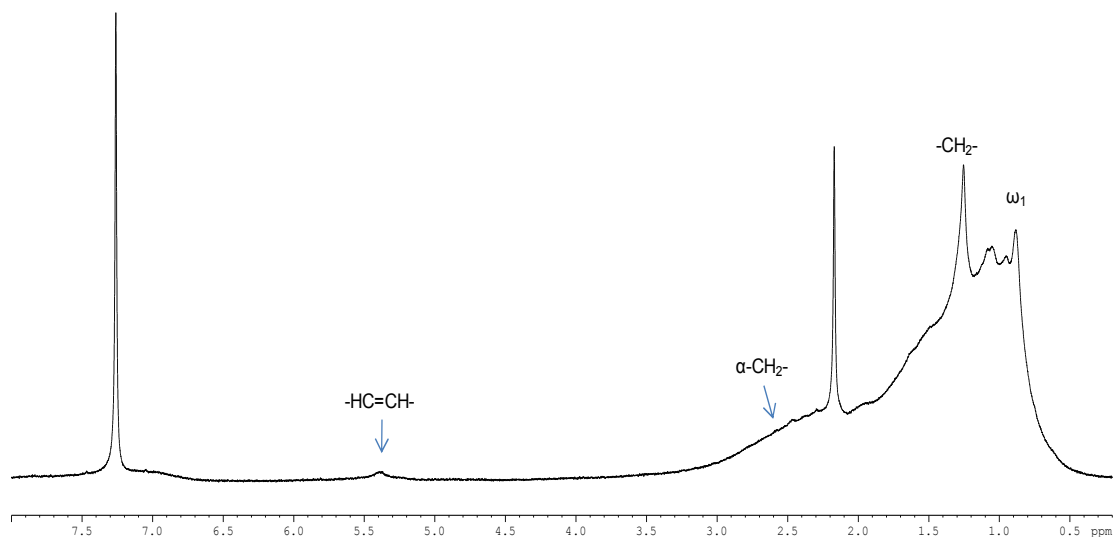


**Εικόνα 3.4.2.** Φάσμα  $^1\text{H}$  NMR οργανικών υπολειμμάτων στους πόρους του εξωτερικού μέρους του αγγείου με αριθμό δείγματος 86 σε διαλύτη  $\text{CDCl}_3$ , περιοχή από 0,2 έως 8 ppm και πεδίο συχνότητας 500.13 MHz.

Η κορυφή στα 2,17 ppm οφείλεται στην ακετόνη, η οποία αποτελεί επιμολυντή του δευτεριωμένου διαλύτη.

### 3.5. Ταυτοποίηση οργανικών ενώσεων στα δείγματα χώματος, κρούστες

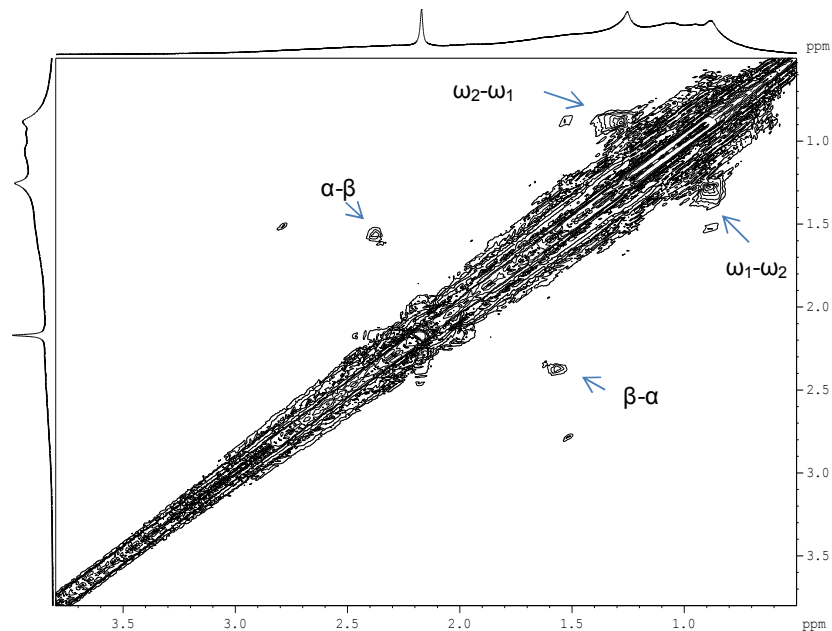
Στην εικόνα 3.5.1. δίνεται το φάσμα  $^1\text{H}$  NMR του άπολου εκχυλίσματος χώματος του δείγματος 44. Παρατηρήθηκε η ύπαρξη κορυφών που αναλογούν σε ακόρεστα λιπαρά οξέα, όπως αναφέρθηκε και παραπάνω. Επιπλέον, η οξεία κορυφή στα 2,17 ppm αντιστοιχεί στον επιμολυντή, ακετόνη.



**Εικόνα 3.5.1.** Φάσμα  $^1\text{H}$  NMR οργανικών υπολειμμάτων χρώματος του κεραμικού με αριθμό δείγματος 44 σε διαλύτη  $\text{CDCl}_3$ , περιοχή 0,2 - 8 ppm και πεδίο συχνότητας 500,13 MHz.

Η πλήρης ανάθεση των κορυφών του παραπάνω φάσματος πραγματοποιήθηκε με την λήψη πρόσθετων μονοδιάστατων φασμάτων, όπως φάσμα  $^{13}\text{C}$  και DEPT-135 καθώς και δισδιάστατων φασμάτων.

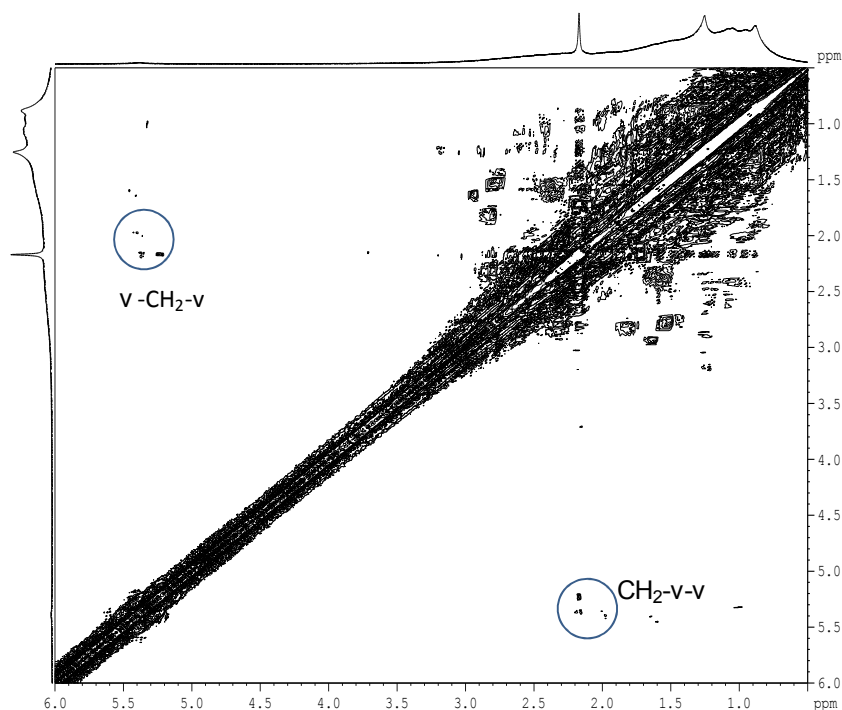
Παρακάτω, παρατίθεται το φάσμα  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  gCOSY του δείγματος χρώματος του κεραμικού 44 (εικόνα 3.5.2).



**Εικόνα 3.5.2.** Φάσμα  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  gCOSY οργανικών υπολειμμάτων χρώματος του κεραμικού 44, περιοχή 0,5-3,8 ppm, διαλύτης  $\text{CDCl}_3$  και πεδίο συχνότητας 500,13 MHz.

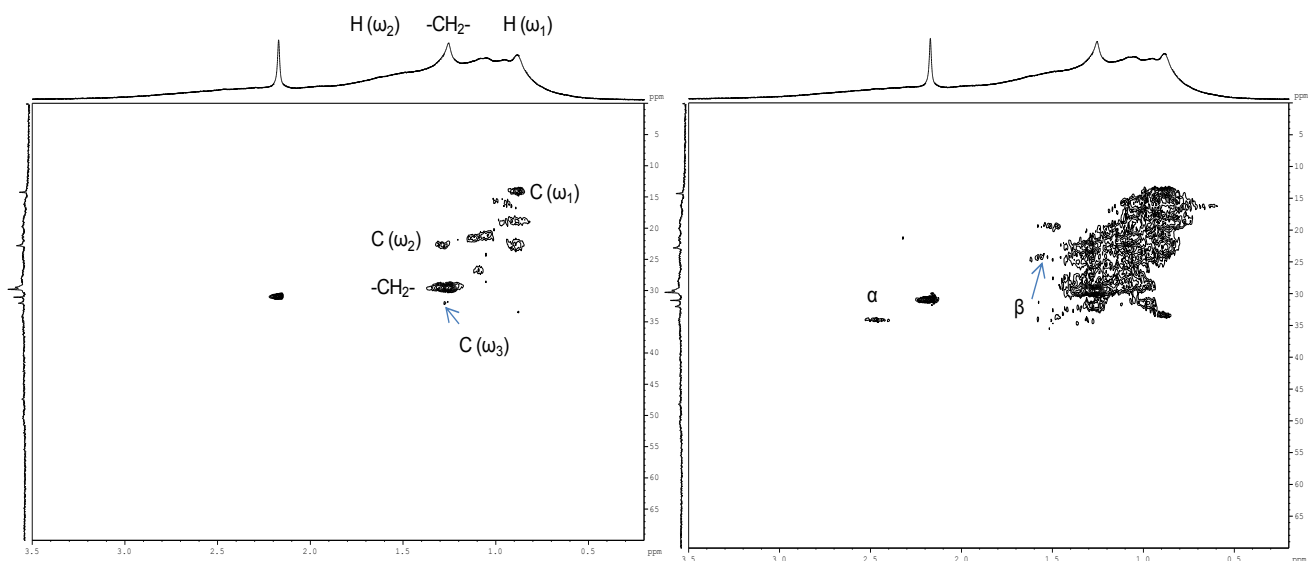
Είναι φανερή η σύζευξη του τερματικού μεθυλίου των λιπαρών ( $\omega_1$ ) στα 0,89 ppm με τη γειτονική του μεθυλενομάδα ( $\omega_2$ ), στα 1,28 ppm. Χαρακτηριστική είναι και η σύζευξη της μεθυλενομάδας που βρίσκεται σε α-θέση ως προς την

καρβοξυλομάδα, στα 2,40 ppm με το μεθυλένιο που βρίσκεται σε β-θέση στα 1,57 ppm. Οι παραπάνω συζεύξεις υποδηλώνουν την ύπαρξη λιπαρών οξέων στο εκχύλισμα. Στην εικόνα 4.5.3. φαίνεται η σύζευξη μεταξύ βινυλικών πρωτονίων στα 5,39 ppm με αλλυλικά πρωτόνια στα 1,98 ppm, γεγονός που καταδεικνύει την ακορεστότητα για τα λιπαρά οξέα, η οποία παρατηρήθηκε και στο μονοδιάστατο φάσμα NMR του εκχυλίσματος του δείγματος χώματος. Η απουσία κορυφής στα 2,77 ppm που προκύπτει από μεθυλενική ομάδα ανάμεσα σε δύο διπλούς δεσμούς και συνεπώς και σύζευξης αυτής με τη γειτονική της κορυφή στα φάσμα COSY, οδηγεί στο συμπέρασμα ότι τα λιπαρά οξέα που ταυτοποιήθηκαν είναι μονοακόρεστα. Ωστόσο είναι σημαντικό να επισημανθεί, ότι στο φάσμα αυτό υπάρχουν και επιπλέον συζεύξεις μεταξύ πρωτονίων στην αλειφατική περιοχή, οι οποίες δεν αντιστοιχούν στα λιπαρά οξέα. Αυτό το γεγονός υποδηλώνει την παρουσία επιπλέον οργανικών ενώσεων στο δείγμα χώματος.



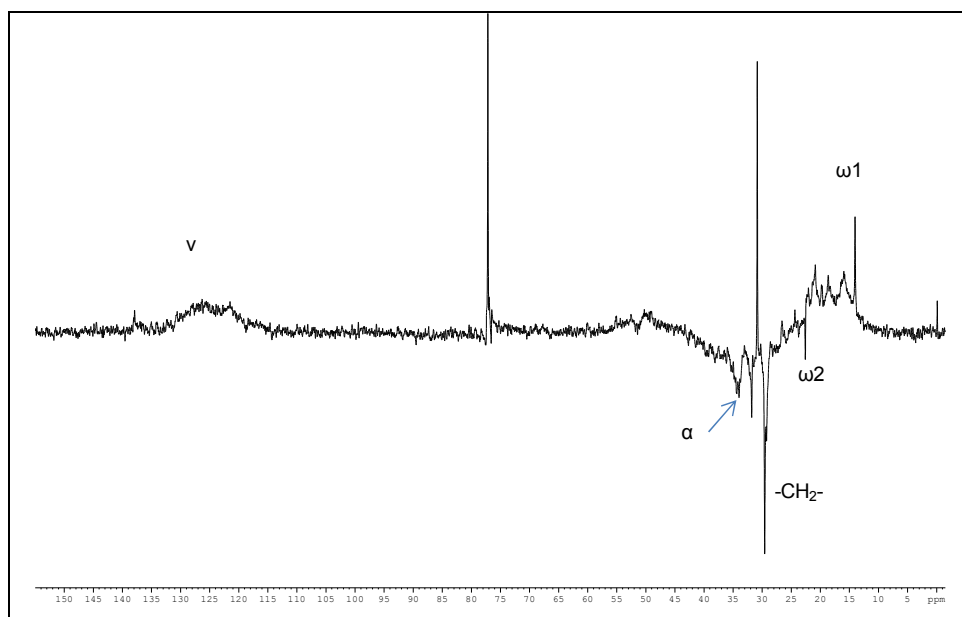
**Εικόνα 3.5.3.** Φάσμα  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  gCOSY οργανικών υπολειμμάτων χώματος του κεραμικού 44, περιοχή 0,5 – 5,8 ppm, διαλύτης  $\text{CDCl}_3$  και πεδίο συχνότητας 500,13 MHz.

Ακολουθώς, στην εικόνα 3.5.4. δίνεται το φάσμα  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  gHSQC του δείγματος χώματος του κεραμικού 44.



**Εικόνα 3.5.4.** Φάσμα  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  gHSQC οργανικών υπολειμμάτων χρώματος του κεραμικού 44, διαλύτης  $\text{CDCl}_3$  και πεδίο συχνότητας 500,13 MHz (δεξιά: φάσμα HSQC με αυξημένη ένταση).

Όπως παρατηρείται, εμφανίζεται σύζευξη μεταξύ του άνθρακα και των πρωτονίων του τερματικού μεθυλίου ( $\omega_1$ ) στα 14 ppm και 0,89 ppm, αντίστοιχα. Με ανάλογο τρόπο, ταυτοποιήθηκαν αρκετές κορυφές του φάσματος. Πιο συγκεκριμένα, έγινε δυνατή η διάκριση των ανθράκων των διαφόρων μεθυλενίων που αντιστοιχούν στα λιπαρά οξέα όπως του ( $\omega_2$ ) στα 22,9 ppm, του ( $\omega_3$ ) στα 31,7 ppm. Αυξάνοντας την ένταση του φάσματος γίνεται δυνατή η εύρεση της χημικής μετατόπισης των ανθράκων των  $\alpha$ - και  $\beta$ - μεθυλενίων, ως προς τη καρβοξυλομάδα, στα 34,1 ppm και 24,19 ppm, αντίστοιχα. Όπως στο φάσμα ομοπυρηνικής συσχέτισης, έτσι και σε αυτό το φάσμα εντοπίζονται πρόσθετες κορυφές στην αλειφατική περιοχή. Στη συνέχεια, παρατίθεται το φάσμα dept-135 (εικόνα 3.5.4.) το οποίο καθιστά ευκολότερη τη διάκριση μεταξύ των μεθυλενομάδων στο δείγμα χρώματος, οι οποίες εμφανίζονται με αρνητική φάση (κάτω) έναντι των μεθυλίων και των μεθινίων, που εμφανίζονται με θετική φάση (πάνω), και επιβεβαιώνει τα όσο αναφέρθηκαν παραπάνω.



**Εικόνα 3.5.5.** Φάσμα  $^{13}\text{C}$  DEPT-135 οργανικών υπολειμμάτων χρώματος 44, διαλύτης  $\text{CDCl}_3$  και πεδίο συχνότητας 125,7 MHz.

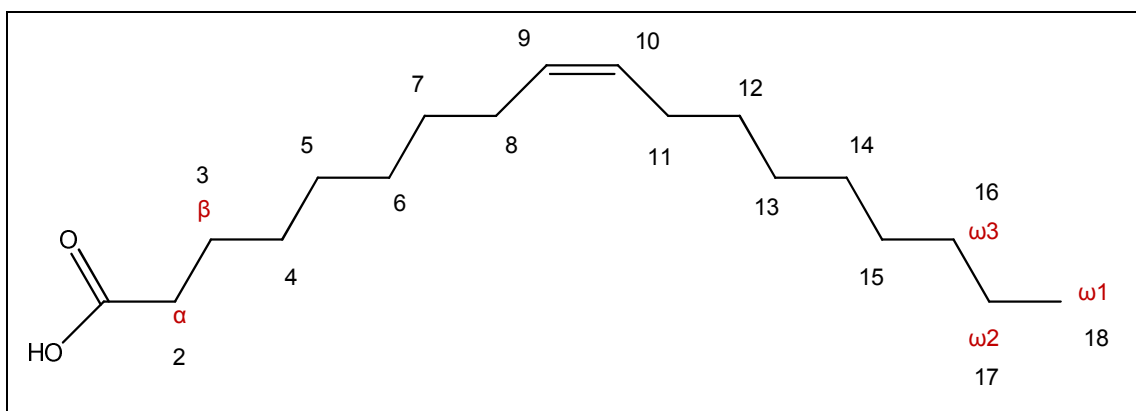
### 3.6. Συγκεντρωτικά αποτελέσματα των άπολων εκχυλισμάτων

Στην ενότητα αυτή παρουσιάζονται τα αποτελέσματα που προέκυψαν κατά την μελέτη των φασμάτων των άπολων εκχυλισμάτων των δειγμάτων που προέρχονται από τα αρχαιολογικά κεραμικά. Αναλυτικότερα, δίνεται ένας συγκεντρωτικός πίνακας στον οποίο καταγράφονται οι χημικές μετατοπίσεις  $^1\text{H}$  και  $^{13}\text{C}$  των ατόμων που ταυτοποιήθηκαν (πίνακας 3.6.1.) καθώς και η προτεινόμενη δομή του λιπαρού οξέος εικόνα (3.6.1.).

**Πίνακας 3.6.1.** Συγκεντρωτικός πίνακας των χημικών μετατοπίσεων  $^1\text{H}$  και  $^{13}\text{C}$  των άπολων εκχυλισμάτων.

Ένωση	Αρίθμηση	Θέση*	Ανάθεση	$\delta$ $^1\text{H}$ (ppm)	$\delta$ $^{13}\text{C}$ (ppm)
Λιπαρά οξέα	2	$\alpha$	$-\text{CH}_2-\underline{\text{CH}_2}-\text{COOH}$	2,40	34,1
Λιπαρά οξέα	3	$\beta$	$-\underline{\text{CH}_2}-\text{CH}_2-\text{COOH}$	1,57	24,19
Ακόρεστα λιπαρά οξέα	8, 11	$-\text{CH}_2-\nu$	$\text{CH}_2-\text{HC}=\text{CH}-$	1,98	-
Ακόρεστα λιπαρά οξέα	9, 10	$\nu$	$-\underline{\text{HC}}=\text{CH}-$	5,39	-
Λιπαρά οξέα	(4-7, 12-15)	$-\text{CH}_2-$	$-\underline{\text{CH}_2}-\text{CH}_2-$	1,26	29,5
Λιπαρά οξέα	16	$\omega_3$	$\text{CH}_3-\text{CH}_2-\underline{\text{CH}_2}-$	1,26	31,7
Λιπαρά οξέα	17	$\omega_2$	$\text{CH}_3-\underline{\text{CH}_2}-$	1,28	22,9
Λιπαρά οξέα	18	$\omega_1$	$\underline{\text{CH}_3}-\text{CH}_2-$	0,89	14

\*  $\omega_1$ : τερματικό μεθύλιο λιπαρού οξέος,  $\nu$ : βινυλικά πρωτόνια,  $-\text{CH}_2-\nu$ : αλλυλικά πρωτόνια,  $\alpha$ ,  $\beta$ :  $\alpha/\beta$ -θέση ως προς  $-\text{COOH}$ .



**Εικόνα 3.6.1.** Δομή του ακόρεστου λιπαρού οξέος, ελαϊκό οξύ που ταυτοποιήθηκε στα άπολα εκχυλίσματα.

## **Κεφάλαιο 4. Προσδιορισμός των ενώσεων που οφείλονται στο περιεχόμενο χρήσης των κεραμικών οστράκων**

Σε αυτό το κεφάλαιο θα γίνει σύγκριση των φασμάτων NMR των εκχυλισμάτων από τους πόρους του εσωτερικού, του εξωτερικού μέρους, των εκχυλισμάτων των δειγμάτων χώματος αλλά και κρούστας (για τα αγγεία όπου ανευρέθηκε). Η σύγκριση αυτή αποσκοπεί στον διαχωρισμό των ενώσεων που προέρχονται από την αρχική/κύρια χρήση του αγγείου από τις ενώσεις που οφείλονται στην επιμόλυνση του. Είναι σημαντικό να αναφερθεί ότι η ανάλυση των επιπλέον δειγμάτων για το κάθε κεραμικό, πέραν του εσωτερικού του μέρους, θα δώσει την δυνατότητα να αποφευχθούν τυχόν ψευδή θετικά αποτελέσματα όσον αφορά στο πραγματικό περιεχόμενο των αγγείων. Πιο συγκεκριμένα, ενώσεις που ταυτοποιούνται σε όλα τα επιμέρους δείγματα ενός κεραμικού οστράκου, μπορούν να χαρακτηριστούν ως χημικό «υπόβαθρο». Επιπλέον, όταν η συγκέντρωση (ένταση κορυφής όσον αφορά στην παρούσα εργασία) μιας ένωσης στο εξωτερικό μέρος του οστράκου ή στο χώμα είναι χαμηλότερη συγκριτικά με την συγκέντρωση της εσωτερικά του αγγείου, τότε μπορεί να γίνει αποδεκτός ο χαρακτηρισμός της ένωσης ως ουσίας που πιθανότερα προέρχεται από το αρχικό περιεχόμενο του αγγείου.<sup>26</sup>

### **Πολικά εκχυλίσματα, CH<sub>3</sub>OH/H<sub>2</sub>O (1:4)**

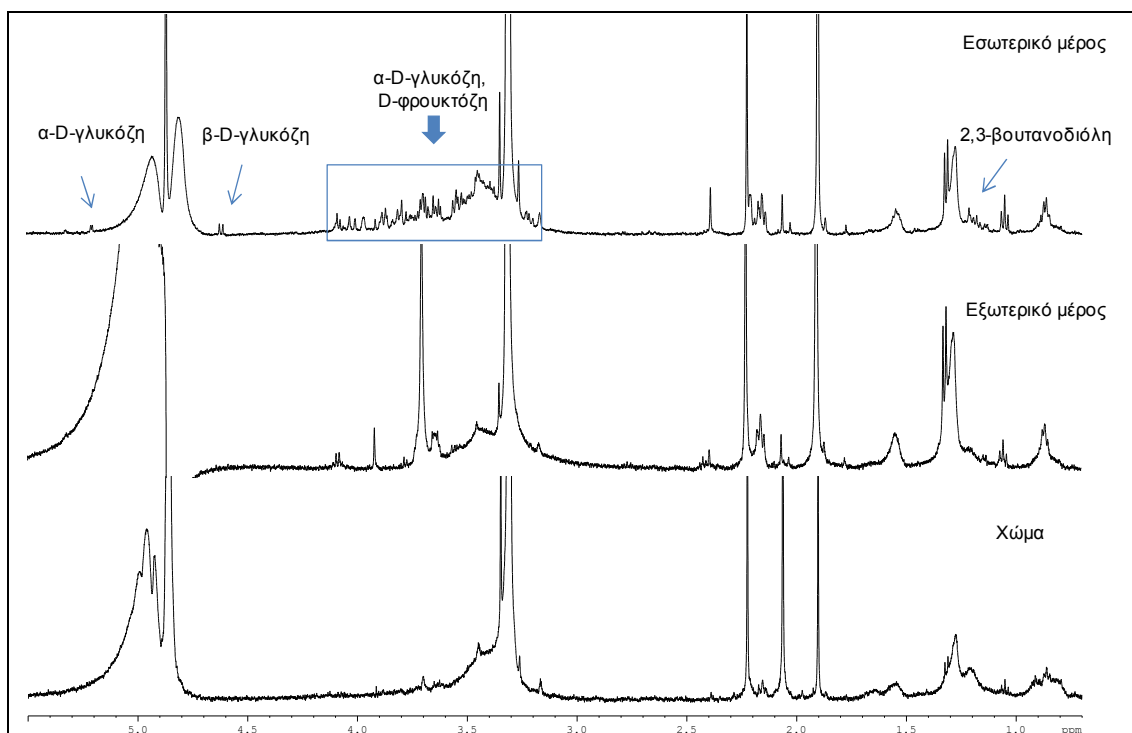
#### *4.1. Συνήθης αμφορέας 53*

Το κεραμικό με αριθμό δείγματος 53 είναι ένας συνήθης αμφορέας, οπότε είναι αρκετά πιθανή η εύρεση οργανικών υπολειμμάτων που διατηρήθηκαν ανέπαφα στους πόρους του κατά το πέρασμα των αιώνων, αφού εντάσσεται στην κατηγορία των αμφορέων που πιθανολογείται ότι χρησιμοποιούνταν για την αποθήκευση ρευστών τροφίμων. Επιπλέον, τα φάσματα του κεραμικού 53 είχαν ιδιαίτερο ενδιαφέρον και αυτός ήταν ο λόγος που διενεργήθηκαν τρεις ξεχωριστές δειγματοληψίες σε αυτό. Ωστόσο, η ποσότητα του δείγματος του κεραμικού που εκχυλίστηκε δεν ήταν σε κάθε δειγματοληψία η ίδια. Κατά την τρίτη δειγματοληψία, λήφθηκε πέντε φορές μεγαλύτερη ποσότητα υλικού από



το κεραμικό όστρακο συγκριτικά με την πρώτη, με σκοπό να εκχυλιστούν ακόμη περισσότερες ενώσεις. Παρακάτω παρατίθενται τα φάσματα των επιμέρους δειγμάτων που προέκυψαν κατά την πρώτη και τρίτη δειγματοληψία του οστράκου 53.

Στην εικόνα 4.1.1. δίνονται τα φάσματα  $^1\text{H}$  NMR των εκχυλισμάτων όλων των δειγμάτων που λήφθηκαν για το συγκεκριμένο αγγείο, στο σημείο δειγματοληψίας 1.

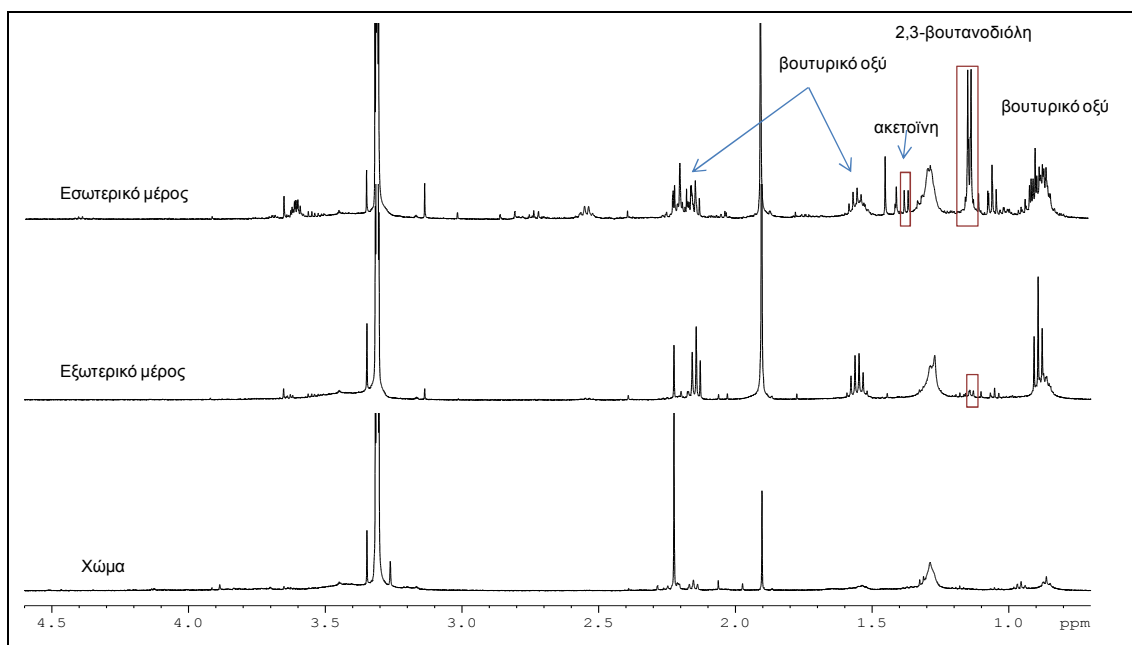


**Εικόνα 4.1.1.** Σύγκριση φασμάτων  $^1\text{H}$  NMR του δείγματος 53, στο σημείο δειγματοληψίας 1. Διαλύτης  $\text{MeOD}/\text{D}_2\text{O}$  (1:4), ποσότητες δειγμάτων κεραμικού/χώματος 100 mg.

Τα οξέα οξικό, λακτικό και προπιονικό καθώς και οι κορυφές που αντιστοιχούν σε κορεσμένα λιπαρά οξέα (0,98 ppm, 1,28 ppm) εμφανίζονται τόσο στο εκχύλισμα των πόρων του εσωτερικού μέρους του αγγείου όσο και στο εκχύλισμα από τους πόρους του εξωτερικού μέρους του αγγείου. Επιπλέον, οι ίδιες ενώσεις βρίσκονται και στο δείγμα χώματος του αγγείου 53 αλλά σε χαμηλότερη ένταση. Οι ενώσεις που ταυτοποιήθηκαν μόνο στο εκχύλισμα των πόρων που λήφθηκαν από το εσωτερικό μέρος του αγγείου, είναι τα σάκχαρα α-D-γλυκόζη, β-D-γλυκόζη, D-φρουκτόζη και η 2,3-βουτανδιόλη. Συμπερασματικά, αυτές οι ενώσεις είναι αντιπροσωπευτικές για το περιεχόμενο του αγγείου.

Στη συνέχεια, κάνοντας την ίδια σύγκριση για το σημείο δειγματοληψίας 3 του αγγείου 53 παρατηρήθηκε μια σημαντική αλλαγή η οποία ήταν η απουσία των

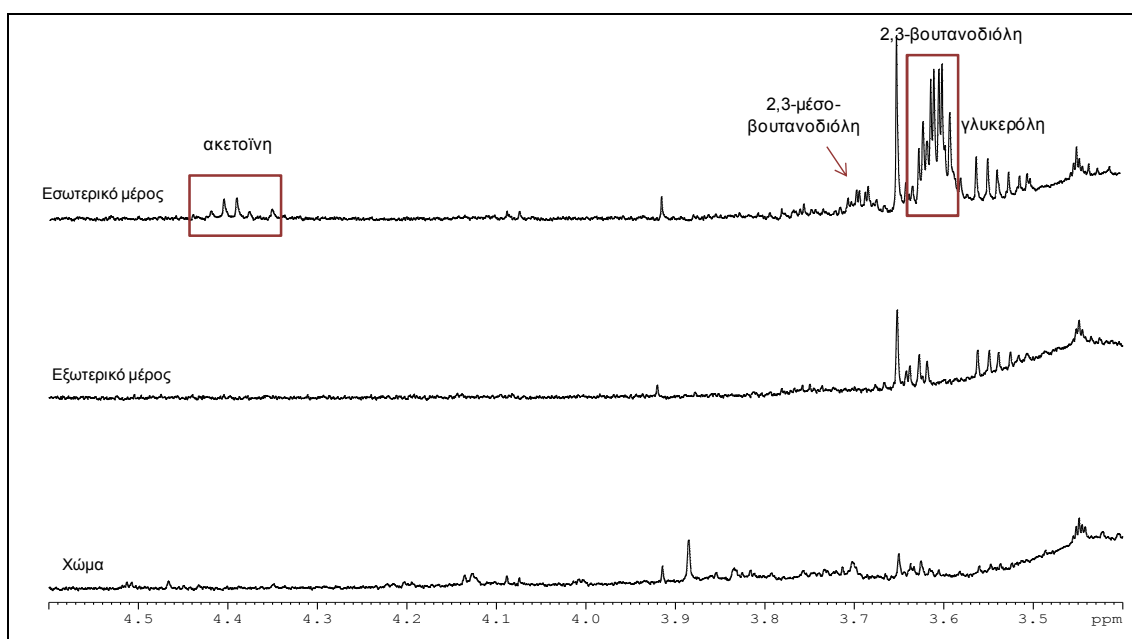
σακχάρων στο εσωτερικό μέρος του δείγματος (εικόνα 4.1.2.). Το φαινόμενο αυτό καταδεικνύει την ετερογένεια των δειγμάτων<sup>5</sup> που λαμβάνονται από αρχαιολογικά αγγεία και δείχνει ότι η κατανομή των οργανικών ενώσεων σε αρχαιολογικά κεραμικά δείγματα μπορεί να είναι σημαντικά ανομοιογενής. Επίσης, βρέθηκαν επιπλέον ενώσεις στα δείγματα του σημείου δειγματοληψίας 3, γεγονός που σχετίζεται πιθανώς με την μεγαλύτερη ποσότητα δείγματος (500 mg κεραμικού/1,5 gr χώματος) που διατέθηκε για εκχύλιση συγκριτικά με το σημείο δειγματοληψίας 1 (100 mg κεραμικού/χώματος). Πιο αναλυτικά, οι ενώσεις που εκχυλίστηκαν σε όλα τα επιμέρους δείγματα (εσωτερικό, εξωτερικό μέρος, χώμα) του αγγείου ήταν τα οξέα οξικό, λακτικό, γλυκολικό και ηλεκτρικό, ενώ εμφανίστηκαν και κορυφές που αντιστοιχούν σε λιπαρά οξέα. Το βουτυρικό οξύ βρέθηκε σε αρκετά μεγάλη αναλογία τόσο εσωτερικά όσο και εξωτερικά του οστράκου αλλά δεν ανιχνεύθηκε στο χώμα.



**Εικόνα 4.1.2.** Σύγκριση φασμάτων  $^1\text{H}$  NMR του δείγματος 53, στο σημείο δειγματοληψίας 3. Διαλύτης  $\text{MeOD}/\text{D}_2\text{O}$  (1:4), ποσότητα δείγματος/κεραμικού 500mg και 1,5gr χώματος.

Η διπλή κορυφή της 2,3-βουτανοδιόλης παρατηρείται σε μεγάλη ένταση μόνο στο φάσμα του εσωτερικού μέρους του αγγείου ενώ σε πολύ μικρότερη ένταση φαίνεται και εξωτερικά του δείγματος. Δίνοντας έμφαση στην περιοχή των 3,4 έως 4,6 ppm (εικόνα 4.1.3.) παρατηρείται ότι η γλυκερόλη υπάρχει εσωτερικά και εξωτερικά του αγγείου ενώ στο χώμα εμφανίζεται σε μικρότερη ένταση. Ωστόσο, η πολλαπλή κορυφή της 2,3-βουτανοδιόλης καθώς και της

μέσο μορφής της υπάρχουν αποκλειστικά και μόνο στο φάσμα του εκχυλίσματος από τους πόρους του εσωτερικού μέρους του αγγείου και σε πολύ μεγαλύτερη ένταση συγκριτικά με το σημείο δειγματοληψίας 1. Επιπλέον, μόνο εσωτερικά παρατηρείται και η τετραπλή κορυφή της ακετοΐνης. Επομένως, καταλήγουμε στο συμπέρασμα ότι οι ενώσεις που είναι αντιπροσωπευτικές του περιεχομένου του αγγείου είναι η 2,3-βουτανοδιόλη και η ακετοΐνη. Το βουτυρικό οξύ πιθανώς να είναι επίσης ενδεικτικό του περιεχομένου του κεραμικού καθώς δεν ταυτοποιείται στο χώμα.



**Εικόνα 4.1.3.** Σύγκριση φασμάτων  $^1\text{H}$  NMR του δείγματος 53, στο σημείο δειγματοληψίας 3, στη περιοχή χημικών μετατοπίσεων από 3,4 έως 4,6 ppm. Διαλύτης  $\text{MeOD}/\text{D}_2\text{O}$  (1:4), ποσότητα δείγματος κεραμικού 500 mg και 1,5 gr χώματος.

Τα αποτελέσματα ήταν παρόμοια για το σημείο δειγματοληψίας 2 με τη διαφορά ότι η 2,3-βουτανοδιόλη ανιχνεύθηκε σε πολύ χαμηλή συγκέντρωση και ως εκ τούτου εμφανίστηκε μόνο η διπλή κορυφή στα 1,13 ppm. Η ταυτοποίηση της ένωσης αυτής έγινε εσωτερικά και εξωτερικά του οστράκου ενώ δεν βρέθηκε στο χώμα. Επιπλέον, σε μικρή ένταση εμφανίστηκε η διπλή κορυφή της μεθυλομάδας του φθαλικού διισοβουτυλεστέρα εσωτερικά του αγγείου ενώ η ακετοΐνη δεν ανιχνεύτηκε σε κανένα δείγμα. Ακολουθώντας, στον πίνακα 4.1.1. παρουσιάζεται συνοπτικά η κατανομή των οργανικών υπολειμμάτων στα επιμέρους δείγματα που λήφθηκαν από το όστρακο 53, για τις τρεις δειγματοληψίες.

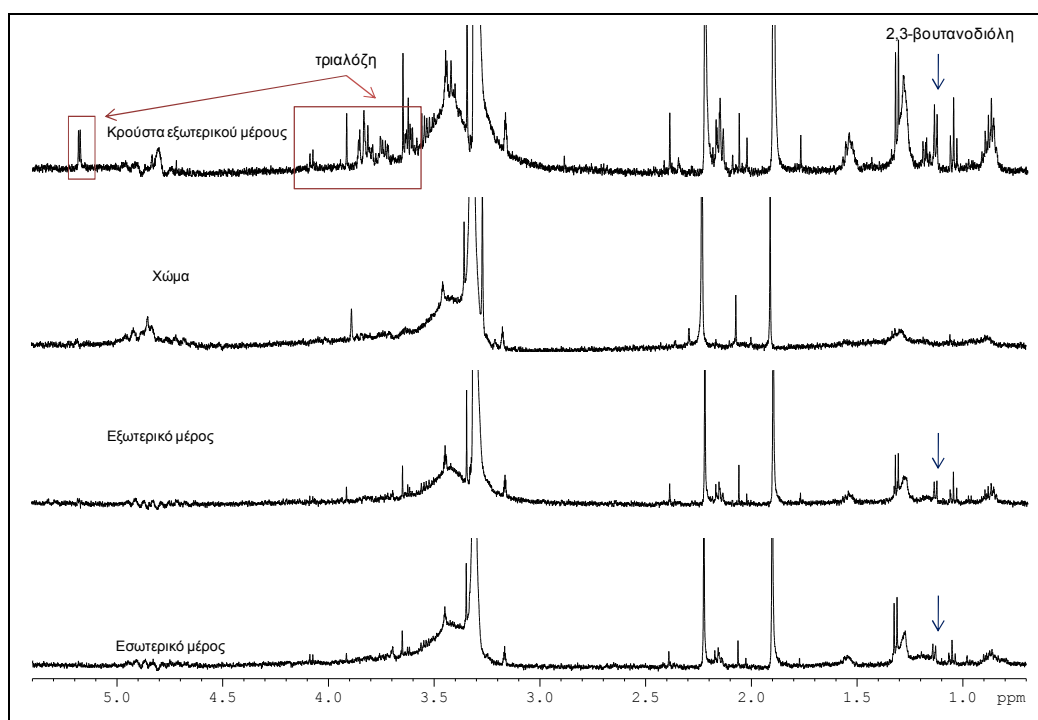
**Πίνακας 4.1.1.** Συγκεντρωτικός πίνακας των ενώσεων που βρέθηκαν στα πολιτικά εκχυλίσματα του συνήθη αμφορέα 53.

Δειγματοληψία Ένωση	Εσωτερικό μέρος			Εξωτερικό μέρος			Χώμα		
	1 <sup>η</sup>	2 <sup>η</sup>	3 <sup>η</sup>	1 <sup>η</sup>	2 <sup>η</sup>	3 <sup>η</sup>	1 <sup>η</sup> (0,1 gr)	2 <sup>η</sup> (1,5 gr)	
Οξικό οξύ	Ίχνη	Ναι	Ίχνη	Ναι	Ίχνη	Ναι	Ναι	Ίχνη	Ίχνη
Ηλεκτρικό οξύ	Ναι	Ίχνη	Ναι	Ναι	Ίχνη	Ναι	Ναι	Όχι	Ναι
Λακτικό οξύ	Ναι	Ναι	Ναι	Ίχνη	Ναι	Ίχνη	Όχι	Ίχνη	Ναι
Γλυκολικό οξύ	Ίχνη	Ίχνη	Όχι	Ναι	Ναι	Ίχνη	Ναι	Ίχνη	Ναι
3-Υδροξυ-προπιονικό οξύ	Όχι	Όχι	Όχι	Όχι	Ίχνη	Όχι	Όχι	Όχι	Όχι
Προπιονικό οξύ	Όχι	Ίχνη	Ίχνη	Ναι	Ίχνη	Ίχνη	Ναι	Ίχνη	Ίχνη
Βουτυρικό οξύ	Όχι	Όχι	Όχι	Ναι	Όχι	Όχι	Ναι	Όχι	Όχι
Τρυγικό οξύ	Όχι	Όχι	Όχι	Όχι	Όχι	Όχι	Όχι	Όχι	Ίχνη
Γλυκερόλη	Όχι	Ίχνη	Ίχνη	Ναι	Όχι	Ναι	Ναι	Όχι	Ίχνη
2,3-Βουτανοδιόλη	Ίχνη	Ίχνη	Ίχνη	Ναι	Ίχνη	Ίχνη	Ίχνη	Όχι	Όχι
Ακετοΐνη	Όχι	Όχι	Όχι	Ναι	Όχι	Όχι	Όχι	Όχι	Όχι
Τριαλόζη	Όχι	Όχι	Όχι	Όχι	Όχι	Όχι	Όχι	Όχι	Όχι
α-,β- Γλυκόζη, Φρουκτόζη	Ναι	Όχι	Όχι	Όχι	Όχι	Όχι	Όχι	Όχι	Όχι
Κορεσμένα λιπαρά οξέα	Ναι	Ναι	Ναι	Ναι	Ναι	Ναι	Ναι	Ίχνη	Ναι

#### 4.2. Συνήθης αμφορέας 19

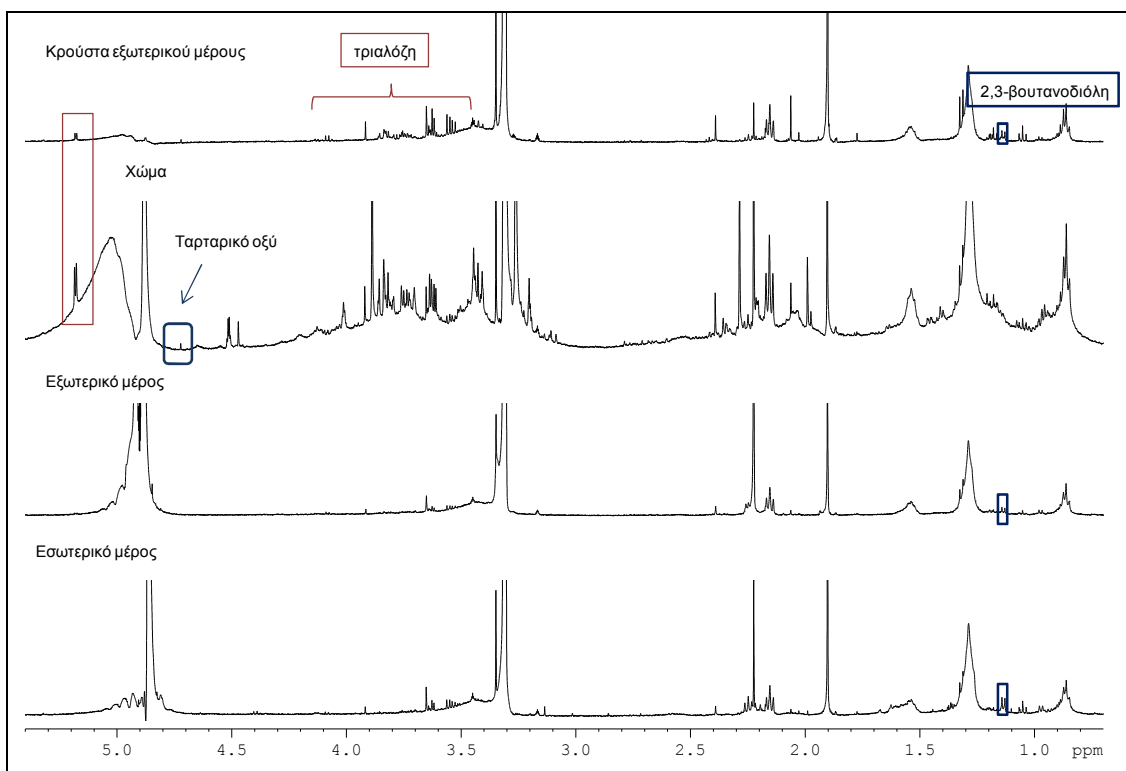
Το κεραμικό αγγείο με αριθμό δείγματος 19 αποτελεί ένα συνήθη αμφορέα και συνεπώς είναι αναμενόμενο να έχουν προσροφηθεί οργανικά υπολείμματα στους πόρους του καθώς έφερε ρευστό περιεχόμενο, σύμφωνα πάντα με τις αρχαιολογικές εκτιμήσεις. Παρακάτω θα γίνει μια προσπάθεια εύρεσης των ενώσεων που προέρχονται από τη χρήση του αγγείου. Στην εικόνα 4.2.1. παρουσιάζονται τα μονοδιάστατα φάσματα πρωτονίου των εκχυλισμάτων των δειγμάτων που προέκυψαν από το όστρακο 19 στο σημείο δειγματοληψίας 1. Οι ενώσεις που υπάρχουν σε όλα τα εκχυλίσματα είναι το οξικό, το λακτικό, το ηλεκτρικό και το προπιονικό οξύ. Οι κορυφές που αντιστοιχούν σε λιπαρά οξέα επίσης είναι εμφανείς σε όλα τα δείγματα. Στα φάσματα των πόρων του εσωτερικού, του εξωτερικού μέρους καθώς και στο δείγμα κρούστας που βρέθηκε προσκολλημένη στην εξωτερική επιφάνεια του οστράκου, υπάρχει η διπλή κορυφή της 2,3-βουτανοδιόλης σε αρκετά ωστόσο χαμηλή συγκέντρωση. Είναι σημαντικό να τονιστεί ότι η διπλή αυτή κορυφή δεν

εμφανίστηκε στο δείγμα του χύματος, γεγονός που ενισχύει την υπόθεση ότι η ένωση αποτελεί πιθανό μόριο - ιχνηλάτη για το αρχικό περιεχόμενο του κεραμικού.



**Εικόνα 4.2.1.** Σύγκριση φασμάτων  $^1\text{H}$  NMR του δείγματος 19, στο σημείο δειγματοληψίας 1. Διαλύτης MeOD/D<sub>2</sub>O (1:4), ποσότητα δειγμάτων 80-100 mg.

Κατά την δεύτερη δειγματοληψία του αγγείου 19 (εικόνα 4.2.2.), τα αποτελέσματα ήταν παρόμοια όσον αφορά στα μικρά οργανικά οξέα και τα λιπαρά που βρέθηκαν στην πρώτη δειγματοληψία. Ωστόσο, μια σημαντική διαφορά αποτελεί η εμφάνιση των κορυφών της τριαλόζης σε μεγάλες συγκεντρώσεις (αναλογικά με τα άλλα δείγματα) στο φάσμα του χύματος. Αυτό υποδεικνύει για ακόμη μια φορά το φαινόμενο της ανομοιογένειας στη χημική σύσταση των δειγμάτων των αγγείων. Επιπλέον, η διπλή κορυφή του φθαλικού διισοβουτυλεστέρα εμφανίστηκε σε όλα τα εκχυλίσματα του οστράκου εκτός του φάσματος του εκχυλίσματος χύματος. Τέλος, η απλή κορυφή του τρυγικού (ταρταρικού) οξέος βρέθηκε μόνο στο δείγμα του χύματος και σε πολύ χαμηλή ένταση κατά την δεύτερη δειγματοληψία. Στον πίνακα 4.2.1. παρατηρείται η κατανομή των οργανικών υπολειμμάτων στα επιμέρους δείγματα του αμοφρέα 19, για τις δύο δειγματοληψίες.



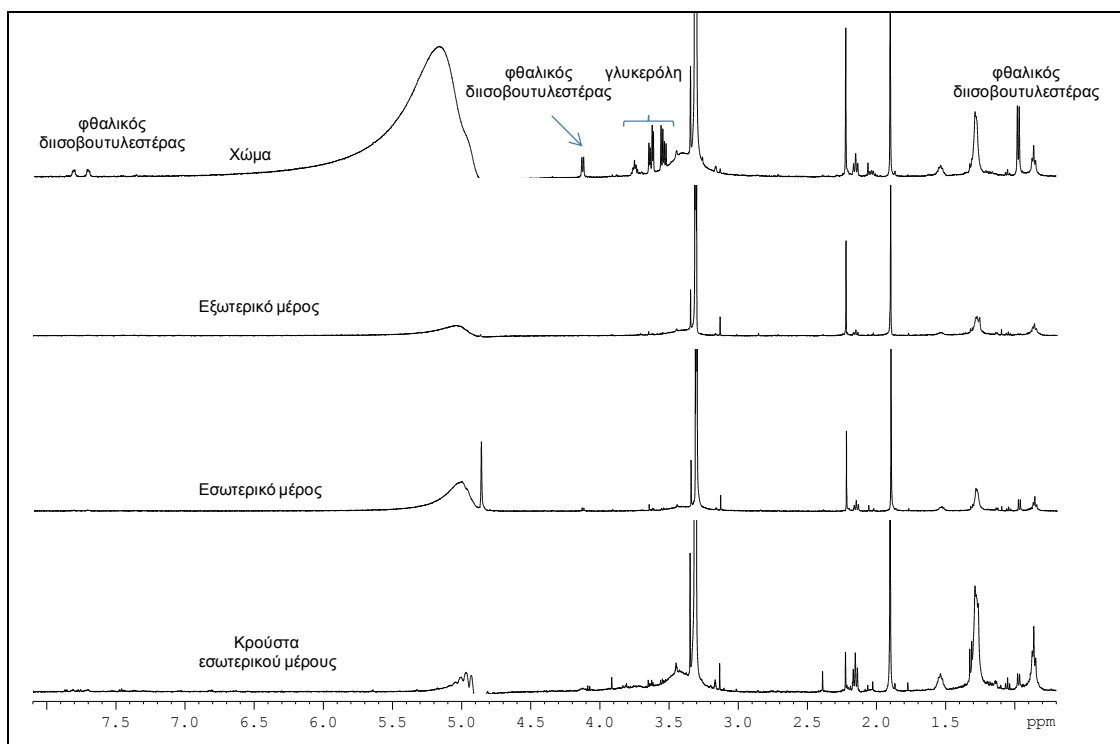
**Εικόνα 4.2.2.** Σύγκριση φασμάτων  $^1\text{H}$  NMR του δείγματος 19, στο σημείο δειγματοληψίας 2. Διαλύτης  $\text{MeOD}/\text{D}_2\text{O}$  (1:4), ποσότητα δείγματος κεραμικού, κρούστας 500 mg και 1,5 gr χώματος.

**Πίνακας 4.2.1.** Συγκεντρωτικός πίνακας των ενώσεων που βρέθηκαν στα πολικά εκχυλίσματα του συνήθη αμφορέα 19.

Δειγματοληψία	Εσωτερικό μέρος		Εξωτερικό μέρος		Χώμα		Κρούστα	
	1 <sup>η</sup>	2 <sup>η</sup>	1 <sup>η</sup>	2 <sup>η</sup>	1 <sup>η</sup> (0,1 gr)	2 <sup>η</sup> (1,5 gr)	1 <sup>η</sup>	2 <sup>η</sup>
Ένωση								
Οξικό οξύ	Ίχνη	Ίχνη	Ίχνη	Ναι	Ίχνη	Ναι	Ίχνη	Ίχνη
Ηλεκτρικό οξύ	Ίχνη	Ίχνη	Ίχνη	Ναι	Όχι	Ναι	Ίχνη	Ίχνη
Λακτικό οξύ	Ναι	Ναι	Ναι	Ναι	Όχι	Ναι	Ναι	Ναι
Γλυκολικό οξύ	Ίχνη	Ίχνη	Ίχνη	Ναι	Ίχνη	Ναι	Ίχνη	Ίχνη
3-Υδροξυ-προπιονικό οξύ	Όχι	Όχι	Όχι	Ίχνη	Όχι	Όχι	Όχι	Όχι
Προπιονικό οξύ	Ίχνη	Ναι	Ναι	Ναι	Όχι	Ίχνη	Ίχνη	Ναι
Βουτυρικό οξύ	Όχι	Όχι	Όχι	Όχι	Όχι	Όχι	Όχι	Όχι
Τρυγικό οξύ	Όχι	Όχι	Όχι	Ναι	Όχι	Ναι	Όχι	Ίχνη
Γλυκερόλη	Ίχνη	Ναι	Ίχνη	Ναι	Όχι	Ίχνη	Ίχνη	Ίχνη
2,3-Βουτανοδιόλη	Ναι	Ναι	Ναι	Ναι	Όχι	Όχι	Ναι	Ναι
Ακετοΐνη	Όχι	Όχι	Όχι	Όχι	Όχι	Όχι	Όχι	Όχι
Τριάλοζη	Όχι	Όχι	Όχι	Ναι	Όχι	Ναι	Όχι	Ν
α-, β- Γλυκόζη, Φρουκτόζη	Όχι	Όχι	Όχι	Όχι	Όχι	Όχι	Όχι	Όχι
κορ. λιπαρά οξέα	Ίχνη	Ναι	Ίχνη	Ναι	Όχι	Ναι	Ναι	Ναι

### 4.3. Ωοειδής αμφορέας 86

Το αγγείο με αριθμό δείγματος 86 ανήκει στην κατηγορία των ωοειδών αμφορέων συνεπώς αναμένεται να περιέχει ρευστό υλικό. Στην εικόνα 4.3.1. παρατίθενται τα φάσματα  $^1\text{H}$  NMR των εκχυλισμάτων των επιμέρους δειγμάτων του αγγείου 86.

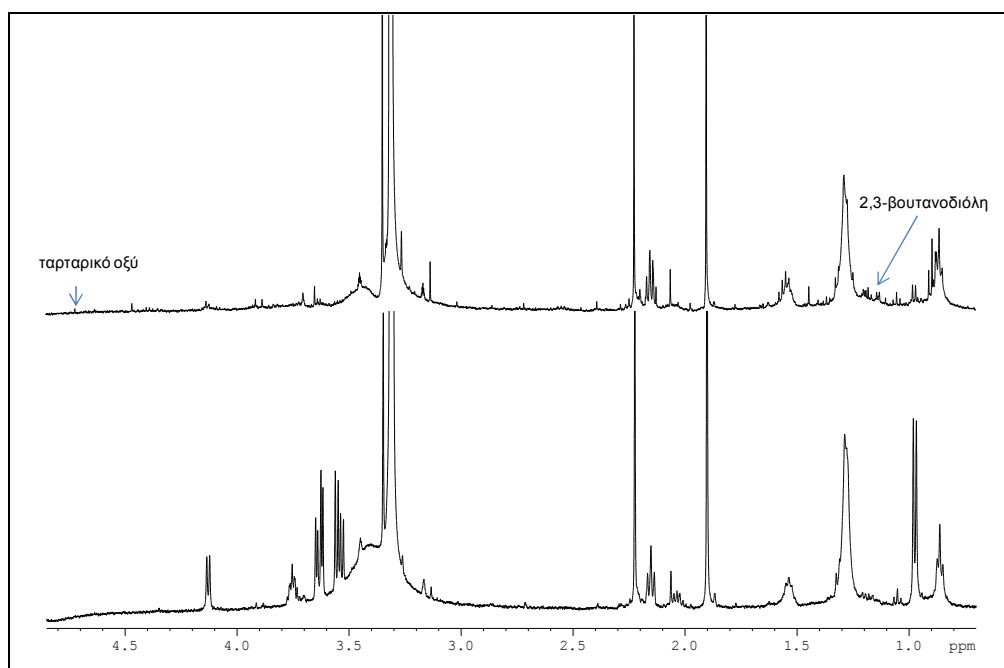


**Εικόνα 4.3.1.** Σύγκριση φασμάτων  $^1\text{H}$  NMR του δείγματος 86. Διαλύτης MeOD/D<sub>2</sub>O (1:4), ποσότητα δειγμάτων 100 mg.

Οι ενώσεις οξικό, ηλεκτρικό, γαλακτικό οξύ και κορεσμένα λιπαρά οξέα βρίσκονται σε όλα τα δείγματα, με το ηλεκτρικό οξύ να είναι σε χαμηλότερη ένταση στο εκχύλισμα των πόρων του εξωτερικού μέρους του αμφορέα και στο χώμα. Οι ενώσεις αυτές έχουν παρατηρηθεί σε όλα τα δείγματα οπότε δεν λαμβάνονται υπόψιν ως μοριακοί δείκτες, ενώ το πιο πιθανό είναι να προέρχονται από μικροβιακή μόλυνση των αγγείων. Οι κορυφές της ισοβουτυλομάδας του φθαλικού διισοβουτυλεστέρα εμφανίζονται σε όλα τα φάσματα αλλά στο χώμα βρίσκονται σε αρκετά μεγαλύτερη ένταση. Επιπλέον, στο φάσμα του χώματος φαίνονται οι κορυφές στα 7,71 και 7,82 ppm που αντιστοιχούν στο αρωματικό τμήμα του φθαλικού διισοβουτυλεστέρα. Η ταυτοποίηση της ένωσης αυτής, που αποτελεί πλαστικοποιητή, υποδεικνύει την επιμόλυνση των δειγμάτων. Η διπλή κορυφή της 2,3-βουτανοδιόλης

φαίνεται να υπάρχει σε όλα τα δείγματα αλλά η ένταση της κορυφής είναι φανερά χαμηλή.

Η δειγματοληψία του χρώματος πραγματοποιήθηκε δύο φορές. Κατά τη σύγκριση των φασμάτων των δύο εκχυλισμάτων χρώματος (εικόνα 4.3.2.) παρατηρείται ότι η γλυκερόλη υπάρχει σε πολύ μεγαλύτερη συγκέντρωση στην πρώτη δειγματοληψία (100 mg) σχετικά με τη δεύτερη (1,5 gr) γεγονός που τονίζει για ακόμη μια φορά την ανομοιογένεια των δειγμάτων. Ωστόσο, κατά την εκχύλιση μεγαλύτερης ποσότητας χρώματος (1,5 gr) εμφανίστηκαν οι κορυφές του βουτυρικού οξέος. Το συγκεκριμένο δείγμα χρώματος ήταν το μόνο όπου βρέθηκε η κορυφή που αντιστοιχεί στην μεθυλομάδα της 2,3-βουτανοδιόλης παρατηρούμενη ωστόσο σε πολύ χαμηλή ένταση. Επιπρόσθετα, βρέθηκαν ίχνη τρυγικού (ταρταρικού) οξέος.



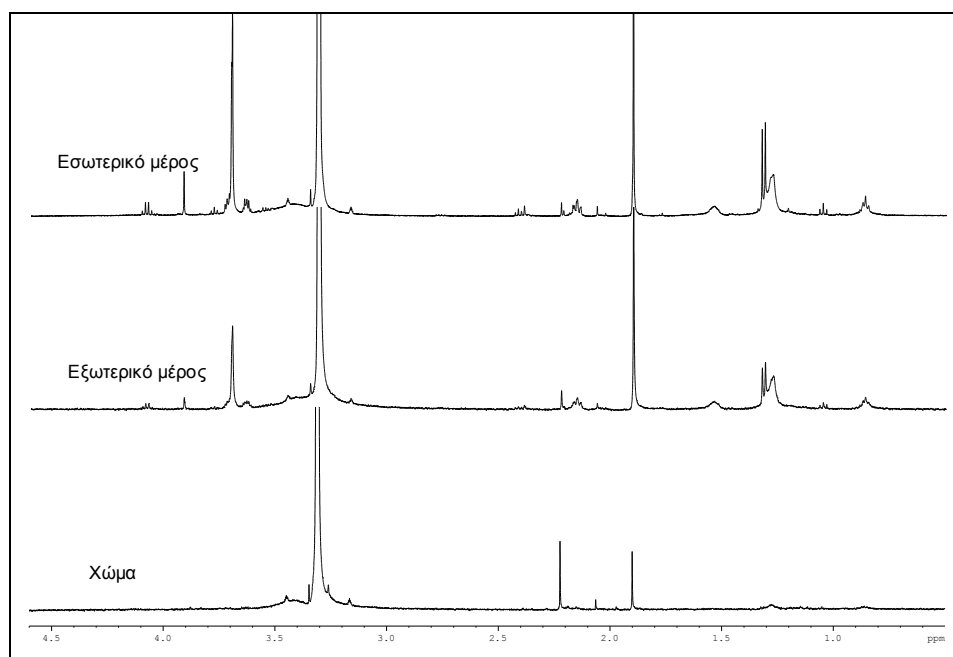
**Εικόνα 4.3.2.** Σύγκριση φασμάτων  $^1\text{H}$  NMR χρώματος του δείγματος 86. Διαλύτης  $\text{MeOD}/\text{D}_2\text{O}$  (1:4), πάνω φάσμα ποσότητας δείγματος 1,5 gr, κάτω φάσμα χρώματος 100mg.

#### 4.4. Κάδοι 85, 27 και συνήθης αμφορέας 77

Όσον αφορά στα κεραμικά αγγεία με αριθμό δείγματος 27 (Παράρτημα) και 85 τα οποία ανήκουν στην κατηγορία των κάδων (στερεό περιεχόμενο), παρατηρείται μια ταύτιση στα φάσματά τους. Ειδικότερα, δεν υπήρξε κάποια διαφοροποίηση μεταξύ των φασμάτων των εκχυλισμάτων των επιμέρους σημείων δειγματοληψίας (πόροι εσωτερικού, εξωτερικού μέρους) και του χρώματος για το κάθε αγγείο. Στην εικόνα 4.4.1. δίνονται τα φάσματα των



επιμέρους δειγμάτων του κάδου 85. Οι ενώσεις που ταυτοποιήθηκαν στα εκχυλίσματα ήταν τα μικρά οργανικά οξέα οξικό, γλυκολικό, λακτικό, προπιονικό, ηλεκτρικό οξύ που έχουν αναφερθεί και παραπάνω, η γλυκερόλη, ο φθαλικός διισοβουτυλεστέρας καθώς και κορεσμένα λιπαρά οξέα. Η διαφορά των δύο δειγμάτων κεραμικού είναι ότι στο δείγμα 85 ταυτοποιήθηκε επιπλέον το υδροξυ-προπιονικό οξύ. Η ίδια εικόνα λήφθηκε από τα φάσματα των εκχυλισμάτων των επιμέρους δειγμάτων του συνήθη αμφορέα 77 (Παράρτημα), παρόλο που κατατάσσεται σε διαφορετική κατηγορία τύπου δοχείου (πιθανώς ρευστό περιεχόμενο).



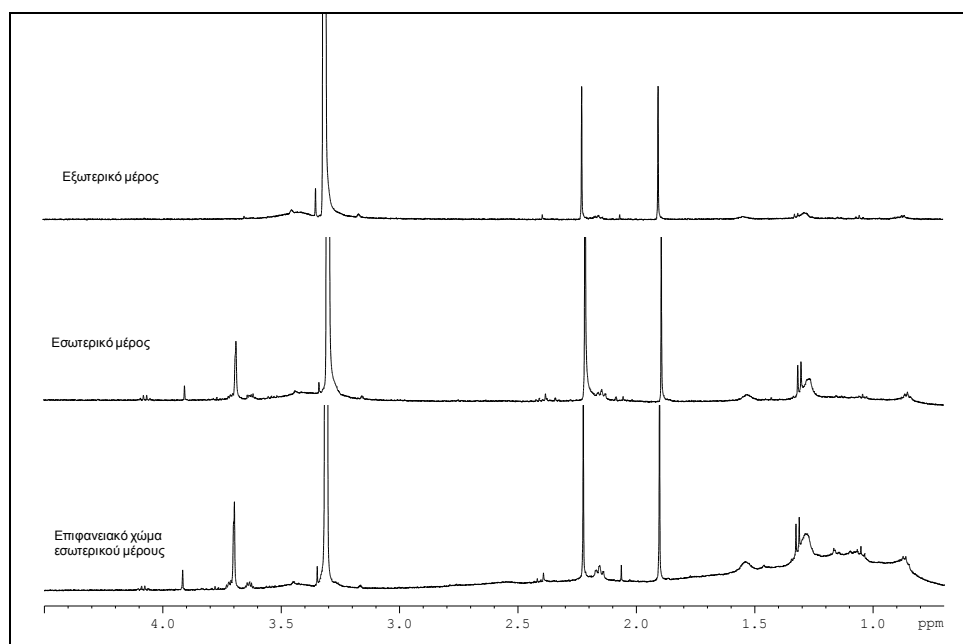
**Εικόνα 4.4.1.** Σύγκριση φασμάτων  $^1\text{H}$  NMR του δείγματος 85. Διαλύτης  $\text{MeOD}/\text{D}_2\text{O}$  (1:4), ποσότητα δειγμάτων 100 mg.

Συνεπώς, καταλήγουμε στο συμπέρασμα ότι τα μικρά οργανικά οξέα που προαναφέρθηκαν αποτελούν ενώσεις υποβάθρου των αγγείων, αφού βρέθηκαν σε όλα τα δείγματα που μελετήθηκαν στην παρούσα διατριβή. Πιο συγκεκριμένα, η πιο πιθανή προέλευση των παραπάνω ενώσεων είναι μικροβιακής φύσης. Αντίθετα, ο φθαλικός διισοβουτυλεστέρας είναι γνωστός πλαστικοποιητής, συνεπώς αποτελεί με βεβαιότητα σύγχρονο επιμολυντή.

#### 4.5. Κυλινδρικοί αμφορείς 30 και 44

Οι κυλινδρικοί αμφορείς σχετίζονται με την φύλαξη πολύτιμου περιεχομένου λόγω της μικρής χωρητικότητας και του ιδιόμορφου σχήματος τους. Τα

φάσματα των εκχυλισμάτων των επιμέρους δειγμάτων των αμφορέων 30 και 44 ήταν πανομοιότυπα. Αναλυτικότερα, ταυτοποιήθηκαν οι ενώσεις υποβάθρου - μικρά οργανικά οξέα και κορεσμένα λιπαρά οξέα. Ωστόσο, παρατηρήθηκε μια σημαντική διαφορά συγκριτικά με τα υπόλοιπα πέντε όστρακα. Στα φάσματα του εκχυλίσματος των πόρων του εσωτερικού μέρους και του επιφανειακού χώματος, που ήταν στο εσωτερικό μέρος του δείγματος 30 (εικόνα 5.4.1.), καταγράφησαν ευρείες κορυφές στην περιοχή των 0,76 - 1,62 ppm. Οι ευρείες αυτές κορυφές εμφανίστηκαν και στο φάσμα του εκχυλίσματος του χώματος του κεραμικού 44 (Παράρτημα) και πιθανώς αποδίδονται σε οργανικά υπολείμματα τα οποία αλλοιώθηκαν από την φωτιά που ξέσπασε στον αρχαιολογικό χώρο.



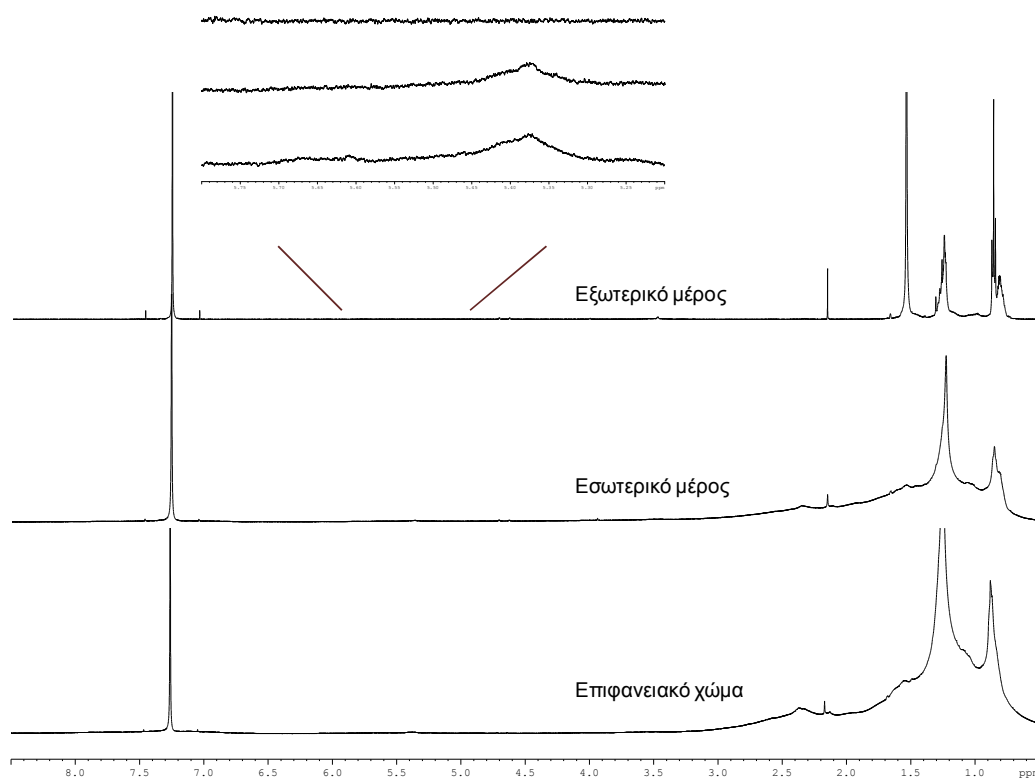
Εικόνα 4.5.1. Σύγκριση φασμάτων  $^1\text{H}$  NMR του δείγματος 30. Διαλύτης MeOD/D<sub>2</sub>O (1:4) και πεδίο συχνότητας 500,13 MHz.

## Άπολα εκχυλίσματα, CHCl<sub>3</sub>

### 4.6. Κυλινδρικοί αμφορείς 30 και 44

Τα φάσματα των κεραμικών οστράκων με αριθμό δείγματος 30 και 44 ξεχώρισαν στα άπολα εκχυλίσματα, καθώς παρατηρήθηκαν πλήθος κορυφών οι οποίες αποδίδονται σε οργανικά υπολείμματα, σε αντίθεση με τα υπόλοιπα δείγματα. Σημαντικό είναι να αναφερθεί για ακόμη μια φορά, ότι και τα δύο

όστρακα ανήκουν στον ίδιο τύπο κεραμικών ο οποίος πιθανολογείται ότι έφερε πολύτιμο περιεχόμενο, σύμφωνα με την αρχαιολογική αποτίμησή του. Αναλυτικότερα, στην εικόνα 4.6.1. παρατίθενται τα φάσματα  $^1\text{H}$  NMR των εκχυλισμάτων χλωροφορμίου από τους πόρους του εσωτερικού, του εξωτερικού μέρους του οστράκου 30 και το φάσμα του επιφανειακού χώματος του κεραμικού.



**Εικόνα 4.6.1.** Σύγκριση φασμάτων  $^1\text{H}$  NMR του δείγματος 30. Διαλύτης  $\text{CDCl}_3$  και πεδίο συχνότητας 500,13 MHz.

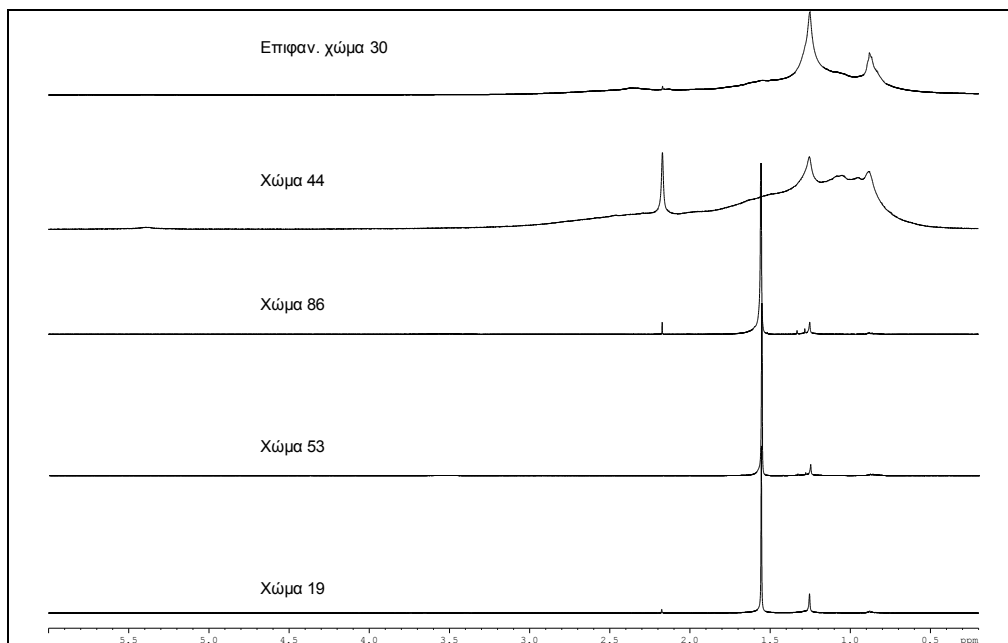
Όπως είναι φανερό, παρατηρούνται ευρείες κορυφές που υποδηλώνουν την ύπαρξη καμμένων οργανικών υπολειμμάτων, ενώ εμφανίζονται και κορυφές χαρακτηριστικές του ελαϊκού οξέος τόσο στο εκχύλισμα των πόρων του εσωτερικού μέρους του οστράκου όσο και στο εκχύλισμα του επιφανειακού εσωτερικού χώματος του κεραμικού. Αντίθετα, στο εκχύλισμα του εξωτερικού μέρους του κεραμικού αγγείου δεν καταγράφονται πλατειές κορυφές, ούτε οι κορυφές του ελαϊκού οξέος, αλλά κορυφές υψηλής έντασης επίσης στην περιοχή των λιπαρών (κορεσμένα λιπαρά οξέα). Η ύπαρξη των κορεσμένων λιπαρών οξέων αποδίδεται στην εκχύλιση πιθανώς πλαστικοποιητών ή άλλων ενώσεων που προέρχονται από την επεξεργασία των δειγμάτων, αφού η εκχύλιση και η φυγοκέντρηση έγιναν σε πλαστικά φιαλίδια (Eppendorf). Το

γεγονός αυτό παρατηρήθηκε αρκετές φορές στην περίπτωση των άπολων εκχυλισμάτων (Παράρτημα) και θα σχολιαστεί αναλυτικότερα παρακάτω (Κεφ. 5.7.). Ένα ακόμη σημείο το οποίο επιβεβαιώνει την απουσία ελαϊκού οξέος στο εκχύλισμα των πόρων του εξωτερικού μέρους του κεραμικού, είναι ότι δεν εμφανίζεται η χαρακτηριστική κορυφή των βινυλικών πρωτονίων (5,4 ppm). Συνεπώς, τα παραπάνω οδηγούν στο συμπέρασμα ότι το ελαϊκό οξύ σχετίζεται άμεσα με το αρχικό περιεχόμενο του αμφορέα 30 καθώς ήταν προσροφημένο στους πόρους του εσωτερικού μέρους του. Το γεγονός, ότι η ένωση αυτή παρατηρήθηκε και στο δείγμα χώματος του αγγείου υποδεικνύει ότι πολύ πιθανώς κατάλοιπα ελαϊκού οξέος προσροφήθηκαν σε αυτό. Η διαδικασία προσρόφησης αποδίδεται στη πολυετή επαφή των δύο υλικών (κεραμικό-χώμα) κατά την απόθεση του κεραμικού στο έδαφος, αφού όπως έχει προαναφερθεί, το χώμα βρέθηκε εσωτερικά του κεραμικού, κατά την ανασκαφή.

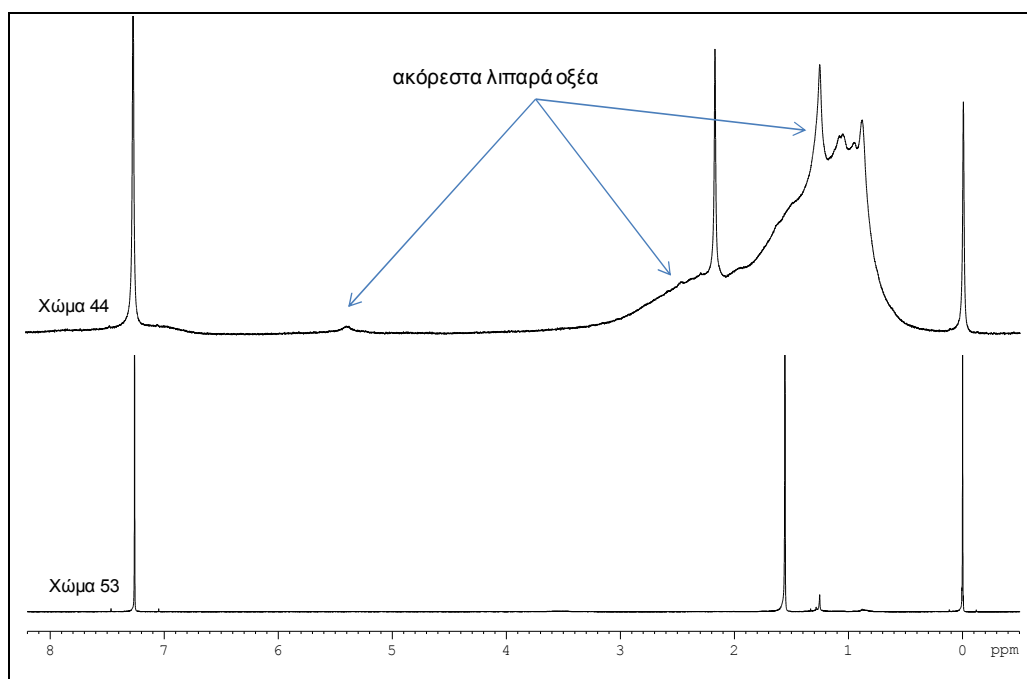
#### *4.7. Σύγκριση φασμάτων χώματος των δειγμάτων*

Η επαναληπτική δειγματοληψία μεγαλύτερης ποσότητας χώματος (1,5 gr) που βρέθηκε κατά την ανασκαφή στο εσωτερικό μέρος των κεραμικών 19, 53, 44 και 86, έδειξε ότι τα δείγματα χώματος μπορούν να θεωρηθούν χαρακτηριστικά και αντιπροσωπευτικά του αρχικού περιεχομένου των κεραμικών (εικόνα 5.7.1.). Η διαφορά των φασμάτων των εκχυλισμάτων επιφανειακού χώματος του κεραμικού 30 και χώματος του κεραμικού 44 συγκριτικά με τα λοιπά χώματα, όσον αφορά στα οργανικά υπολείμματα, είναι εμφανής. Αυτό επιβεβαιώνει το γεγονός ότι σε αυτά τα δείγματα συντηρήθηκαν οργανικά υπολείμματα, και πιο συγκεκριμένα κατάλοιπα ελαιολάδου. Στην εικόνα 5.7.2. γίνεται σύγκριση του φάσματος εκχυλίσματος χώματος του αγγείου 53 με το αντίστοιχο φάσμα του αγγείου 44. Όπως παρατηρείται, η κορυφή των βινυλικών πρωτονίων (βαθμός ακορεστότητας) εμφανίζεται μόνο στο φάσμα του χώματος του κυλινδρικού αμφορέα (44) καθώς διακρίνονται και κορυφές στην αλειφατική περιοχή που σχετίζονται με λιπαρά οξέα. Συνεπώς, τονίζεται για ακόμη μια φορά ο συσχετισμός μεταξύ

του περιεχομένου ενός οστράκου με τα οργανικά κατάλοιπα που προσροφώνται στα δείγματα χρώματος αυτού.



**Εικόνα 4.7.1.** Σύγκριση φασμάτων  $^1\text{H}$  NMR χρώματος των δειγμάτων 30, 44, 86, 53 και 19, διαλύτης  $\text{CDCl}_3$  και πεδίο συχνότητας 500,13 MHz.

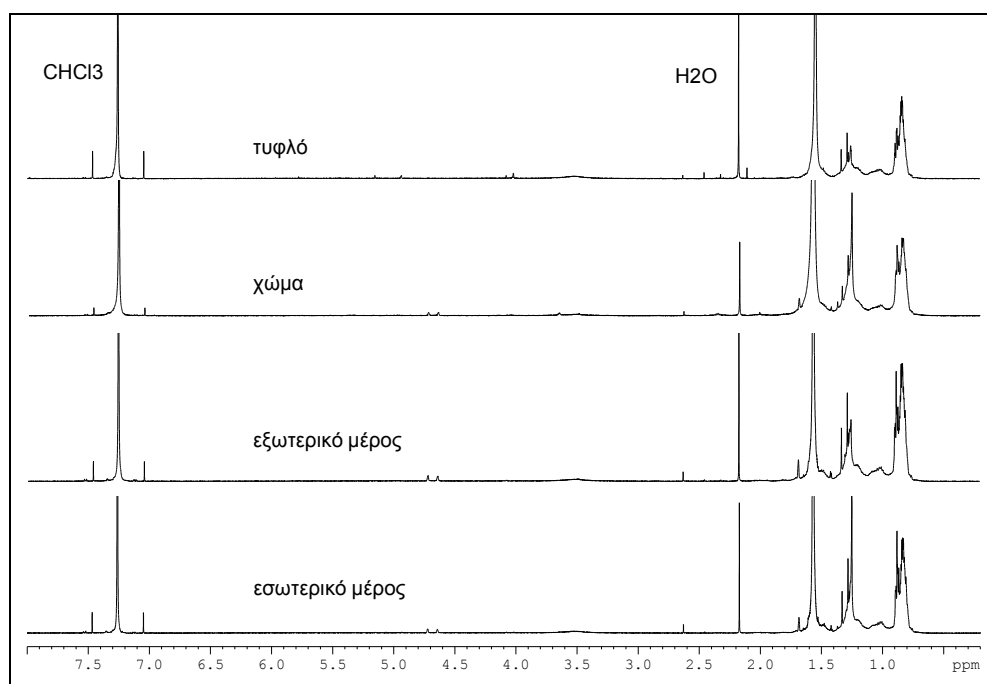


**Εικόνα 4.7.2.** Σύγκριση φασμάτων  $^1\text{H}$  NMR χρώματος των δειγμάτων 44 και 53, διαλύτης  $\text{CDCl}_3$  και πεδίο συχνότητας 500,13 MHz.

#### 4.8. Διασαφήνιση του τρόπου εκχύλισης σε δείγματα πολιτισμικής κληρονομιάς

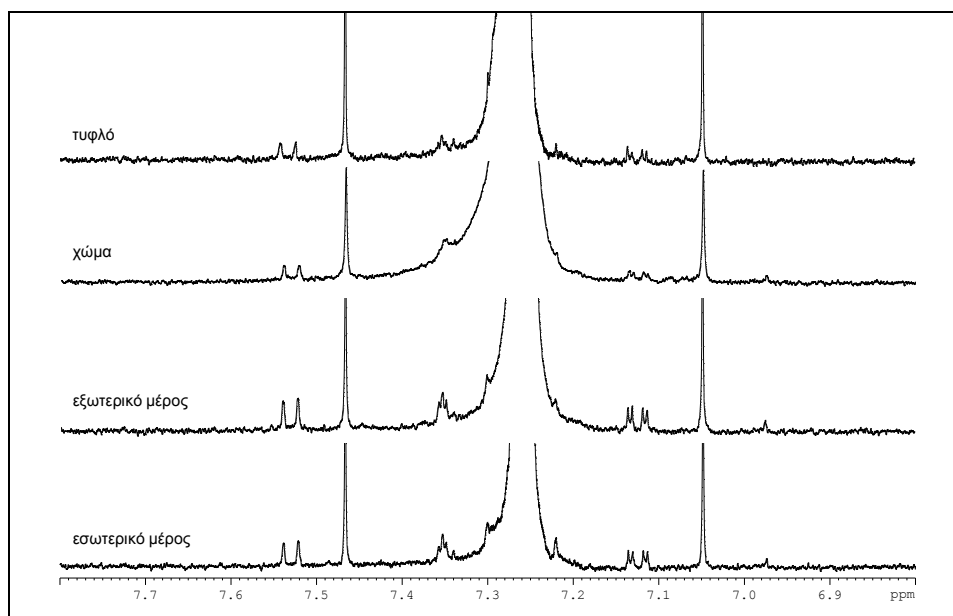
Όπως προαναφέρθηκε, κατά την μελέτη των άπολων εκχυλισμάτων των οστράκων δεν ταυτοποιήθηκαν ενώσεις στα κεραμικά που ανήκουν στις κατηγορίες κάδος, ωειδής και συνήθης αμφορέας (85, 27, 77, 19, 53, 86). Σε αυτό το σημείο είναι απαραίτητο να αναφερθεί ότι, κατά την μελέτη δειγμάτων πολιτισμικής κληρονομιάς, είναι ιδιαίτερα σημαντικό να ακολουθηθεί το ίδιο πειραματικό πρωτόκολλο στο διαλύτη εκχύλισης, στην συγκεκριμένη περίπτωση το  $\text{CHCl}_3$  (τυφλό δείγμα/blank). Αυτό αποσκοπεί στη διάκριση των ενώσεων που προέρχονται από επιμολυντές κατά την πειραματική επεξεργασία των δειγμάτων.

Αναλυτικότερα, τα επιμέρους δείγματα των κεραμικών με αριθμό δείγματος 85, 53, 19 και 30 εκχυλίστηκαν αρχικά σε πλαστικά φιαλίδια (erpendorfs, falcons). Παρατηρήθηκε ότι οι περισσότερες κορυφές των φασμάτων εμφανίζονταν και στα φάσματα των τυφλών δειγμάτων (Παράρτημα). Στην εικόνα 5.8.1. δίνονται τα φάσματα των εκχυλισμάτων από τους πόρους του εσωτερικού, του εξωτερικού μέρους του κεραμικού 19 καθώς και το φάσμα του εκχυλίσματος του χώματος του αγγείου. Τα φάσματα αυτά συγκρίνονται με το φάσμα του τυφλού (μέσο εκχύλισης erpendorfs).



**Εικόνα 4.8.1.** Φάσματα  $^1\text{H}$  NMR εσωτερικού, εξωτερικού μέρους και χώματος του αγγείου 19 συγκριτικά με το φάσμα του τυφλού δείγματος, σε erpendorff. Διαλύτης  $\text{CDCl}_3$ , περιοχή συχνοτήτων 0,2-8 ppm και πεδίο συχνότητας 500.13 MHz.

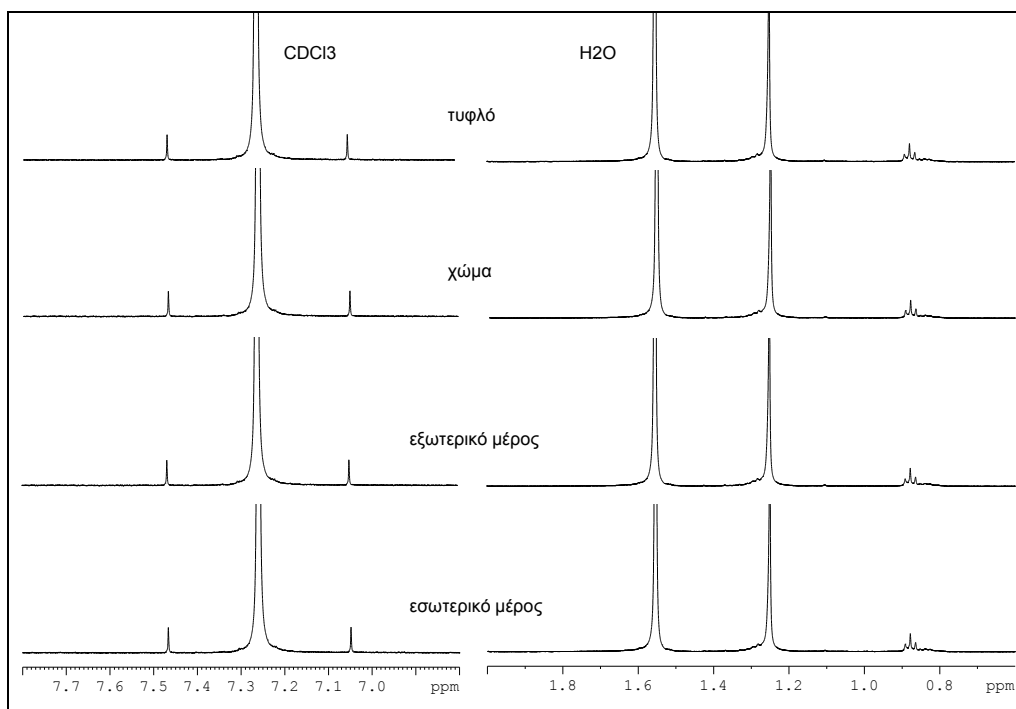
Οι κορυφές στην αλειφατική περιοχή εμφανίζονται τόσο στα φάσματα των επιμέρους δειγμάτων του αγγείου 19 όσο και στο φάσμα του τυφλού δείγματος. Εστιάζοντας στην αρωματική περιοχή των παραπάνω φασμάτων (εικόνα 4.8.2.) και πιο συγκεκριμένα γύρω από τη κορυφή του δευτεριωμένου διαλύτη  $\text{CDCl}_3$ , διακρίνονται κορυφές οι οποίες βρίσκονται και στο φάσμα του τυφλού δείγματος.



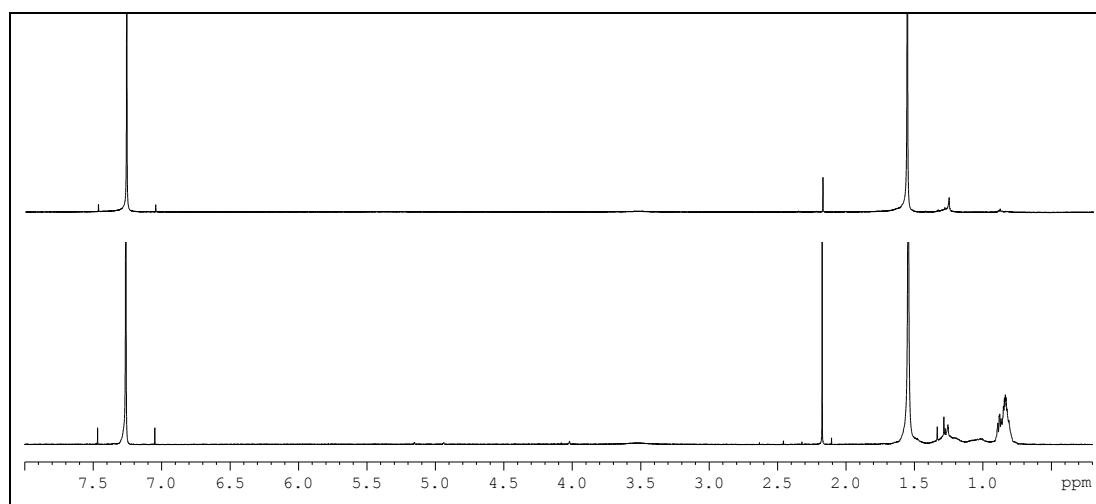
**Εικόνα 4.8.2.** Φάσματα  $^1\text{H}$  NMR εσωτερικού, εξωτερικού μέρους και χώματος του αγγείου 19 συγκριτικά με το φάσμα του τυφλού δείγματος, σε erpendorf. Διαλύτης  $\text{CDCl}_3$ , περιοχή συχνοτήτων 6,8-7,8 ppm και πεδίο συχνότητας 500.13 MHz.

Κατά την εκ νέου εκχύλιση των επιμέρους δειγμάτων του κεραμικού 19 σε γυάλινους δοκιμαστικούς σωλήνες, φαίνεται ότι οι κορυφές στην αλειφατική περιοχή καθώς και στην αρωματική περιοχή εξαφανίζονται τόσο στα δείγματα όσο και στο τυφλό δείγμα (εικόνα 4.8.3.).

Συνεπώς, τα παραπάνω υποδεικνύουν ότι οι κορυφές στην αλειφατική και στην αρωματική περιοχή, κατά τη πρώτη εκχύλιση, αποδίδονται σε επιμόλυνση των δειγμάτων. Η πιο πιθανή αιτία επιμόλυνσης είναι τα πλαστικά φιαλίδια (erpendorfs/falcons) στα οποία πραγματοποιήθηκαν οι αρχικές εκχυλίσεις, καθώς τα φάσματα των διαλυτών (χωρίς να έχει προηγηθεί εκχύλιση τους) έδειξαν ότι τόσο ο διαλύτης εκχύλισης όσο και ο δευτεριωμένος διαλύτης ήταν καθαροί. Τέλος, στην εικόνα 4.8.4. δίνονται τα φάσματα των τυφλών δειγμάτων τα οποία διαφέρουν ως προς το μέσο εκχύλισης. Η προέλευση των κορυφών στην περίπτωση της εκχύλισης σε πλαστικό φιαλίδιο (erpendorf) είναι ξεκάθαρη.



**Εικόνα 4.8.3.** Φάσματα  $^1\text{H}$  NMR εσωτερικού, εξωτερικού μέρους και χώματος του αγγείου 19 συγκριτικά με το φάσμα του τυφλού δείγματος, σε δοκιμαστικό σωλήνα. Διαλύτης  $\text{CDCl}_3$ , αριστερά: αλειφατική περιοχή 0,6-2 ppm, δεξιά: αρωματική περιοχή 6,8-7,8 ppm, πεδίο συχνότητας 500.13 MHz.



**Εικόνα 4.8.4.** Φάσματα  $^1\text{H}$  NMR τυφλών δειγμάτων, πάνω: εκχύλιση σε δοκιμαστικό σωλήνα, κάτω: εκχύλιση σε errendorf. Διαλύτης  $\text{CDCl}_3$ , περιοχή 0,2-7,8 ppm και πεδίο συχνότητας 500.13 MHz.



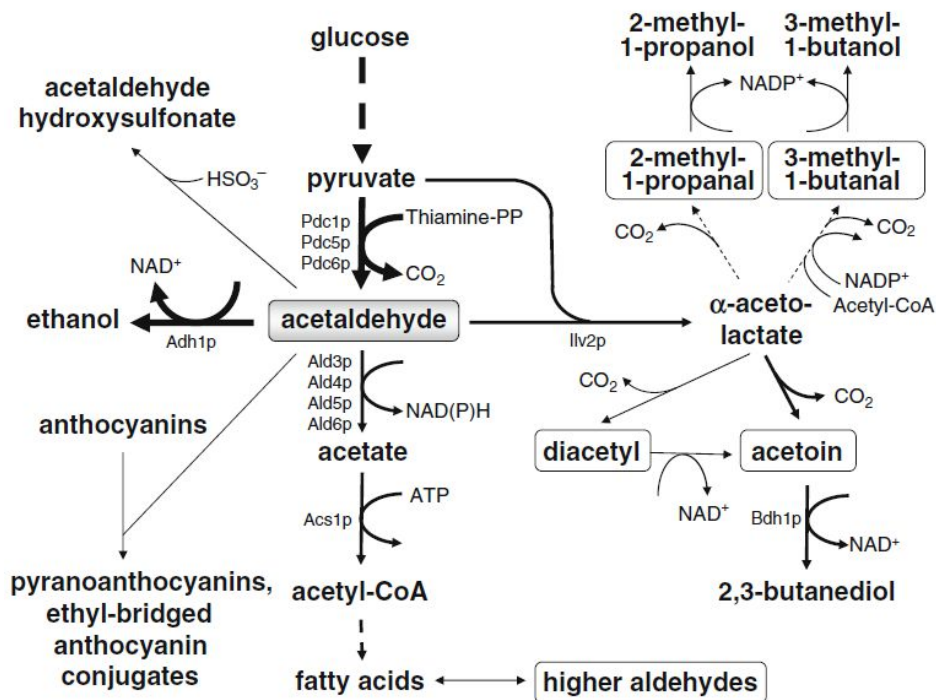
## Κεφάλαιο 5. Συζήτηση αποτελεσμάτων

Στο κεφάλαιο αυτό θα γίνει μια βιβλιογραφική αναφορά στις ενώσεις που ταυτοποιήθηκαν στην παρούσα διατριβή και υποστηρίζεται ότι συσχετίζονται είτε με την πιθανή αρχική/κύρια χρήση των αγγείων είτε με μικροβιακή επιμόλυνση τους.

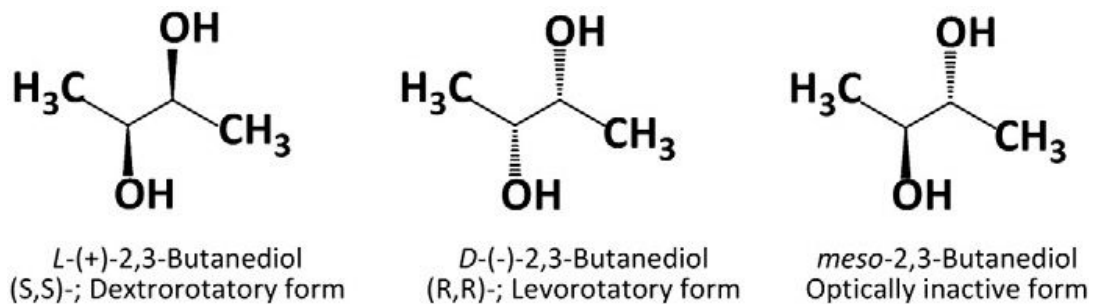
### *5.1. Οι ενώσεις 2,3-βουτανοδιόλη και ακετοΐνη ως προτεινόμενοι μοριακοί δείκτες κρασιού*

Κατά την αλκοολική ζύμωση των σακχάρων του μούστου οι οργανικές ενώσεις που παράγονται σε μεγαλύτερη αφθονία είναι η αιθανόλη και η γλυκερόλη. Η 2,3-βουτανοδιόλη αποτελεί τη δεύτερη πιο άφθονη διόλη στο κρασί.<sup>48</sup> Στην εικόνα 5.1.1. φαίνονται σχηματικά η βιοσύνθεση των ενώσεων ακετοΐνη και 2,3-βουτανοδιόλη. Πιο συγκεκριμένα, μετά τη γλυκόλυση που έχει ως αποτέλεσμα τη παραγωγή πυροσταφυλικού οξέος, το μεγαλύτερο μέρος αυτού αποκαρβοξυλιώνεται προς σχηματισμό της ακεταλδεΐδης και ακολουθεί η παραγωγή του α-ακετο-λακτικού οξέος μέσω συμπύκνωσης των δύο ενώσεων (πυροσταφυλικό οξύ και σύμπλοκο ακεταλδεΐδης-θειαμίνης PP). Η ακετοΐνη παράγεται κατά την αποκαρβοξυλίωση του τελευταίου και αποτελεί ενδιάμεσο μόριο της σύνθεσης της 2,3-βουτανοδιόλης η οποία σχηματίζεται με την αναγωγή της ακετοΐνης από το  $\text{NADH}_2$ .<sup>49</sup>

Η 2,3-βουτανοδιόλη έχει δύο στερεογονικά κέντρα, τους άνθρακες C-2, C-3. Ωστόσο, τρία είναι τα πιθανά στερεοϊσομερή της ένωσης λόγω του επιπέδου συμμετρίας του μορίου, τα δύο εναντιομερή η αριστερόστροφη μορφή, D-(-)-2,3-βουτανοδιόλη (2R,3R), η δεξιόστροφη L-(+)-2,3-βουτανοδιόλη (2S,3S) και η μέσο (2R,3S/2S,3R) μορφή της (εικόνα 5.1.2.).



Εικόνα 5.1.1. Βιοσύνθεση των ενώσεων ακετοΐνη και 2,3-βουτανοδιόλη.<sup>49</sup>



Εικόνα 5.1.2. Στερεοϊσομερή της 2,3-βουτανοδιόλης.<sup>50</sup>

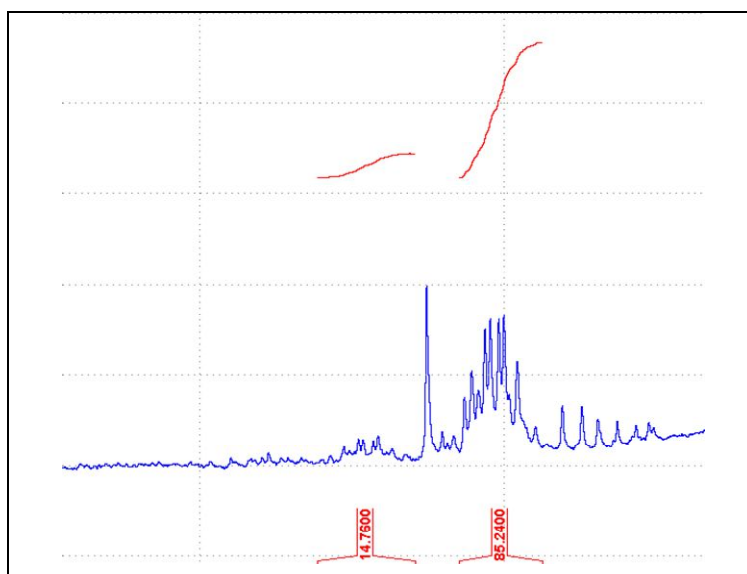
Η βιοσύνθεση της 2,3-βουτανοδιόλης μπορεί να πραγματοποιηθεί από μια πληθώρα μικροοργανισμών, με κάθε μικροοργανισμό να παράγει συνήθως δύο στερεοϊσομερή.<sup>50</sup> Η ακετοΐνη στο κρασί επίσης μπορεί να παραχθεί από διάφορους μικροοργανισμούς, όπως ζύμες και βακτήρια.<sup>51</sup>

Σύμφωνα με την βιβλιογραφία, το κύριο στερεοϊσομερές που παράγεται από το μύκητα *Saccharomyces Cerevisiae* και απαντάται στο κρασί είναι η *D*-(-)-2,3-βουτανοδιόλη και σε πολύ χαμηλότερη συγκέντρωση η μεσο μορφή, σε αναλογία 75-80% και 25-20%, αντίστοιχα.<sup>52, 53</sup> Αντίθετα, τα περισσότερα στελέχη βακτηρίων που συμμετέχουν στην μηλογαλακτική ζύμωση παράγουν κυρίως την μέσο μορφή της διόλης.<sup>52</sup> Επιπλέον, μελέτες έχουν δείξει ότι μπορεί να πραγματοποιηθεί διαφοροποίηση μεταξύ στελεχών του ίδιου είδους

ζυμομύκητα μέσω της αναλογίας των συγκεντρώσεων των δύο ενώσεων, 2,3-βουτανοδιόλης και ακετοΐνης. Αναλυτικότερα, η αυξημένη παραγωγή της 2,3-βουτανοδιόλης συνεπάγεται τη μειωμένη παραγωγή της ακετοΐνης και αντίστροφα.<sup>54</sup> Τα στελέχη του ζυμομύκητα *S. Cerevisiae* έχει βρεθεί ότι χαρακτηρίζονται κατά κύριο λόγο από αυξημένη παραγωγή της διόλης και πολύ χαμηλότερη παραγωγή ακετοΐνης.<sup>55</sup> Ενδιαφέρον είναι και το γεγονός ότι ορισμένοι ζυμομύκητες και μηλογαλακτικά βακτήρια εκδηλώνουν μια τάση να μετατρέπουν το μεγαλύτερο ποσοστό πυροσταφυλικού οξέος σε ακετοΐνη παρά σε αιθανόλη, καθώς έχουν μειωμένη ανθεκτικότητα στη τελευταία.<sup>56</sup>

Σε πρόσφατη μελέτη παρουσιάστηκε η χρήση της διάκρισης των διαστερεοϊσομερών του φυτανοϊκού οξέος με σκοπό τον προσδιορισμό της ακριβούς φύσης του δείκτη, που φανερώνει ζωική προέλευση. Αναλυτικότερα, παρατηρήθηκε ότι το μεγαλύτερο ποσοστό του 3S,7R,11R,15-φυτανοϊκού οξέος (SRR) δηλώνει προέλευση από θαλάσσια ζώα έναντι του (RRR) στερεοϊσομερούς, το οποίο σχετίζεται με μηρυκαστικά ζώα.<sup>57</sup>

Όσον αφορά στο εκχύλισμα του εσωτερικού μέρους του οστράκου 53 (στο σημείο δειγματοληψίας 3), η αναλογία των συγκεντρώσεων της 2,3-βουτανοδιόλης και της ακετοΐνης<sup>55</sup> συμφωνεί με τα παραπάνω, καθώς η ένταση των κορυφών της πρώτης είναι πολύ μεγαλύτερη της έντασης των κορυφών που σχετίζονται με την τελευταία. Επιπρόσθετα, η αναλογία της μέσο μορφής της 2,3-βουτανοδιόλης και των εναντιομερών (levo ή/και dextro) επίσης έρχεται σε συμφωνία με την βιβλιογραφία.<sup>52</sup> Πιο συγκεκριμένα, στην εικόνα 5.1.3 που ακολουθεί, παρατηρείται ότι η συγκέντρωση των εναντιομερών στο φάσμα του εκχυλίσματος του εσωτερικού μέρους του οστράκου 53 είναι πολύ μεγαλύτερη συγκριτικά με αυτή της μέσο μορφής, με τα σχετικά ολοκληρώματα να είναι 85,24% και 14,76%, αντίστοιχα.



**Εικόνα 5.1.3.** Αναλογία των διαστερεοϊσομερών της 2,3-βουτανοδιόλης στο εσωτερικό μέρος του δείγματος 53, στο σημείο δειγματοληψίας 3.

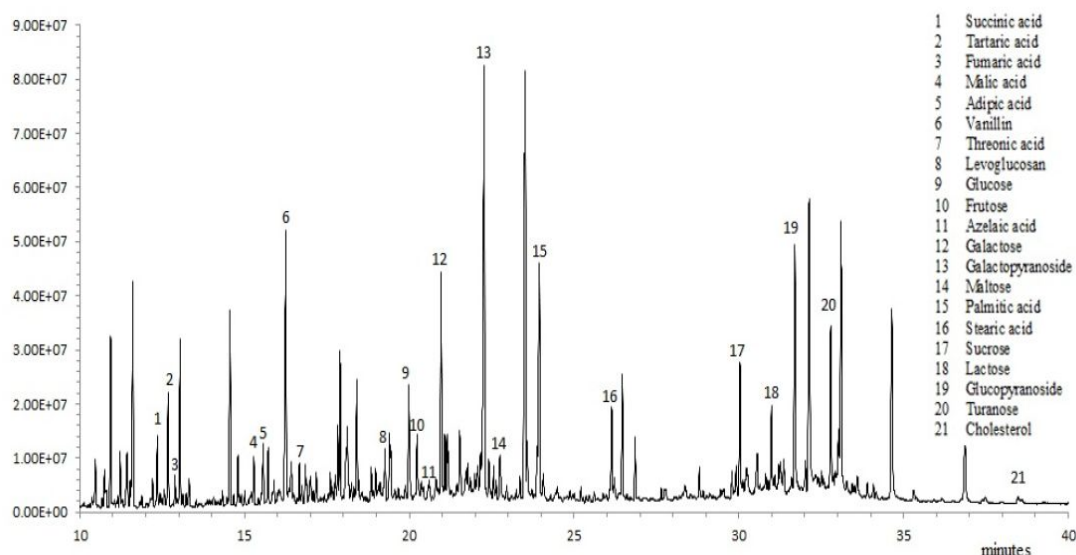
Συνεπώς, όσα αναφέρθηκαν παραπάνω συνηγορούν στο συμπέρασμα ότι οι ενώσεις 2,3-βουτανοδιόλη και ακετοΐνη υπάρχει μεγάλη πιθανότητα να παρήχθησαν από το κύριο ζυμομύκητα του κρασιού, *S. Cerevisiae*. Για την περαιτέρω επιβεβαίωση της 2,3-βουτανοδιόλης ως μόριο ιχνηλάτη που καταδεικνύει την φύλαξη κρασιού στο αγγείο 53 θα ήταν επιθυμητή η διάκριση των δύο εναντιομερών στο φάσμα των πόρων του οστράκου 53, η οποία όμως δεν ήταν δυνατή λόγω μη διαθεσιμότητας των καθαρών εναντιομερών ως προτύπων.

## 5.2. Ταυτοποίηση σακχάρων σε αρχαιολογικά αγγεία

### ➤ α-γλυκόζη, β-γλυκόζη, φρουκτόζη

Τα προϊόντα της μελισσοκομίας όπως το μέλι και το κερι μέλισσας είχαν πολλές χρήσεις στις αρχαίες κοινωνίες, κάποιες από τις οποίες ήταν η προσθήκη του μελιού σε τρόφιμα ως γλυκαντικό μέσο, η χρήση του κεριού μέλισσας ως σφραγιστικό μέσο, ή και ως φαρμακευτικό και καλλωπιστικό προϊόν («cosmetics»)<sup>58</sup>. Η εύρεση βιοδεικτών του κεριού μέλισσας σε αρχαιολογικά αγγεία συνήθως σχετίζεται με αλκάνια μεγάλης ανθρακικής αλυσίδας και περιπτώ αριθμό ατόμων άνθρακα (κυρίως C-29, C-27) και εστέρες.<sup>59</sup> Η πιθανή χρήση μελιού από αρχαίους πολιτισμούς σχετίζεται με υδατάνθρακες όπως η φρουκτόζη, η γλυκόζη κάτι που είναι αναμενόμενο

καθώς το μέλι αποτελείται κυρίως από μονοσακχαρίτες, ενώ μπορεί να ταυτοποιηθεί και η σακχαρόζη<sup>30</sup>. Στην εικόνα 5.2.1. παρουσιάζεται ένα χρωματογράφημα που προέκυψε κατά την μελέτη αγγείων που περιείχαν κρασί με γλυκαντικό μέσο το μέλι. Η 5-υδροξυ-μεθυλο-φουρφουράλη αποτελεί επίσης μόριο ιχνηλάτη για το μέλι σε αρχαιολογικά αγγεία, ένωση που προκύπτει κατά την αφυδάτωση των εξοζών σε όξινο περιβάλλον.<sup>18</sup>



**Εικόνα 5.2.1.** Χρωματογράφημα που προέκυψε από την μελέτη αγγείων που περιείχαν κρασί με γλυκαντικό μέσο το μέλι, με τη χρήση της μεθόδου GC-MS.<sup>18</sup>

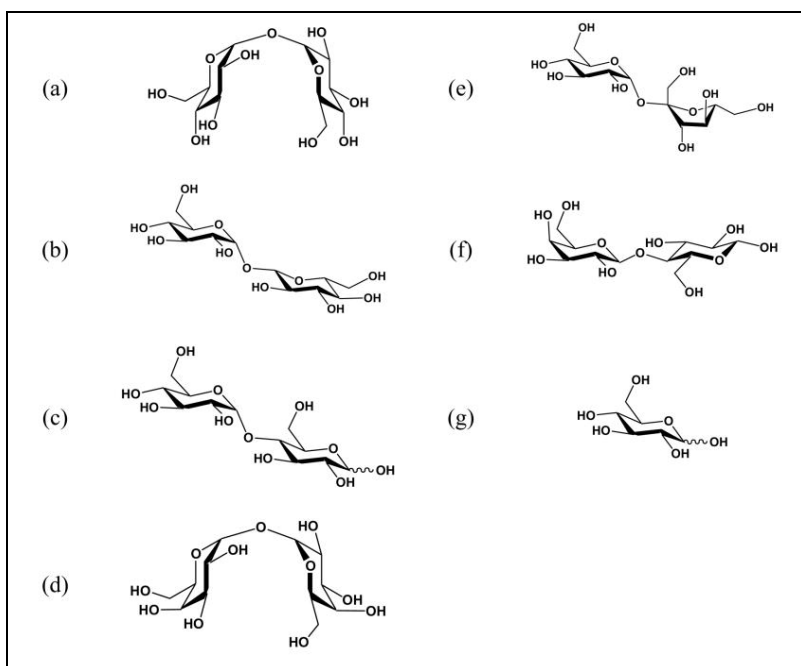
Στο φάσμα <sup>1</sup>H NMR του εκχυλίσματος του εσωτερικού μέρους του οστράκου 53 και πιο συγκεκριμένα στο σημείο δειγματοληψίας 1, ταυτοποιήθηκαν τα σάκχαρα γλυκόζη και φρουκτόζη. Συνεπώς, εφόσον τα σάκχαρα αυτά δεν βρέθηκαν στο χρώμα του αγγείου, καταλήγουμε στο συμπέρασμα ότι αποτελούν μόρια -μοριακούς δείκτες του μελιού.

### ➤ α,α-τριαλόζη

Πέρα από τα σάκχαρα που εκχυλίστηκαν από τους πόρους του εσωτερικού μέρους του αγγείου 53, η τριαλόζη ταυτοποιήθηκε στο εκχύλισμα του δείγματος κρούστας που ήταν προσκολλημένο στο εξωτερικό μέρος του αγγείου 19 καθώς και στο εκχύλισμα χρώματος του αγγείου, κατά την δεύτερη δειγματοληψία του. Η ένωση αυτή δεν ταυτοποιήθηκε στο εσωτερικό μέρος κάποιου από τα αγγεία που μελετήθηκαν. Αυτό δίνει το έναυσμα χαρακτηρισμού του δισακχαρίτη ως προέλευσης μικροβιακού φορτίου για τα αγγεία.

Η τριαλόζη είναι ένας μη αναγωγικός δισακχαρίτης και αποτελείται από δύο μόρια α-γλυκόζης τα οποία συνδέονται μεταξύ τους με 1,1 γλυκοζιδικό δεσμό. Υπάρχουν τρία ισομερή της ένωσης, ωστόσο μόνο η α,α-τριαλόζη απαντά στη φύση. Έχει αναφερθεί ότι παράγεται από μια πληθώρα μικροοργανισμών όπως είναι βακτήρια, μύκητες συμπεριλαμβανομένου και του ζυμομύκητα *S. Cerevisiae* καθώς και από ανώτερους οργανισμούς όπως έντομα και φυτά. Η παραγωγή αυτού του σακχάρου σχετίζεται με την απόκριση των μικροοργανισμών σε διάφορα είδη στρες. Αναλυτικότερα, έχει βρεθεί ότι η τριαλόζη παράγεται σε μεγάλες ποσότητες με σκοπό την προστασία των κυττάρων από τη θερμοκρασία και το οξειδωτικό στρες.<sup>60</sup> Επιπλέον, αποτρέπει την υδρόλυση της μεμβράνης των κυττάρων των μικροοργανισμών. Ακόμη, ο δισακχαρίτης αυτός έχει τη δυνατότητα να σταθεροποιεί τις μεμβράνες και τις πρωτεΐνες έναντι της αφυδάτωσης.<sup>61</sup> Μελέτες έχουν δείξει ότι η διατήρηση της δομής της διπλοστοιβάδας κατά την αφυδάτωση του κυττάρου οφείλεται στον τρόπο σύνδεσης μεταξύ των δύο μορίων γλυκόζης όπου και τα δύο ανωμερικά πρωτόνια βρίσκονται σε αξονική θέση και αυτό οδηγεί στην κρυστάλλωση του μορίου σε μια διαμόρφωση «κελύφους», κατάλληλη για την σταθεροποίηση της κυτταροπλασματικής μεμβράνης (απουσία νερού).<sup>62</sup> Στην εικόνα 5.2.2. παρουσιάζονται οι διαμορφώσεις διαφόρων σακχάρων κάνοντας φανερό το γεγονός ότι μόνο η α,α-τριαλόζη και η α,α-γαλακτο-τριαλόζη έχουν την κατάλληλη διαμόρφωση που προσφέρει προστασία έναντι της αφυδάτωσης του κυττάρου.<sup>62</sup>

Τέλος, τόσο οι βιβλιογραφικές αναφορές όσο και τα αποτελέσματα της παρούσας διατριβής συγκλίνουν σε ένα κοινό συμπέρασμα, το οποίο είναι ότι η τριαλόζη δεν αποτελεί μοριακό δείκτη αλλά μικροβιακή επιμόλυνση του αγγείου 19.



**Εικόνα 5.2.2.** Δομή των σακχάρων που μελετήθηκαν όσον αφορά στην ικανότητα τους να διατηρούν σταθερή τη δομή του κυττάρου έναντι της αφυδάτωσης. (a) α,α-τριαλόζη, (b) α,β-τριαλόζη, (c) μαλτόζη, (d) α,α-γαλακτο-τριαλόζη, (e) σουκρόζη, (f) λακτόζη, (g) γλυκόζη.<sup>62</sup>

### 5.3. Ταυτοποίηση λιπαρών οξέων σε αρχαιολογικά κεραμικά όστρακα

Όπως αναφέρεται και στην εισαγωγή, τα λιπαρά οξέα και τα λιπίδια αποτελούν την κυριότερη κατηγορία ενώσεων που ταυτοποιούνται σε αρχαιολογικά ευρήματα. Αυτό οφείλεται στη φύση τους, καθώς η υδροφοβικότητα των μορίων αυτών συντελεί στη διατήρησή τους στο εκάστοτε ιστορικό/αρχαιολογικό αντικείμενο.

Αναλυτικότερα, στα εκχυλίσματα χλωροφορμίου των δειγμάτων 30 και 44 ταυτοποιήθηκαν κορυφές που αντιστοιχούν σε λιπαρά και συγκεκριμένα σε μονοακόρεστα λιπαρά οξέα (ύπαρξη κορυφών στα 1,98 και 5,39 ppm). Γνωρίζοντας, ότι πρόκειται για αρχαιολογικά δείγματα που χρονολογούνται στη μινωική εποχή, είναι εύκολο να καταλήξει κανείς ότι πρόκειται για το πλέον συχνά απαντώμενο φυτικό μονοακόρεστο λιπαρό οξύ, το ελαϊκό οξύ. Συνεπώς, η ταυτοποίηση του ελαϊκού οξέος στο εκχύλισμα των πόρων του εσωτερικού μέρους του κεραμικού 30 σχετίζεται ισχυρά με την ύπαρξη υπολειμμάτων ελαιολάδου στο όστρακο. Το γεγονός, ότι η ένωση αυτή παρατηρήθηκε και στο δείγμα χώματος του αγγείου υποδεικνύει ότι το χώμα

είναι πολύ πιθανώς χαρακτηριστικό του αρχικού περιεχομένου του κεραμικού στο οποίο βρέθηκε εσωτερικά, κατά την ανασκαφή.

Αρκετά είναι τα άρθρα που αναφέρουν την εύρεση ελαιολάδου σε αρχαιολογικά κεραμικά όστρακα, στη βιβλιογραφία.<sup>43</sup> Μια ερευνητική εργασία που δημοσιεύτηκε το 2015, είχε σκοπό την ταυτοποίηση οργανικών καταλοίπων σε τρία κεραμικά όστρακα που χρονολογούνται επί 6<sup>ης</sup> -5<sup>ης</sup> χιλιετίας π.Χ. από ανασκαφή που έγινε στη κάτω Γαλιλαία, στο Ισραήλ. Η μελέτη ανέδειξε την ταυτοποίηση ελαϊκού οξέος, σε πολύ μεγαλύτερο ποσοστό έναντι του στεατικού και του παλμιτικού οξέος, ενώ ταυτοποιήθηκε και το λινολεϊκό οξύ, καταλήγοντας έτσι στο συμπέρασμα της ύπαρξης ελαιολάδου στα κεραμικά.<sup>63</sup> Μια άλλη έρευνα αφορά στη μελέτη της ποιότητας του μινωικού ελαιολάδου. Σύμφωνα με την μελέτη αυτή, τόσο οι περιβαλλοντικές συνθήκες όσο και η μέθοδος παραγωγής του ελαιολάδου, που βασίζεται στην ψυχρή έκθλιψη των ελιών από πέτρες και στην μειωμένη ποσότητα νερού, κατά την διαδικασία αυτή, υποδηλώνουν ότι ήταν εξαιρετικής ποιότητας με υψηλό ποσοστό πολυφαινολών.<sup>64</sup>

Όσον αφορά στα κεραμικά αγγεία με αριθμό δείγματος 30 και 44, η ιδιαίτερη μορφή των συγκεκριμένων κεραμικών (πολύτιμο/ιδιαιτέρο ρευστό περιεχόμενο) καθώς και η εμφάνιση επιπρόσθετων κορυφών στην αλειφατική περιοχή των μονοδιάστατων και δισδιάστατων φασμάτων, που ανήκουν πιθανώς σε φυτικά εκχυλίσματα, οδηγούν στο συμπέρασμα ότι το πιο πιθανό περιεχόμενο των αγγείων αυτών ήταν κάποιου είδους «αρωματισμένο» ελαιολάδο που πιθανώς χρησίμευε για τελετουργικούς σκοπούς. Τέλος, σημαντικό είναι να αναφερθεί ότι η χρήση φυτικών εκχυλισμάτων για τη παραγωγή «αρωματισμένων» ελαίων είναι γνωστή για τη μινωική εποχή, όπως αναφέρεται από τους αρχαιολόγους.

#### *5.4. Συγκεντρωτικά αποτελέσματα-πιθανοί μοριακοί δείκτες*

Συνοψίζοντας, στον πίνακα 5.4.1. δίνονται οι δομές των ενώσεων που προτείνεται ότι αποτελούν μόρια ιχνηλάτες τροφίμων που βρέθηκαν στα αγγεία της παρούσας μελέτης. Πιο συγκεκριμένα, αρκετές ενώσεις που ταυτοποιήθηκαν στα υδατικά εκχυλίσματα, αφορούν στο όστρακο με αριθμό δείγματος 53, σε διαφορετικά ωστόσο σημεία δειγματοληψίας. Αναλυτικότερα,

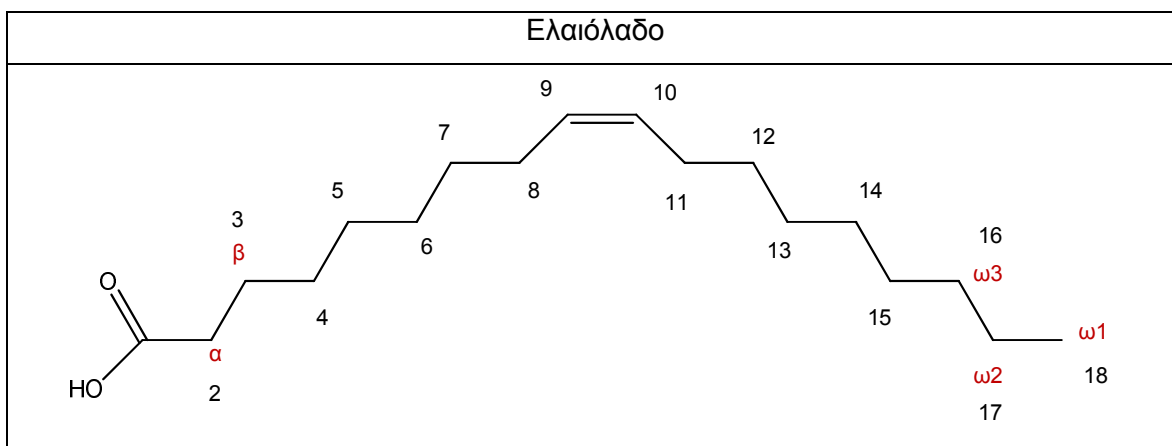


οι ενώσεις 2,3-βουτανοδιόλη, η μέσο μορφή της 2,3-βουτανοδιόλης και η ακετοΐνη προτείνονται ως μοριακοί δείκτες του κρασιού ενώ η ταυτοποίηση των σακχάρων α-D-γλυκόζη, β-D-γλυκόζη και D-φρουκτόζη σχετίζεται με το μέλι. Συνεπώς, μια πιθανή αποτίμηση των συνολικών αναλυτικών δεδομένων είναι είτε η χρήση του συγκεκριμένου αγγείου για την αποθήκευση κρασιού στο οποίο είχε προστεθεί μέλι ως γλυκαντικό μέσο είτε η επαναχρησιμοποίηση του αγγείου, πρακτική που ήταν αρκετά συνηθισμένη όπως υποστηρίζεται και βιβλιογραφικά<sup>44</sup>. Επιπλέον, στα κεραμικά όστρακα με αριθμό δείγματος 30 και 44 που αποτελούν κυλινδρικούς αμφορείς, ταυτοποιήθηκαν ακόρεστα λιπαρά οξέα γεγονός που αποτελεί ισχυρή ένδειξη της ύπαρξης ελαιολάδου στα συγκεκριμένα κεραμικά.

Τέλος, στον πίνακα 5.4.2. συγκεντρώνονται όλες οι ενώσεις οι οποίες δεν σχετίζονται με το αρχικό περιεχόμενο των κεραμικών, αλλά αποτελούν είτε μικροβιακό φορτίο είτε σύγχρονους επιμολυντές.

**Πίνακας 5.4.1.** Συγκεντρωτικός πίνακας των μορίων που πιθανώς αποτελούν μοριακοί δείκτες.

Πιθανά μόρια - ιχνηλάτες τροφίμων			
Μέλι		Κρασί	
α-D-γλυκόζη	β-D-γλυκόζη	2,3-D-βουτανοδιόλη	2,3-μέσο-βουτανοδιόλη
D-φρουκτόζη		D-ακετοΐνη	



**Πίνακας 5.4.2.** Συγκεντρωτικός πίνακας των ενώσεων που προέρχονται από επιμόλυνση (μικροβιακή/σύγχρονη) των κεραμικών οστράκων.

Μικροβιακή επιμόλυνση			
Οργανικά οξέα			
Οξικό οξύ	Γλυκολικό οξύ	Γαλακτικό οξύ	Υδρόξυ-προπιονικό οξύ
Βουτυρικό οξύ	Προπιονικό οξύ	Ηλεκτρικό οξύ	
Σάκχαρα		Σύγχρονη επιμόλυνση	
Τριαλόζη		Φθαλικός διισοβουτυλεστέρας	
Κορεσμένα λιπαρά οξέα (πολικό/άπολο εκχύλισμα)			

## Κεφάλαιο 6. Συμπεράσματα

Η παρούσα εργασία στηρίχτηκε στην εφαρμογή της φασματοσκοπίας NMR υγρής κατάστασης, ως μιας εναλλακτικής και σχετικά πρόσφατης αναλυτικής τεχνικής για την μελέτη οργανικών υπολειμμάτων σε αρχαιολογικά όστρακα. Τα όστρακα προέρχονται από δύο αποθηκευτικούς χώρους, 32 και 33, ενός μινωικού ανακτόρου που βρίσκεται στην περιοχή Τουρκογειτονιά, στις Αρχάνες Ηρακλείου Κρήτης. Η ανασκαφή στους χώρους αυτούς ξεκίνησε το 1999 και ολοκληρώθηκε το 2001, από τους Γιάννη και Έφη Σακελλαράκη. Επιπλέον, μελετήθηκαν δείγματα αυθεντικού χώματος που εμπεριέχονταν στο εσωτερικό μέρος των οστράκων, όπως ανευρέθηκαν κατά την ανασκαφή.

Τα οκτώ κεραμικά όστρακα διακρίνονται σε τέσσερις τύπους και κατηγοριοποιούνται σε δύο κάδους, τρεις συνήθεις απιόσχημους αμφορείς, έναν ωσειδή και δύο κυλινδρικούς αμφορείς. Όπως υποστηρίζεται από τους αρχαιολόγους, ο τύπος των κεραμικών σχετίζεται άμεσα με το περιεχόμενό τους, με τους κάδους να αποτελούν ένα είδος «τυφλού» δείγματος, καθώς είναι γενικώς αποδεκτό ότι χρησιμοποιούνταν για την αποθήκευση στερεού τροφικού περιεχομένου. Αντιθέτως, οι υπόλοιποι τύποι οστράκων αναμένεται να περιέχουν οργανικά υπολείμματα, καθώς η μορφή και το σχήμα τους καταδεικνύουν την χρήση τους για αποθήκευση ρευστού ή ημίρευστου περιεχομένου. Στηριζόμενοι στα παραπάνω, κύριο στόχο της εργασίας αυτής αποτέλεσε η ταυτοποίηση και ο αναλυτικός προσδιορισμός τυχόν οργανικών υπολειμμάτων που θα συσχετιζόνταν με κάποιο πιθανό τροφικό περιεχόμενο των αγγείων.

Είναι γνωστό ότι, η επιστήμη της αρχαιομετρίας χαρακτηρίζεται από μεγάλο βαθμό πολυπλοκότητας σε επιστημονικό και διεπιστημονικό επίπεδο, και εξαρτάται από αρκετές παραμέτρους, όπως ο βαθμός συντήρησης των αρχαιολογικών δειγμάτων, οι διαδικασίες δειγματοληψίας, προεργασίας των δειγμάτων για ανάλυση, αλλά και η ερμηνεία των αποτελεσμάτων. Όσον αφορά στη πρώτη παράμετρο, τα δείγματα που παραλήφθηκαν ήταν σε εξαιρετικά καλή κατάσταση καθώς δεν είχαν υποστεί κάποια διαδικασία πλύσης με νερό ή με οξύ (HCl) από τους ανασκαφείς, και είχαν αποθηκευτεί σε χάρτινες σακούλες. Αυτό συνετέλεσε στην καλύτερη διατήρηση των

οργανικών υπολειμμάτων στα κεραμικά. Ωστόσο, παρατηρήθηκε ότι ορισμένα όστρακα ήταν καμένα ή πετροποιημένα, λόγω της πυρκαγιάς που είναι γνωστό ότι είχε ξεσπάσει στον αρχαιολογικό χώρο και οδήγησε στην καταστροφή και ενταφιασμό του μινωϊκού ανακτόρου. Παρολαυτά, η μεγάλη επίχωση που σκέπασε τα αρχαιολογικά αντικείμενα, ήταν καταλυτική για την διατήρηση ορισμένων οστράκων σε καλή κατάσταση.

Η δειγματοληψία επιμέρους δειγμάτων (πόροι εσωτερικού/εξωτερικού μέρους, κρούστα, χώμα) από το κάθε κεραμικό επιλέχθηκε με σκοπό την απόκτηση μιας πλήρους εικόνας της κατανομής των ενώσεων στα κεραμικά και συνεπώς την διεξαγωγή ορθών αναλυτικών συμπερασμάτων. Έγινε χρήση δύο διαλυτών διαφορετικής πολικότητας για την εκχύλιση όλων των οργανικών υπολειμμάτων, μη έχοντας πληροφορίες για το πιθανό περιεχόμενο των κεραμικών οστράκων.

Τα αποτελέσματα των πολικών εκχυλισμάτων, ήταν ποικίλα. Μια σημαντική πρώτη παρατήρηση ήταν ότι τα μικρά οργανικά οξέα, οξικό, γλυκολικό, λακτικό, προπιονικό, υδροξυ-προπιονικό και ηλεκτρικό οξύ καθώς και κορεσμένα λιπαρά οξέα ταυτοποιήθηκαν σε όλα τα εκχυλίσματα των επιμέρους δειγμάτων που προέκυψαν για το εκάστοτε κεραμικό αλλά και στα εκχυλίσματα χώματος. Αυτό οδήγησε στο συμπέρασμα ότι, αποτελούν μικροβιακό φορτίο που αποκτήθηκε κατά τη διάρκεια της παραμονής τους στο έδαφος. Επιπρόσθετα, στα φάσματα των κεραμικών που έχουν τύπο κάδο (αριθμός δείγματος 85 και 27), δεν παρατηρήθηκε κάποια διαφοροποίηση ούτε εκχυλίστηκαν περαιτέρω ενώσεις από τις προαναφερθείσες. Συνεπώς, επιβεβαιώθηκε η απουσία ρευστού τροφικού περιεχομένου. Ανάλογα, ήταν τα αποτελέσματα για τα επιμέρους δείγματα του συνήθη αμφορέα, 77, παρόλο που αναμένονταν να έχει ρευστό περιεχόμενο.

Αρκετές ενώσεις που ταυτοποιήθηκαν στην παρούσα εργασία, συσχετίστηκαν με μοριακούς δείκτες ορισμένων τροφίμων. Αναλυτικότερα, τα σάκχαρα α, β-γλυκόζη και φρουκτόζη, είναι πιθανώς μοριακοί ιχνηλάτες του μελιού, ενώ είναι γνωστό ότι αποτελούν τα κυριότερα συστατικά του. Η ταυτοποίηση ωστόσο της τριαλόζης συσχετίστηκε με την μικροβιακή επιμόλυνση των οστράκων, αφού όπως αναφέρεται στη βιβλιογραφία, αποτελεί συνήθως δείκτη στρες των μικροοργανισμών.

Τα εναντιομερή της 2,3-βουτανοδιόλης και η ακετοΐνη προτάθηκαν ως πιθανοί μοριακοί δείκτες του κρασιού καθώς είναι από τα κυριότερα παραπροϊόντα της αλκοολικής ζύμωσης. Η ισχυρή περίσσεια των εναντιομερών της 2,3-βουτανοδιόλης συγκριτικά με την μέσο μορφή της αλλά και με την ακετοΐνη, όπως αναφέρεται στην βιβλιογραφία στο εκχύλισμα των πόρων του εσωτερικού μέρους του κεραμικού 53 (σημείο δειγματοληψίας 3), ενισχύουν τον ισχυρισμό της ύπαρξης κρασιού. Τα παραπάνω επιβεβαιώθηκαν με την υψηλή αναλογία των εναντιομερών μορφών της 2,3-βουτανοδιόλης έναντι της μέσο μορφής της ένωσης, όπως προσδιορίστηκε κατά την ποσοτικοποίηση με τη φασματοσκοπία NMR. Η αναλογία αυτή είναι χαρακτηριστική του ζυμομύκητα του κρασιού, *S. Cerevisiae*. Η βουτανοδιόλη ταυτοποιήθηκε σε ιχνοποσότητες, εσωτερικά και εξωτερικά, και στα άλλα δύο σημεία δειγματοληψίας του δείγματος 53 (σημεία δειγματοληψίας 1 και 2), του συνήθη αμφορέα 19 αλλά και στον ωσειδή αμφορέα 86. Το τρυγικό οξύ αποτελεί μια ακόμη κοινή ένωση των τριών αυτών αμφορέων, αφού ανιχνεύθηκε σε ιχνοποσότητες στα δείγματα χύματος τους αλλά και στη κρούστα του δείγματος 19.

Από τις επαναληπτικές δειγματοληψίες, παρατηρήθηκε το φαινόμενο της ανομοιογένειας, χαρακτηριστικό παράδειγμα της οποίας αποτελούν τα σημεία δειγματοληψίας 1 και 3 του κεραμικού με αριθμό δείγματος 53. Αναλυτικότερα, οι μονοσακχαρίτες που αναφέρθηκαν παραπάνω, ταυτοποιήθηκαν μόνο στο εσωτερικό μέρος του σημείου δειγματοληψίας 1 του δείγματος 53, ενώ η βουτανοδιόλη ήταν σε πολύ υψηλότερη συγκέντρωση στο σημείο 3. Άλλο παράδειγμα ανομοιογενούς κατανομής των οργανικών υπολειμμάτων, είναι τα δείγματα χύματος του κεραμικού 19, όπου στην δεύτερη δειγματοληψία εμφανίζονται οι κορυφές της τριαλόζης ενώ στην πρώτη όχι.

Το βουτυρικό οξύ βρέθηκε σε μεγάλες συγκεντρώσεις εσωτερικά και εξωτερικά του αγγείου 53 (σημείο 3) αλλά και σε χαμηλές συγκεντρώσεις, στο φάσμα του εκχυλίσματος χύματος του οστράκου 86. Η παρουσία του βουτυρικού οξέος συνήθως υποδηλώνει ζωική προέλευση (λιπαρά κρέατος, τυροκομικών, κλπ), ωστόσο απουσία άλλων μοριακών δεικτών δεν θα πρέπει να αποκλειστεί η μικροβιακή προέλευσή του.

Όσον αφορά στα άπολα εκχυλίσματα, τα αποτελέσματα ήταν πιο συγκεκριμένα. Αναλυτικότερα, τα μόνο δείγματα στα οποία εμπεριέχονταν

οργανικά υπολείμματα ήταν οι κυλινδρικοί αμφορείς με αριθμό δείγματος 30 και 44. Στα μονοδιάστατα φάσματα  $^1\text{H}$  NMR παρατηρήθηκαν ευρείες κορυφές που αποδίδονται στην παρουσία οργανικών ενώσεων που έχουν υποστεί ισχυρή αποικοδόμηση (οξειδωση-καύση), σε συμφωνία με την καταστροφή του ανακτόρου από πυρκαγιά. Επιπλέον, μέσω της χρήσης διδιάστατων φασμάτων NMR ταυτοποιήθηκε στους αμφορείς αυτούς το ελαιϊκό οξύ, λιπαρό οξύ που αποτελεί ισχυρή ένδειξη της ύπαρξης ελαιολάδου στα συγκεκριμένα όστρακα ενώ επιπλέον τα φάσματα 1D και 2D NMR των εκχυλισμάτων έδειξαν την ύπαρξη οργανικών ενώσεων φυτικής προέλευσης (φυτικά εκχυλίσματα/ρητίνες), μια ένδειξη ότι πιθανώς το ελαιόλαδο που περιείχαν οι αμφορείς ήταν «αρωματισμένο». Τα παραπάνω φαίνεται να επιβεβαιώνουν την χρήση των συγκεκριμένων κεραμικών, που υποστηρίζεται ότι έφεραν «ιδιαίτερο» περιεχόμενο.

Σημαντική παρατήρηση αποτελεί το γεγονός ότι τα δείγματα χώματος που εμπεριέχονταν σε ορισμένα από τα όστρακα, ήταν χαρακτηριστικά για το εκάστοτε δείγμα, όσον αφορά στα εκχυλίσματα του χλωροφορμίου, και μπόρεσαν να υποδείξουν την ύπαρξη ή μη οργανικών υπολειμμάτων στα κεραμικά. Αυτό το συμπέρασμα είναι ιδιαίτερα ωφέλιμο σε περιπτώσεις όπου δεν είναι εφικτή η λήψη πόρων από το κεραμικό όστρακο, όπως συνέβη και με το εσωτερικό μέρος του κεραμικού 44 το οποίο ήταν πετροποιημένο, πιθανώς από την φωτιά.

Πέραν της μικροβιακής επιμόλυνσης, σύγχρονοι επιμολυντές ταυτοποιήθηκαν στα πολικά εκχυλίσματα, όπως ο πλαστικοποιητής φθαλικός διισοβουτυλεστέρα και η γλυκερόλη. Είναι ωφέλιμο να τονιστεί ότι το μέσο εκχύλισης για δείγματα πολιτισμικής κληρονομιάς, ειδικά για οργανικούς διαλύτες εκχύλισης, χρήζει ιδιαίτερης προσοχής καθώς η επιμόλυνση των δειγμάτων μπορεί να είναι καταστροφική και παρεμποδιστική για την εξαγωγή αξιόπιστων αποτελεσμάτων.

Καταλήγοντας, η απόπειρα μελέτης αρχαιολογικών κεραμικών οστράκων με τη χρήση της φασματοσκοπίας NMR, αποδείχθηκε επιτυχής ενώ η γρήγορη και απλή πειραματική προεργασία των δειγμάτων αποτελούν τα κυρίαρχα προτερήματα της μεθόδου έναντι των πιο συχνά χρησιμοποιούμενων, όπως οι αέριες χρωματογραφίες συζευγμένες με φασματομετρία μάζας, GC-MS και GC-IR-MS. Ένα ακόμη πλεονέκτημα είναι η δυνατότητα

επαναχρησιμοποίησης του εκχυλίσματος, για την περαιτέρω συνδυαστική μελέτη του με άλλες αναλυτικές τεχνικές. Αυτό είναι καθοριστικής σημασίας για την μελέτη δειγμάτων πολιτισμικής κληρονομιάς, όπου η ποσότητα του δείγματος είναι περιορισμένη ενώ συνήθως πολλές αναλυτικές τεχνικές είναι απαραίτητο να συνδυαστούν για την εξαγωγή πληρέστερων συμπερασμάτων. Τέλος, σημαντικό είναι να αναφερθεί ότι η παρούσα εργασία αποτέλεσε την πρώτη συστηματική μελέτη ανάλυσης οργανικών υπολειμμάτων σε αρχαιολογικά όστρακα με τη χρήση της φασματοσκοπίας NMR, στην Ελλάδα.

## Βιβλιογραφία

1. Βαγγέλης, Α., Σφακιανάκης, *Μινωική Κρήτη*. ΣΦΑΚΙΑΝΟΣ: Ηράκλειο Κρήτης, 1991.
2. Πετράκης, Β. Χ., *Το έργον της αρχαιολογικής εταιρείας κατά το 1999*. Αθήνα, 2000.
3. Καρτσωνάκη, Ε. Ανάπτυξη μεθοδολογίας για την ανάλυση οργανικών υλικών σε αρχαιολογικά ιστορικά αντικείμενα με τη φασματοσκοπία Πυρηνικού Μαγνητικού Συντονισμού, NMR. Πανεπιστήμιο Κρήτης  
Ηράκλειο Κρήτης, 2012.
4. Martini, M., Milazzo, M, Piacentini, M., Physics Methods in Archaeometry. In *Proceedings of the International School of Physics "Enrico Fermi"*, 2004; Vol. 154.
5. Roffet-Salque, M.; Dunne, J.; Altoft, D. T.; Casanova, E.; Cramp, L. J. E.; Smyth, J.; Whelton, H. L.; Evershed, R. P., From the inside out: Upscaling organic residue analyses of archaeological ceramics. *Journal of Archaeological Science: Reports* **2017**, *16*, 627-640.
6. Zlateva, B.; Rangelov, M., Chemical Analysis of Organic Residues Found in Hellenistic Time Amphorae from SE Bulgaria. *Journal of Applied Spectroscopy* **2015**, *82* (2), 221-227.
7. Oudemans, T., *Applying organic residue analysis in ceramic studies - a functional approach*. 2007; Vol. 23, p 5-20.
8. Kałużna-Czaplińska, J.; Rosiak, A.; Kwapińska, M.; Kwapiński, W., Different Analytical Procedures for the Study of Organic Residues in Archeological Ceramic Samples with the Use of Gas Chromatography-mass Spectrometry. *Critical Reviews in Analytical Chemistry* **2016**, *46* (1), 67-81.
9. Heron, C.; Evershed, R. P., The Analysis of Organic Residues and the Study of Pottery Use. *Archaeological Method and Theory* **1993**, *5*, 247-284.
10. Salque, M., Was milk processed in these ceramic pots? Organic residue analyses of European prehistoric cooking vessels. In *May contain traces of milk - Investigating the role of dairy farming and milk consumption in the European Neolithic*, LeCHE, Ed. The University of York, York: 2012; pp 127-141.
11. Martine, R.; Nicolas, G.; Oreste, D.; Cécile, C.-O.; Christian, R., Structural characterization of lipid constituents from natural substances preserved in archaeological environments. *Measurement Science and Technology* **2003**, *14* (9), 1620.
12. Blanco-Zubiaguirre, L.; Olivares, M.; Castro, K.; Inanez, J. G.; Madariaga, J. M., An alternative analytical method based on ultrasound micro bath hydrolysis and GC-MS analysis for the characterization of organic biomarkers in archaeological ceramics. *Analytical and bioanalytical chemistry* **2016**, *408* (28), 8001-8012.
13. Evershed, R. P., Biomolecular archaeology and lipids. *World Archaeology* **1993**, *25* (1), 74-93.
14. Hansel, F. A.; Evershed, R. P., Formation of dihydroxy acids from Z-monounsaturated alkenoic acids and their use as biomarkers for the processing of marine commodities in archaeological pottery vessels. *Tetrahedron Letters* **2009**, *50* (40), 5562-5564.
15. Dunne, J.; Evershed, R. P.; Salque, M.; Cramp, L.; Bruni, S.; Ryan, K.; Biagetti, S.; di Lernia, S., First dairying in green Saharan Africa in the fifth millennium bc. *Nature* **2012**, *486*, 390.
16. Copley, M. S.; Berstan, R.; Mukherjee, A. J.; Dudd, S. N.; Straker, V.; Payne, S.; Evershed, R. P., Dairying in antiquity. III. Evidence from absorbed lipid residues dating to the British Neolithic. *Journal of Archaeological Science* **2005**, *32* (4), 523-546.
17. Manhita, A.; Martins, S.; Moreira, M.; Lopes, M. C.; Silva, M. G.; Dias, C. B., On the study of the organic content of High Empire ceramics from Beja's Castle - a preliminary report. *ArchaeoAnalytics Chromatography and DNA analysis in archaeology* **2015**, 155-167.
18. Oliviera, C.; Morais, R.; Araujo, A., Application of gas chromatography coupled with mass spectrometry to the analysis of ceramic containers of Roman period evidence from the



Peninsular northwest, *ArchaeoAnalytics Chromatography and DNA analysis in archaeology*, **2015**.

19. Regert, M.; Bland, H. A.; Dudd, S. N.; Bergen, P. F. v.; Evershed, R. P., Free and bound fatty acid oxidation products in archaeological ceramic vessels. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* **1998**, *265* (1409), 2027-2032.
20. Evershed R, P., ORGANIC RESIDUE ANALYSIS IN ARCHAEOLOGY: THE ARCHAEOLOGICAL BIOMARKER REVOLUTION\*. *Archaeometry* **2008**, *50* (6), 895-924.
21. Stacey, R. J., *Organic residues: Origins, analysis and scope - An overview for the archaeological ceramicist*. 2013; Vol. 14, p 1-8.
22. Evershed, R. P., Experimental approaches to the interpretation of absorbed organic residues in archaeological ceramics. *World Archaeology* **2008**, *40* (1), 26-47.
23. Koh, A. J.; Yasur-Landau, A.; Cline, E. H., Characterizing a Middle Bronze Palatial Wine Cellar from Tel Kabri, Israel. *PLOS ONE* **2014**, *9* (8), e106406.
24. Mottram, H. R.; Dudd, S. N.; Lawrence, G. J.; Stott, A. W.; Evershed, R. P., New chromatographic, mass spectrometric and stable isotope approaches to the classification of degraded animal fats preserved in archaeological pottery. *Journal of Chromatography A* **1999**, *833* (2), 209-221.
25. Guasch-Jané, M. R.; Ibern-Gómez, M.; Andrés-Lacueva, C.; Jáuregui, O.; Lamuela-Raventós, R. M., Liquid Chromatography with Mass Spectrometry in Tandem Mode Applied for the Identification of Wine Markers in Residues from Ancient Egyptian Vessels. *Analytical Chemistry* **2004**, *76* (6), 1672-1677.
26. McGovern, P.; Jalabadze, M.; Batiuk, S.; Callahan, M. P.; Smith, K. E.; Hall, G. R.; Kvavadze, E.; Maghradze, D.; Rusishvili, N.; Bouby, L.; Failla, O.; Cola, G.; Mariani, L.; Boaretto, E.; Bacilieri, R.; This, P.; Wales, N.; Lordkipanidze, D., Early Neolithic wine of Georgia in the South Caucasus. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **2017**, *114* (48), E10309.
27. Colombini, M. P.; Giachi, G.; Modugno, F.; Ribechini, E., Characterisation of organic residues in pottery vessels of the Roman age from Antinoe (Egypt). *Microchemical Journal* **2005**, *79* (1), 83-90.
28. Evershed, R.; Heron, C.; John Goad, L., *Analysis of organic residues of archaeological origin by high-temperature gas chromatography and gas chromatography - Mass spectrometry*. 1990; Vol. 115.
29. Pecci, A.; Gabrieli, R. S.; Inserra, F.; Cau, M. A.; Waksman, S. Y., Preliminary results of the organic residue analysis of 13th century cooking wares from a household in Frankish Paphos (Cyprus). *STAR: Science & Technology of Archaeological Research* **2015**, *1* (2), 99-105.
30. Oliveira, C.; Araújo, A.; Ribeiro, A.; Delerue-Matos, C., Chromatographic analysis of honey ceramic artefacts. *Archaeological and Anthropological Sciences* **2017**.
31. Hall, G. D.; Tarka, S. M.; Hurst, W. J.; Stuart, D.; Adams, R. E. W., Cacao Residues in Ancient Maya Vessels from Rio Azul, Guatemala. *American Antiquity* **2017**, *55* (1), 138-143.
32. Günther, H., *NMR Spectroscopy - Basic Principles, Concepts, and Applications in Chemistry*. 2013.
33. Θ. Μαυρομούστακος, I. M., *NMR, Αρχές και εφαρμογές φασματοσκοπίας Πυρηνικού Μαγνητικού Συντονισμού*. Γ.Β. Παρισιάνος: Αθήνα, 2006.
34. B. Lambert, J.; E. Shaul, C.; A. Stearns, J., *Nuclear Magnetic Resonance in Archaeology*. 2000; Vol. 29, p 175-182.
35. Capitani, D.; Di Tullio, V.; Proietti, N., Nuclear magnetic resonance to characterize and monitor Cultural Heritage. *Progress in nuclear magnetic resonance spectroscopy* **2012**, *64*, 29-69.
36. Craig, O. E.; Taylor, G.; Mulville, J.; Collins, M. J.; Parker Pearson, M., The identification of prehistoric dairying activities in the Western Isles of Scotland: an integrated biomolecular approach. *Journal of Archaeological Science* **2005**, *32* (1), 91-103.

37. Spyros, A., Liquid-State NMR in Cultural Heritage and Archaeological Sciences. In *Modern Magnetic Resonance*, Webb, G. A., Ed. Springer International Publishing: Cham, 2016; pp 1-12.
38. Spyros, A.; Anglos, D., *Studies of organic paint binders by NMR spectroscopy*. 2006; Vol. 83, p 705-708.
39. Lauer, F.; Pätzold, S.; Gerlach, R.; Protze, J.; Willbold, S.; Amelung, W., Phosphorus status in archaeological arable topsoil relicts—Is it possible to reconstruct conditions for prehistoric agriculture in Germany? *Geoderma* **2013**, *207-208*, 111-120.
40. Hosler, D.; Burkett, S. L.; Tarkanian, M. J., Prehistoric Polymers: Rubber Processing in Ancient Mesoamerica. *Science* **1999**, *284* (5422), 1988.
41. Bruni, S.; Guglielmi, V., Identification of archaeological triterpenic resins by the non-separative techniques FTIR and <sup>13</sup>C NMR: The case of Pistacia resin (mastic) in comparison with frankincense. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy* **2014**, *121*, 613-622.
42. Tanasi, D.; Greco, E.; Di Tullio, V.; Capitani, D.; Gulli, D.; Ciliberto, E., <sup>1</sup>H-<sup>1</sup>H NMR 2D-TOCSY, ATR FT-IR and SEM-EDX for the identification of organic residues on Sicilian prehistoric pottery. *Microchemical Journal* **2017**, *135*, 140-147.
43. Tanasi, D.; Greco, E.; Noor, R. E.; Feola, S.; Kumar, V.; Crispino, A.; Gelis, I., <sup>1</sup>H NMR, <sup>1</sup>H-<sup>1</sup>H 2D TOCSY and GC-MS analyses for the identification of olive oil in Early Bronze Age pottery from Castelluccio (Noto, Italy). *Analytical Methods* **2018**.
44. Romanus, K.; Baeten, J.; Poblome, J.; Accardo, S.; Degryse, P.; Jacobs, P.; De Vos, D.; Waelkens, M., Wine and olive oil permeation in pitched and non-pitched ceramics: relation with results from archaeological amphorae from Sagalassos, Turkey. *Journal of Archaeological Science* **2009**, *36* (3), 900-909.
45. Jacek Namieśnik, A. S., Łukasz Marcinkowski, Green Sample Preparation Techniques for Chromatographic Determination of Small Organic Compounds. *International Journal of Chemical Engineering and Applications* **2015**, *6* (3), 215-219.
46. Beyer, A.; Biziuk, M., Applications of sample preparation techniques in the analysis of pesticides and PCBs in food. *Food Chem* **2008**, *108* (2), 669-680.
47. Papakosta, V.; Smittenberg, R. H.; Gibbs, K.; Jordan, P.; Isaksson, S., Extraction and derivatization of absorbed lipid residues from very small and very old samples of ceramic potsherds for molecular analysis by gas chromatography–mass spectrometry (GC–MS) and single compound stable carbon isotope analysis by gas chromatography–combustion–isotope ratio mass spectrometry (GC–C–IRMS). *Microchemical Journal* **2015**, *123*, 196-200.
48. Ugliano, M.; Herderich, M. J.; Henschke, P. A., *Nitrogen management is critical for wine flavour and style*. Australian and New Zealand Wine Industry Journal: 2007.
49. Moreno-Arribas, M. V.; Polo, M. C., *Wine Chemistry and Biochemistry*. 2009; p 1-735.
50. Ji, X.-J.; Huang, H.; Ouyang, P.-K., *Microbial 2,3-butanediol production: A state-of-the-art review*. 2011; Vol. 29, p 351-64.
51. Romano, P.; Suzzi, G., Origin and Production of Acetoin during Wine Yeast Fermentation. *Applied and Environmental Microbiology* **1996**, *62* (2), 309-315.
52. Herold, B.; Pfeiffer, P.; Radler, F., Determination of the Three Isomers of 2,3-Butanediol Formed by Yeasts or Lactic Acid Bacteria During Fermentation. *American Journal of Enology and Viticulture* **1995**, *46* (1), 134.
53. Neish, A. C., Note on the Stereoisomers of 2,3-Butanediol Produced by Yeast. *Canadian Journal of Research* **1950**, *28b* (10), 660-661.
54. Romano, P.; Brandolini, V.; Ansaloni, C.; Menziani, E., The production of 2,3-butanediol as a differentiating character in wine yeasts. *World Journal of Microbiology and Biotechnology* **1998**, *14* (5), 649-653.
55. Romano, P.; Suzzi, G., Acetoin production in *Saccharomyces cerevisiae* wine yeasts. *FEMS microbiology letters* **1993**, *108* (1), 23-6.

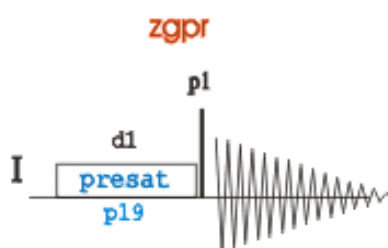
56. Kunkee, R. E., Selection and modification of yeasts and lactic acid bacteria for wine fermentation. *Food Microbiology* **1984**, *1* (4), 315-332.
57. Lucquin, A.; Colonese, A. C.; Farrell, T. F. G.; Craig, O. E., Utilising phytanic acid diastereomers for the characterisation of archaeological lipid residues in pottery samples. *Tetrahedron Letters* **2016**, *57* (6), 703-707.
58. McGovern, P. E.; Zhang, J.; Tang, J.; Zhang, Z.; Hall, G. R.; Moreau, R. A.; Nuñez, A.; Butrym, E. D.; Richards, M. P.; Wang, C.-s.; Cheng, G.; Zhao, Z.; Wang, C., Fermented beverages of pre- and proto-historic China. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **2004**, *101* (51), 17593.
59. Regert, M.; Colinart, S.; Degrand, L.; Decavallas, O., Chemical Alteration and Use of Beeswax Through Time: Accelerated Ageing Tests and Analysis of Archaeological Samples from Various Environmental Contexts. *Archaeometry* **2003**, *43* (4), 549-569.
60. Elbein, A. D.; Pan, Y. T.; Pastuszak, I.; Carroll, D. L., New insights on trehalose: a multifunctional molecule. *Glycobiology* *13* (4), 17R-27R.
61. Crowe, J. H.; Hoekstra, F. A.; Crowe, L. M., Anhydrobiosis. *Annual Review of Physiology* **1992**, *54* (1), 579-599.
62. Albertorio, F.; Chapa, V. A.; Chen, X.; Diaz, A. J.; Cremer, P. S., The  $\alpha,\alpha$ -(1 $\rightarrow$ 1) Linkage of Trehalose is Key to Anhydrobiotic Preservation. *Journal of the American Chemical Society* **2007**, *129* (34), 10567-10574.
63. Namdar, D.; Amrani, A.; Getzov, N.; Milevski, I., Olive oil storage during the fifth and sixth millennia BC at Ein Zippori, Northern Israel. *Israel Journal of Plant Sciences* **2015**, *62* (1-2), 65-74.
64. Riley, F. R., Olive oil production on bronze age Crete: nutritional properties, processing methods and storage life of Minoan olive oil. *Oxford Journal of Archaeology* **2002**, *21* (1), 63-75.

# Παράρτημα

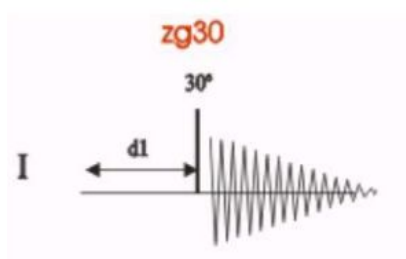
## Βασικές ακολουθίες παλμών των πειραμάτων NMR που χρησιμοποιήθηκαν.

### Μονοδιάστατα φάσματα NMR

Για τα πολικά εκχυλίσματα, η επιλογή ακολουθίας παλμών έγινε με σκοπό τον «κορεσμό» της κορυφής του διαλύτη, του νερού. Η ένταση του παλμού και η διάρκεια εξάλειψης της κορυφής του νερού, καθορίζονται από p19 και το d1, αντίστοιχα.



Παρακάτω, φαίνεται σχηματικά η ακολουθία παλμών που χρησιμοποιήθηκε για τη λήψη μονοδιάστατων φασμάτων για τα άπολα εκχυλίσματα των δειγμάτων. Αυτή η ακολουθία παλμών περιλαμβάνει την παράμετρο d1 που σχετίζεται με το χρόνο αναμονής για να επανέλθει το σύστημα των σπιν στην κατάσταση ισορροπίας, το p1 που αφορά στον παλμό ραδιοσυχνότητας και το χρόνο καταγραφής του σήματος (acquisition time).

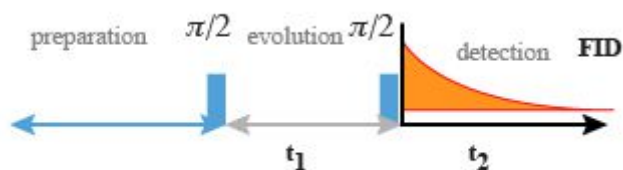


### Δισδιάστατα φάσματα NMR

Τα δισδιάστατα φάσματα NMR δίνουν πληροφορίες που αφορούν στην αλληλεπίδραση μεταξύ δύο πυρήνων A, B (διαφορετικών ή ίδιων πυρήνων). Κατά την λήψη δισδιάστατων φασμάτων NMR, τα στάδια διεξαγωγής του κάθε πειράματος είναι τα εξής:

- 1) Προετοιμασία των σπιν (preparation): Διέγερση του πυρήνα A, δημιουργία μαγνήτισης στο επίπεδο x,y
- 2) Εξέλιξη των σπιν και μαγνήτισης (evolution, t1): Προσδιορισμός της χημικής μετατόπισης του πυρήνα A
- 3) Ανάμιξη των σπιν (mixing): Μεταφορά μαγνήτισης από τον πυρήνα A, στον πυρήνα B μέσω J (COSY, HSQC, HMBC, JRES) ή μέσω NOE (NOESY)
- 4) Ανίχνευση σήματος (detection): Προσδιορισμός της χημικής μετατόπισης του πυρήνα B

Το στάδιο της προετοιμασίας είναι συνήθως είναι ένας παλμός  $90^\circ$  που προκαλεί την διέγερση όλων των πυρήνων A του δείγματος ταυτόχρονα. Το δεύτερο στάδιο περιλαμβάνει την αναμονή μιας περιόδου  $t_1$  κατά την οποία η μαγνήτιση του πυρήνα A περιστρέφεται στο επίπεδο x,y, αυτό επαναλαμβάνεται αρκετές φορές με σταθερά αυξανόμενο  $t_1$ , καταγράφεται το σήμα FID και προσδιορίζεται η χημική μετατόπιση του πυρήνα A με βάση το πόσο γρήγορα περιστρέφεται η μαγνήτιση του. Κατά το τρίτο στάδιο, γίνεται εφαρμογή ενός δεύτερου παλμού ή ενός συνδιασμού παλμών ραδιοσυχνοτήτων και/ή περιόδων καθυστέρησης με τα οποία υπάρχει «επικοινωνία» των σπιν και επιτυγχάνεται μεταφορά ενός μέρους της μαγνήτισης από τον πυρήνα A στον πυρήνα B. Τα διάφορα 2D πειράματα διαφέρουν ως προς τον «μηχανισμό ανάμιξης» αφού σε κάθε τέτοιο πείραμα, η σχέση μεταξύ των δύο πυρήνων ορίζεται διαφορετικά (σταθερά σύζευξης, συζεύξεις μέσω δεσμών ή χώρου). Τέλος, η ανίχνευση σήματος και ο εντοπισμός της συχνότητας του πυρήνα B γίνεται μετά τη συλλογή της FID από το δέκτη (διάστημα συλλογής αποτελεσμάτων των αλληλεπιδράσεων των σπιν,  $t_2$ ). Παρακάτω φαίνεται η βασική ακολουθία παλμών σε ένα πείραμα COSY.



Ανάλογα, παρακάτω δίνεται η ακολουθία παλμών για το απλούστερο δισδιάστατο πείραμα άμεσης ετεροπυρηνικής συσχέτισης, HETCOR. Ωστόσο, με βελτιστοποίηση των χρόνων καθυστέρησης  $\Delta_1$ ,  $\Delta_2$  με βάση τη σταθερά σύζευξης του πρωτονίου και του άνθρακα που συζεύγονται απευθείας, μπορεί να γίνει λήψη και δισδιάστατων ετεροπυρηνικών φασμάτων μακράς εμβέλειας για το ίδιο δείγμα.

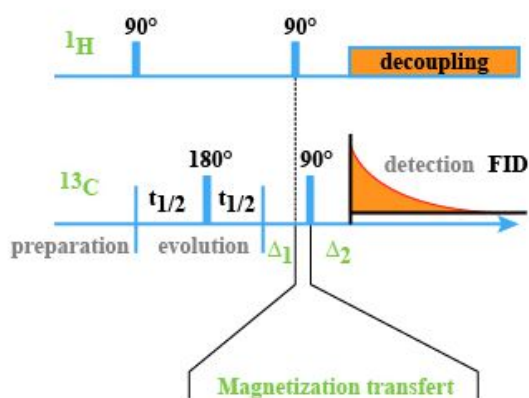


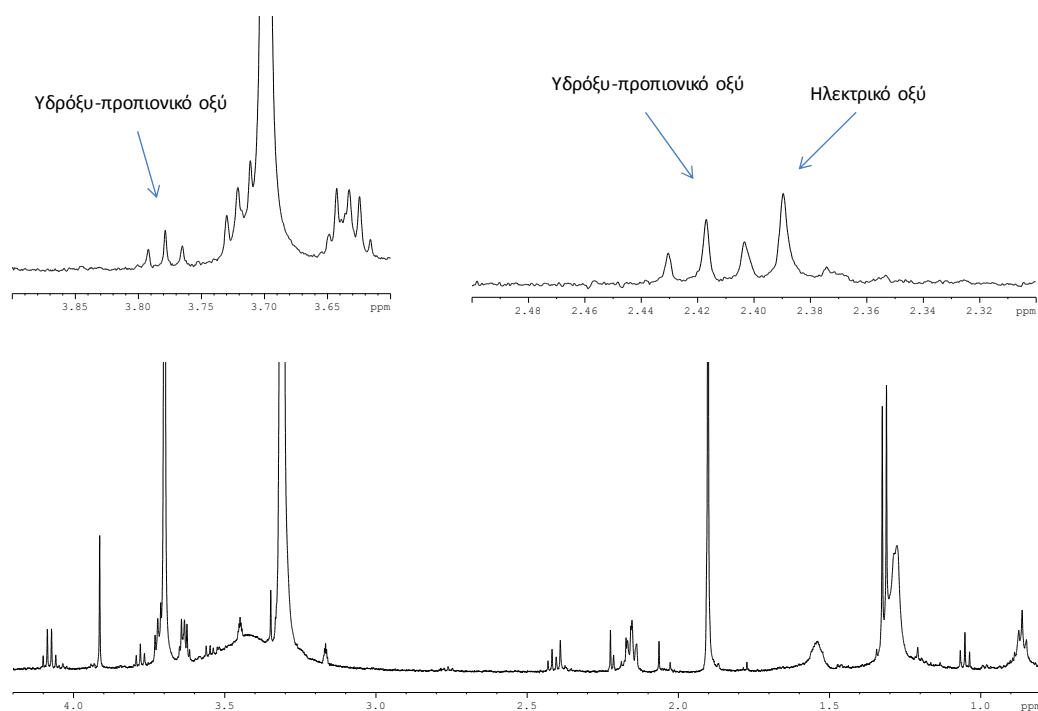
Fig. 25 : The XHCORR pulse sequence

Οι εικόνες που περιγράφουν τις ακολουθίες παλμών λήφθηκαν από την ιστοσελίδα [http://rmn2d.univ-lille1.fr/rmn2d\\_en/co/RMN2D\\_web.html](http://rmn2d.univ-lille1.fr/rmn2d_en/co/RMN2D_web.html) και το βιβλίο Θ. Μαυρομούστακος, Ι. Ματσούκας, NMR, Αρχές και εφαρμογές φασματοσκοπίας Πυρηνικού Μαγνητικού Συντονισμού, Εκδόσεις Γ.Β. Παρισιάνος, Αθήνα, 2006.

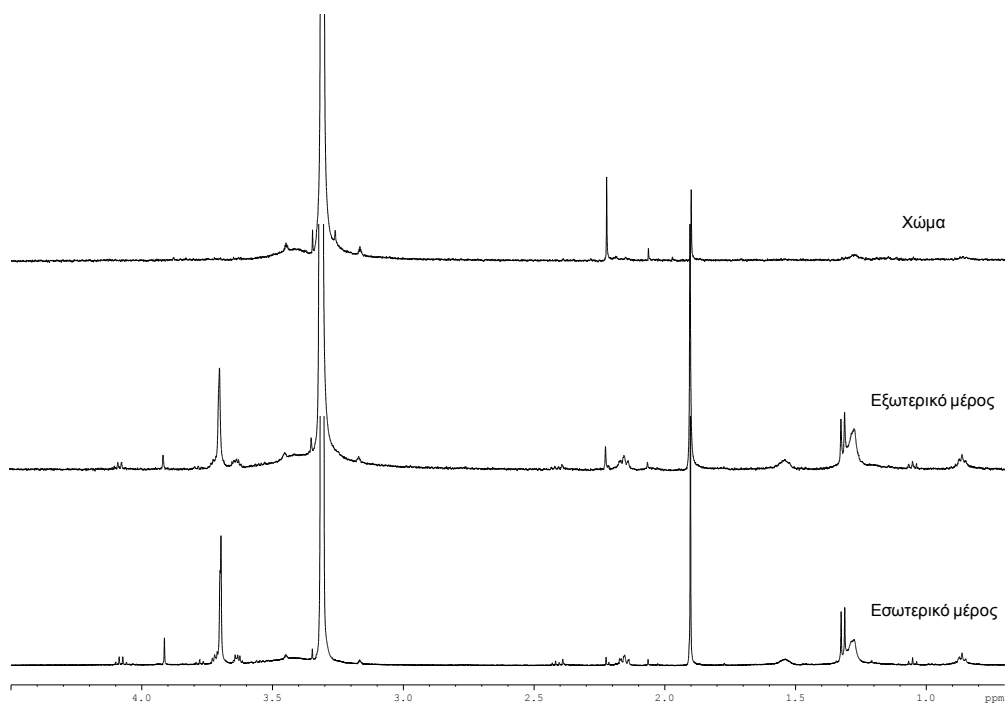
**Πολικά εκχυλίσματα, MeOH, H<sub>2</sub>O (1:4)**



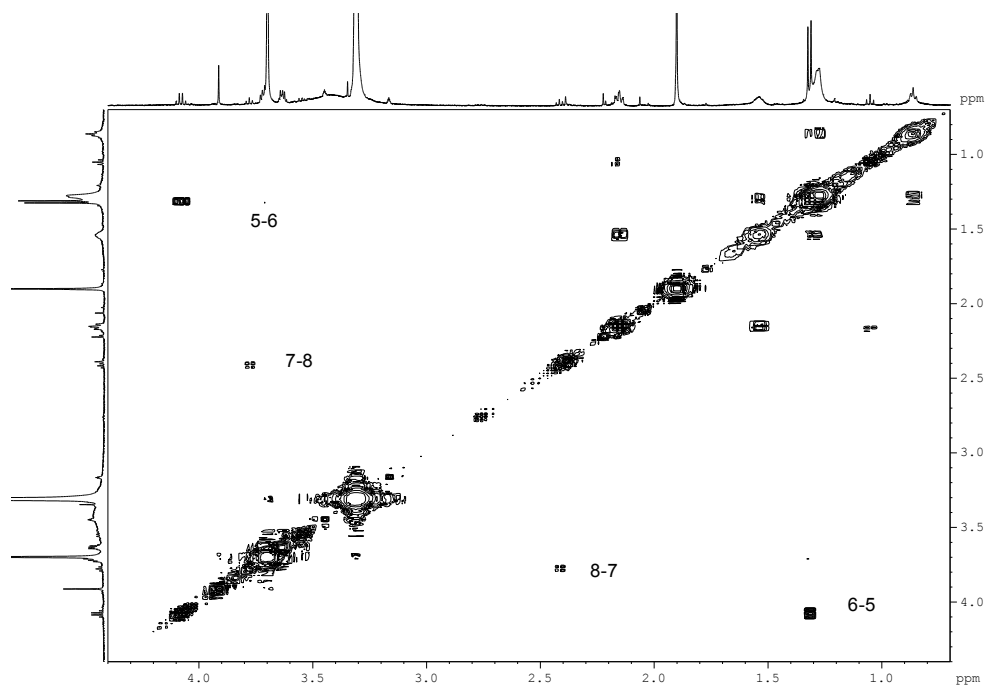
## ➤ Φάσματα NMR δείγματος 85



Φάσμα  $^1\text{H}$  NMR οργανικών υπολειμμάτων από το εσωτερικό μέρος του αγγείου 85, σε διαλύτη MeOD/D<sub>2</sub>O (1:4) και πεδίο συχνότητας 500.13 MHz.

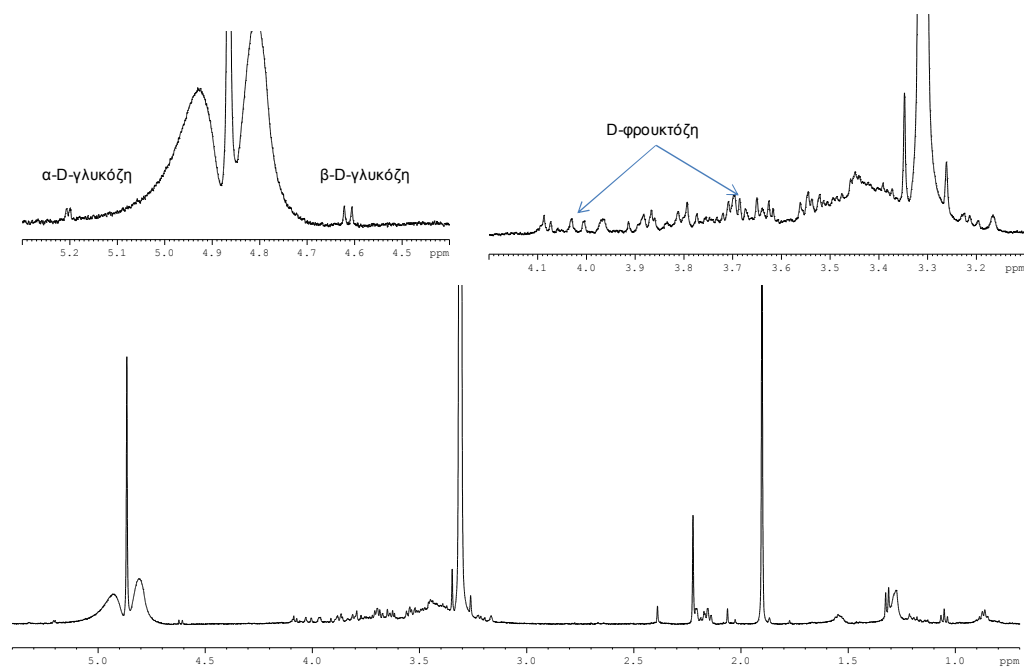


Σύγκριση φασμάτων  $^1\text{H}$  του δείγματος 85. Διαλύτης MeOD/D<sub>2</sub>O (1:4), ποσότητα δειγμάτων 100 mg.

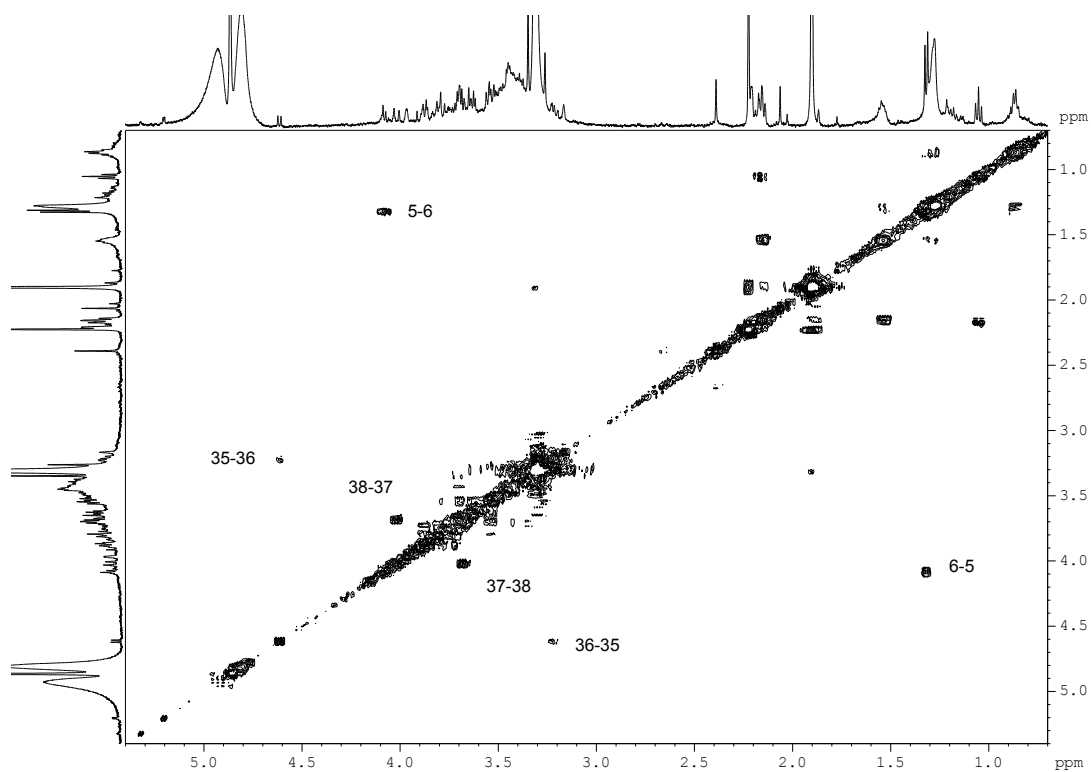


Φάσμα COSY οργανικών υπολειμμάτων από το εσωτερικό μέρος του αγγείου 85, σε διαλύτη MeOD/D<sub>2</sub>O (1:4) και πεδίο συχνότητας 500.13 MHz.

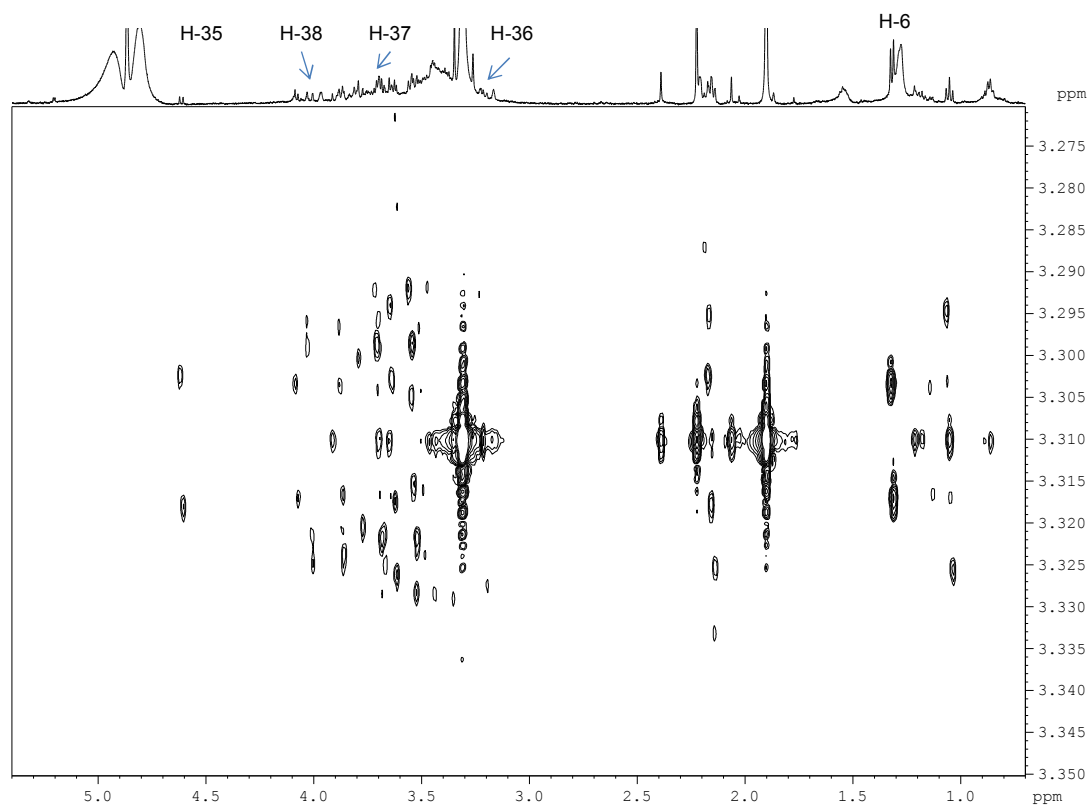
### ➤ Φάσματα NMR δείγματος 53



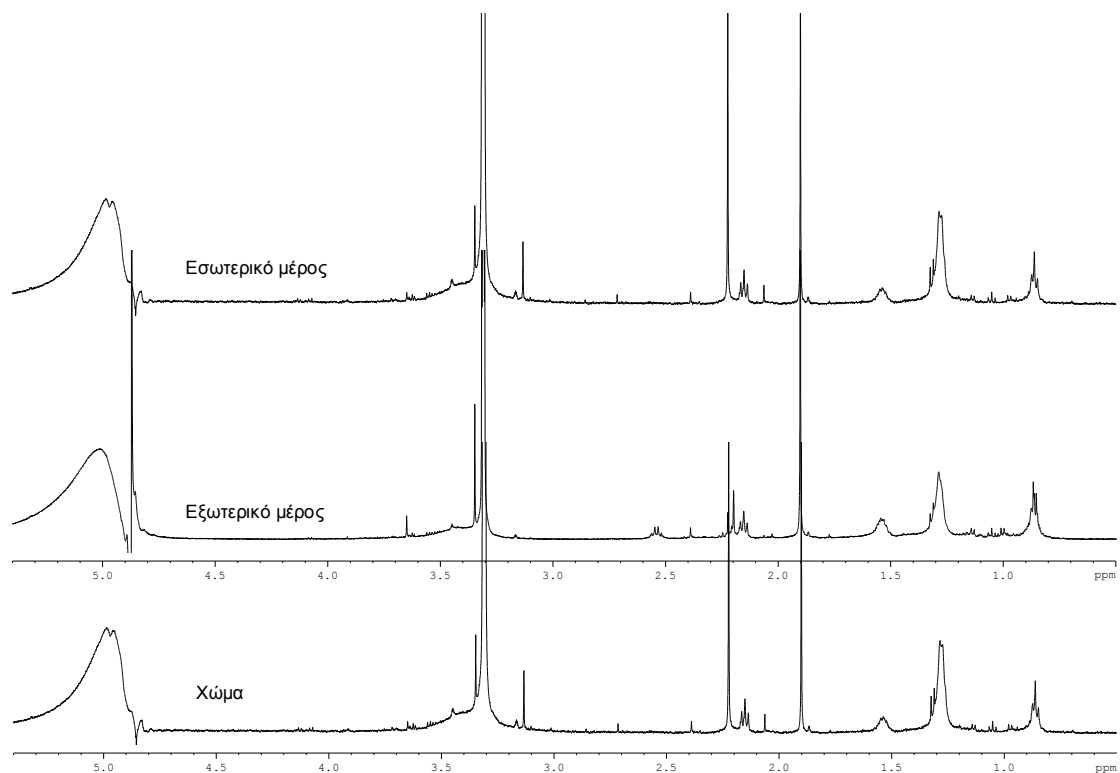
Φάσμα <sup>1</sup>H NMR οργανικών υπολειμμάτων από το εσωτερικό μέρος του αγγείου 53 στο σημείο δειγματοληψίας 1, σε διαλύτη MeOD/D<sub>2</sub>O (1:4) και πεδίο συχνότητας 500.13 MHz.



Φάσμα COSY οργανικών υπολειμμάτων από το εσωτερικό μέρος του αγγείου 53 στο σημείο δειγματοληψίας 1, σε διαλύτη MeOD/D<sub>2</sub>O (1:4) και πεδίο συχνότητας 500.13 MHz.

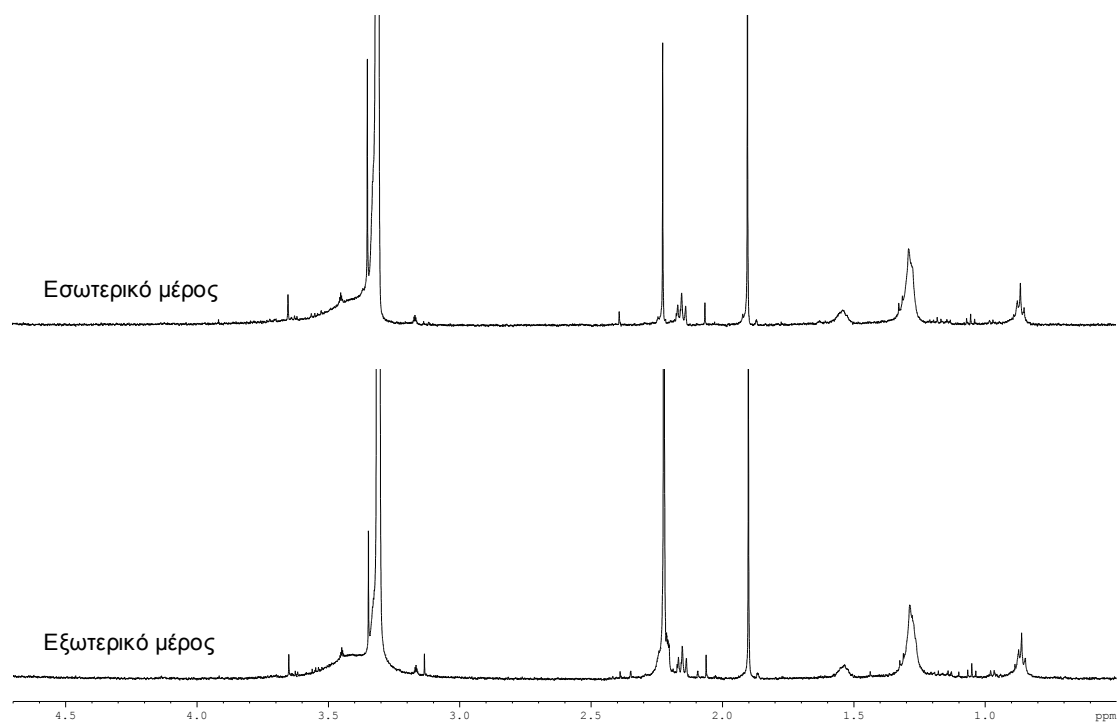


Φάσμα JRES οργανικών υπολειμμάτων από το εσωτερικό μέρος του αγγείου 53 στο σημείο δειγματοληψίας 1, σε διαλύτη MeOD/D<sub>2</sub>O (1:4) και πεδίο συχνότητας 500.13 MHz.



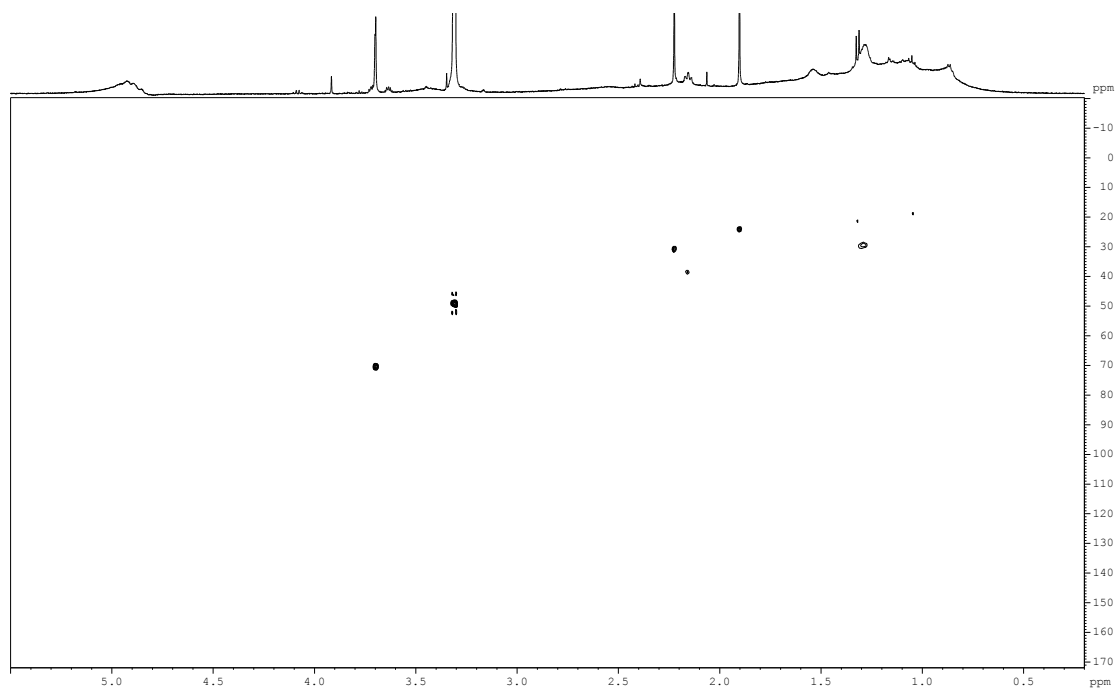
Σύγκριση φασμάτων  $^1\text{H}$  NMR του δείγματος 53 στο σημείο δειγματοληψίας 2, διαλύτης MeOD, D<sub>2</sub>O (1:4), πεδίο συχνότητας 500,13 MHz.

➤ **Φάσματα NMR δείγματος 27**



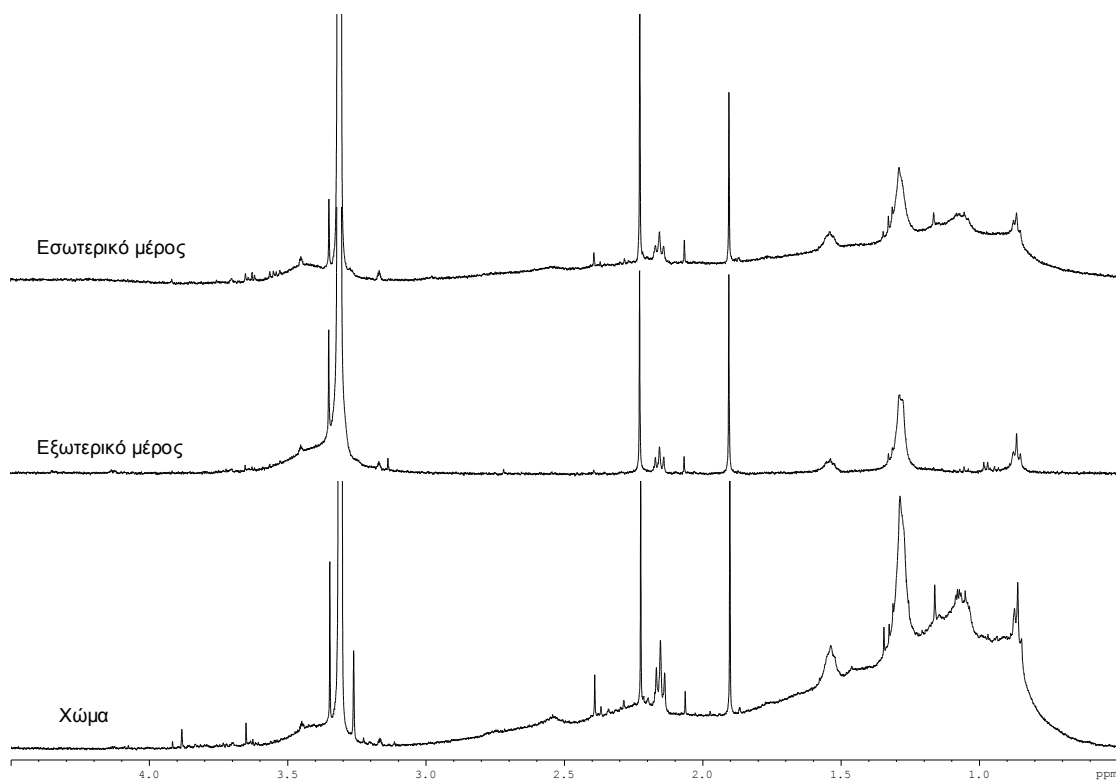
Σύγκριση φασμάτων  $^1\text{H}$  NMR του δείγματος 27, διαλύτης MeOD, D<sub>2</sub>O (1:4), πεδίο συχνότητας 500,13 MHz.

### ➤ Φάσματα NMR δείγματος 30



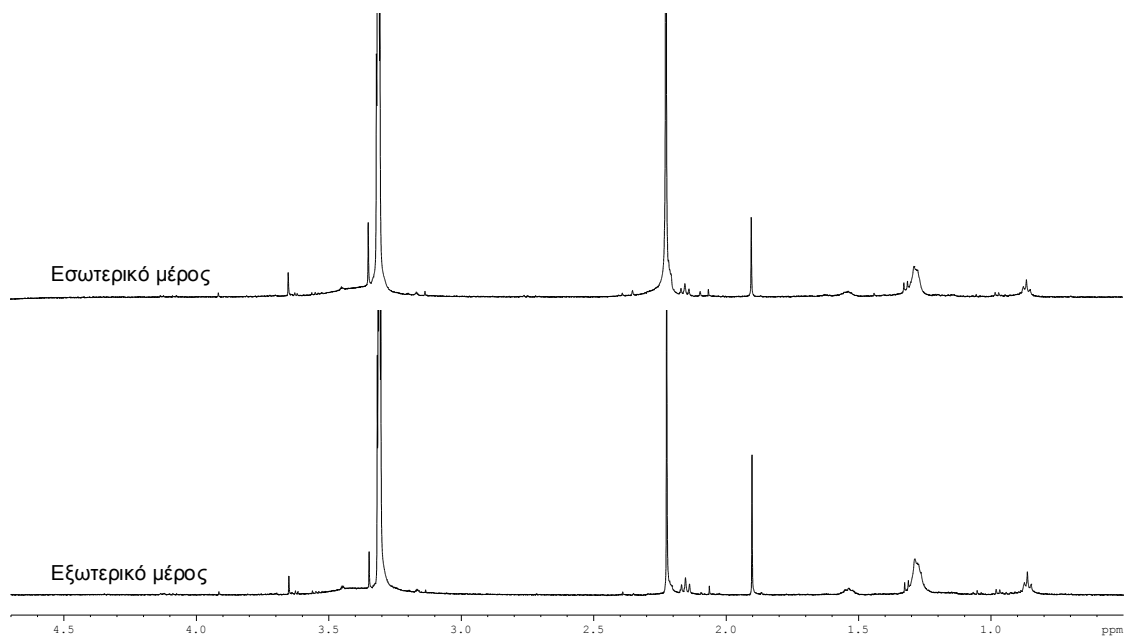
Φάσμα HSQC οργανικών υπολειμμάτων από το επιφανειακό χώμα του αγγείου 30, σε διαλύτη MeOD/D<sub>2</sub>O (1:4) και πεδίο συχνότητας 500.13 MHz.

### ➤ Φάσματα NMR δείγματος 44



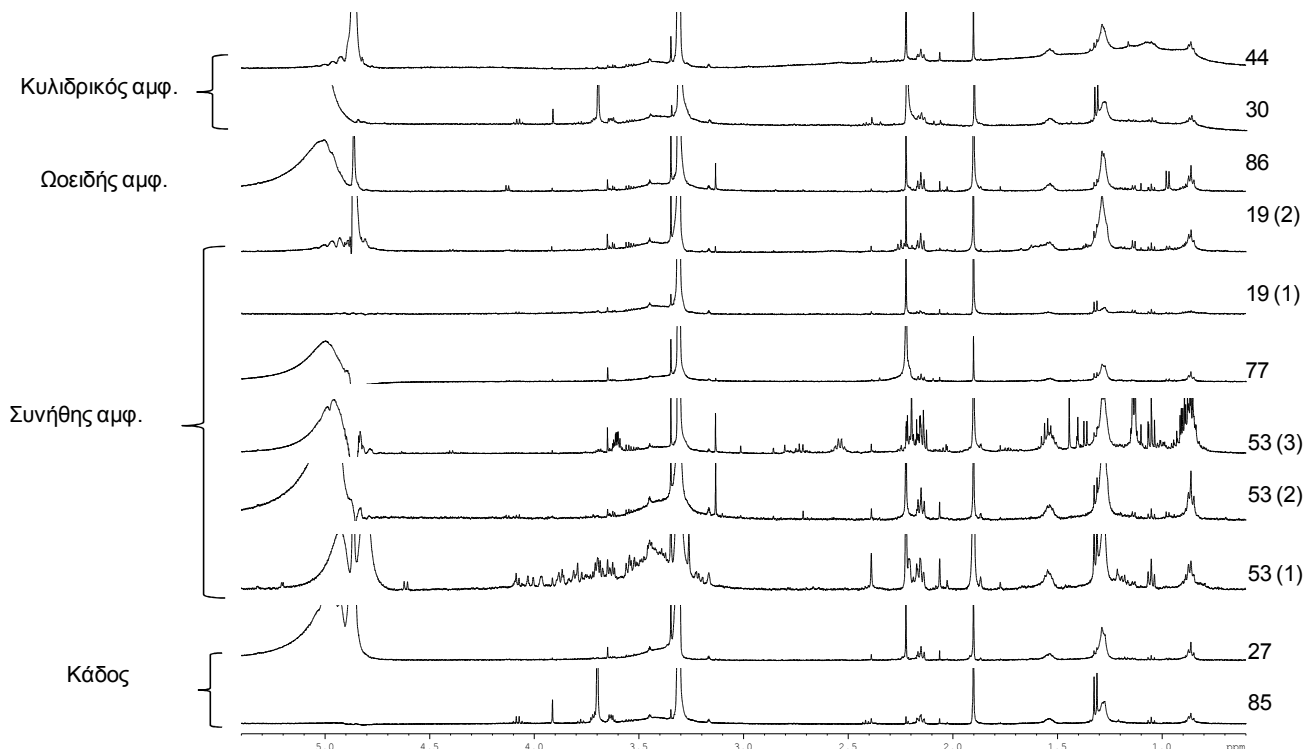
Σύγκριση φασμάτων <sup>1</sup>H NMR του δείγματος 44, διαλύτης MeOD, D<sub>2</sub>O (1:4), πεδίο συχνότητας 500,13 MHz.

➤ **Φάσματα NMR δείγματος 77**

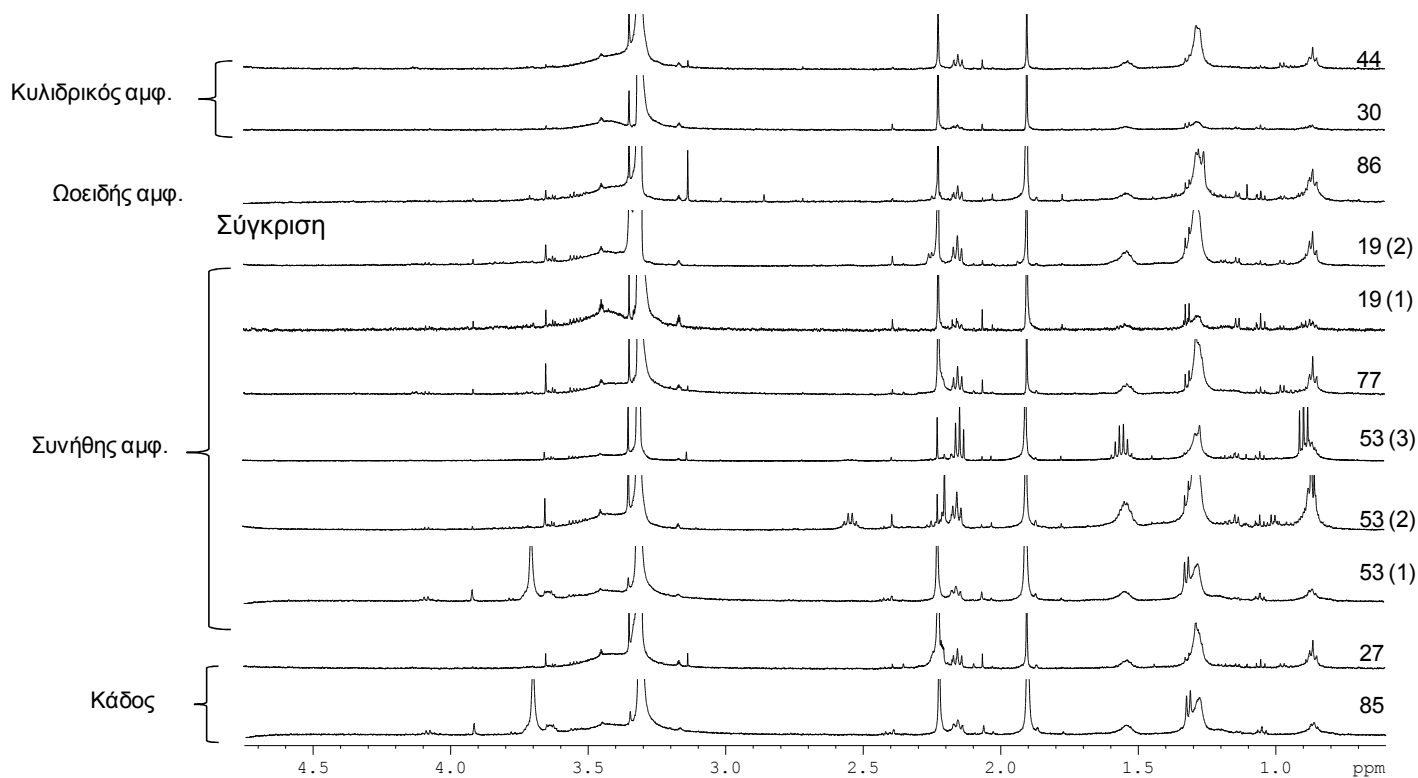


Σύγκριση φασμάτων  $^1\text{H}$  NMR του δείγματος 77, διαλύτης MeOD, D<sub>2</sub>O (1:4), πεδίο συχνότητας 500,13 MHz.

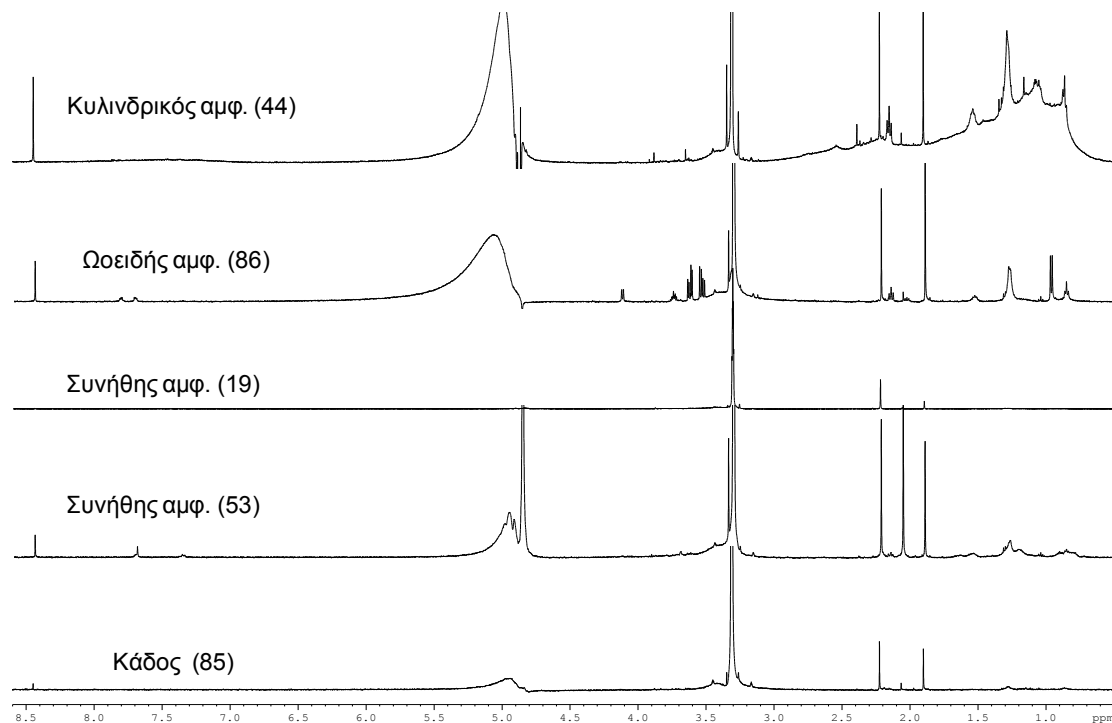
➤ **Συνολικά φάσματα NMR επιμέρους δειγμάτων, MeOH/H<sub>2</sub>O (1:4)**



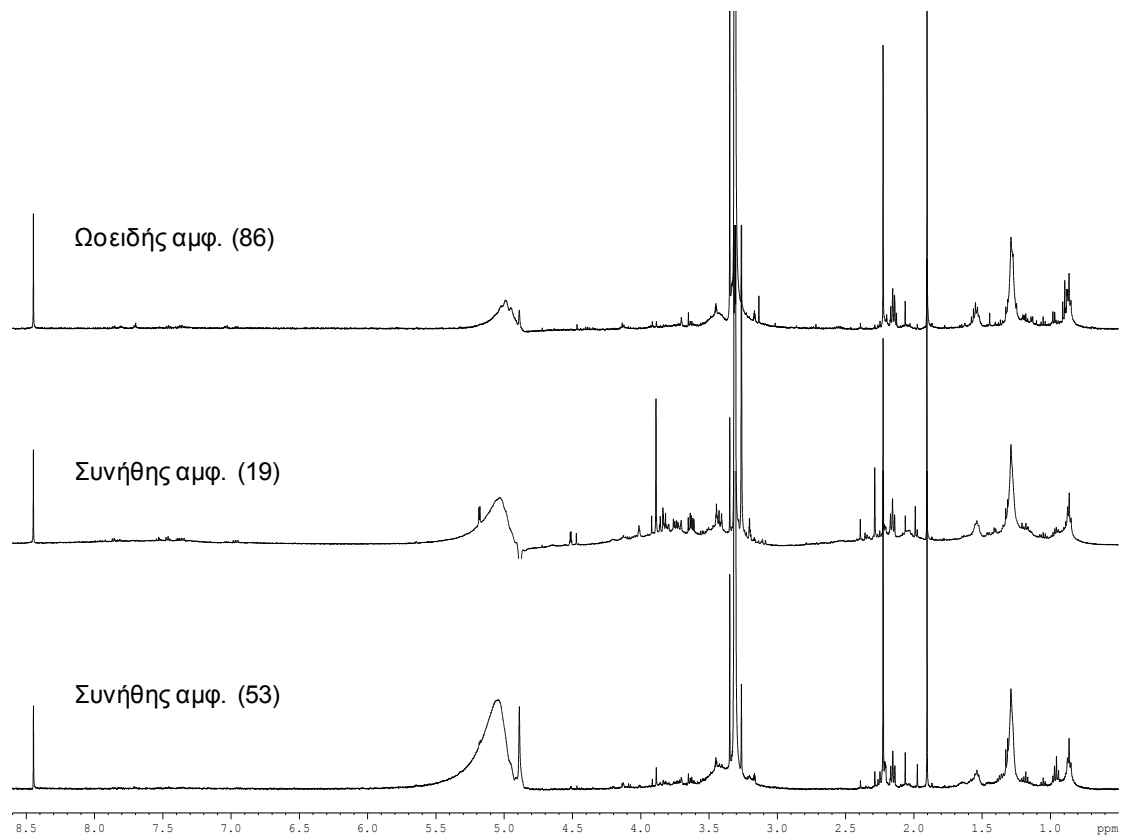
Σύγκριση φασμάτων  $^1\text{H}$  NMR του εσωτερικού μέρους όλων των δειγμάτων, διαλύτης MeOD, D<sub>2</sub>O (1:4), πεδίο συχνότητας 500,13 MHz.



φασμάτων  $^1\text{H}$  NMR του εξωτερικού μέρους όλων των δειγμάτων, διαλύτης MeOD, D<sub>2</sub>O (1:4), πεδίο συχνότητας 500,13 MHz.



Σύγκριση φασμάτων  $^1\text{H}$  NMR των δειγμάτων χρώματος όλων των κεραμικών, πρώτη δειγματοληψία, διαλύτης MeOD, D<sub>2</sub>O (1:4), πεδίο συχνότητας 500,13 MHz.

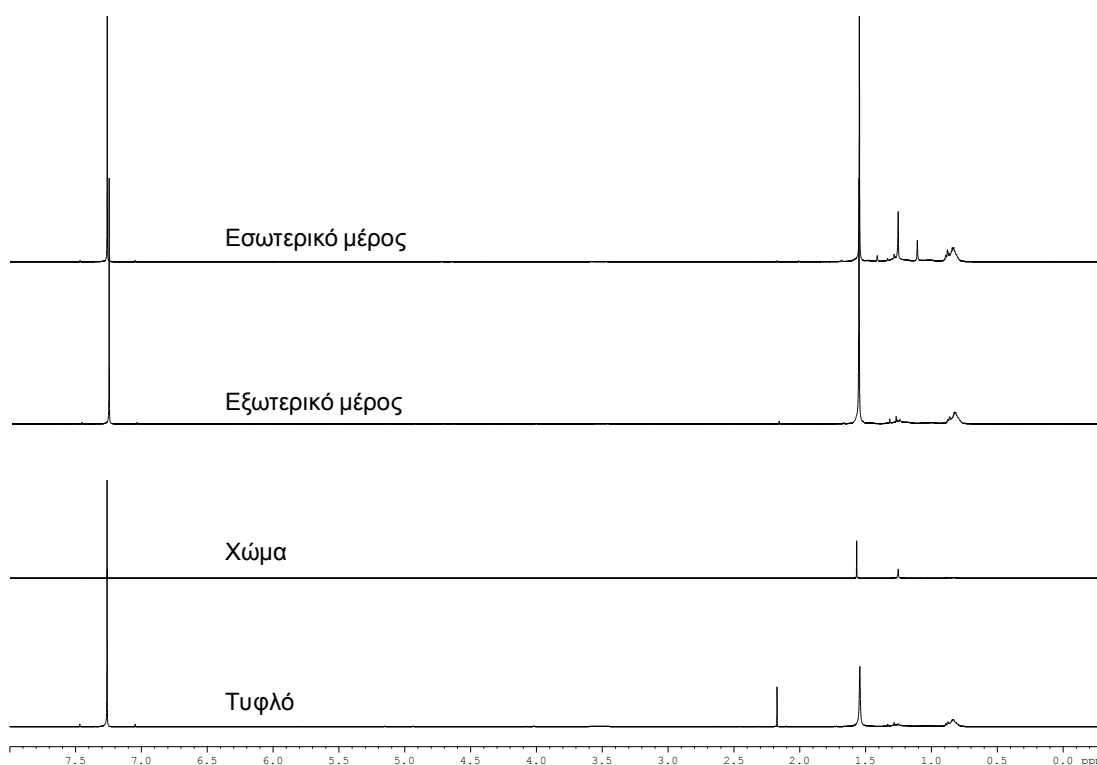


Σύγκριση φασμάτων  $^1\text{H}$  NMR των δειγμάτων χρώματος όλων των κεραμικών, δεύτερη δειγματοληψία, διαλύτης MeOD, D<sub>2</sub>O (1:4), πεδίο συχνότητας 500,13 MHz.



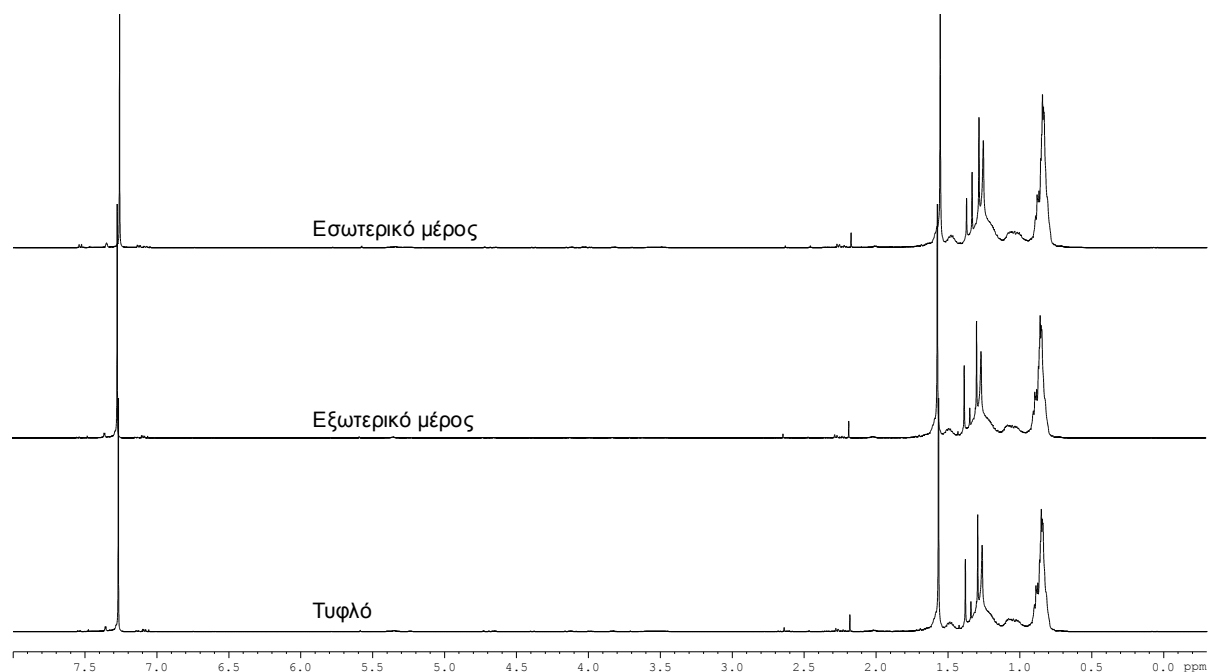
**Άπολα εκχυλίσματα,  $\text{CHCl}_3$**

➤ **Φάσματα NMR δείγματος 85**



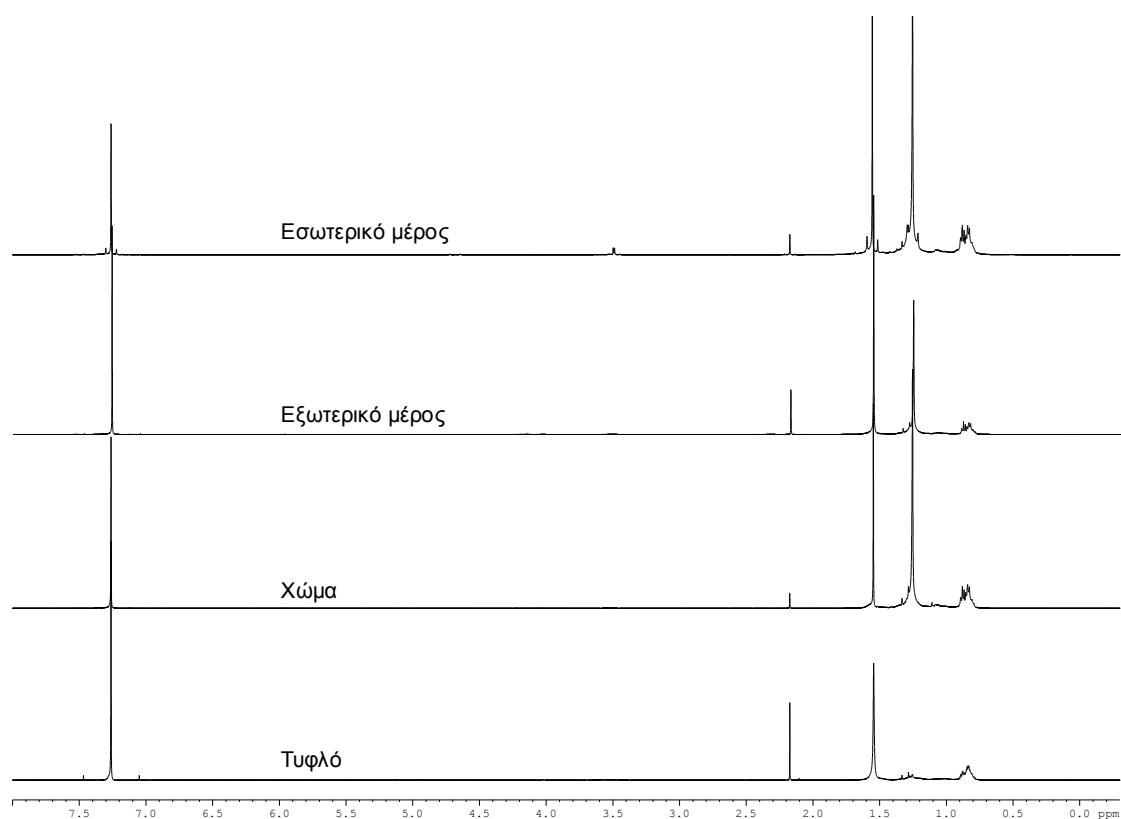
Σύγκριση φασμάτων  $^1\text{H}$  NMR του δείγματος 85, διαλύτης  $\text{CDCl}_3$ , πεδίο συχνότητας 500,13 MHz (μέσο εκχύλισης errendorf).

➤ **Φάσματα NMR δείγματος 27**

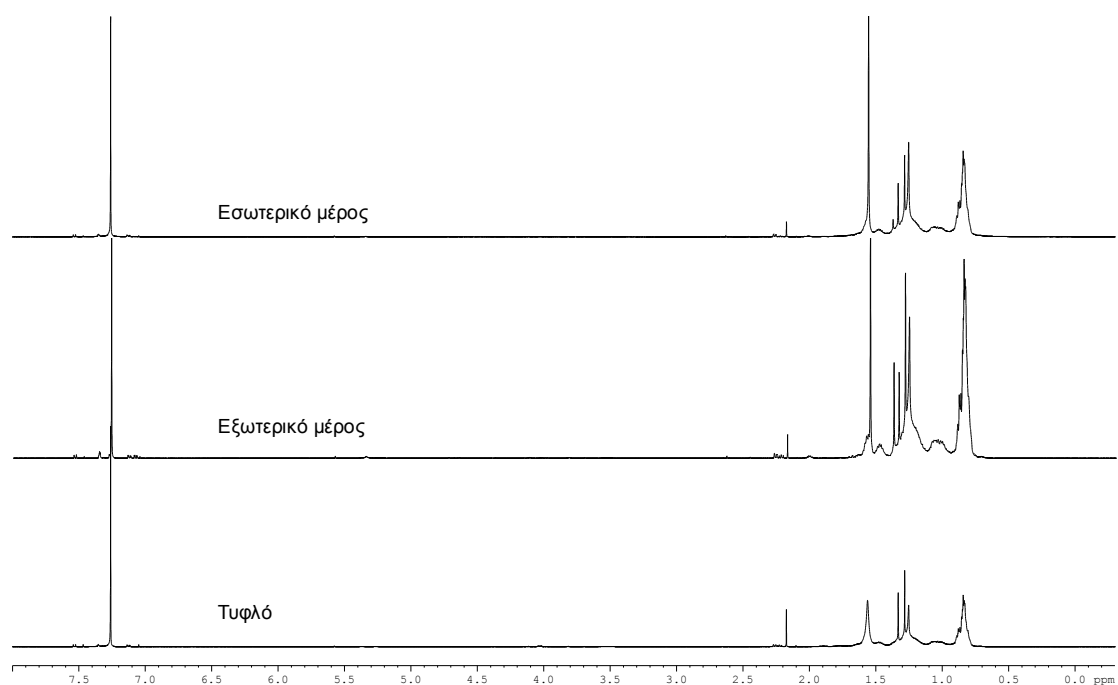


Σύγκριση φασμάτων  $^1\text{H}$  NMR του δείγματος 27, διαλύτης  $\text{CDCl}_3$ , πεδίο συχνότητας 500,13 MHz (μέσο εκχύλισης falcon).

➤ Φάσματα NMR δείγματος 53

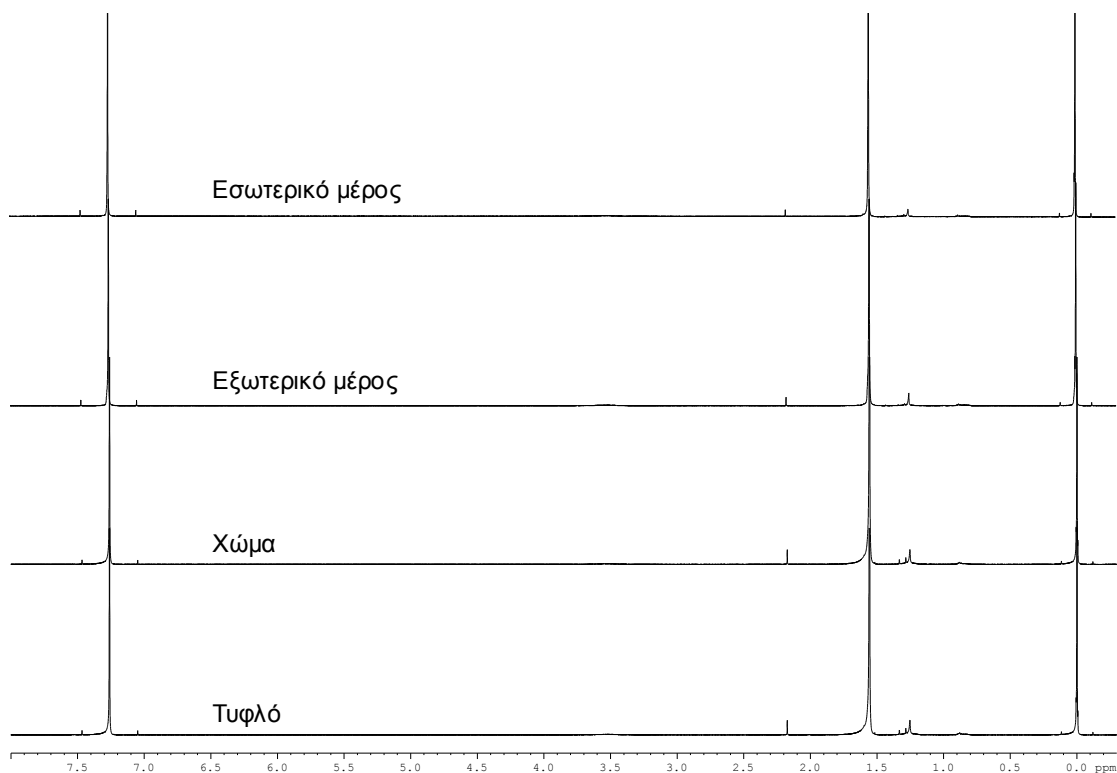


Σύγκριση φασμάτων  $^1\text{H}$  NMR του δείγματος 53, διαλύτης  $\text{CDCl}_3$ , πεδίο συχνότητας 500,13 MHz (μέσο εκχύλισης errendorf), σημείο δειγματοληψίας 1.



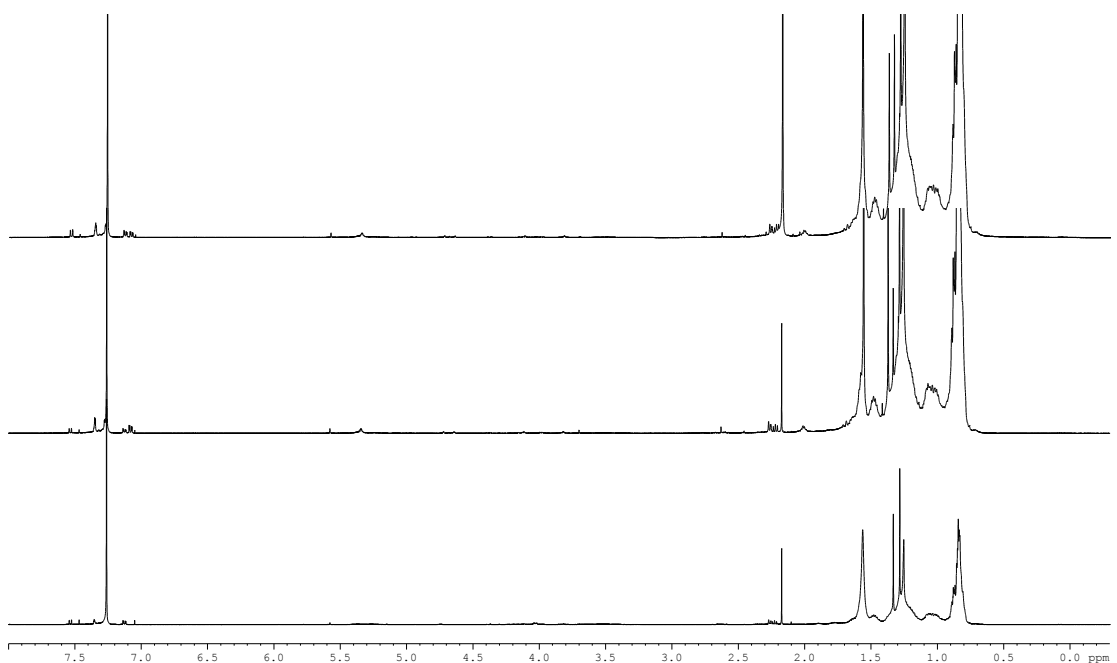
Σύγκριση φασμάτων  $^1\text{H}$  NMR του δείγματος 53, διαλύτης  $\text{CDCl}_3$ , πεδίο συχνότητας 500,13 MHz (μέσο εκχύλισης falcon), σημείο δειγματοληψίας 2.

➤ **Φάσματα NMR δείγματος 86**



Σύγκριση φασμάτων  $^1\text{H}$  NMR του δείγματος 53, διαλύτης  $\text{CDCl}_3$ , πεδίο συχνότητας 500,13 MHz (μέσο εκχύλισης γυάλινος δοκιμαστικός σωλήνας).

➤ **Φάσματα NMR δείγματος 77**



Σύγκριση φασμάτων  $^1\text{H}$  NMR του δείγματος 77, διαλύτης  $\text{CDCl}_3$ , πεδίο συχνότητας 500,13 MHz (μέσο εκχύλισης falcon).