

**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΚΡΗΤΗΣ
ΤΜΗΜΑ ΧΗΜΕΙΑΣ**

ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ

ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ
ΦΩΤΟΝΙΚΗΣ ΓΙΑ ΤΗΝ ΑΓΡΟΔΙΑΤΡΟΦΗ ΚΑΙ ΤΟ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝ
ΙΗΔΛ-ΙΤΕ



Μεταπτυχιακό Δίπλωμα Ειδίκευσης

«ΤΑΥΤΟΠΟΙΗΣΗ ΚΑΙ ΜΕΛΕΤΗ ΓΝΗΣΙΟΤΗΤΑΣ ΜΕΛΙΟΥ,
ΕΛΑΙΟΛΑΔΟΥ ΚΑΙ ΚΡΑΣΙΟΥ ΜΕ ΤΗΝ ΧΡΗΣΗ ΟΠΤΙΚΩΝ
ΦΑΣΜΑΤΟΣΚΟΠΙΚΩΝ ΤΕΧΝΙΚΩΝ ΣΕ ΣΥΝΔΥΑΣΜΟ ΜΕ
ΜΕΘΟΔΟΥΣ ΜΗΧΑΝΙΚΗΣ ΜΑΘΗΣΗΣ»

Ορφανάκης Εμμανουήλ

ΗΡΑΚΛΕΙΟ 2019

**UNIVERSITY OF CRETE
DEPARTMENT OF CHEMISTRY**

GENERAL POSTGRADUATE PROGRAM

LABORATORY
PHOTONICS FOR AGROFOOD AND ENVIRONMENT
IESL FORTH



Master Thesis

«IDENTIFICATION AND STUDY OF AUTHENTICITY OF
HONEY, OLIVE OIL AND WINE WITH THE USE OF
OPTICAL SPECTROSCOPIC TECHNIQUES WITH THE
COMBINATION OF MACHINE LEARNING METHODS»

Orfanakis Emmanouil

HERAKLION 2019

«Το πρώτο σου χρέος, εχτελώντας τη θητεία σου στη ράτσα, είναι να νιώσεις μέσα σου όλους τους προγόνους. Το δεύτερο, να φωτίσεις την ορμή τους και να συνεχίσεις το έργο τους. Το τρίτο σου χρέος, να παραδώσεις στο γιο τη μεγάλη εντολή να σε ξεπεράσει»
Νίκος Καζαντζάκης

Εξεταστική Επιτροπή

Δρ Βελεγράκης Μιχάλης (Συνεπιβλέπων)
Διευθυντής Ερευνών Ινστιτούτου Ηλεκτρονικής
Δομής και Λείζερ – ΙΤΕ

Χανιωτάκης Νικόλαος (Επιβλέπων)
Καθηγητής Πανεπιστημίου Κρήτης Τμήματος
Χημείας

Δρ Σαμαρτζής Πέτρος
Ερευνητής Β' Ινστιτούτου Ηλεκτρονικής Δομής και
Λείζερ – ΙΤΕ

Ευχαριστίες

Η παρούσα μεταπτυχιακή εργασία εκπονήθηκε στα πλαίσια του Γενικού Μεταπτυχιακού Προγράμματος του Τμήματος Χημείας στο εργαστήριο Φωτονικής για την Αγροδιατροφή και το Περιβάλλον του Ινστιτούτου Ηλεκτρονικής Δομής και Λείζερ στο Ίδρυμα Τεχνολογίας και Έρευνας από τον Σεπτέμβριο του 2017 έως και τον Νοέμβριο του 2019.

Η ολοκλήρωση μιας μεταπτυχιακής διατριβής ήταν για μένα ένας στόχος, τον οποίο πάλεψα να πετύχω όλο αυτό το διάστημα. Ένα όμορφο μεγάλο ταξίδι στο άγνωστο. Στο ταξίδι μου αυτό είχα συμμάχους και συνοδοιπόρους μου και φίλους. Από τη θέση αυτή, λοιπόν, θα ήθελα να ευχαριστήσω αρχικά τον κ. Μιχάλη Βελεγράκη τον πρώτο σύμμαχο μου σε αυτή την προσπάθεια. Αρχικά που μου έδωσε την ευκαιρία να ασχοληθώ με το συγκεκριμένο τομέα, για τον χρόνο που αφιέρωσε, την καθοδήγηση του καθ'όλη την διάρκεια αλλά και την εμπιστοσύνη του. Επίσης ιδιαίτερες ευχαριστίες στον Δρ. Φιλλιπίδη Αγγελο και στην Δρ. Κατερίνα Ζουμή που αμφότεροι αφιέρωσαν το χρόνο τους για το σχεδιασμό και την επίλυση οποιαδήποτε προβληματισμού μου. Οι συμβουλές τους κατά την διάρκεια ήταν απαραίτητες για την περάτωση της παρούσας διατριβής. Ένα ευχαριστώ επίσης και στον Δρ. Πέτρο Σαμαρτζη για την διάθεση του να βοηθήσει οποιαδήποτε στιγμή, την άμεση ανταπόκριση του στην συμμετοχή του στην τριμελή εξεταστική επιτροπή και για τον χρόνο που αφιέρωσε στη μελέτη του παρόντος κειμένου. Επίσης, οφείλω να ευχαριστήσω το κ. Χανιωτάκη Νικόλαο επιβλέπων καθηγητή και συνδεδετικό κρίκο με το Τμήμα Χημείας για την συμμετοχή και επίβλεψη του στη συγκεκριμένη μεταπτυχιακή διατριβή.

Φυσικά, θα ήθελα να ευχαριστήσω όλα τα μέλη του εργαστηρίου φωτονικής για την αγροδιατροφή και το περιβάλλον για το ευχάριστο και φιλικό περιβάλλον που μου πρόσφεραν σε όλη τη διάρκεια της εκπόνησης της μεταπτυχιακής μου διατριβής. Τέλος ένα ευχαριστώ στην οικογένεια μου και στους φίλους μου για την καθημερινή υποστήριξη τους και την πίστη τους σε μένα.

ΒΙΟΓΡΑΦΙΚΟ ΣΗΜΕΙΩΜΑ

ΠΡΟΣΩΠΙΚΑ ΣΤΟΙΧΕΙΑ

ΟΝΟΜΑΤΕΠΩΝΥΜΟ: Ορφανάκης Εμμανουήλ
ΔΙΕΥΘΥΝΣΗ: Πρακτικίδου 33, Ατσαλένιο 71306,
Ηράκλειο Κρήτης, Ελλάδα

ΗΜΕΡΟΜΗΝΙΑ ΓΕΝΝΗΣΗΣ: 25 Φεβρουαρίου 1994
ΣΤΟΙΧΕΙΑ ΕΠΙΚΟΙΝΩΝΙΑΣ: +30 6940512091, 2810322125
manolis.orfanak@gmail.com
morfankis@iesl.forth.gr

ΕΚΠΑΙΔΕΥΣΗ

09/2017- Σήμερα Πανεπιστήμιο Κρήτης, Τμήμα Χημείας,
Ηράκλειο Μεταπτυχιακό Δίπλωμα
Ειδίκευσης
στην Αναλυτική Χημεία
Μεταπτυχιακή Εργασία: «Ταυτοποίηση και
μελέτη γνησιότητας μελιού, ελαιολάδου και
κρασιού με την χρήση οπτικών
φασματοσκοπικών τεχνικών σε συνδυασμό
με μεθόδους μηχανικής μάθησης»
Υπεύθυνος καθηγητής: Βελεγράκης Μιχάλης
(Διευθυντής Ερευνών IESL-ITE)
Επιβλέπων καθηγητής: Χανιωτάκης
Νικόλαος (Τμήμα Χημείας, Πανεπιστήμιο
Κρήτης)

2015-2016 Πτυχιακή Εργασία: «Ομοιοπολική Σύνδεση
του Οξειδίου του Γραφενίου με τμήματα
Επιμεταλλωμένων Πορφυρινών
Παλλαδίου
και Λευκόχρυσου για την
Φωτοκαταλυτική Παραγωγή Υδρογόνου»
Υπεύθυνος καθηγητής: Εμμανουήλ Κυμάκης
(Τμήμα Ηλεκτρολόγων Μηχανικών ,
ΕΛ.ΜΕ.ΠΑ)
Επιβλέπων καθηγητής: Αθανάσιος Γ.
Κουτσολέλος (Τμήμα Χημείας, Πανεπιστήμιο
Κρήτης)

07-09/ 2016 Πρακτική Άσκηση: «Σύνθεση και
Χαρακτηρισμός Υλικών για Οργανικές
Φωτοβολταϊκές Διατάξεις»
Υπεύθυνος καθηγητής: Εμμανουήλ Κυμάκης
(Τμήμα Ηλεκτρολόγων Μηχανικών ,
ΕΛ.ΜΕ.ΠΑ)

9/2012-3/2017 Πανεπιστήμιο Κρήτης, Τμήμα Χημείας,
Ηράκλειο, Πτυχίο Χημείας

ΕΚΠΑΙΔΕΥΤΙΚΗ ΕΜΠΕΙΡΙΑ

10/2018 – 1/2019	Βοηθός στα προπτυχιακά εργαστήρια Γενικής Χημείας, Πανεπιστήμιο Κρήτης, Τμήμα Χημείας
2 /2018 – 5/2018	Βοηθός στα προπτυχιακά εργαστήρια Πληροφορικής, Πανεπιστήμιο Κρήτης, Τμήμα Χημείας

ΠΡΟΣΘΕΤΕΣ ΠΛΗΡΟΦΟΡΙΕΣ

Γλωσσικές δεξιότητες	Αγγλική: FCE- Michigan & Edexcel -Ικανότητα ανάγνωσης άριστη -Ικανότητα ομιλίας άριστη -Ικανότητα γραφής άριστη
Δεξιότητες Η/Υ	Microsoft Windows Office (Word, Excel, PowerPoint), Matlab (Experience in Data Processing), Origin, LabView

ΠΑΡΟΥΣΙΑΣΕΙΣ ΣΕ ΣΥΝΕΔΡΙΑ (POSTER & ΟΜΙΛΙΕΣ)

Poster

- A. Afentaki, C. Podara, **Manos Orfanakis** , N. Fragkoulis, R. Kontzedaki, Giorgos Stavrakakis, G. Sofra-Karanti, S. Mavrakaki, K. Stamataki , K. Zoumi, A. Filippidis, P. Siozos, M. Velegrakis and P. Samartzis, “Adulteration Detection in Fuels: First Results”, 12th Scientific FORTH Retreat, FORTH/ICE-HT, 14-16 Οκτωβρίου 2019, Πάτρα, Ελλάδα.
- **M. Orfanakis** , N. Fragkoulis, R.Kontzedaki , G. Stavrakakis, G. Sofra-Karanti, S. Mavrakaki, K. Stamataki , A. Zoumi , A. Filippidis , P. Siozos, P.Samartzis and M. Velegrakis, “Photonics applications in Agrofoods”, 12th Scientific FORTH Retreat, FORTH/ICE-HT, 14-16 Οκτωβρίου 2019, Πάτρα, Ελλάδα.
- R. Kontzedaki, G. Stavrakakis, G. Sofra-Karanti, **E. Orfanakis**, N. Fragkoulis, A. Filippidis, S. Mavrakaki, A. Stamataki, M. Velegrakis, “Spectroscopic Analysis of Greek Extra Virgin Olive Oil: Origin Discrimination and Adulteration Studies”, 11th International Conference on Instrumental Methods of Analysis-Modern Trends and Applications" (IMA2019), 22-25 Σεπτεμβρίου 2019, Ιωάννινα, Ελλάδα.
- N. Fragkoulis, **E. Orfanakis**, M. Markoulidakis, A. Symianaki, A. Zoumi, M. Velegrakis, “ Greek Honey and Milk Spectroscopic Analysis: Botanical Classification, Origin Discrimination and Adulteration Studies”, 11th International Conference on Instrumental Methods of Analysis-Modern Trends and Applications" (IMA2019), 22-25 Σεπτεμβρίου 2019, Ιωάννινα, Ελλάδα.

- N. Fragkoulis, **M. Orfanakis**, R. Kontzedaki, G. Stavrakakis, K. Simianaki, T. Tilaki, M. Poulakis, A. Philippidis, M. Velegrakis. "Optical Spectroscopic Techniques in the Classification and Quality Control of AgroFoods " , 11th Aegean Analytical Chemical Days, 25-29 Σεπτεμβρίου 2018, Χανιά Κρήτης, Ελλάδα.
- **M. Orfanakis**, N. Fragkoulis, R. Kontzedaki, Gi. Stavrakakis, K. Simianaki, A. Philippidis, M. Velegrakis , "Analysis of Greek Extra Virgin Olive Oil by Spectroscopic Methods: Quality Control, Classification and Adulteration Studies", 11th Aegean Analytical Chemical Days, 25-29 Σεπτεμβρίου 2018, Χανιά Κρήτης, Ελλάδα.
- Τυλάκη Γ., **Ορφανάκης Ε.**, Βελεγράκης Α., Βελεγράκης Μ., "Διερεύνηση Λευκών και Ερυθρών Δειγμάτων Οίνου με Φασματοσκοπία UV-Vis και Φθορισμού και Εφαρμογή Στατιστικών Μεθόδων PCA και PLS-DA", 20^ο Συνέδριο Μεταπτυχιακών Φοιτητών Χημείας, Τμήμα Χημείας, 25-27 Ιουνίου 2018, Πανεπιστήμιο Κρήτης, Ηράκλειο Κρήτης, Ελλάδα.

Ομιλίες

- **E. Orfanakis**, N. Fragkoulis, R. Kontzedaki, A. Filippidis, A. Zoumi, M. Velegrakis, "Optical Spectroscopic Techniques for the Classification and Quality Control of AgroFoods " , , 11th International Conference on Instrumental Methods of Analysis-Modern Trends and Applications" (IMA2019), 22-25 Σεπτεμβρίου 2019, Ιωάννινα, Ελλάδα.

ΣΥΝΕΔΡΙΑ

- 12th Scientific FORTH Retreat, FORTH/ICE-HT, 14-16 Οκτωβρίου 2019, Πάτρα, Ελλάδα
- 11th International Conference on Instrumental Methods of Analysis-Modern Trends and Applications" (IMA2019), 22-25 Σεπτεμβρίου 2019, Ιωάννινα, Ελλάδα.
- 21^ο Συνεδρίου Μεταπτυχιακών Φοιτητών Χημείας, Τμήμα Χημείας, 15-17 Μαΐου 2019, Πανεπιστήμιο Κρήτης, Ηράκλειο Κρήτης, Ελλάδα.
- 11th Aegean Analytical Chemical Days, 25-29 Σεπτεμβρίου 2018, Χανιά Κρήτης, Ελλάδα.
- 20^ο Συνέδριο Μεταπτυχιακών Φοιτητών Χημείας, Τμήμα Χημείας, 25-27 Ιουνίου 2018, Πανεπιστήμιο Κρήτης, Ηράκλειο Κρήτης, Ελλάδα.
- 10th International Conference on Instrumental Methods of Analysis: Modern Trends and Applications (IMA-2017), 17-21 Σεπτεμβρίου 2017, Ηράκλειο, Ελλάδα.

ΔΙΑΚΡΙΣΕΙΣ

- Βραβείο "Best Oral Presentation Award", στην ομιλία με τίτλο "Optical Spectroscopic Techniques for the Classification and Quality Control of

AgroFoods ” , 11th International Conference on Instrumental Methods of Analysis-Modern Trends and Applications" (IMA2019), 22-25 Σεπτεμβρίου 2019, Ιωάννινα, Ελλάδα.

- Βραβείο καλύτερου poster με τίτλο “Analysis of Greek Extra Virgin Olive Oil by Spectroscopic Methods: Quality Control, Classification and Adulteration Studies”, 11th Aegean Analytical Chemical Days, 25-29 Σεπτεμβρίου 2018, Χανιά Κρήτης, Ελλάδα.

ΟΡΓΑΝΩΤΙΚΕΣ & ΕΠΙΚΟΙΝΩΝΙΑΚΕΣ ΔΕΞΙΟΤΗΤΕΣ

Διοργάνωση του 21^{ου} Συνεδρίου Μεταπτυχιακών Φοιτητών Χημείας και της Ημερίδας Επαγγελματικής Απασχόλησης Χημικών.

CURRICULUM VITAE

PERSONAL INFORMATION

FULL NAME: Orfanakis Emmanouil
ADDRESS: Praktikidou 33, Atsalenio 71306,
Heraklion, Crete, Greece

BIRTH DATE: 25 February 1994
CONTACT INFORMATION: +30 6940512091, 2810322125
manolis.orfanak@gmail.com
morfanakis@iesl.forth.gr

EDUCATION

09/2017- Today University of Crete, Department of Chemistry,
Heraklion, Master of Science in Analytical
Chemistry
Master Thesis: «Identification and study of
authenticity of honey, olive oil and wine with
the use of optical spectroscopic techniques
with the combination of machine learning
methods»
Supervisors: Velegrakis Michalis (Research
Director IESL-FORTH), Prof. Chaniotakis
Nikolaos (Department of Chemistry, University
of Crete)

2015-2016 **Graduate Thesis:** «Covalent bonding of
Graphene Oxide with Palladium and Platinum
metallated porphyrins for Photosensitized
Hydrogen Production »
Supervisors: Kimakis Emmanouil
(Department
Of Electrical and Computer Engineering
Hellenic Mediterranean University), Prof.
Athanasios G. Coutsolelos (Department of
Chemistry, University of Crete)

07-09/ 2016 **Practise:** «Synthesis and Characterization of
Materials for Organic Solar Cells»
Supervisors: Kimakis Emmanouil
(Department
Of Electrical and Computer Engineering
Hellenic Mediterranean University)

9/2012-3/2017 University of Crete, Department of Chemistry,
Heraklion, Bachelor in Chemistry

6/2012 High School Graduate

TEACHING EXPERIENCE

10/2018 – 1/2019	Laboratory Assistant in Student practice Laboratory Of General Chemistry, University of Crete, Department of Chemistry, Heraklion, Greece
2 /2018 – 5/2018	Laboratory Assistant in Student practice Laboratory Of Introduction to Computer Science, University of Crete, Department of Chemistry, Heraklion, Greece

ADDITIONAL INFORMATION

Languages	English: FCE- Michigan & Edexcel -Reading skills excellent -Speech skills excellent -Writing skills excellent
Computer Skills	Microsoft Windows Office (Word, Excel, PowerPoint),Matlab (Experience in Data Processing), Origin, LabView

POSTER & ORAL PRESENTATIONS

Poster Presentations

- A. Afentaki, C. Podara, **Manos Orfanakis** , N. Fragkoulis, R. Kontzedaki, Giorgos Stavrakakis, G. Sofra-Karanti, S. Mavrakaki, K. Stamataki , K. Zoumi, A. Filippidis, P. Siozos, M. Velegrakis and P. Samartzis, “Adulteration Detection in Fuels: First Results”, 12th Scientific FORTH Retreat, FORTH/ICE-HT, 14-16 October 2019, Patras, Greece.
- **M. Orfanakis** , N. Fragkoulis, R.Kontzedaki , G. Stavrakakis, G. Sofra-Karanti, S. Mavrakaki, K. Stamataki , A. Zoumi , A. Filippidis , P. Siozos, P.Samartzis and M. Velegrakis, “Photonics applications in Agrofoods”, 12th Scientific FORTH Retreat, FORTH/ICE-HT, 14-16 October 2019, Patras, Greece.
- R. Kontzedaki, G. Stavrakakis, G. Sofra-Karanti, **E. Orfanakis**, N. Fragkoulis, A. Filippidis, S. Mavrakaki, A. Stamataki, M. Velegrakis, “Spectroscopic

Analysis of Greek Extra Virgin Olive Oil: Origin Discrimination and Adulteration Studies”, 11th International Conference on Instrumental Methods of Analysis-Modern Trends and Applications” (IMA2019), 22-25 September 2019, Ioannina, Greece.

- N. Fragkoulis, **E. Orfanakis**, M. Markoulidakis, A. Symianaki, A. Zoumi, M. Velegrakis, “ Greek Honey and Milk Spectroscopic Analysis: Botanical Classification, Origin Discrimination and Adulteration Studies”, 11th International Conference on Instrumental Methods of Analysis-Modern Trends and Applications” (IMA2019), 22-25 September 2019, Ioannina, Greece.
- N. Fragkoulis, **M. Orfanakis**, R. Kontzedaki, G. Stavrakakis, K. Simianaki, T. Tilaki, M. Poulakis, A. Philippidis, M. Velegrakis. “Optical Spectroscopic Techniques in the Classification and Quality Control of AgroFoods ” , 11th Aegean Analytical Chemical Days, 25-29 September 2018, Chania, Crete, Greece.
- **M. Orfanakis**, N. Fragkoulis, R. Kontzedaki, Gi. Stavrakakis, K. Simianaki, A. Philippidis, M. Velegrakis ,“Analysis of Greek Extra Virgin Olive Oil by Spectroscopic Methods: Quality Control, Classification and Adulteration Studies”, 11th Aegean Analytical Chemical Days, 25-29 September 2018, Chania, Crete, Greece.
- Τυλάκη Γ., **Ορφανάκης Ε.**, Βελεγράκης Α., Βελεγράκης Μ., “Διερεύνηση Λευκών και Ερυθρών Δειγμάτων Οίνου με Φασματοσκοπία UV-Vis και Φθορισμού και Εφαρμογή Στατιστικών Μεθόδων PCA και PLS-DA”, 20th Postgraduates’ Conference on Chemistry, Campus of the University of Crete, 25-27 June 2018, Heraklion, Greece.

Oral Presentations

- **E. Orfanakis**, N. Fragkoulis, R. Kontzedaki, A. Filippidis, A. Zoumi, M. Velegrakis, “Optical Spectroscopic Techniques for the Classification and Quality Control of AgroFoods ” , ”, 11th International Conference on Instrumental Methods of Analysis-Modern Trends and Applications” (IMA2019), 22-25 September 2019, Ioannina, Greece.

CONFERENCES

- 12th Scientific FORTH Retreat, FORTH/ICE-HT, 14-16 October 2019, Patras, Greece.
- 11th International Conference on Instrumental Methods of Analysis-Modern Trends and Applications” (IMA2019), 22-25 September 2019, Ioannina, Greece.

- 21st Postgraduates' Conference on Chemistry, Campus of the University of Crete, 15-17 May 2019, Heraklion, Greece.
- 11th Aegean Analytical Chemical Days, 25-29 September 2018, Chania, Crete, Greece.
- 20th Postgraduates' Conference on Chemistry, Campus of the University of Crete, 25-27 June 2018, Heraklion, Greece.
- 10th International Conference on Instrumental Methods of Analysis: Modern Trends and Applications (IMA-2017), 17-21 September 2017, Heraklion, Greece.

AWARDS

- Best Oral Presentation Award entitled "Optical Spectroscopic Techniques for the Classification and Quality Control of AgroFoods " , 11th International Conference on Instrumental Methods of Analysis-Modern Trends and Applications" (IMA2019), 22-25 September 2019, Ioannina, Greece.
- Best poster award entitled "Analysis of Greek Extra Virgin Olive Oil by Spectroscopic Methods: Quality Control, Classification and Adulteration Studies", 11th Aegean Analytical Chemical Days, 25-29 September 2018, Chania, Crete, Greece.

ORGANIZING & COMMUNICATION SKILLS

Organizing the 21st Postgraduates Conference on Chemistry.

Περίληψη

Η ταυτοποίηση και η μελέτη γνησιότητας αγροδιατροφικών προϊόντων αποτελεί μια ανάγκη που εστιάζει το ενδιαφέρον τόσο του ευρύ κοινού όσο και των παραγωγών. Αγροδιατροφικά προϊόντα υψηλής προστιθέμενης αξίας όπως το κρασί, το ελαιόλαδο και μέλι αποτελούν το επίκεντρο καθώς είναι αντικείμενο νοθείας ως προς την γεωγραφική και βοτανική προέλευση τους.

Για την διασφάλιση των ποιοτικών χαρακτηριστικών των προϊόντων και του έλεγχου προέλευσης εφαρμόζονται κλασικές αναλυτικές τεχνικές που είναι ακριβείς και χρονοβόρες. Στην συγκεκριμένη μελέτη πραγματοποιείται εφαρμογή φασματοσκοπικών τεχνικών απορρόφησης, φθορισμού και Raman όπου γίνεται μια συστηματική προσπάθεια καταγραφής των οπτικών φασμάτων ως χαρακτηριστικών "αποτυπωμάτων" το οποίο αντικατοπτρίζει την χημική σύσταση των αγροδιατροφικών προϊόντων. Τα οπτικά δεδομένα χρησιμοποιήθηκαν σε συνδυασμό με μοντέλα μηχανικής μάθησης για τον προσδιορισμό της βοτανικής προέλευσης κρασιού προερχόμενου από διαφορετικά οινοποιεία και ποικιλίες, την βοτανική προέλευση μελιών προερχόμενου από άνθη, θυμάρι και πεύκο και γεωγραφικής προέλευσης ελαιολάδου από τις περιοχές της Πελοποννήσου, Κρήτης και Λέσβου. Τα μοντέλα που κατασκευάστηκαν με τις μεθοδολογίες ανάλυσης κύριων συνιστωσών (PCA), ανάλυση μερικών ελαχίστων τετραγώνων (PLS), ανάλυση διακριτότητας μερικών ελαχίστων τετραγώνων (PLS-DA) ήταν ικανά να διακρίνουν την βοτανική προέλευση των δειγμάτων κρασιού και μελιού και την γεωγραφική προέλευση δειγμάτων ελαιολάδων με μεγάλα ποσοστά επιτυχίας αποδεικνύοντας την δυνατότητα εφαρμογής φασματοσκοπικών τεχνικών σε αυτό το πεδίο.

Λέξεις κλειδιά: κρασί, ελαιόλαδο, μέλι, βοτανική προέλευση, γεωγραφική προέλευση, φασματοσκοπία απορρόφησης, φασματοσκοπία φθορισμού, φασματοσκοπία Raman, ανάλυσης κύριων συνιστωσών, PCA, ανάλυση διακριτότητας μερικών ελαχίστων τετραγώνων, PLS-DA, ανάλυση μερικών ελαχίστων τετραγώνων, PLS

Abstract

The identification and study of authenticity of agri-food products is a need that focuses on the interest of both the general public and producers. High value-added agri-food products such as wine, olive oil and honey are at the heart of this field as their geographical and botanical origin can be falsified.

Classic analytical techniques that are applied to ensure the products quality and origin are accurate but time consuming. This study uses spectroscopic absorption, fluorescence and Raman techniques to systematically record optical spectra as characteristic "fingerprints" reflecting the chemical composition of agri-food products. The optical data were used in combination with machine learning models to determine the botanical origin of wine from different wineries and varieties, the botanical origin of honey derived from flowers, thyme and pine trees and the geographical origin of olive oil manufactured in Peloponnese, Crete and Lesvos. Models built by Principal Component Analysis (PCA), partial least squares (PLS), partial least squares discriminant analysis (PLS-DA) methodologies, were capable of distinguishing the botanical origin of the wine and honey samples and the geographical origin of the olive oil samples with high success rates, demonstrating the applicability of spectroscopic techniques in this field.

Keywords: wine, olive oil, honey, botanical origin, geographical origin, absorption spectroscopy, fluorescence spectroscopy, Raman spectroscopy, principal component analysis, PCA, partial least squares discriminant analysis, PLS-DA, partial least squares analysis, PLS

Περιεχόμενα

Κεφάλαιο 1: Εισαγωγή	20
1.1 Θεωρητικό υπόβαθρο.....	21
1.1.1 Ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία	21
1.1.2 Φασματοσκοπία Υπεριώδους-Ορατού.....	21
1.1.3 Φασματοσκοπία υπερύθρου με μετασχηματισμό Fourier (Fourier Transform Infra-Red, FT-IR)	25
1.1.4 Φασματοσκοπία Raman.....	28
1.1.5 Φασματοσκοπία Φθορισμού	30
1.2 Οργανολογία.....	33
1.2.1 Οργανολογία φασματοσκοπίας απορρόφησης.....	33
1.2.2 Οργανολογία φασματοσκοπίας φθορισμού	34
1.2.3 Οργανολογία φασματοσκοπίας υπερύθρου με μετασχηματισμό Fourier ..	35
1.2.4 Οργανολογία φασματοσκοπίας Raman	35
1.3 Μηχανική Μάθηση	36
1.3.1 Ορισμός & Κατηγορίες Μηχανικής Μάθησης	37
1.3.2 Μη επιβλεπόμενη Μάθηση.....	38
1.3.3 Επιβλεπόμενη Μάθηση.....	39
1.3.4 Διασταυρούμενη επικύρωση μοντέλων.....	40
1.3.5 Προ-επεξεργασία δεδομένων	41
1.3.6 Λογισμικά και Επεξεργασία Φασματοσκοπικών Δεδομένων	41
Βιβλιογραφία.....	42
Κεφάλαιο 2: Οίνος.....	44
2.1 Οίνος και διάφορες κατηγορίες	45
2.2 Χημική σύσταση οίνου.....	47
2.2.1 Σάκχαρα	47
2.2.2 Αλκοόλες	48
2.2.3 Οργανικά οξέα.....	48
2.2.4 Αζωτούχες ενώσεις.....	49
2.2.5 Φαινολικές ενώσεις.....	49
2.3 Διαχωρισμός οίνων βάση της βοτανικής τους προέλευσης	51
2.3.1 Πειραματικό μέρος.....	52
2.3.2 Διαχωρισμός οίνων βάση της βοτανικής τους προέλευσης με Φασματοσκοπία Απορρόφησης Υπεριώδους.....	54
2.3.3 Διαχωρισμός οίνων βάση της βοτανικής τους προέλευσης με Φασματοσκοπία Απορρόφησης Υπέρυθρου.....	57

2.3.4 Διαχωρισμός οίνων βάση της βοτανικής τους προέλευσης με Φασματοσκοπία Φθορισμού	59
Βιβλιογραφία.....	63
Κεφάλαιο 3: Ελαιόλαδο.....	65
3.1 Ελαιόλαδο και τύποι ελαιολάδου	66
3.2 Χημική σύσταση ελαιολάδου	68
3.3 Γεωγραφική ταξινόμηση ελαιολάδου.....	71
3.3.1 Πειραματικό μέρος	72
3.3.2 Γεωγραφική ταξινόμηση ελαιολάδου με φασματοσκοπία απορρόφησης υπεριώδους (220-280 nm)	77
3.3.3 Γεωγραφική ταξινόμηση ελαιολάδου με φασματοσκοπία απορρόφησης υπεριώδους (260-410 nm)	79
3.3.4 Γεωγραφική ταξινόμηση ελαιολάδου με φασματοσκοπία απορρόφησης ορατού (400-800nm)	81
3.3.5 Γεωγραφική ταξινόμηση ελαιολάδου με φασματοσκοπία απορρόφησης υπερύθρου (800-1600nm).....	84
3.3.6 Γεωγραφική ταξινόμηση ελαιολάδου με φασματοσκοπία απορρόφησης υπερύθρου (1800-2200nm).....	86
3.3.7 Γεωγραφική ταξινόμηση ελαιολάδου με φασματοσκοπία φθορισμού	88
3.3.8 Γεωγραφική ταξινόμηση ελαιολάδου με φασματοσκοπία Raman.....	91
3.4 Διαχωρισμός ελαιολάδου Πελοποννήσου	93
3.4.1 Διαχωρισμός ελαιολάδου Πελοποννήσου με φασματοσκοπία απορρόφησης ορατού (400-800 nm).....	93
3.4.2 Διαχωρισμός ελαιολάδου Πελοποννήσου με φασματοσκοπία απορρόφησης υπερύθρου (800-1600 nm)	94
3.4.3 Διαχωρισμός ελαιολάδου Πελοποννήσου με φασματοσκοπία απορρόφησης υπερύθρου (1800-2200 nm)	96
3.4.4 Διαχωρισμός ελαιολάδου Πελοποννήσου με φασματοσκοπία φθορισμού	97
3.4.5 Διαχωρισμός ελαιολάδου Πελοποννήσου με φασματοσκοπία Raman	99
3.5 Διαχωρισμός ελαιολάδου Κρήτης.....	101
3.5.1 Διαχωρισμός ελαιολάδου Κρήτης με φασματοσκοπία φθορισμού.....	101
3.5.2 Διαχωρισμός ελαιολάδου Κρήτης με φασματοσκοπία Raman	103
3.6 Διάκριση ελαιολάδου Λέσβου.....	105
3.6.1 Διάκριση ελαιολάδου Λέσβου με φασματοσκοπία απορρόφησης υπεριώδους (220-280 nm)	106
3.6.2 Διάκριση ελαιολάδου Λέσβου με φασματοσκοπία απορρόφησης υπεριώδους (260-410 nm)	107
3.6.3 Διάκριση ελαιολάδου Λέσβου με φασματοσκοπία απορρόφησης ορατού (400-800 nm).....	108

3.6.4 Διάκριση ελαιολάδου Λέσβου με φασματοσκοπία φθορισμού	110
Βιβλιογραφία.....	112
Κεφάλαιο 4: Μέλι.....	116
4.1 Ορισμός και κατηγορίες μελιού	117
4.2 Χημική σύσταση μελιού.....	118
4.3 Διαχωρισμός Βοτανικής Προέλευσης Μελιού	126
4.3.1 Πειραματικό μέρος.....	127
4.4 Διαχωρισμός Βοτανικής Προέλευσης Ανθέων- Μελιτωμάτων	132
4.4.1 Διαχωρισμός Βοτανικής Προέλευσης Ανθέων- Μελιτωμάτων με Φασματοσκοπία απορρόφησης (200-500nm).....	132
4.4.2 Διαχωρισμός Βοτανικής Προέλευσης Ανθέων- Μελιτωμάτων με Φασματοσκοπία απορρόφησης (200-2400nm)	134
4.4.3 Διαχωρισμός Βοτανικής Προέλευσης Ανθέων- Μελιτωμάτων με Φασματοσκοπία ATR-FT-IR	140
4.4.4 Διαχωρισμός Βοτανικής Προέλευσης Ανθέων- Μελιτωμάτων με Φασματοσκοπία φθορισμού.....	144
4.5 Διαχωρισμός Βοτανικής Προέλευσης Άνθη- Θυμαρί.....	146
4.5.1 Διαχωρισμός Βοτανικής Προέλευσης Άνθη- Θυμαρί με Φασματοσκοπία απορρόφησης (200-500nm).....	147
4.5.2 Διαχωρισμός Βοτανικής Προέλευσης Άνθη- Θυμαρί με Φασματοσκοπία απορρόφησης (200-2400nm)	149
4.5.3 Διαχωρισμός Βοτανικής Προέλευσης Άνθη- Θυμαρί με Φασματοσκοπία ATR-FT-IR	153
4.5.4 Διαχωρισμός Βοτανικής Προέλευσης Άνθη- Θυμαρί με Φασματοσκοπία φθορισμού.....	159
4.6 Διαχωρισμός Βοτανικής Προέλευσης Θυμαρί-Πεύκο	160
4.6.1 Διαχωρισμός Βοτανικής Προέλευσης Θυμαρί-Πεύκο με Φασματοσκοπία απορρόφησης (200-500nm).....	161
4.6.2 Διαχωρισμός Βοτανικής Προέλευσης Θυμαρί-Πεύκο με Φασματοσκοπία απορρόφησης (200-2400nm)	163
4.6.3 Διαχωρισμός Βοτανικής Προέλευσης Θυμαρί-Πεύκο με Φασματοσκοπία ATR-FT-IR	169
4.6.4 Διαχωρισμός Βοτανικής Προέλευσης Θυμαρί-Πεύκο με Φασματοσκοπία φθορισμού.....	173
4.7 Συσχέτιση φασματοσκοπικών δεδομένων απορρόφησης με άλλες μεθόδους	174
4.7.1 Συσχέτιση φασματοσκοπικών δεδομένων απορρόφησης με την ηλεκτρική αγωγιμότητα	174
4.7.2 Συσχέτιση Φασματοσκοπικών δεδομένων απορρόφησης με τον δείκτη HMF	176

Βιβλιογραφία.....	178
Κεφάλαιο 5: Συμπεράσματα.....	184

Κεφάλαιο 1: Εισαγωγή

1.1 Θεωρητικό υπόβαθρο

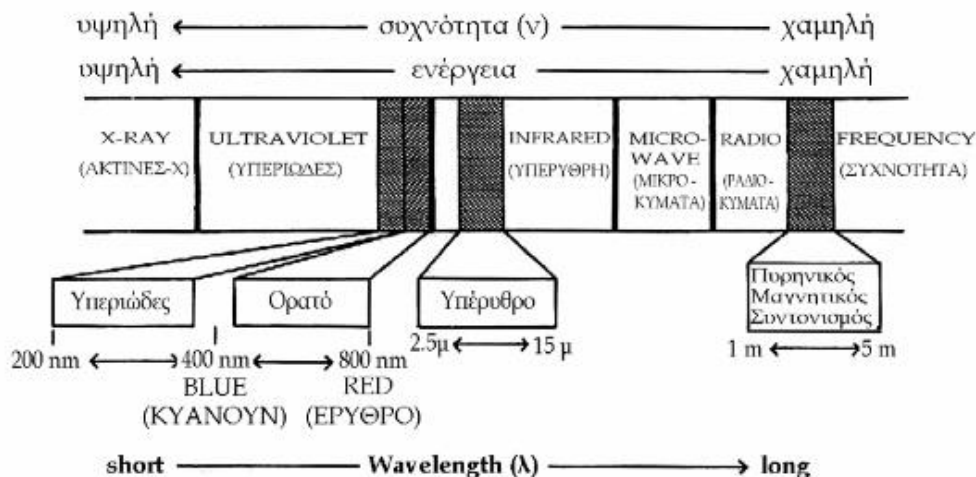
1.1.1 Ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία

Η φύση της ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας είναι τόσο κυματική όσο και σωματιδιακή. Σύμφωνα με την κυματική της φύση, αποτελείται από κύματα ηλεκτρικού και μαγνητικού πεδίου^[1]. Η ταχύτητα διάδοσης των κυμάτων αυτών είναι ίση με $c=3 \times 10^8 \text{ m/s}$ (ταχύτητα του φωτός), ενώ η συχνότητα τους καθορίζει την ενέργεια την οποία μεταφέρουν. Σύμφωνα με τη σωματιδιακή της φύση, η ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία συνίσταται από φωτόνια και η ενέργεια τους υπολογίζεται από τη σχέση:

$$E=h \cdot \nu$$

όπου h σταθερά του Planck και ισχύει ότι $h=6.626 \cdot 10^{-34} \text{ J} \cdot \text{s}$.

Το εύρος της περιοχής συχνοτήτων που καλύπτουν τα ηλεκτρομαγνητικά κύματα ονομάζεται ηλεκτρομαγνητικό φάσμα. Το ηλεκτρομαγνητικό φάσμα θεωρητικά εκτείνεται από σχεδόν μηδενικές συχνότητες έως το άπειρο. Επιπλέον, χωρίζεται σε επιμέρους ζώνες με βάση κάποιες χαρακτηριστικές ιδιότητες των ηλεκτρομαγνητικών κυμάτων. Οι ζώνες αυτές είναι τα ραδιοκύματα, τα μικροκύματα, η υπέρυθρη ακτινοβολία, η ορατή ακτινοβολία (φως), η υπεριώδης ακτινοβολία, οι ακτίνες X και οι ακτίνες γ. (Εικόνα 1.1)



Εικόνα 1.1: Όλα τα είδη της ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας (ορατό φως, μικροκύματα, ραδιοκύματα) συγκροτούν το ηλεκτρομαγνητικό φάσμα, που υποδιαιρείται στις διάφορες επιμέρους περιοχές^[2].

Η φασματοσκοπία έχει ως αντικείμενο μελέτης την αλληλεπίδραση της ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας με την ύλη. Οι διάφοροι τύποι φασματοσκοπίας χρησιμοποιούν σχεδόν όλες τις περιοχές του ηλεκτρομαγνητικού φάσματος και συνδέονται με διεργασίες διαφορετικού ενεργειακού περιεχομένου που λαμβάνουν χώρα στην ύλη (άτομα, μόρια, υλικά).

1.1.2 Φασματοσκοπία Υπεριώδους-Ορατού

Τα φάσματα των μορίων στην υπεριώδη και ορατή περιοχή σχετίζονται με τις μεταπτώσεις, μεταξύ ηλεκτρονιακών ενεργειακών σταθμών, ορισμένων ατομικών ειδών ή ομάδων ατόμων μέσα στο μόριο και δεν χαρακτηρίζουν το μόριο σαν σύνολο. Οι μοριακές δονήσεις και περιστροφές προκαλούνται από την απορρόφηση ακτινοβολίας στην υπέρυθη περιοχή, ενώ αντίθετα οι ηλεκτρονιακές δονήσεις και περιστροφές προκαλούνται από την απορρόφηση ακτινοβολίας στην υπεριώδη περιοχή, η οποία συνδέεται με πολύ μεγαλύτερες ενέργειες. Οι χρωμοφόρες ομάδες, είναι συνήθως ακόρεστες ομάδες και ετεροάτομα με μονήρη ηλεκτρόνια, ανήκουν στις ομάδες ατόμων που είναι υπεύθυνες για την απορρόφηση στην περιοχή αυτή.

Όταν μια λεπτή μονοχρωματική δέσμη ακτινοβολίας, εντάσεως I_0 προσπίπτει κάθετα στα τοιχώματα μιας κυψελίδας μήκους b , στην οποία υπάρχει διάλυμα ουσίας με μοριακή συγκέντρωση C , τότε ένα μέρος της ακτινοβολίας απορροφάται από το διάλυμα και η εξερχόμενη ακτινοβολία έχει ένταση I , που δίνεται από τον τύπο:

$$I = I_0 \cdot 10^{-\epsilon b C}$$

Η σχέση αυτή, φανερώνει ότι το ποσό της ακτινοβολίας που απορροφάται ή διαπερνά ένα διάλυμα μιας ουσίας, είναι γνωστή ως νόμος των Beer-Lambert^[3], και είναι εκθετική συνάρτηση της συγκέντρωσης C της ουσίας και του μήκους της διαδρομής της ακτινοβολίας b μέσα από το διάλυμα.

Ο νόμος αυτός αποτελεί την βάση της μεθόδου της φασματοφωτομετρίας υπεριώδους-ορατού. Ισχύουν επίσης οι σχέσεις:

$$T = I / I_0$$

$$A = \epsilon \cdot b \cdot C$$

Όπου T και A η διαπερατότητα του διαλύματος και η απορρόφηση του διαλύματος αντίστοιχα.

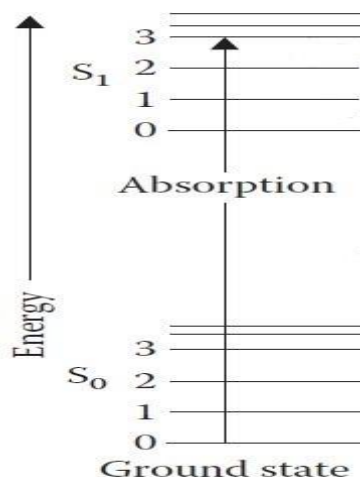
Οπότε :

$$A = \epsilon \cdot b \cdot C = \log(I_0 / I) = -\log T$$

Ο συντελεστής ϵ ονομάζεται μοριακός συντελεστής απόσβεσης, εκφράζεται σε $\text{lit mole}^{-1} \text{cm}^{-1}$ και εξαρτάται από το μήκος κύματος της ακτινοβολίας λ . Η απορρόφηση και η διαπερατότητα των διαλυμάτων μετρούνται με τα φασματοφωτόμετρα υπεριώδους-ορατού.

Το φάσμα απορρόφησης της ουσίας στο διάλυμα αποτελείται από την γραφική παράσταση της απορρόφησης ενός διαλύματος σε συνάρτηση με το μήκος κύματος, λ , της προσπίπτουσας ακτινοβολίας στο διάλυμα. Το μήκος κύματος στο οποίο η ουσία παρουσιάζει τη μέγιστη απορρόφηση, λέγεται λ_{\max} και ο μοριακός συντελεστής απόσβεσης ϵ_{\max} . Τα ηλεκτρονικά φάσματα των μορίων παρατηρούνται στην περιοχή μήκους κύματος από 100 έως 800 nm του ηλεκτρομαγνητικού φάσματος. Η περιοχή αυτή χωρίζεται επιπλέον στην ορατή περιοχή (400-800 nm), στην εγγύς υπεριώδη (200-400 nm), και στην άπω υπεριώδη ή υπεριώδη κενού (1-200 nm). Είτε σε στερεά μορφή ή σε διάλυμα οι χημικές ουσίες απορροφούν ακτινοβολίες συγκεκριμένου μήκους κύματος, αφήνοντας με αυτόν τον τρόπο τις υπόλοιπες ακτινοβολίες να περάσουν αμετάβλητες. Το σύνολο των διερχομένων ακτινοβολιών συνιστά ένα χρώμα, που είναι το συμπληρωματικό του χρώματος των ακτινοβολιών που απορροφούνται. Τα φάσματα μοριακής απορρόφησης είναι ταινιωτά (συνεχή), ενώ τα φάσματα ατομικής απορρόφησης είναι γραμμωτά. Επιπλέον επειδή είναι αποτέλεσμα διεγέρσεων ηλεκτρονίων, λέγονται και ηλεκτρονικά φάσματα.

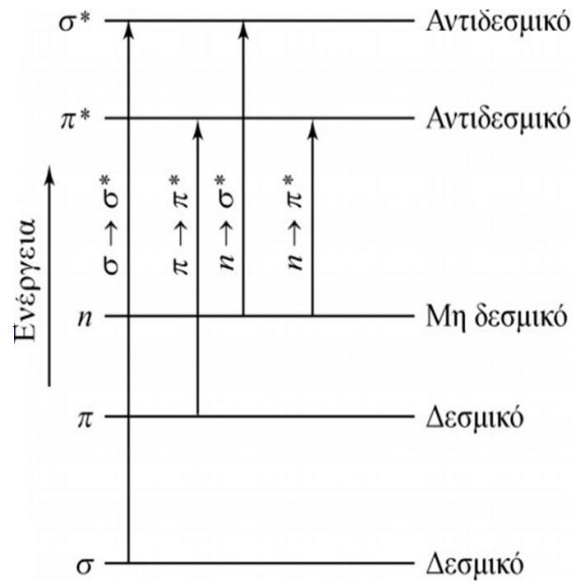
Όταν ένα ηλεκτρόνιο διεγείρεται και περνάει από ένα δεσμικό ή μη-δεσμικό μοριακό τροχιακό, σε ένα αντιδεσμικό μοριακό τροχιακό προκαλείται η απορρόφηση ορατής ή υπεριώδους ακτινοβολίας φωτός (UV-Vis). Η διαφορά ενέργειας μεταξύ της θεμελιώδους και της διεγερμένης κατάστασης καθορίζει το ποσό της ενέργειας που απαιτείται για να διεγερθεί ένα ηλεκτρόνιο. (Εικόνα 1.2).



Εικόνα 1.2: Συνοπτική παρουσίαση της διαδικασίας της απορρόφησης. S_0 =θεμελιώδης κατάσταση S_1 =διεγερμένη κατάσταση

Μεταπτώσεις του τύπου $\sigma\text{-}\sigma^*$, $\sigma\text{-}\pi^*$ και $\pi\text{-}\sigma^*$ (Εικόνα 1.3), απαιτούν φως στην περιοχή του άπω υπεριώδους (100-190nm). Συζυγιακά π συστήματα παρουσιάζουν $\pi\text{-}\pi^*$ μεταπτώσεις που απορροφούν φως στην περιοχή μεταξύ 200 nm και 800 nm. Στα συζυγιακά συστήματα, η διεγερμένη κατάσταση λόγω συντονισμού είναι πιο σταθερή, έτσι η ενεργειακή διαφορά μεταξύ των δύο καταστάσεων είναι μικρότερη από ότι στα μη συζυγιακά συστήματα. Όσο μικρότερη η διαφορά ενέργειας μεταξύ των δύο καταστάσεων (θεμελιώδους-διεγερμένης), τόσο μεγαλύτερη η πιθανότητα να συμβεί μια μετάπτωση μεταξύ τους. Η ένταση της απορρόφησης είναι συνάρτηση αυτής της πιθανότητας^[4].

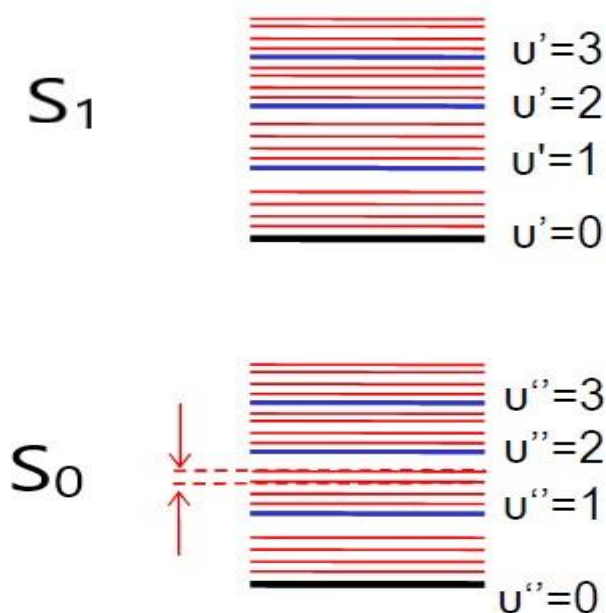
Για μια δεδομένη συγκέντρωση, όταν η διαφορά στην ενέργεια μεταξύ θεμελιώδους και διεγερμένης κατάστασης είναι μικρή η ένταση της απορρόφησης θα είναι μεγαλύτερη. Κι αυτή η διαφορά, θα είναι μικρότερη, όσο περισσότερο συζυγιακό είναι το σύστημα σε ένα μόριο.



Εικόνα 1.3: Ηλεκτρονικές μεταβάσεις των π, σ και η ηλεκτρονίων

Τα μη δεσμικά ηλεκτρόνια «συγκρατούνται» λιγότερο σταθερά από τα ηλεκτρόνια π της θεμελιώδους κατάστασης επειδή βρίσκονται σε μεγαλύτερη ενέργεια. Για το λόγο αυτό, υπάρχει μικρή διαφορά στην ενέργεια μεταξύ μη δεσμικού και π* αντιδεσμικού μοριακού τροχιακού, κι η απορρόφηση που αντιστοιχεί σε αυτή την n-π* μετάπτωση συμβαίνει σε μεγαλύτερο μήκος κύματος από την π-π* μετάπτωση. Παρ'όλα αυτά, τα μη δεσμικά μοριακά τροχιακά είναι κάθετα στα π* μοριακά τροχιακά και υπάρχει πολύ μικρή αλληλεπικάλυψη μεταξύ τους. Γι' αυτό, η ένταση της αντίστοιχης απορρόφησης είναι χαμηλή καθώς η πιθανότητα ένα μη δεσμικό ηλεκτρόνιο να διεγερθεί σε ένα π* μοριακό τροχιακό είναι εξαιρετικά μικρή. Αυτή η μετάπτωση ονομάζεται «απαγορευμένη»^[5].

Οι ταινίες(μπάντες) απορρόφησης στην περιοχή του UV-Vis είναι αρκετά ευρείες. Η κάθε ηλεκτρονική κατάσταση αποτελείται από πολλά δονητικά επίπεδα όπου και αυτά, απαρτίζονται, το κάθε ένα, από αρκετά περιστροφικά επίπεδα(Εικόνα 1.4).Οι ενεργειακές διαφορές μεταξύ των δονητικών επιπέδων είναι αρκετά μικρότερες από αυτές των ηλεκτρονικών καταστάσεων και οι ενεργειακές διαφορές μεταξύ των περιστροφικών επιπέδων είναι ακόμα μικρότερες από αυτές των δονητικών. Η μετάπτωση από οποιοδήποτε δονητικό και περιστροφικό επίπεδο της θεμελιώδους κατάστασης σε οποιοδήποτε δονητικό και περιστροφικό επίπεδο της διεγερμένης κατάστασης, αποτελεί την διέγερση ενός ηλεκτρονίου, έχοντας ως αποτέλεσμα σε πολλαπλές απορροφήσεις με μικρή διαφορά στο μήκος κύματος που συνθέτουν πολύ ευρείες ταινίες(μπάντες) απορρόφησης.



Εικόνα 1.4 : Η κατάσταση S_0 αντιπροσωπεύει την θεμελιώδη ηλεκτρονική κατάσταση ενώ η S_1 την (1^η) διεγερμένη ηλεκτρονική κατάσταση. (Μπλε γραμμές : Δονητικά επίπεδα , Κόκκινες γραμμές: Περιστροφικά επίπεδα)

1.1.3 Φασματοσκοπία υπερώθρου με μετασχηματισμό Fourier (Fourier Transform Infra-Red, FT-IR)

Η φασματοσκοπία υπερώθρου (Infra Red spectroscopy, IR) μαζί με την φασματοσκοπία υπεριώδους είναι μια από τις πλέον σημαντικές φασματοσκοπικές τεχνικές και έχουν βρει τις περισσότερες εφαρμογές. Το όνομα της συγκεκριμένης φασματοσκοπικής τεχνικής προέρχεται από την περιοχή του ηλεκτρομαγνητικού φάσματος που βρίσκεται μεταξύ του ορατού και της περιοχής των μικροκυμάτων (0.75-1000 μm) και ονομάζεται υπέρυθρη. Η περιοχή του υπερώθρου χωρίζεται περαιτέρω σε τρεις υπο-περιοχές και σε τρεις βασικές περιοχές: Άπω υπέρυθρη (Far IR, FIR) (50-1000 μm) , μέσο υπέρυθρη (Mid IR, MIR) (2.5-50 μm) και εγγύς υπέρυθρη (Near IR, NIR) (0.75-2.5 μm)^[1]. Είναι σύνηθες στην ορολογία της φασματοσκοπίας αντί να αναφερόμαστε στην περιοχή του ηλεκτρομαγνητικού φάσματος, με το μήκος κύματος ή τη συχνότητα, να χρησιμοποιούμε τους κυματαριθμούς (ν). Οι κυματαριθμοί είναι ένα πιο εύχρηστο μέγεθος για κύματα που κινούνται με την ταχύτητα του φωτός όπως η ακτινοβολία υπερώθρου. Οι κυματαριθμοί εκφράζουν με απλό τρόπο συγκεκριμένες περιοχές του ηλεκτρομαγνητικού φάσματος προσδιορίζοντας μόνο το μήκος κύματος της ακτινοβολίας. Από το δεδομένο αυτό εύκολα προκύπτει και η συχνότητα του κύματος αν χρειαστεί. Έτσι για να την πιο κοινή περιοχή που χρησιμοποιούμε στην υπέρυθρη φασματοσκοπία, την μέσο υπέρυθρη περιοχή (Mid IR) ισχύουν τα εξής:

$$c = 3 \times 10^8 \text{ m/sec}$$

$$\lambda = 2.5 - 50 \mu\text{m}$$

Όπου c και λ η ταχύτητα του φωτός και το μήκος κύματος αντίστοιχα.

Και για τους κυματάριθμους με απλή αντικατάσταση στους τύπους προκύπτουν οι σχέσεις:

$$\nu = \nu/c = 1/\lambda$$

των οποίων οι τιμές τους κυμαίνονται μεταξύ 400 και 4000 cm^{-1} .

Μερικοί κυματάριθμοί με το αντίστοιχο μήκος κύματος, τη συχνότητα και την ενέργεια τους φαίνονται στον Πίνακα 1.1.

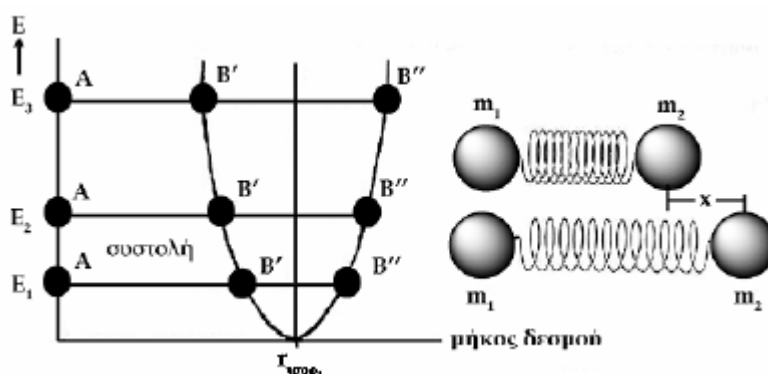
Πίνακας 1.1: Κυματάριθμοι, μήκη κύματος, συχνότητες και ενέργεια σε σημεία του υπέρυθρου φάσματος.

$\bar{\nu}$ (cm^{-1})	λ (nm)	ν (10^{12} Hz)	E (eV)
200	50	5.996	0.02479
500	20	14.99	0.06199
1000	10	29.98	0.12398
2000	5	59.96	0.24797
5000	2	149.9	0.61922
10,000	1	299.8	1.23984

Είναι γνωστό^[6,7,8] ότι διεγέρσεις των δεσμών των ατόμων σε ανώτερες ενεργειακές στάθμες από αυτές της ισορροπίας προκαλούνται με την επίδραση της υπέρυθρης ακτινοβολίας επί των μορίων της ύλης σύμφωνα με το πρότυπο του αρμονικού ταλαντωτή. Από την κατάσταση ισορροπίας όπου το μήκος του δεσμού είναι $r_{\text{ισορ}}$, για να μεταφερθεί ο δεσμός σε συστολή ή διαστολή σε μήκος δεσμού r' πρέπει να προσφερθεί ενέργεια ίση με:

$$E = 1/2 \cdot f \cdot (r - r_{\text{ισορ}})^2 \text{ (1ος Νόμος του Hooke)}$$

Η ενέργεια αυτή μέσω της υπέρυθρης ακτινοβολίας προσφέρεται από το περιβάλλον στο δεσμό και τον αναγκάζει να ταλαντωθεί. Η ενέργεια που απορροφά ο δεσμός εξαρτάται από την διπολική ροπή του μορίου αλλά και από την συχνότητα της ακτινοβολίας αφού κάθε δεσμός δεν απορροφά σε όλα τα μήκη κύματος.

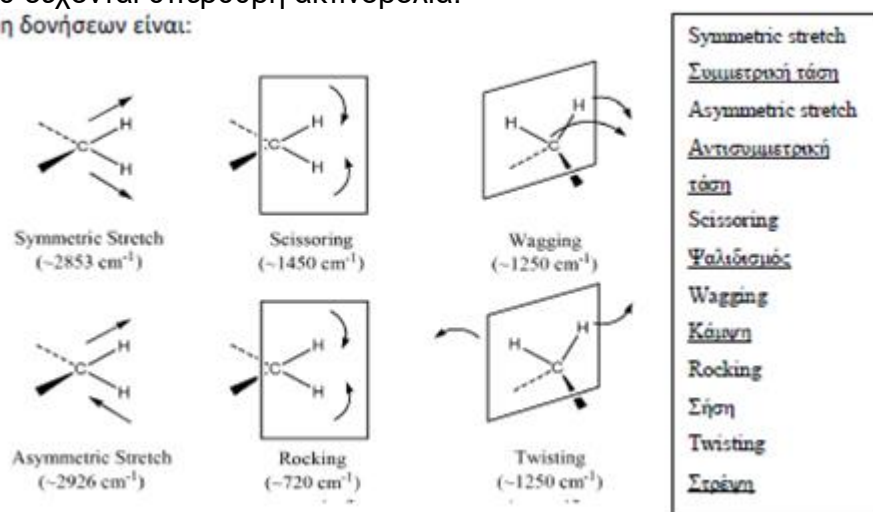


Εικόνα 1.5 : Σχηματική απεικόνιση της σύνδεσης μεταξύ του μήκους του δεσμού και της περιεχόμενης δυναμικής ενέργειας στον απλό αρμονικό ταλαντωτή.

Στην Εικόνα 1.5 παρουσιάζεται σχηματικά η σύνδεση μεταξύ του μήκους του δεσμού και της περιεχόμενης δυναμικής ενέργειας στον απλό αρμονικό ταλαντωτή. Στο επίπεδο των δονήσεων των μορίων όμως δεν ισχύουν οι απλές αυτές σχέσεις

αλλά πιο πολύπλοκες που αφορούν διαμοριακές μαγνητικές και ηλεκτροστατικές επιδράσεις καθώς και δονήσεις που δεν είναι απλές συσπειρώσεις και επιμηκύνσεις δεσμών αλλά περισσότερα είδη δονήσεων που συμβαίνουν στα μόρια που δέχονται υπέρυθη ακτινοβολία.

Είδη δονήσεων είναι:



Εικόνα 1.6 : Σχηματική απεικόνιση δονήσεων μεταξύ ατόμων άνθρακα υδρογόνου με τους αντίστοιχους κυματάριθμους.

Οι δονήσεις στις οποίες μεταβάλλεται μόνο το μήκος του δεσμού, είναι δονήσεις τάσης, και σε αυτές που μεταβάλλεται μόνον η γωνία μεταξύ των δεσμών, είναι δονήσεις κάμψης. Οι διαφορετικοί δεσμοί απορροφούν διαφορετικά μήκη ακτινοβολίας αλλά συγχρόνως ο ίδιος δεσμός σε διαφορετικά μήκη κύματος απορροφά ενέργεια για διαφορετικά είδη δόνησης. Η μεταβολή της διπολικής ροπής ενός μορίου κατά τη διάρκεια της δόνησης είναι απαραίτητη προϋπόθεση για την απορρόφηση υπέρυθρης ακτινοβολίας, διαφορετικά η δόνηση θεωρείται ανενεργός.

Σε ένα τυπικό φάσμα υπέρυθρης φασματοσκοπίας διακρίνουμε δύο κυρίως περιοχές. Η μία αποτελεί την περιοχή των χαρακτηριστικών ομάδων (O-H, NH₂, C≡N, C=O κλπ) και εκτείνεται στη περιοχή 4000- 1400 cm⁻¹ όπου οι κύριες ζώνες απορρόφησης οφείλονται στη δόνηση των ομάδων. Η δεύτερη αποτελεί αυτή των δακτυλικών αποτυπωμάτων, εκτείνεται στην περιοχή 1400-600 cm⁻¹ στην οποία οι απορροφήσεις σχετίζονται με τις δονήσεις ολοκλήρου του μορίου, όπου κάθε άτομο ασκεί επίδραση στα υπόλοιπα αποτελώντας το «δακτυλικό αποτύπωμα» finger print κάθε ένωσης.

Η φασματοσκοπία υπερύθρου και δη αυτή με μετασχηματισμό Fourier, έχει πολλά πλεονεκτήματα. Συνοπτικά, τόσο η φασματοσκοπία IR αλλά και η Raman παρουσιάζουν πολλές δυνατότητες και διαρκώς βελτιούμενη διακριτική ικανότητα, συνδυασμένη με υψηλή ταχύτητα λήψης φάσματος και απλότητα. Επίσης, η σύγχρονη φασματοσκοπία, αξιοποιεί τις ικανότητες που προσφέρει η δυνατότητα μεγάλης υπολογιστικής ισχύος με πολλούς τρόπους. Αναφέρονται ενδεικτικά η δημιουργία βιβλιοθηκών πρότυπων φασμάτων για ποιοτική και ποσοτική κατάταξη δειγμάτων, η σύγκριση πολλών φασμάτων ταυτόχρονα και η μέτρηση της ομοιότητάς τους καθώς και η «πράξεις» με φάσματα (πρόσθεση, αφαίρεση φασμάτων και πολλαπλασιασμός φάσματος με αριθμό). Τα εργαλεία αυτά δίνουν δυνατότητες που κανείς δεν φαντάζεται στις φασματοσκοπικές μεθόδους εν γένει και στην υπέρυθη φασματοσκοπία συγκεκριμένα. Στα αρνητικά της φασματοσκοπία υπερύθρου συγκαταλέγονται η ευαισθησία σε εξωγενείς παράγοντες που μπορούν να καταστήσουν άκυρη την λήψη κάποιων φασμάτων. Ειδικά, υγρασία και CO₂ έχουν πολλή μεγάλη απορρόφηση στο υπέρυθρο και

μπορούν να καταστρέψουν το φάσμα. Υπάρχουν φυσικά τρόποι μείωσης των αρνητικών επιδράσεων αλλά περιπλέκεται η διαδικασία λήψης. Η καταγραφή φάσματος υποβάθρου ή αναφοράς (background) και η ευθυγράμμιση των οπτικών του οργάνου είναι δυο από τις διαδικασίες αυτές.

1.1.4 Φασματοσκοπία Raman

Η σκέδαση Raman είναι ένα από τα φαινόμενα τα οποία προκύπτουν από την αλληλεπίδραση ακτινοβολίας και ύλης. Συγκεκριμένα χαρακτηριστικό γνώρισμα αυτής είναι η αλλαγή στη συχνότητα του σκεδαζόμενου φωτός, η συχνότητα δηλαδή της σκεδαζόμενης ακτινοβολίας είναι διαφορετική από αυτήν της προσπίπτουσας. Το 1928 ο Chandrasekhra Venkata Raman, από τον οποίο έχει πάρει το όνομα της η φασματοσκοπία Raman, παρουσίασε το φαινόμενο της ανελαστικής σκέδασης του φωτός. Τα πρώτα χρόνια η φασματοσκοπία Raman δεν έβρισκε σημαντικές εφαρμογές λόγω της ασθενούς ισχύος των πηγών ακτινοβολίας που χρησιμοποιούνταν. Την δεκαετία το 1930 υπήρχε ευρεία χρήση των λαμπών υδραργύρου όπου με το κατάλληλο φίλτράρισμα έδιναν σχετικά μονοχρωματική ακτινοβολία. Μετά το 1970 και την ανάπτυξη των λειζερ η φασματοσκοπία Raman κατέγραψε αλματώδη πρόοδο και σε συνδυασμό με την βελτίωση των οργάνων και με την ευρεία εφαρμογή των ηλεκτρονικών υπολογιστών έκαναν την φασματοσκοπία Raman ένα ισχυρό εργαλείο ανάλυσης με σημαντικές εφαρμογές σε πολλούς τομείς, όπως τη χημεία, τη βιολογία, την ιατρική την επιστημή των υλικών.

Το φαινόμενο Raman^[9] λαμβάνει χώρα με οποιαδήποτε ακτινοβολία από το εγγύς υπέρυθρο έως το εγγύς υπεριώδες. Όμως μόνο όταν η ακτινοβολία η οποία χρησιμοποιείται είναι μονοχρωματική είναι διακριτό. Με αυτόν τον τρόπο μπορεί η ανελαστικά σκεδαζόμενη ακτινοβολία Raman να γίνει αντιληπτή. Συνεπώς, μπορούμε να λάβουμε φάσμα Raman με οποιαδήποτε μονοχρωματική ακτινοβολία (π.χ. laser) από το εγγύς υπέρυθρο έως το εγγύς υπεριώδες.

Όπως είναι ήδη γνωστό από την κβαντομηχανική θεωρία η ενέργεια είναι κβαντισμένη, αυτό σημαίνει ότι μπορεί να πάρει μόνο διακριτές τιμές. Τα κβάντα είναι οι φορείς της ενέργειας αυτής, και στην περίπτωση της ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας είναι τα φωτόνια. Η ενέργεια ενός φωτονίου ακολουθεί το νόμο του Planck και ισχύει όπως έχει ήδη αναφερθεί:

$$E_{\nu} = h \cdot \nu$$

όπου ν είναι η συχνότητα του φωτός και h η σταθερά του Planck.

Με την αλληλεπίδραση του φωτονίου με ένα μόριο προκαλούνται πολλά φαινόμενα τα πιο συνήθεις από αυτά είναι:

1. **Απορρόφηση:** Λαμβάνει χώρα όταν η ενέργεια του φωτονίου αντιστοιχεί στη διαφορά ενέργειας μεταξύ των δύο ενεργειακών επιπέδων του μορίου.
2. **Εκπομπή:** Πραγματοποιείται όταν ηλεκτρονικά διεγερμένο μόριο και η ενέργεια του εκπεμπόμενου φωτονίου είναι όση η διαφορά ενέργειας μεταξύ των δύο ενεργειακών σταθμών, οι οποίες συμμετέχουν στη διαδικασία αποδιέγερσης του μορίου.
3. **Σκέδαση:** Είναι αποτέλεσμα της αλληλεπίδρασης μεταξύ του φωτονίου και του μορίου, ακόμα και όταν η ενέργεια του φωτονίου είναι διαφορετική από την ενεργειακή διαφορά δύο ενεργειακών επιπέδων του μορίου. Η σκέδαση είναι

συνήθως ένα σχεδόν ακαριαίο φαινόμενο μιας και πραγματοποιείται πολλές φορές σε χρόνους της τάξης των 10^{-14} s.

Έστω ότι μονοχρωματική δέσμη ακτινοβολίας προσπίπτει επί ενός δείγματος. Είναι δυνατόν με την αλληλεπίδρασή πολλών φωτονίων με δομικές μονάδες του δείγματος (π.χ μόρια) τα φωτόνια να υποστούν μια απορρόφηση από τις δομικές μονάδες του δείγματος. Σύμφωνα με αυτή την αλληλεπίδραση, ένα μόριο το οποίο αρχικά βρισκόταν στην θεμελιώδη κατάσταση, μεταβαίνει σε μια διεγερμένη εικονική κατάσταση (virtual state). Αυτή η ακαριαία αποδιέγερσή του έχει συνήθως ως αποτέλεσμα το μόριο να επανέλθει στην ίδια ακριβώς ενεργειακή στάθμη απ' όπου ξεκίνησε, με ταυτόχρονη εκπομπή ενός φωτονίου ίσης ενέργειας με το προσπίπτον (ελαστική σκέδαση Rayleigh) (Εικόνα 1.7,1.8). Ωστόσο, είναι πιθανό κατά την αποδιέγερση το μόριο να μεταβεί σε ένα δονητικά διεγερμένο ενεργειακό επίπεδο της θεμελιώδους στάθμης, με ταυτόχρονη εκπομπή ενός φωτονίου με ενέργεια μικρότερη από το προσπίπτον, τόση όση η ενέργεια δόνησης (σκέδαση Raman Stokes). Μία ωστόσο σπάνια περίπτωση για πειράματα σε θερμοκρασία δωματίου, είναι το προσπίπτον φωτόνιο να αλληλεπιδράσει με ένα ήδη δονητικά διεγερμένο μόριο και η χαλάρωση του συστήματος στη θεμελιώδη στάθμη να προκαλέσει την εκπομπή ενός φωτονίου με περίσσεια ενέργειας, όση και πάλι με αυτήν της ενέργειας δόνησης (σκέδαση Raman anti-Stokes).

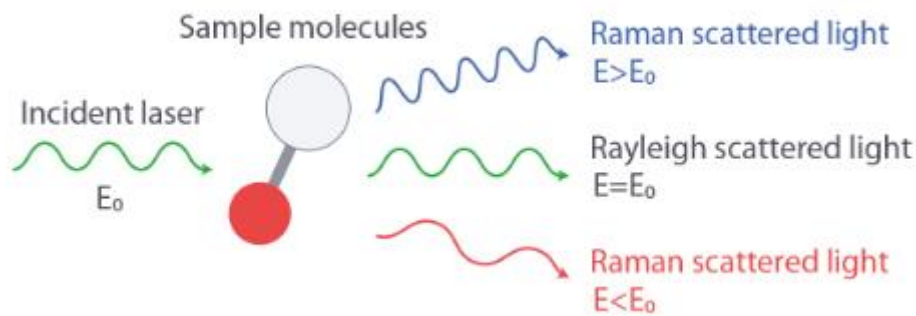
Οι μετατοπίσεις αυτής της συχνότητας αποτελούν τον κανόνα επιλογής κατά τον οποίο η ενεργειακή διαφορά μεταξύ προσπίπτοντος και σκεδαζόμενου φωτονίου ισοδυναμούν με τη διαφορά μεταξύ δύο διαδοχικών ενεργειακών επιπέδων δόνησης.

Αξιοσημείωτο αποτελεί ότι η μη ελαστική σκέδαση Raman σε σύγκριση με την ελαστική σκέδαση Rayleigh είναι ένα πολύ ασθενές φαινόμενο, γι' αυτόν τον λόγο απαιτείται ειδική οργανολογία και ευαίσθητοι ανιχνευτές ώστε τα σκεδαζόμενα φωτόνια Raman να μπορούν να ανιχνευτούν.

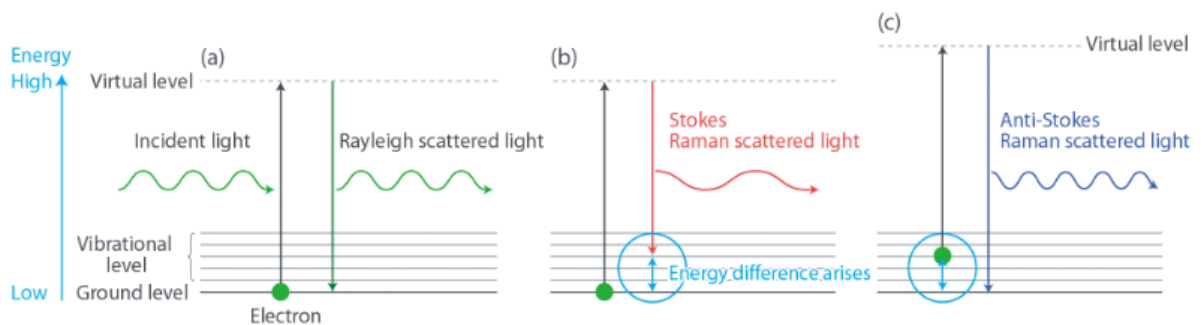
Στο φαινόμενου Raman οι κβαντικές ενεργειακές μεταβολές είναι αποτέλεσμα της ικανότητας ενός ατόμου ή μορίου να υποστεί διαχωρισμό των κέντρων θετικού και αρνητικού φορτίου μέσα σε ένα ηλεκτρικό πεδίο (πόλωση του χημικού μορίου). Σύμφωνα με την κλασική θεωρία, ένα χημικό μόριο μέσα σε ένα στατικό ηλεκτρικό πεδίο υφίσταται ένα είδος ελαστικής στρέβλωσης του σχήματος της δομής του. Το αποτέλεσμα της θεωρίας αυτής είναι τα ηλεκτρόνια να έλκονται προς τον θετικό πόλο του πεδίου και οι θετικοί φορτισμένοι πυρήνες προς τον αρνητικό. Η μετατόπιση των κέντρων των φορτίων προκαλεί μια επαγωγική διπολική ροπή και το μόριο λέγεται ότι είναι πολωμένο. Η τιμή του επαγόμενου δίπολου, μ , εξαρτάται από το μέγεθος του εφαρμοζόμενου πεδίου και από την ευκολία με την οποία το σχήμα του μορίου μπορεί να στρεβλωθεί:

$$\mu = \alpha \cdot E$$

όπου α είναι η σταθερά επιδεκτικότητας πόλωσης του μορίου (ή πολωσιμότητα).



Εικόνα 1.7: Το φαινόμενο Raman



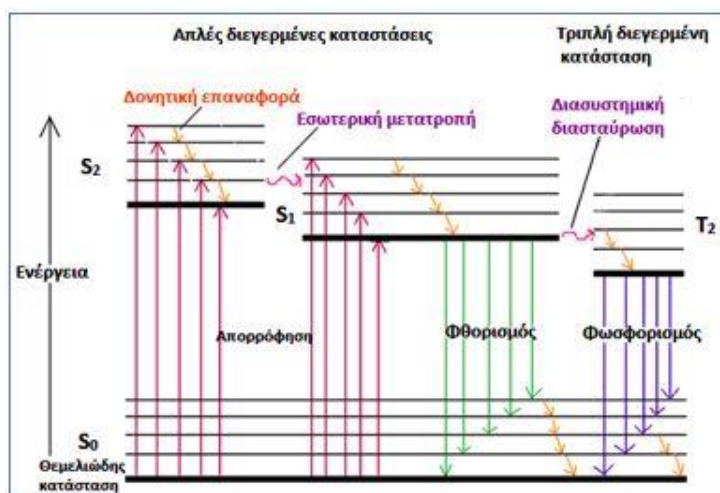
Εικόνα 1.8: Ενεργειακό διάγραμμα Raman

Ο συνδυασμός φασματοσκοπίας IR και Raman δίνει περισσότερες πληροφορίες για τη δομή των χημικών μορίων γιατί οι δύο αυτές φασματοσκοπίες είναι. Συγκεκριμένα η φασματοσκοπία Raman δίνει πληροφορίες για το σκελετό του μορίου (C=C, C-C κλπ), ενώ η φασματοσκοπία IR για τις χαρακτηριστικές ομάδες των μορίων.

Η φασματοσκοπία Raman πλεονεκτεί σε σχέση με τις άλλες φασματοσκοπικές τεχνικές, ιδιαίτερα στη μελέτη ουσιών σε υδατικά διαλύματα γιατί η ένταση του νερού στο φάσμα Raman είναι και δε παρεμποδίζει τη σκέδαση των μορίων της αναλυόμενης ένωσης^[7].

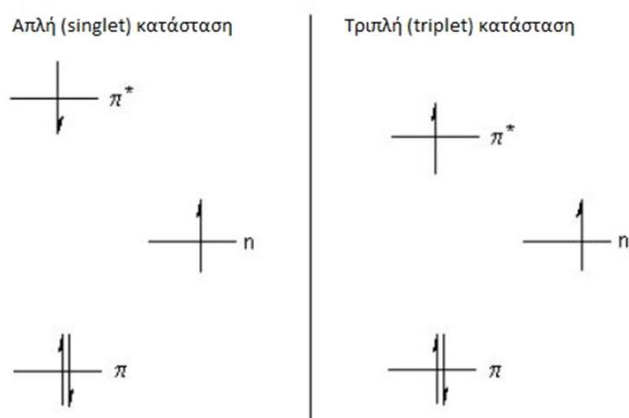
1.1.5 Φασματοσκοπία Φθορισμού

Κατά την φωτοδιέγερση ενός μορίου, η ενέργεια που προσλαμβάνεται με την απορρόφηση ενός φωτονίου αποβάλλεται με διάφορους τρόπους με επακόλουθη επαναφορά των διεγερμένων ηλεκτρονίων στη βασική κατάσταση. Συνηθέστερα με τη μορφή θερμότητας αλλά και πολύ συχνά με εκπομπή δευτερεύουσας ακτινοβολίας. Το φαινόμενο αυτό ονομάζεται φωταύγεια και χαρακτηρίζεται ως φθορισμός όταν η εκπομπή γίνεται σε χρόνο 10^{-9} - 10^{-6} sec μετά τη διέγερση και ως φωσφορισμός όταν μεσολαβεί καθυστέρηση 10^{-4} - 10 sec^[10]. Η γενική αρχή της φωτοδιέγερσης και εκπομπής συνοψίζεται στο παρακάτω σχήμα.



Εικόνα 1.9: Ενεργειακά επίπεδα σύμφωνα με το διάγραμμα Jablonski.

Επεξηγηματικά, κατά την απορρόφηση ενέργειας, το μόριο μεταβαίνει από τη θεμελιώδη απλή κατάσταση S_0 σε διεγερμένες απλές (singlet) δονητικές στάθμες S_1, S_2 . Έπειτα πραγματοποιείται αποβολή ενέργειας με μετάπτωση e^- στην χαμηλότερη δονητική στάθμη της διεγερμένης κατάστασης, με την αποκαλούμενη δονητική επαναφορά. Μπορεί όμως να επέλθει εσωτερική μετατροπή κατά την οποία η ενέργεια μεταβαίνει από τη χαμηλότερη δονητική στάθμη της ανώτερης ηλεκτρονικής κατάστασης στην υψηλότερη δονητική στάθμη της χαμηλότερης ηλεκτρονιακής κατάστασης με ίδια ενέργεια. Η μετάπτωση από singlet καταστάσεις S_1, S_2 στη θεμελιώδη S_0 χαρακτηρίζεται από εκπομπή ακτινοβολίας κατά το φαινόμενο του φθορισμού ενώ η αποδιέγερση από triplet κατάσταση T_2 εκφράζει το φαινόμενο του φωσφορισμού^[11]. Η διασυστηματική διασταύρωση είναι η μεταφορά ηλεκτρονίου από απλή σε τριπλή διεγερμένη κατάσταση, παρουσιάζεται ελάχιστες φορές καθώς είναι απαγορευμένη.



Εικόνα 1.10 Ηλεκτρονιακή στάθμη μορίου στην απλή και τριπλή κατάσταση.

Στην απλή (singlet, S) στάθμη ενέργειας ενός μορίου το συνολικό σπιν είναι μηδέν καθώς όλα τα ζεύγη ηλεκτρονίων έχουν αντιπαράλληλα σπιν ενώ στην τριπλή (triplet, T) στάθμη το συνολικό σπιν είναι διαφορετικό του μηδενός. Αυτή η διαφορά έχει ως αποτέλεσμα το ηλεκτρόνιο από μια απλή διεγερμένη κατάσταση να επιστρέφει στη θεμελιώδη χωρίς να απαιτείται αλλαγή στον προσανατολισμό του σπιν ενώ από μια τριπλή κατάσταση στη θεμελιώδη απαιτείται αλλαγή. Έτσι, η απορρόφηση UV ή Vis ακτινοβολίας από ένα μόριο οδηγεί σε ηλεκτρονική διέγερση από δεσμικά (n) τροχιακά σε αντιδεσμικά (π*).

Είναι σημαντικό να σημειωθεί ότι το εκπεμπόμενο φως είναι χαμηλότερης ενέργειας και μεγαλύτερου μήκους κύματος από το απορροφημένο φως που σημαίνει ότι το χρώμα του φωτός που εκπέμπεται είναι διαφορετικό από το χρώμα του φωτός που απορροφήθηκε. Όπως προαναφέρθηκε, μετά την εκπομπή του φωτός το φθορίζον μόριο επανέρχεται στη θεμελιώδη κατάσταση και μετά μπορεί να απορροφήσει ξανά φωτόνιο και να πραγματοποιηθεί φθορισμός για πολλαπλές φορές. Γι' αυτόν τον λόγο ο φθορισμός αποτελεί μια πολύ ευαίσθητη τεχνική ανίχνευσης. Υπάρχει όμως και η περίπτωση της φωτολεύκανσης κατά την οποία το φθορίζον μόριο λόγω αστάθειάς του στο στάδιο διέγερσης, αποδομείται και διασπάται χωρίς να μπορεί να φθορίσει ξανά.

Όσον αφορά τις χημικές ενώσεις, κατά κανόνα φθορίζουν οι ενώσεις που περιέχουν αρωματικούς πυρήνες ή πολλαπλούς συζυγιακούς διπλούς δεσμούς. Οι ηλεκτρονιοδότες όπως ομάδες -NH₂, -OH αυξάνουν το φθορισμό γιατί διευκολύνουν τη μετάπτωση S₁-> S₀. Ενώ οι ηλεκτρονιόφιλες ομάδες όπως -COOH, -NO₂, αλογονοϊόντα μειώνουν ή και εξαλείφουν τον φθορισμό. Η φασματοσκοπία φθορισμού μπορεί να θεωρηθεί μία από τις πιο ευαίσθητες αναλυτικές τεχνικές. Όσον αφορά υγρά διαλύματα, η ένταση του φθορισμού (I_F) υπολογίζεται από την σχέση

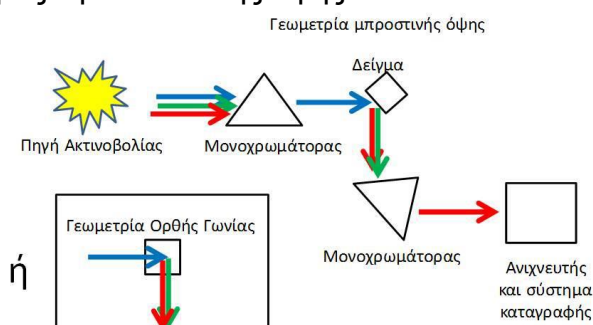
$$I_F = I_0 \Phi_F (1 - e^{-\epsilon c l})$$

$$I_F = 2.3 I_0 \Phi_F \epsilon c l$$

Όπου I₀ ορίζεται η ένταση της ακτινοβολίας διέγερσης, Φ_F ορίζεται η κβαντική απόδοση φθορισμού της φθορίζουσας ουσίας, ε ορίζεται η γραμμομοριακή απορροφητικότητα της φθορίζουσας ουσίας, l ορίζεται το μήκος της οπτικής διαδρομής και c ορίζεται η συγκέντρωση της φθορίζουσας ουσίας. Για τιμές απορρόφησης μικρότερες του 0,05, το φαινόμενο γίνεται γραμμικό και η ένταση του φθορισμού υπολογίζεται από την παραπάνω σχέση. Στην προκειμένη περίπτωση, ισχύει η αρχή της προσθετικότητας με τη συνολική ένταση του φθορισμού ενός διαλύματος, να προκύπτει από το άθροισμα των εντάσεων του φθορισμού όλων των φθορίζουσων ουσιών που περιέχονται στο διάλυμα. Όταν η μέτρηση του φθορισμού πραγματοποιείται σε πολύπλοκα χημικά μείγματα φαινόμενα που σχετίζονται με την σκέδαση φωτός, τις ενδομοριακές αντιδράσεις και αλληλεπιδράσεις των φθορίζουσων ουσιών με το μοριακό περιβάλλον πρέπει να λαμβάνονται υπόψιν. Η ορθότητα των μετρήσεων κρίνεται από διάφορους παράγοντες όπως η συγκέντρωση, ο διαλύτης και ο τρόπος μέτρησης του φαινομένου.

Η πιο συνηθισμένη γεωμετρία για την μέτρηση του φαινομένου είναι αυτή της ορθής γωνίας (Right Angle) όπου η γωνία μεταξύ της δέσμης ακτινοβολίας διέγερσης και της παρατήρηση της ακτινοβολίας εκπομπής είναι 90° . Με αυτήν την γωνία ελαχιστοποιούνται φαινόμενα ελαστικής (Rayleigh) και ανελαστικής (Raman) σκέδασης καθώς και ανάκλασης. Όμως η γεωμετρία αυτή είναι κατάλληλη για τη μέτρηση του φθορισμού σε αραιά διαλύματα φθορίζουσων ουσιών όπου και δεν υπάρχουν έντονα φαινόμενα αύτοαπορρόφησης (inner filter effects).

Σε πυκνά διαλύματα με έντονα φαινόμενα απορρόφησης όπως και σε περιπτώσεις δειγμάτων στερεάς μορφής χρησιμοποιείται η γεωμετρία της εμπρόσθιας όψης (Front-Face). Στη γεωμετρία αυτή το δείγμα ακτινοβολείται υπό γωνία ως προς την κάθετο της όψης του^[12].



Εικόνα 1.11 Τυπική οργανολογία φασματοσκοπίας φθορισμού

Διακρίνουμε τρεις διαφορετικές κατηγορίες φασμάτων. Όπως φαίνεται και στη παρακάτω εικόνα, τα φάσματα εκπομπής όπου κατά την μέτρηση το μήκος κύματος της διέγερσης (λ_{exc}) παραμένει σταθερό, ενώ μεταβάλλεται το μήκος κύματος εκπομπής (λ_{em}). Στα φάσματα διέγερσης το μήκος κύματος εκπομπής (λ_{em}) παραμένει σταθερό, ενώ μεταβάλλεται το μήκος κύματος διέγερσης (λ_{exc}). Στα φάσματα σύγχρονης σάρωσης μεταβάλλεται τόσο το μήκος κύματος εκπομπής όσο και το μήκος κύματος διέγερσης διατηρώντας μια σταθερή διαφορά μεταξύ τους ($\Delta\lambda$). Ένας εναλλακτικός τρόπος απεικόνισης του φαινομένου φθορισμού είναι μέσω των χαρτών φθορισμού (Excitation – Emission Matrices, EEM)^[13]. Ο συγκεκριμένος τρόπος συνηθίζεται σε περιπτώσεις δειγμάτων με περισσότερα από ένα φθορίζοντα συστατικά. Οι χάρτες προκύπτουν από την προβολή φασμάτων εκπομπής σε διαφορετικά μήκη κύματος διέγερσης ή και το αντίστροφο. Το πλεονέκτημα της συγκεκριμένης απεικόνισης του φαινομένου φθορισμού είναι ότι λαμβάνουμε πλήρη εικόνα για τον συνολικό φθορισμό του δείγματος.

1.2 Οργανολογία

1.2.1 Οργανολογία φασματοσκοπίας απορρόφησης

Για τη μέτρηση της απορρόφησης στο υπεριώδες, ορατό καθώς και στο εγγύς υπέρυθρο χρησιμοποιήθηκε^[14] το φασματοφωτόμετρο Perkin Elmer-

Lambda 950. Πρόκειται για ένα φασματοφωτόμετρο το οποίο καλύπτει τις περιοχές από 175 έως 3300nm έχοντας υψηλή διακριτική ικανότητα και πιο συγκεκριμένα στο UV-Vis <math><0.05\text{ nm}</math> και στο NIR <math><0.20\text{ nm}</math>. Το συγκεκριμένο όργανο αποτελείται από ένα οπτικό σύστημα διπλής δέσμης, δύο πηγές ακτινοβολίας (λυχνία δευτερίου και βολφραμίου), θέσεις για την τοποθέτηση των κυψελίδων του δείγματος και της αναφοράς, δύο μονοχρωμάτορες, και δύο ανιχνευτές εκ των οποίων ο ένας είναι φωτοπολλαπλασιαστής τύπου R6872 και ο δεύτερος PbS [2].



Εικόνα 1.12 : Φασματοφωτόμετρο Perkin Elmer-Lambda 950

Χρησιμοποιήθηκε επίσης για τη μέτρηση της απορρόφησης στο υπεριώδες και ορατό χρησιμοποιήθηκε^[15] και το φασματοφωτόμετρο Shimadzu UV-1900, το οποίο καλύπτει τις περιοχές από 190nm έως 1100nm. Το συγκεκριμένο σύστημα αποτελείται από ένα οπτικό σύστημα διπλής δέσμης, δύο πηγές ακτινοβολίας (λυχνία δευτερίου και αλογόνου), θέσεις για την τοποθέτηση των κυψελίδων του δείγματος και της αναφοράς, μονοχρωμάτορα τύπου Czerny-Turner και έναν ανιχνευτή (silicon photodiode) [1].



Εικόνα 1.13 : Φασματοφωτόμετρο Shimadzu UV-1900

1.2.2 Οργανολογία φασματοσκοπίας φθορισμού

Για τη μέτρηση του φθορισμού χρησιμοποιήθηκε^[16] το φθορισμόμετρο Fluoromax-P, Horiba. Το όργανο αποτελείται από μια λυχνία ξένου ισχύος 150watt, η οποία λειτουργεί ως μία συνεχής πηγή ακτινοβολίας στο υπεριώδες και στο ορατό τμήμα του ηλεκτρομαγνητικού φάσματος, ένα μονοχρωμάτορα διέγερσης (220-600nm), ένα μονοχρωμάτορα εκπομπής (290-850nm) τύπου Czerny-Turner, σχισμές, κλείστρα, φακούς, κάτοπτρα και ένα φωτοπολλαπλασιαστή τύπου R928P με εύρος ανίχνευσης 180-850 nm. Στην παρακάτω εικόνα φαίνεται το σχεδιάγραμμα του εσωτερικού του φθορισμόμετρου καθώς και στον πίνακα η αντιστοίχιση των μερών του.



Εικόνα 1.14: Φθορισμόμετρο Fluoromax-P, Horiba

1.2.3 Οργανολογία φασματοσκοπίας υπερέυθρου με μετασχηματισμό Fourier

Για την λήψη των φασμάτων χρησιμοποιήθηκε^[17] Φασματοφωτόμετρο Υπέρυθρου Μετασχηματισμού Fourier (FTIR), Nicolet 6700 thermoscientific του οίκου Thermo Electron Corporation εξοπλισμένο με την τεχνική της Αποσβένουσας Ολικής Ανάκλασης (Attenuated Total Reflectance, ATR), όπου και καταγράφηκαν τα φάσματα στην περιοχή του μέσου υπερέυθρου μεταξύ $4.000-400\text{ cm}^{-1}$. Η διακριτική ικανότητα του οργάνου ήταν 4 cm^{-1} , ενώ κάθε τελικό FTIR φάσμα προέκυπτε από τον μέσο όρο 64 σαρώσεων (scans). Το πλεονέκτημα του χρησιμοποιούμενου φασματοφωτομέτρου ήταν ότι παρείχε τη δυνατότητα καταγραφής των φασμάτων χωρίς να είναι απαραίτητη η οποιαδήποτε επεξεργασία ή ομογενοποίηση των δειγμάτων με φορέα KBr για τον σχηματισμό δισκίων και η διόρθωση του υποβάθρου πραγματοποιείται πριν από την μέτρηση του κάθε δείγματος. Για την επεξεργασία των φασμάτων χρησιμοποιήθηκε το υπολογιστικό πρόγραμμα Omnic που έφερε το φασματοφωτόμετρο.

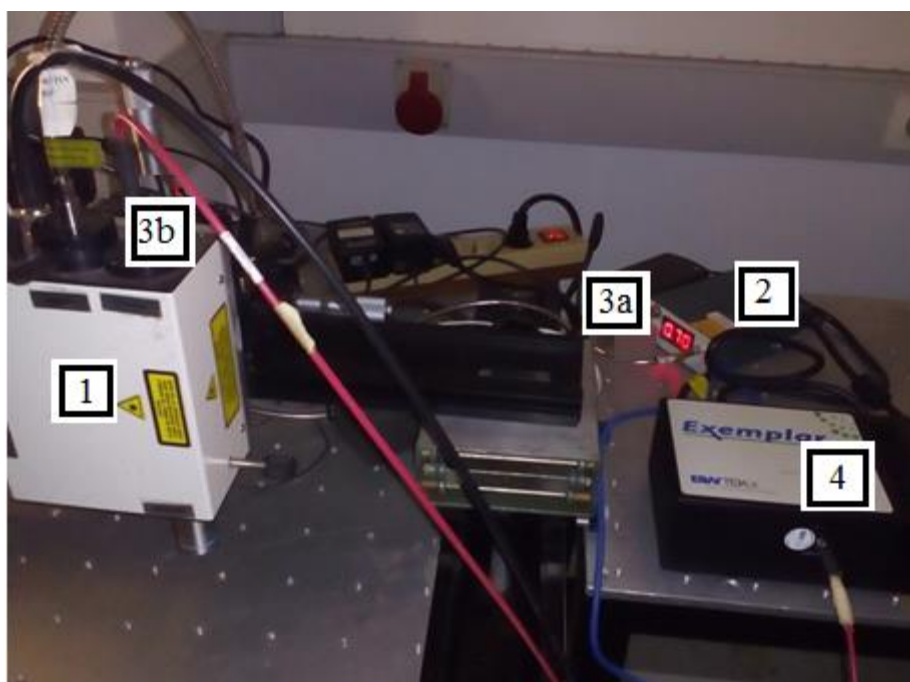


Εικόνα 1.15: Φασματόμετρο Υπέρυθρου Μετασχηματισμού Fourier (FTIR) Nicolet 6700 Thermoscientific, με Αποσβένουσα Ολική Ανάκλαση (ATR)

1.2.4 Οργανολογία φασματοσκοπίας Raman

Για τη λήψη των φασμάτων Raman χρησιμοποιήθηκε ένα φορητό φασματόμετρο Raman της εταιρείας Horiba (HE 785, Horiba Jobin Yvon, France). Ως πηγή φωτός χρησιμοποιήθηκε ένα συνεχές laser ημιαγωγών με εκπομπή στα 785 nm . Το laser συνδέεται με την οπτική κεφαλή του συστήματος μέσω οπτικής ίνας ενός μέτρου και διαμέτρου $100\mu\text{m}$. Εντός της οπτικής κεφαλής υπάρχουν τα απαραίτητα οπτικά (φακοί, καθρέπτες, φίλτρα) που κατευθύνουν τη δέσμη και βοηθούν στη διέγερση του δείγματος και στη

συλλογή του σήματος. Επιπλέον υπάρχουν μία πηγή led και μία πολυχρωματική κάμερα που προσφέρουν μία σαφή/ευκρινή εικόνα της υπό έρευνας επιφάνειας του δείγματος. Πολύ σημαντική είναι η ύπαρξη εντός της οπτικής κεφαλής του συστήματος ενός φίλτρου (edge filter) που αποκόπτει τα φωτόνια που έχουν σκεδαστεί ελαστικά (785 nm) να περάσουν στον ανιχνευτή και επιτρέπει τη διέλευση σε φωτόνια που έχουν σκεδαστεί ανελαστικά, με συχνότητες μεγαλύτερες από 785 nm (791-1066 nm). Μια δεύτερη οπτική ίνα (μήκους 2 μέτρων και διαμέτρου 100 μ m) συνδέει την οπτική κεφαλή με το φασματόμετρο (Exemplar Plus) της εταιρείας (B&WTEK) που αποτελείται από μονοχρωμάτορα με φράγμα περίθλασης και ανιχνευτή CCD (charge couple device). Το συγκεκριμένο φασματόμετρο παρέχει μετρήσεις σε φασματικό εύρος (Raman shift) 98-3362 cm^{-1} , με διακριτική ικανότητα 8-10 cm^{-1} .



1	Οπτική κεφαλή (περιέχει: καθρέφτες, κάτοπτρα, φίλτρο, κάμερα-μικροσκόπιο και led για ακτινοβολήση δείγματος)
2	Laser (διοδικό συνεχές, λexc: 785 nm)
3a	Οπτική ίνα που συνδέει το laser με την οπτική κεφαλή
3b	Οπτική ίνα που συνδέει την οπτική κεφαλή με το φασματόμετρο
4	Φασματόμετρο (μονοχρωμάτορας και ανιχνευτής CCD)

Εικόνα 1.16: Πειραματική διάταξη για μέτρηση Raman

1.3 Μηχανική Μάθηση

1.3.1 Ορισμός & Κατηγορίες Μηχανικής Μάθησης

Η μηχανική μάθηση είναι ένας κλάδος που γίνεται ολοένα και πιο δημοφιλής για πολλούς λόγους. Ανάμεσα σε αυτούς, είναι ο διαρκώς αυξανόμενος όγκος δεδομένων, οι έμφυτοι περιορισμοί της ανθρώπινης ανάλυσης, το χαμηλότερο κόστος για την εκμάθηση μιας μηχανής από την εκπαίδευση ενός συνόλου ειδικών και τέλος η ανάγκη των επιχειρήσεων για επιχειρηματική νοημοσύνη. Τα τελευταία χρόνια έχουν επίσης αυξηθεί ραγδαία οι δυνατότητες μας να παράγουμε και να συλλέγουμε δεδομένα. Η χρήση των υπολογιστών έχει διευρυνθεί σε όλους τους τομείς της σύγχρονης κοινωνίας, από τον χώρο των επιχειρήσεων, της βιομηχανίας καθώς και των επιστημών. Διάφορα εργαλεία συλλογής και επεξεργασίας δεδομένων δίνουν το πλεόνεκτημα και την δυνατότητα για την συγκέντρωση μεγάλου όγκου πληροφοριών. Το γεγονός αυτό καθιστά δύσκολο να εξαχθούν χρήσιμες πληροφορίες από τόσο μεγάλες βάσεις δεδομένων.

Η μηχανική μάθηση (machine learning) αποτελεί έναν από τους σημαντικότερους τομείς έρευνας της τεχνητής νοημοσύνης. Στόχος της είναι η δημιουργία συστημάτων που να είναι σε θέση να εκπαιδεύονται από εμπειρικά δεδομένα που έχουν καταγραφεί στο παρελθόν, ώστε να εκτελούν αποτελεσματικότερα την εργασία για την οποία προορίζονται.

Μάθηση είναι η διαδικασία εκτίμησης μιας άγνωστης συνάρτησης ή δομής που εμφανίζεται στα δεδομένα εισόδου και εξόδου ενός συστήματος χρησιμοποιώντας έναν περιορισμένο αριθμό παρατηρήσεων (διαθεσίμων δεδομένων που συσχετίζουν την είσοδο με την έξοδο ενός συστήματος)^[18]. Μια μέθοδος μάθησης είναι ένας αλγόριθμος (λογισμικό) ο οποίος εκτιμά την άγνωστη απεικόνιση εξάρτησης μεταξύ δεδομένων εισόδου και εξόδου ενός συστήματος από τα διαθέσιμα δεδομένα. Μετά την εκτίμηση μιας τέτοιας εξάρτησης, αυτή μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την πρόβλεψη μελλοντικών εξόδων από γνωστές τιμές εισόδου.

Η μηχανική μάθηση μπορεί να διακριθεί στην επιβλεπόμενη μάθηση (supervised learning) και στη μάθηση χωρίς επίβλεψη (unsupervised learning). Ένα σύστημα επιβλεπόμενης μάθησης, εκπαιδεύεται αρχικά σε ένα σύνολο παραδειγμάτων εκπαίδευσης όπου κάθε παράδειγμα χαρακτηρίζεται από μια κατηγορία. Τυπικό παράδειγμα επιβλεπόμενης μάθησης αποτελούν τα προβλήματα ταξινόμησης. Σε ένα πρόβλημα ταξινόμησης, κάθε παράδειγμα εκπαίδευσης αντιστοιχεί σε ένα διάνυσμα. Ένα τέτοιο διάνυσμα είναι ένα σύνολο τιμών χαρακτηριστικών, ή αλλιώς γνωρισμάτων, το οποίο περιέχει και μια τιμή κατηγορίας (ή κλάσης) η οποία περιγράφει το επιθυμητό αποτέλεσμα, ή αλλιώς, την έννοια στόχο. Στη μάθηση χωρίς επίβλεψη, δεν υπάρχει προκαθορισμένο σύνολο τιμών. Τα παραδείγματα εκπαίδευσης χωρίζονται σε, άγνωστες εκ των προτέρων, ομάδες με βάση τα χαρακτηριστικά τους, μια διαδικασία που συχνά αναφέρεται σαν κατηγοριοποίηση (clustering). Η μηχανική μάθηση χρησιμοποιείται σήμερα σε πολλά και διαφορετικά πεδία εφαρμογών όπως η αναγνώριση προτύπου, η ταυτοποίηση, η ταξινόμηση κ.α.. Στα προβλήματα ταξινόμησης ή κατηγοριοποίησης η μεταβλητή εξόδου παίρνει διακριτές τιμές (π.χ. ένα γράμμα της αλφαβήτου).

Στη διάρκεια μιας μη επιβλεπόμενης τεχνικής, το σύστημα εφοδιάζεται με τα δεδομένα και αφήνεται ή όχι να “καταλήξει” σε μια σταθερή κατάσταση. Ωστόσο, στην περίπτωση που υπάρχουν κάποια αντικείμενα των οποίων η απόκριση είναι γνωστή, σχηματίζονται “ζεύγη” δεδομένων (εισερχόμενα και στόχοι-ομάδες για την περίπτωση της ταξινόμησης). Εδώ, ο σκοπός των μη επιβλεπόμενων τεχνικών είναι η δημιουργία μοντέλων, που θα συνδυάσει σωστά τα εισερχόμενα με τους στόχους. Οι στόχοι δεν συμμετέχουν στη διαδικασία εκπαίδευσης απλά χρησιμεύουν ως κριτήριο για το πόσο καλά έχει “εκπαιδευτεί” το σύστημα.

Κατά την εφαρμογή μιας επιβλεπόμενης τεχνικής εκπαίδευσης, πρέπει να διαχωρίσουμε δυο περιπτώσεις, οι οποίες διαφέρουν μεταξύ τους στον τρόπο που οι στόχοι συνδυάζονται με τα εισερχόμενα, δηλαδή η αναγνώριση αν υπάρχουν εγγενείς συσχετίσεις μεταξύ αυτών ή αν συσχετίζονται αυθαίρετα. Δηλαδή στην περίπτωση που μια χημική δομή και ένα φάσμα συσχετίζονται πρέπει να διερευνηθεί αν έχουν εγγενή συγγένεια, αν η χημική δομή δηλαδή “προκαλεί” το φάσμα ή όχι. Σε αυτή τη δεύτερη περίπτωση, είναι φανερό ότι μπορεί να γίνει “γενίκευση” του μοντέλου και να προβλεφθούν οι αποκρίσεις για αντικείμενα διαφορετικά από αυτά που χρησιμοποιήθηκαν κατά την εκπαίδευση.

1.3.2 Μη επιβλεπόμενη Μάθηση

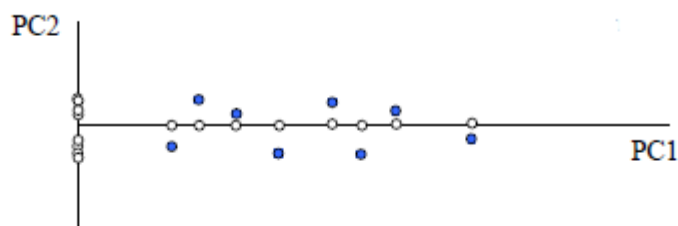
Ανάλυση Κύριων Συνιστωσών (Principal Component Analysis-PCA)

Η πρώτη περιγραφή της Ανάλυσης Κύριων Συστατικών (Principal Component Analysis, PCA) έγινε από τον Pearson το 1901^[19,20]. Αργότερα ο Hotelling (1933) ανέπτυξε τη μέθοδο στη σημερινή της μορφή. Η PCA χρησιμοποιείται για την μείωση του αριθμού των μεταβλητών σε ένα σετ δεδομένων, με την προϋπόθεση ότι υπάρχει συσχέτιση μεταξύ τους. Με την PCA αντικαθίσταται ένας μεγάλος αριθμός αρχικών μεταβλητών, από ένα μικρότερο αριθμό νέων μεταβλητών, διατηρώντας όσο το δυνατόν περισσότερη από την διασπορά ή αλλιώς την πληροφορία των δεδομένων. Σκοπός της είναι ο γραμμικός συνδυασμός των αρχικών μεταβλητών ουτως ώστε να είναι ανεξάρτητες μεταξύ τους. Η PCA χρησιμοποιείται ευρέως αφού με αυτή τη μέθοδο αποκαλύπτονται οι μεταβλητές ή ο συνδυασμός των μεταβλητών που περιγράφουν κάποια πρωταρχική και εσωτερική δομή των δεδομένων. Επίσης, περιλαμβάνει μετατροπή και ίσως περιστροφή των αρχικών n-αξόνων που ο καθένας αναπαριστούσε μια μεταβλητή, σε νέους άξονες. Η μετατροπή αυτή επιτυγχάνεται με τέτοιο τρόπο ώστε οι νέοι άξονες που προκύπτουν να είναι ορθογώνιοι, δηλαδή οι νέες μεταβλητές να είναι μη συσχετιζόμενες. Οι νέες p-μεταβλητές είναι πολύ λιγότερες των n αρχικών. Τέλος, σημαντικό για την PCA αποτελεί το γεγονός ότι μειώνει τον αρχικό αριθμό των μεταβλητών, χρησιμοποιώντας κάποιο συνδυασμό αυτών. Επομένως σε μία τεράστια βάση δεδομένων αντί να χρησιμοποιήσουμε όλες τις μεταβλητές μπορούμε να χρησιμοποιήσουμε μόνο κάποιον αριθμό κύριων συνιστωσών.

Ο πρώτος γραμμικός συνδυασμός είναι γνωστός και ως πρώτο βασικό συστατικό ή κύρια συνιστώσα όπου και αντιπροσωπεύει και την μέγιστη διακύμανση. Αφού καθοριστεί η κύρια συνιστώσα, αναζητείται η δεύτερη κύρια συνιστώσα η οποία είναι επίσης κανονικοποιημένος γραμμικός συνδυασμός

των αρχικών n -μεταβλητών και απεικονίζει την μέγιστη από την απομένουσα διακύμανση και είναι ανεξάρτητος ως προς τον πρώτο. Η διαδικασία συνεχίζεται ώσπου να υπολογιστούν όλες οι βασικές συνιστώσες. Η απόφαση και το πιο σημαντικό βήμα της ανάλυσης αφορά στο ερώτημα πόσες συνιστώσες θα αξιοποιηθούν. Με σκοπό να μειώσουμε τις διαστάσεις του προβλήματος μας επιλέγουμε το μικρότερο δυνατό αριθμό συνιστωσών παρόλο που με αυτό το τρόπο χάνουμε ένα μέρος από την πληροφορία.

Τα δύο βασικά εργαλεία απεικόνισης για την PCA, είναι τα διαγράμματα φορτίσεων και συντεταγμένων (loading και score plots). Όσον αφορά τα διαγράμματα φορτίσεων, χρησιμοποιούν τις βασικές συνιστώσες και κάθε σημείο τους απεικονίζει τις αρχικές μεταβλητές. Αυτό που επιτυγχάνεται με αυτό τον τρόπο είναι είναι οι συσχέτιση παλαιών και νέων μεταβλητών. Οι μεταβλητές που έχουν σημαντική συμμετοχή στη διαμόρφωσή της κύριας συνιστώσας εμφανίζουν τα μεγαλύτερα loadings. Όσον αφορά τα διαγράμματα συντεταγμένων, χρησιμοποιούν οποιεσδήποτε δύο ή τρεις (συνήθως τις πρώτες) από τις βασικές συνιστώσες και κάθε σημείο τους (που αναπαριστά πλέον το δείγμα), απεικονίζεται κοντά σε αυτά που συσχετίζονται περισσότερο. Τα διαγράμματα των scores είναι εργαλεία για τον εντοπισμό αντικειμένων με ακραία συμπεριφορά (outliers) και αντικειμένων με παρόμοια συμπεριφορά (clusters)



Εικόνα 1.17: Σημεία στους άξονες: τα γαλάζια δηλώνουν τα αρχικά σημεία και τα λευκά τις προβολές τους στους άξονες

1.3.3 Επιβλεπόμενη Μάθηση

Ανάλυση Μερικών Ελαχίστων Τετραγώνων (Partial Least Squares Analysis, PLS)

Η μέθοδος Ανάλυσης Μερικών Ελάχιστων Τετραγώνων, PLS είναι η προέκταση της μεθόδου Ανάλυσης Κύριων Συνιστωσών, PCA και εφαρμόζεται, όταν είναι αναγκαία η σύνδεση της πληροφορίας ενός πίνακα Y που αποτελείται από αποκρίσεις (εξαρτημένες μεταβλητές) και του πίνακα X των περιγραφικών μεταβλητών. Στόχος της μεθόδου είναι να συσχετίσει τους δύο πίνακες. Αρχικά υπολογίζονται οι μέσοι όροι κάθε μεταβλητής και στους δύο πίνακες^[19,20,21]. Από το σημείο των μέσων όρων διέρχονται οι δύο πρώτες κύριες συνιστώσες που προσεγγίζουν όσο το δυνατό καλύτερα τα δεδομένα. Αύξηση του αριθμού των κύριων συνιστωσών βελτιώνει περισσότερο τη συσχέτιση. Η μέθοδος αξιολογείται με βάση το συντελεστή συσχέτισης R^2 της καμπύλης αναφοράς προβλεπόμενης συναρτήσεπραγματικής τιμής και την τετραγωνική ρίζα του μέσου των τετραγώνων των υπολοίπων (root mean square error, RMSE)

Ανάλυση Διακριτότητας Μερικών Ελαχίστων Τετραγώνων (Partial Least Squares Analysis, PLS-DA)

Η ανάλυση μερικών ελαχίστων τετραγώνων συνδυάζεται με την διαχωριστική ανάλυση (Partial Least Squares-Discriminant Analysis, PLS-DA). Η συγκεκριμένη μέθοδος είναι μία γραμμική μέθοδος κατηγοριοποίησης, η οποία χρησιμοποιεί την τεχνική μερικών ελαχίστων τετραγώνων με σκοπό τη διάκριση δειγμάτων βάσει της προκαθορισμένης τους ομάδας. Σε σύγκριση με άλλες μεθόδους ανάλυσης η ανάλυση διακριτότητας μερικών ελαχίστων τετραγώνων είναι μία μέθοδος κατάταξης που περιλαμβάνει δοκιμές για τον προσδιορισμό της διάστασης, στηρίζεται στην επιλογή των μεταβλητών σύμφωνα με την διαχωριστική τους ικανότητα να περιγράψουν το διαχωρισμό όχι μόνο των ομάδων αλλά και τη διάταξη των δειγμάτων στις ομάδες. Επομένως καθιστά δυνατόν να ελεγχθεί η ύπαρξη στατιστικά σημαντικών διαφορών μεταξύ δύο ή περισσότερων προκαθορισμένων κατηγοριών και να προσδιοριστούν οι ανεξάρτητες μεταβλητές που είναι κατά κύριο λόγο υπεύθυνες για τις διαφορές.

Ακόμα, μία επιβλεπόμενη μέθοδος κατηγοριοποίησης, που προκύπτει από την τροποποίηση του αλγορίθμου της PLS-DA, είναι η O-PLS-DA [22,23]. Η O-PLS-DA διαχωρίζει τις λανθάνουσες μεταβλητές που σχετίζονται με τη μεταβλητή απόκρισης, από αυτές που δεν σχετίζονται με τη μεταβλητή απόκρισης. Δηλαδή, η μέθοδος χρησιμοποιεί ορθογώνια διόρθωση, για να απομακρύνει έναν αριθμό λανθάνουσων μεταβλητών που διαφοροποιούν τα δείγματα χωρίς να σχετίζονται με την κατηγοριοποίηση των δειγμάτων (έχουν μηδενική συσχέτιση με τη μεταβλητή απόκρισης), με αποτέλεσμα να επιτυγχάνεται μεγιστοποίηση της συνδιακύμανσης, κατά μήκος της πρώτης λανθάνουσας μεταβλητής.

Οι τεχνικές PLS-DA και O-PLS-DA έχουν την ίδια ικανότητα πρόβλεψης διαφοροποιήσεων αλλά τα μοντέλα της τεχνικής O-PLS-DA μπορούν να ερμηνευθούν πιο εύκολα. Εφαρμόζοντας όμως την τεχνική O-PLS-DA η πληροφορία που σχετίζεται με τη διαφοροποίηση των δύο ομάδων δειγμάτων συνοψίζεται σε μία συνιστώσα η οποία ονομάζεται συνιστώσα πρόβλεψης και η ερμηνεία των μοντέλων είναι λιγότερο πολύπλοκη. Βάσει των παραπάνω, είναι προφανές πως η O-PLS-DA βοηθά στην ερμηνεία των αποτελεσμάτων όταν υπάρχουν παράγοντες υπεύθυνοι για τη διαφοροποίηση των δειγμάτων της ίδιας ομάδας, διαφορετικά δεν διαθέτει κάποιο πλεονέκτημα έναντι της PLS-DA.

1.3.4 Διασταυρούμενη επικύρωση μοντέλων

Η μέθοδος της διασταυρούμενης επικύρωσης (cross validation) αποτελεί μέθοδο εξέτασης που χρησιμοποιείται για να υπολογισθεί η απόδοση της κατηγοριοποίησης^[19,24]. Κατά την διάρκεια της συγκεκριμένης μεθόδου πραγματοποιείται μια επαναληπτική διαδικασία κατά την οποία διαγράφονται στοιχεία της μήτρας των δεδομένων κατά προδιαγραφμένο τρόπο. Η διασταυρούμενη επικύρωση είναι μια διαδικασία που πραγματοποιήθηκε σε κάθε μοντέλο εκπαίδευσης για την περισσότερη αξιοπιστία των αποτελεσμάτων. Η πιο συνηθισμένη μέθοδος που χρησιμοποιείται στην παρούσα εργασία είναι η μέθοδος venetian blinds, η οποία βασίζεται στην

επαναλαμβανόμενη εκτέλεση-έλεγχο του μαθηματικού αλγορίθμου με τον διαχωρισμό του πίνακα των δεδομένων σε επιμέρους ομάδες.

1.3.5 Προ-επεξεργασία δεδομένων

Κατά την επεξεργασία των αποτελεσμάτων τα δεδομένα υπέστησαν κάποια προ-επεξεργασία [19,25]. Η προ-επεξεργασία των δεδομένων έχει ως σκοπό είτε την εξάλειψη φαινομένων τα οποία δεν σχετίζονται με το προς μελέτη φαινόμενο, είτε με την ανάδειξη συγκεκριμένων στοιχείων των δεδομένων. Η πιο κλασσική μέθοδος που χρησιμοποιείται σε φασματοσκοπικά δεδομένα και θεωρείται απαραίτητη είναι η μέθοδος mean centering. Με την συγκεκριμένη μεθοδολογία επιτυγχάνεται ο καθορισμός ενός κοινού σημείου αναφοράς για όλες τις μεταβλητές όλων των δειγμάτων. Μια μέθοδος κανονικοποίησης των δεδομένων και χρησιμοποιήθηκε στην παρούσα εργασία είναι η μέθοδος Standard Normal Variate (SNV). Η διαδικασία αυτή θεωρείται ιδανική σε περιπτώσεις στις οποίες είναι επιθυμητή η ανάδειξη διαφοροποιήσεων μεταξύ των δειγμάτων, οι οποίες οφείλονται σε διαφορετική απόκριση μεταξύ των μεταβλητών και όχι σε διαφορετική απόκριση ως προς την ίδια μεταβλητή. Μια ακόμη προ-επεξεργασία που χρησιμοποιείται εξίσου είναι η μέθοδος Savitzky Golay. Με αυτή τη μέθοδο εξαλείφεται πιθανό τυχαίο σφάλμα στα δεδομένα αφού προκύπτει από την προσαρμογή ενός πολυωνύμου νιοστού βαθμού μεταξύ προκαθορισμένου αριθμού μεταβλητών για το εκάστοτε δείγμα. Τέλος για να αναδεικνύονται κάποιες μικρές και σημαντικές διαφοροποιήσεις μεταξύ των δειγμάτων και ωστόσο να εξαλείφεται ένα πιθανό συστηματικό σφάλμα (π.χ. θόρυβος υποβάθρου) ενδείκνυται η μέθοδος παραγώγισης των δεδομένων με πολυω νιμικές συναρτήσεις 1^{ου} και 2^{ου} βαθμού.

1.3.6 Λογισμικά και Επεξεργασία Φασματοσκοπικών Δεδομένων

Αρχικά τα δεδομένα συλλέγονται στα λογισμικά των φασματοσκοπικών οργάνων και στη συνέχεια μεταφέρονται σε φύλλα εργασίας του OriginLab^[26]. Τα φασματοσκοπικά δεδομένα προβάλλονται ως φάσματα απορρόφησης, φάσματα εκπομπής, φάσματα διέγερσης, φάσματα σύγχρονης σάρωσης και χάρτες φθορισμού. Ακολουθεί μελέτη των φασμάτων με σκοπό τη χημική τους ερμηνεία και τον εντοπισμό τάσεων μεταξύ των δειγμάτων. Στη συνέχεια τα φασματοσκοπικά δεδομένα εισάγονται στη μαθηματική πλατφόρμα Matlab R2015b^[27]. Στη μαθηματική πλατφόρμα Matlab υπάρχουν δύο επιλογές 1) η ανάλυση μέσω κάποιου κώδικα που έχει δημιουργηθεί ερασιτεχνικά από την επιστημονική μας ομάδα ή 2) η ανάλυση μέσω κάποιας εργαλειοθήκης (toolbox) η οποία εξειδικεύεται στην ανάλυση φασματοσκοπικών δεδομένων, όπως το PLS_Toolbox 8.1^[28].

Βιβλιογραφία

[1] Βαλαβανίδης Α. Βασικές Αρχές Μοριακής Φασματοσκοπίας και Εφαρμογές στην Οργανική Χημεία : Αλληλεπίδραση ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας και ύλης. Σύγχρονα Θέματα (2008), σσ. 19-23.

[2] Βαλαβανίδης Α. Βασικές Αρχές Μοριακής Φασματοσκοπίας και Εφαρμογές στην Οργανική Χημεία : Αλληλεπίδραση ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας και ύλης. Σύγχρονα Θέματα (2008), σσ. 23.

[3] Harris D.C. Quantitative Chemical Analysis. Macmillan, 2010.

[4] McGorin R.J. Food analysis techniques: Introduction. Encyclopedia of Analytical Chemistry, 2006.

[5] Βαλαβανίδης Α. Βασικές Αρχές Μοριακής Φασματοσκοπίας και Εφαρμογές στην Οργανική Χημεία: Υπεριώδης και ορατή φασματοσκοπία. Σύγχρονα Θέματα (2008), σσ. 217- 218.

[6] Βαλαβανίδης Α. Βασικές Αρχές Μοριακής Φασματοσκοπίας και Εφαρμογές στην Οργανική Χημεία: Υπεριώδης και ορατή φασματοσκοπία. Σύγχρονα Θέματα (2008), σσ. 33-38.

[7] B. Stuart, Infrared Spectroscopy: Fundamentals and Applications. John Wiley & Sons (2004)

[8] Siewsler H.W. *et al.* Near-Infrared Spectroscopy. Principles, Instruments, Applications. Wiley-VCH, Weinheim, 2002.

[9] Lewis I.R. *et al.* Handbook of Raman Spectroscopy, Marcel Dekker, New York, 2001.

[10] J. R. Lakowicz, Principles of Fluorescence Spectroscopy. Springer (2006)

[11] J. Christensen, L. Nørgaard, R. Bro, S. B. Engelsen, Multivariate Autofluorescence of Intact Food Systems. Chemical Reviews. 2005, 106 (6), 1979-1994

[12] J. R. Lakowicz, Instrumentation for Fluorescence Spectroscopy, in Principles of Fluorescence Spectroscopy, Ch. 2, Springer (2006)

[13] Locquet N. *et al.* 3D Fluorescence Spectroscopy and Its Applications. JohnWiley & Sons, Ltd, (2018).

- [14] LAMBDA 950 UV/Vis/NIR Spectrophotometer. [Online] Perkin Elmer. <http://www.perkinelmer.com/product/lambda-950-uv-vis-nirspectrophotometer-1950>
- [15] UV-1900 UV-VIS Spectrophotometer. [Online] Shimadzu. https://www.shimadzu.com/an/molecular_spectro/uv/uv-1900/index.html
- [16] Fluoromax Series [Online] Horiba Scientific. <http://www.horiba.com/uk/scientific/products/fluorescencespectroscopy/steady-state/fluoromax/fluoromax-series-524/>
- [17] Nicolet 6700 Thermoscientific, ATR mode [ONLINE] <https://mmrc.caltech.edu/FTIR/Nicolet/Nicolet%206700%20brochure.pdf>
- [18] T. M. Mitchell, Machine Learning, McGraw-Hill Education (ISE Editions), 1997
- [19] J.N. Miller, J.C Miller (Pearson, 2010) Statistics and Chemometrics for Analytical Chemistry 6th ed. BBS
- [20] E.K. Kemsley, Discriminant analysis of high-dimensional data: a comparison of principal components analysis and partial least squares data reduction methods, Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems, 1996, 33, 47-61
- [21] Wold S. *et al.* PLS-regression: a basic tool of chemometrics. Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems, 2001
- [22] Trygg J, Wold S. Orthogonal projections to latent structures (O-PLS). Journal of Chemometrics. 2002;16(3):119–28.
- [23] Bylesjo M, Rantalainen M, Cloarec O. OPLS discriminant analysis: Combining the strengths of PLS-DA and SIMCA classification. . Journal of Chemometrics. 2006;20(8-10):341-51.
- [24] Stone, W., *J. R. Stat. Soc.*, 1974, B38, 111
- [25] Ε. Πουλάκης «Εφαρμογή και ανάπτυξη μεθόδων φασματοσκοπίας απορρόφησης και φθορισμού στη μελέτη κρητικών ποικιλιών οίνου» Διδακτορική διατριβή, Πανεπιστημίου Κρήτης, Ηράκλειο 2017
- [26] OriginLab. [Online] <http://www.originlab.com/>
- [27] Mathworks. [Online] <https://www.mathworks.com/products/matlab.html>
- [28] PLS_Toolbox. [Online] Eigenvector Research Incorporated. [Online] http://eigenvector.com/software/pls_toolbox.htm

Κεφάλαιο 2: Οίνος

2.1 Οίνος και διάφορες κατηγορίες

Οίνος ορίζεται το οινοπνευματώδες ποτό προϊόν της ζύμωσης των σταφυλιών ή του χυμού τους (μούστος)^[1,2,3]. Ο οίνος είναι ιδιαίτερου ενδιαφέροντος για διάφορους λόγους. Είναι αφ' ενός ένα δημοφιλές ποτό που συνοδεύει και ενισχύει ένα ευρύ φάσμα ευρωπαϊκών και μεσογειακών γεύσεων, από τις πιο απλές και παραδοσιακές ως τις πιο σύνθετες και αφετέρου αποτελεί σημαντικό γεωργικό προϊόν που αντικατοπτρίζει την ποικιλία του εδάφους και το κλίμα ενός τόπου.

Τα χαρακτηριστικά από τα οποία διακρίνεται ένας οίνος εξαρτώνται από πολλούς παράγοντες. Σημαντικό διακριτικό κάθε οίνου είναι το χρώμα του όπου και διακρίνονται σε λευκά, κόκκινα και ροζέ. Επίσης οι οίνοι ταξινομούνται με το έτος της συγκομιδής σταφυλιών (τρύγος) οπότε και χρονολογούνται σύμφωνα με αυτό. Επιπλέον οι οίνοι μπορούν να ταξινομηθούν ως ξηροί, γλυκοί ή ημίγλυκοι. Η γλυκύτητα των οίνων μπορεί να μετρηθεί κατά τη διαδικασία της συγκομιδής αν και στην πράξη καθορίζεται από το ποσό των σακχάρων που παραμένουν στο οίνο μετά από τη ζύμωση. Τέλος υπάρχουν κάποιες ειδικές κατηγορίες όπως είναι ο αφρώδης οίνος, ο οποίος περιέχει και το διοξείδιο του άνθρακα που παράγεται κατά τη διάρκεια της ζύμωσης. Το διοξείδιο αυτό δεν εισάγεται επιπρόσθετα στο μπουκάλι εμφιάλωσης, όπως γίνεται στα αναψυκτικά καθώς αυτή η μέθοδος απαγορεύεται. Για τον εγκλωβισμό του διοξειδίου στη φιάλη χρησιμοποιούνται διάφορες μέθοδοι, είτε μέσω της εμφιάλωσης του κρασιού πριν ολοκληρωθεί η ζύμωση, είτε μέσω της ολοκλήρωσης της ζύμωσης σε αεροστεγείς δεξαμενές. Εκλεκτότερο παράδειγμα αφρώδους οίνου είναι η γαλλική Σαμπάνια.

Όμως, κατά κύριο λόγο, περαιτέρω κατηγοριοποίηση του οίνου πραγματοποιείται με βάση στην ποικιλία σταφυλιών από την οποία προέρχεται, την γεωγραφική του προέλευση και την αμπελουργική και οινοποιητική διαδικασία η οποία επιλέχθηκε.

Όσον αφορά τις γηγενείς ποικιλίες ανέρχονται περίπου στις διακόσιες, ενώ επικρατεί το φαινόμενο η ονομασία μιας ποικιλίας να αλλάζει από τόπο σε τόπο. Μόλις πενήντα από αυτές χρησιμοποιούνται συστηματικά για την παραγωγή οίνου ενώ λιγότερες από τριάντα έχουν αποκτήσει παγκόσμια φήμη. Κάποιες από αυτές είναι οι λευκές Αθήρι, Ασύρτικο, Βηλάνια, Μαλαγουζιά, Μοσχάτο και οι ερυθρές Αγιοργήτικο, Κοτσιφάλι, Μαντηλάρι, Λιάτικο, Μαυροδάφνη, Ξινόμαυρο.

Αναφορικά τα χαρακτηριστικά ορισμένων λευκών και ερυθρών ποικιλιών οίνου που μελετώνται στην παρούσα εργασία παρουσιάζονται παρακάτω¹¹:

Ασύρτικο

Μία από τις πιο αξιόλογες λευκές ποικιλίες της Μεσογείου και η πιο πολυδύναμη του ελληνικού αμπελώνα. Χαρακτηρίζεται από μεγάλη αντοχή σε ξηρασία, περονόσπορο, ωίδιο και βοτρυτή. Βρίσκεται στην Σαντορίνη όπου και παραμένει αυτοφυής αφού δεν προσβλήθηκε ποτέ από φυλλοξήρα. Διαθέτει μεγάλη προσαρμοστικότητα εξ ου και η μεγάλη του διασπορά ανά την Ελλάδα. Τα κρασιά που δίνει είναι υψηλής οξύτητας με υψηλό αλκοόλ παρά το γενικό κανόνα πολλά σάκχαρα-χαμηλή οξύτητα. Περιέχει αρκετά αρωματικά συστατικά που προσδίδουν μια πλούσια φρουτώδη γεύση. Χαρακτηρίζεται από

αρώματα εσπεριδοειδών και φρούτων, προσφέροντας χαρακτηριστική στυφάδα στο τελείωμα με συνήθως μακρά επίγευση.

Βιδιανό

Μια σπάνια λευκή ποικιλία της Κρήτης που δίνει κρασιά πολύπλοκα με αρωματική και γευστική ισορροπία. Προσφέρει κρασιά μέτριας οξύτητας με αρώματα που προσεγγίζουν όλη την ποικιλία των λευκών και των κίτρινων φρούτων και κυρίως των πυρηνόκαρπων όπως είναι το βερίκοκο, των εσπεριδοειδών αλλά και τα λευκών λουλουδιών.

Μοσχάτο Σπίνας

Λευκή ποικιλία που κατέχει το όνομά της από την κοινότητα της Σπίνας στην επαρχία Σελίνου Χανίων. Δίνει οίνους ξηρούς, υψηλόβαθμους με μέτρια οξύτητα και έντονα αρωματικούς. Αρώματα εσπεριδοειδών, ανανά και γκρέιπφρουτ ενώνονται με αρώματα μελιού και χαμομηλιού. Αυτό το πολύπλοκο μπουκέτο εμφανίζει στο στόμα πολύ καλή δομή με πλούσια λιπαρή γεύση και μεγάλης διάρκειας επίγευση.

Chardonnay

Μία κοσμοπολίτικη λευκή ποικιλία γαλλικής προέλευσης (περιοχή Βουργουνδίας) που καλλιεργείται σε όλα τα γεωγραφικά διαμερίσματα της Ελλάδας. Οι οίνοι που παρασκευάζονται από αυτήν την ποικιλία είναι ισορροπημένοι σε αλκοόλη και οξύτητα και αρκετά λιπαροί και πλούσιοι σε σώμα και άρωμα. Η πολυπλοκότητα των αρωμάτων αλλά και η ποιότητά τους είναι συνάρτηση της παλαίωσης των οίνων, δηλαδή ένας φρέσκος οίνος δίνει αρώματα εσπεριδοειδών και τροπικών φρούτων όμως όσο ωριμάζει στο βαρέλι δίνει αρώματα καπνού, βανίλιας, κηρύθρας και βουτύρου.

Σουλτανί

Αποτελεί επιτραπέζιο σταφύλι και καταναλώνεται φρέσκο αλλά και σε μορφή σταφίδας. Πολλοί οινοπαραγωγοί επιλέγουν να την οινοποίηση της ποικιλίας καθώς προσδίδει στους πολυποικιλιακούς οίνους υψηλό αλκοόλ χωρίς να επηρεάζει γεύση και άρωμα.

Κοτσιφάλι

Σε συνδυασμό με το Μαντηλάρι αποτελεί την πρώτη ύλη για τα ερυθρά Κρητικά κρασιά. Καλλιεργείται στην Κρήτη και κυρίως στον νομό Ηρακλείου. Δίνει οίνους ανοιχτού ερυθρού χρώματος, υψηλόβαθμους, με χαμηλή οξύτητα και άρωμα. Γι' αυτόν τον λόγο συνδυάζεται με το Μαντηλάρι αλλά και με το Syrah λόγω έλλειψης ταννινών και χρωστικών ουσιών.

Μαντηλάρι

Η αλλιώς Μανδηλαριά όπως την ονομάζουν στην υπόλοιπη Ελλάδα είναι μια από τις πιο πλούσιες σε χρώμα ερυθρές ποικιλίες του αιγαιοπελαγίτικου χώρου. Η ποικιλία αυτή χαρίζει ένα βαθύ κόκκινο χρώμα στους οίνους καθώς είναι πλούσια σε χρωστικές ουσίες και πολλές φορές χρησιμοποιείται σε αναμίξεις ώστε να ενισχυθεί το χρώμα ερυθρών οίνων από άλλες ποικιλίες. Χαρακτηρίζεται ως ζυηρή και αρκετά παραγωγική. Παράγει χαμηλόβαθμους με μέτρια οξύτητα οίνους που συνοδεύονται από χαμηλό pH λόγω της ποσότητας του τρυγικού οξέος.

Λιάτικο

Καλλιεργείται κυρίως στην Κρήτη και είναι ιδιαίτερα απαιτητικό καθώς είναι ευαίσθητο στις καιρικές συνθήκες. Δίνει οίνους υψηλόβαθμους λόγω της πρώιμης ωρίμανσης με ασθενές ερυθρό χρώμα και σχετικά υψηλή οξύτητα γι' αυτό αποφεύγεται η οινοποίησης της για την παραγωγή ερυθρών ξηρών οίνων αλλά προτιμάται για την παραγωγή γλυκών οίνων. Η ποικιλία αυτή είναι πρώιμη, γόνιμη και αρκετά παραγωγική με κρασιά που χαρακτηρίζονται από μοναδικά αρώματα αποξηραμένων φρούτων, βοτάνων και λουλουδιών.

Syrah

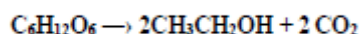
Ποικιλία που κυριαρχεί σε όλο σχεδόν τον αμπελώνα της Νότιας Γαλλίας που η προτίμησή της για ζεστό μεσογειακό κλίμα, καθιστά κατάλληλη την καλλιέργειά της στους ελληνικούς αμπελώνες. Η καλλιέργεια του Syrah έχει εξαπλωθεί σε 16 νομούς της Ελλάδας και ανάλογα με τις εδαφοκλιματικές συνθήκες μπορεί να δώσει οίνους λιγότερο ή περισσότερο δυνατούς, μέτριας οξύτητας με έντονο χρώμα και έντονα αρώματα. Η ποικιλία αυτή είναι γόνιμη και μέτρια παραγωγική. Συνήθως, στην Κρήτη συνδυάζεται με τις κλασικές ερυθρές ποικιλίες του νησιού όπως είναι το Κοτσιφάλι.

2.2 Χημική σύσταση οίνου

Ο οίνος είναι ένα πολύπλοκο μίγμα στον οποίο τα χημικά συστατικά που εμπεριέχοντα υπερβαίνουν τα 1000. Σε αυτό το μίγμα κυρίαρχο συστατικό είναι το νερό, όπου η περιεκτικότητα κυμαίνεται από 80-85% v/v. Η αιθανόλη με περιεκτικότητα 10-15% v/v βρίσκεται στην δεύτερη θέση ενώ το τρίτο σε συγκέντρωση χημικό στοιχείο είναι η γλυκερόλη. Σε μικρότερα ποσοστά εντοπίζονται οικογένειες ενώσεων όπως οργανικά οξέα, σάκχαρα, αλκοόλες, ανόργανα συστατικά, αζωτούχες ενώσεις, πτητικά συστατικά και φαινολικές ενώσεις και παίζουν καθοριστικό ρόλο στον οίνο.

2.2.1 Σάκχαρα

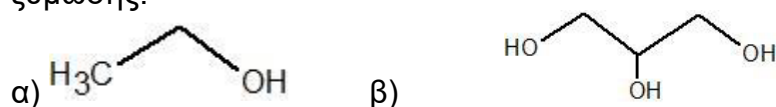
Τα σάκχαρα^[5] παίζουν καθοριστικό ρόλο στην οινοποίηση καθώς είναι οργανικά συστατικά όπου έπειτα την αλκοολική ζύμωση θα μετατραπούν σε αλκοόλη.



Τα σάκχαρα που συμμετέχουν στην αλκοολική ζύμωση είναι η γλυκόζη και η φρουκτόζη όπου και μετά το πέρας της η περιεκτικότητά τους αλλά και άλλων σακχάρων οδηγούν στην κατηγοριοποίησή του οίνου ως ξηρό- ημίξηρο- ημίγλυκο-γλυκό. Το ποσοστό των σακχάρων επηρεάζεται από πολλούς παράγοντες όπως είναι οι κλιματολογικές συνθήκες, η ποικιλία του σταφυλιού αλλά και η προσβολή από κάποιον μικροοργανισμό όπως ο μύκητας *Botrytis Cinerea*.

2.2.2 Αλκοόλες

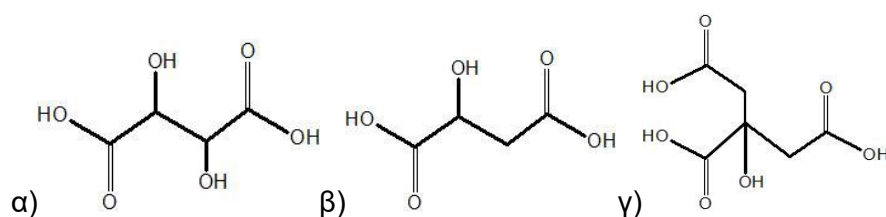
Μέρος του οίνου^[6] αποτελούν και οι αλκοόλες με πιο σημαντική και γνωστή στο ευρύ κοινό την αιθανόλη (Εικόνα 2.1). Αποτελεί το 10-16% του όγκου του οίνου και το κύριο προϊόν της αλκοολικής ζύμωσης. Μετά το νερό είναι το σημαντικότερο συστατικό του οίνου καθώς επηρεάζει την γεύση και το άρωμά του γι' αυτό και αποτελεί ένα από τα κριτήρια της ποιότητάς του. Ακόμη, διευκολύνει τη συντήρησή του καθώς οι χαμηλόβαθμοι οίνοι προσβάλλονται εύκολα από μικροοργανισμούς. Η γλυκερόλη (Εικόνα 2.1) η οποία ανήκει στην κατηγορία των πολύαλκοολών αποτελεί παρα-προϊόν της αλκοολικής ζύμωσης.



Εικόνα 2.1: Χημική δομή κύριων αλκοόλων του κρασιού α) αιθανόλη β) γλυκερόλη

2.2.3 Οργανικά οξέα

Στον οίνο^[7], τα οξέα που βρίσκονται σε περίσσεια σε σχέση με τις βάσεις και εμφανίζονται ως ελεύθερα οργανικά οξέα τα οποία είναι οι τελικοί ρυθμιστές της ολικής οξύτητας και του pH του μούστου και του οίνου. Τα κυριότερα οξέα του σταφυλιού είναι το τρυγικό, το μηλικό και το κιτρικό οξύ.



Εικόνα 2.2: Συντακτικός τύπος των κυριότερων οξέων α) Τρυγικό οξύ β) Μηλικό οξύ γ) Κιτρικό οξύ

Το τρυγικό οξύ δεν απαντάται σε άλλους καρπούς της φύσης εκτός από το σταφύλι. Συγκαταλέγεται στα ισχυρά οξέα και επηρεάζει το pH του οίνου σε μεγαλύτερο ποσοστό σε σχέση με τα άλλα οξέα. Η παρουσία του θωρακίζει τον οίνο όμως κατά την ωρίμανση μειώνεται σε ποσοστό προς σχηματισμό αλάτων, του όξινου τρυγικού καλίου και τρυγικού ασβεστίου. Το μηλικό οξύ το συναντάμε σε όλους τους ζωντανούς οργανισμούς. Στον οίνο εντοπίζεται στις ρώγες των σταφυλιών. Ανήκει στην οικογένεια των α-υδροξυ-καρβοξυλικών οξέων, καθώς τόσο το υδροξύλιο όσο και το καρβοξύλιο του είναι ενωμένα με το ίδιο άτομο άνθρακα. Το συγκεκριμένο οξύ είναι πολύ ευπαθές και οξειδώνεται εύκολα και γι' αυτόν τον λόγο η αναλογία του στον οίνο μειώνεται όσο ωριμάζει το σταφύλι.

Το κιτρικό οξύ αποτελεί κανονικό συστατικό του γλεύκους, βρίσκεται κυρίως στα κυτταρικά τοιχώματα και έτσι παραλαμβάνεται δύσκολα στο γλεύκος. Αποτελεί πιο σταθερό οξύ από το τρυγικό και το μηλικό γι' αυτό και επηρεάζεται λιγότερο κατά την ωρίμανση. Ακόμη, κατά την αλκοολική ζύμωση δεν επηρεάζεται η αναλογία του.

2.2.4 Αζωτούχες ενώσεις

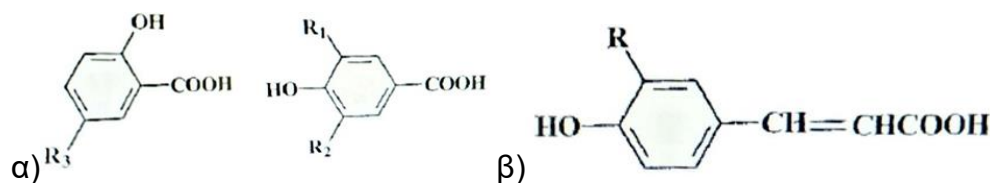
Στα οργανικά συστατικά του οίνου^[8] υπάρχουν και αζωτούχες ενώσεις που απαντώνται σε δύο μορφές: μία είναι οι πρωτεΐνες, τα πολυπεπτίδια και τα αμινοξέα και η άλλη τα αμμωνιακά άλατα. Η περιεκτικότητα και η αναλογία των δύο μορφών εξαρτάται από τον χρόνο παραμονής, την πίεση και τον βαθμό ωρίμανσης των σταφυλιών. Βρίσκονται στα στερεά μέρη του σταφυλιού και αξίζει να σημειωθεί ότι οι ερυθροί οίνοι είναι πλουσιότεροι σε αζωτούχες ενώσεις από τους λευκούς λόγω του χρόνου παραμονής των στέμφυλων με το γλεύκος. Αποτελούν θρεπτικά συστατικά των ζυμών και των βακτηρίων και συμβάλλουν στον αρωματικό χαρακτήρα του οίνου (πχ. φαινυλαλανίνη-άρωμα μπανάνας).

2.2.5 Φαινολικές ενώσεις

Οι φαινολικές ενώσεις^[9,10] στον οίνο αποτελούν μία ενδιαφέρουσα και σημαντική κατηγορία. Αποτελούνται από μία χαρακτηριστική ομάδα της φαινόλης και προέρχονται από τα στερεά μέρη του σταφυλιού γι' αυτό και υπάρχει διαφορά ανάμεσα στους λευκούς και ερυθρούς οίνους. Αυτές οι ενώσεις ευθύνονται για το χρώμα και τη γεύση (στυφάδα) του οίνου, του προσφέρουν αντιοξειδωτική και αντιβακτηριακή προστασία και έχουν σημαντικό ρόλο στην παλαίωσή του. Διακρίνονται στα φαινολικά οξέα, τις φλαβονοειδείς φαινόλες, τις ανθοκυάνες και τις ταννίνες.

Φαινολικά οξέα

Τα φαινολικά οξέα^[11] (μη φλαβονοειδείς φαινόλες) χωρίζονται στα βενζοϊκά (Εικόνα 2.3) και κινναμωμικά οξέα (Εικόνα 2.3) και προσθέτουν στον οίνο σημαντικές αντιβιοτικές και αντισηπτικές ιδιότητες. Αξίζει να αναφερθεί ότι οι ερυθροί οίνοι περιέχουν 100-150mg/L φαινολικά οξέα ενώ οι λευκοί οίνοι 10-15mg/L.



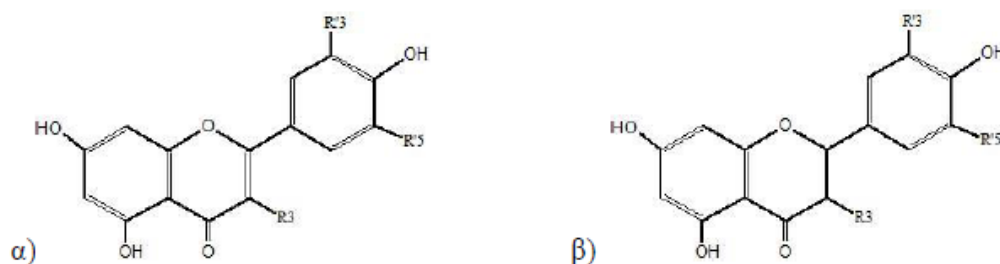
Εικόνα 2.3: α) Δομή των βενζοϊκών οξέων β) δομή των κινναμωμικών οξέων

Ανάλογα με τον υποκαταστάτη στις ομάδες R, R1, R2, R3 δημιουργούνται κι άλλες μορφές βενζοϊκών και κινναμωμικών οξέων. Από τα βενζοϊκά οξέα, το σταφύλι περιέχει κυρίως γαλλικό οξύ το οποίο βρίσκεται συνήθως υπό τη μορφή εστέρων των φλαβονολών-3 (κατεχίνων). Από τα κινναμωμικά οξέα, μια μικρή ποσότητα βρίσκεται σε ελεύθερη μορφή καθώς τα περισσότερα είναι εστεροποιημένα κυρίως με το τρυγικό οξύ ενώ κάποια άλλα είναι ενωμένα με γλυκόζη. Επίσης, οι οίνοι που έχουν παραμείνει για παλαίωση σε ξύλινο βαρέλι εμπεριέχουν επιπρόσθετα, βενζαλδεΰδες και κινναμωμικές αλδεΰδες.

Φλαβονοειδείς φαινόλες

Στην κατηγορία των φλαβονοειδών φαινολών^[12] περιλαμβάνονται φλαβόνες, οι φλαβονόλες, οι φλαβανόνες και οι φλαβανόλες. Η βασική τους δομή αποτελείται από ένα βενζοπυράνιο με ύδροξυ υποκαταστάτες ενωμένο με ένα επιπλέον βενζολικό δακτύλιο. Οι φλαβονόλες που χαρακτηρίζονται από ανοιχτό κίτρινο χρώμα και αφθονούν στα κουκούτσια, οι φλαβονόλες-3 (κατεχίνες) που υπάρχουν κυρίως στον φλοιό και στα γίγαρτα και οι φλαβονοδιόλες-3,4 (λευκοανθοκυάνες ή προκυανιδίνες) που υπάρχουν κυρίως στα γίγαρτα αλλά και στον φλοιό.

Εξαιτίας του ότι περιέχονται στον φλοιό των ρωγών του σταφυλιού απαντώνται μόνο στους ερυθρούς οίνους καθώς οι λευκοί οίνοι δεν ζυμώνονται με τα στέμφυλα και έτσι έχουν μόνο ίχνη των συστατικών αυτών χωρίς αυτά να συμμετέχουν στο σχηματισμό του χρώματος των λευκών οίνων.

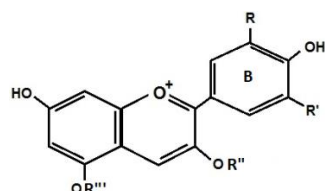


Εικόνα 2.4 : Φλαβονοειδή α) φλαβόνη (R3=H) , φλαβονόλη (R3=OH) β) φλαβανόνη (R3=H) , φλαβανόλη (R3=OH)

Ανθοκυάνες

Οι ανθοκυάνες^[13,14] είναι οι ερυθρές χρωστικές του σταφυλιού που βρίσκονται στην πλειοψηφία τους στον φλοιό των ρωγών με εξαίρεση κάποιες ποικιλίες όπου είναι χρωματισμένο και το σάρκωμα, όπως για παράδειγμα το μαντηλάρι όπου έχει μεγάλη περιεκτικότητα σε ταννίνη και χρωστικές στις ρώγες του καθώς αποτελεί μία από τις πιο πλούσιες σε χρώμα ερυθρές ποικιλίες. Εξαιτίας της ιδιότητας αυτής το γλεύκος χρησιμοποιείται για την ενίσχυση του χρώματος του γλεύκους άλλων ποικιλιών, όπως είναι το κοτσιφάλι, το αθήρι και το ασύρτικο.

Διακρίνονται διάφορες ανθοκυανιδίνες ανάλογα με τη μορφή του πλάγιου δακτυλίου B που διαφέρουν από τις ανθοκυάνες με προσθήκη ομάδων -OH στις θέσεις -OR^{''} και -OR^{'''} όπως φαίνεται στην παρακάτω εικόνα (εικόνα 2.5).



Εικόνα 2.5: Βασική δομή των ανθοκυανών.

Στις θέσεις R^{''} και R^{'''} μπορούν να προσκολληθούν σάκχαρα με επικρατέστερο την γλυκόζη δημιουργώντας τις ανθοκυάνες. Έτσι, σχηματίζονται μονογλυκοζίτες ή διγλυκοζίτες όπου οι τελευταίοι να αποτελούν μη οينوποιήσιμες ποικιλίες.

Ταννίνες

Οι ταννίνες^[15] αποτελούν προϊόντα πολυμερισμού των απλών φαινολών και υπάρχουν κυρίως στους φλοιούς, στους βόστρυχες και στα γίγαρτα γι' αυτό όσο περισσότερο χρόνο παραμένει το γλεύκος με τα στέμφυλα τόσο περισσότερες ταννίνες περιέχει ο οίνος οι οποίες δίνουν την στυφή γεύση. Παραλαμβάνονται είτε με εκχύλιση είτε με συμπύεση. Διακρίνονται στις υδρολυομένες και στις συμπυκνωμένες. Οι υδρολυομένες δεν περιέχονται στο σταφύλι αλλά προστίθενται στους οίνους κατά τις διάφορες κατεργασίες. Σύμφωνα με την δομή τους, είναι κατά κύριο λόγο πολυμερή του ελλαγικού οξέος (διμερές του γαλλικού οξέος) και της γλυκόζης όπου πάνω στην οποία προσκολλώνται διάφορες φαινολικές ενώσεις. Ενώ οι συμπυκνωμένες ταννίνες είναι οι φυσικές ταννίνες των σταφυλιών και των οίνων και αποτελούνται από μονομερή της φλαβανόλης-3 (κατεχίνη) και κυρίως της φλαβανεδιόλης-3,4 (λευκοανθοκυανιδίνη).



Εικόνα 2.6: Δομές των βασικών μονομερών που απαρτίζουν τις υδρολυομένες και συμπυκνωμένες ταννίνες.

Έχουν σημαντική αντιοξειδωτική δράση καθώς είναι αυτές που οξειδώνονται πρώτες προστατεύοντας τις χρωστικές του οίνου από την οξείδωση. Επίσης, έχουν την ικανότητα να σχηματίζουν μεγάλα σύμπλοκα με πρωτεΐνες τα οποία «καθαρίζουν» τον οίνο καθώς κατά την καταβύθισή τους παρασύρουν και διάφορα άλλα αιωρήματα. Όπως προαναφέρθηκε, οι παλαιωμένοι οίνοι έχουν κεραμιδί χρώμα που οφείλεται αποκλειστικά στις ταννίνες αφού αυτές εξακολουθούν να πολυμερίζονται κατά την παλαίωση μεταβάλλοντας το χρώμα των ερυθρών οίνων. Ακόμη, ιζηματοποιούνται με αποτέλεσμα την μείωση της στυφής γεύσης των οίνων.

2.3 Διαχωρισμός οίνων βάση της βοτανικής τους προέλευσης

Σύμφωνα με την ελληνική νομοθεσία, η οποία είναι εναρμονισμένη με την αντίστοιχη ευρωπαϊκή, τα εμφιαλωμένα κρασιά χωρίζονται σε δύο μεγάλες κατηγορίες: τους οίνους ονομασίας προέλευσης (Ο.Π.Α.Π. ή Ο.Π.Ε.) και τους επιτραπέζιους οίνους. Επομένως ο χαρακτηρισμός της βοτανικής προέλευσης του οίνου είναι ένα ζήτημα που διεγείρει το ενδιαφέρον τόσο από τους παραγωγούς όσο από τους καταναλωτές.

Για τον σκοπό της παρούσας εργασίας συλλέχθηκαν μονοποικιλιακά δείγματα οίνου από 9 οινοποιεία του Νομού Ηρακλείου σε δύο χρονικές περιόδους, τον Νοέμβριο του 2017.

2.3.1 Πειραματικό μέρος

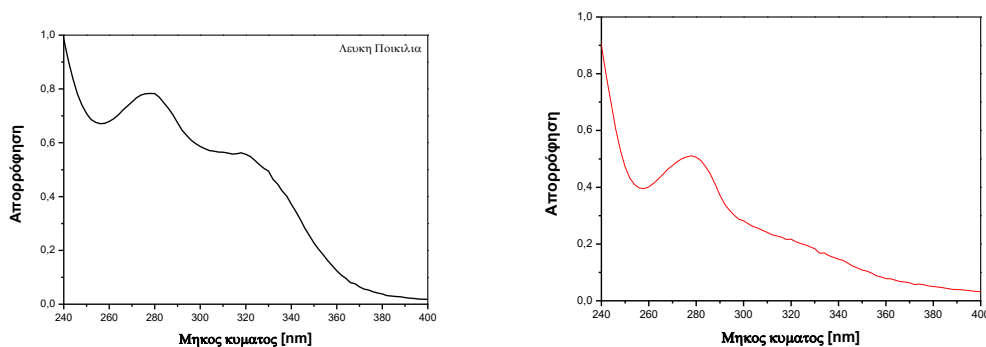
Η συλλογή γινόταν απευθείας από τις δεξαμενές ή τα βαρέλια ή τις εμφιαλώσεις σε γυάλινα φιαλίδια των 25ml. Έπειτα γινόταν οι απαραίτητες αραιώσεις με υπερ-κάθαρο νερό, 1:20 για τους λευκούς οίνους και 1:100 για τους ερυθρούς οίνους ώστε να μετρηθούν στην περιοχή του UV (240-400nm). Ο λόγος των αραιώσεων έχει καθιερωθεί ως ο βέλτιστος έπειτα από προηγούμενες πειραματικές διαδικασίες ώστε οι τιμές της απορρόφησης να κυμαίνονται σε ένα εύρος τιμών 0-1,5 και να αποφευχθεί το σφάλμα της μέτρησης. Καθώς, η ένταση της απορρόφησης με τιμές μεγαλύτερες της μονάδας δεν ακολουθεί την γραμμικότητα σύμφωνα με τον νόμο του Beer-Lambert.

Φασματοσκοπία Απορρόφησης

Περιοχή UV 240-400nm

Για την μέτρηση απορρόφησης στο υπεριώδες 240-400 nm χρησιμοποιήθηκε το φασματοφωτόμετρο Perkin Elmer Lambda 950. Το βήμα της σάρωσης ορίστηκε στα 2 nm και θεωρείται κατάλληλο καθώς ο οίνος χαρακτηρίζεται με φασματικές ταινίες εύρους 10-100 nm. Η οπτική διαδρομή των κυψελίδων οι οποίες χρησιμοποιούνται είναι 10mm για το υπεριώδες και στο δείγμα είχαν γίνει οι απαραίτητες αραιώσεις.

Ενδεικτικά στην Εικόνα 2.7 φαίνεται ένα φάσμα απορρόφησης στο υπεριώδες 240-400 nm μιας λευκής ποικιλίας (βιδιανό) και μιας ερυθρής ποικιλίας (κοτσιφάλι). Οι φαινολικές ενώσεις στον οίνο είναι υπεύθυνες για την απορρόφηση στα 240-400nm και η μοριακή δομή όλων των φαινολικών ενώσεων αποτελείται από βενζολικούς δακτυλίους^[16,17,18,19]. Στα 280nm παρατηρείται το μέγιστο της πρώτης κορυφής και συνδέεται με τα βενζοϊκά οξέα, τα φλαβονοειδή και τις ανθοκυάνες. Μια μπάντα απορρόφησης η οποία εμφανίζει μέγιστο στα 320nm σχετίζεται με τα κινναμωνικά οξέα και τα φλαβονοειδή.

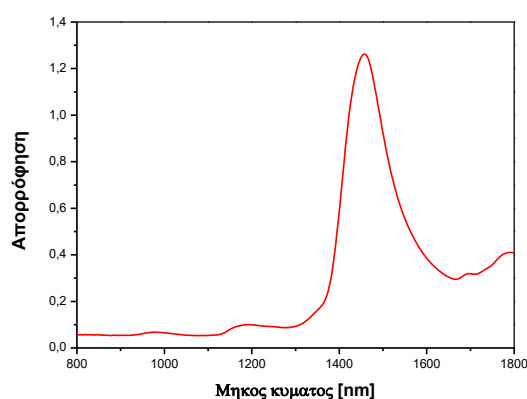


Εικόνα 2.7: Φάσμα απορρόφησης στο υπεριώδες 240-400 nm α) μιας λευκής ποικιλίας (βιδιανό) και β) μιας ερυθρής ποικιλίας (κοτσιφάλι).

Περιοχή NIR 800-1600nm

Για την μέτρηση απορρόφησης στο υπέρυθρο 800-1600 nm χρησιμοποιήθηκε το φασματοφωτόμετρο Perkin Elmer Lambda 950. Το βήμα της σάρωσης ορίστηκε στα 2 nm, η οπτική διαδρομή των κυψελίδων οι οποίες χρησιμοποιούνται είναι 1mm και στο υπέρυθρο στο δείγμα δεν γίνεται καμιά προεπεξεργασία.

Στην Εικόνα 2.8 φαίνεται το φάσμα απορρόφησης ενός οίνου στην υπέρυθρη περιοχή 800-1600nm^[20]. Στην συγκεκριμένη περιοχή τα φάσματα απορρόφησης ενός λευκού και ενός ερυθρού οίνου είναι πανομοιότυπα. Στο φάσμα απορρόφησης εμφανίζονται τρεις κορυφές, η πρώτη με την μεγαλύτερη ένταση στα 1450nm λόγω της δόνησης δεσμού O-H του νερού και της αιθανόλης, η δεύτερη στα 1690nm και η τρίτη στα 1790nm λόγω της δόνησης των δεσμών C-H.



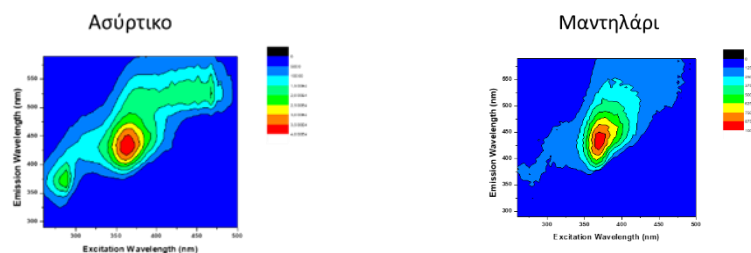
Εικόνα 2.8 : Φάσμα απορρόφησης ενός οίνου στην υπέρυθρη περιοχή 800-1600nm

Φασματοσκοπία Φθορισμού

Για την μέτρηση του φθορισμού στα δείγματα του οίνου χρησιμοποιήθηκε το φασματοφθορισμόμετρο Fluoromax-P της Horiba. Το δείγμα τοποθετείται σε κυψελίδα από χαλαζία των 10mm χωρίς προεπεξεργασία και οι μετρήσεις πραγματοποιούνται σε διάταξη εμπρόσθιας όψης (Front-Face) σε γωνία 35 μοιρών και σάρωση σε ένα εύρος μηκών κύματος διέγερσης από 260 έως 500nm με βήμα ανά 4nm και σε ένα εύρος μηκών κύματος εκπομπής από 290 έως 590nm με βήμα 5nm. Ο χρόνος σάρωσης ορίστηκε στα 0,2s και η απεικόνιση του φαινομένου έγινε μέσω χαρτών φθορισμού.

Ενδεικτικά στην Εικόνα 2.9 παρουσιάζονται δύο χάρτες φθορισμού μιας λευκής (ασύρτικο) και μιας ερυθρής (μαντηλάρι) ποικιλίας. Οι δύο κύριες περιοχές που παρατηρούνται είναι^[21,22,23,24]:

1. Διέγερση στα 280nm με εκπομπή στα 360nm που οφείλεται στα φαινολικά οξέα, τα φλαβονοειδή αλλά και στις πρωτεΐνες.
2. Διέγερση στα 330-360nm με εκπομπή στα 450nm που οφείλεται στα φλαβονοειδή και τα στιλβενοειδή.



Εικόνα 2.9: Χάρτης φθορισμού α) μιας λευκής (ασύρτικο) και β) μιας ερυθρής (μαντηλάρι) ποικιλίας.

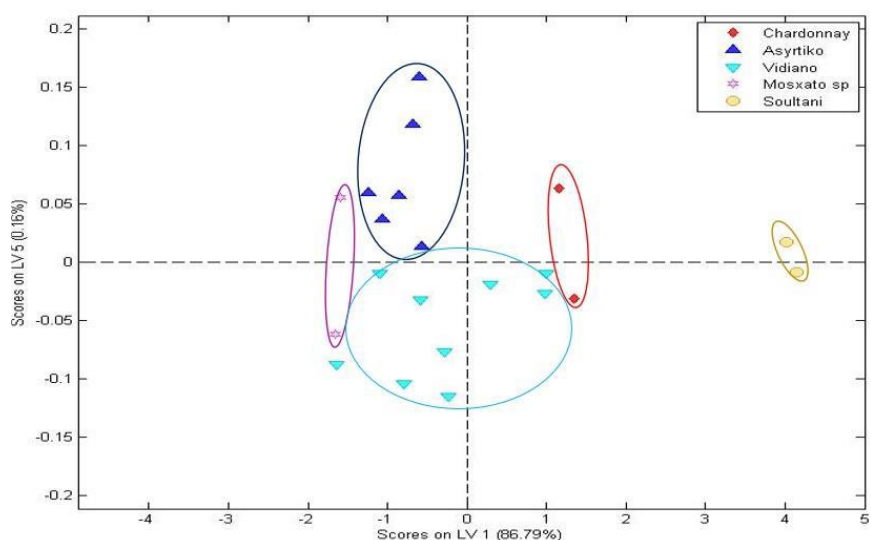
Οι μετρήσεις των δειγμάτων, δηλαδή μέτρηση απορρόφησης στις περιοχές UV, NIR και φθορισμού γίνονταν την ίδια μέρα ή την επόμενη της συλλογής τους για αποφυγή πιθανής αλλοίωσής τους. Μέχρι την στιγμή της μέτρησης, αποθηκεύονταν σε θερμοκρασία δωματίου, σε σκοτεινό μέρος εντός του εργαστηρίου. Επίσης, λήφθηκαν και οι απορροφήσεις στην περιοχή του ορατού για τους ερυθρούς οίνους, ωστόσο, δεν μπορούσε να πραγματοποιηθεί διαχωρισμός των οίνων βάση της βοτανικής τους προέλευσης μέσω της συγκεκριμένης περιοχής.

2.3.2 Διαχωρισμός οίνων βάση της βοτανικής τους προέλευσης με Φασματοσκοπία Απορρόφησης Υπεριώδους

Λευκές ποικιλίες

Τα φασματοσκοπικά δεδομένα της απορρόφησης στο υπεριώδες 240-400nm για τις πέντε λευκές ποικιλίες οίνων χρησιμοποιήθηκαν για την εκπαίδευση του επόμενου μοντέλου με την ανάλυση διακρίτοτητας μερικών ελαχίστων τετραγώνων (PLS-DA). Το μαθηματικό μοντέλο εκπαιδεύτηκε με 21 δείγματα, εκ των οποίων 9 ήταν ποικιλίας βιδιανό, 6 ασύρτικο, 2 μοσχάτο σπίνας, 2 σουλτανί και 2 chardonnay. Κατά την εξέταση των φασματοσκοπικών δεδομένων μέσω αυτής της μεθόδου, θεωρείται γνωστή η κατηγορία του κάθε οίνου. Με σκοπό την εξάλειψη τυχαίων ή συστηματικών σφαλμάτων και για να οφείλεται ο διαχωρισμός μόνο σε φασματοσκοπικά δεδομένα, επιλέχθηκε για το συγκεκριμένο μοντέλο η μέθοδος mean center. Το μαθηματικό μοντέλο που δημιουργήθηκε αποτελείται από 5 λανθάνουσες μεταβλητές. Η αξιοπιστία του μαθηματικού μοντέλου ελέγχθηκε με την μέθοδο διασταυρούμενης επικύρωσης venetian blinds. Από την προβολή των φασμάτων των δειγμάτων στην πρώτη λανθάνουσα μεταβλητή με την πέμπτη λανθάνουσα μεταβλητή, οι οποίες περιγράφουν το 86,95% της διακύμανσης των φασματικών δεδομένων, προκύπτει το score plot (Εικόνα 2.10). Από το score plot παρατηρείται η απόλυτη διαφοροποίηση της ποικιλίας σουλτανί και του μοσχάτου σπίνας βάσει της πρώτης λανθάνουσας μεταβλητής, ενώ βάσει της πέμπτης λανθάνουσας μεταβλητής, η διαφοροποίηση της ποικιλίας ασύρτικο και του βιδιανού. Όσον αφορά τα δείγματα της ποικιλίας Chardonnay δεν παρατηρείται καλός διαχωρισμός. Τα συμπεράσματα αυτά επιβεβαιώνονται και από την απεικόνιση των αποτελεσμάτων μέσω των τετραγωνικών πινάκων για το

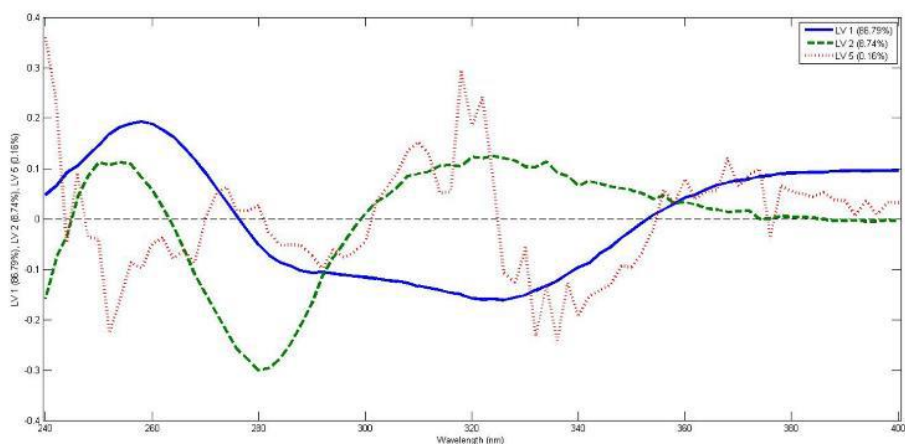
συγκεκριμένο μοντέλο (Πίνακας 2.1) . Τα αντίστοιχα loading plots (Εικονά 2.11) για την πρώτη και πέμπτη λανθάνουσα μεταβλητή υποδεικνύουν τις φασματικές περιοχές οι οποίες είναι υπεύθυνες για τον παρατηρούμενο διαχωρισμό. Οι φασματικές περιοχές που υποδεικνύουν οι δύο λανθάνουσες μεταβλητές είναι παρόμοιες. Η κύρια διαφοροποίηση των ποικιλιών εξαρτάται από το σύνολο των φαινολικών οξέων καθώς η θετική αλλά και η αρνητική συσχέτιση είναι στα 260nm και 320nm.



Εικόνα 2.10: Διάγραμμα συσχέτισης (score plot) με βάση την πρώτη και τρίτη λανθάνουσα μεταβλητή για τον διαχωρισμό των λευκών κρασιών βάση της βοτανικής τους προέλευσης βασιζόμενη στα φασματοσκοπικά δεδομένα της Απορρόφησης Υπεριώδους.

Πίνακας 2.1: Πίνακας κατάταξης ποικιλιών κρασιού

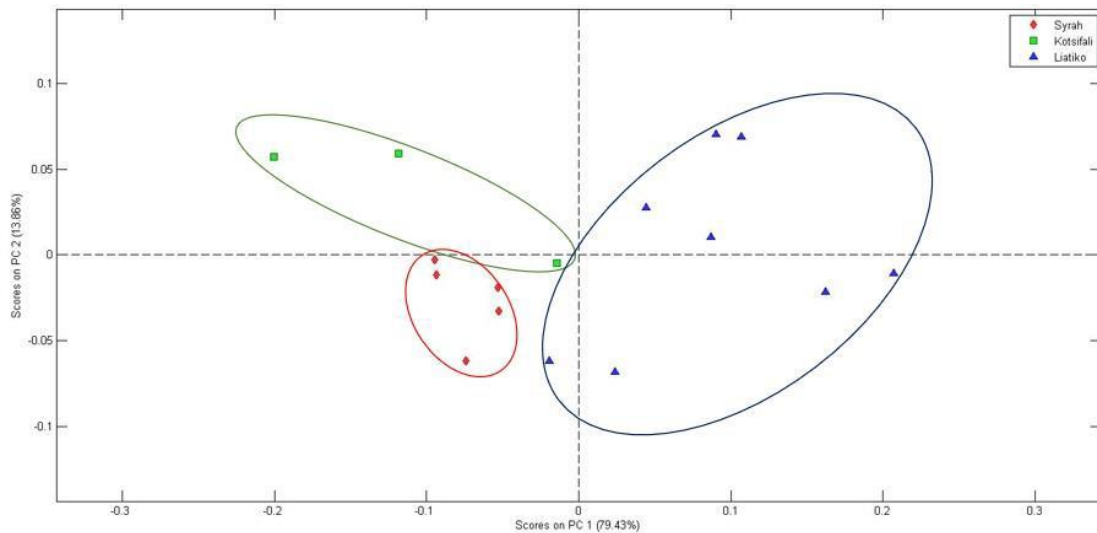
	Chardonnay	Ασύρτικο	Βιδιανό	Μοσχάτο Σπίνας	Σουλτανί
Πρόβλεψη ως Chardonnay	0	1	1	0	0
Πρόβλεψη ως Ασύρτικο	0	4	2	0	0
Πρόβλεψη ως Βιδιανό	2	1	6	0	0
Πρόβλεψη ως Μοσχάτο Σπίνας	0	0	0	2	0
Πρόβλεψη ως Σουλτανί	0	0	0	0	2



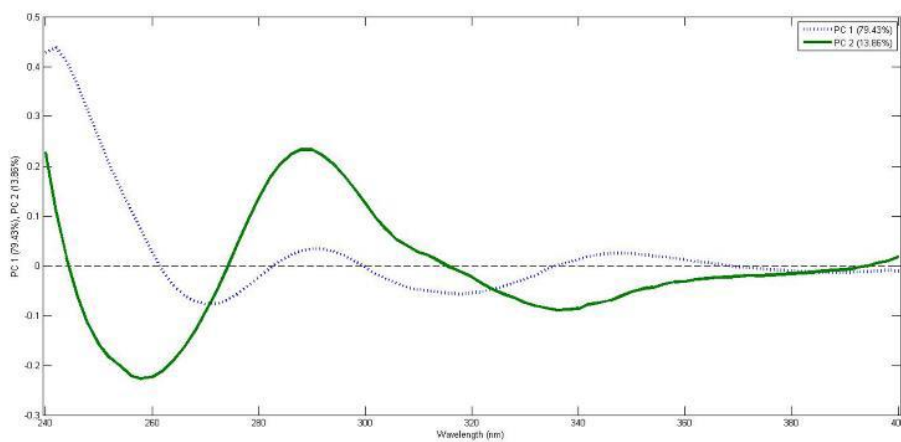
Εικόνα 2.11: Loading plots για την πρώτη, τρίτη, πέμπτη λανθάνουσα μεταβλητή

Ερυθρές ποικιλίες

Τα φασματοσκοπικά δεδομένα της απορρόφησης στο υπεριώδες 240-400nm για τις τρεις ερυθρές ποικιλίες οίνων χρησιμοποιήθηκαν για την εκπαίδευση του επόμενου μοντέλου με την ανάλυση κύριων συνιστωσών (PCA). Το μαθηματικό μοντέλο εκπαιδεύτηκε με 16 δείγματα, εκ των οποίων 8 ήταν ποικιλίας λιάτικο, 5 syrah και 3 κοτσιφάλι. Η προ-επεξεργασία των δεδομένων έγινε με την μέθοδο mean center. Στο μαθηματικό μοντέλο που δημιουργήθηκε επιλέχθηκαν 2 κύριες συνιστώσες, οι οποίες περιγράφουν το 93,29% της διακύμανσης των φασματοσκοπικών δεδομένων. Η προβολή των δειγμάτων στις δύο πρώτες κύριες συνιστώσες (Εικόνα 2.12) δείχνει έναν ικανοποιητικό διαχωρισμό μεταξύ των τριών ερυθρών ποικιλιών. Από τα αντίστοιχα loading plots (Εικόνα 2.13) που ακολουθούν, η απορρόφηση που δίνει κορυφές στα 290nm και 330nm είναι υπεύθυνη για τον διαχωρισμό και οφείλεται στην οικογένεια των φαινολικών ενώσεων και ειδικότερα των φαινολικών οξέων.



Εικόνα 2.12: Διάγραμμα συσχέτισης (score plot) με βάση την πρώτη και δεύτερη λανθάνουσα μεταβλητή για τον διαχωρισμό των ερυθρών κρασιών βάσει της βοτανικής τους προέλευσης βασισμένη στα φασματοσκοπικά δεδομένα της Απορρόφησης Υπεριώδους



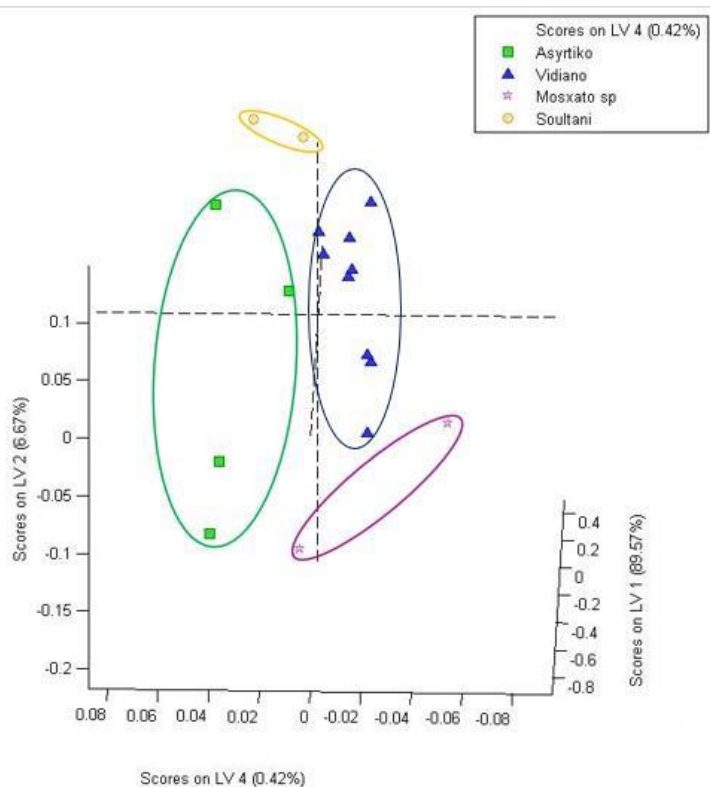
Εικόνα 2.13: Loading plots για την πρώτη και δεύτερη κύρια συστατική

2.3.3 Διαχωρισμός οίνων βάσει της βοτανικής τους προέλευσης με Φασματοσκοπία Απορρόφησης Υπέυρου

Λευκές ποικιλίες

Τα φασματοσκοπικά δεδομένα της απορρόφησης στο υπέρυθρο 800-1600nm για τις τέσσερις λευκές ποικιλίες οίνων χρησιμοποιήθηκαν για την εκπαίδευση του επόμενου μοντέλου με την ανάλυση διακρίτοτητας μερικών ελαχίστων τετραγώνων (PLS-DA). Το μαθηματικό μοντέλο εκπαιδεύτηκε με 19 δείγματα, εκ των οποίων 9 ήταν ποικιλίας βιδιανό, 6 ασύρτικο, 2 μοσχάτο σπίνας και 2 σουλτανί. Στο συγκεκριμένο μοντέλο δεν συμπεριλήφθηκαν τα δύο δείγματα της ποικιλίας chardonnay. Για το συγκεκριμένο μοντέλο η προ-

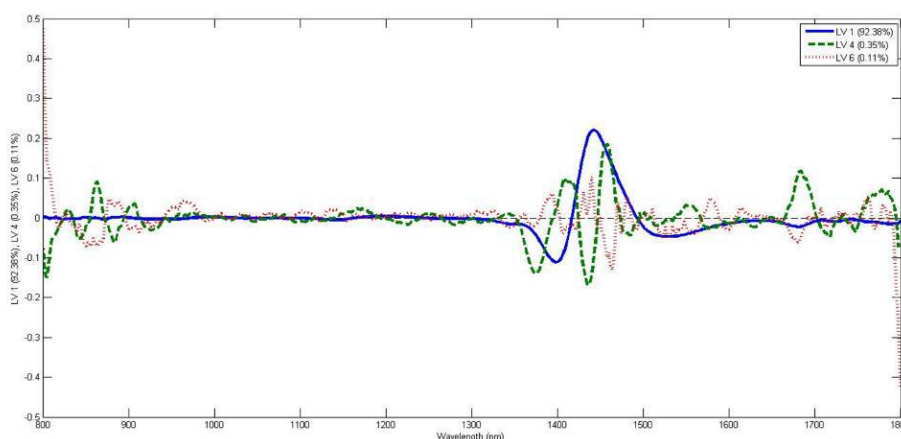
επεξεργασία των φασματικών δεδομένων που επιλέχθηκε ήταν η εφαρμογή της μεθόδου Savitzky-Golay και η μέθοδος mean center. Το μαθηματικό μοντέλο που δημιουργήθηκε αποτελείται από 4 λανθάνουσες μεταβλητές και η αξιοπιστία του μαθηματικού μοντέλου ελέγχθηκε με την μέθοδο διασταυρούμενης επικύρωσης venetian blinds. Από την προβολή των φασμάτων των δειγμάτων στην πρώτη λανθάνουσα μεταβλητή, την δεύτερη λανθάνουσα μεταβλητή και την τέταρτη λανθάνουσα μεταβλητή, οι οποίες περιγράφουν το 96,66% της διακύμανσης των φασματικών δεδομένων σε τρισδιάστατη απεικόνιση (Εικόνα 2.14), παρατηρείται ένας ικανοποιητικός διαχωρισμός μεταξύ των τεσσάρων λευκών ποικιλιών. Ωστόσο, από τα αποτελέσματα στον πίνακα παρατηρείται η αδυναμία του μοντέλου να προβλέψει τις ποικιλίες σουλτανί και μοσχάτο σπίνας καθώς και το χαμηλό ποσοστό επιτυχίας στην ποικιλία ασύρτικο. Οι κορυφές που εμφανίζονται στο φάσμα στην περιοχή αυτή είναι στα 1450nm, στα 1690nm και στα 1790nm οι οποίες οφείλονται σε υπέρτονους δονήσεων των μορίων του νερού, της αιθανόλης και άλλων οργανικών ενώσεων που εμπεριέχονται στον οίνο. Από τα αντίστοιχα loading plots (εικόνα) επιβεβαιώνεται ότι η διαφοροποίηση που παρατηρείται οφείλεται στις συγκεκριμένες κορυφές. Η αποτυχία πρόβλεψης του μοντέλου μπορεί να εξηγηθεί από το γεγονός ότι οι οίνοι που μελετήθηκαν δεν ήταν αρκετά ώριμοι ούτως ώστε να μπορέσει η εκάστοτε ποικιλία να αναδείξει πλήρως τα χαρακτηριστικά της.



Εικόνα 2.14 : Διάγραμμα συσχέτισης (score plot) με βάση την πρώτη, την δεύτερη και την τέταρτη λανθάνουσα μεταβλητή για τον διαχωρισμό των λευκών κρασιών βάσει της βοτανικής τους προέλευσης βασισμένη στα φασματοσκοπικά δεδομένα της Απορρόφησης Υπέρυθρου.

Πίνακας 2.2: Πίνακας κατάταξης λευκών ποικιλιών κρασιού

	Ασσύρτικο	Βιδιανό	Μοσχάτο Σπίνας	Σουλτανί
Πρόβλεψη ως Ασσύρτικο	2	1	1	1
Πρόβλεψη ως Βιδιανό	2	6	1	1
Πρόβλεψη ως Μοσχάτο Σπίνας	2	2	0	0
Πρόβλεψη ως Σουλτανί	0	0	0	0



Εικόνα 2.15: Loading plots για τη πρώτη , τέταρτη και έκτη λανθάνουσα μεταβλητή

Ερυθρές ποικιλίες

Τα φασματοσκοπικά δεδομένα της απορρόφησης στο υπέρυθρο 800-1600nm για τις ερυθρές ποικιλίες οίνων χρησιμοποιήθηκαν για την εκπαίδευση του μοντέλου της ανάλυσης κύριων συνιστωσών, ωστόσο δεν υπήρξε κάποιος διαχωρισμός λόγω του γεγονός ότι οι οίνοι που μελετήθηκαν βρισκόταν σε στάδιο που η ωρίμανση και η ανάδειξη των χαρακτηριστικών τους δεν είχε διαμορφωθεί.

2.3.4 Διαχωρισμός οίνων βάση της βοτανικής τους προέλευσης με Φασματοσκοπία Φθορισμού

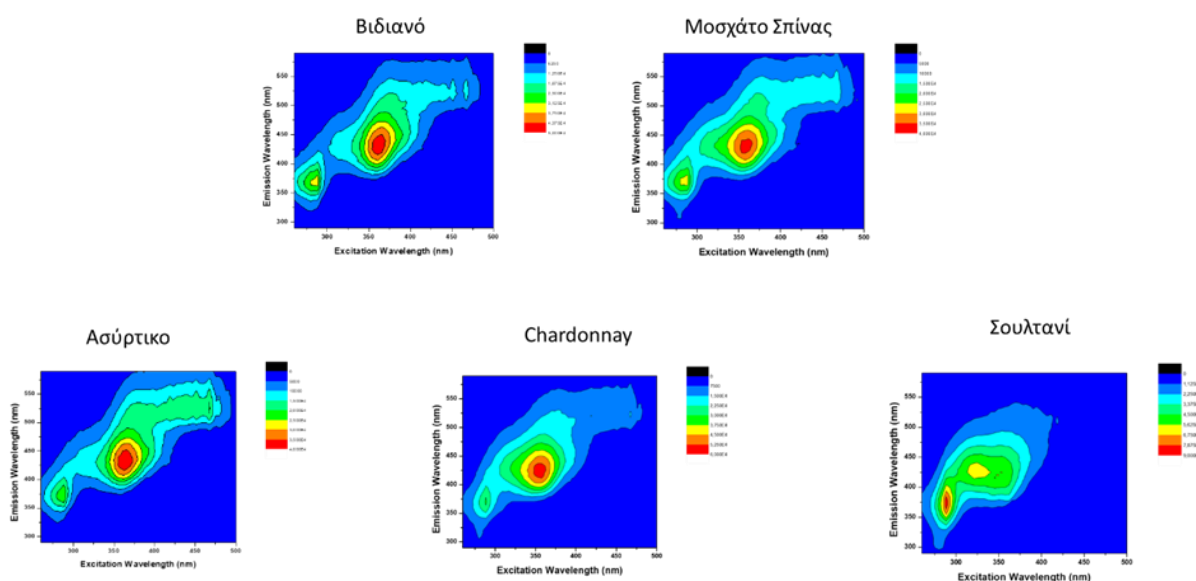
Λευκές ποικιλίες

Ο διαχωρισμός των λευκών ποικιλιών που μελετήθηκαν στην παρούσα εργασία, όπως προαναφέρθηκε, επειδή οι οίνοι δεν ήταν σε αρκετά ώριμο στάδιο δεν είχαν αναδειχθεί πλήρως τα χαρακτηριστικά των οίνων της εκάστοτε ποικιλίας και επομένως ο διαχωρισμός τους ήταν πιο δύσκολος. Επομένως

όταν εκπαιδεύτηκε ένα μοντέλο PCA με τα φασματοσκοπικά δεδομένα φθορισμού των λευκών ποικιλιών δεν έγινε με επιτυχία ο διαχωρισμός. Επίσης ένας ακόμα λόγος για τα χαμηλά ποσοστά επιτυχίας των μοντέλων οφείλεται στο γεγονός ότι δεν υπάρχει μεγάλος αριθμός δειγμάτων.

Η απεικόνιση των μετρήσεων φθορισμού με χάρτες φθορισμού (Emission Excitation Matrices- EEMs) βοηθάει στην βαθύτερη κατανόηση του φαινομένου. Μέσω των χαρτών λαμβάνεται το «δαχτυλικό αποτύπωμα» κάθε ποικιλίας οίνου καθώς μεταξύ τους διαφέρουν τα φθορίζοντα συστατικά, γεγονός που βοηθάει στην ταυτοποίησή τους. Τρεις μεγάλες ομάδες ενώσεων φθορίζουν στον οίνο: οι φαινολικές ενώσεις, τα αμινοξέα, οι βιταμίνες και οι πρωτεΐνες.

Ενδεικτικά ακολουθούν παρακάτω ορισμένοι χάρτες φθορισμού από το σύνολο των λευκών ποικιλιών που μελετήθηκαν. Οι διαφορές μεταξύ τους εντοπίζονται σε διάφορες περιοχές, όμως παρατηρούνται και αρκετές ομοιότητες, κυρίως για τις ποικιλίες βιδιανό, μοσχάτο σπίνας, ασύρτικο και chardonnay. Έτσι, επιβεβαιώνεται το γεγονός ότι αν ήταν σε πιο προχωρημένο στάδιο ωρίμανσης θα είχε επιτεχθεί διαχωρισμός. Μόνο για την ποικιλία σουλτανί μπορούμε να εντοπισούμε περισσότερες διαφορές σε σχέση με τις υπόλοιπες ποικιλίες.

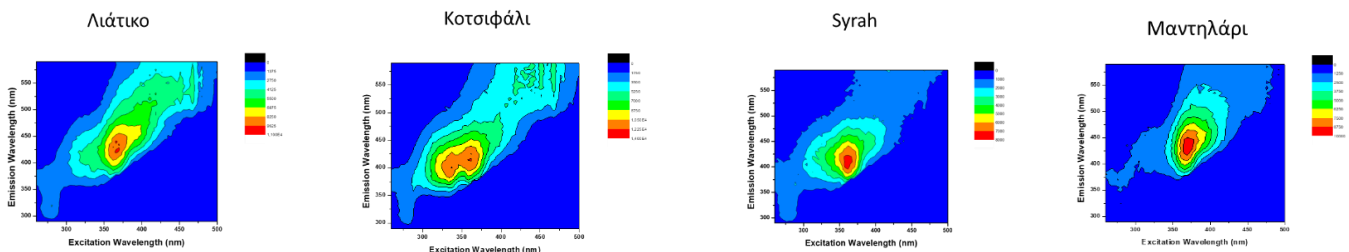


Εικόνα 2.16 : Χάρτες φθορισμού λευκών ποικιλιών

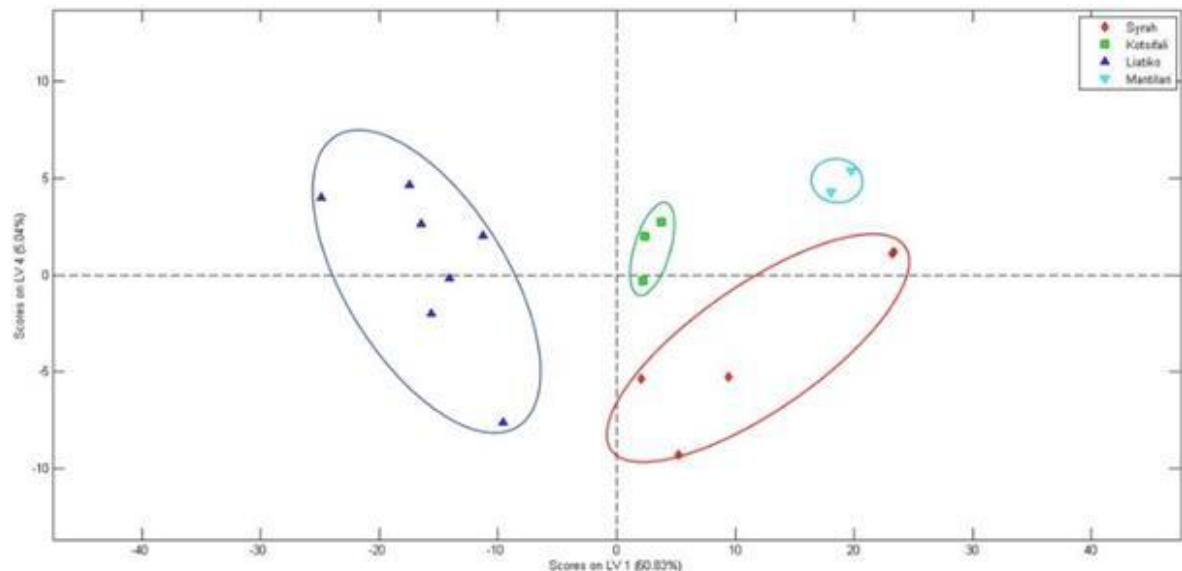
Ερυθρές ποικιλίες

Τα φασματοσκοπικά δεδομένα των χαρτών του φθορισμού χρησιμοποιήθηκαν για την εκπαίδευση του μοντέλου με την ανάλυση διακρίσιμης μερικών ελαχίστων τετραγώνων (PLS-DA). Η επιλογή των χαρτών φθορισμού έγινε διότι δίνει μια πληρέστερη εικόνα για τον φθορισμό των οίνων. Εναλλακτικά, είναι δυνατό να χρησιμοποιηθούν φάσματα διέγερσης, εκπομπής ή σύγχρονης σάρωσης. Όμως αυτά τα φάσματα δεν αντιπροσωπεύουν ολόκληρη την πληροφορία για τον φθορισμό των οίνων. Το

μαθηματικό μοντέλο που δημιουργήθηκε εκπαιδεύτηκε με 21 δείγματα, εκ των οποίων 9 ήταν ποικιλίας λιάτικο, 6 syrah, 3 κοτσιφάλι και 3 μαντηλάρι. Η προεπεξεργασία των δεδομένων έγινε με την μέθοδο mean center. Στο μαθηματικό μοντέλο που δημιουργήθηκε επιλέχθηκαν 4 λανθάνουσες μεταβλητές. Ήδη από τους ενδεικτικούς χάρτες φθορισμού παρατηρούνται κάποιες ομοιότητες μεταξύ τους αλλά και ορισμένες διαφορές σε διάφορες περιοχές. Από την προβολή της πρώτης και τέταρτης λανθάνουσας συνιστώσας, οι οποίες περιγράφουν το 65,87% της διακύμανσης των φασματοσκοπικών δεδομένων παρατηρούμε έναν ικανοποιητικό διαχωρισμό των τεσσάρων ερυθρών ποικιλιών. Ο διαχωρισμός των ποικιλιών λιάτικο και syrah είναι ικανοποιητικότερος, όπως προκύπτει και από τον πίνακα παρακάτω. Αυτό το αποτέλεσμα επιβεβαιώνει τις διαφορές που μπορούν να εντοπιστούν ακόμα και από τον χάρτη φθορισμού και εξαιτίας του μεγαλύτερου στατιστικού δείγματος των δύο συγκεκριμένων ποικιλιών.



Εικόνα 2.17 : Χάρτες φθορισμού ερυθρών ποικιλιών



Εικόνα 2.18 : Διάγραμμα συσχέτισης (score plot) με βάση την πρώτη και την τέταρτη λανθάνουσα μεταβλητή για τον διαχωρισμό των ερυθρών κρασιών βάση της βοτανικής τους προέλευσης βασισμένη στα δεδομένα της Φασματοσκοπίας Φθορισμού.

Πίνακας 2.3: Πίνακας κατάταξης ερυθρών ποικιλιών κρασιού

	Syrah	Κοτσιφάλι	Λιάτικο	Μαντηλάρι
Πρόβλεψη ως Syrah	6	2	0	3
Πρόβλεψη ως Κοτσιφάλι	0	1	0	0
Πρόβλεψη ως Λιάτικο	0	0	9	0
Πρόβλεψη ως Μαντηλάρι	0	0	0	0

Βιβλιογραφία

- [1] Ιστοσελίδα Wines of Crete, www.winesofcrete.gr
- [2] Winetasting Notebook, Wines of Crete
- [3] K. Lazarakis, A guide to the wines of Greece (2005)
- [4] E-Bacchus, 2016. <http://ec.europa.eu/agriculture/markets/wine/e-bacchus/index.cfm?event=searchPEccgis&language=EN>
- [5] P. Ribereau-Gayon, Y. Glories, A. Maujean, D. Dubourdieu, Handbook of Enology, Vol. 2: The Chemistry of Wine Stabilization and Treatments. Wiley (2006), pp 66-90
- [6] P. Ribereau-Gayon, Y. Glories, A. Maujean, D. Dubourdieu, Handbook of Enology, Vol. 2: The Chemistry of Wine Stabilization and Treatments. Wiley (2006), pp 51-64
- [7] P. Ribereau-Gayon, Y. Glories, A. Maujean, D. Dubourdieu, Handbook of Enology, Vol. 2: The Chemistry of Wine Stabilization and Treatments. Wiley (2006), pp 4-49
- [8] P. Ribereau-Gayon, Y. Glories, A. Maujean, D. Dubourdieu, Handbook of Enology, Vol. 2: The Chemistry of Wine Stabilization and Treatments. Wiley (2006), pp 103-139
- [9] C. Gomez-Cordoves and M.L. Gonzalez-SanJose, Interpretation of Color Variables during the Aging of Red Wines: Relationship with Families of Phenolic Compounds. Journal of Agricultural and Food Chemistry 1995, 43(3), 557-561
- [10] J. Robichaud, and A. Noble, Astingency and Bitterness of Selected Phenolics in Wine. Journal of Science and Food Chemistry 1990, 53,343-353
- [11] P. Ribereau-Gayon, Y. Glories, A. Maujean, D. Dubourdieu, Handbook of Enology, Vol. 2: The Chemistry of Wine Stabilization and Treatments. Wiley (2006), pp 205-228
- [12] P. Ribereau-Gayon, Y. Glories, A. Maujean, D. Dubourdieu, Handbook of Enology, Vol. 2: The Chemistry of Wine Stabilization and Treatments. Wiley (2006), pp 144-145
- [13] A. Castaneda-Ovando, M. de Lourdes Pacheco-Hernandez, M.E. Paez-Hernandez, J. A. Rodriguez, C.A. Galan-Vidal, Chemical studies of anthocyanins: A review. Food Chemistry 2009, 13, 859-871
- [14] He F. *et al.* Anthocyanins derived pigments and their colour evolution. Molecules, 2012, 1483-1519.

- [15] P. Ribereau-Gayon, Y. Glories, A. Maujean, D. Dubourdieu, Handbook of Enology, Vol. 2: The Chemistry of Wine Stabilization and Treatments. Wiley (2006), pp 147-152
- [16] Sanna R. *et al.* Multivariate Statistical Analysis of the UV-Vis Profiles of Wine Polyphenolic Extracts during Vinification. Journal of Agricultural Science, 2014.
- [17] Urbano M. *et al.* Ultraviolet-visible spectroscopy and pattern recognition methods for differentiation and classification of wines. Food Chemistry, 2012.
- [18] Annuar E. H. *et al.* UV/Visible spectra of natural Polyphenols: a time-dependent density. Food Chemistry, 2012
- [19] Philippidis A. *et al.* Characterisation of Greek wines by ultraviolet-visible absorption spectroscopy and statistical multivariate methods. Analytical Letters, 2017, 1950-1963.
- [20] María J. MARTELO-VIDAL, Manuel VÁZQUEZ (2014). Evaluation of ultraviolet, visible, and near infrared spectroscopy for the analysis of wine compounds, Czech J. Food Sci., 32: 37–47
- [21] Krastena Nikolova, Stefka Minkova (2017). FLUORESCENCE AND ABSORPTION SPECTROSCOPY FAST METHODS FOR DETERMINING THE CONTENT OF ANTIOXIDANTS AND AGE OF BULGARIAN WINES, Scripta Scientifica Pharmaceutica, vol. 4, No. 1, pp. 46-54 Medical University of Varna
- [22] Airado-Rodriguez D. *et al.* Front-face fluorescence spectroscopy: a new tool for control in the wine industry. Journal of Food Composition and Analysis, 2011.
- [23] Dufour E. *et al.* Investigation of variety, typicality and vintage of French and German wines using front-face fluorescence spectroscopy. Analytica Chimica, 2006.
- [24] Silvana M. Azcarate, Adrianode Araújo Gomes *et al.* (2015). Modeling excitation–emission fluorescence matrices with pattern recognition algorithms for classification of Argentine white wines according grape variety, Food Chemistry, Volume 184, Pages 214-219

Κεφάλαιο 3: Ελαιόλαδο

3.1 Ελαιόλαδο και τύποι ελαιολάδου

Ελαιόλαδο είναι το έλαιο που λαμβάνεται από τους καρπούς του ελαιόδεντρου μετά από την πρώτη και δεύτερη συμπίεσή τους με τη μέθοδο της ψυχρής έκθλιψης (στην οποία δεν προστίθενται καθόλου χημικές ουσίες, ενώ χρησιμοποιείται μόνο μια μικρή ποσότητα θέρμανσης). Το ελαιόλαδο είναι προϊόν απολύτως φυσικό που μπορεί να καταναλωθεί μόλις ολοκληρωθεί η διαδικασία παραλαβής του.

Το ελαιόλαδο είναι ένα εμπορικό προϊόν με μεγάλη θρεπτική και θεραπευτική αξία^[1-4]. Αποτελεί το βασικό συστατικό της μεσογειακής διατροφής και προέρχεται εξ ολοκλήρου από τους καρπούς του ελαιόδεντρου. Είναι γνωστό για τα εξαιρετικά οργανοληπτικά χαρακτηριστικά του (άρωμα, γεύση), καθώς και για τις αντιοξειδωτικές του ιδιότητες. Σε σχέση με τα υπόλοιπα φυτικά έλαια, η παραγωγή του έξτρα παρθένου ελαιολάδου αντιστοιχεί σε ένα μικρό ποσοστό της παγκόσμιας παραγωγής, της τάξης 2- 2,5%. Η οικονομική του όμως σπουδαιότητα, έναντι άλλων φυτικών ελαίων όπως σογιέλαιο, ηλιέλαιο, οφείλεται στα εξαιρετικά οργανοληπτικά χαρακτηριστικά του, καθώς επίσης και στην θρεπτική και θεραπευτική αξία του. Αυτό εξηγείται από το γεγονός ότι το έξτρα παρθένο ελαιόλαδο θεωρείται σαν «φυσικός χυμός φρούτου».

Η ποιότητα του ελαιολάδου διαμορφώνεται από την στιγμή που το ελαιόλαδο σχηματίζεται στον ελαιοκάρπο^[5]. Παράγοντες που επηρεάζουν την ποιότητα του είναι η ωριμότητα του ελαιοκάρπου, η ποικιλία, οι καλλιεργητικές πρακτικές, το έδαφος, οι κλιματολογικές συνθήκες, ο χρόνος συγκομιδής, ο έλεγχος φυτοφαρμάκων, ο τρόπος μεταφοράς και αποθήκευσης, οι τεχνικές σύνθλιψης, η αποθήκευση της πάστας και οι μέθοδοι παραλαβής της και το ποσοστό ελεύθερων λιπαρών οξέων.

Όσον αφορά τους παράγοντες που επηρεάζουν το ελαιόλαδο από την στιγμή που σχηματίζεται στον ελαιοκάρπο ισχύουν τα εξής:

Ποικιλία

Η ποικιλία του ελαιοκάρπου συνδέεται έμμεσα με την ποιότητα του ελαιολάδου και ιδιαίτερα με τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά του (οσμή και γεύση). Υπάρχουν ποικιλίες οι οποίες δίνουν ελαιόλαδο με καλύτερα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά από άλλες, για παράδειγμα στην Ελλάδα οι ελιές της Άμφισσας, οι «χοντροελιές», είναι κυρίως επιτραπέζιες ενώ οι μικρόκαρπες ελιές δίνουν εξαιρετικής ποιότητας λάδι.

Κλίμα

Το κλίμα της περιοχής όπου καλλιεργείται η ελιά επηρεάζει επίσης τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά του ελαιολάδου. Ελαιόδεντρα τα οποία καλλιεργούνται σε ορεινές περιοχές παράγουν λάδι με ιδιαίτερα ευχάριστη γεύση σε σχέση με εκείνα των πεδινών περιοχών. Αναλύσεις ελαιολάδων τα οποία προέρχονται από ελαιόδεντρα δροσερών περιοχών έδειξαν ότι σε αυτά υπάρχουν περισσότερα λιπαρά οξέα με διπλούς δεσμούς, συγκρινόμενα με τα ελαιόλαδα που παράγονται σε θερμές και ξηρές περιοχές. Έτσι τα ελαιόλαδα των βόρειων Μεσογειακών χωρών είναι πιο λεπτόρρευστα από τα ελαιόλαδα των νότιων Μεσογειακών χωρών, γιατί τα πρώτα είναι πλούσια σε υγρά

γλυκερίδια (μεγάλη περιεκτικότητα σε πολυακόρεστα οξέα) ενώ τα δεύτερα είναι πλούσια σε στερεά γλυκερίδια. Γενικά, σε περιοχές με μεγάλη ηλιοφάνεια, η παρουσία των αρωματικών συστατικών είναι μεγάλη και η ποιότητα του ελαιολάδου εκλεκτή.

Έδαφος

Τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά του ελαιολάδου επηρεάζονται αισθητά και από τη σύσταση του εδάφους που καλλιεργείται η ελιά καθώς και από την καλλιεργητική τεχνική που χρησιμοποιείται (πότισμα, κλάδεμα, λίπανση). Σε εδάφη ξηρά και ασβεστολιθικά τα ελαιόδεντρα δίνουν ελαιόλαδο πλουσιότερο σε αρωματικά συστατικά από ότι σε εδάφη υγρά και αργιλώδη. Εδάφη πλούσια σε φώσφορο και κάλιο επιταχύνουν την ωρίμανση του ελαιοκάρπου και βελτιώνουν αισθητά τη ποιότητα του ελαιολάδου. Γενικά, στα ασβεστολιθικά εδάφη οι ελιές παράγουν ελαιόλαδο λεπτόρρευστο, ενώ στα αργιλώδη εδάφη οι ελιές δίνουν παχύρρευστο λάδι.

Η ποιοτική κατάταξη του ελαιολάδου ακολουθεί συγκεκριμένη μεθοδολογία και υπακούει σε διεθνείς σταθερές όπως αυτές προβλέπονται από τους κανονισμούς που έχει εφαρμόσει το Διεθνές Συμβούλιο Ελαιολάδου (International Olive Council) το οποίο έχει συσταθεί ακριβώς για την προστασία της ποιότητας του ελαιολάδου και των καταναλωτών ^[6,7,8]. Για τη εγγύηση της ποιότητας του ελαιολάδου έχει σχεδιαστεί ένα ευρύ και τεκμηριωμένο Σύστημα Διασφάλισης Ποιότητας, το οποίο ακολουθεί σαφείς και συγκεκριμένες διαδικασίες.

Οι κυριότερες ποιοτικές κατηγορίες του ελαιολάδου είναι:

Εξαιρετικό ή έξτρα Παρθένο Ελαιόλαδο (extra virgin olive oil)

Το ελαιόλαδο το οποίο έχει:

- Βαθμό οργανοληπτικής δοκιμής μεγαλύτερο ή ίσο του 6,5 και κανένα ελάττωμα
- Μέγιστη οξύτητα εκφρασμένη σε ελαιικό οξύ, 1,0% w/v
- Μέγιστο αριθμό υπεροξειδίων 20 meq O₂ KG⁻¹ ελαίου
- K270 μικρότερη ή ίση του 0,20
- ΔΚ μικρότερη ή ίση του 0,01

Παρθένο Ελαιόλαδο

Το ελαιόλαδο το οποίο έχει:

- Βαθμό οργανοληπτικής δοκιμής μεγαλύτερο ή ίσο του 5,5
- Μέγιστη οξύτητα εκφρασμένη σε ελαιικό οξύ, 2.0% w/v
- Μέγιστο αριθμό υπεροξειδίων 20 meq O₂ KG⁻¹ ελαίου
- K270 μικρότερη ή ίση του 0,25
- ΔΚ μικρότερη ή ίση του 0,01

Ελαιόλαδο Λαμπάντε ή μειονεκτικό παρθένο ελαιόλαδο

Το ελαιόλαδο το οποίο έχει:

- Βαθμό οργανοληπτικής δοκιμής μεγαλύτερο ή ίσο του 3,5
- Μέγιστη οξύτητα εκφρασμένη σε ελαιικό οξύ, 3,3% w/v
- Μέγιστο αριθμό υπεροξειδίων 20 meq O₂ KG⁻¹ ελαίου

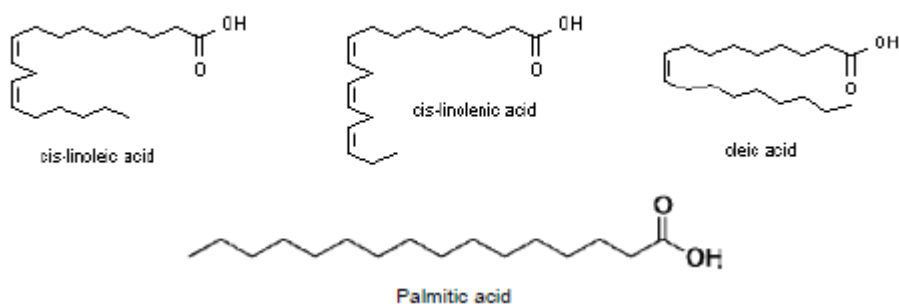
- Κ270 μικρότερη ή ίση του 0,25
- Δεν υπάρχει όριο για την σταθερά ΔΚ

3.2 Χημική σύσταση ελαιόλαδου

Το ελαιόλαδο αποτελείται από τη λιπαρή φάση σε ποσοστό 98-99% και από τα μικροσυστατικά σε ποσοστό 1-2%. Το ελαιόλαδο αποτελείται από μείγμα εστέρων της γλυκερίνης με τα ανώτερα λιπαρά οξέα, μερικά από τα οποία είναι ακόρεστα ενώ άλλα είναι κορεσμένα. Εκτός από τα τριγλυκερίδια το ελαιόλαδο περιέχει μικρές ποσότητες και από άλλα συστατικά όπως: ελεύθερα λιπαρά οξέα, φωσφολιπίδια, στερόλες, φαινόλες, αλειφατικές αλκοόλες, τοκοφερόλες, χρωστικές και πτητικές οργανικές ενώσεις.

Λιπαρά οξέα

Τα λιπαρά οξέα^[9,10] στο ελαιόλαδο εμφανίζονται σε μορφή τριγλυκεριδίων. Τα τριγλυκερίδια σχηματίζονται από τρία ελεύθερα λιπαρά οξέα που συνδέονται σε ένα μόριο γλυκερόλης. Το κυριότερο τριγλυκερίδιο που εμφανίζεται στο ελαιόλαδο είναι το μονοακόρεστο ελαϊκό οξύ (18:1, ω-9 λιπαρό οξύ) του οποίου η σύσταση διαφέρει από χώρα σε χώρα και εξαρτάται από την ποικιλία καθώς και τις κλιματολογικές συνθήκες όπου καλλιεργούνται οι ελιές. Το δεύτερο κατά σειρά λιπαρό οξύ του ελαιόλαδου είναι το λινελαϊκό (18:2, ω-6) ενώ επίσης περιέχει α-λινολενικό (18:3, ω-3) και αραχιδονικό (20:4, ω-6) σε μικρότερες ποσότητες. Μάλιστα, επειδή τα γλυκερίδια αυτά είναι υγρά, σε θερμοκρασία δωματίου, το ελαιόλαδο, στο σύνολο του, παραμένει σε υγρή κατάσταση σε θερμοκρασία δωματίου. Εκτός από τα παραπάνω ακόρεστα λιπαρά οξέα, το ελαιόλαδο αποτελείται και από κορεσμένα λιπαρά οξέα με το μεγαλύτερο ποσοστό να κατέχει το παλμιτικό (C16:0) και ακολούθως το στεατικό (C18:0).



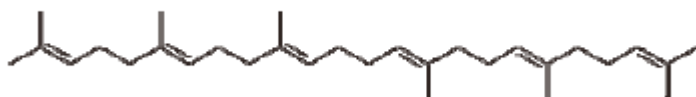
Εικόνα 3.1 : Λιπαρά οξέα στο ελαιόλαδο

Υδατάνθρακες

Το σκουαλένιο^[11] αποτελεί ένα σημαντικό υδατάνθρακα του παρθένου ελαιόλαδου. Το σκουαλένιο είναι ο τελευταίος μεταβολίτης που προηγείται του σχηματισμού των δακτυλίων των στερολών. Η παρουσία του στο ελαιόλαδο θεωρείται σε μεγάλο ποσοστό υπεύθυνη για τις ωφέλιμες επιδράσεις του ελαιόλαδου στην υγεία και συμμετέχει στην πρόληψη ορισμένων μορφών καρκίνου. Είναι το κύριο συστατικό του ασαπωνοποιήτου μέρους του

ελαιολάδου και αποτελεί περισσότερο από το 90% του κλάσματος των υδρογονανθράκων.

Η συγκέντρωση του σκουαλενίου κυμαίνεται από 200-7500 mg/kg ελαιολάδου και έχουν αναφερθεί και υψηλότερα επίπεδα συγκεντρώσεων, όπως 1200 mg/kg ελαιολάδου. Η περιεκτικότητα σε σκουαλένιο εξαρτάται από την ποικιλία της ελιάς, την τεχνολογία εκχύλισης του ελαιολάδου και μειώνεται δραματικά κατά την διαδικασία εξευγενισμού του ελαιολάδου.



Εικόνα 3.2 : Χημική δομή σκουαλενίου

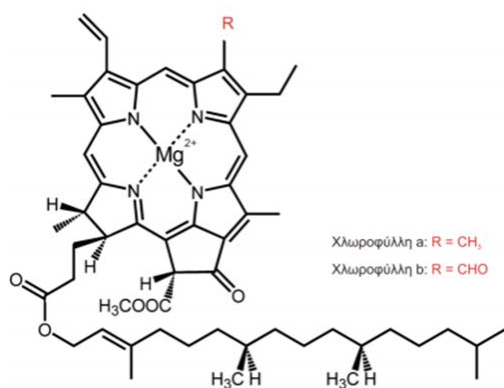
Χρωστικές

Η χημική ένωση που ευθύνεται σε μεγαλύτερο βαθμό για την πράσινη απόχρωση του ελαιολάδου είναι η χλωροφύλλη^[12].

Η χλωροφύλλη υπάρχει στη μορφή της α και της β χλωροφύλλης. Η α μορφή είναι κυανοπράσινη, ενώ η β κίτρινοπράσινη. Και οι δυο χλωροφύλλες περιέχουν μαγνήσιο στο μόριο τους, αποικοδομούνται εύκολα και μετατρέπονται σε 81 φαιοφυτίνες. Η χλωροφύλλη-α είναι ίδια με την φαιοφυτίνη-α (και αντίστοιχα η -β) με τη μόνη διαφορά ότι από τον πορφυρικό δακτύλιο λείπει το μαγνήσιο. Η χλωροφύλλη β διαφέρει από την α στο ότι έχει αλδεϋδική ομάδα (CH=O) αντί μεθύλιο (CH₃) στο 3ο άτομο άνθρακα. Σε φρέσκα παρθένα ελαιόλαδα το συνολικό άθροισμα της χλωροφύλλης α και β κυμαίνεται από 1-10ppm και της φαιοφυτίνης α και β από 0,2-24 ppm. Με την πρόοδο της ωρίμανσης του ελαιόκαρπου μειώνεται η περιεκτικότητα σε χλωροφύλλη. Οι χλωροφύλλες α και β καθώς και τα προϊόντα οξειδωσής τους, φαιοφυτίνες α και β αντίστοιχα, βρίσκονται στο ελαιόλαδο ως φυσικά συστατικά και η περιεκτικότητά τους εξαρτάται από αρκετούς παράγοντες.

Ορισμένοι από τους παράγοντες που επηρεάζουν την περιεκτικότητα ελαιολάδου σε χλωροφύλλη είναι η ποικιλία της ελιάς, ο βαθμός ωρίμανσης του ελαιόκαρπου, η μέθοδος εκχύλισης του ελαιολάδου καθώς και άλλοι βιολογικοί και τεχνικοί παράγοντες. Στο παρθένο ελαιόλαδο που προέρχεται από ώριμες ελιές, τα επίπεδα της χλωροφύλλης κυμαίνονται από 1 έως 10 mg/kg.

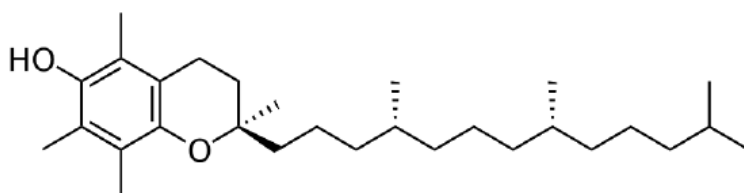
Τα καρροτενοειδή^[13] είναι μία άλλη κατηγορία χρωστικών του ελαιολάδου, που ανήκουν στους υδρογονάνθρακες και στα οποία οφείλονται οι κίτρινες αποχρώσεις του ελαιολάδου. Η ξανθοφύλλη (C₄₀H₅₆O₂), που είναι υδροξυλιωμένο α-καροτένιο, καλύπτει το μεγαλύτερο ποσοστό. Ακολουθούν τα καροτένια και σε ελάχιστες ποσότητες το λικοπένιο. Τα καροτένια, είναι τρεις ισομερείς ακόρεστοι υδρογονάνθρακες (α, β και γ καροτένιο) του τύπου C₄₀H₅₆. Το β-καροτένιο υπάρχει σε αναλογία 85%, το α-καροτένιο σε 15% και το γ-καροτένιο σε ίχνη. Το β-καροτένιο βρίσκεται στο ελαιόλαδο σε συγκέντρωση 0,3-3,7 g/kg και έχει αντιοξειδωτικές ιδιότητες. Η υψηλή περιεκτικότητά του ελαιολάδου σε ελαϊκό οξύ το κάνει ανθεκτικό στην οξειδωση.



Εικόνα 3.3: Χλωροφύλλη α και β

Βιταμίνες

Οι βιταμίνες διακρίνονται σε δύο κατηγορίες: τις λιποδιαλυτές και τις υδατοδιαλυτές. Το ελαιόλαδο περιέχει^[14-17] κυρίως λιποδιαλυτές βιταμίνες. Η βιταμίνη Ε (α-τοκοφερόλη) αποτελεί ένα φυσικό αντιοξειδωτικό που περιέχεται στο ελαιόλαδο. Η α-τοκοφερόλη αποτελεί περίπου το 88,5% των συνολικών τοκοφερολών στο ελαιόλαδο, η β- μαζί με την γ-τοκοφερόλη αποτελούν το 9,9% ενώ η δ-τοκοφερόλη το 1,6% του συνόλου των τοκοφερολών. Οι τοκοφερόλες είναι ετεροκυκλικές ενώσεις μεγάλου μοριακού βάρους. Έχουν προσδιορισθεί διάφορα είδη τοκοφερολών και είναι γνωστές σαν α-, β-, γ-, δ-, ε- και ζ. Οι τοκοφερόλες διαφέρουν μεταξύ τους ως προς τη θέση στην οποία βρίσκονται οι μεθυλικές ομάδες. Η συνολική περιεκτικότητα των τοκοφερολών στο ελαιόλαδο ποικίλει. Η διακύμανση η οποία παρατηρείται στη συγκέντρωση των διαφόρων τοκοφερολών στο ελαιόλαδο εξηγείται από τη βαθμιαία καταστροφή τους. Ελαιόλαδο, το οποίο λαμβάνεται από τον πυρήνα της ελιάς, περιέχει μεγαλύτερο ποσοστό τοκοφερολών απ' αυτό που προέρχεται από το σαρκώδες μέρος του καρπού. Όλες οι τοκοφερόλες αποτελούν φυσικά αντιοξειδωτικά των λαδιών αφού παρουσιάζουν αντιοξειδωτική δράση, η οποία αυξάνεται από την α προς τη δ. Η σταθερότητα μάλιστα του ελαιολάδου στην οξείδωση οφείλεται, κατά μεγάλο μέρος, στην παρουσία των τοκοφερολών οι οποίες και οξειδώνονται εύκολα.



Εικόνα 3.4: Η χημική δομή της α-τοκοφερόλης

Φαινόλες

Φαινολικές ονομάζονται οι ενώσεις που περιέχουν τουλάχιστον ένα βενζολικό δακτύλιο και ένα ή περισσότερα υδροξύλια στο βενζολικό δακτύλιο. Μπορεί να είναι απλές φαινόλες, φαινολικά οξέα ή φαινολικές ενώσεις.

Οι απλές φαινόλες είναι άχρωμες στερεές ενώσεις όταν είναι καθαρές, αλλά συνήθως οξειδώνονται και αποκτούν σκούρο χρώμα όταν εκτίθενται στον αέρα. Η ιδιότητά τους να διαλύονται στο νερό αυξάνεται ανάλογα με τον αριθμό των

φαινολικών υδροξυλικών ομάδων που έχουν στο μόριό τους, αλλά η διαλυτότητά τους σε πολικούς οργανικούς διαλύτες είναι μεγαλύτερη.

Οι φαινόλες, ως πολικές ενώσεις, είναι κατά κανόνα υδατοδιαλυτές, ελάχιστα λιποδιαλυτές και παρουσιάζουν έντονη αντιοξειδωτική δράση. Λόγω της αντιοξειδωτικής τους δράσης συμβάλλουν στην παρεμπόδιση ή την επιβράδυνση της οξειδωσης των ελαίων. Η εισαγωγή δεύτερης ή τρίτης φαινολικής υδροξυλικής ομάδας στο μόριό τους, αυξάνει σε ανάλογο βαθμό την αντιοξειδωτική τους δράση. Στο ελαιόλαδο απαντούν φαινολικές ενώσεις οι οποίες προέρχονται από τον ελαιόκαρπο, αλλά σε μικρό βαθμό και από τα φύλλα της ελιάς που πιθανόν να μην έχουν απομακρυνθεί στο αποφυλλωτήριο του ελαιουργείου και αλέθονται μαζί με τον καρπό.

Οι πολυφαινόλες στο παρθένο ελαιόλαδο^[2,18,19] διακρίνονται σε τέσσερις κύριες κατηγορίες: τις απλές φαινόλες, τις φλαβονοειδείς ενώσεις, τις λιγνάνες και τις σεκοϊριδοειδείς ενώσεις. Οι κυριότερες από τις απλές φαινόλες που απαντούν στο ελαιόλαδο σε ελεύθερη και δεσμευμένη μορφή είναι η τυροσόλη και η υδροτυροσόλη. Άλλες πολυφαινόλες στο ελαιόλαδο είναι τα παράγωγα του κινναμικού οξέος (ο-κουμαρικό οξύ, ρ-κουμαρικό οξύ, φερουλικό οξύ, καφεϊκό οξύ, σιναπτικό οξύ, 3-υδροξυ-4-μεθοξυκινναμικό οξύ), τα παράγωγα του βενζοϊκού οξέος (ρ-υδροξυβενζοϊκό οξύ, βανιλλικό οξύ, πρωτοκατεχικό οξύ, γαλλικό οξύ, συριγγικό οξύ, γεντιστικό οξύ), το σικιμικό οξύ, παράγωγα του φαινυλοξικού οξέος (ρ-υδροξυφαινυλοξικό οξύ, ομοβανιλλικό οξύ, ομοπρωτοκατεχικό οξύ), τα μονοτερπένια θυμόλη, καρβακρόλη και οι φλαβονόλες καμφαρόλη, και κερκετίνη.

Στις φλαβονοειδείς ενώσεις ανήκουν η απιγενίνη και η λουτεολίνη, στις λιγνάνες ανήκουν η πινορεσινόλη, 1-ακέτοξυπινορεσινόλη^{8,9} και η εσχάτως ανακαλυφθείσα 5-συριγκαρεσινόλη. Στις σεκοϊριδοειδείς ενώσεις ανήκουν τα προϊόντα υδρόλυσης της ελευρωπαΐνης και λιγκστροσιδίου. Έχει διαπιστωθεί ότι οι σεκοϊριδοειδείς ενώσεις δεν παρουσιάζονται με τη γλυκοζιτική τους μορφή, λόγω ενζυμικής υδρόλυσης με το ένζυμο β-γλυκοζιτάση, το οποίο έχει ανιχνευτεί στον ελαιόκαρπο.

3.3 Γεωγραφική ταξινόμηση ελαιολάδου

Σήμερα το ελαιόλαδο θεωρείται ένα προϊόν διατροφής που συνδυάζει θρεπτικές και αισθητήριες αξίες. Τα κέρδη που αποκομίζει κανείς με την κατανάλωση ελαιολάδου εξαιτίας των μόνο- και πολύ- ακόρεστων οξέων που περιέχει, είναι αδιαμφισβήτητα. Ως αποτέλεσμα, η κατανάλωσή του έχει αυξηθεί την τελευταία δεκαετία, καθώς το ελαιόλαδο θεωρείται πλέον από πολλούς καταναλωτές σαν ένα καθημερινό λάδι μαγειρικής και όχι ένα gourmet υλικό για επιλεγμένα μόνο γεύματα. Επιπλέον, πολλά ελαιόλαδα είναι σήμερα πιστοποιημένα ως ΠΟΠ (Προστατευμένη Ονομασία Προέλευσης) ή ΠΓΕ (Προστατευμένη Γεωγραφική Ένδειξη), το οποίο αυτόματα σημαίνει υψηλότερες τιμές για τον καταναλωτή που το επιλέγει αλλά και δυναμικές νοθείες.

Η διασφάλιση της ποιότητας και της αυθεντικότητας δύο σημαντικών για τη εθνική οικονομία, προϊόντων όπως είναι το ελαιόλαδο το οποίο βρίσκεται

διαχρονικά στην κορυφή των προϊόντων με παραβατικότητα σε θέματα αυθεντικότητας-νοθείας και η επιτραπέζια ελιά, παράλληλα με την ενίσχυση της προστιθέμενης αξίας τους, αποτελεί θέμα μείζονος εθνικού συμφέροντος. Από το Μάρτιο του 2017 η ΕΕ έχει συστήσει εργαστήρια αυθεντικότητας επιβάλλοντας στην ουσία τον έλεγχο αυθεντικότητας (και κατ' επέκταση της νοθείας) των τροφίμων γενικότερα.

Έτσι, συχνά εγείρονται προβλήματα αυθεντικότητας που έχουν σχέση με τη γεωγραφική προέλευση ή την ποικιλία των ελαιολάδων, τα οποία διέπονται σήμερα από ένα αυστηρό νομοθετικό πλαίσιο που περιγράφει ένα πλήθος παραμέτρων που μπορούν να εξασφαλίσουν την αυθεντικότητά τους. Αυτά τα προβλήματα έχουν προσελκύσει και το ερευνητικό ενδιαφέρον καθώς έχουν γίνει μελέτες με σύγχρονες αναλυτικές τεχνικές με σκοπό τον προσδιορισμό της γεωγραφικής προέλευσης των ελαιολάδων^[20-30].

Στην εργασία αυτή, οι μελέτες για τα δείγματα του ελαιολάδου προσδιορίστηκαν σύμφωνα με τους στόχους της εμβληματικής δράσης "Οι Δρόμοι της Ελιάς". Απώτερος στόχος της εμβληματικής δράσης είναι η ανάπτυξη ψηφιακής βιβλιοθήκης/βάσης δεδομένων με βάση τις αναλύσεις μεγάλου αριθμού δειγμάτων ελαιολάδου από ελαιοτριβεία όλης της χώρας και από την λιανική αγορά, σε συνδυασμό με προϋπάρχοντα δεδομένα. Οι αναλύσεις θα περιλαμβάνουν τις κλασικές χημικές, οργανοληπτικές, φασματοσκοπικές, και αναλύσεις με τεχνολογικό εξοπλισμό αιχμής. Με βάση τις ανωτέρω αναλύσεις θα αναπτυχθούν μοντέλα για την διάκριση των δειγμάτων με βάση την ποικιλία, την περιοχή, την φρεσκότητα, το αν είναι συμβατικό ή βιολογικό ένα "υπό εξέταση" δείγμα, αν αποκλίνει από τα ελαιόλαδα της βάσης (με τη σύγκριση αυτή να υποδεικνύει νοθεία) και αν περιλαμβάνει ουσίες σε συγκεντρώσεις τέτοιες που να του προσδίδουν ιδιαίτερα διατροφικά χαρακτηριστικά ώστε να λάβει Ισχυρισμό Υγείας.

Στην παρούσα μελέτη πραγματοποιήθηκαν τεχνικές φασματοσκοπίας απορρόφησης στο υπεριώδες, στο ορατό έως και το υπέρυθρο, φασματοσκοπία φθορισμού και η φασματοσκοπία Raman. Πιο συγκεκριμένα, το σύνολο των δειγμάτων που μελετήθηκαν ήταν 81 εκ των οποίων 16 ήταν από το νομό Ηρακλείου, 7 από το νομό Λασιθίου, 4 από το νομό Λακωνίας, 15 από τη Λέσβο, 12 από το νομό Μεσσηνίας, 8 από το νομό Ρεθύμνου, 9 από το νομό Χανίων και 10 πειραματικά ελαιόλαδα. Στο συγκεκριμένο υποκεφάλαιο θα εξεταστεί η γεωγραφική ταξινόμηση ελαιολάδων Κρήτης, Πελοποννήσου και Λέσβου με την μέθοδο O-PLS-DA.

3.3.1 Πειραματικό μέρος

Η διαδικασία της προετοιμασίας των δειγμάτων ελαιολάδου έχει ως εξής: παραλαβή των δειγμάτων σε φιάλες, μετάγγιση σε φιαλίδια των 20ml, εξισορρόπηση σε θερμοκρασία δωματίου και μετάγγιση αυτών σε κυψελίδες χαλαζία για φασματοσκοπική ανάλυση.

Παρακάτω αναλύεται η κάθε τεχνική που μελετήθηκαν τα δείγματα ελαιολάδου.

Φασματοσκοπία απορρόφησης

Η εφαρμογή της φασματοσκοπίας απορρόφησης σε προϊόντα ελαιολάδου πραγματοποιήθηκε σε 5 διαφορετικές περιοχές. Πιο αναλυτικά:

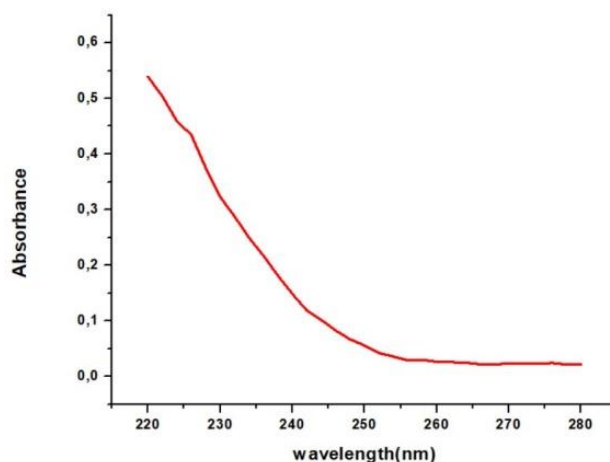
Περιοχή UV 220-280 nm & 260-410nm

Για τη μέτρηση της απορρόφησης στην συγκεκριμένη περιοχή χρησιμοποιήθηκε το φασματοφωτόμετρο Shimadzu UV-1900. Για την ανάλυση στο υπεριώδες πραγματοποιήθηκε αραιώση 1% (v/v) με ισο-οκτάνιο. Η αραιώση γίνεται για την διατήρηση της τιμής απορρόφησης σε ένα εύρος τιμών 0-1,5. Η μέτρηση απορρόφησης σε δείγματα ελαιολάδου πραγματοποιήθηκε με ένα βήμα σάρωσης 0,05nm. Η οπτική διαδρομή των κυψελίδων για την περιοχή είναι 2mm. Η διόρθωση του υποβάθρου πραγματοποιήθηκε με τον διαλύτη.

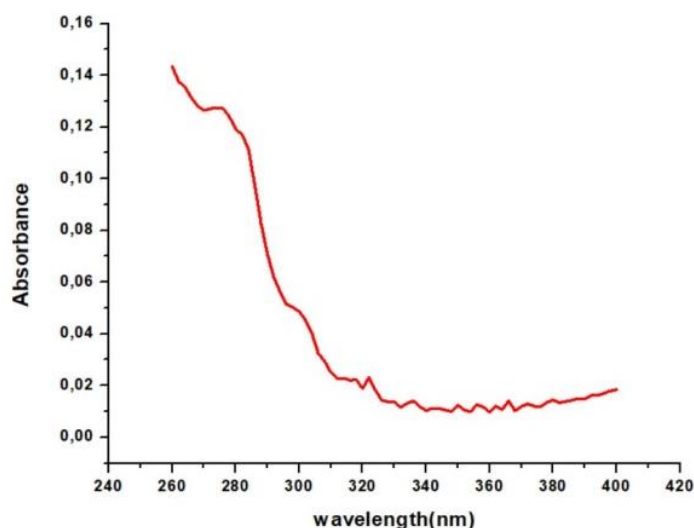
Για τη μέτρηση της απορρόφησης στην συγκεκριμένη περιοχή χρησιμοποιήθηκε επίσης το φασματοφωτόμετρο Shimadzu UV-1900. Για την ανάλυση στη συγκεκριμένη περιοχή του υπεριώδους πραγματοποιήθηκε αραιώση 1% (v/v) με ισο-οκτάνιο για τους ίδιους λόγους, όμως η οπτική διαδρομή των κυψελίδων για την περιοχή είναι 10mm. Η μέτρηση απορρόφησης σε δείγματα ελαιολάδου πραγματοποιήθηκε με ένα βήμα σάρωσης 0,05nm. Η διόρθωση του υποβάθρου πραγματοποιήθηκε με τον διαλύτη.

Σε αυτή την περιοχή απορροφούν διάφορες ομάδες ενώσεων^[31-35]. Πιο συγκεκριμένα, στα 232 nm απορροφούν τα συζυγή διένια, στα 270 nm απορροφούν δευτερογενή προϊόντα οξείδωσης (κετόνες, α- και β- ακόρεστες αλδεΐδες) καθώς και τα συζυγή τριένια, στα 280 nm απορροφούν οι φαινόλες και στα 310-320 nm εμφανίζουν κορυφή απορρόφησης τα φλαβονοειδή, ενώ στα 320 nm απορροφούν τα φαινολικά οξέα.

Ένα τυπικό φάσμα στην περιοχή UV 220-280 nm φαίνεται στην Εικόνα 3.5, ενώ για την περιοχή UV 260-410 nm φαίνεται στην Εικόνα 3.6.



Εικόνα 3.5: Τυπικό φάσμα στην περιοχή UV 220-280 nm

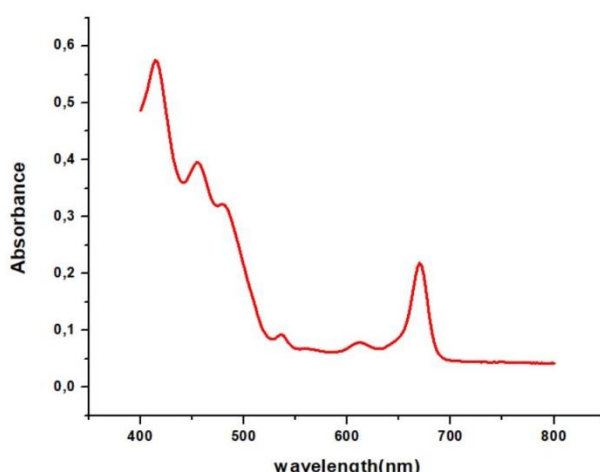


Εικόνα 3.6: Τυπικό φάσμα στην περιοχή UV 260-410 nm

Περιοχή Vis 400-800 nm

Η απορρόφηση στη περιοχή του ορατού πραγματοποιήθηκε με το φασματοφωτόμετρο Shimadzu UV-1900. Στο δείγμα δεν είχε γίνει καμία προ-επεξεργασία και η οπτική διαδρομή των κυψελίδων για την περιοχή ήταν 2mm. Το βήμα της σάρωσης ορίστηκε στα 0,05 nm και η διόρθωση του υποβάθρου πραγματοποιήθηκε με αέρα.

Όπως φαίνεται και στο χαρακτηριστικό φάσμα ελαιολάδου στη περιοχή 400-800nm (Εικόνα 3.7) οι κύριες ομάδες που απορροφούν σε αυτή την περιοχή είναι^[35-40] τα καροτενοειδή στα 413-430 nm, 455-458nm και 480-486nm και οι χλωροφύλλες στα 535-537nm, 611-613nm και στα 667-672nm (φαιοφυτίνη α).



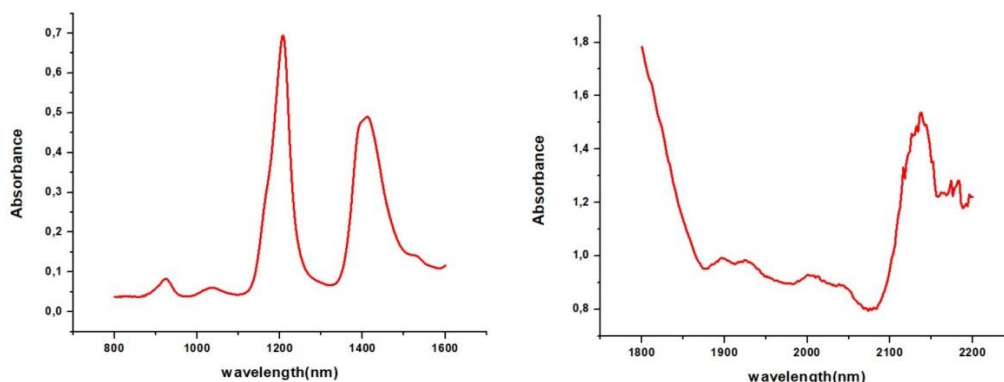
Εικόνα 3.7: Φάσμα ελαιολάδου στη περιοχή 400-800nm

Περιοχή nIR 800-1600 nm και nIR 1800-2200 nm

Η μέτρηση απορρόφησης σε δείγματα ελαιολάδου πραγματοποιήθηκε στο Perkin Elmer-Lambda 950. Στο δείγμα δεν είχε γίνει καμία προ-επεξεργασία και

η οπτική διαδρομή των κυψελίδων για την περιοχή ήταν 10mm. Το βήμα της σάρωσης ορίστηκε στα 2nm και η διόρθωση του υποβάθρου πραγματοποιήθηκε με αέρα.

Ένα τυπικό φάσμα στην περιοχή nIR 800-1600 nm είναι η Εικόνα 3.8α και στην περιοχή nIR 1800-2200 nm είναι η Εικόνα 3.8β.



Εικόνα 3.8: Τυπικό φάσμα στην περιοχή nIR α) 800-1600 nm και β) 1800-2200 nm

Οι μπάντες απορρόφησης οφείλονται^[40-43] σε πολλαπλές αλληλεπικαλυπτόμενες κορυφές. Οι κορυφές αυτές είναι πρώτες και δεύτερες υπέρτονοι δονήσεων έκτασης του δεσμού C-H που συμβαίνουν στο mIR (mid-IR), καθώς και συνδυασμοί θεμελιωδών δονήσεων C-H. Πιο συγκεκριμένα:

- Στα 1.090-1.180 nm η κορυφή ανατίθεται στη δεύτερη υπέρτονο δόνησης έκτασης δεσμού C-H στο $-CH_2$
- Στα 1.100-1.200 nm η κορυφή ανατίθεται στη δεύτερη υπέρτονο δόνησης έκτασης δεσμού C-H στο CH_3
- Στα 1.150-1.260 nm η κορυφή ανατίθεται στην πρώτη υπέρτονο δόνησης έκτασης δεσμού C-H στο $-CH=CH-$
- Στα 1.350-1.430 nm η κορυφή ανατίθεται σε συνδυασμό δονήσεων δεσμού C-H στα $-CH_2$ και $-CH_3$
- Στα 2145 και 2175nm έχουμε συνδυασμό δονήσεων C-H στο $-CH=CH-$

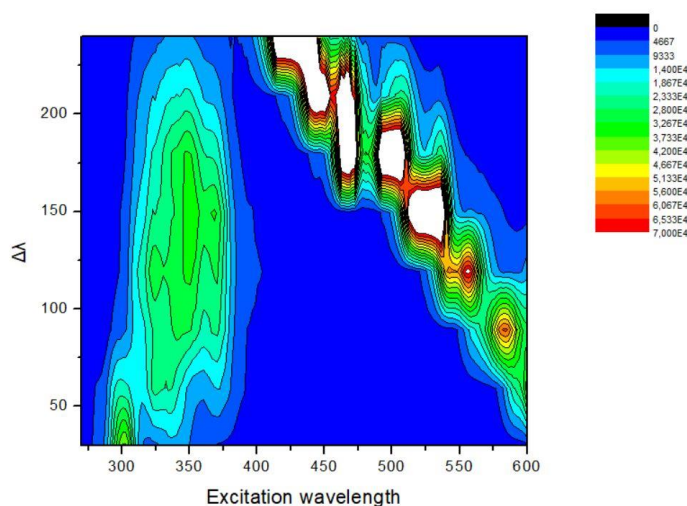
Φασματοσκοπία φθορισμού

Για τη μέτρηση του φθορισμού χρησιμοποιήθηκε ένα φασματοφθορισμόμετρο Fluoromax-P, Horiba. Η μέτρηση του φθορισμού σε δείγματα ελαιολάδου γίνεται με τοποθέτηση του δείγματος σε κυψελίδα από χαλαζία των 10mm και ακτινοβολία με γεωμετρία εμπρόσθιας όψης σε γωνία 35 μοιρών. Η απεικόνιση του φαινομένου έγινε μέσω σύγχρονων φασμάτων. Λήφθηκαν δώδεκα

σύγχρονα φάσματα ανά 30nm. Η σάρωση έγινε σε ένα εύρος μηκών κύματος από 270 έως 600nm με βήμα 2nm. Ο χρόνος σάρωσης ορίστηκε στα 0,25s και το εύρος των σχισμών της διέγερσης και της εκπομπής ορίστηκε στα 1nm και 2nm, αντίστοιχα.

Σε αντίθεση με το προηγούμενο κεφάλαιο του οίνου, η μελέτη των δειγμάτων με την φασματοσκοπία φθορισμού πραγματοποιήθηκε με σύγχρονη σάρωση. Η συγκεκριμένη μεθοδολογία επιλέχθηκε καθώς πρόκειται για μια σημαντικά πιο γρήγορη τεχνική σε σχέση με τους χάρτες φθορισμού που λαμβάνεται επίσης όλη η πληροφορία σχετικά με τον φθορισμό του δείγματος. Στους χάρτες μέσω των σύγχρονων φασμάτων που κατασκευάζονται, στον X άξονα είναι το μήκος κύματος διέγερσης ενώ στο Y άξονα η διαφορά στα μήκη κύματος ($\Delta\lambda$) μεταξύ των δύο μονοχρωματόρων.

Σε ένα τυπικό χάρτη φθορισμού ελαιολάδου, όπως παρουσιάζεται και παρακάτω (Εικόνα 3.9), εμφανίζονται δύο κύριες περιοχές φθορισμού. Η πρώτη αντιστοιχεί σε διέγερση στην περιοχή γύρω στα 270-350nm, και σχετίζεται με τοκοφερόλες και τοκοτριενόλες. Η δεύτερη αντιστοιχεί σε διέγερση στην περιοχή γύρω στα 425-550nm, και σχετίζεται με τη χλωροφύλλη και τη φαιοφυτίνη α^[3,16,38,44-47].



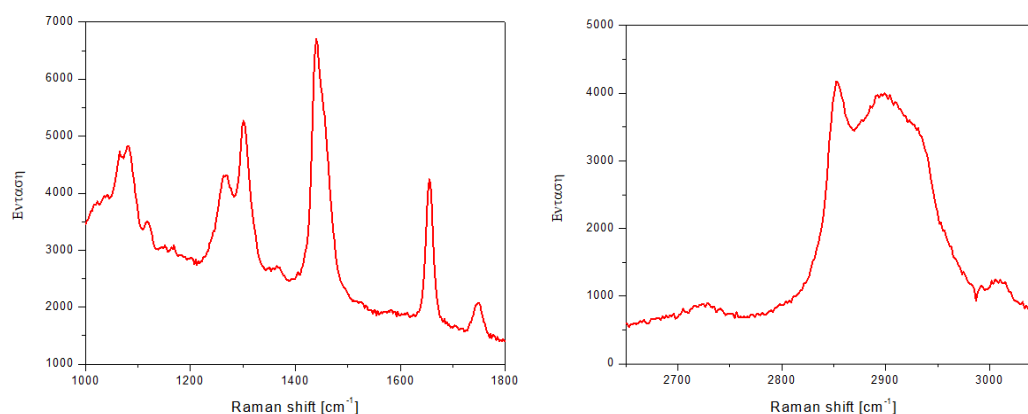
Εικόνα 3.9: Τυπικός χάρτης φθορισμού ελαιολάδου

Φασματοσκοπία Raman

Στη φασματοσκοπία Raman το δείγμα ελαιολάδου τοποθετείται χωρίς κάποια προεπεξεργασία και χωρίς αραίωση σε ειδικό δειγματοφορέα. Ο αντικειμενικός φακός που χρησιμοποιήθηκε παρείχε μεγέθυνση x20 και η απόσταση του από το δείγμα ήταν στα 2 cm. Η ισχύς του laser ορίστηκε στα 68 mW, ο χρόνος έκθεσης στα 60 δευτερόλεπτα και πραγματοποιήθηκαν 2 σαρώσεις. Για το κάθε δείγμα η μέτρηση επαναλήφθηκε σε διαφορετικά σημεία και εξήχθη ο μέσος όρος από τρεις μετρήσεις.

Σε ένα τυπικό φάσμα Raman ελαιολάδου^[36,41,48-50] (Εικόνα 3.10) στην περιοχή $1000-1800\text{cm}^{-1}$ εμφανίζονται έξι κορυφές στους 1076, 1265, 1300, 1439, 1651 και 1747cm^{-1} οι οποίες οφείλονται στην έκταση του δεσμού C-C του $-(\text{CH}_2)_n-$, στην κάμψη του δεσμού $=\text{C}-\text{H}$ των μορίων cis RCH=CHR, στην κάμψη (συστροφή) του δεσμού C-H του CH₂, στην κάμψη (δόννηση ψαλιδιού) του δεσμού C-H του CH₂, στην έκταση του δεσμού C=C των μορίων cis RCH=CHR

και στην έκταση του δεσμού C=O των μορίων RC=OOR, αντίστοιχα. Επίσης η περιοχή 2700-3000 cm^{-1} είναι σημαντική για την αξιολόγηση των ελαιολάδων καθώς σχετίζεται με ιδιαίτερα χαρακτηριστικά των λιπαρών οξέων και πιο συγκεκριμένα με την δόνηση έκτασης του δεσμού =C-H. Στην περιοχή των 3.010 cm^{-1} παρατηρείται μια μετατόπιση προς μια υψηλότερη συχνότητα και μια αύξηση στις εντάσεις σκέδασης και αυτό συμβαίνει καθώς αυξάνεται ο βαθμός ακορεστότητας. Επίσης, η ζώνη αυτή είναι σημαντική για τον έλεγχο της γνησιότητας του ελαιολάδου καθώς στα 2.880-2.840 cm^{-1} αντιστοιχούν δονήσεις έκτασης C-H των CH₂ και CH₃.



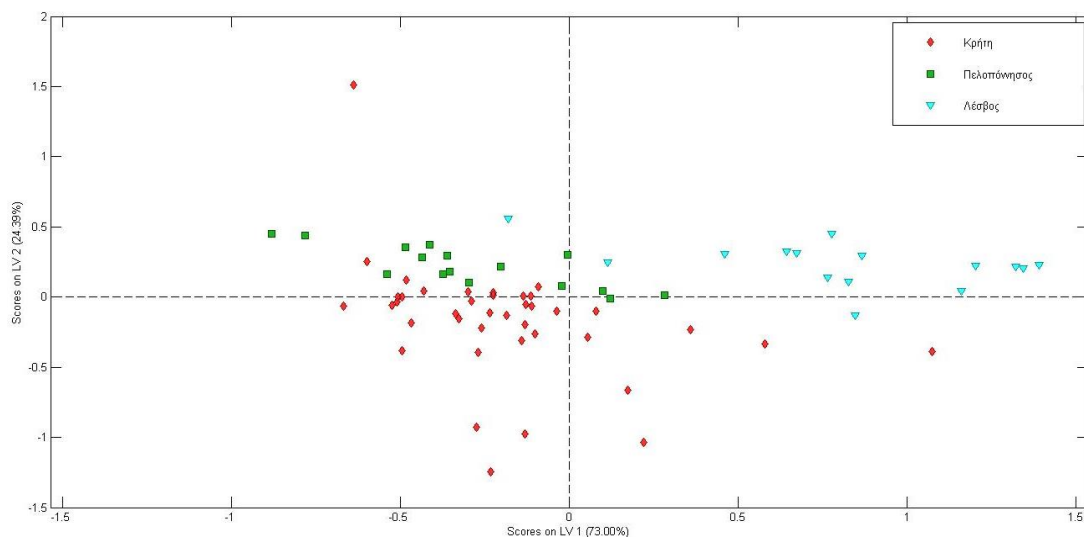
Εικόνα 3.10: Τυπικό φάσμα Raman ελαιολάδου στην περιοχή α) 1000-1800 cm^{-1} και β) 2700-3000 cm^{-1}

3.3.2 Γεωγραφική ταξινόμηση ελαιολάδου με φασματοσκοπία απορρόφησης υπεριώδους (220-280 nm)

Με τα φασματοσκοπικά δεδομένα που συλλέχθηκαν με την φασματοσκοπία απορρόφησης στην περιοχή 220-280nm με την διαδικασία που αναφέρθηκε στο πειραματικό μέρος αναπτύχθηκε το μοντέλο ανάλυσης O-PLS-DA. Το μοντέλο εκπαιδεύτηκε στο σύνολο των δειγμάτων, δηλαδή σε 40 δείγματα από την Κρήτη, 16 δείγματα από την Πελοπόννησο και 15 από τη Λέσβο. Με σκοπό την εξάλειψη τυχαίων ή συστηματικών σφαλμάτων, τα οποία επηρεάζουν την τιμή της απορρόφησης επιλέχθηκε η προ-επεξεργασία των φασματοσκοπικών δεδομένων με την μέθοδο smoothing και mean center. Για το συγκεκριμένο μοντέλο επιλέχθηκαν δύο λανθάνουσες μεταβλητές. Η αξιοπιστία του μοντέλου ελέγχθηκε μέσω διασταυρούμενης επικύρωσης με τη μέθοδο Venetian-Blinds. Η συγκεκριμένη μέθοδος βασίζεται στην επαναλαμβανόμενη εκτέλεση-έλεγχο του μαθηματικού αλγορίθμου με τον διαχωρισμό του πίνακα των δεδομένων σε επιμέρους ομάδες. Στο συγκεκριμένο μοντέλο που εκπαιδεύτηκε στη μέθοδο Venetian-Blinds δημιουργήθηκαν 10 ομάδες.

Όπως προκύπτει και από το διάγραμμα αποτελεσμάτων O-PLS-DA, μεταξύ παράλληλης και κύριας ορθογώνιας συνιστώσας, υπάρχει ένας καλός διαχωρισμός μεταξύ των ελαιολάδων από την Πελοπόννησο και τη Λέσβο βάσει της πρώτης λανθάνουσας μεταβλητής και ένας ικανοποιητικός διαχωρισμός των ελαιολάδων από την Κρήτη βάσει της δεύτερης λανθάνουσας

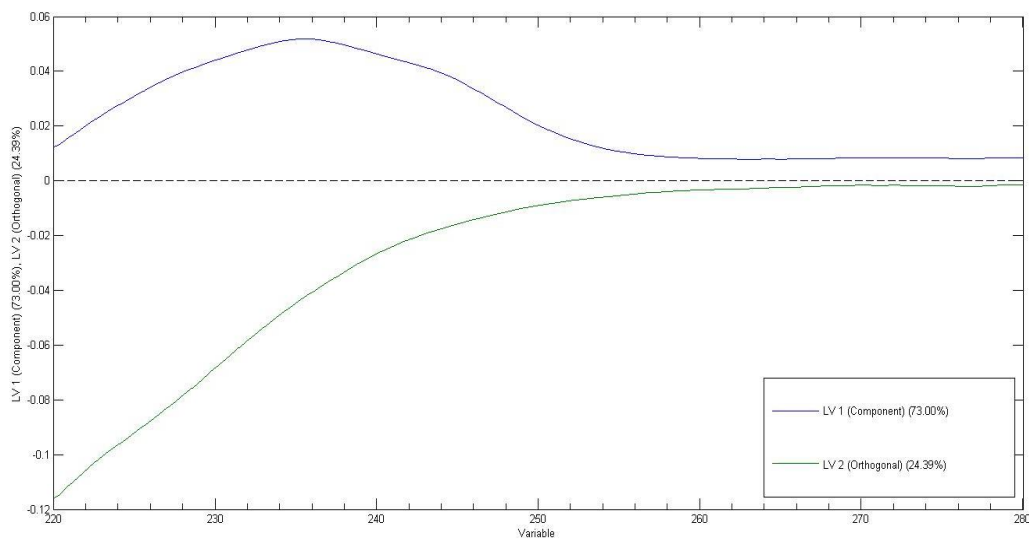
μεταβλητής. Το ίδιο συμπέρασμα προκύπτει και από την απεικόνιση των αποτελεσμάτων μέσω των τετραγωνικών πινάκων αφού 4 ελαιόλαδα της Κρήτης κατατάσσονται στην Πελοπόννησο και 3 στη Λέσβο ενώ για τις άλλες δύο κατηγορίες το μοντέλο δεν κατατάσσει σωστά από 2 δείγματα εκάστως. Σύμφωνα με το loading plot ο διαχωρισμός που προκύπτει από τις δύο λανθάνουσες μεταβλητές, οι οποίες περιγράφουν το 97,39% της διακύμανσης των φασματοσκοπικών δεδομένων, οφείλεται κυρίως στην απορρόφηση στο εύρος 220-250nm και συνδεεται με την απορρόφηση που σχετίζεται κυρίως με τα συζυγή διένια.



Εικόνα 3.11: Διάγραμμα συσχέτισης (score plot) με βάση την πρώτη και την δεύτερη λανθάνουσα μεταβλητή για την γεωγραφική ταξινόμηση ελαιολάδου με φασματοσκοπία απορρόφησης υπεριώδους (220-280 nm)

Πίνακας 3.1: Πίνακας κατάταξης ελαιόλαδων(Κρήτη, Πελοπόννησος, Λέσβος)

	Κρήτη	Πελοπόννησος	Λέσβος
Πρόβλεψη ως Κρήτη	33	1	0
Πρόβλεψη ως Πελοπόννησος	4	14	2
Πρόβλεψη ως Λέσβος	3	1	13
Ορθή Ταξινόμηση %	82,5%	87,5%	86,6%



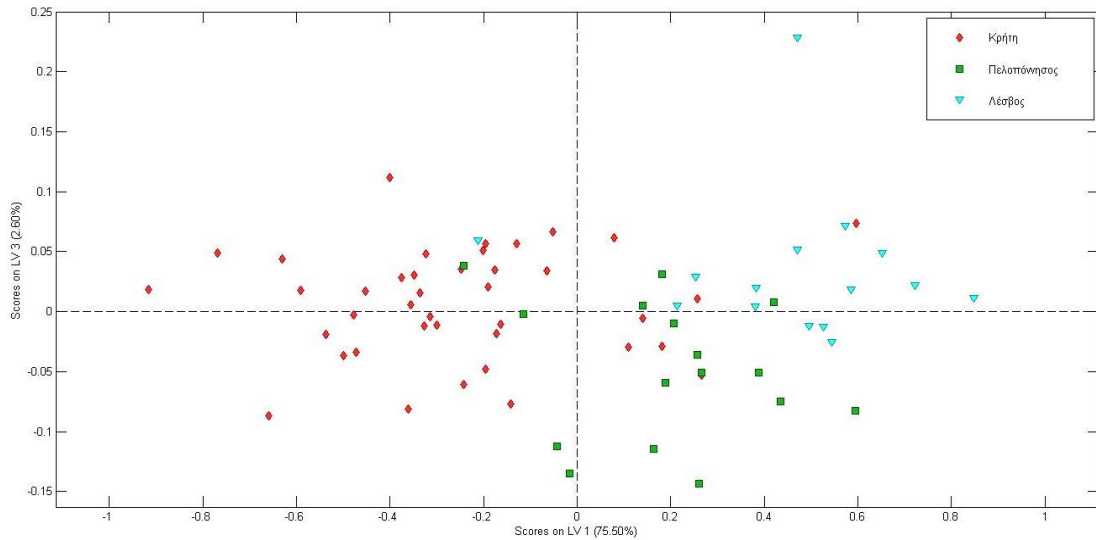
Εικόνα 3.12: Loading plots για την πρώτη και την δεύτερη λανθάνουσα μεταβλητή

3.3.3 Γεωγραφική ταξινόμηση ελαιολάδου με φασματοσκοπία απορρόφησης υπεριώδους (260-410 nm)

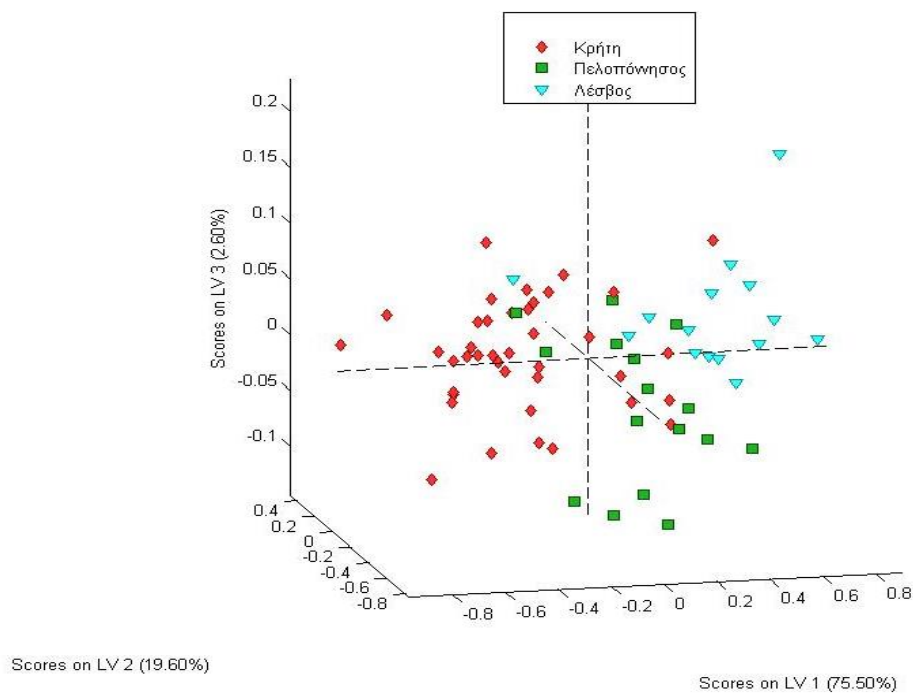
Τα δείγματα ελαιολάδου που μελετήθηκαν είναι τα προαναφερθέντα. Το μοντέλο O-PLS-DA εκπαιδεύτηκε με τα φασματοσκοπικά δεδομένα που συλλέχθηκαν με την φασματοσκοπία απορρόφησης στην περιοχή 260-410nm. Η προ-επεξεργασία των δεδομένων έγινε με την μέθοδο smoothing σε συνδυασμό με την μέθοδο mean center. Για το συγκεκριμένο μοντέλο επιλέχθηκαν τρεις λανθάνουσες μεταβλητές και η αξιοπιστία του μοντέλου ελέγχθηκε μέσω διασταυρούμενης επικύρωσης με τη μέθοδο Venetian-Blinds με την δημιουργία 7 διαφορετικών ομάδων.

Από την διαχωριστική ανάλυση με ορθογώνια προβολή των δειγμάτων στη πρώτη και τρίτη λανθάνουσα μεταβλητή (Εικόνα 3.13), οι οποίες περιγράφουν το 78,1% της διακύμανσης των φασματοσκοπικών δεδομένων, προέκυψε το παρακάτω διάγραμμα. Παρατηρείται ο διαχωρισμός των ελαιολάδων της Κρήτης βάσει της πρώτης λανθάνουσας μεταβλητής και ο διαχωρισμός των ελαιολάδων Πελοποννήσου και Λέσβου βάσει της τρίτης λανθάνουσας μεταβλητής. Σημειώνεται ότι το δείγμα της Λέσβου που εμφανίζεται στις συντεταγμένες του διαγράμματος εκτός των υπόλοιπων, είναι το μοναδικό δείγμα από την περιοχή της Λέσβου αδραμυτιανής ποικιλίας. Μία καλύτερη οπτική απεικόνιση προκύπτει από την τρισδιάστατη προβολή των δειγμάτων στην πρώτη λανθάνουσα μεταβλητή με την δεύτερη και τρίτη ορθογώνια λανθάνουσα μεταβλητή (Εικόνα 3.14). Από την απεικόνιση των αποτελεσμάτων μέσω των τετραγωνικών πινάκων προκύπτει ότι η πρόβλεψη της γεωγραφικής προέλευσης των δειγμάτων δεν μπορεί να πραγματοποιηθεί με απόλυτη επιτυχία αλλά σε έναν ικανοποιητικό βαθμό. Τα loading plot των λανθάνουσων μεταβλητών υποδεικνύουν τις φασματικές περιοχές που είναι υπεύθυνες για τον παρατηρούμενο διαχωρισμό. Η πρώτη λανθάνουσα

μεταβλητή συνδέεται με την απορρόφηση σε όλο το εύρος της περιοχής που μελετήθηκε ενώ η δεύτερη κυρίως με την απορρόφηση στα 260-320 nm και η τρίτη με την απορρόφηση κυρίως στα 260-320 nm καθώς και στα 360-410nm, επομένως ο παρατηρούμενος διαχωρισμός στηρίζεται στο σύνολο των ενώσεων που απορροφούν στη συγκεκριμένη περιοχή λόγω του εύρους των loading plot.



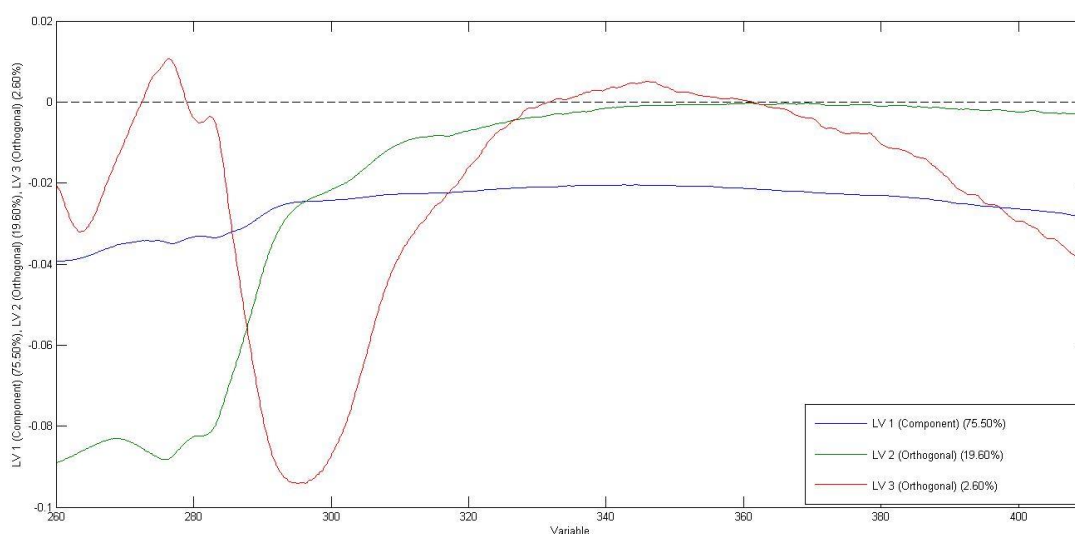
Εικόνα 3.13: Διάγραμμα συσχέτισης (score plot) με βάση την πρώτη και την τρίτη λανθάνουσα μεταβλητή για την γεωγραφική ταξινόμηση ελαιολάδου με φασματοσκοπία απορρόφησης υπεριώδους (260-410 nm)



Εικόνα 3.14: Διάγραμμα συσχέτισης (score plot) με βάση την πρώτη, την δεύτερη και την τρίτη λανθάνουσα μεταβλητή για την γεωγραφική ταξινόμηση ελαιολάδου με φασματοσκοπία απορρόφησης υπεριώδους (260-410 nm)

Πίνακας 3.2: Πίνακας κατάταξης ελαιολάδων(Κρήτη, Πελοπόννησος, Λέσβος)

	Κρήτη	Πελοπόννησος	Λέσβος
Πρόβλεψη ως Κρήτη	32	2	1
Πρόβλεψη ως Πελοπόννησος	4	12	1
Πρόβλεψη ως Λέσβος	4	2	13
Ορθή Ταξινόμηση %	80,00%	75,00%	86,66%



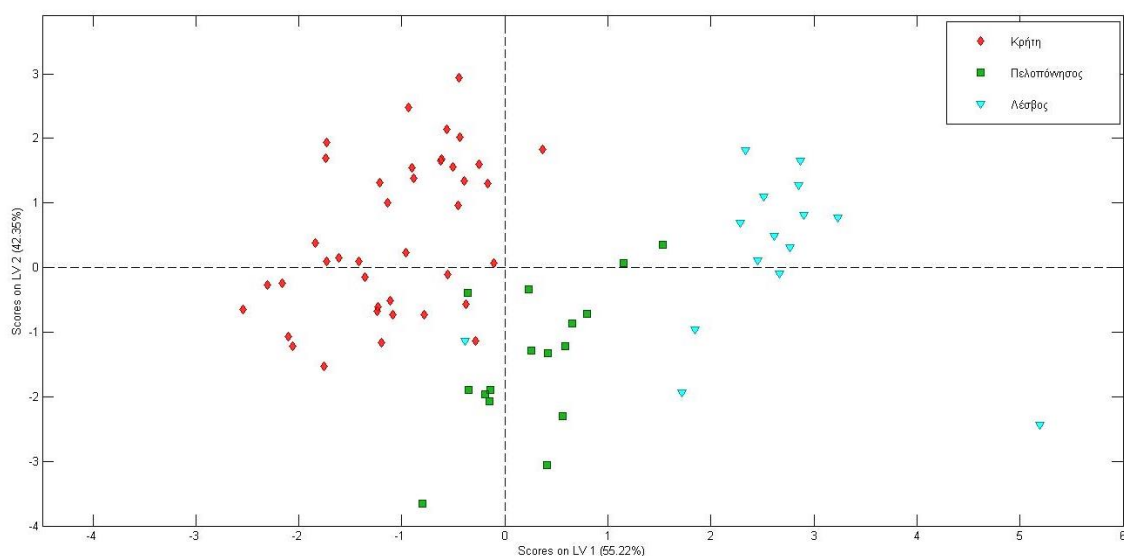
Εικόνα 3.15: Loading plots για την πρώτη,την δεύτερη και την τρίτη λανθάνουσα μεταβλητή

3.3.4 Γεωγραφική ταξινόμηση ελαιολάδου με φασματοσκοπία απορρόφησης ορατού (400-800nm)

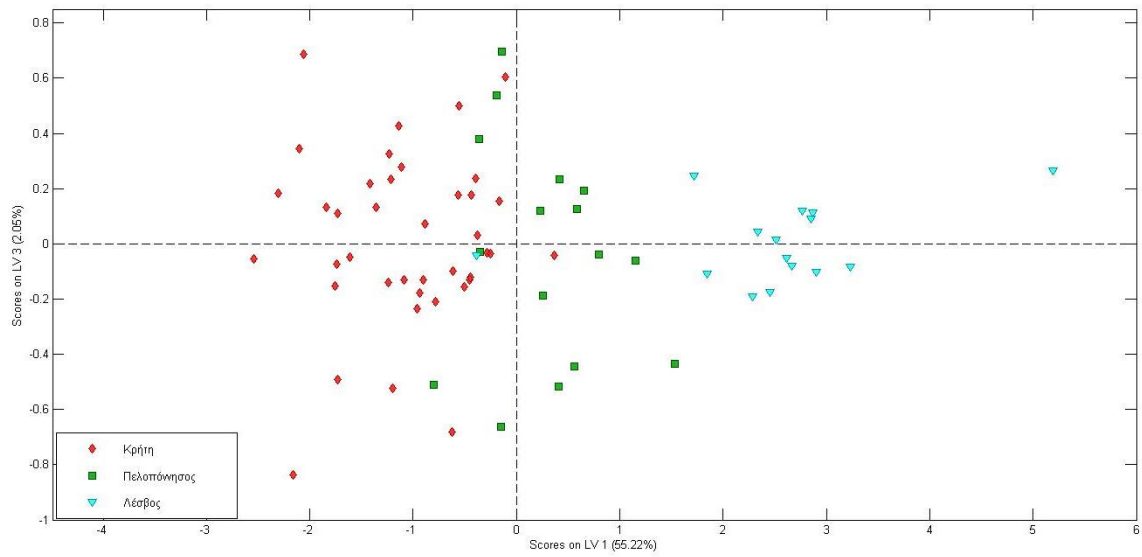
Το μοντέλο O-PLS-DA εκπαιδεύτηκε με τα φασματοσκοπικά δεδομένα που συλλέχθηκαν με την φασματοσκοπία απορρόφησης στην περιοχή του ορατού 400-800nm. Η προ-επεξεργασία των δεδομένων που επιλέχθηκε ήταν η μέθοδος mean center. Για το συγκεκριμένο μοντέλο επιλέχθηκαν πέντε λανθάνουσες μεταβλητές και η αξιοπιστία του μοντέλου ελέγχθηκε μέσω διασταυρούμενης επικύρωσης με τη μέθοδο Venetian-Blinds με την δημιουργία 9 ομάδων.

Η πρώτη λανθάνουσα μεταβλητή περιγράφει το 55,22% της διακύμανσης των φασματοσκοπικών δεδομένων, η δεύτερη ορθογώνια λανθάνουσα μεταβλητή το 42,55% και η τρίτη το 2,05%. Βάσει των διαγραμμάτων που προκύπτουν από την προβολή των δειγμάτων στις τρεις πρώτες λανθάνουσες μεταβλητές υπάρχει ένας πολύ καλός διαχωρισμός μεταξύ των τριών κατηγοριών που οφείλεται κυρίως στην πρώτη λανθάνουσα μεταβλητή. Αξιόλογη είναι η διάκριση ενός δείγματος της Λέσβου ,όπου παρατηρήθηκε και με την

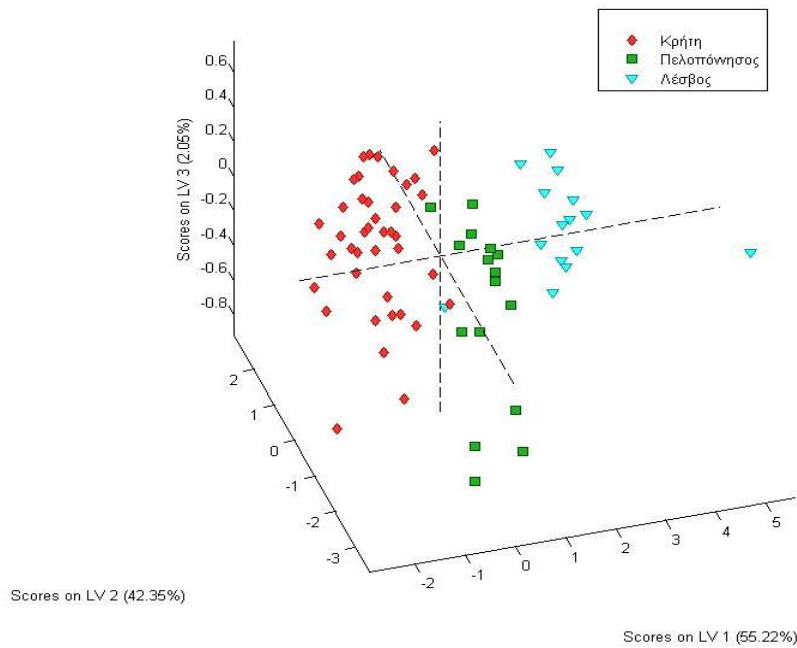
προηγούμενη τεχνική, και είναι το μοναδικό δείγμα αδραμυτιανής ποικιλίας από την συγκεκριμένη γεωγραφική προέλευση. Βάσει του πίνακα πρόβλεψης το ποσοστό επιτυχίας για τα δείγματα της Κρήτης ήταν 100% ενώ για τις άλλες δύο κατηγορίες το μοντέλο δεν πρόβλεψε επιτυχώς μόλις ένα δείγμα σε κάθε περιοχή. Από το loading plot της πρώτης λανθάνουσας μεταβλητής που είναι υπεύθυνη για τον παρατηρούμενο διαχωρισμό, παρατηρούμε ότι συνδέεται με την απορρόφηση σε όλο το φάσμα του ορατού αλλά δίνει περισσότερο βάρος στην περιοχή 400-500nm και 650-700nm. Εξαιτίας του εκτεταμένου εύρους των κορυφών ο διαχωρισμός μπορεί να αποδοθεί στο σύνολο των ενώσεων που απορροφούν στο συγκεκριμένο εύρος.



Εικόνα 3.16: Διάγραμμα συσχέτισης (score plot) με βάση την πρώτη και την δεύτερη λανθάνουσα μεταβλητή για την γεωγραφική ταξινόμηση ελαιολάδου με φασματοσκοπία απορρόφησης ορατού (400-800nm)



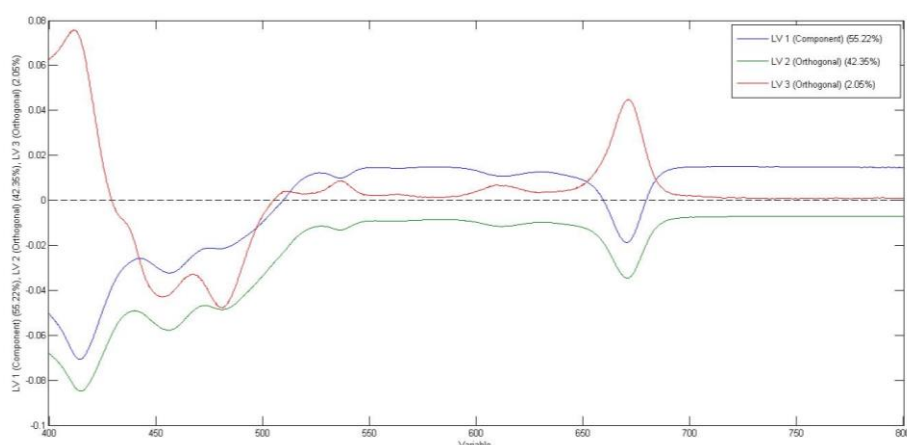
Εικόνα 3.17: Διάγραμμα συσχέτισης (score plot) με βάση την πρώτη και την τρίτη λανθάνουσα μεταβλητή για την γεωγραφική ταξινόμηση ελαιολάδου με φασματοσκοπία απορρόφησης ορατού (400-800nm)



Εικόνα 3.18: Διάγραμμα συσχέτισης (score plot) με βάση την πρώτη, την δεύτερη και την τρίτη λανθάνουσα μεταβλητή για την γεωγραφική ταξινόμηση ελαιολάδου με φασματοσκοπία απορρόφησης ορατού (400-800nm)

Πίνακας 3.3: Πίνακας κατάταξης ελαιολάδων(Κρήτη, Πελοπόννησος, Λέσβος)

	Κρήτη	Πελοπόννησος	Λέσβος
Πρόβλεψη ως Κρήτη	40	0	0
Πρόβλεψη ως Πελοπόννησος	0	15	1
Πρόβλεψη ως Λέσβος	0	1	14
Ορθή Ταξινόμηση %	100%	93,75%	93,33%



Εικόνα 3.19: Loading plots για την πρώτη, την δεύτερη και την πέμπτη λανθάνουσα μεταβλητή

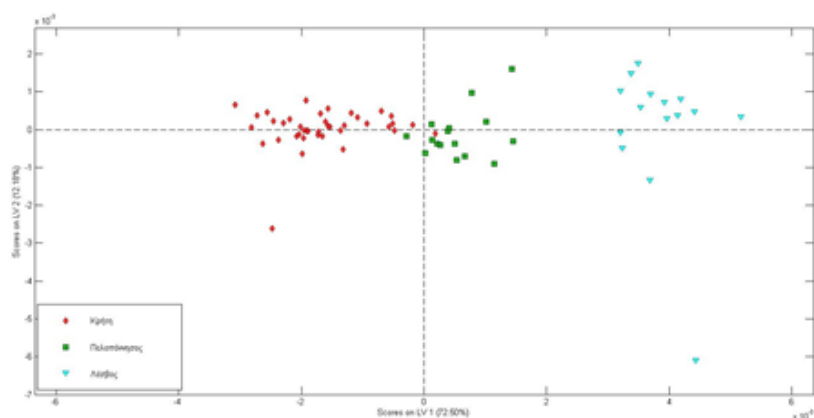
3.3.5 Γεωγραφική ταξινόμηση ελαιολάδου με φασματοσκοπία απορρόφησης υπεριώθρου (800-1600nm)

Στο μοντέλο O-PLS-DA που εκπαιδεύτηκε με τα φασματοσκοπικά δεδομένα της συγκεκριμένης τεχνικής επιλέχθηκε η προ-επεξεργασία της παραγωγίσις των δεδομένων (1^{ου} βαθμού) και της μεθόδου mean center. Για το συγκεκριμένο μοντέλο επιλέχθηκαν πέντε λανθάνουσες μεταβλητές και η αξιοπιστία του μοντέλου ελέγχθηκε μέσω διασταυρούμενης επικύρωσης με τη μέθοδο Venetian-Blinds με την δημιουργία 9 ομάδων.

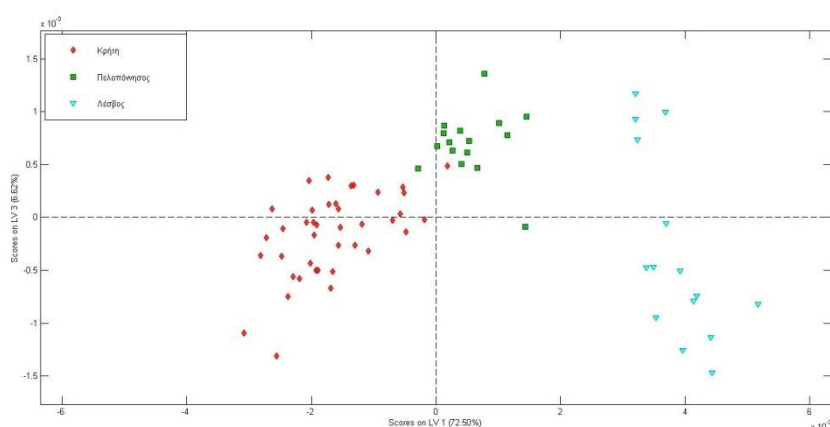
Η πρώτη λανθάνουσα μεταβλητή περιγράφει το 72,50% της διακύμανσης των φασματοσκοπικών δεδομένων, η δεύτερη ορθογώνια λανθάνουσα μεταβλητή το 12,18%, η τρίτη ορθογώνια λανθάνουσα μεταβλητή το 6,62% και η τέταρτη το 2,44%. Βάσει των διαγραμμάτων που προκύπτουν από την προβολή των δειγμάτων στις συγκεκριμένες λανθάνουσες μεταβλητές που περιγράφουν στο σύνολο τους το 81,56% της διακύμανσης των δεδομένων, υπάρχει ένας εξαιρετικός διαχωρισμός μεταξύ των τριών γεωγραφικών περιοχών που οφείλεται κυρίως στην πρώτη λανθάνουσα μεταβλητή. Βάσει του πίνακα πρόβλεψης προκύπτει και το συμπέρασμα ότι έχουμε επιτυχή προβλεπτική ικανότητα του μαθηματικού μοντέλου με τον ακριβή εντοπισμό της γεωγραφικής προέλευσης των ελαιολάδων από την Κρήτη και την Λέσβο και την αξιολόγηση προβλεπτική ικανότητα του μοντέλου για την περιοχή της Πελοποννήσου. Από την αξιολόγηση του loading plot για την πρώτη λανθάνουσα μεταβλητή παρατηρείται η σύνδεση της με την απορρόφηση

κυρίως στις κορυφές που σχετίζονται με την δεύτερη υπερτονική έκταση του δεσμού C-H του $-CH_2$ (1210 nm) και την έκταση και κάμψη του δεσμού C-H του $-(CH_2)_n$ (1400nm) και επομένως εκεί αποδίδεται κυρίως ο παρατηρούμενος διαχωρισμός.

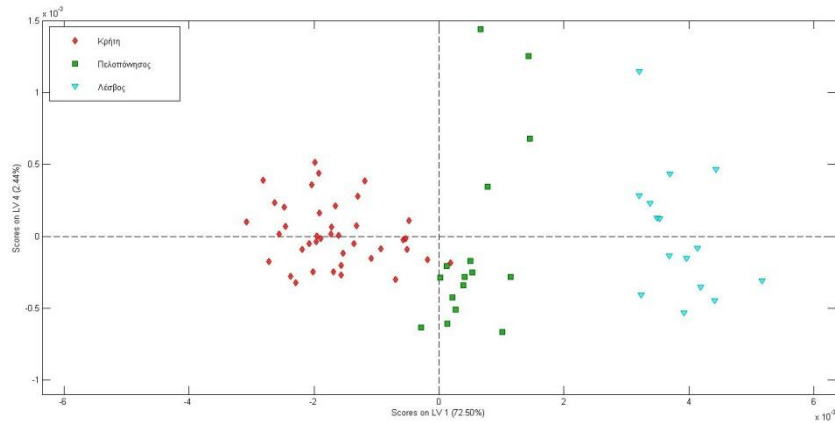
Ωστόσο θα πρέπει να αναφερθούν οι παρακάτω παρατηρήσεις. Όσον αφορά την Εικόνα 3.20 παρατηρείται η διάκριση του δείγματος αδραμιτιανής ποικιλίας της Λέσβου και η διάκριση αυτή οφείλεται στην δεύτερη ορθογώνια λανθάνουσα μεταβλητή. Στην Εικόνα 3.21 παρατηρείται ένα γκρουπάρισμα των τεσσάρων από τα πέντε δείγματα κορωνέικης ποικιλίας και η διάκριση αυτή οφείλεται στην τρίτη ορθογώνια λανθάνουσα μεταβλητή. Στην Εικόνα 3.22 παρατηρείται στα δείγματα της Πελοποννήσου ένα γκρουπάρισμα των δειγμάτων από την περιοχή της Λακωνίας και η διάκριση αυτή οφείλεται στην τέταρτη ορθογώνια λανθάνουσα μεταβλητή.



Εικόνα 3.20: Διάγραμμα συσχέτισης (score plot) με βάση την πρώτη και την δεύτερη λανθάνουσα μεταβλητή για την γεωγραφική ταξινόμηση ελαιολάδου με φασματοσκοπία απορρόφησης υπεριώθρου (800-1600nm)



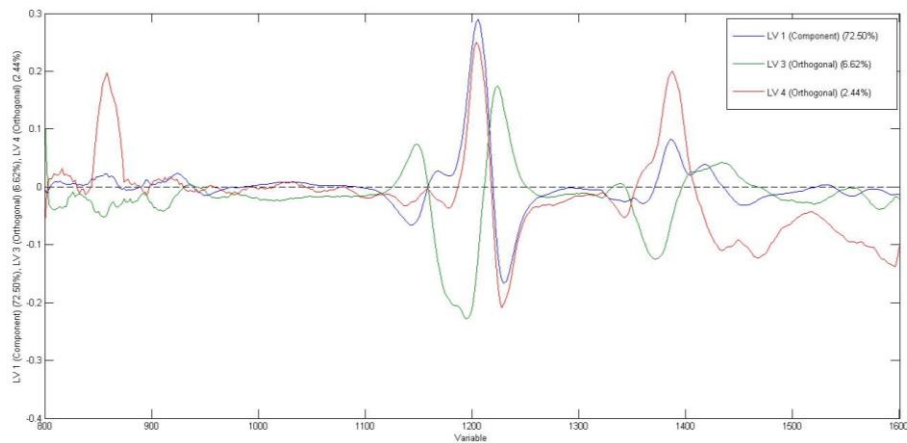
Εικόνα 3.21: Διάγραμμα συσχέτισης (score plot) με βάση την πρώτη και την τρίτη λανθάνουσα μεταβλητή για την γεωγραφική ταξινόμηση ελαιολάδου με φασματοσκοπία απορρόφησης υπεριώθρου (800-1600nm)



Εικόνα 3.22: Διάγραμμα συσχέτισης (score plot) με βάση την πρώτη και την τρίτη λανθάνουσα μεταβλητή για την γεωγραφική ταξινόμηση ελαιολάδου με φασματοσκοπία απορρόφησης υπεριώθρου (800-1600nm)

Πίνακας 3.4: Πίνακας κατάταξης ελαιολάδων (Κρήτη, Πελοπόννησος, Λέσβος)

	Κρήτη	Πελοπόννησος	Λέσβος
Πρόβλεψη ως Κρήτη	40	1	0
Πρόβλεψη ως Πελοπόννησος	0	14	0
Πρόβλεψη ως Λέσβος	0	1	15
Ορθή Ταξινόμηση %	100%	87,5%	100%



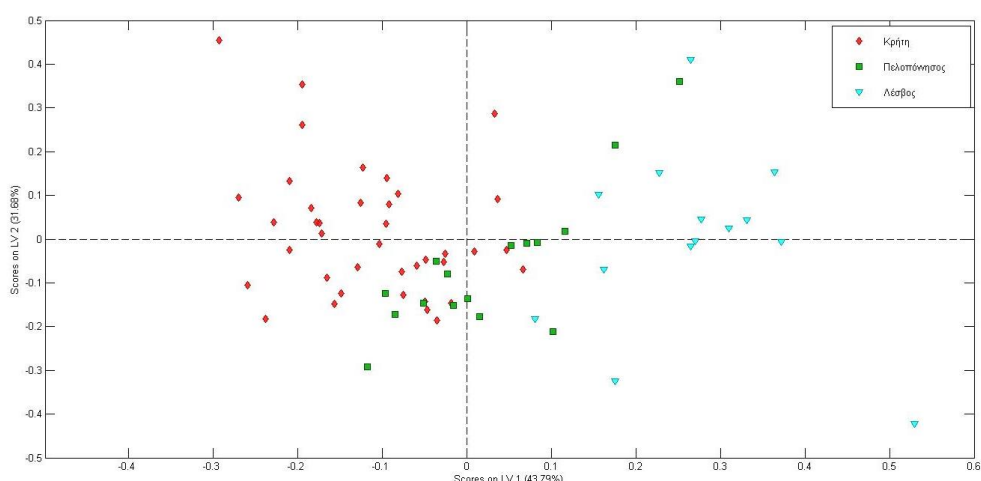
Εικόνα 3.23: Loading plots για την πρώτη, την τρίτη και την τέταρτη λανθάνουσα μεταβλητή

3.3.6 Γεωγραφική ταξινόμηση ελαιολάδου με φασματοσκοπία απορρόφησης υπεριώθρου (1800-2200nm)

Το μοντέλο O-PLS-DA εκπαιδεύτηκε με τα φασματοσκοπικά δεδομένα που συλλέχθηκαν με την φασματοσκοπία απορρόφησης στην περιοχή υπεριώθρου 1800-2200nm. Η προ-επεξεργασία των δεδομένων που

επιλέχθηκε ήταν ο συνδυασμός μεθόδων smoothing, SNV και mean center. Για το συγκεκριμένο μοντέλο επιλέχθηκαν τρεις λανθάνουσες μεταβλητές και η αξιοπιστία του μοντέλου ελέγχθηκε μέσω διασταυρούμενης επικύρωσης με τη μέθοδο Venetian-Blinds με την δημιουργία 8 ομάδων.

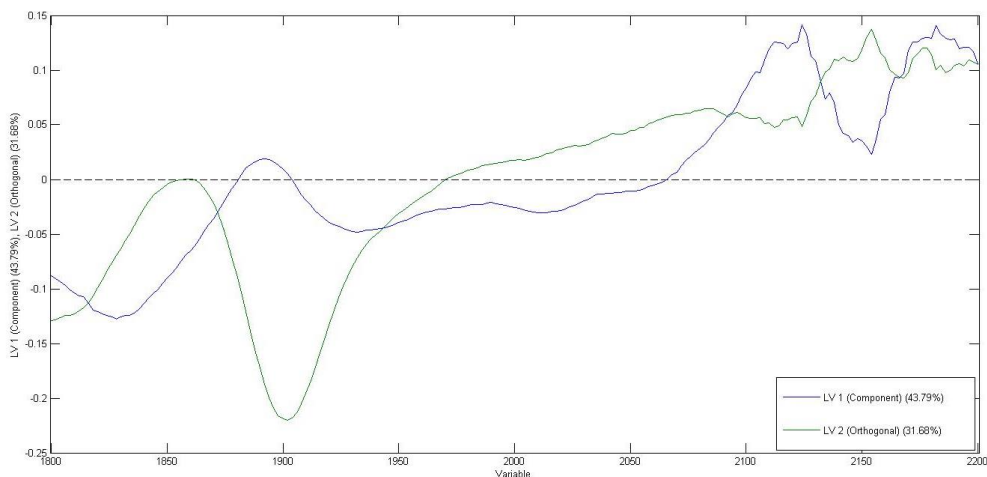
Από την διαχωριστική ανάλυση με ορθογώνια προβολή της πρώτης και δεύτερης λανθάνουσες μεταβλητής, οι οποίες περιγράφουν το 75,47% της διακύμανσης των φασματοσκοπικών δεδομένων, προέκυψε το παρακάτω διάγραμμα (Εικόνα 3.24). Παρατηρείται ο διαχωρισμός των ελαιολάδων της Λέσβου και της Κρήτης βάση της πρώτης λανθάνουσας μεταβλητής. Ο διαχωρισμός των ελαιολάδων Πελοποννήσου δεν επιτυγχάνεται. Από την απεικόνιση των αποτελεσμάτων μέσω των τετραγωνικών πινάκων προκύπτει ότι η πρόβλεψη της γεωγραφικής προέλευσης των δειγμάτων Λέσβου και Κρήτης μπορεί να πραγματοποιηθεί σε έναν ικανοποιητικό βαθμό, ενώ παρατηρούνται τα χαμηλά ποσοστά πρόβλεψης των δειγμάτων της Πελοποννήσου. Τα loading plot των λανθάνουσων μεταβλητών υποδεικνύουν τις φασματικές περιοχές που συνδέονται με τον συνδυασμό δονήσεων C-H στο $-CH=CH-$.



Εικόνα 3.24: Διάγραμμα συσχέτισης (score plot) με βάση την πρώτη και την δεύτερη λανθάνουσα μεταβλητή για την γεωγραφική ταξινόμηση ελαιολάδου με φασματοσκοπία απορρόφησης υπεριώθρου (1800-2200nm)

Πίνακας 3.5: Πίνακας κατάταξης ελαιολάδων(Κρήτη, Πελοπόννησος, Λέσβος)

	Κρήτη	Πελοπόννησος	Λέσβος
Πρόβλεψη ως Κρήτη	33	5	0
Πρόβλεψη ως Πελοπόννησος	7	8	1
Πρόβλεψη ως Λέσβος	0	3	14
Ορθή Ταξινόμηση %	82,5%	50%	93,33%

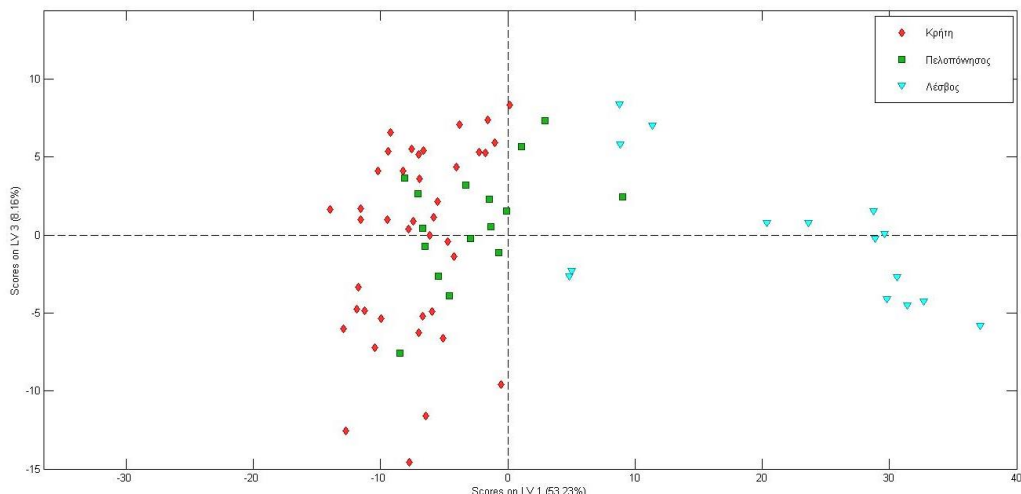


Εικόνα 3.25: Loading plots για την πρώτη και την δεύτερη λανθάνουσα μεταβλητή

3.3.7 Γεωγραφική ταξινόμηση ελαιολάδου με φασματοσκοπία φθορισμού

Με τα φασματοσκοπικά δεδομένα του φθορισμού εκπαιδεύτηκαν δύο διαφορετικά μοντέλα O-PLS-DA. Στο πρώτο μοντέλο χρησιμοποιήθηκε η πληροφορία από τα οχτώ πρώτα φάσματα σύγχρονης σάρωσης. Τα οχτώ πρώτα φάσματα σύγχρονης σάρωσης περιλαμβάνουν πληροφορία για τις πολυφαινόλες που περιέχονται στο ελαιόλαδο και για την χλωροφύλλη. Στο δεύτερο μοντέλο που εκπαιδεύτηκε χρησιμοποιήθηκαν τα 7 πρώτα φάσματα σύγχρονης σάρωσης και η εκπομπή μέχρι τα 400nm. Με αυτό το τρόπο το μοντέλο εκπαιδεύτηκε με φασματοσκοπικά δεδομένα φθορισμού που περιλαμβάνουν αποκλειστικά πληροφορίες για τις πολυφαινόλες του ελαιολάδου. Η προ-επεξεργασία των δεδομένων που επιλέχθηκε και για τα δύο μοντέλα ήταν ο συνδυασμός μεθόδων smoothing, SNV και mean center. Στο πρώτο μοντέλο επιλέχθηκαν έξι λανθάνουσες μεταβλητές και η αξιοπιστία του μοντέλου ελέγχθηκε μέσω διασταυρούμενης επικύρωσης με τη μέθοδο Venetian-Blinds με την δημιουργία 9 ομάδων. Στο δεύτερο μοντέλο επιλέχθηκαν επτά λανθάνουσες μεταβλητές και η αξιοπιστία του μοντέλου ελέγχθηκε μέσω διασταυρούμενης επικύρωσης με τη μέθοδο Venetian-Blinds με την δημιουργία 10 ομάδων.

Σχετικά με το πρώτο μοντέλο που εκπαιδεύτηκε από την διαχωριστική ανάλυση με ορθογώνια προβολή της πρώτης και τρίτης λανθάνουσας μεταβλητής, οι οποίες περιγράφουν το 61,39% της διακύμανσης των φασματοσκοπικών δεδομένων, προέκυψε το διάγραμμα της Εικόνας 3.26. Παρατηρείται ο διαχωρισμός των ελαιολάδων της Λέσβου και της Κρήτης βάσει της πρώτης λανθάνουσας μεταβλητής. Ο διαχωρισμός των ελαιολάδων Πελοποννήσου δεν επιτυγχάνεται. Από την απεικόνιση των αποτελεσμάτων μέσω των τετραγωνικών πινάκων προκύπτει ότι η πρόβλεψη της γεωγραφικής προέλευσης των δειγμάτων Λέσβου και Κρήτης μπορεί να πραγματοποιηθεί σε έναν ικανοποιητικό βαθμό και παρατηρούνται τα χαμηλά ποσοστά πρόβλεψης των δειγμάτων της Πελοποννήσου.

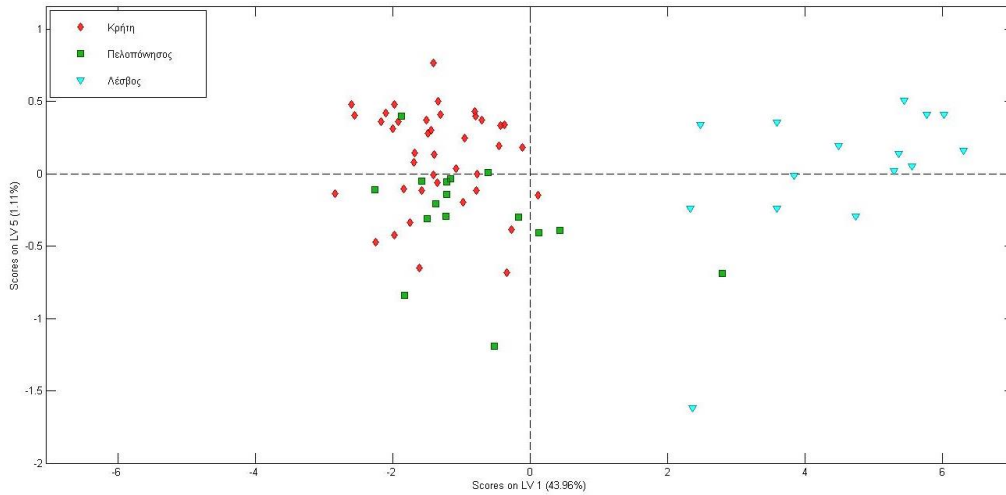


Εικόνα 3.26: Διάγραμμα συσχέτισης (score plot) με βάση την πρώτη και την τρίτη λανθάνουσα μεταβλητή για την γεωγραφική ταξινόμηση ελαιολάδου με φασματοσκοπία φθορισμού

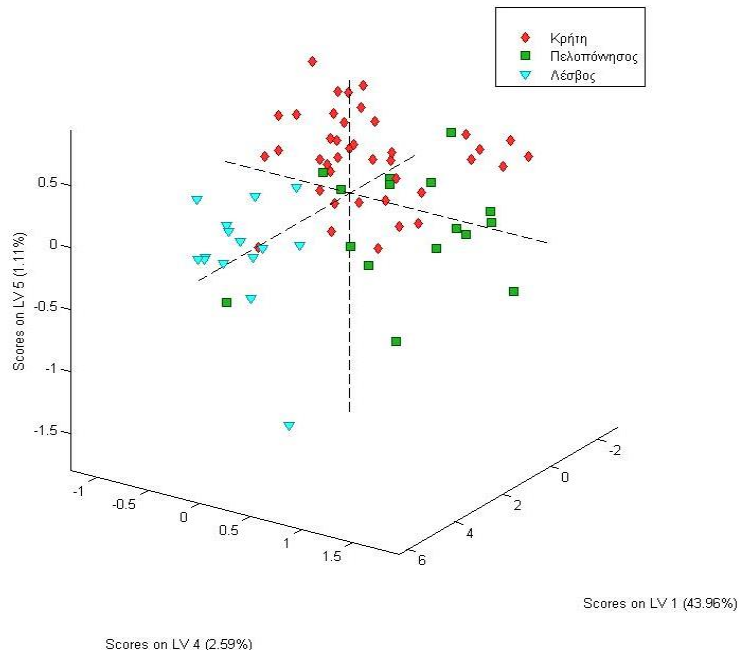
Πίνακας 3.6: Πίνακας κατάταξης ελαιολάδων(Κρήτη, Πελοπόννησος, Λέσβος)

	Κρήτη	Πελοπόννησος	Λέσβος
Πρόβλεψη ως Κρήτη	31	6	0
Πρόβλεψη ως Πελοπόννησος	9	9	3
Πρόβλεψη ως Λέσβος	0	1	12
Ορθή Ταξινόμηση %	77,5%	56,25%	80%

Ωστόσο, σχετικά με το δεύτερο μοντέλο που εκπαιδεύτηκε από την διαχωριστική ανάλυση με ορθογώνια προβολή της πρώτης και πέμπτης λανθάνουσας μεταβλητής, οι οποίες περιγράφουν το 45,07% της διακύμανσης των φασματοσκοπικών δεδομένων, προέκυψε το διάγραμμα της Εικόνας 3.27. Διακρίνεται ο διαχωρισμός των ελαιολάδων της Λέσβου και της Κρήτης βάσει της πρώτης λανθάνουσας μεταβλητής. Ο διαχωρισμός των ελαιολάδων Πελοποννήσου δεν επιτυγχάνεται σε ικανοποιητικό βαθμό. Μέσω του διαγράμματος της Εικόνας 3.28 που περιλαμβάνει την προβολή των δειγμάτων σε τρεις λανθάνουσες μεταβλητές υπάρχει μια καλύτερη οπτική απεικόνιση του διαχωρισμού. Από την απεικόνιση των αποτελεσμάτων μέσω των τετραγωνικών πινάκων προκύπτει ότι η πρόβλεψη της γεωγραφικής προέλευσης των δειγμάτων Λέσβου και Κρήτης μπορεί να πραγματοποιηθεί σε έναν ικανοποιητικό βαθμό που είναι καλύτερος από το προηγούμενο μοντέλο που εκπαιδεύτηκε. Τα ποσοστά πρόβλεψης των δειγμάτων της Πελοποννήσου παραμένουν στα ίδια επίπεδα.



Εικόνα 3.27: Διάγραμμα συσχέτισης (score plot) με βάση την πρώτη και την πέμπτη λανθάνουσα μεταβλητή για την γεωγραφική ταξινόμηση ελαιολάδου με φασματοσκοπία φθορισμού



Εικόνα 3.28: Διάγραμμα συσχέτισης (score plot) με βάση την πρώτη, την τέταρτη και την πέμπτη λανθάνουσα μεταβλητή για την γεωγραφική ταξινόμηση ελαιολάδου με φασματοσκοπία φθορισμού

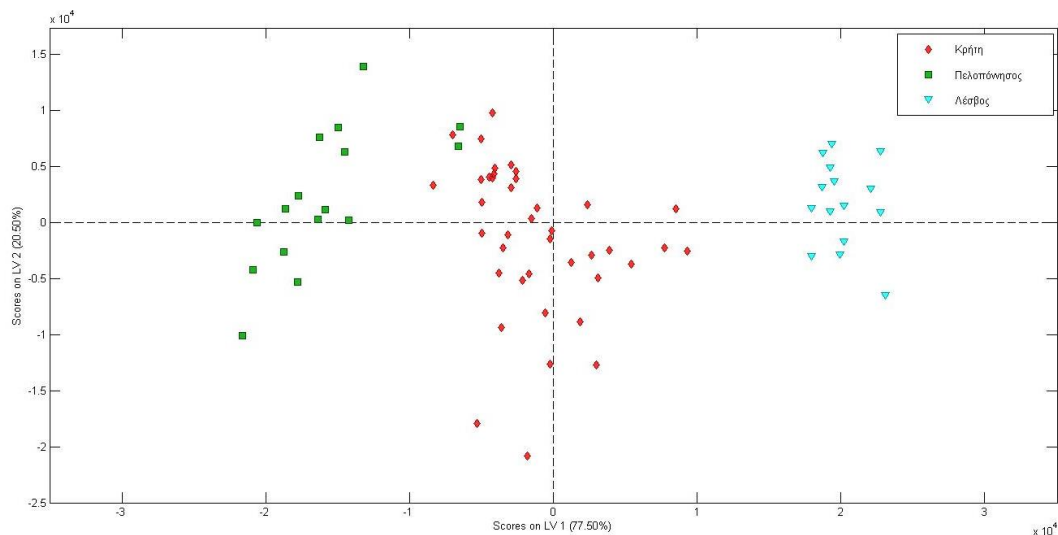
Πίνακας 3.7: Πίνακας κατάταξης ελαιόλαδων(Κρήτη, Πελοπόννησος, Λέσβος)

	Κρήτη	Πελοπόννησος	Λέσβος
Πρόβλεψη ως Κρήτη	35	6	0
Πρόβλεψη ως Πελοπόννησος	5	9	1
Πρόβλεψη ως Λέσβος	0	1	14
Ορθή Ταξινόμηση %	87,5%	56,25%	93,33%

3.3.8 Γεωγραφική ταξινόμηση ελαιολάδου με φασματοσκοπία Raman

Τα φάσματα Raman συλλέχθηκαν σύμφωνα με την πειραματική διαδικασία. Το μοντέλο O-PLS-DA που εκπαιδεύτηκε περιλάμβανε το τμήμα $1000-1800\text{cm}^{-1}$ και $2800-2980\text{cm}^{-1}$ από τα φάσματα Raman. Το τμήμα που δεν συμπεριλαμβάνεται στην εκπαίδευση του μοντέλου δεν περιέχει κάποια πληροφορία για το ελαιόλαδο και θα δημιουργούσε θόρυβο στο μοντέλο. Στα φασματοσκοπικά δεδομένα της συγκεκριμένης τεχνικής επιλέχθηκε η προεπεξεργασία με τη μέθοδο mean center. Για το συγκεκριμένο μοντέλο επιλέχθηκαν επτά λανθάνουσες μεταβλητές και η αξιοπιστία του μοντέλου ελέγχθηκε μέσω διασταυρούμενης επικύρωσης με τη μέθοδο Venetian-Blinds με την δημιουργία 13 ομάδων.

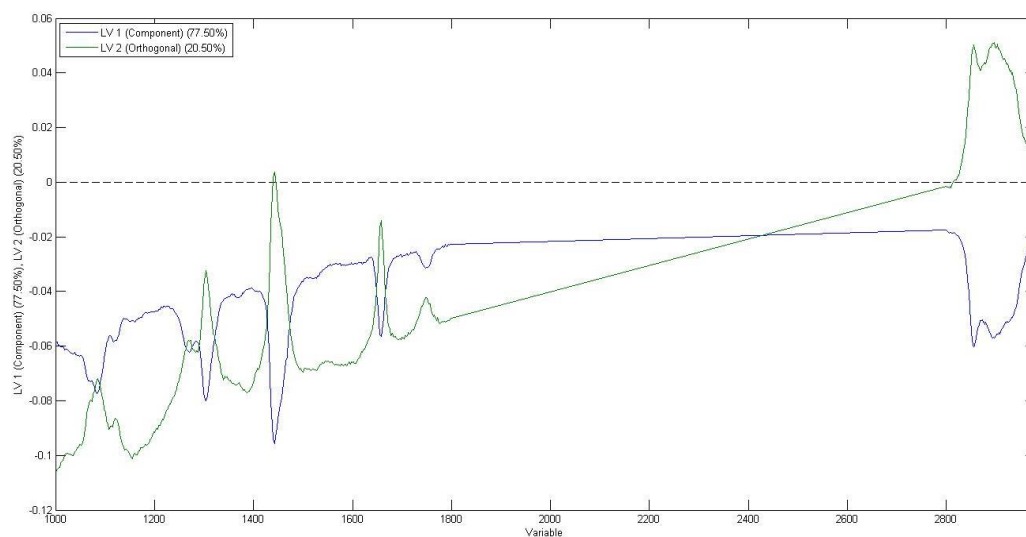
Η πρώτη λανθάνουσα μεταβλητή περιγράφει το 77,50% της διακύμανσης των φασματοσκοπικών δεδομένων και η δεύτερη ορθογώνια λανθάνουσα μεταβλητή το 20,50%. Βάσει του διαγράμματος που προκύπτει από την προβολή των δειγμάτων στις παραπάνω λανθάνουσες μεταβλητές υπάρχει ένας εξαιρετικός διαχωρισμός μεταξύ των τριών κατηγοριών που οφείλεται στην πρώτη λανθάνουσα μεταβλητή. Βάσει του πίνακα πρόβλεψης το ποσοστό επιτυχίας του μοντέλου είναι αρκετά ικανοποιητικό για όλες τις κατηγορίες. Από το loading plot της πρώτης λανθάνουσας μεταβλητής που είναι υπεύθυνη για τον παρατηρούμενο διαχωρισμό παρατηρούμε ότι συνδέεται κυρίως με τις κορυφές στα 1076cm^{-1} , 1300cm^{-1} , 1439cm^{-1} , 1650cm^{-1} , 1747cm^{-1} και στην περιοχή $2700-3000\text{cm}^{-1}$.



Εικόνα 3.29: Διάγραμμα συσχέτισης (score plot) με βάση την πρώτη και την δεύτερη λανθάνουσα μεταβλητή για την γεωγραφική ταξινόμηση ελαιολάδου με φασματοσκοπία Raman

Πίνακας 3.8: Πίνακας κατάταξης ελαιόλαδων (Κρήτη, Πελοπόννησος, Λέσβος)

	Κρήτη	Πελοπόννησος	Λέσβος
Πρόβλεψη ως Κρήτη	38	1	1
Πρόβλεψη ως Πελοπόννησος	2	15	0
Πρόβλεψη ως Λέσβος	0	0	14
Ορθή Ταξινόμηση %	95,00%	93,75%	93,33%



Εικόνα 3.30: Loading plots για την πρώτη και την δεύτερη λανθάνουσα μεταβλητή

3.4 Διαχωρισμός ελαιολάδου Πελοποννήσου

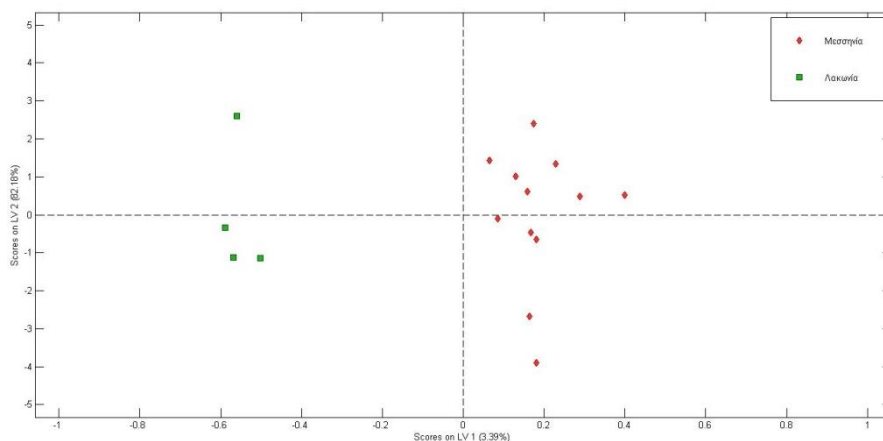
Στο παρόν υπό-κεφάλαιο θα διερευνηθεί ο διαχωρισμός των δειγμάτων από την Πελοπόννησο. Από το σύνολο των δειγμάτων που μελετήθηκαν στο υποκεφάλαιο 6.3 τα δείγματα από την Πελοπόννησο ήταν 4 από το νομό Λακωνίας και 12 από το νομό Μεσσηνίας. Η μελέτη πραγματοποιήθηκε με τις τεχνικές φασματοσκοπίας απορρόφησης στο υπεριώδες, στο ορατό έως και το υπέρυθρο, φασματοσκοπία φθορισμού και φασματοσκοπία Raman. Στο συγκεκριμένο υποκεφάλαιο θα εξεταστεί η γεωγραφική ταξινόμηση ελαιολάδων Πελοποννήσου με την μέθοδο O-PLS-DA. Ο διαχωρισμός ελαιολάδου Πελοποννήσου με φασματοσκοπία απορρόφησης υπεριώδους δεν υπήρξε εφικτός.

Λόγω του μικρού αριθμού δειγμάτων η συγκεκριμένη διάκριση επιλέχθηκε να γίνει ξεχωριστά από την προηγούμενη διάκριση που αναλύθηκε στο προηγούμενο κεφάλαιο. Η μελέτη θα συνεχιστεί και τα επόμενα χρόνια στα πλαίσια της εμβληματικής δράσης.

3.4.1 Διαχωρισμός ελαιολάδου Πελοποννήσου με φασματοσκοπία απορρόφησης ορατού (400-800 nm)

Το μοντέλο O-PLS-DA εκπαιδεύτηκε με τα φασματοσκοπικά δεδομένα που συλλέχθηκαν με την φασματοσκοπία απορρόφησης στην περιοχή του ορατού 400-800nm. Η προ-επεξεργασία των δεδομένων που επιλέχθηκε ήταν η μέθοδος mean center. Για το συγκεκριμένο μοντέλο επιλέχθηκαν πέντε λανθάνουσες μεταβλητές και η αξιοπιστία του μοντέλου ελέγχθηκε μέσω διασταυρούμενης επικύρωσης με τη μέθοδο Venetian-Blinds με την δημιουργία 9 ομάδων.

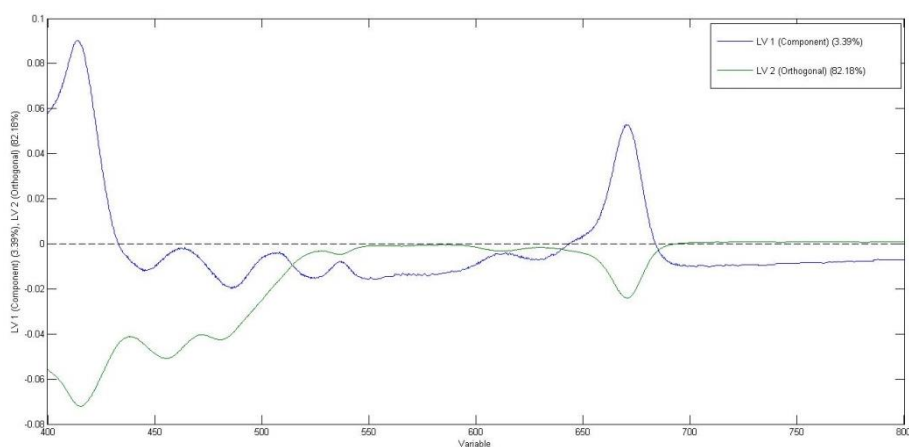
Σχετικά με το μοντέλο που εκπαιδεύτηκε από την διαχωριστική ανάλυση με ορθογώνια προβολή της πρώτης και δεύτερης λανθάνουσας μεταβλητής, οι οποίες περιγράφουν το 85,57% της διακύμανσης των φασματοσκοπικών δεδομένων, προέκυψε το διάγραμμα της Εικόνας 3.31. Από την συνδυαστική αξιολόγηση του και του Πίνακα 3.9 προκύπτει η απόλυτα επιτυχής πρόβλεψη της γεωγραφικής προέλευσης των δειγμάτων της Πελοποννήσου, η οποία συνδέεται με την πρώτη λανθάνουσα μεταβλητή. Βάσει του loading plot η διάκριση συνδέεται άμεσα με την απορρόφηση των καροτενοειδών στα 414nm και την απορρόφηση της χλωροφύλλης στα 675nm.



Εικόνα 3.31: Διάγραμμα συσχέτισης (score plot) με βάση την πρώτη και την δεύτερη λανθάνουσα μεταβλητή για τον διαχωρισμό ελαιολάδου Πελοποννήσου (Μεσσηνία, Λακωνία) με φασματοσκοπία απορρόφησης ορατού (400-800 nm)

Πίνακας 3.9: Πίνακας κατάταξης ελαιολάδων Πελοποννήσου (Μεσσηνία, Λακωνία)

	Μεσσηνία	Λακωνία
Πρόβλεψη ως Μεσσηνία	12	0
Πρόβλεψη ως Λακωνία	0	4
Ορθή Ταξινόμηση %	100%	100%



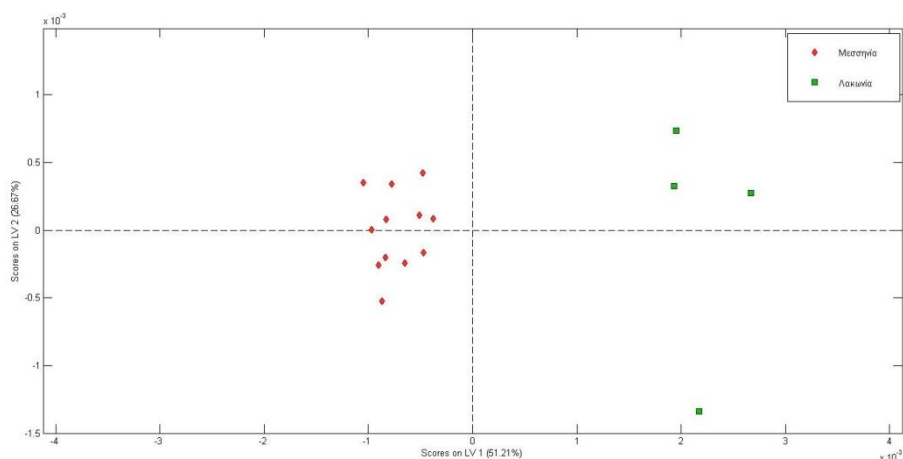
Εικόνα 3.32: Loading plots για την πρώτη και την δεύτερη λανθάνουσα μεταβλητή

3.4.2 Διαχωρισμός ελαιολάδου Πελοποννήσου με φασματοσκοπία απορρόφησης υπερύθρου (800-1600 nm)

Στο μοντέλο O-PLS-DA που εκπαιδεύτηκε με τα φασματοσκοπικά δεδομένα της συγκεκριμένης τεχνικής επιλέχθηκε η προ-επεξεργασία της παραγωγίσις των δεδομένων (1^{ου} βαθμού) και της μεθόδου mean center. Για το συγκεκριμένο μοντέλο επιλέχθηκαν δύο λανθάνουσες μεταβλητές και η

αξιοπιστία του μοντέλου ελέγχθηκε μέσω διασταυρούμενης επικύρωσης με τη μέθοδο Venetian-Blinds με την δημιουργία 9 ομάδων.

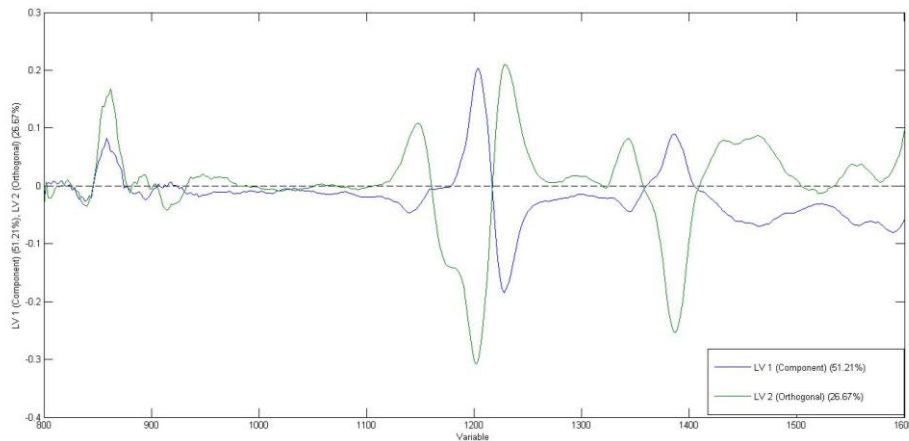
Η πρώτη λανθάνουσα μεταβλητή περιγράφει το 51,21% της διακύμανσης των φασματοσκοπικών δεδομένων, ενώ η δεύτερη ορθογώνια λανθάνουσα μεταβλητή το 26,67%. Βάσει του διαγράμματος που προκύπτει από την προβολή των δειγμάτων στις συγκεκριμένες λανθάνουσες μεταβλητές που περιγράφουν στο σύνολο τους το 77,88% της διακύμανσης των δεδομένων, υπάρχει ένας εξαιρετικός διαχωρισμός μεταξύ των δύο κατηγοριών που οφείλεται στην πρώτη λανθάνουσα μεταβλητή. Βάσει του πίνακα πρόβλεψης προκύπτει και το συμπέρασμα ότι έχουμε απόλυτα επιτυχή προβλεπτική ικανότητα του μαθηματικού μοντέλου. Από την αξιολόγηση του loading plot για την πρώτη λανθάνουσα μεταβλητή παρατηρείται η σύνδεση της με την απορρόφηση κυρίως στις κορυφές που σχετίζονται με την δεύτερη υπερτονική έκταση του δεσμού C-H του $-CH_2$ (1210 nm) και την έκταση και κάμψη του δεσμού C-H του $-(CH_2)_n$ (1400nm).



Εικόνα 3.33: Διάγραμμα συσχέτισης (score plot) με βάση την πρώτη και την δεύτερη λανθάνουσα μεταβλητή για τον διαχωρισμό ελαιολάδου Πελοποννήσου (Μεσσηνία, Λακωνία) με φασματοσκοπία απορρόφησης υπεριώθρου (800-1600 nm)

Πίνακας 3.10: Πίνακας κατάταξης ελαιολάδων Πελοποννήσου (Μεσσηνία, Λακωνία)

	Μεσσηνία	Λακωνία
Πρόβλεψη ως Μεσσηνία	12	0
Πρόβλεψη ως Λακωνία	0	4
Ορθή Ταξινόμηση %	100%	100%

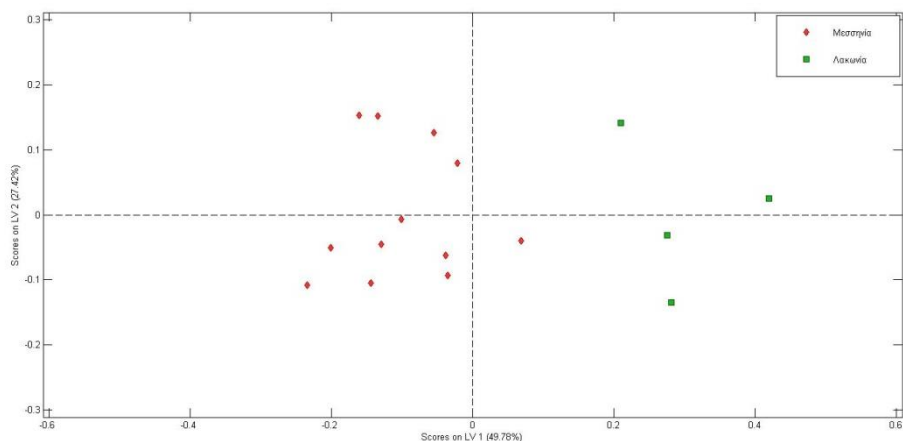


Εικόνα 3.34: Loading plots για την πρώτη και την δεύτερη λανθάνουσα μεταβλητή

3.4.3 Διαχωρισμός ελαιολάδου Πελοποννήσου με φασματοσκοπία απορρόφησης υπερύθρου (1800-2200 nm)

Το μοντέλο O-PLS-DA εκπαιδεύτηκε με τα φασματοσκοπικά δεδομένα που συλλέχθηκαν με την φασματοσκοπία απορρόφησης στην περιοχή υπερύθρου 1800-2200nm. Η προ-επεξεργασία των δεδομένων που επιλέχθηκε ήταν ο συνδυασμός μεθόδων smoothing, SNV και mean center. Για το συγκεκριμένο μοντέλο επιλέχθηκαν τέσσερις λανθάνουσες μεταβλητές και η αξιοπιστία του μοντέλου ελέγχθηκε μέσω διασταυρούμενης επικύρωσης με τη μέθοδο Venetian-Blinds με την δημιουργία 9 ομάδων.

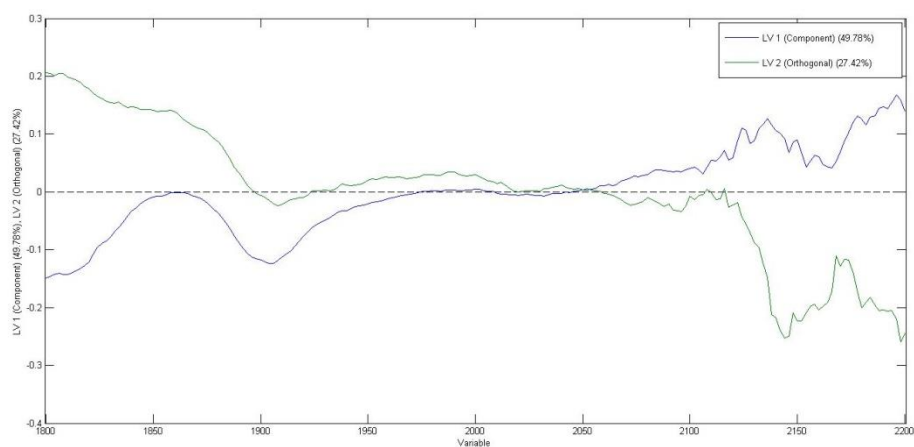
Από την διαχωριστική ανάλυση με ορθογώνια προβολή της πρώτης και δεύτερης λανθάνουσας μεταβλητής, οι οποίες περιγράφουν το 77,2% της διακύμανσης των φασματοσκοπικών δεδομένων, προέκυψε το παρακάτω διάγραμμα. Από την οπτική απεικόνιση των αποτελεσμάτων (Εικόνα 3.35) παρατηρείται ο διαχωρισμός των ελαιολάδων της Λακωνίας και της Μεσσηνίας. Από την απεικόνιση των αποτελεσμάτων μέσω των τετραγωνικών πινάκων προκύπτει ότι η πρόβλεψη της γεωγραφικής προέλευσης των δειγμάτων μπορεί να πραγματοποιηθεί σε έναν ικανοποιητικό βαθμό ωστόσο για την μεγαλύτερη αξιοπιστία των δεδομένων η ύπαρξη περισσότερων δειγμάτων για την περιοχή της Λακωνίας είναι αναγκαία. Τα loading plots της πρώτης λανθάνουσας μεταβλητής, η οποία και είναι υπεύθυνη για τον συγκεκριμένο διαχωρισμό, υποδεικνύουν τις φασματικές περιοχές που συνδέονται με τον συνδυασμό δονήσεων C-H στο $-CH=CH-$.



Εικόνα 3.35: Διάγραμμα συσχέτισης (score plot) με βάση την πρώτη και την δεύτερη λανθάνουσα μεταβλητή για τον διαχωρισμό ελαιολάδου Πελοποννήσου (Μεσσηνία, Λακωνία) με φασματοσκοπία απορρόφησης υπεριώθρου (1800-2200 nm)

Πίνακας 3.11: Πίνακας κατάταξης ελαιολάδων Πελοποννήσου (Μεσσηνία, Λακωνία)

	Μεσσηνία	Λακωνία
Πρόβλεψη ως Μεσσηνία	11	1
Πρόβλεψη ως Λακωνία	1	3
Ορθή Ταξινόμηση %	91,66%	75%



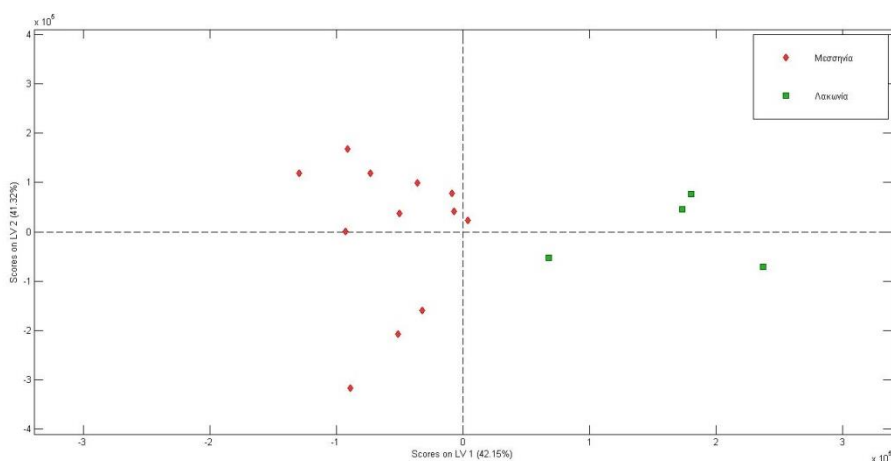
Εικόνα 3.36: Loading plots για την πρώτη και την δεύτερη λανθάνουσα μεταβλητή

3.4.4 Διαχωρισμός ελαιολάδου Πελοποννήσου με φασματοσκοπία φθορισμού

Με τα φασματοσκοπικά δεδομένα του φθορισμού εκπαιδεύτηκαν δύο διαφορετικά μοντέλα O-PLS-DA. Όπως αναφέρθηκε και στο υπο-κεφάλαιο 3.3.7, στο πρώτο μοντέλο χρησιμοποιήθηκε η πληροφορία για την εκπομπή του φθορισμού από τα οχτώ πρώτα φάσματα σύγχρονης σάρωσης. Τα οχτώ πρώτα φάσματα σύγχρονης σάρωσης περιλαμβάνουν πληροφορία για τις πολυφαινόλες που περιέχονται στο ελαιόλαδο και για την χλωροφύλλη. Στο δεύτερο μοντέλο που εκπαιδεύτηκε χρησιμοποιήθηκαν τα 7 πρώτα φάσματα

σύγχρονης σάρωσης και η εκπομπή μέχρι τα 400nm. Με αυτό τον τρόπο το μοντέλο εκπαιδεύτηκε με φασματοσκοπικά δεδομένα φθορισμού που περιλαμβάνουν αποκλειστικά πληροφορίες για τις πολυφαινόλες του ελαιολάδου. Η προ-επεξεργασία των δεδομένων που επιλέχθηκε για το πρώτο μοντέλο ήταν ο συνδυασμός μεθόδων smoothing και mean center. Ενώ η προ-επεξεργασία των δεδομένων που επιλέχθηκε για το δεύτερο μοντέλο ήταν ο συνδυασμός μεθόδων smoothing, SNV και mean center. Στο πρώτο μοντέλο επιλέχθηκαν τέσσερις λανθάνουσες μεταβλητές και η αξιοπιστία του μοντέλου ελέγχθηκε μέσω διασταυρούμενης επικύρωσης με τη μέθοδο Venetian-Blinds με την δημιουργία 10 ομάδων. Στο δεύτερο μοντέλο επιλέχθηκαν δύο λανθάνουσες μεταβλητές και η αξιοπιστία του μοντέλου ελέγχθηκε μέσω διασταυρούμενης επικύρωσης με τη μέθοδο Venetian-Blinds με την δημιουργία 9 ομάδων.

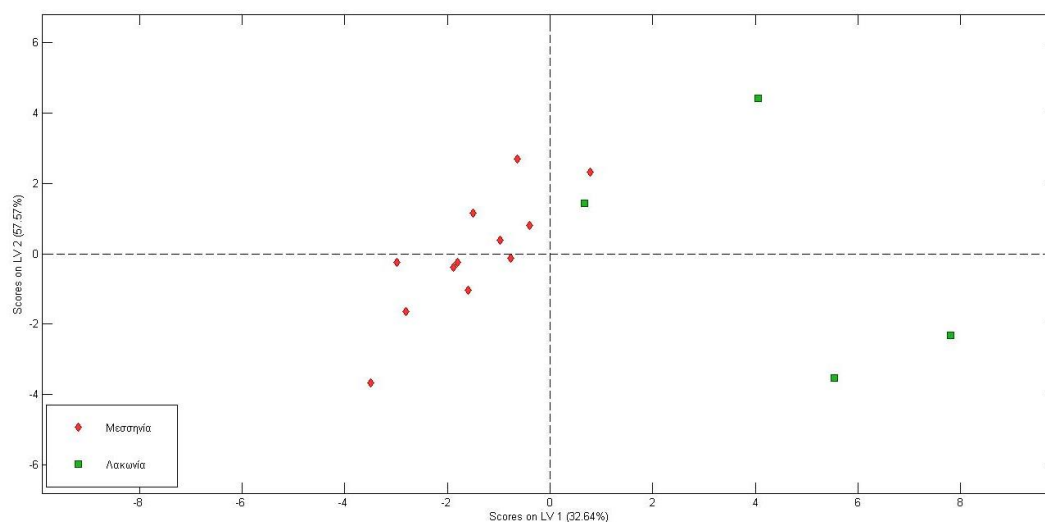
Σχετικά με το πρώτο μοντέλο που εκπαιδεύτηκε από την διαχωριστική ανάλυση με ορθογώνια προβολή της πρώτης και δεύτερης λανθάνουσας μεταβλητής, οι οποίες περιγράφουν το 83,47% της διακύμανσης των φασματοσκοπικών δεδομένων, προέκυψε το διάγραμμα της Εικόνας 3.37. Παρατηρείται ο διαχωρισμός των ελαιολάδων της Πελοποννήσου βάση της πρώτης λανθάνουσας μεταβλητής. Από την απεικόνιση των αποτελεσμάτων μέσω των τετραγωνικών πινάκων προκύπτει ότι η πρόβλεψη της γεωγραφικής προέλευσης των δειγμάτων της Πελοποννήσου γίνεται με απόλυτη επιτυχία για τα δείγματα της Μεσσηνίας, ενώ για τα δείγματα της Λακωνίας το μοντέλο δεν κατατάσσει σωστά ένα δείγμα. Σχετικά με το δεύτερο μοντέλο που εκπαιδεύτηκε από την διαχωριστική ανάλυση με ορθογώνια προβολή της πρώτης και δεύτερης λανθάνουσας μεταβλητής, οι οποίες περιγράφουν το 90,21% της διακύμανσης των φασματοσκοπικών δεδομένων, προέκυψε το διάγραμμα της Εικόνας 3.38. Διακρίνεται ο διαχωρισμός των ελαιολάδων των δύο περιοχών. Ωστόσο, από την συνδυαστική αξιολόγηση των δύο πινάκων για τα μοντέλα παρατηρείται ότι το ποσοστό επιτυχίας παρέμεινε το ίδιο.



Εικόνα 3.37: Διάγραμμα συσχέτισης (score plot) με βάση την πρώτη και την δεύτερη λανθάνουσα μεταβλητή για τον διαχωρισμό ελαιολάδου Πελοποννήσου (Μεσσηνία, Λακωνία) με φασματοσκοπία φθορισμού

Πίνακας 3.12: Πίνακας κατάταξης ελαιολάδων Πελοποννήσου (Μεσσηνία, Λακωνία)

	Μεσσηνία	Λακωνία
Πρόβλεψη ως Μεσσηνία	12	1
Πρόβλεψη ως Λακωνία	0	3
Ορθή Ταξινόμηση %	100%	75%

**Εικόνα 3.38:** Διάγραμμα συσχέτισης (score plot) με βάση την πρώτη και την δεύτερη λανθάνουσα μεταβλητή για τον διαχωρισμό ελαιολάδου Πελοποννήσου (Μεσσηνία, Λακωνία) με φασματοσκοπία φθορισμού**Πίνακας 3.13:** Πίνακας κατάταξης ελαιολάδων Πελοποννήσου (Μεσσηνία, Λακωνία)

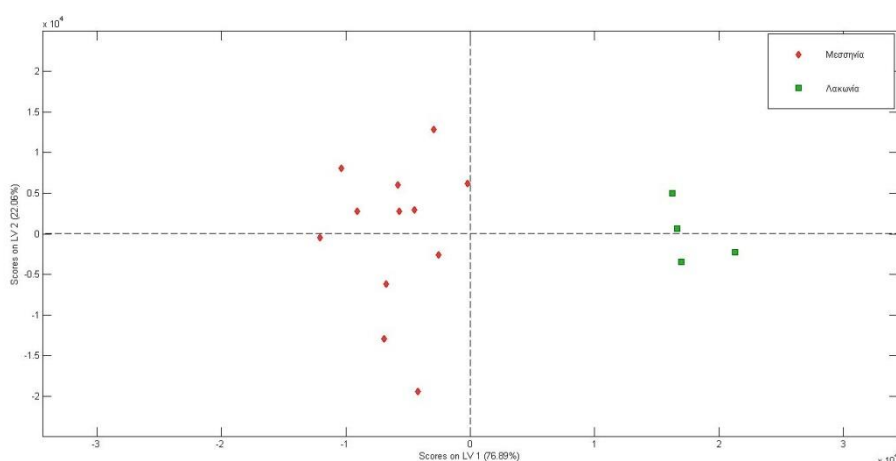
	Μεσσηνία	Λακωνία
Πρόβλεψη ως Μεσσηνία	12	1
Πρόβλεψη ως Λακωνία	0	3
Ορθή Ταξινόμηση %	100%	75%

3.4.5 Διαχωρισμός ελαιολάδου Πελοποννήσου με φασματοσκοπία Raman

Τα φάσματα Raman συλλέχθηκαν σύμφωνα με την πειραματική διαδικασία. Το μοντέλο O-PLS-DA που εκπαιδεύτηκε περιλάμβανε το τμήμα $1000-1800\text{cm}^{-1}$ και $2800-2980\text{cm}^{-1}$ από τα φάσματα Raman. Το τμήμα που δεν συμπεριλαμβάνεται στην εκπαίδευση του μοντέλου δεν περιέχει κάποια πληροφορία για το ελαιόλαδο και θα δημιουργούσε θόρυβο στο μοντέλο. Στα φασματοσκοπικά δεδομένα της συγκεκριμένης τεχνικής επιλέχθηκε η προεπεξεργασία με την μέθοδο mean center. Για το συγκεκριμένο μοντέλο επιλέχθηκαν τέσσερις λανθάνουσες μεταβλητές και η αξιοπιστία του μοντέλου ελέγχθηκε μέσω διασταυρούμενης επικύρωσης με τη μέθοδο Venetian-Blinds με την δημιουργία 10 ομάδων.

Το διάγραμμα της Εικόνας 3.39 περιλαμβάνει την προβολή των δειγμάτων στην πρώτη λανθάνουσα μεταβλητή, που περιγράφει το 76,89% της διακύμανσης

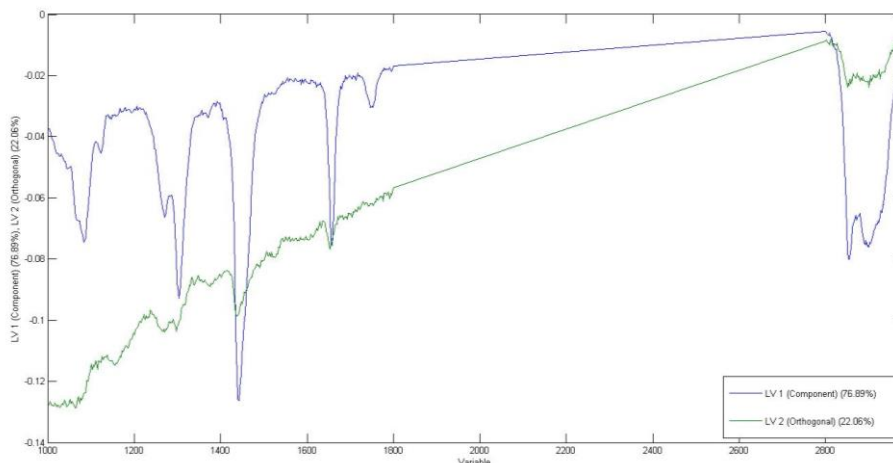
των φασματοσκοπικών δεδομένων, και στη δεύτερη ορθογώνια λανθάνουσα μεταβλητή, που περιγράφει το 22,06%. Βάσει του διαγράμματος υπάρχει ένας εξαιρετικός διαχωρισμός μεταξύ των δύο κατηγοριών που οφείλεται στην πρώτη λανθάνουσα μεταβλητή. Ο πίνακας πρόβλεψης αναδεικνύει το απόλυτο ποσοστό επιτυχίας του μοντέλου και για τις δύο κατηγορίες. Από το loading plot της πρώτης λανθάνουσας μεταβλητής που είναι υπεύθυνη για τον παρατηρούμενο διαχωρισμό, παρατηρούμε ότι συνδέεται κυρίως με τις κορυφές στα 1076cm^{-1} , 1300cm^{-1} , 1439cm^{-1} , 1650cm^{-1} , 1747cm^{-1} και στην περιοχή $2700\text{-}3000\text{ cm}^{-1}$. Οι συγκεκριμένες κορυφές συνεισφέρουν εξίσου και στο παρατηρούμενο διαχωρισμό ελαιολάδων από Κρήτη, Πελοπόννησο και Λέσβο.



Εικόνα 3.39: Διάγραμμα συσχέτισης (score plot) με βάση την πρώτη και την δεύτερη λανθάνουσα μεταβλητή για τον διαχωρισμό ελαιολάδου Πελοποννήσου (Μεσσηνία, Λακωνία) με φασματοσκοπία Raman

Πίνακας 3.14: Πίνακας κατάταξης ελαιολάδων Πελοποννήσου (Μεσσηνία, Λακωνία)

	Μεσσηνία	Λακωνία
Πρόβλεψη ως Μεσσηνία	12	0
Πρόβλεψη ως Λακωνία	0	4
Ορθή Ταξινόμηση %	100%	100%



Εικόνα 3.40: Loading plots για την πρώτη και την δεύτερη λανθάνουσα μεταβλητή

3.5 Διαχωρισμός ελαιολάδου Κρήτης

Στο παρόν υπό-κεφάλαιο θα διερευνηθεί ο διαχωρισμός των δειγμάτων από την Κρήτη. Από το σύνολο των δειγμάτων που μελετήθηκαν στο υποκεφάλαιο 3.3 τα δείγματα που μελετήθηκαν ήταν 16 από το νομό Ηρακλείου, 7 από το νομό Λασιθίου, 8 από το νομό Ρεθύμνου, 9 από το νομό Χανίων. Η μελέτη πραγματοποιήθηκε με τις τεχνικές φασματοσκοπίας απορρόφησης στο υπεριώδες, στο ορατό έως και το υπέρυθρο, φασματοσκοπία φθορισμού και φασματοσκοπία Raman. Ωστόσο ο διαχωρισμός ελαιολάδων Κρήτης ήταν εφικτός σε ένα βαθμό μόνο με τη φασματοσκοπία φθορισμού και τη φασματοσκοπία Raman. Στο συγκεκριμένο υποκεφάλαιο θα εξεταστεί η γεωγραφική ταξινόμηση ελαιολάδων της Κρήτης με την μέθοδο O-PLS-DA.

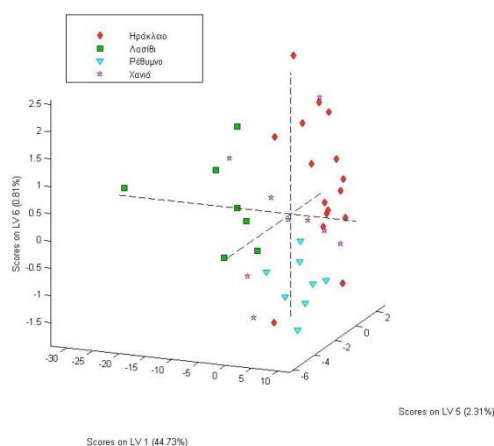
3.5.1 Διαχωρισμός ελαιολάδου Κρήτης με φασματοσκοπία φθορισμού

Με τα φασματοσκοπικά δεδομένα του φθορισμού εκπαιδεύτηκαν δύο διαφορετικά μοντέλα O-PLS-DA στο ίδιο μοτίβο με τα προηγούμενα υποκεφάλαια. Η προ-επεξεργασία των δεδομένων που επιλέχθηκε για το πρώτο μοντέλο ήταν ο συνδυασμός μεθόδων smoothing, SNV και mean center ενώ για το δεύτερο μοντέλο με την μέθοδο smoothing και mean center. Στο πρώτο μοντέλο και στο δεύτερο μοντέλο επιλέχθηκαν έξι λανθάνουσες μεταβλητές και η αξιοπιστία του μοντέλου ελέγχθηκε μέσω διασταυρούμενης επικύρωσης με τη μέθοδο Venetian-Blinds με την δημιουργία 9 ομάδων.

Σχετικά με το πρώτο μοντέλο που εκπαιδεύτηκε από την διαχωριστική ανάλυση με ορθογώνια προβολή των δειγμάτων στην πρώτη, πέμπτη και έκτη λανθάνουσα μεταβλητή, προέκυψε το διάγραμμα της Εικόνας 3.41. Παρατηρείται ο διαχωρισμός των ελαιολάδων της Κρήτης σε ένα μικρό βαθμό και από την απεικόνιση των αποτελεσμάτων μέσω των τετραγωνικών πινάκων

προκύπτει ότι η πρόβλεψη της γεωγραφικής προέλευσης των δειγμάτων μπορεί να πραγματοποιηθεί σε έναν μικρό βαθμό με εξαίρεση τα δείγματα από την περιοχή του Λασιθίου όπου είχε απόλυτη επιτυχία το μοντέλο.

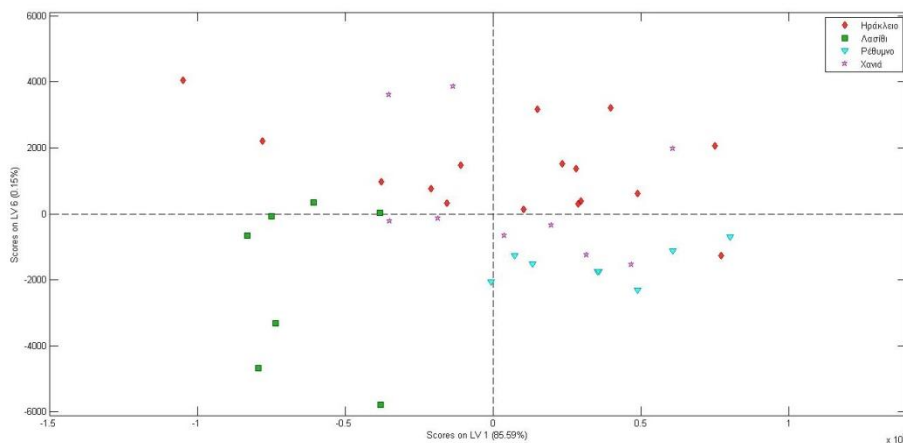
Ωστόσο, σχετικά με το δεύτερο μοντέλο που εκπαιδεύτηκε από την διαχωριστική ανάλυση με ορθογώνια προβολή της πρώτης και έκτης λανθάνουσας μεταβλητής, προέκυψε το διάγραμμα της Εικόνας 3.42. Διακρίνεται ο διαχωρισμός των ελαιολάδων των τεσσάρων νομών της Κρήτης σε έναν καλύτερο βαθμό σε σχέση με το προηγούμενο μοντέλο. Ο διαχωρισμός των ελαιολάδων των Χανίων δεν επιτυγχάνεται. Βάσει της πρώτης λανθάνουσας μεταβλητής επιτυγχάνεται ο διαχωρισμός των ελαιολάδων από το νομό Λασιθίου και το νομό Ρεθύμνου ενώ βάσει της έκτης λανθάνουσας μεταβλητής ο διαχωρισμός των ελαιολάδων του νομού Ηρακλείου. Από την απεικόνιση των αποτελεσμάτων μέσω των τετραγωνικών πινάκων προκύπτει ότι η πρόβλεψη της γεωγραφικής προέλευσης των δειγμάτων Ηρακλείου, Λασιθίου και Ρεθύμνου μπορεί να πραγματοποιηθεί σε έναν ικανοποιητικό βαθμό που είναι καλύτερος από το προηγούμενο μοντέλο που εκπαιδεύτηκε που περιλάμβανε και τα οχτώ φάσματα σύγχρονης σάρωσης. Τα ποσοστά πρόβλεψης των δειγμάτων από το νομό Χανίων είναι σε αρκετά χαμηλό ποσοστό γεγονός που εξηγεί και την διασπορά τους στο αντίστοιχο score plot.



Εικόνα 3.41: Διάγραμμα συσχέτισης (score plot) με βάση την πρώτη, την πέμπτη και την έκτη λανθάνουσα μεταβλητή για τον διαχωρισμό ελαιολάδου Κρήτης (Ηράκλειο, Λασιθί, Ρέθυμνο, Χανιά) με φασματοσκοπία φθορισμού

Πίνακας 3.15: Πίνακας κατάταξης ελαιολάδων Κρήτης (Ηράκλειο, Λασιθί, Ρέθυμνο, Χανιά)

	Ηράκλειο	Λασιθί	Ρέθυμνο	Χανιά
Πρόβλεψη ως Ηράκλειο	10	0	1	3
Πρόβλεψη ως Λασιθί	2	7	0	2
Πρόβλεψη ως Ρέθυμνο	2	0	6	0
Πρόβλεψη ως Χανιά	2	0	1	4
Ορθή ταξινόμηση %	62,5%	100%	75%	44,44%



Εικόνα 3.42: Διάγραμμα συσχέτισης (score plot) με βάση την πρώτη, και την έκτη λανθάνουσα μεταβλητή για τον διαχωρισμό ελαιολάδου Κρήτης (Ηράκλειο, Λασιθί, Ρέθυμνο, Χανιά) με φασματοσκοπία φθορισμού

Πίνακας 3.16: Πίνακας κατάταξης ελαιολάδων Κρήτης (Ηράκλειο, Λασιθί, Ρέθυμνο, Χανιά)

	Ηράκλειο	Λασιθί	Ρέθυμνο	Χανιά
Πρόβλεψη ως Ηράκλειο	13	0	0	2
Πρόβλεψη ως Λασιθί	0	6	0	3
Πρόβλεψη ως Ρέθυμνο	2	0	6	2
Πρόβλεψη ως Χανιά	1	1	2	2
Ορθή ταξινόμηση %	81,25%	85,71%	75%	22,22%

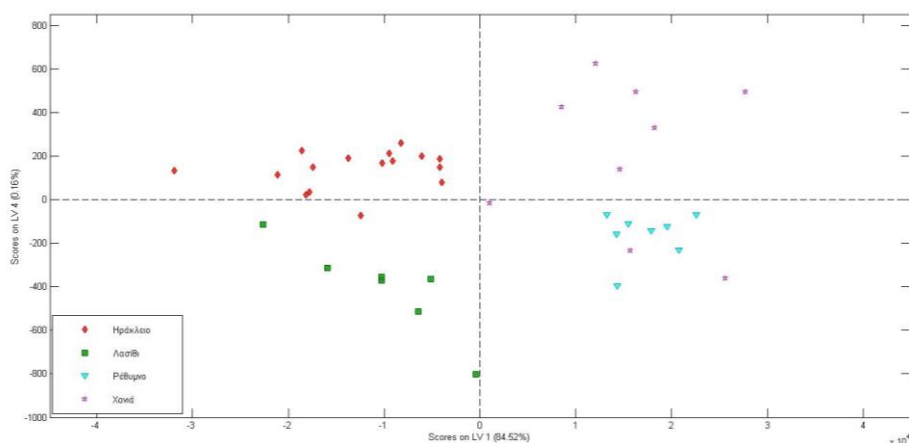
3.5.2 Διαχωρισμός ελαιολάδου Κρήτης με φασματοσκοπία Raman

Τα φασματοσκοπικά δεδομένα του Raman στις περιοχές $1000-1800\text{cm}^{-1}$ και $2800-2980\text{cm}^{-1}$ χρησιμοποιήθηκαν για την εκπαίδευση του μοντέλου O-PLS-DA.

Το τμήμα που δεν συμπεριλαμβάνεται στην εκπαίδευση του μοντέλου δεν περιέχει κάποια πληροφορία και για αυτό δεν λήφθηκε υπόψη. Στα φασματοσκοπικά δεδομένα της συγκεκριμένης τεχνικής επιλέχθηκε η προεπεξεργασία με τη μέθοδο smoothing και mean center. Για το συγκεκριμένο μοντέλο επιλέχθηκαν τέσσερις λανθάνουσες μεταβλητές και η αξιοπιστία του μοντέλου ελέγχθηκε μέσω διασταυρούμενης επικύρωσης με τη μέθοδο Venetian-Blinds με την δημιουργία 9 ομάδων.

Το διάγραμμα της Εικόνας 3.43 προκύπτει από την προβολή των δειγμάτων στην πρώτη λανθάνουσα μεταβλητή που περιγράφει το 84,52% της διακύμανσης των φασματοσκοπικών δεδομένων, ενώ η τέταρτη ορθογώνια λανθάνουσα μεταβλητή το 0,16%. Βάση του διαγράμματος υπάρχει ένας εξαιρετικός διαχωρισμός μεταξύ των τεσσάρων κατηγοριών που οφείλεται στην πρώτη λανθάνουσα μεταβλητή για το διαχωρισμό των ελαιολάδων των νομών Ηρακλείου-Λασιθίου με Ρεθύμνου-Χανίων και βάση της τέταρτης λανθάνουσας μεταβλητής για τον διαχωρισμό των ελαιολάδων μεταξύ των νομών Ηρακλείου

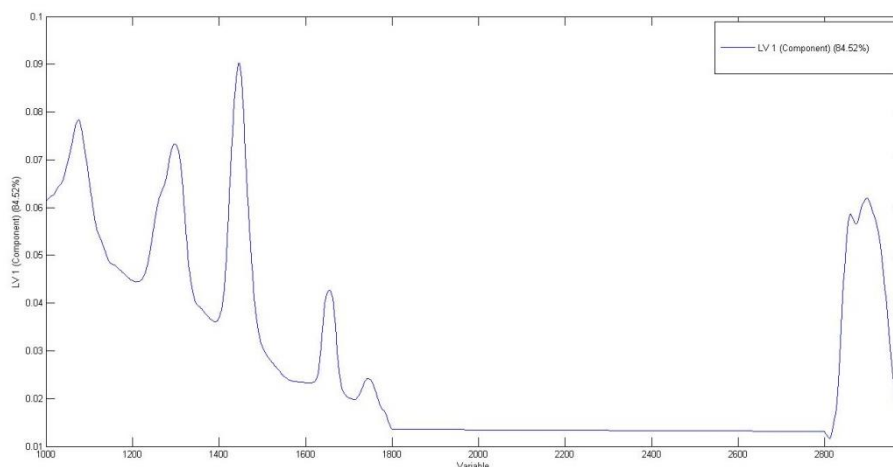
και Λασιθίου και των δύο άλλων νομών, Ρεθύμνου και Χανίων. Ο πίνακας πρόβλεψης αναδεικνύει το απόλυτο ποσοστό επιτυχίας του μοντέλου και για τις δύο κατηγορίες του Ηρακλείου καθώς και ένα αξιόλογο ποσοστό επιτυχίας για τις υπόλοιπες τρεις κατηγορίες. Από το loading plot της πρώτης λανθάνουσας μεταβλητής που είναι υπεύθυνη για τον παρατηρούμενο διαχωρισμό παρατηρούμε ότι συνδέεται κυρίως με τις κορύφες στα 1076cm^{-1} , 1300cm^{-1} , 1439cm^{-1} , 1650cm^{-1} , 1747cm^{-1} και στην περιοχή $2700\text{-}3000\text{cm}^{-1}$ οι οποίες συνδέονται με τα λιπαρά οξέα στα ελαιόλαδα και είναι σημαντική η συνεισφορά τους στην διάκριση και αποτελούν το χαρακτηριστικό τους αποτύπωμα.



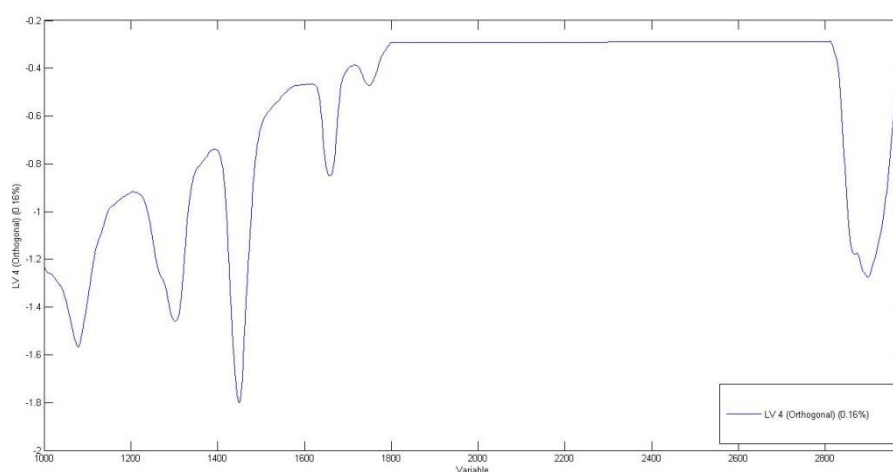
Εικόνα 3.43: Διάγραμμα συσχέτισης (score plot) με βάση την πρώτη, και την τέταρτη λανθάνουσα μεταβλητή για τον διαχωρισμό ελαιολάδου Κρήτης (Ηράκλειο, Λασιθί, Ρέθυμνο, Χανιά) με φασματοσκοπία Raman

Πίνακας 3.17: Πίνακας κατάταξης ελαιολάδων Κρήτης (Ηράκλειο, Λασιθί, Ρέθυμνο, Χανιά)

	Ηράκλειο	Λασιθί	Ρέθυμνο	Χανιά
Πρόβλεψη ως Ηράκλειο	16	1	0	1
Πρόβλεψη ως Λασιθί	0	6	0	0
Πρόβλεψη ως Ρέθυμνο	0	0	7	1
Πρόβλεψη ως Χανιά	0	0	1	7
Ορθή ταξινόμηση %	100%	85,71%	87,5%	77,77%



Εικόνα 3.44: Loading plot για την πρώτη λανθάνουσα μεταβλητή



Εικόνα 3.45: Loading plot για την τέταρτη λανθάνουσα μεταβλητή

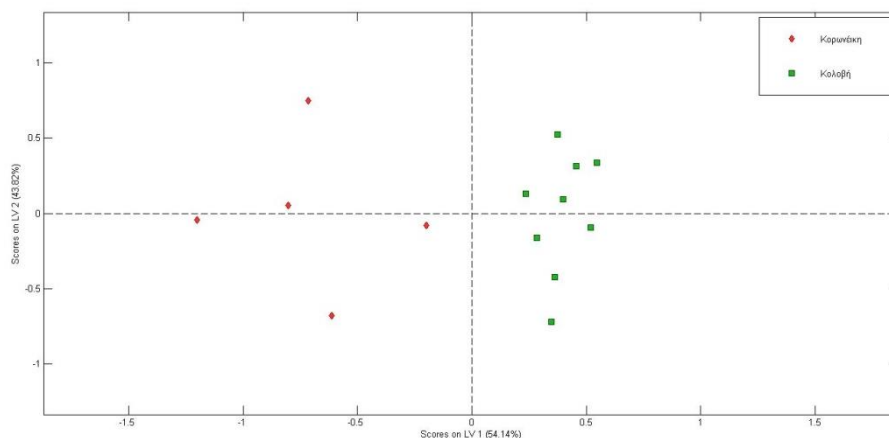
3.6 Διάκριση ελαιολάδου Λέσβου

Στο παρόν υπό-κεφάλαιο θα διερευνηθεί ο διαχωρισμός των δειγμάτων από τη Λέσβο. Το σύνολο των δειγμάτων που μελετήθηκαν στο υποκεφάλαιο 3.3 από την Λέσβο ήταν 16, εκ των οποίων 5 ήταν κορωνέικης ποικιλίας, 9 κολοβής και 1 αδραμυτιανής. Η μελέτη πραγματοποιήθηκε με τις τεχνικές φασματοσκοπίας απορρόφησης στο υπεριώδες, στο ορατό έως και το υπέρυθρο, φασματοσκοπία φθορισμού και φασματοσκοπία Raman. Στο συγκεκριμένο υποκεφάλαιο το δείγμα της αδραμυτιανής δεν εντάχθηκε στα μοντέλα O-PLS-DA που εκπαιδεύτηκαν.

3.6.1 Διάκριση ελαιολάδου Λέσβου με φασματοσκοπία απορρόφησης υπεριώδους (220-280 nm)

Το μοντέλο ανάλυσης O-PLS-DA εκπαιδεύτηκε με τα φασματοσκοπικά δεδομένα που συλλέχθηκαν με την φασματοσκοπία απορρόφησης στην περιοχή 220-280nm με την διαδικασία που αναφέρθηκε στο πειραματικό μέρος. Με σκοπό την εξάλειψη τυχαίων ή συστηματικών σφαλμάτων, τα οποία επηρεάζουν την τιμή της απορρόφησης επιλέχθηκε η προ-επεξεργασία των φασματοσκοπικών δεδομένων με την μέθοδο smoothing, SNV και mean center. Για το συγκεκριμένο μοντέλο επιλέχθηκαν πέντε λανθάνουσες μεταβλητές. Η αξιοπιστία του μοντέλου ελέγχθηκε μέσω διασταυρούμενης επικύρωσης με τη μέθοδο Venetian-Blinds με την δημιουργία 6 ομάδων.

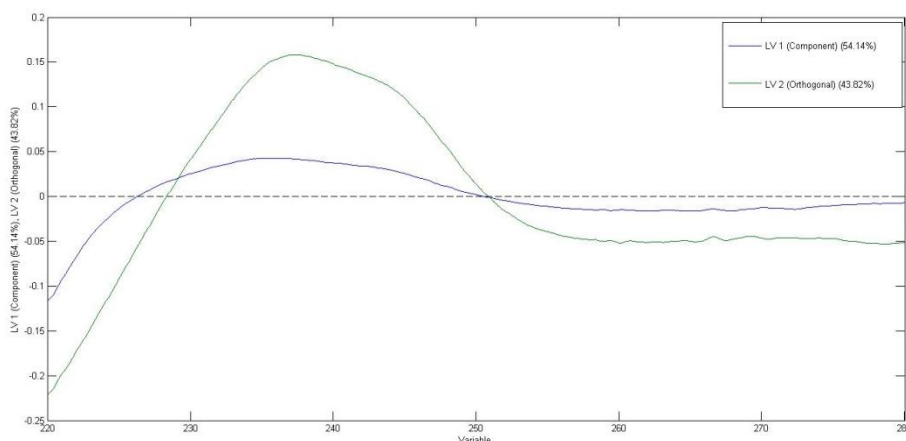
Όπως προκύπτει και από το διάγραμμα αποτελεσμάτων OPLS-DA μεταξύ παράλληλης και κύριας ορθογώνιας συνιστώσας, υπάρχει ένας καλός διαχωρισμός μεταξύ των δύο ποικιλιών ελαιολάδων από την Λέσβο βάσει της πρώτης λανθάνουσας μεταβλητής. Από την απεικόνιση των αποτελεσμάτων μέσω των τετραγωνικών πινάκων η ταξινόμηση των ελαιολάδων της κορωνέικης ποικιλίας επιτυγχάνεται απόλυτα ενώ για τα δείγματα της κολοβής ποικιλίας το μοντέλο δεν κατατάσσει επιτυχώς 2 δείγματα. Σύμφωνα με το loading plot ο διαχωρισμός που προκύπτει από την πρώτη λανθάνουσα μεταβλητή, η οποία περιγράφει το 54,14% της διακύμανσης των φασματοσκοπικών δεδομένων, οφείλεται κυρίως στην απορρόφηση στο εύρος 220-250nm.



Εικόνα 3.46: Διάγραμμα συσχέτισης (score plot) με βάση την πρώτη, και την τέταρτη λανθάνουσα μεταβλητή για τον διαχωρισμό ελαιολάδου Λέσβου (Κορωνέικη, Κολοβή) με φασματοσκοπία απορρόφησης υπεριώδους (220-280 nm)

Πίνακας 3.18: Πίνακας κατάταξης ελαιολάδων Λέσβου (Κορωνέικη, Κολοβή)

	Κορωνέικη	Κολοβή
Πρόβλεψη ως Κορωνέικη	5	2
Πρόβλεψη ως Κολοβή	0	7
Ορθή Ταξινόμηση %	100%	77,77%

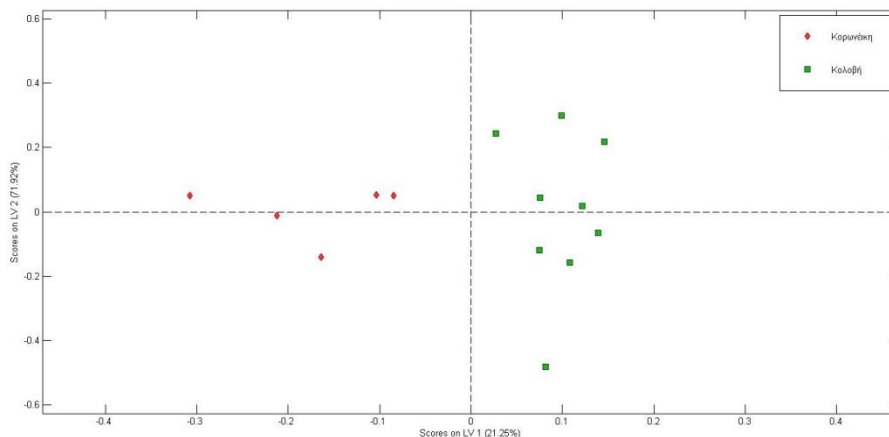


Εικόνα 3.47: Loading plots για την πρώτη και την δεύτερη λανθάνουσα μεταβλητή

3.6.2 Διάκριση ελαιολάδου Λέσβου με φασματοσκοπία απορρόφησης υπεριώδους (260-410 nm)

Το μοντέλο ανάλυσης O-PLS-DA εκπαιδεύτηκε με τα φασματοσκοπικά δεδομένα που συλλέχθηκαν με την φασματοσκοπία απορρόφησης στην περιοχή 260-410nm. Με σκοπό την εξάλειψη τυχαίων ή συστηματικών σφαλμάτων, τα οποία επηρεάζουν την τιμή της απορρόφησης επιλέχθηκε η προ-επεξεργασία των φασματοσκοπικών δεδομένων με την μέθοδο smoothing και mean center. Για το συγκεκριμένο μοντέλο επιλέχθηκαν τέσσερις λανθάνουσες μεταβλητές. Η αξιοπιστία του μοντέλου ελέγχθηκε μέσω διασταυρούμενης επικύρωσης με τη μέθοδο Venetian-Blinds με την δημιουργία 9 ομάδων.

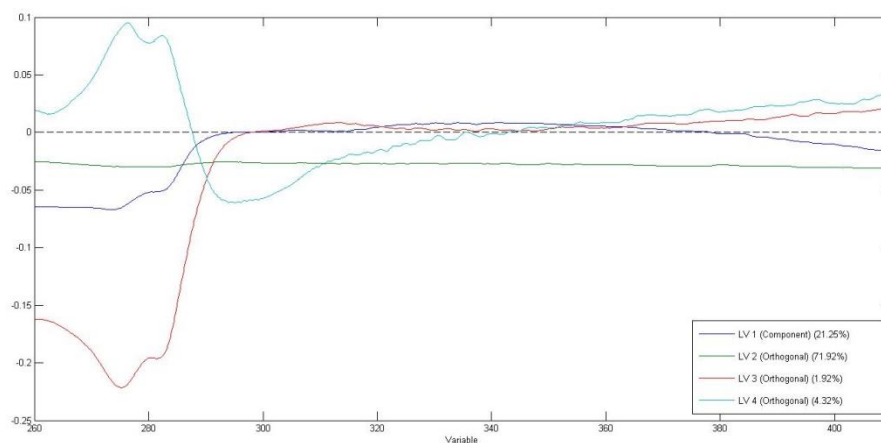
Από την διαχωριστική ανάλυση με ορθογώνια προβολή των δειγμάτων στη πρώτη και δεύτερη λανθάνουσα μεταβλητή, οι οποίες περιγράφουν το 93,17% της διακύμανσης των φασματοσκοπικών δεδομένων, προέκυψε το παρακάτω διάγραμμα (Εικόνα 3.48). Παρατηρείται ο διαχωρισμός των δύο ποικιλιών των ελαιολάδων της Λέσβου βάσει της πρώτης λανθάνουσας μεταβλητής. Από την απεικόνιση των αποτελεσμάτων μέσω των τετραγωνικών πινάκων προκύπτει ότι η πρόβλεψη των δειγμάτων της ποικιλίας Κορωνέικης μπορεί να πραγματοποιηθεί με απόλυτη επιτυχία και σε ένα ικανοποιητικό ποσοστό για την ποικιλία της Κολοβής. Τα loading plot των λανθάνουσων μεταβλητών υποδεικνύουν τις φασματικές περιοχές που είναι υπεύθυνες για τον παρατηρούμενο διαχωρισμό. Η πρώτη λανθάνουσα μεταβλητή συνδέεται με την απορρόφηση στα 260-290 nm. Επομένως ο διαχωρισμός των δύο ποικιλιών οφείλεται κυρίως στο διαφορετικό φαινολικό δυναμικό της εκάστοτε περιοχής και δείχνει να είναι χαρακτηριστικό για την κάθε ποικιλία.



Εικόνα 3.48: Διάγραμμα συσχέτισης (score plot) με βάση την πρώτη, και την δεύτερη λανθάνουσα μεταβλητή για τον διαχωρισμό ελαιολάδου Λέσβου (Κορωνέικη, Κολοβή) με φασματοσκοπία απορρόφησης υπεριώδους (260-410nm)

Πίνακας 3.19: Πίνακας κατάταξης ελαιολάδων Λέσβου (Κορωνέικη, Κολοβή)

	Κορωνέικη	Κολοβή
Πρόβλεψη ως Κορωνέικη	5	1
Πρόβλεψη ως Κολοβή	0	8
Ορθή Ταξινόμηση %	100%	88,88%



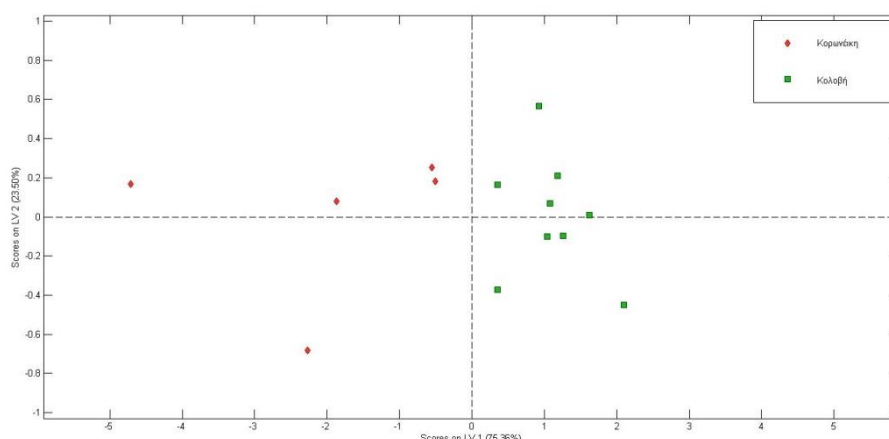
Εικόνα 3.49: Loading plots για την πρώτη, την δεύτερη, την τρίτη και την τέταρτη λανθάνουσα μεταβλητή

3.6.3 Διάκριση ελαιολάδου Λέσβου με φασματοσκοπία απορρόφησης ορατού (400-800 nm)

Το μοντέλο O-PLS-DA εκπαιδεύτηκε με τα φασματοσκοπικά δεδομένα που συλλέχθηκαν με την φασματοσκοπία απορρόφησης στην περιοχή του ορατού 400-800nm. Η προ-επεξεργασία των δεδομένων που επιλέχθηκε ήταν η μέθοδος mean center. Για το συγκεκριμένο μοντέλο επιλέχθηκαν τρεις

λανθάνουσες μεταβλητές και η αξιοπιστία του μοντέλου ελέγχθηκε μέσω διασταυρούμενης επικύρωσης με τη μέθοδο Venetian-Blinds με την δημιουργία 9 ομάδων.

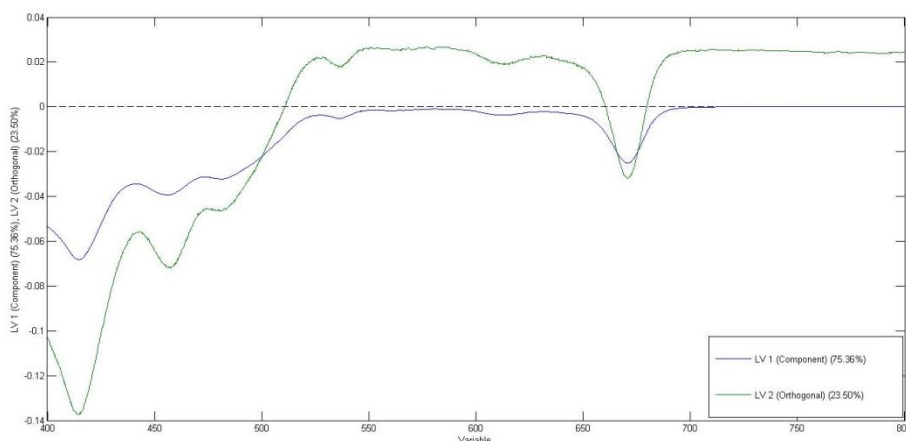
Η πρώτη λανθάνουσα μεταβλητή περιγράφει το 75,36% της διακύμανσης των φασματοσκοπικών δεδομένων, ενώ η δεύτερη ορθογώνια λανθάνουσα μεταβλητή το 23,50%. Βάσει του διαγράμματος που προκύπτει από την προβολή των δειγμάτων στην πρώτη λανθάνουσα μεταβλητή και την δεύτερη ορθογώνια λανθάνουσα μεταβλητή υπάρχει ένας πολύ καλός διαχωρισμός μεταξύ των δύο κατηγοριών που οφείλεται στην πρώτη λανθάνουσα μεταβλητή. Βάσει του πίνακα πρόβλεψης, το ποσοστό επιτυχίας για τα δείγματα της Λέσβου ήταν 100% ενώ για την κατηγορία της Κολοβής το μοντέλο δεν πρόβλεψε επιτυχώς μόλις ένα δείγμα όπως και στην διάκριση με την φασματοσκοπία απορρόφησης υπεριώδους στο εύρος 260-410 nm. Από το loading plot της πρώτης λανθάνουσας μεταβλητής που είναι υπεύθυνη για τον παρατηρούμενο διαχωρισμό παρατηρούμε ότι συνδέεται με την απορρόφηση στην περιοχή 400-500nm και 650-700nm. Εξαιτίας του εκτεταμένου εύρους των κορυφών, ο διαχωρισμός μπορεί να αποδοθεί στο σύνολο των ενώσεων που απορροφούν στο συγκεκριμένο εύρος.



Εικόνα 3.50: Διάγραμμα συσχέτισης (score plot) με βάση την πρώτη και την δεύτερη λανθάνουσα μεταβλητή για τον διαχωρισμό ελαιολάδου Λέσβου (Κορωνέικη, Κολοβή) με φασματοσκοπία απορρόφησης ορατού (400-800 nm)

Πίνακας 3.20: Πίνακας κατάταξης ελαιολαδών Λέσβου (Κορωνέικη, Κολοβή)

	Κορωνέικη	Κολοβή
Πρόβλεψη ως Κορωνέικη	5	1
Πρόβλεψη ως Κολοβή	0	8
Ορθή Ταξινόμηση %	100%	88,88%



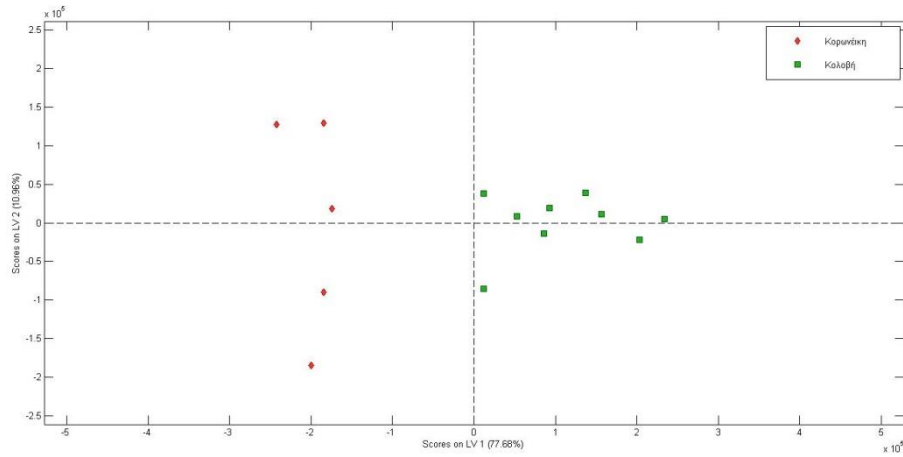
Εικόνα 3.51: Loading plots για την πρώτη και την δεύτερη λανθάνουσα μεταβλητή

3.6.4 Διάκριση ελαιολάδου Λέσβου με φασματοσκοπία φθορισμού

Με τα φασματοσκοπικά δεδομένα του φθορισμού εκπαιδεύτηκαν δύο διαφορετικά μοντέλα O-PLS-DA όπως με τα προηγούμενα υποκεφάλαια που εκπαιδεύτηκαν μοντέλα με φασματοσκοπικά δεδομένα φθορισμού. Η προεπεξεργασία των δεδομένων που επιλέχθηκε και για δύο μοντέλα ήταν ο συνδυασμός μεθόδων smoothing και mean center. Στα δύο μοντέλα επιλέχθηκαν δύο λανθάνουσες μεταβλητές και η αξιοπιστία του μοντέλου ελέγχθηκε μέσω διασταυρούμενης επικύρωσης με τη μέθοδο Venetian-Blinds με την δημιουργία 9 ομάδων.

Σχετικά με το πρώτο μοντέλο που εκπαιδεύτηκε από την διαχωριστική ανάλυση με ορθογώνια προβολή των δειγμάτων στην πρώτη και δεύτερη λανθάνουσα μεταβλητή, προέκυψε το διάγραμμα της Εικόνας 3.52. Παρατηρείται ο πλήρης διαχωρισμός των δύο ποικιλιών ελαιολάδων της Λέσβου και από την απεικόνιση των αποτελεσμάτων μέσω των τετραγωνικών πινάκων προκύπτει ότι η πρόβλεψη της γεωγραφικής προέλευσης των δειγμάτων μπορεί να πραγματοποιηθεί με απόλυτη επιτυχία.

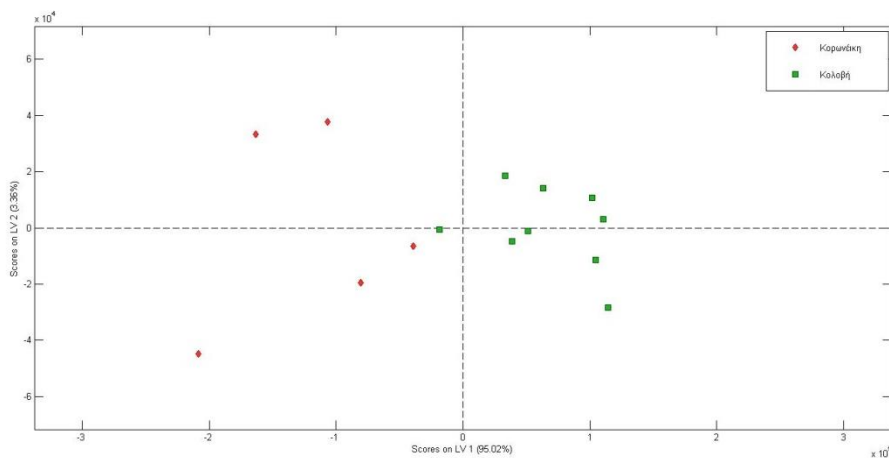
Ωστόσο, σχετικά με το δεύτερο μοντέλο που εκπαιδεύτηκε από την διαχωριστική ανάλυση με ορθογώνια προβολή της πρώτης και δεύτερης λανθάνουσας μεταβλητής, προέκυψε το διάγραμμα της Εικόνας 3.53. Διακρίνεται ο διαχωρισμός των δύο ποικιλιών των ελαιολάδων της Λέσβου σε έναν ικανοποιητικό βαθμό. Ο διαχωρισμός των ελαιολάδων δεν επιτυγχάνεται από τα διαγράμματα όσο ικανοποιητικά πραγματοποιήθηκε με το προηγούμενο μοντέλο. Από την απεικόνιση των αποτελεσμάτων μέσω των τετραγωνικών πινάκων προκύπτει και το συμπέρασμα ότι η πρόβλεψη των δύο ποικιλιών μπορεί να πραγματοποιηθεί σε έναν ικανοποιητικό βαθμό με αυτό το μοντέλο, ωστόσο η πρόβλεψη είναι σε χαμηλότερο ποσοστό από το προηγούμενο μοντέλο που εκπαιδεύτηκε που περιλάμβανε και τα οχτώ φάσματα σύγχρονης σάρωσης.



Εικόνα 3.52: Διάγραμμα συσχέτισης (score plot) με βάση την πρώτη και την δεύτερη λανθάνουσα μεταβλητή για τον διαχωρισμό ελαιολάδου Λέσβου (Κορωνέικη, Κολοβή) με φασματοσκοπία φθορισμού

Πίνακας 3.21: Πίνακας κατάταξης ελαιολάδων Λέσβου (Κορωνέικη, Κολοβή)

	Κορωνέικη	Κολοβή
Πρόβλεψη ως Κορωνέικη	5	0
Πρόβλεψη ως Κολοβή	0	9
Ορθή Ταξινόμηση %	100%	100%



Εικόνα 3.53: Διάγραμμα συσχέτισης (score plot) με βάση την πρώτη και την δεύτερη λανθάνουσα μεταβλητή για τον διαχωρισμό ελαιολάδου Λέσβου (Κορωνέικη, Κολοβή) με φασματοσκοπία φθορισμού

Πίνακας 3.22: Πίνακας κατάταξης ελαιολάδων Λέσβου (Κορωνέικη, Κολοβή)

	Κορωνέικη	Κολοβή
Πρόβλεψη ως Κορωνέικη	5	1
Πρόβλεψη ως Κολοβή	0	8
Ορθή Ταξινόμηση %	100%	88,88%

Βιβλιογραφία

- [1] Parkinson, L., & Keast, R. (2014). Oleocanthal, a phenolic derived from virgin olive oil: a review of the beneficial effects on inflammatory disease. *International journal of molecular sciences*, 15(7), 12323-12334.
- [2] Bendini, A., Cerretani, L., Carrasco-Pancorbo, A., Gómez-Caravaca, A., Segura-Carretero, A., Fernández-Gutiérrez, A., & Lercker, G. (2007). Phenolic Molecules in Virgin Olive Oils: a Survey of Their Sensory Properties, Health Effects, antioxidant activity and analytical methods. An overview of the last decade. *Molecules*, 12, 1679-1719.
- [3] Sikorska, E., Khmelinskii, I., & Sikorski, M. (2011). Analysis of Olive Oils by Fluorescence Spectroscopy : Methods and Applications. In D. Boskou, *Olive Oil - Constituents, Quality, Health Properties and Bioconversions* (pp. 63-89).
- [4] Aparicio, R. and Harwood, J. (2013). *Handbook of olive oil*. 2nd ed. New York: Springer, pp.677-714.
- [5] Aparicio, R. and Harwood, J. (2013). *Handbook of olive oil*. 2nd ed. New York: Springer, pp.43-49.
- [6] Κώδικας Τροφίμων για το Εξαιρετικά Παρθένο Ελαιόλαδο, Πυρηνέλαιο και Εξευγενισμένο Ελαιόλαδο, Standard For Olive Oils and Olive Pomace Oils(CODEX ALIMENTARIUS), Food and Agriculture Organization of the United Nations
- [7] IOOC. (1991). Commission Regulation (EEC) No 2568/91 of 11 July 1991 on the characteristics of olive oil and olive-residue oil and on the relevant methods of analysis.
- [8] Muzzalupo I. *et al.* Olive Germplasm-The Olive Cultivation, Table Olive and Olive Oil Industry in Italy. Council for Agricultural Research and Economics, 2012
- [9] Martín-Vertedor, D., Fuentes, M., De Miguel, C., Ranalli, A., Franco, M. and Martínez, M. (2015). Chemical composition and sensory evaluation of virgin olive oils from “Morisca” and “Carrasqueña” olive varieties. *Grasas y Aceites*, 66(1), p.e061.
- [10] Aparicio, R. and Harwood, J. (2013). *Handbook of olive oil*. 2nd ed. New York: Springer, pp.164-179.
- [11] Aparicio, R. and Harwood, J. (2013). *Handbook of olive oil*. 2nd ed. New York: Springer, pp.198-200.
- [12] Aparicio, R. and Harwood, J. (2013). *Handbook of olive oil*. 2nd ed. New York: Springer, pp.220-227.
- [13] Aparicio, R. and Harwood, J. (2013). *Handbook of olive oil*. 2nd ed. New York: Springer, pp.228-233.

- [14] Anna Gliszczyńska-Świgło, Ewa Sikorska, Igor Khmelinskii, Marek Sikorski. (2007). Tocopherol content in edible plant oils. *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences* 57, (pp.157–161).
- [15] Aparicio, R. and Harwood, J. (2013). *Handbook of olive oil*. 2nd ed. New York: Springer, pp.493-494.
- [16] Escuderos, M. E., Sayago, A., Morales, M. T., & Aparicio, R. (2009). Evaluation of α -tocopherol in virgin olive oil by a luminescent method. *Grasas y Aceites*, 60(4), 336–342
- [17] Eitenmiller, R. R., Ye, L., & Landen, W. O. (2008). Vitamin E: Tocopherols and Tocotrienols. In *Vitamin Analysis for the Health and Food Sciences*. 2 edn CRC Press, New York.
- [18] Aparicio, R. and Harwood, J. (2013). *Handbook of olive oil*. 2nd ed. New York: Springer, pp.312-316.
- [19] Aparicio, R. and Harwood, J. (2013). *Handbook of olive oil*. 2nd ed. New York: Springer, pp.492-493.
- [20] Ouni Y, Taamalli A, Gómez-Caravaca AM, Segura-Carretero A, Fernandez-Gutiérrez A et al (2011) Characterisation and quantification of phenolic compounds of extra-virgin olive oils according to their geographical origin by a rapid and resolute LC–ESI-TOFMS method. *Food Chem* 127:1263–1267
- [21] D’Imperio M, Mannina L, Capitani D, Bidet O, Rossi E et al (2007) NMR and statistical study of olive oils from Lazio: a geographical, ecological and agronomic characterization. *Food Chem* 105:1256–1267
- [22] Mannina L, Patumi M, Proietti N, Segre AL (2001b) PDO (Protected Designation of Origin): geographical characterization of Tuscan extra virgin olive oils using high-field H-1 NMR spectroscopy. *Ital J Food Sci* 13:53–63
- [23] Mannina L, Sobolev AP (2011) High resolution NMR characterization of olive oils in terms of quality, authenticity and geographical origin. *Magn Reson Chem* 49:S3–S11
- [24] Petrakis PV, Agiomyrgianaki A, Christophoridou S, Spyros A, Dais P (2008) Geographical characterization of Greek virgin olive oils (Cv. Koroneiki) using ^1H and ^{31}P NMR fingerprinting with canonical discriminant analysis and classification binary trees. *J Agric Food Chem* 56:3200–3207
- [25] Vlahov G, Schiavone C, Simone N (2001) Quantitative ^{13}C NMR method using the DEPT pulse sequence for the determination of the geographical origin (DOP) of olive oils. *Magn Reson Chem* 39:689–695
- [26] Vlahov G, Del Re P, Simone N (2003) Determination of geographical origin of olive oils using ^{13}C nuclear magnetic resonance spectroscopy. I-Classification of olive oils of the Puglia region with denomination of protected origin. *J Agric Food Chem* 51:5612–5615

- [27] García-González DL, Luna G, Morales MT, Aparicio R (2009b) Stepwise geographical traceability of virgin olive oils by chemical profiles using artificial neural network models. *Eur J Lipid Sci Technol* 111:1003–1013
- [28] Lazzez A, Perri E, Caravita MA, Khlif M, Cossentini M (2008) Influence of olive maturity stage and geographical origin on some minor components in virgin olive oil of the chemlali variety. *J Agric Food Chem* 56:982–988
- [29] Longobardi F, Ventrella A, Casiello G, Sacco D, Tasioula-Margari M et al (2012) Characterisation of the geographical origin of Western Greek virgin olive oils based on instrumental and multivariate statistical analysis. *Food Chem* 133:169–175
- [30] Pouliarekou E, Badeka A, Tasioula-Margari M, Kontakos S, Longobardi F et al (2011) Characterization and classification of Western Greek olive oils according to cultivar and geographical origin based on volatile compounds. *J Chromtogr A* 1218:7534–7542
- [31] Fuentes, E., Báez, M. E., Bravo, M., Cid, C., & Labra, F. (2012). Determination of Total Phenolic Content in Olive Oil Samples by UV–visible Spectrometry and Multivariate Calibration. *Food Analytical Methods*, 5(6), 1311–1319
- [32] Aparicio, R. and Harwood, J. (2013). *Handbook of olive oil*. 2nd ed. New York: Springer, pp.323-324.
- [33] Aparicio, R. and Harwood, J. (2013). *Handbook of olive oil*. 2nd ed. New York: Springer, pp.609.
- [34] Torrecilla, J., Rojo, E., Domínguez, J. and Rodríguez, F. (2010). A Novel Method To Quantify the Adulteration of Extra Virgin Olive Oil with Low-Grade Olive Oils by UV–Vis. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58(3), pp.1679-1684.
- [35] Borello, E. and Domenici, V. (2019). Determination of Pigments in Virgin and Extra-Virgin Olive Oils: A Comparison between Two Near UV-Vis Spectroscopic Techniques. *Foods*, 8(1), p.18.
- [36] Philippidis, A., Poulakis, E., Papadaki, A. and Velegrakis, M. (2016). Comparative Study using Raman and Visible Spectroscopy of Cretan Extra Virgin Olive Oil Adulteration with Sunflower Oil. *Analytical Letters*, 50(7), pp.1182-1195.
- [37] Aparicio, R. and Harwood, J. (2013). *Handbook of olive oil*. 2nd ed. New York: Springer, pp.224-226.
- [38] Wójcicki, K., Khmelinskii, I., Sikorski, M., Caponio, F., Paradiso, V., Summo, C., Pasqualone, A. and Sikorska, E. (2014). Spectroscopic techniques and chemometrics in analysis of blends of extra virgin with refined and mild deodorized olive oils. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 117(1), pp.92-102.

- [39] Aparicio, R. and Harwood, J. (2013). Handbook of olive oil. 2nd ed. New York: Springer, pp.230-232.
- [40] Downey, G., McIntyre, P. and Davies, A. (2002). Detecting and Quantifying Sunflower Oil Adulteration in Extra Virgin Olive Oils from the Eastern Mediterranean by Visible and Near-Infrared Spectroscopy. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(20), pp.5520-5525.
- [41] YANG, H., IRUDAYARAJ, J. and PARADKAR, M. (2005). Discriminant analysis of edible oils and fats by FTIR, FT-NIR and FT-Raman spectroscopy. *Food Chemistry*, 93(1), pp.25-32.
- [42] Aparicio, R. and Harwood, J. (2013). Handbook of olive oil. 2nd ed. New York: Springer, pp.362-366.
- [43] Sinelli, N., Cerretani, L., Egidio, V., Bendini, A. and Casiraghi, E. (2010). Application of near (NIR) infrared and mid (MIR) infrared spectroscopy as a rapid tool to classify extra virgin olive oil on the basis of fruity attribute intensity. *Food Research International*, 43(1), pp.369-375.
- [43] Sinelli, N., Cerretani, L., Egidio, V., Bendini, A. and Casiraghi, E. (2010). Application of near (NIR) infrared and mid (MIR) infrared spectroscopy as a rapid tool to classify extra virgin olive oil on the basis of fruity attribute intensity. *Food Research International*, 43(1), pp.369-375.
- [44] Aparicio, R. and Harwood, J. (2013). Handbook of olive oil. 2nd ed. New York: Springer, pp.371.
- [45] Poulli, K. I. (2005). Classification of edible and lampante virgin olive oil based on synchronous fluorescence and total luminescence spectroscopy. *Analytica Chimica Acta*, 542, 151-156.
- [46] Poulli, K. I. (2007). Rapid synchronous fluorescence method for virgin olive oil adulteration assessment. *Food Chemistry*, 105, 369-375.
- [47] Poulli, K. M. (2006). (2006). Synchronous fluorescence spectroscopy for quantitative determination of virgin olive oil adulteration with sunflower oil. *Anal. Bioanal. Chem.*, 386, 1571-1575. *Analytical Bioanalytical Chemistry*, 386, 1571-1575.
- [48] Sánchez-López, E., Sánchez-Rodríguez, M., Marinas, A., Marinas, J., Urbano, F., Caridad, J. and Moalem, M. (2016). Chemometric study of Andalusian extra virgin olive oils Raman spectra: Qualitative and quantitative information. *Talanta*, 156-157, pp.180-190.
- [49] Duraipandian, S., Petersen, J. and Lassen, M. (2019). Authenticity and Concentration Analysis of Extra Virgin Olive Oil Using Spontaneous Raman Spectroscopy and Multivariate Data Analysis. *Applied Sciences*, 9(12), p.2433.
- [50] Aparicio, R. and Harwood, J. (2013). Handbook of olive oil. 2nd ed. New York: Springer, pp.369-370.

Κεφάλαιο 4: Μέλι

4.1 Ορισμός και κατηγορίες μελιού

Σύμφωνα με τη νομοθεσία της Ευρωπαϊκής Ένωσης, μέλι είναι η φυσική γλυκιά ουσία που παράγουν οι μέλισσες του είδους *Apis mellifera* από το νέκταρ των φυτών ή από εκκρίσεις ζώντων μερών των φυτών ή από εκκρίματα εντόμων, που βρίσκονται πάνω σε ζώντα μέρη των φυτών, τα οποία οι μέλισσες συλλέγουν, μετατρέπουν αναμειγνύοντας με ειδικές ύλες τους σώματός τους, αποθέτουν, αφυδατώνουν, εναποθηκεύουν και φυλάσσουν στις κηρήθρες της κυψέλης, προκειμένου να ωριμάσει (Council Directive 2001/110/EC).

Η διάκριση του μελιού στηρίζεται στην προέλευση ή τον τρόπο παραλαβής του. Το μέλι ανάλογα με την προέλευση του διακρίνεται σε:

- μέλι ανθέων ή μέλι νέκταρος: το μέλι που λαμβάνεται από το νέκταρ των φυτών. Το μέλι ανθέων όταν έχει συγκεκριμένα χαρακτηριστικά λαμβάνει το όνομα του φυτού από το οποίο προέρχεται. Έτσι, έχουμε μέλι θυμαριού, πορτοκαλιάς, ηλίανθου, ερείκης, καστανιάς, βαμβακιού, αγριορίγανης, αγριολεβάντας, σάλβιας, φλαμουριάς, ψευδοακακίας κ.α.
- μέλι μελιτώματος: το μέλι που λαμβάνεται από εκκρίματα εντόμων (Hemiptera) τα οποία βρίσκονται πάνω στα ζωντανά μέρη των φυτών ή εκκρίσεις προερχόμενες από ζώντα μέρη των φυτών. Στην κατηγορία αυτή ανήκει το μέλι πεύκου και ελάτου.

Ορισμένες κατηγορίες ελληνικού μελιού είναι οι ακόλουθες:

Θυμαρίσιο

Στην Ελλάδα το θυμαρίσιο μέλι προέρχεται από φυτά της οικογένειας Labiatae που φύονται στη νότια και κεντρική περιοχή της χώρας, όπως και στα νησιά. Η σύνθεσή του εξαρτάται από την περιοχή προέλευσης. Το θυμαρίσιο μέλι παράγεται κυρίως στην περιοχή της Μεσογείου, καθώς επίσης και στη Νέα Ζηλανδία, προερχόμενο από διαφορετικά φυτικά είδη του γένους *Thymus*.

Αποτελεί το 10% της συνολικής παραγωγής μελιού στην Ελλάδα. Το θυμαρίσιο μέλι θεωρείται και είναι άριστης ποιότητας και κατατάσσεται στις καλύτερες ποιότητες μελιού που υπάρχουν, λόγω της εξαιρετικά ευχάριστης γεύσης και του έντονου χαρακτηριστικού αρώματος που διαθέτει. Το θυμαρίσιο μέλι έχει ωραία γεύση, αλλά μερικές φορές, λόγω της υψηλής συγκέντρωσης σε φρουκτόζη, δίνει την αίσθηση «καψίματος» στο λάρυγγα. Το θυμαρίσιο μέλι έχει χαρακτηριστικό ανοιχτό χρώμα, λαμπερή εμφάνιση και ανάλογα με τον αμιγή του χαρακτήρα κρυσταλλώνει σε διάστημα 6 έως 18 μηνών απ' την παραγωγή του.

Αναφέρεται ότι το θυμαρίσιο μέλι είναι τονωτικό, έχει αντισηπτικές ιδιότητες, αυξάνει την ενεργητικότητά και τις φυσικές δυνάμεις του ανθρώπου. Είναι το διασημότερο ελληνικό μέλι από την αρχαιότητα και λόγω των ιδιαίτερων οργανοληπτικών του χαρακτηριστικών είναι η σημαντικότερη κατηγορία ελληνικού μελιού. Η εξαιρετική του ποιότητα, αλλά και η υψηλή εμπορική του αξία, είναι η αιτία που εμφανίζονται περιπτώσεις νοθείας και παραπλάνησης του καταναλωτή. Συχνά πωλούνται ως θυμαρίσια μέλια διάφορων φυτικών προελεύσεων, ακόμα και εισαγόμενα. Επίσης, λόγω της φήμης που έχουν τα θυμαρίσια μέλια ορισμένων περιοχών, π.χ. Κρήτης ή Κυθήρων, χαρακτηρίζονται με αυτούς τους γεωγραφικούς προσδιορισμούς θυμαρίσια μέλια άλλων περιοχών με στόχο υψηλότερη τιμή πώλησης στην αγορά.

Μέλι πεύκου

Αποτελεί το 65% περίπου της συνολικής ελληνικής παραγωγής μελιού. Προέρχεται από μελιτώδεις εκκρίσεις του εντόμου γνωστό ως «εργάτης» ή «παράσιτο» του πεύκου, το οποίο βρίσκεται σε αρκετές περιοχές της χώρας και κυρίως στη Θάσο, στη Χαλκιδική, στην Εύβοια, στη Ζάκυνθο και στη Ρόδο. Το χρώμα του είναι χαρακτηριστικό και το άρωμά του ιδιαίτερο. Η γεύση του δεν είναι ιδιαίτερα γλυκιά, γι' αυτό και δεν προτιμάται συχνά από τους καταναλωτές. Η ιδιαιτερότητα της γεύσης του οφείλεται στις χαμηλές συγκεντρώσεις αναγόντων σακχάρων, γεγονός το οποίο δημιούργησε προβλήματα διακίνησης του κατά το παρελθόν, γιατί δεν ανταποκρινόταν στο όριο που θέτει η νομοθεσία ελέγχου του μελιού (Π.Δ. 498/1983). Η νέα οδηγία της Ε.Ε. (2001/110 ΕΚ) η οποία ισχύει από τον Αύγουστο του 2003, καταργεί τα ανάγοντα σάκχαρα και αντί αυτών χρησιμοποιεί το άθροισμα της γλυκόζης και της φρουκτόζης, στο οποίο τα Ελληνικά πευκόμελα ανταποκρίνονται. Λόγω της χαμηλής φυσικής περιεκτικότητας του σε γλυκόζη, είναι από τα είδη μελιού των οποίων η κρυστάλλωση γίνεται με αρκετά βραδύ ρυθμό ή δεν κρυσταλλώνουν καθόλου. Είναι ένα είδος μελιού με υψηλή θρεπτική αξία, η οποία οφείλεται στο μεγάλο αριθμό διαφορετικών ουσιών που συνυπάρχουν στη σύστασή του. Ξεχωριστή θέση κατέχουν τα ιχνοστοιχεία, στα οποία είναι πολύ πλούσιο, οι πρωτεΐνες και τα αμινοξέα.

Κρητικό Πευκοθυμαρόμελο

Ένα φυσικό μίγμα που παράγεται όταν η πρόσφατη συγκομιδή θυμαριού ακολουθείται άμεσα από μια αυξημένη παραγωγή μελιτώματος στα κοντινά πευκοδάση. Το δημοφιλέστερο μέλι στη Κρήτη, όπου παράγεται παραδοσιακά, δημοφιλέστερο ακόμη και από το θυμάρι, καθώς συνδυάζει τα αρώματα και τις γεύσεις και από τους δύο τύπους μελιών, αν και το ισχυρότερο θυμάρι επικρατεί κάπως, και είναι τόσο αργό όσο το μέλι από πεύκο στην κρυστάλλωση. Το ίδιο ισχύει και για τη θρεπτική του αξία και τα οφέλη του στην υγεία.

Κανένα πρότυπο δεν υπάρχει ακόμα για το κρητικό πευκοθυμαρόμελο ως προς τη χημική του σύνθεση και το ποσοστό γυρεοκόκκων του. Ωστόσο, η γεύση του είναι τόσο χαρακτηριστική που αναγνωρίζεται εύκολα και επιλέγεται μεταξύ δειγμάτων πευκόμελου.

4.2 Χημική σύσταση μελιού

Το μέλι είναι ένα πυκνό, υπέρκορο υδατικό διάλυμα απλών και σύνθετων ζαχάρων, και μεγάλης ποικιλίας άλλων ουσιών, συμπεριλαμβανομένων ανόργανων ιόντων, ιχνοστοιχείων, ουσιών που βρίσκονται σε κolloειδή διασπορά όπως είναι οι μακρομοριακές ενώσεις πρωτεϊνών και πολυζαχαριτών, ενζύμων, οργανικών οξέων, αρωματικών ουσιών, γυρεοκόκκων, κ.α. Το σύνολο των ουσιών αυτών αποτελούν τα κύρια συστατικά του μελιού και είναι οι ουσίες που συναντούμε σε όλα τα μέλια σε μεγαλύτερες ή μικρότερες συγκεντρώσεις.

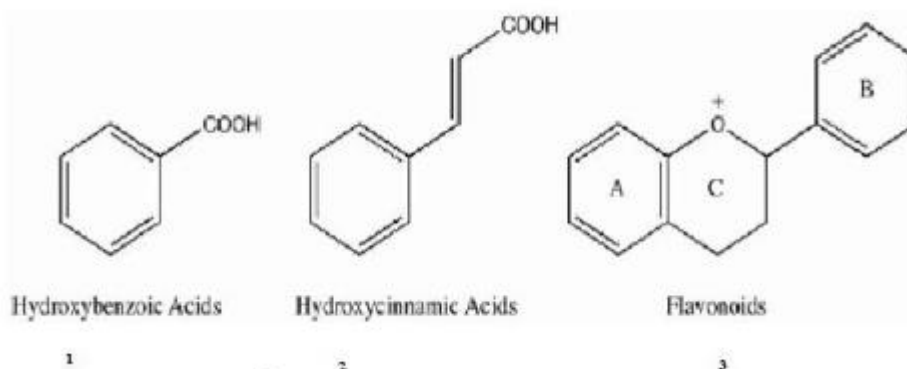
Φαινολικά συστατικά

Οι φαινολικές ενώσεις είναι μία από τις πιο σημαντικές ομάδες ενώσεων που απαντούν στα φυτά, και περιλαμβάνουν τουλάχιστον 8000 διαφορετικές γνωστές δομές^[1]. Μεταξύ των φαινολικών, τα φλαβονοειδή και τα φαινολικά

οξέα έχει αναφερθεί ότι παρουσιάζουν αντικαρκινογόνο, αντιφλεγμονώδη, αντιαθηρογενετική, αντιθρομβωτική, ανοσοποιητική δράση, αντιβακτηριακές, και αντιοξειδωτικές ιδιότητες, καθώς και αναλγητική δράση^[1-4].

Τα φλαβονοειδή είναι πολυφαινολικά παράγωγα, που εκτός από το μέλι απαντούν σε όλες τις τροφές φυτικής προέλευσης. Πρόκειται για μια ομάδα φυσικών συστατικών ευρέως διαδεδομένων, αφού αποτελούν περίπου το 2% του ολικού άνθρακα που φωτοσυντίθεται στα φυτά και στη συνέχεια μετατρέπεται σε φλαβονοειδή ή παρόμοια συστατικά. Τα φλαβονοειδή απαντώνται κυρίως στα φυτά με τη μορφή γλυκοζιτών, στους οποίους μία ή περισσότερες φαινολικές υδροξυλικές ομάδες είναι ενωμένες με μόρια σακχάρων. Η βασική τους δομή αποτελείται από ένα βενζολικό δακτύλιο (A) ο οποίος συνδέεται με έναν πυρανονικό δακτύλιο (C), που στη θέση 2 συνδέεται με ένα φαινολικό δακτύλιο (B) ως υποκαταστάτη (Εικόνα 4.1). Παραλλαγές στον ετεροκυκλικό αυτό σκελετό τα διαχωρίζουν^[5] σε:

- φλαβόνες,
- φλαβονόλες,
- φλαβανόνες,
- ισοφλαβόνες,
- κατεχίνες,
- ανθοκυανιδίνες



Εικόνα 4.1: Γενική δομή φαινολικών ενώσεων 1) υδροξυ-Βενζοϊκά οξέα 2) υδροξυ-κινναμμωνικά οξέα 3) φλαβονοειδή^[5]

Τα φλαβονοειδή αποτελούν μια μεγάλη ομάδα φυτικών ουσιών. Αποτελούν το 0,5% της γύρης, το 10% της πρόπολης, ενώ το μέλι περιέχει κατά μέσο όρο 6000 μg/Kg. Το σημαντικότερο φλαβονοειδές του μελιού είναι η πινοκεμπρίνη, η οποία βρίσκεται σε όλα σχεδόν τα δείγματα, σε συγκέντρωση 2-3 μg/mL. Άλλα σημαντικά φλαβονοειδή είναι η χρυσίνη, η γκαλανγκίνη και η πινομπανκσίνη. Τα φλαβονοειδή του μελιού μπορεί να προέρχονται από την πρόπολη, τη γύρη, αλλά και το νέκταρ ή το μελίτωμα που οι μέλισσες συλλέγουν^[6,7]. Στην πρώτη περίπτωση ανήκουν τα μείζονα φλαβονοειδή του μελιού που βρίσκονται σε όλα τα μέλια, όπως πινομπανκσίνη, πινοκεμπρίνη, χρυσίνη, γκαλανγκίνη, τεκτοχρυσίνη, απιγενίνη, καθώς επίσης και μεθυλεστέρες της καμφερόλης. Από την πρόπολη προέρχονται και πολλά παράγωγα του καφεϊκού οξέος.

Τα φαινολικά οξέα αποτελούν τη δεύτερη πιο διαδεδομένη κατηγορία φαινολικών συστατικών που απαντούν σχεδόν σε όλα τα φυτικά τρόφιμα. Διακρίνονται σε δύο βασικές κατηγορίες:

- α) παράγωγα του βενζοϊκού οξέος (βανιλικό, συριγγικό)
- β) παράγωγα του κινναμωμικού οξέος (καφεϊκό, φερουλικό).

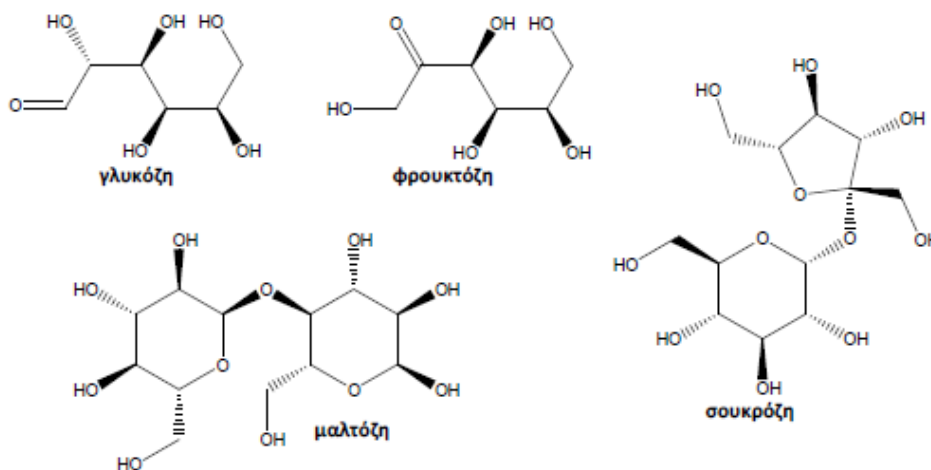
Σχετικά με τα φαινολικά συστατικά του ελληνικού μελιού από την βιβλιογραφία^[4,7-13] υπάρχουν λίγα στοιχεία. Έχει αποδειχθεί η ύπαρξη από τα φλαβονοειδή της μυρικετίνης, τρικετίνης, κερκετίνης, καμφερόλης, λουτεολίνης και χρυσίνης σε ελληνικά μέλια. Επίσης από την βιβλιογραφία που υπάρχει από την μελέτη διάφορων μονοποικιλιακών μελιών έχουν ανιχνευτεί κάποια συγκεκριμένα φαινολικά συστατικά. Χαρακτηριστικό παράδειγμα είναι μέλια από εσπεριδοειδή όπου χαρακτηριστική φαινολική ένωση που εντοπίζεται είναι η εσπεριδίνη. Όσον αφορά τη σύσταση μελιών σε φαινολικά οξέα από χώρες της Ευρώπης^[8-12] κυρίαρχα είναι τα φαινολικά οξέα Βενζοϊκό, Σαλικυλικό, 3-ύδροξυ-Βενζοϊκό, 4-ύδροξυ-Βενζοϊκό, Γαλλικό, Προτοκατεχικό, Συριγγικό, Βανιλικό, Καφεϊκό, Φερουλικό, Φαινυλοξικό, (ortho,meta,para)-Κουμαρικό για διάφορες ποικιλίες μελιού όπως ακακία, λεμόνι, καστανιά, ερείκη, ηλίανθο, λεβάντα, δεντρολίβανο, πορτοκάλι, ελαιοκράμβη, ευκάλυπτο, πεύκο, θυμάρι, έλατο.

Σάκχαρα

Το μέλι αποτελείται κατά 83% περίπου από σάκχαρα^[14]. Τα σάκχαρα είναι οργανικές ενώσεις μικρού μέχρι μεγάλου μοριακού βάρους, που παρέχουν σημαντικό ποσοστό της ενέργειας που χρειάζονται οι ζωντανοί οργανισμοί για την εκτέλεση ζωτικών λειτουργιών, ενώ αποτελούν δομικά συστατικά των κυτταρικών μεμβρανών και των κυττάρων σε ζωικούς και φυτικούς οργανισμούς. Σε αναλύσεις στο μέλι, έχουν βρεθεί τουλάχιστον 22 διαφορετικά σάκχαρα.

Τα σάκχαρα που συναντάμε σε πολύ μεγάλες συγκεντρώσεις στο μέλι είναι οι μονοσακχαρίτες φρουκτόζη και γλυκόζη, σάκχαρα που δεν υπάρχουν στο νέκταρ ή τα μελιτώματα των φυτών, αλλά προέχονται από την ιμπερτοποίηση (υδρόλυση) της σουκρόζης στον πρόλοβο των μελισσών^[14-15]. Κατά την διαδικασία παραγωγής του μελιού, οι μέλισσες εκκρίνουν το ένζυμο ιμπερτάση από τους υποφαρυγγικούς τους αδένες, το οποίο διασπά τη σουκρόζη σε γλυκόζη και φρουκτόζη. Λόγω της υψηλότερης διαλυτότητας της γλυκόζης από τη σουκρόζη στη θερμοκρασία κυψέλης, παράγεται ένα διάλυμα σακχάρων μεγαλύτερης συγκέντρωσης σε φρουκτόζη. Στην Εικόνα 4.2 φαίνεται η χημική δομή των σημαντικότερων σακχάρων του μελιού. Η σουκρόζη (δισακχαρίτης) είναι το βασικότερο σάκχαρο που περιέχεται στο νέκταρ και τα μελιτώματα των φυτών, ενώ αποτελεί και συστατικό του μελιού σε μικρή συγκέντρωση (2,5%). Η μαλτόζη, η μελεζιτόζη και άλλοι δισακχαρίτες, βρίσκονται στο μέλι σε ποσοστό 7,3%.

Το μέλι περιέχει επίσης πολλά σε αριθμό άλλα σάκχαρα, γνωστά ως ολιγοσακχαρίτες. Οι ολιγοσακχαρίτες είναι μέσου μεγέθους σύνθετα σάκχαρα, που περιέχουν πάνω από τρία απλά σάκχαρα, ενώ συχνά απαρτίζονται από μονοσακχαρίτες και δισακχαρίτες. Ενίοτε αναφέρονται και ως ανώτερα σάκχαρα. Η ισομαλτόζη, η ραφινόζη, η τρεχαλόζη, η καλοβιόζη, η νιγερόζη, η τυρανόζη, η κεστόζη, η κεντοβιόζη, η τρεαλόζη, η δεξτρίνη είναι κάποια από τα περιεχόμενα στο μέλι σάκχαρα που αναφέρονται ενδεικτικά.



Εικόνα 4.2: Χημική δομή των σημαντικότερων σακχάρων του μελιού

Συγκριτικά με τα άλλα σάκχαρα, η γλυκόζη είναι σχετικά αδιάλυτη και το ποσοστό της στο μέλι, καθορίζει την τάση του μελιού για κρυστάλλωση. Η φρουκτόζη είναι ένα πολύ γλυκό σάκχαρο, καθώς επίσης και υγροσκοπικό, απορροφώντας υγρασία από την ατμόσφαιρα. Αντίθετα η γλυκόζη και η σουκρόζη είναι κατά πολύ λιγότερο υγροσκοπικά σάκχαρα, συνεπώς οι υγροσκοπικές ιδιότητες του μελιού οφείλονται εξ ολοκλήρου στη φρουκτόζη.

Η μέση σύσταση των σακχάρων σε ένα μέλι διαφέρει ανάλογα με το αν αυτό είναι ανθόμελο, ή είναι μέλι από μελιτώματα^[16]. Τα μέλια ανθέων είναι πλουσιότερα σε απλά σάκχαρα (γλυκόζη και φρουκτόζη) απ' ό,τι τα μέλια από μελιτώματα, αλλά φτωχότερα σε δισακχαρίτες και ανώτερα σάκχαρα. Η μαλτόζη, ως συστατικό των μελιτωμάτων παρουσιάζεται μόνο στα μέλια μελιτωμάτων και μεγαλύτερη συγκέντρωση συγκριτικά με τη σουκρόζη. Στα αμιγή μέλια ανθέων η μαλτόζη δεν αποτελεί συστατικό.

Περίπου το 95% των σακχάρων του μελιού είναι ζυμώσιμα, χαρακτηριστικό που είναι σημαντικό για τις βιομηχανίες που παράγουν μπίρα και κρασί από μέλι. Οι υψηλές συγκεντρώσεις σακχάρων στο μέλι του προσδίδουν χαρακτηριστικές φυσικές ιδιότητες, όπως υψηλό ιξώδες, υψηλή πυκνότητα, τάση για κρυστάλλωση, υγροσκοπικότητα και αντιβακτηριακές ιδιότητες.

Στη μεγάλη ποικιλία, αλλά και το είδος των σακχάρων του μελιού οφείλεται το γεγονός ότι δεν πρόκειται απλά για μια γλυκαντική τροφή. Η ικανότητά του να κρατά χαμηλή την υγρασία και να παρατείνει τη διάρκεια ζωής σχετίζεται με τους υδατάνθρακες, ενώ είναι καταλυτική και η συνεισφορά αυτών στο χρώμα και τη γεύση.

Οργανικά οξέα

Το μέλι περιέχει^[17,18] 20 περίπου οργανικά οξέα, σε μέση συγκέντρωση 0,57%. Μερικά από αυτά είναι το γλυκονικό οξύ, το κιτρικό, το οξικό, το βουτυρικό, το ταρταρικό, το οξαλικό, το μαλεϊκό, το μηλικό, το μυρμηκικό κ.α. Τα οργανικά οξέα, παίζουν καθοριστικό ρόλο τόσο στην όξινη αντίδρασή του και στη γεύση του μελιού, όσο και στην αντιβακτηριακή του δράση. Το μέσο pH του μελιού κυμαίνεται μεταξύ 3,3 και 5,9. Η ολική οξύτητα του μελιού κυμαίνεται μεταξύ 8,68 και 59,49 meq/kg.

Από τα οργανικά οξέα που περιέχονται στο μέλι, το σημαντικότερο είναι το γλυκονικό οξύ, το οποίο παράγεται στο μέλι από την επίδραση του ενζύμου

οξειδάση στη γλυκόζη, αντίδραση κατά την οποία σχηματίζεται και υπεροξειδίο του υδρογόνου. Στο υπεροξειδίο του υδρογόνου και σε άλλες ενώσεις, όπως κάποια καβοξυλικά οξέα, οφείλεται μεγάλο μέρος της αντιβακτηριακής δράσης που έχει το μέλι. Το γλυκονικό οξύ, επίσης, ανάλογα με την συγκέντρωσή του σε ένα μέλι, έχει την ιδιότητα να εντείνει τη γεύση του. Τα ανθόμελα έχουν χαμηλότερο μέσο pH 4, από τα μέλια μελιτωμάτων που είναι ίσο με 4,9. Αυτό εξηγείται εν μέρει από την παρουσία μεγαλύτερης ποσότητας γλυκόζης (και ως εκ τούτου γλυκονικού οξέος) στα μέλια ανθέων. Ανάμεσα στα οργανικά οξέα του μελιού, περιλαμβάνονται και κάποια αλειφατικά και αρωματικά οξέα, με τα τελευταία να συνεισφέρουν σημαντικά στη γεύση αυτού.

Πρωτεΐνες και αμινοξέα μελιού

Το μέλι διαθέτει περίπου 20 πρωτεΐνες και 18 αμινοξέα, συστατικά που ανιχνεύονται σε πολύ μικρές συγκεντρώσεις στο μέλι^[19-22]. Είναι φυτικής προέλευσης, προέρχονται δηλαδή αποκλειστικά από τη γύρη, το νέκταρ και τις μελιτώδεις εκκρίσεις των φυτών από τα οποία τρέφονται οι μέλισσες. Τα αμινοξέα αποτελούν τις υπομονάδες των πρωτεϊνών. Συγκεκριμένα αμινοξέα του μελιού προέρχονται από τις μέλισσες και είναι κοινά σε όλα τα μέλια, ενώ άλλα βρίσκονται στα φυτά. Τα ελεύθερα αμινοξέα που υπάρχουν στο μέλι είναι η προλίνη, η λυσίνη, η βαλίνη, η αλανίνη, η φαινοαλανίνη, η τυροσίνη, η λευκίνη, η ισολευκίνη, το γλουταμινικό το ασπαραγινικό. Το σημαντικότερο από τα αμινοξέα είναι η προλίνη, η οποία βρίσκεται και σε μεγαλύτερη αφθονία. Η προλίνη κατέχει το 50-85% του συνόλου των αμινοξέων του μελιού.

Τα ελεύθερα αμινοξέα βρίσκονται σε μεγαλύτερες συνολικές συγκεντρώσεις στο μέλι απ' ό,τι τα πρωτεϊνικά αμινοξέα. Όσον αφορά δε, την ποσότητα και την ποιότητα των αμινοξέων ανάλογα με την φυτική προέλευση των μελιών, τα μέλια ανθέων περιέχουν μεγαλύτερες ποσότητες σε πρωτεϊνικά αμινοξέα, έναντι των μελιών μελιτωμάτων, ενώ συμβαίνει το αντίθετο για τα ελεύθερα αμινοξέα, με εξαίρεση την φαινοαλανίνη, που βρίσκεται σε μεγαλύτερη συγκέντρωση στα ανθόμελα^[19].

Μέταλλα, Ιχνοστοιχεία και Τέφρα του μελιού

Τα μέταλλα^[15,16,23] αρχικά βρίσκονται στο έδαφος, προσλαμβάνονται από τα φυτά και καταλήγουν στο μέλι μέσω του νέκταρος ή των μελιτωμάτων, που οι μέλισσες συλλέγουν από αυτό. Το ποσοστό των ανόργανων συστατικών που περιέχει ένα μέλι, μπορεί να επηρεάσει το χρώμα του μελιού, και εξαρτάται από τη βοτανική προέλευση του φυτού από το οποίο τράφηκαν οι μέλισσες. Το μη πτητικό, ανόργανο υπόλειμμα του μελιού, έπειτα από καύση αυτού, καλείται τέφρα και αποτελείται από μέταλλα, μακροστοιχεία, ή ιχνοστοιχεία. Η ολική τέφρα στο μέλι κυμαίνεται από 0,02-1%^[24]. Το στοιχείο^[16] που βρίσκεται σε μεγαλύτερη ποσότητα στο μέλι είναι το Κάλιο (K) και ακολουθεί το Θείο (S), το Χλώριο (Cl), το Ασβέστιο (Ca) και ο Φώσφορος (P). Τα υπόλοιπα ανόργανα συστατικά του μελιού βρίσκονται σε πολύ μικρότερες ποσότητες. Συγκριτικά, συνήθως τα ανοιχτόχρωμα μέλια έχουν μικρότερη περιεκτικότητα σε ανόργανα συστατικά, από τα σκουρόχρωμα. Τα σκουρόχρωμα μέλια που έχουν υψηλή περιεκτικότητα σε τέφρα περιλαμβάνουν κυρίως μέλια από μελιτώματα. Τα πολύ ανοιχτόχρωμα μέλια περιέχουν μικρές ποσότητες σε μέταλλα σε σχέση με τα σκουρόχρωμα, αν και αυτό δεν ισχύει πάντα, καθώς υπάρχουν και άλλοι παράγοντες που επηρεάζουν το χρώμα και οι οποίοι είναι σε μεγάλο βαθμό άγνωστοι

Νερό

Η φυσική υγρασία του μελιού αποτελεί το 'υπόλειμμα' του νερού που υπήρχε στο νέκταρ προ της έναρξης της διαδικασίας της ωρίμανσης^[16]. Το ποσό αυτής είναι σημαντικός παράγοντας που καθορίζει σε μεγάλο βαθμό την ανθεκτικότητα του μελιού στις ζυμώσεις. Το μέλι περιέχει νερό σε ποσοστό 17% (κυμαίνεται από 13-25%). Οι μέλισσες, άλλωστε, σφραγίζουν το μέλι στις κηρήθρες όταν η υγρασία του φτάσει το 15-17%. Υπάρχει ένα κατώτερο όριο περιεκτικότητας σε νερό ώστε να διατηρούνται τα σάκχαρα εν διαλύσει. Υπάρχει επίσης και ένα ανώτερο όριο, αυτό του 20%, το οποίο έχει θεσπιστεί με την με την οδηγία 2001/110/ΕΚ του Ευρωπαϊκού Συμβουλίου, και αφορά στην προστασία του μελιού από τυχόν ζυμώσεις.

Η περιεκτικότητα σε νερό μπορεί να αλλάξει με έκθεση του μελιού σε ξηρή ή υγρή ατμόσφαιρα κατά τη διαδικασία του τρυγητού. Η απορρόφηση υγρασίας από ένα υγρό περιβάλλον είναι ταχύτερη από ότι η απώλεια υγρασίας σε ένα ξηρό περιβάλλον. Ακόμα, η υγρασία αλλάζει κατά την αποθήκευση, ανάλογα με τις συνθήκες αυτής, λόγω της υγροσκοπικότητας του μελιού. Σε περιοχές με υψηλή ατμοσφαιρική υγρασία, οι μέλισσες δε μπορούν να μειώσουν την περιεκτικότητα σε νερό σε ασφαλή επίπεδα.

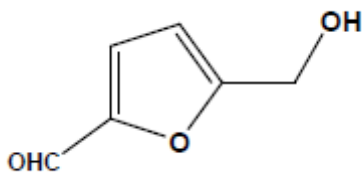
Η υγρασία (νερό) στο μέλι είναι καθοριστικός παράγοντας που επηρεάζει πολλά από τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά του μελιού και παίζει σημαντικό ρόλο στις φυσικοχημικές του ιδιότητες και την «συμπεριφορά» του μελιού μετά την συγκομιδή και τη συσκευασία του. Ιδιότητες όπως το χρώμα, η κρυστάλλωση, η ζύμωση, το ιξώδες, εξαρτώνται άμεσα από το νερό που περιέχεται στο μέλι .

HMF

Η HMF (5-υδροξυμεθυλο-2-φουρανοκαρβοξαλδεΐδη, (Εικόνα 4.3)) είναι η σημαντικότερη και αφθονότερη ουσία από αυτές που ανήκουν στα παράγωγα του φουρανίου και που υπάρχουν στο μέλι^[16,25]. Οι ουσίες αυτές παράγονται κατά τη θέρμανση των σακχάρων του μελιού ή από την επίδραση της παρατεταμένης αποθήκευσης αυτού. Οι ουσίες αυτές σχηματίζονται θερμαίνοντας το μέλι ακόμη και στους 50 °C.

Η HMF υπάρχει σε όλα τα μέλια, σε ποικίλες συγκεντρώσεις. Αποτελεί κριτήριο ποιότητας του μελιού. Μάλιστα, σύμφωνα με την ευρωπαϊκή νομοθεσία, η συγκέντρωσή της δεν πρέπει να ξεπερνά τα 40 mg/Kg, με εξαίρεση μέλια με χαμηλή περιεκτικότητα σε διασάση, για τα οποία το όριο της HMF είναι 15 mg/Kg (π.χ. μέλι πορτοκαλιάς).

Η HMF παράγεται στο μέλι με δύο τρόπους, με την αποδόμηση των μονοσακχαριτών σε όξινο περιβάλλον όπως του ώριμου μελιού και με τη θέρμανση των σακχάρων μέσω της αντίδρασης Maillard. Οι παράγοντες που καθορίζουν το σχηματισμό της HMF στο μέλι είναι η θερμοκρασία και ο χρόνος έκθεσής του σε αυτό, οι συνθήκες αποθήκευσης, η επαφή του με μεταλλικά σκεύη και τέλος οι φυσικοχημικές του ιδιότητες. Είναι γνωστό εδώ και πολλά χρόνια ότι η θέρμανση και η παρατεταμένη αποθήκευση του μελιού έχουν ως αποτέλεσμα την αύξηση της περιεκτικότητας σε HMF. Η επίδραση της θέρμανσης στην ποσότητα της HMF που δημιουργείται δεν είναι ίδια για κάθε μέλι.



Εικόνα 4.3: Χημική δομή της HMF

Βιταμίνες του μελιού

Το μέλι γενικά, δε θεωρείται ιδιαίτερα βιταμινούχο. Οι βιταμίνες που περιέχει και που είναι κυρίως του συμπλέγματος Β, αν και δε φτάνουν να καλύψουν τις ημερήσιες ανάγκες της διατροφής ενός ατόμου. Γενικά, η περιεκτικότητα του μελιού σε βιταμίνες είναι πολύ χαμηλή όμως η παρουσία τους είναι σημαντική καθώς βοηθούν στην καλύτερη απορρόφηση των σακχάρων από τον ανθρώπινο οργανισμό.

Πτητικά συστατικά του μελιού

Η γεύση και το άρωμα του μελιού είναι οι σημαντικότεροι παράγοντες που καθορίζουν την προτίμηση αυτού από τον καταναλωτή και, ως εκ τούτου, την τιμή του. Τα πτητικά συστατικά είναι οι ουσίες αυτές που συνθέτουν το άρωμα του εκάστοτε μελιού.

Από χημικής απόψεως, οι διάφορες ουσίες^[26,27] που συναντάμε στα μέλια ανήκουν σε πολλές ομάδες: τερπενοειδή, νορισοπτενοειδή, φαινολικά συστατικά, αζωτούχες ενώσεις, προϊόντα της αντίδρασης 'Maillard', υδρογονάνθρακες, λιπαρά οξέα και εστέρες αυτών, αλειφατικές αλκοόλες και αλδεΐδες, εστέρες κλπ. Θα πρέπει να σημειωθεί ότι το άρωμα του μελιού συντίθεται από το σύνολο των πτητικών του συστατικών, τόσο από ποιοτική όσο και από ποσοτική πλευρά.

Εκτός από τον καθορισμό της εμπορικής αξίας του μελιού, τα πτητικά συστατικά έχουν και άλλη μια μεγάλη χρησιμότητα. Αποτελούν δείκτες της βοτανικής και γεωγραφικής προέλευσης του μελιού, καθώς η σύνθεσή τους διαφέρει σημαντικά από μέλι σε μέλι. Δεκάδες είναι οι ουσίες που έχουν αναγνωρισθεί ως πιθανοί βοτανικοί δείκτες για πολλούς διαφορετικούς τύπους μελιών^[10,11,26,27].

Κολλοειδή του μελιού

Τα κολλοειδή του μελιού αποτελούν το 0,1 έως και 1% του μελιού, με τα σκούρα μέλια να έχουν μεγαλύτερη περιεκτικότητα από τα ανοιχτόχρωμα. Δε φιλτράρονται εύκολα, ενώ έχουν σημαντική συνεισφορά στη γεύση του μελιού. Αποτελούνται από πρωτεΐνες (κατά 55-65%), κομμάτια κεριού, πεντοζάνες και ανόργανα συστατικά. Φαίνεται να προέρχονται τόσο από τις μέλισσες, όσο και από τη βοτανική πηγή προέλευσης του μελιού. Τα συστατικά του μελιού που βρίσκονται σε κολλοειδή φάση επηρεάζουν κάποιες ιδιότητες αυτού, όπως το χρώμα, τη γεύση, τη διαύγεια και την κρυστάλλωση.

Ένζυμα

Τα κύρια ένζυμα που περιέχονται στο μέλι είναι^[15,16], η ιμπερτάση, η γλυκοξειδάση και η διαστάση, που προέρχονται από τους υποφαρυγγικούς αδένες των μελισσών και η καταλάση και η οξική φωσφατάση που είναι φυτικής

προέλευσης . Είναι από τα πιο ενδιαφέροντα και συνάμα τα πιο σημαντικά από τα συστατικά του μελιού, επειδή παίζουν ζωτικό ρόλο στην παραγωγή του ώριμου μελιού από το αρχικό ανώριμο υλικό, τον φυτικό χυμό. Κάθε ένα από αυτά λαμβάνει μέρος ως καταλύτης σε μία σειρά χημικών αντιδράσεων μεταξύ των συστατικών της τροφής της μέλισσας και των ουσιών που εκκρίνονται από αυτή και λαμβάνουν χώρα από την πρώτη στιγμή που η μέλισσα συλλέξει την τροφή τη, μέχρι τη στιγμή που το ώριμο μέλι σφραγιστεί στις κερήθρες. Κάποιες χημικές αντιδράσεις δε, εξακολουθούν να πραγματοποιούνται και μετά την συλλογή του μελιού, κατά την αποθήκευσή του, επιδρώντας στις φυσικοχημικές ιδιότητές του.

Γυρεόκοκκοι του μελιού

Η μελισσογυρεολογία είναι κλάδος της γυρεολογίας που μελετά την βοτανική και γεωγραφική προέλευση του μελιού, υποβάλλοντας σε μικροσκοπική ανάλυση το ίζημα του μελιού και κατά συνέπεια την γύρη, τους μύκητες κτλ. που υπάρχουν σε αυτό. Η πρώτη έρευνα της ανάλυσης της γύρης στο μέλι, έγινε από τον Pfrister 1895. Η πιο εμπειριστατωμένη μελέτη είναι του Zander του οποίου οι εργασίες αποτελούν σήμερα το κύριο σημείο αναφοράς. Αυτές οι μελέτες έδωσαν την δυνατότητα να επιβεβαιωθεί σε επιστημονική βάση στη μελισσολογία, η σημασία της μελισσοκομικής χλωρίδας. Παλαιότερα ^[28] η αξιολόγηση ήταν αποτέλεσμα γενικών παρατηρήσεων. Το νέκταρ των λουλουδιών και τα εκκρίματα των φυτών, πάντα περιέχουν μεγαλύτερες ή μικρότερες ποσότητες γύρης και μύκητες, τα οποία μπορούν να ανιχνευτούν στο ίζημα του μελιού. Η αναγνώριση, ο υπολογισμός του ποσοστού των στοιχείων γυρεόκοκκων, μυκήλια, ζύμες, σπόρια κτλ., κάνουν δυνατό τον εντοπισμό της φυτικής και γεωγραφικής προέλευσης του μελιού. Το φάσμα της γύρης ενός τροπικού μελιού είναι διαφορετικό από ένα μεσογειακό. Ακόμα και τα είδη μελιού που παράγονται σε κοντινές περιοχές με παρόμοια κλίματα, ποικίλουν ανάλογα με την ποσότητα του κάθε είδους γύρης που υπάρχει σε κάθε περιοχή. Στην Ελλάδα αυτό το φαινόμενο είναι αρκετά σύνηθες καθώς η σύνθεση της χλωρίδας διαφέρει ακόμη και σε περιοχές που βρίσκονται σε μικρή απόσταση μεταξύ τους.

Ο λόγος είναι η αφθονία μικροκλιμάτων που δημιουργήθηκαν εξαιτίας της μορφολογίας των διαφόρων περιοχών. Η αναγνώριση της γεωγραφικής προέλευσης βασίζεται στην παρουσία ενός συνδυασμού τυπικών γυρεοκόκκων από εκείνη την περιοχή. Μόνο σε μερικές περιπτώσεις μπορούμε να βρούμε χαρακτηριστικούς γυρεόκοκκους σε ορισμένα μέρη που δεν υπάρχουν αλλού. Αν υπάρχουν χαρακτηριστικοί γυρεόκοκκοι-σημάδια, αρκούν για να δείξουν την προέλευση και το είδος του μελιού. Έτσι, είναι εφικτό να χρησιμοποιήσουμε πιστοποιητικό προέλευσης για να ξεχωρίσουμε τους διάφορους τύπους μελιού. Αυτό έχει πρακτική σημασία ειδικά για τις χώρες όπου οι νόμοι προστατεύουν τα πιστοποιημένα Προϊόντα Ονομασίας Προέλευσης.

Το μέλι περιέχει ένα σημαντικό αριθμό γυρεοκόκκων οι οποίοι προέρχονται από τα φυτά που επισκέπτεται η μέλισσα προκειμένου να συλλέξει την πρώτη ύλη για την παραγωγή του μελιού. Ανάλογα με την αναλογία των γυρεοκόκκων μέσα στο μέλι, αλλά και τον συνολικό αριθμό αυτών, τα μέλια κατηγοριοποιούνται ως προς την προέλευσή τους σε αμιγή μέλια, ανθόμελα ή μέλια μελιτώματος. Για να χαρακτηριστεί ένα μέλι ως αμιγές ενός φυτού θα πρέπει να περιέχει γυρεόκοκκους από αυτό το φυτό σε ποσοστιαία αναλογία,

αλλά και σε συνολικό αριθμό πάνω από ένα συγκεκριμένο όριο που έχει θεσπιστεί έπειτα από αναλύσεις πολλών ετών. Στην περίπτωση που το παραγόμενο μέλι χαρακτηριστεί ως ανθόμελο, περιέχει γυρεόκοκκους από πολλά φυτά σε ποικίλες αναλογίες. Κανένας τύπος γυρεόκοκκου δεν ξεπερνά το όριο πάνω από το οποίο θα μπορούσε να δώσει αμιγή χαρακτήρα στο εν λόγω μέλι. Τέλος, στα μέλια μελιτώματος βρίσκονται γυρεόκοκκοι από διάφορα φυτά, όχι όμως από το ίδιο το φυτό προέλευσης. Για τον καθορισμό της προέλευσης του μελιού αναλύονται τα δείγματα μελιών για άλλα χαρακτηριστικά, όπως η ηλεκτρική αγωγιμότητα, η περιεκτικότητα σε νερό και σάκχαρα κλπ. Επίσης, στο ίζημα του μελιού που προκύπτει έπειτα από φυγοκέντριση υδατικού διαλύματος βρίσκονται σπόρια από μικροοργανισμούς, χαρακτηριστικό των μελιών από μελιτώματα.

Η γυρεοσκοπική ανάλυση του μελιού είναι μια διαδικασία πολύ σημαντική για τον καθορισμό της βοτανικής προέλευσης των μελιών, βοηθά ωστόσο και στον προσδιορισμό της νοθείας από εισαγόμενα μέλια. Μέσω της ανάλυσης αυτής προσδιορίζονται γυρεόκοκκοι που είτε δεν υπάρχουν στις περιοχές προέλευσης των ελληνικών μελιών, είτε βρίσκονται σε πολύ διαφορετικές συγκεντρώσεις.

4.3 Διαχωρισμός Βοτανικής Προέλευσης Μελιού

Ο χαρακτηρισμός της βοτανικής προέλευσης των μελιών και η εξασφάλιση της αυθεντικότητας του είναι θέμα ιδιαίτερου ενδιαφέροντος τόσο για τους παραγωγούς όσο και για τους καταναλωτές. Η παραδοσιακή τεχνική για τον προσδιορισμό της βοτανικής προέλευσης στηρίζεται στην τεχνική μικροσκοπικής ανάλυσης των γυρεοκόκκων. Η μέθοδος αυτή αρχικά προτάθηκε από τη Διεθνή Επιτροπή Βοτανολογίας, το 1970 και αργότερα αναθεωρήθηκε και ενημερώθηκε εκ νέου^[29]. Ο προσδιορισμός της βοτανικής προέλευσης του μελιού βασίζεται στη σχετική συχνότητα της γύρης από τα φυτά που εκκρίνουν νέκταρ. Ωστόσο, η μέθοδος αυτή είναι χρονοβόρα, απαιτεί εξειδικευμένες γνώσεις, εμπειρία και περιλαμβάνει μια επίπονη διαδικασία καταμέτρησης των κόκκων της γύρης, με αποτέλεσμα η ερμηνεία των αποτελεσμάτων για τη διάκριση των φυτικών ποικιλιών να καθίσταται μάλλον δύσκολη. Επίσης, άλλες αναφορές σχετικά με μειονεκτήματα αυτής της μεθόδου^[30] αναφέρουν πιθανές μεταβολές του περιεχομένου γύρης στο μέλι από τη δράση των μελισσών και την μόλυνση από τις ενέργειες των μελισσοκόμων. Άλλες αναφορές^[26] ανέφεραν ότι στο ελληνικό μέλι εσπεριδοειδών είναι επίσης δύσκολο να πραγματοποιηθεί μικροσκοπική ανάλυση της συνεισφέρουσας γύρης. Πιο πρόσφατα, οι Stephens et al., (2010) ανέφεραν ότι η τεχνική αυτή δεν μπορούσε να διαφοροποιήσει τα μέλια από τις ποικιλίες manuka (*Leptospermum scoparium*) και kanuka (*Kunzea ericoides*) από τη Νέα Ζηλανδία λόγω της μεγάλης ομοιότητας των γυρεόκοκκων.

Έτσι, λοιπόν, τα τελευταία χρόνια γίνεται η προσπάθεια να πραγματοποιηθεί ο χαρακτηρισμός της βοτανικής αλλά και γεωγραφικής προέλευσης των μελιών με την συνεισφορά άλλων κριτηρίων που περιλαμβάνουν φυσικοχημικά χαρακτηριστικά, όπως αμινοξέα και πρωτεΐνες, σάκχαρα, πτητικά συστατικά, φλαβονοειδή και άλλα φαινολικά συστατικά, οργανικά οξέα, μέταλλα και ιχνοστοιχεία^[10,11,21,22,27,31-34].

Στη παρούσα μελέτη εξετάζονται δείγματα μελιού με την χρήση οπτικών φασματοσκοπικών τεχνικών. Οι οπτικές φασματοσκοπικές τεχνικές έχουν αρκετά πλεονεκτήματα καθώς χαρακτηρίζονται από απλότητα, καμία ή ελάχιστη προ-επεξεργασία του δείγματος, υψηλή ευαισθησία και χαμηλό κόστος εξοπλισμού και ανάλυσης. Τα δείγματα που μελετήθηκαν ήταν από το εργαστήριο ΧΗΜΙΚΟΤΕΧΝΙΚΗ που βρίσκεται στο Ρέθυμνο Κρήτης. Στα δείγματα είχε γίνει γυρεοσκοπική ανάλυση από το εργαστήριο ΧΗΜΙΚΟΤΕΧΝΙΚΗ και με αυτόν τον τρόπο ήταν γνωστό το ποσοστό των δειγμάτων στους γυρεόκοκκους. Στη παρούσα μελέτη πραγματοποιήθηκαν τεχνικές φασματοσκοπίας απορρόφησης στο υπεριώδες, στο ορατό έως και το υπέρυθρο, φασματοσκοπία φθορισμού και φασματοσκοπία ATR-FT-IR και εξετάστηκαν τα δείγματα που άνηκαν στις κατηγορίες διάκρισης του μελιού που μελετήθηκαν στην εκάστοτε κατηγοριοποίηση βάση των αποτελεσμάτων της γυρεοσκοπικής ανάλυσης.

4.3.1 Πειραματικό μέρος

Η διαδικασία της προετοιμασίας των δειγμάτων μελιού έχει ως εξής: παραλαβή των δειγμάτων σε δοχεία από το εργαστήριο ΧΗΜΙΚΟΤΕΧΝΙΚΗ, μετάγγιση σε φιαλίδια των 20ml, εξισορρόπηση σε θερμοκρασία δωματίου και μετάγγιση αυτών σε κυψελίδες χαλαζία για φασματοσκοπική ανάλυση.

Παρακάτω αναλύεται η κάθε τεχνική που μελετήθηκαν τα δείγματα μελιού.

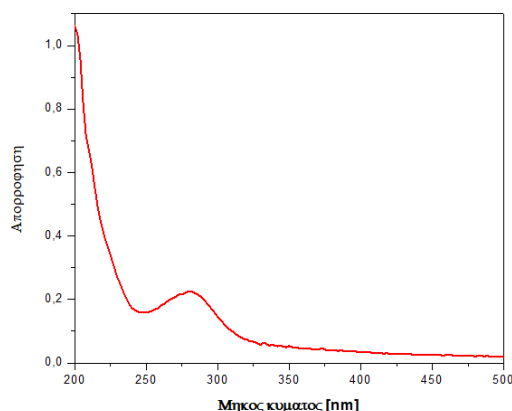
Φασματοσκοπία απορρόφησης

1. Περιοχή UV 200-500nm

Για την μέτρηση της απορρόφησης στην συγκεκριμένη περιοχή χρησιμοποιήθηκε το φασματοφωτόμετρο Perkin Elmer-Lambda 950. Για την ανάλυση στη συγκεκριμένη περιοχή του υπεριώδες πραγματοποιείται αραιώση 1% w/v με υπερ-κάθαρο νερό και η οπτική διαδρομή των κυψελίδων για την περιοχή είναι 10mm. Ο λόγος των αραιώσεων έχει καθιερωθεί ως ο βέλτιστος έπειτα από προηγούμενες πειραματικές διαδικασίες ώστε οι τιμές της απορρόφησης να κυμαίνονται σε ένα εύρος τιμών 0-1,5 και να αποφευχθεί το σφάλμα της μέτρησης, καθώς η ένταση της απορρόφησης με τιμές μεγαλύτερες της μονάδας δεν ακολουθεί την γραμμικότητα σύμφωνα με τον νόμο του Beer- Lambert. Η μέτρηση απορρόφησης στα δείγματα μελιού πραγματοποιείται με ένα βήμα σάρωσης 2nm και θεωρείται κατάλληλο καθώς το μέλι χαρακτηρίζεται με φασματικές ταινίες εύρους 10-100 nm. Η διόρθωση του υποβάθρου πραγματοποιείται με τον διαλύτη.

Ένα τυπικό φάσμα μελιού στην συγκεκριμένη περιοχή είναι η Εικόνα 4.4. Η απορρόφηση στη συγκεκριμένη περιοχή οφείλεται στο φαινολικό περιεχόμενο των μελιών^[35,36,37]. Πιο συγκεκριμένα, στην περιοχή 200-240nm απορροφούν οι φαινολικές ενώσεις που έχουν βενζοϊκό δακτύλιο στη χημική δομή τους. Η δεύτερη μπάνα απορρόφησης που παρατηρείται με μέγιστο στα 280nm οφείλεται στην απορρόφηση στα βενζοϊκά οξέα και στα φλαβονοειδή και μια

μικρότερη απορρόφηση παρατηρείται συνήθως με μέγιστο στα 320nm στα κινναμωνικά και φλαβονοειδή που υπάρχουν στο μέλι.

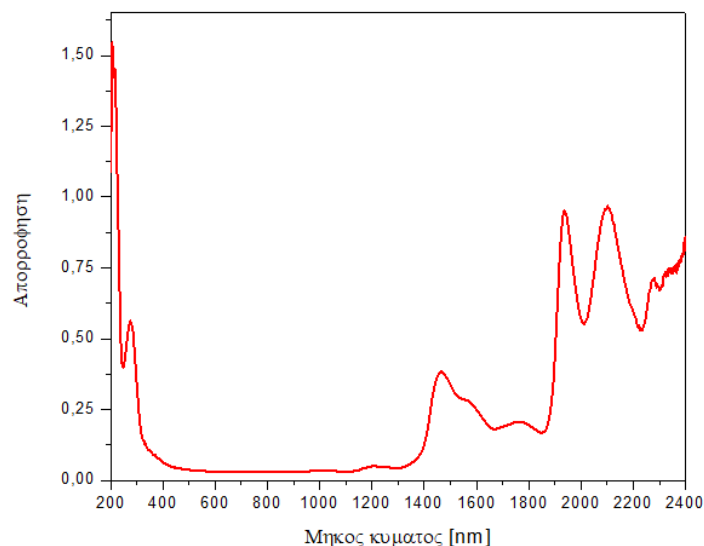


Εικόνα 4.4: Τυπικό φάσμα μελιού στην περιοχή UV 200-500nm

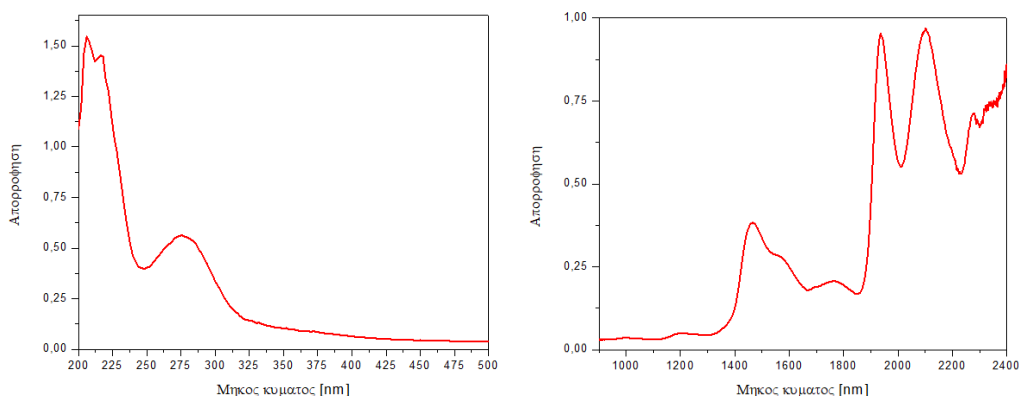
2. Περιοχή UV-Vis-NIR 200-2400nm

Για την μέτρηση της απορρόφησης στην συγκεκριμένη περιοχή χρησιμοποιήθηκε το φασματοφωτόμετρο Perkin Elmer-Lambda 950. Για την ανάλυση στη συγκεκριμένη περιοχή κατασκευάστηκε μια ειδική κυψελίδα για τα δείγματα. Η συγκεκριμένη κυψελίδα αποτελείται από δύο γυαλάκια χαλαζία σε κατάλληλο μέγεθος για την βάση στερεών του φασματοφωτόμετρου Perkin Elmer-Lambda 950. Για να παραμένει η οπτική διαδρομή σταθερή σε κάθε μέτρηση τοποθετήθηκε στο ενδιάμεσο των υάλων ένα μέρος teflon στο μέγεθος των υάλων με κατάλληλη υποδοχή στο μέσο του για το δείγμα του μελιού. Επίσης, για να διασφαλιστεί η επαναληψιμότητα των μετρήσεων κατασκευάστηκε από έναν τρισδυσάστατο εκτυπωτή η κατάλληλη βάση ώστε να είναι σταθερό. Για την μέτρηση με την συγκεκριμένη διάταξη απαιτείται μια σταγόνα του δείγματος στο μέσο του υάλου και η οπτική διαδρομή είχε καθοριστεί στα 0,5mm. Έπομένως με αυτόν τον τρόπο δεν γίνεται καμία προεπεξεργασία στο δείγμα, το βήμα σάρωσης ορίστηκε στα 2nm και η διόρθωση του υποβάθρου πραγματοποιείται με τον αέρα.

Ένα τυπικό φάσμα με την συγκεκριμένη μεθοδολογία είναι η Εικόνα 4.5 καθώς και στις επιμέρους περιοχές 200-500nm (Εικόνα 4.6α) και περιοχή 900-2400nm (Εικόνα 4.6β). Η απορρόφηση στην περιοχή του εγγύς υπέρυθρου^[38-44] εμφανίζει τέσσερις μπάντες απορρόφησης στα 1480nm, 1580nm, 1935nm, 2100nm οι οποίες σχετίζονται με την 1^η υπέρτονο δόνηση του δεσμού O-H, με την 1^η υπέρτονο δόνηση έκτασης του δεσμού O-H, με τον συνδυασμό της δόνησης έκτασης και παραμόρφωση του O-H και το συνδυασμό της 1^{ης} υπέρτονου της παραμόρφωσης του O-H και της έκτασης του C-O. Τέλος οι μπάντες απορρόφησης στα 1202nm και 2321nm σχετίζονται με την δόνηση του C-H.



Εικόνα 4.5: Τυπικό φάσμα μελιού στην περιοχή UV -Vis-NIR 200-2400nm



Εικόνα 4.6: Τυπικό φάσμα μελιού στην περιοχή UV -Vis-NIR α) 200-500nm και β) 900-2400nm

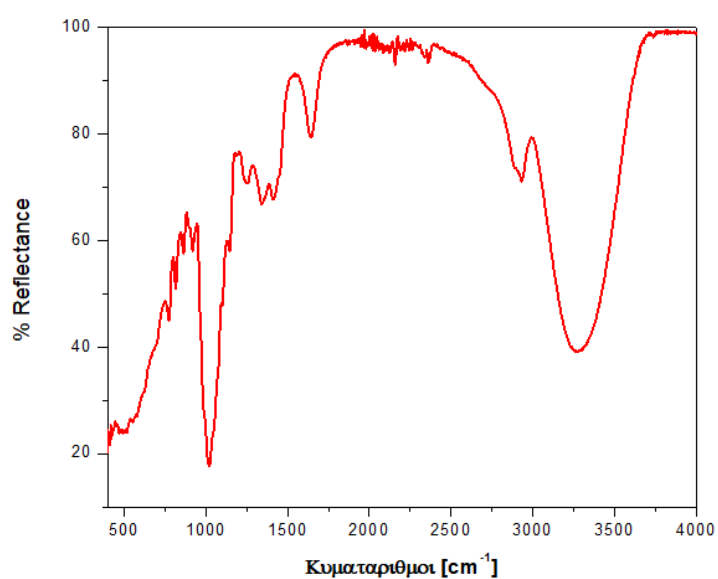
3. Φασματοσκοπία FT-IR

Για την μέτρηση των φασμάτων στο εγγύς υπέρυθρο με μετασχηματισμό Fourier χρησιμοποιήθηκε το Thermo-Electron Nicolet 6700 FT-IR φασματοφωτομετρο, σε ATR mode. Η λήψη του φάσματος έγινε στο εύρος $400-4000\text{cm}^{-1}$, δεν απαιτείται καμία προ-επεξεργασία στο δείγμα και πραγματοποιήθηκαν 64 σαρώσεις. Το resolution ήταν 4cm^{-1} και η διόρθωση του υποβάθρου γινόταν πριν από την κάθε μέτρηση του κάθε δείγματος.

Ένα ενδεικτικό φάσμα μελιού με την τεχνική αυτή είναι η Εικόνα 4.7. Στον παρακάτω πίνακα ορίζονται οι παρατηρούμενες κορυφές στο φάσμα και που οφείλονται^[45,46,47] στο συγκεκριμένο εύρος.

Πίνακας 4.1: Ανάθεση παρατηρούμενων κορυφών στο φάσμα FT-IR μελιών

Θέση της μπάντας [cm^{-1}]	Ενώσεις	Είδος δεσμού
3360	Sugars, water, phenolics	Stretching
3270	Hydrogen Bonds	Stretching
2934	Carboxylic acids, amino acids	Stretching
1645	Water	Deformation
1419	Alkenes	Stretching, asymmetric Stretching
1419	Glucose	Symmetric Stretching
1347	Fructose	Bending
1255	Glucose, fructose	Out-of-plane bending
1255	Alkenes	Stretching
1147	Sugars	Bending, stretching
1058	Chain of sugars, fructose	stretching
1049	Saccharose	stretching
1030	Glucose	stretching
994	Glucosidic linkage of saccharose	
919	Sugars, glucose	Symmetric bending
867	Fructose	stretching
819	Fructose	stretching
779	Ring of fructose	Deformation



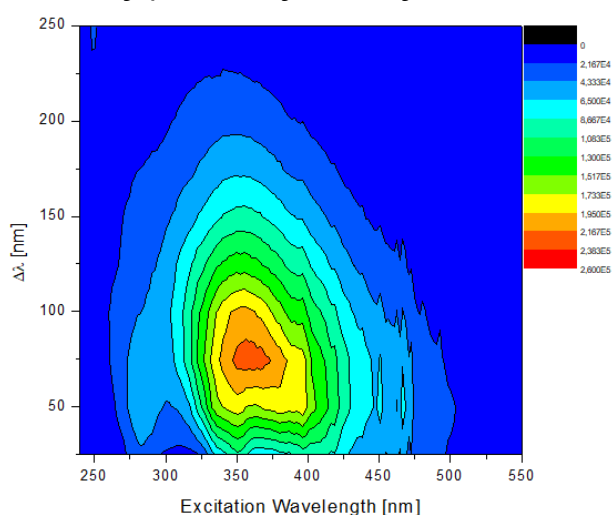
Εικόνα 4.7: Τυπικό φάσμα μελιού στο εγγύς υπέρυθρο στο εύρος 400-4000 cm^{-1}

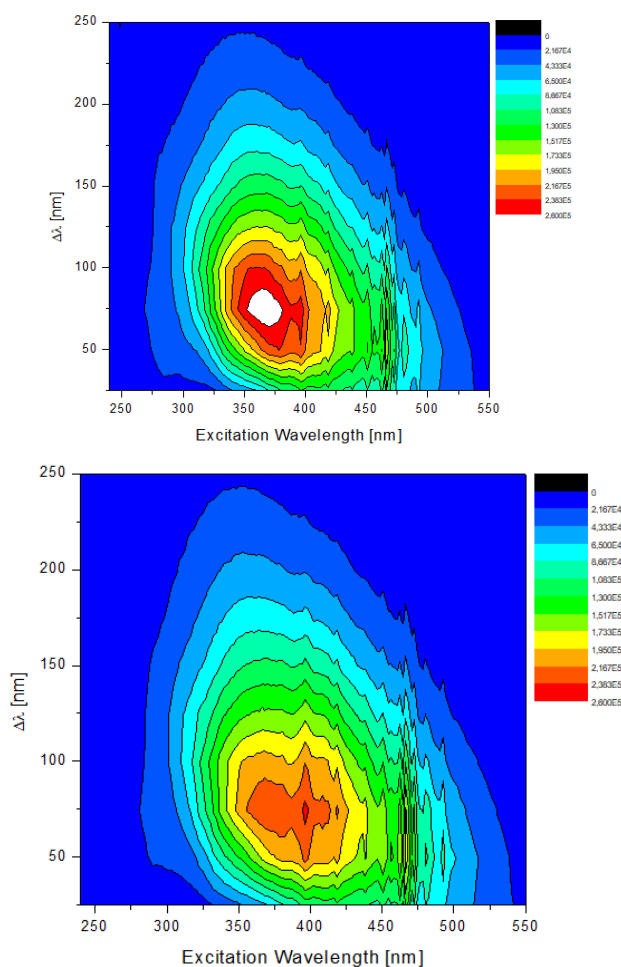
4. Φασματοσκοπία φθορισμού

Για τη μέτρηση του φθορισμού χρησιμοποιήθηκε το φασματοφθορισμόμετρο Fluoromax-P, Horiba. Η μέτρηση του φθορισμού σε δείγματα μελιού γίνεται με τοποθέτηση του δείγματος σε κυψελίδα από χαλαζία των 10mm, και ακτινοβολήση με γεωμετρία εμπρόσθιας όψης σε γωνία 20 μοιρών. Η απεικόνιση του φαινομένου έγινε μέσω σύγχρονων φασμάτων. Λήφθηκαν δέκα σύγχρονα φάσματα ανά 25nm. Η σάρωση πραγματοποιείται σε ένα εύρος μηκών κύματος από 240 έως 550nm με βήμα 2nm. Ο χρόνος σάρωσης ορίστηκε στα 0,25s και το εύρος των σχισμών της διέγερσης και της εκπομπής ορίστηκε στα 1nm και 2nm.

Σε αντίθεση με το προηγούμενο κεφάλαιο του οίνου, η μελέτη των δειγμάτων με την φασματοσκοπία φθορισμού πραγματοποιήθηκε με σύγχρονη σάρωση. Η συγκεκριμένη μεθοδολογία επιλέχθηκε καθώς πρόκειται για μια σημαντικά πιο γρήγορη τεχνική σε σχέση με τους χάρτες φθορισμού όπου γίνεται η λήψη όλης της πληροφορίας σχετικά με τον φθορισμό του δείγματος. Στους χάρτες μέσω των σύγχρονων φασμάτων που κατασκευάζονται στον Χ άξονα είναι το μήκος κύματος διέγερσης ενώ στο Υ άξονα η διαφορά στα μήκη κύματος ($\Delta\lambda$) μεταξύ των δύο μονοχρωματόρων.

Παρακάτω παρατίθενται τρεις χάρτες φθορισμού για το ένα μέλι από άνθη (Εικόνα 4.8α), από πεύκο (Εικόνα 4.8β) και από θυμάρι (Εικόνα 4.8γ). Παρατηρούνται διαφορές μεταξύ τους σε διάφορες περιοχές^[48-52]. Η πρώτη περιοχή που παρατηρούνται διαφορές είναι στο μήκος κύματος διέγερσης 260-300nm και με $\Delta\lambda$ 25 έως 75nm. Ο φθορισμός σε αυτή την περιοχή οφείλεται στα αμινοξέα τυροσίνη, φαινοαλανίνη και τρυπτοφάνη που υπάρχουν στα μέλια. Η δεύτερη περιοχή που εντοπίζονται διαφορές είναι στο μήκος κύματος διέγερσης 340-410nm όπου η εκπομπή φθορισμού που εντοπίζεται σε αυτή την περιοχή οφείλεται στις φαινολικές ενώσεις.





Εικόνα 4.8: Χάρτης φθορισμού μελιού α) από άνθη, β) από πεύκο και γ) από θυμάρι

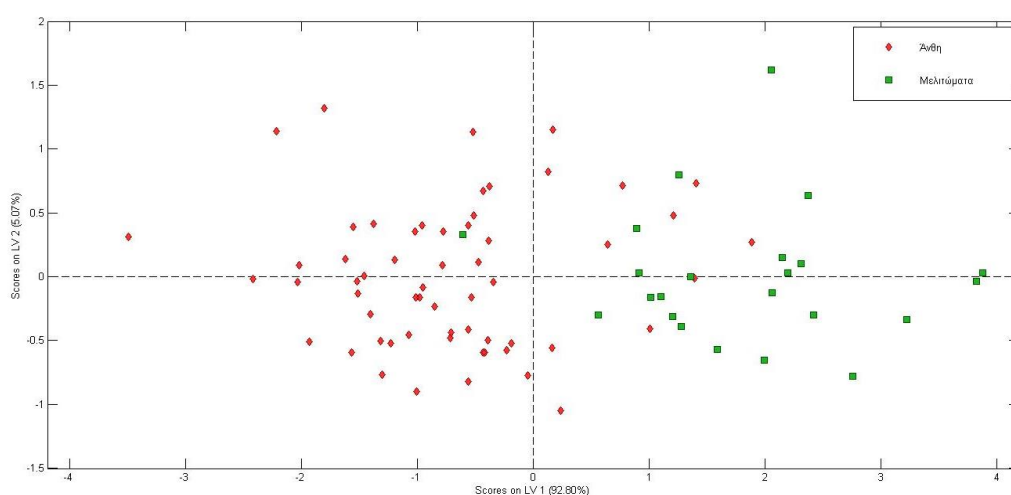
4.4 Διαχωρισμός Βοτανικής Προέλευσης Ανθέων- Μελιτωμάτων

Όπως αναφέρθηκε μια σημαντική διάκριση των μελιών είναι τα μέλια από άνθη και από μελιτώματα. Στη παρούσα μελέτη πραγματοποιήθηκαν τεχνικές φασματοσκοπίας απορρόφησης στο υπεριώδες, στο ορατό έως και το υπέρυθρο, φασματοσκοπία φθορισμού και η φασματοσκοπία ATR-FT-IR και εξετάστηκαν τα δείγματα που ανήκαν στις ευρύτερες κατηγορίες διάκρισης του μελιού στα άνθη και μελιτώματα βάση των αποτελεσμάτων της γυρεοσκοπικής ανάλυσης. Το σύνολο των δειγμάτων ήταν 81 όπου στην κατηγορία άνθη ανήκαν 59 δείγματα και στην κατηγορία των μελιτωμάτων 23 δείγματα. Ο συγκεκριμένος διαχωρισμός πραγματοποιήθηκε με την μέθοδο PLS-DA και O-PLS-DA .

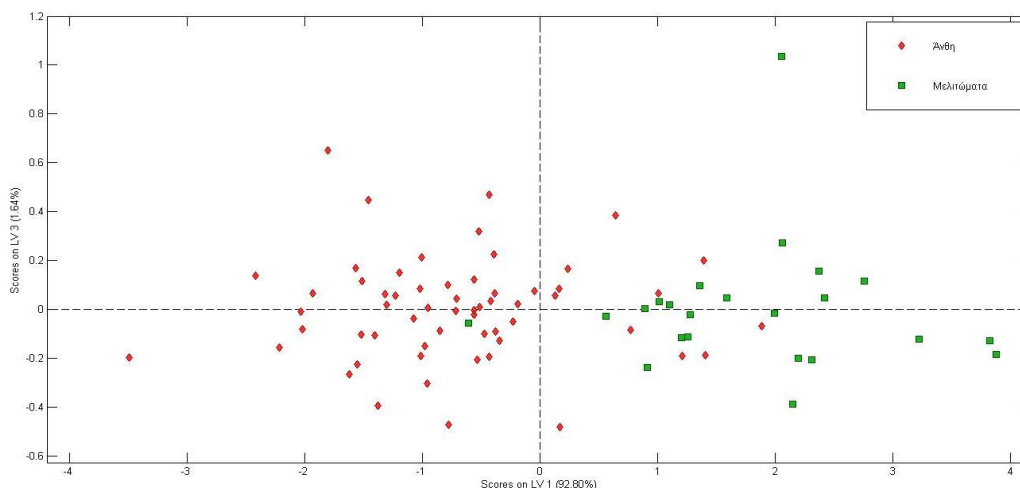
4.4.1 Διαχωρισμός Βοτανικής Προέλευσης Ανθέων- Μελιτωμάτων με Φασματοσκοπία απορρόφησης (200-500nm)

Με τα φασματοσκοπικά δεδομένα που συλλέχθηκαν με την φασματοσκοπία απορρόφησης στην περιοχή 200-500nm με την διαδικασία που αναφέρθηκε στο πειραματικό μέρος αναπτύχθηκε το μοντέλο ανάλυσης O-PLS-DA. Το μοντέλο εκπαιδεύτηκε στο σύνολο των δειγμάτων όπου στην κατηγορία άνθη ανήκαν 59 δείγματα και στην κατηγορία των μελιτώματων 23 δείγματα. Με σκοπό την εξάλειψη τυχαίων ή συστηματικών σφαλμάτων, τα οποία επηρεάζουν την τιμή της απορρόφησης επιλέχθηκε η προ-επεξεργασία των φασματοσκοπικών δεδομένων με τις μεθόδους smoothing και mean center. Για το συγκεκριμένο μοντέλο επιλέχθηκαν επτά λανθάνουσες μεταβλητές. Η αξιοπιστία του μοντέλου ελέγχθηκε μέσω διασταυρούμενης επικύρωσης με τη μέθοδο Venetian-Blinds. Η συγκεκριμένη μέθοδος βασίζεται στην επαναλαμβανόμενη εκτέλεση-έλεγχο του μαθηματικού αλγορίθμου με τον διαχωρισμό του πίνακα των δεδομένων σε επιμέρους ομάδες. Στο συγκεκριμένο μοντέλο που εκπαιδεύτηκε στη μέθοδο Venetian-Blinds δημιουργήθηκαν 11 ομάδες.

Η πρώτη παράλληλη λανθάνουσα μεταβλητή περιγράφει το 92,80% της διακύμανσης των φασματοσκοπικών δεδομένων, η δεύτερη ορθογώνια λανθάνουσα μεταβλητή περιγράφει το 5,07% και η τρίτη ορθογώνια λανθάνουσα μεταβλητή το 1,64%. Από την προβολή των δειγμάτων στις παραπάνω μεταβλητές προκύπτουν τα παρακάτω διαγράμματα (Εικόνα 4.9 & 4.10) και παρατηρείται ένας καλός διαχωρισμός μεταξύ των δύο υπό μελέτη κατηγοριών βάση της πρώτης λανθάνουσας μεταβλητής. Από την απεικόνιση των αποτελεσμάτων μέσω των τετραγωνικών πινάκων το μοντέλο μπορεί να προβλέψει σε έναν ικανοποιητικό βαθμό την βοτανική προέλευση των μελιών. Σύμφωνα με το loading plot ο διαχωρισμός που προκύπτει από την πρώτη λανθάνουσα μεταβλητή, οφείλεται στην απορρόφηση σε όλο το εύρος και επομένως η απόδοση του διαχωρισμού αποδίδεται στο φαινολικό δυναμικό των μελιών.



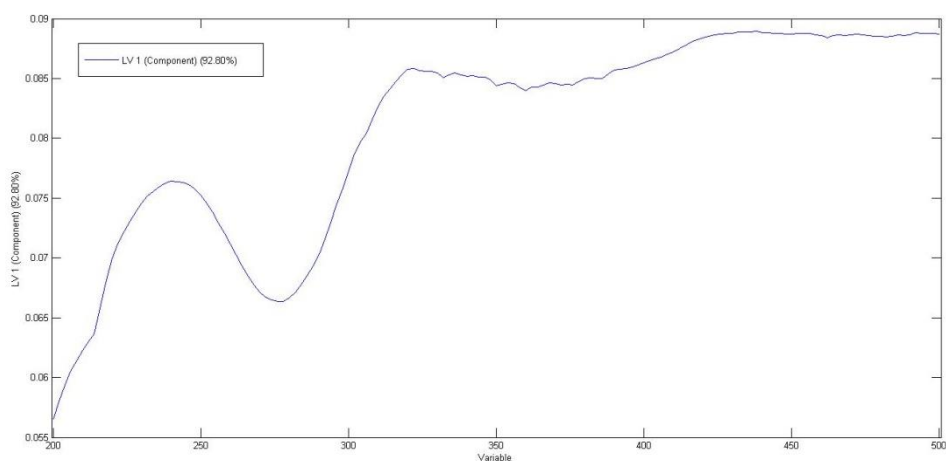
Εικόνα 4.9: Διάγραμμα συσχέτισης (score plot) με βάση την πρώτη και την δεύτερη λανθάνουσα μεταβλητή για τον διαχωρισμό της βοτανικής προέλευσης μελιών (Άνθη, Μελιτώματα) με φασματοσκοπία απορρόφησης (200-500nm)



Εικόνα 4.10: Διάγραμμα συσχέτισης (score plot) με βάση την πρώτη και την τρίτη λανθάνουσα μεταβλητή για τον διαχωρισμό της βοτανικής προέλευσης μελιών (Άνθη, Μελιτώματα) με φασματοσκοπία απορρόφησης (200-500nm)

Πίνακας 4.2: Πίνακας κατάταξης μελιών (Άνθη, Μελιτώματα)

	Άνθη	Μελιτώματα
Πρόβλεψη ως άνθη	53	2
Πρόβλεψη ως μελιτώματα	6	21
Ορθή Ταξινόμηση %	89,83%	91,30%



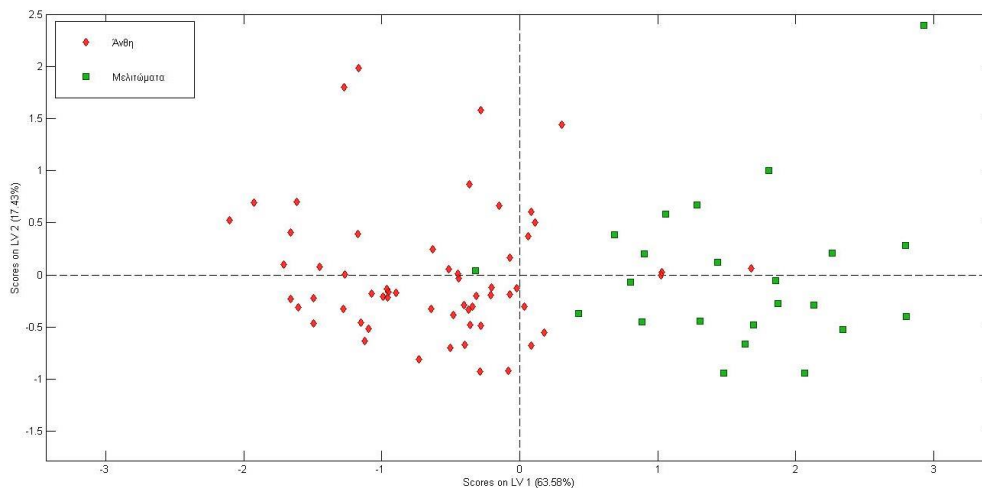
Εικόνα 4.11: Loading plot για την πρώτη λανθάνουσα μεταβλητή

4.4.2 Διαχωρισμός Βοτανικής Προέλευσης Ανθέων- Μελιτωμάτων με Φασματοσκοπία απορρόφησης (200-2400nm)

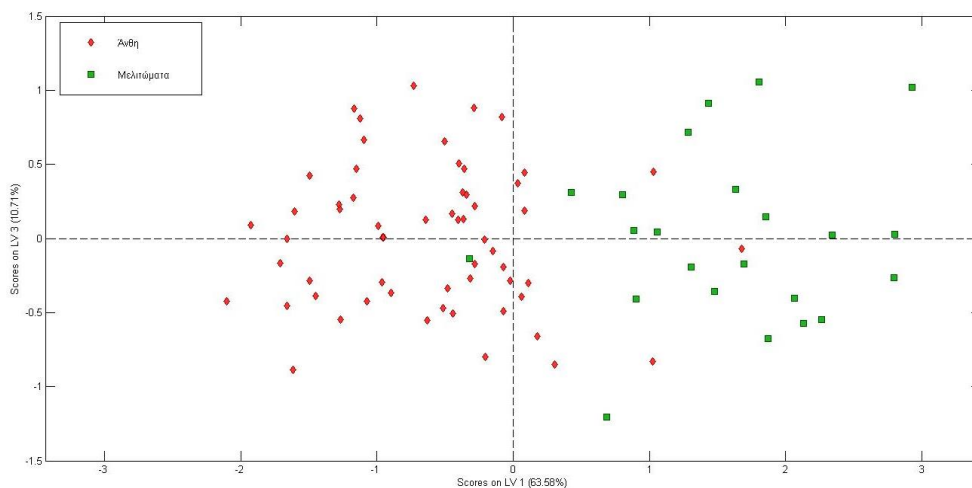
Με την μεθοδολογία που περιγράφηκε λαμβάνονται τα φασματοσκοπικά δεδομένα από ένα μεγάλο εύρος μήκους κύματος. Για αυτό

εξετάζονται διαφορετικά μοντέλα που περιλαμβάνουν διαφορετικές περιοχές μήκους κύματος. Στο συγκεκριμένο διαχωρισμό εκπαιδεύτηκαν τρία μοντέλα. Το πρώτο μοντέλο O-PLS-DA που εκπαιδεύτηκε περιλαμβάνει τα φασματοσκοπικά δεδομένα της απορρόφησης στις περιοχές 200-500nm και 1300-2400nm. Η προ-επεξεργασία που επιλέχθηκε για το συγκεκριμένο μοντέλο ήταν η μέθοδος smoothing σε συνδυασμό με την μέθοδο mean center, συμπεριλαμβάνει 6 λανθάνουσες μεταβλητές και η αξιοπιστία του μοντέλου επιβεβαιώθηκε μέσω διασταυρούμενης επικύρωσης με τη μέθοδο Venetian-Blinds όπου δημιουργήθηκαν 14 ομάδες. Το δεύτερο μοντέλο PLS-DA εκπαιδεύτηκε στα φασματοσκοπικά δεδομένα της περιοχής 950-2400nm στο οποίο η προ-επεξεργασία που επιλέχθηκε ήταν ο συνδυασμός των μεθόδων log, smoothing και mean center, συμπεριλάμβανε 6 λανθάνουσες μεταβλητές και η αξιοπιστία του μοντέλου επιβεβαιώθηκε μέσω διασταυρούμενης επικύρωσης με τη μέθοδο Venetian-Blinds όπου δημιουργήθηκαν 8 ομάδες. Τέλος, το τρίτο μοντέλο O-PLS-DA που εκπαιδεύτηκε περιλαμβάνει τα φασματοσκοπικά δεδομένα της απορρόφησης στις περιοχές 200-500nm. Η προ-επεξεργασία που επιλέχθηκε για το συγκεκριμένο μοντέλο ήταν η μέθοδος smoothing σε συνδυασμό με την μέθοδο mean center, συμπεριλαμβάνει 6 λανθάνουσες μεταβλητές και η αξιοπιστία του μοντέλου επιβεβαιώθηκε μέσω διασταυρούμενης επικύρωσης με τη μέθοδο Venetian-Blinds όπου δημιουργήθηκαν 10 ομάδες.

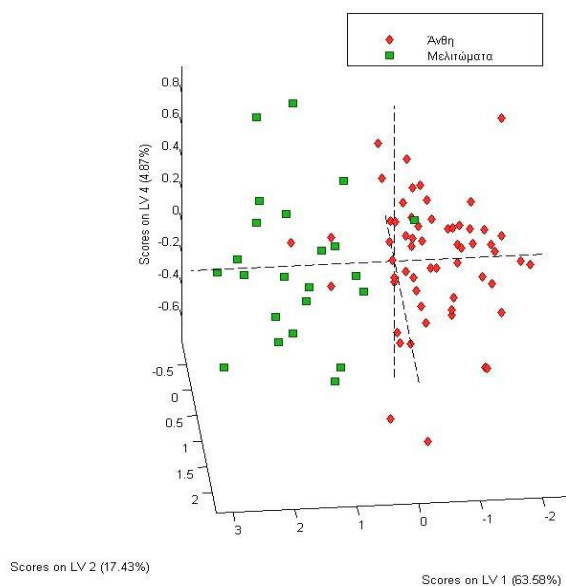
Με την εφαρμογή της μεθόδου ανάλυσης στο σύνολο των φασμάτων απορρόφησης στην περιοχή 200-500nm και 1300-2400nm με τον τρόπο που περιγράφηκε παραπάνω και την προβολή των δειγμάτων με την πρώτη παράλληλη λανθάνουσα μεταβλητή σε άλλες ορθογώνιες λανθάνουσες μεταβλητές παρατηρείται ένας ικανοποιητικός διαχωρισμός μεταξύ των μελιών των δύο κατηγοριών. Ο καλός διαχωρισμός μπορεί να εξακριβωθεί και στον Πίνακα 4.3 όπου η ορθή ταξινόμηση των δειγμάτων είναι σε ικανοποιητικό ποσοστό. Ο παρατηρούμενος διαχωρισμός οφείλεται στην πρώτη λανθάνουσα συνιστώσα και από την αξιολόγηση του αντίστοιχου loading plot παρατηρείται ότι η περιοχή στα 200-500 nm συνεισφέρει περισσότερο στο διαχωρισμό των δειγμάτων σε σχέση με την περιοχή στο NIR. Επομένως, η περιοχή στα 200-500nm όπου απορροφούν οι φαινολικές ενώσεις και τα φλαβονοειδή των μελιών παίζουν καθοριστικό ρόλο στη διάκριση των μελιών ανθέων από των μελιτωμάτων. Ωστόσο οι μπάντες απορρόφησης στα 1480nm, 1580nm, 1935nm, 2100nm έχουν συνεισφορά αλλά όχι στην 1^η λανθάνουσα μεταβλητή που προκύπτει και ο παρατηρούμενος διαχωρισμός.



Εικόνα 4.12: Διάγραμμα συσχέτισης (score plot) με βάση την πρώτη και την δεύτερη λανθάνουσα μεταβλητή για τον διαχωρισμό της βοτανικής προέλευσης μελιών (Άνθη, Μελιτώματα) με φασματοσκοπία απορρόφησης (200-500nm και 1300-2400nm)



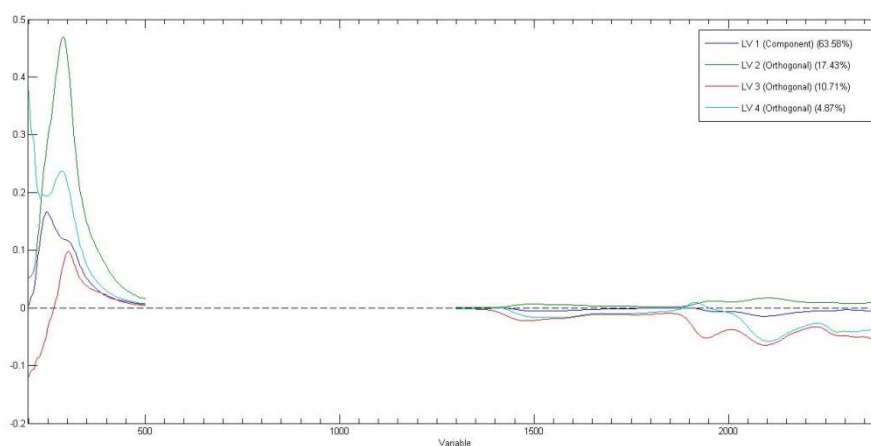
Εικόνα 4.13: Διάγραμμα συσχέτισης (score plot) με βάση την πρώτη και την τρίτη λανθάνουσα μεταβλητή για τον διαχωρισμό της βοτανικής προέλευσης μελιών (Άνθη, Μελιτώματα) με φασματοσκοπία απορρόφησης (200-500nm και 1300-2400nm)



Εικόνα 4.14: Διάγραμμα συσχέτισης (score plot) με βάση την πρώτη, την δεύτερη και την τέταρτη λανθάνουσα μεταβλητή για τον διαχωρισμό της βοτανικής προέλευσης μελιών (Άνθη, Μελιτώματα) με φασματοσκοπία απορρόφησης (200-500nm και 1300-2400nm)

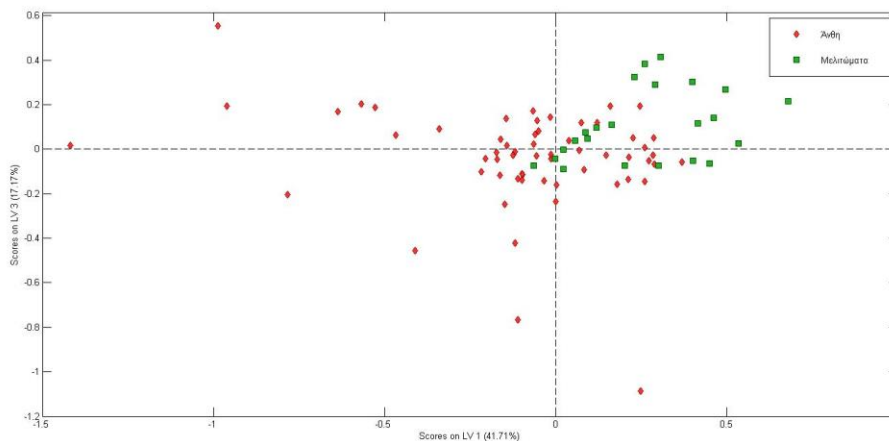
Πίνακας 4.3: Πίνακας κατάταξης μελιών (Άνθη, Μελιτώματα)

	Άνθη	Μελιτώματα
Πρόβλεψη ως άνθη	54	3
Πρόβλεψη ως μελιτώματα	5	20
Ορθή Ταξινόμηση %	91,53%	86,96%



Εικόνα 4.15: Loading plots για την πρώτη, την δεύτερη, την τρίτη και την τέταρτη λανθάνουσα μεταβλητή

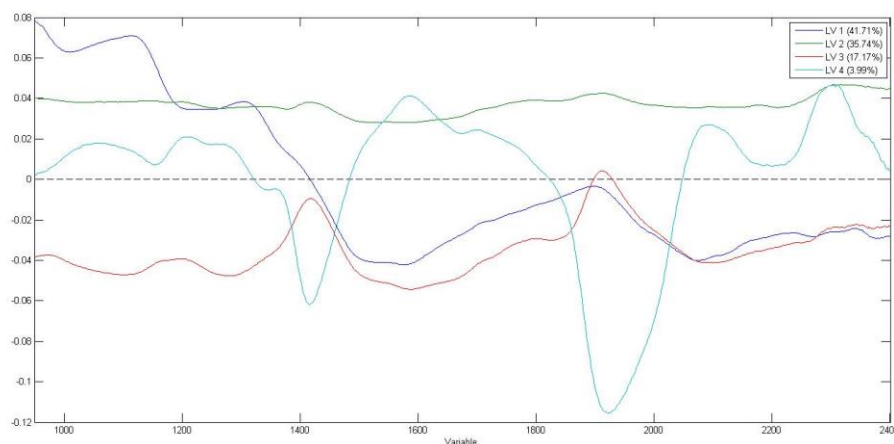
Το συγκεκριμένο μοντέλο στην περιοχή 950-2400nm δημιουργήθηκε με σκοπό να επιβεβαιώσει την παραπάνω παρατήρηση, ότι δηλαδή η περιοχή στα 200-500nm παίζει πιο καθοριστικό ρόλο στο διαχωρισμό. Από την συνδυαστική αξιολόγηση του ενδεικτικού score plot και του πίνακα κατάταξης επιβεβαιώνεται ότι ο διαχωρισμός στο συγκεκριμένο μοντέλο είναι πιο ασαφής σε σχέση με το προηγούμενο καθώς και η ορθή κατάταξη του μοντέλου κυμαίνεται σε χαμηλότερα ποσοστά σε σχέση με το προηγούμενο μοντέλο.



Εικόνα 4.16: Διάγραμμα συσχέτισης (score plot) με βάση την πρώτη και την τρίτη λανθάνουσα μεταβλητή για τον διαχωρισμό της βοτανικής προέλευσης μελιών (Άνθη, Μελιτώματα) με φασματοσκοπία απορρόφησης (950-2400nm)

Πίνακας 4.4: Πίνακας κατάταξης μελιών (Άνθη, Μελιτώματα)

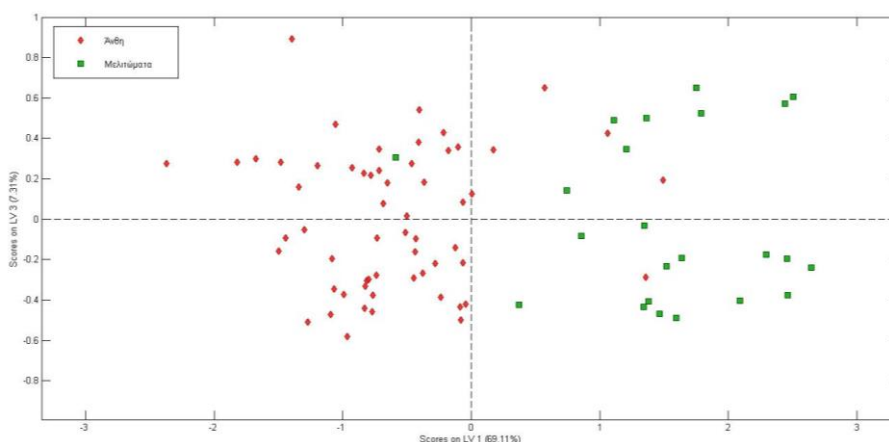
	Άνθη	Μελιτώματα
Πρόβλεψη ως άνθη	54	5
Πρόβλεψη ως μελιτώματα	5	18
Ορθή Ταξινόμηση %	91,53%	78,26%



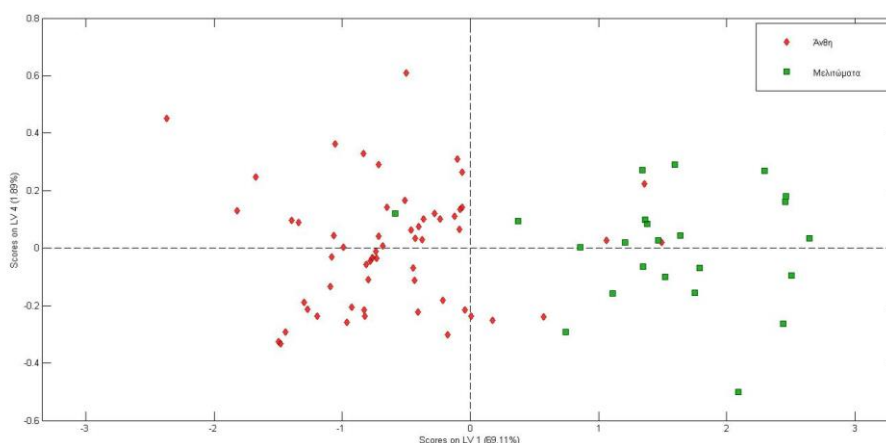
Εικόνα 4.17: Loading plots για την πρώτη, την δεύτερη, την τρίτη και την τέταρτη λανθάνουσα μεταβλητή

Το μοντέλο εκπαιδεύτηκε με τα φασματοσκοπικά δεδομένα στην περιοχή 200-500nm αφού κατόπιν παρατήρησης στο αρχικό μοντέλο η συγκεκριμένη περιοχή ήταν πιο καθοριστική. Από την προβολή των δειγμάτων στην πρώτη παράλληλη λανθάνουσα μεταβλητή με την τρίτη και τέταρτη ορθογώνια λανθάνουσα μεταβλητή προκύπτουν τα παρακάτω score plot (Εικόνες 4.18& 4.19). Για την καλύτερη οπτική απεικόνιση των αποτελεσμάτων στην Εικόνα 4.20 υπάρχει η τρισδιάστατη απεικόνιση από την προβολή της πρώτης παράλληλης λανθάνουσας μεταβλητής με την δεύτερη ορθογώνια και τέταρτη λανθάνουσα μεταβλητή. Παρατηρείται ένας εξαιρετικός διαχωρισμός

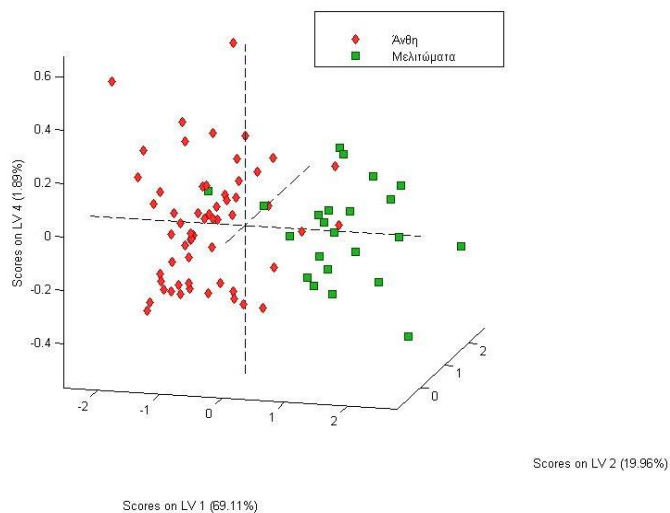
των μελιών από άνθη και από μελιτώματα ο οποίος οφείλεται στην πρώτη λανθάνουσα μεταβλητή. Στον πίνακα κατάταξης, όπως φαίνεται, η επιτυχία του μοντέλου είναι καλύτερη σε σχέση και με τα δύο προηγούμενα μοντέλα και για τις δύο κατηγορίες και η ορθή ταξινόμηση των δειγμάτων επιτυγχάνεται σε ποσοστό περισσότερο του 90%. Ο παραπάνω διαχωρισμός βάσει του loading plot οφείλεται κυρίως στην απορρόφηση στο εύρος 220-340nm. Εξαιτίας του μεγάλου εύρους δεν μπορεί να αποδοθεί ο διαχωρισμός σε συγκεκριμένες ενώσεις, ωστόσο από το σχετικό loading plot φαίνεται να έχει συνεισφορά και η περιοχή με μέγιστο τα 320nm όπου απορροφούν τα κινναμωνικά και φλαβονοειδή στο μέλι.



Εικόνα 4.18: Διάγραμμα συσχέτισης (score plot) με βάση την πρώτη και την τρίτη λανθάνουσα μεταβλητή για τον διαχωρισμό της βοτανικής προέλευσης μελιών (Άνθη, Μελιτώματα) με φασματοσκοπία απορρόφησης (200-500nm)



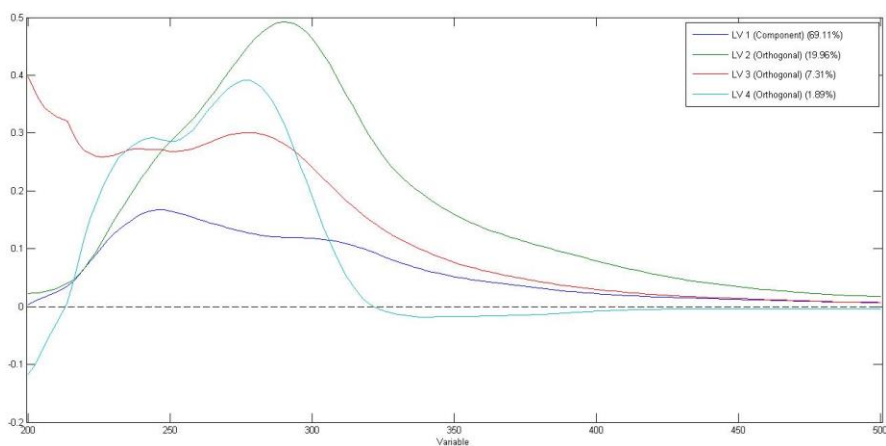
Εικόνα 4.19: Διάγραμμα συσχέτισης (score plot) με βάση την πρώτη και την τέταρτη λανθάνουσα μεταβλητή για τον διαχωρισμό της βοτανικής προέλευσης μελιών (Άνθη, Μελιτώματα) με φασματοσκοπία απορρόφησης (200-500nm)



Εικόνα 4.20: Διάγραμμα συσχέτισης (score plot) με βάση την πρώτη, την δεύτερη και την τέταρτη λανθάνουσα μεταβλητή για τον διαχωρισμό της βοτανικής προέλευσης μελιών (Άνθη, Μελιτώματα) με φασματοσκοπία απορρόφησης (200-500nm)

Πίνακας 4.5: Πίνακας κατάταξης μελιών (Άνθη, Μελιτώματα)

	Άνθη	Μελιτώματα
Πρόβλεψη ως άνθη	55	2
Πρόβλεψη ως μελιτώματα	4	21
Ορθή Ταξινόμηση %	93,22%	91,30%

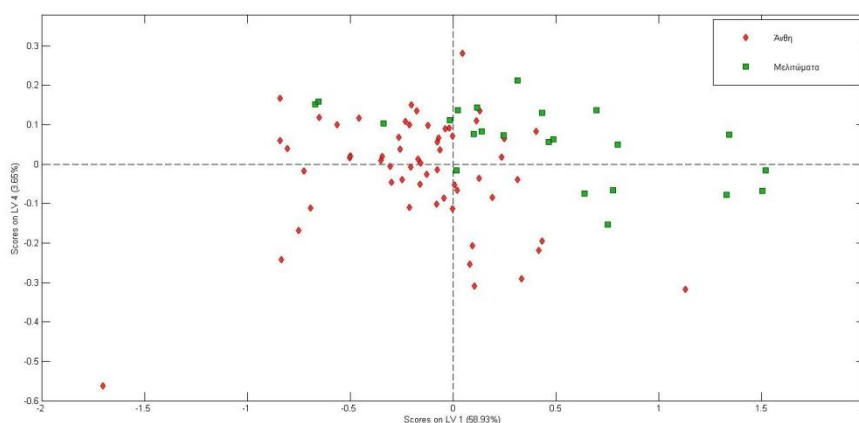


Εικόνα 4.20: Loading plots για την πρώτη, την δεύτερη, την τρίτη και την τέταρτη λανθάνουσα μεταβλητή

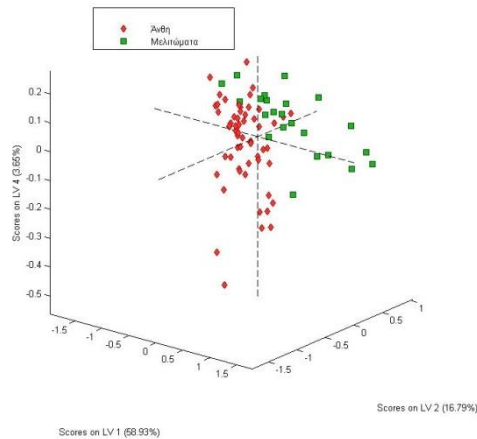
4.4.3 Διαχωρισμός Βοτανικής Προέλευσης Ανθέων- Μελιτωμάτων με Φασματοσκοπία ATR-FT-IR

Όπως και σε άλλες τεχνικές γίνονται οι προσπάθειες να εκπαιδευτούν μοντέλα τα οποία να περιέχουν αρχικά όλη την πληροφορία που λαμβάνεται από την εκάστοτε τεχνική αλλά σε επόμενο στάδιο ένα μέρος της το οποίο ενδεχομένως να προσφέρει ένα καλύτερο διαχωρισμό. Στο συγκεκριμένο διαχωρισμό εκπαιδεύτηκαν δύο μοντέλα. Το πρώτο μοντέλο PLS-DA που εκπαιδεύτηκε περιλαμβάνει τα φασματοσκοπικά δεδομένα από την φασματοσκοπία ATR-FT-IR. Η προ-επεξεργασία που επιλέχθηκε για το συγκεκριμένο μοντέλο ήταν η μέθοδος smoothing σε συνδυασμό με την μέθοδο SNV και mean center, συμπεριλαμβάνει 4 λανθάνουσες μεταβλητές και η αξιοπιστία του μοντέλου επιβεβαιώθηκε μέσω διασταυρούμενης επικύρωσης με τη μέθοδο Venetian-Blinds όπου δημιουργήθηκαν 11 ομάδες. Το δεύτερο μοντέλο PLS-DA εκπαιδεύτηκε στα φασματοσκοπικά δεδομένα της περιοχής 400-1900cm⁻¹ στο οποίο η προ-επεξεργασία που επιλέχθηκε ήταν ο συνδυασμός των μεθόδων smoothing, SNV και mean center, συμπεριλάμβανε 6 λανθάνουσες μεταβλητές και η αξιοπιστία του μοντέλου επιβεβαιώθηκε μέσω διασταυρούμενης επικύρωσης με τη μέθοδο Venetian-Blinds όπου δημιουργήθηκαν 10 ομάδες.

Όσον αφορά για το πρώτο μοντέλο που προέκυψε, η πρώτη λανθάνουσα μεταβλητή περιγράφει το 58,93% της διακύμανσης των φασματοσκοπικών δεδομένων, η δεύτερη λανθάνουσα μεταβλητή περιγράφει το 16,79% και η τέταρτη λανθάνουσα μεταβλητή το 3,66%. Από την προβολή των δειγμάτων στις παραπάνω μεταβλητές προκύπτουν το παρακάτω διάγραμμα (Εικόνα 4.21) και η τρισδιάστατη οπτική απεικόνιση Εικόνα 4.22. Παρατηρείται ένας μέτριος διαχωρισμός μεταξύ των δύο υπό μελέτη κατηγοριών βάσει της πρώτης λανθάνουσας μεταβλητής καθώς και λόγω της τέταρτης λανθάνουσας συνιστώσας. Από την απεικόνιση των αποτελεσμάτων μέσω των τετραγωνικών πινάκων το μοντέλο μπορεί να προβλέψει σε έναν βαθμό την βοτανική προέλευση των μελιών (88,13% για τα άνθη και 78,26% για τα μελιτώματα). Σύμφωνα με το loading plot ο διαχωρισμός που προκύπτει από την πρώτη λανθάνουσα μεταβλητή, δεν μπορεί να συσχετιστεί ξεκάθαρα με συγκεκριμένα τμήματα του φάσματος. Επομένως πραγματοποιείται περαιτέρω εξέταση των δεδομένων.



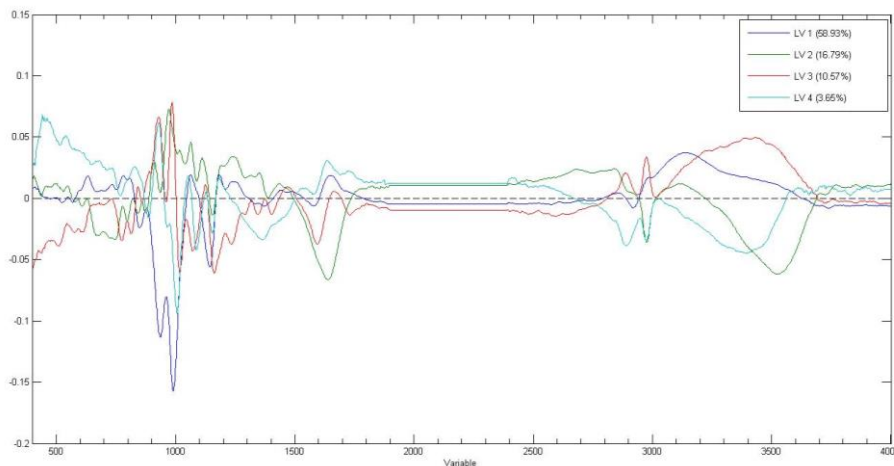
Εικόνα 4.21: Διάγραμμα συσχέτισης (score plot) με βάση την πρώτη και την τέταρτη λανθάνουσα μεταβλητή για τον διαχωρισμό της βοτανικής προέλευσης μελιών (Άνθη, Μελιτώματα) με φασματοσκοπία ATR-FT-IR



Εικόνα 4.22: Διάγραμμα συσχέτισης (score plot) με βάση την πρώτη, την δεύτερη και την τέταρτη λανθάνουσα μεταβλητή για τον διαχωρισμό της βοτανικής προέλευσης μελιών (Άνθη, Μελιτώματα) με φασματοσκοπία ATR-FT-IR

Πίνακας 4.6: Πίνακας κατάταξης μελιών (Άνθη, Μελιτώματα)

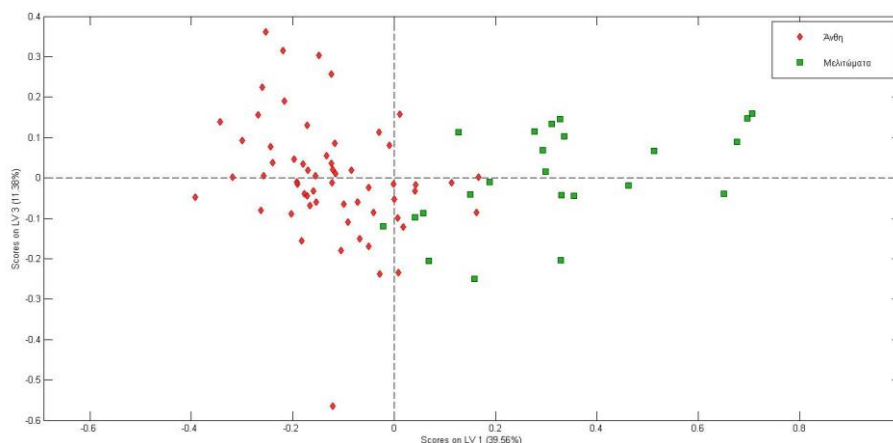
	Άνθη	Μελιτώματα
Πρόβλεψη ως άνθη	52	5
Πρόβλεψη ως μελιτώματα	7	18
Ορθή Ταξινόμηση %	88,13%	78,26%



Εικόνα 4.23: Loading plots για την πρώτη, την δεύτερη, την τρίτη και την τέταρτη λανθάνουσα μεταβλητή

Το συγκεκριμένο μοντέλο, όπως προαναφέρθηκε, περιλαμβάνει την περιοχή $400-1900\text{cm}^{-1}$. Σε σχέση με το προηγούμενο μοντέλο που εκπαιδεύτηκε υπάρχει μια καλύτερη οπτική απεικόνιση των αποτελεσμάτων από την προβολή των δειγμάτων στην πρώτη παράλληλη λανθάνουσα μεταβλητή με την τρίτη ορθογώνια λανθάνουσα μεταβλητή, οι οποίες περιγράφουν το 50,94% της διακύμανσης των φασματοσκοπικών δεδομένων. Ωστόσο, από τον πίνακα κατάταξης το ποσοστό επιτυχίας βελτιώθηκε μόνο για την κατηγορία των

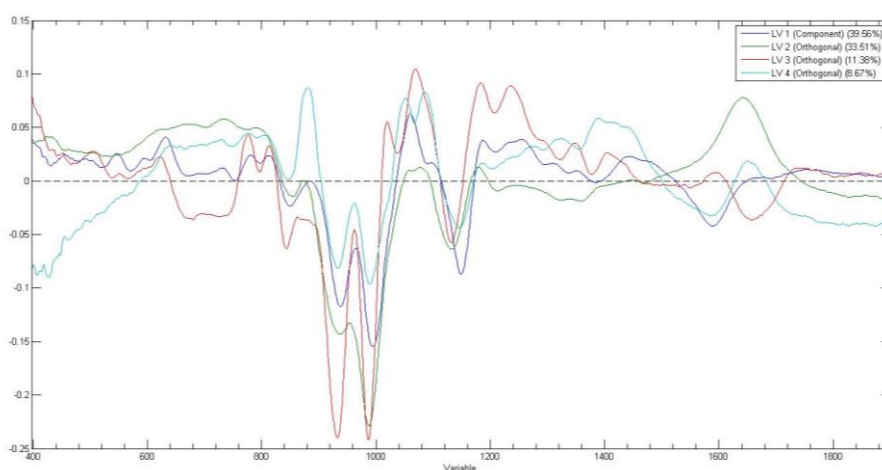
μελιτωμάτων. Από την συνεισφορά του αντίστοιχου loading plot παρατηρούνται οι περιοχές του φάσματος στα 920cm^{-1} , 1030cm^{-1} και 1147cm^{-1} δηλαδή περιοχές που συνδέονται με δονήσεις δεσμών στα σάκχαρα και πιο συγκεκριμένα περισσότερο στη γλυκόζη και φρουκτόζη να συνεισφέρουν στο παρατηρούμενο διαχωρισμό.



Εικόνα 4.24: Διάγραμμα συσχέτισης (score plot) με βάση την πρώτη και την τρίτη λανθάνουσα μεταβλητή για τον διαχωρισμό της βοτανικής προέλευσης μελιών (Άνθη, Μελιτώματα) με φασματοσκοπία ATR-FT-IR

Πίνακας 4.7: Πίνακας κατάταξης μελιών (Άνθη, Μελιτώματα)

	Άνθη	Μελιτώματα
Πρόβλεψη ως άνθη	52	4
Πρόβλεψη ως μελιτώματα	7	19
Ορθή Ταξινόμηση %	88,13%	82,60%

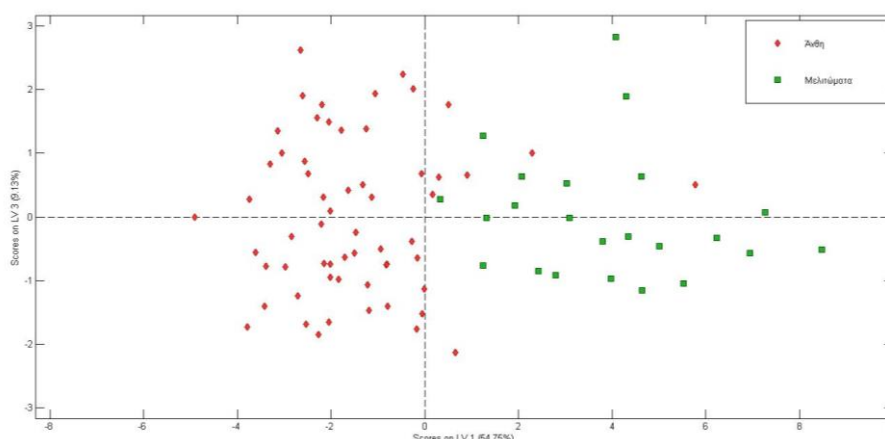


Εικόνα 4.25: Loading plots για την πρώτη, την δεύτερη, την τρίτη και την τέταρτη λανθάνουσα μεταβλητή

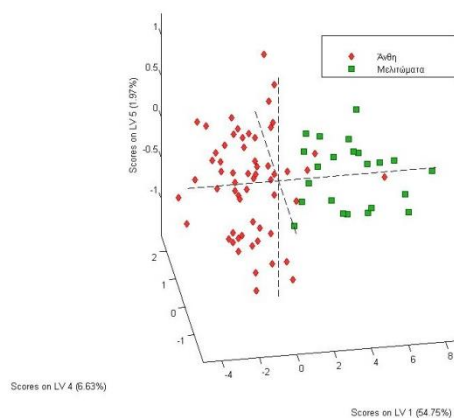
4.4.4 Διαχωρισμός Βοτανικής Προέλευσης Ανθέων- Μελιτωμάτων με Φασματοσκοπία φθορισμού

Με τα φασματοσκοπικά δεδομένα του φθορισμού εκπαιδεύτηκαν δύο διαφορετικά μοντέλα O-PLS-DA. Στο πρώτο μοντέλο χρησιμοποιήθηκε η πληροφορία από τα εννέα πρώτα φάσματα σύγχρονης σάρωσης. Ενώ για το δεύτερο μοντέλο επιλέχθηκαν δύο φάσματα σύγχρονης σάρωσης αυτά $\Delta\lambda=100\text{nm}$ και $\Delta\lambda=125\text{nm}$. Η προ-επεξεργασία των δεδομένων που επιλέχθηκε και για τα δύο μοντέλα ήταν ο συνδυασμός μεθόδων smoothing, και mean center για το πρώτο μοντέλο, και για το δεύτερο μοντέλο ο συνδυασμός μεθόδων smoothing, SNV και mean center. Στο πρώτο μοντέλο επιλέχθηκαν οχτώ λανθάνουσες μεταβλητές και η αξιοπιστία του μοντέλου ελέγχθηκε μέσω διασταυρούμενης επικύρωσης με τη μέθοδο Venetian-Blinds με την δημιουργία 15 ομάδων. Στο δεύτερο μοντέλο επιλέχθηκαν εννιά λανθάνουσες μεταβλητές και η αξιοπιστία του μοντέλου ελέγχθηκε μέσω διασταυρούμενης επικύρωσης με τη μέθοδο Venetian-Blinds με την δημιουργία 14 ομάδων.

Σχετικά με το πρώτο μοντέλο που εκπαιδεύτηκε από την διαχωριστική ανάλυση με ορθογώνια προβολή της πρώτης και τρίτης λανθάνουσες μεταβλητής, οι οποίες περιγράφουν το 63,88% της διακύμανσης των φασματοσκοπικών δεδομένων, προέκυψε το διάγραμμα της Εικόνας 4.26. Διακρίνεται ο ικανοποιητικός διαχωρισμός των μελιών από άνθη και από μελιτώματα βάσει της πρώτης λανθάνουσας μεταβλητής. Μέσω του διαγράμματος της Εικόνας 4.27 που περιλαμβάνει την προβολή των δειγμάτων σε τρεις λανθάνουσες μεταβλητές υπάρχει μια καλύτερη οπτική απεικόνιση του διαχωρισμού. Από την απεικόνιση των αποτελεσμάτων μέσω των τετραγωνικών πινάκων προκύπτει ότι η πρόβλεψη των δειγμάτων μελιού από άνθη και μελιτώματα μπορεί να πραγματοποιηθεί σε έναν ικανοποιητικό βαθμό, πιο συγκεκριμένα 89,83% επιτυχία για τα άνθη και 86,95% για τα μελιτώματα.



Εικόνα 4.26: Διάγραμμα συσχέτισης (score plot) με βάση την πρώτη και την τρίτη λανθάνουσα μεταβλητή για τον διαχωρισμό της βοτανικής προέλευσης μελιών (Άνθη, Μελιτώματα) με φασματοσκοπία φθορισμού

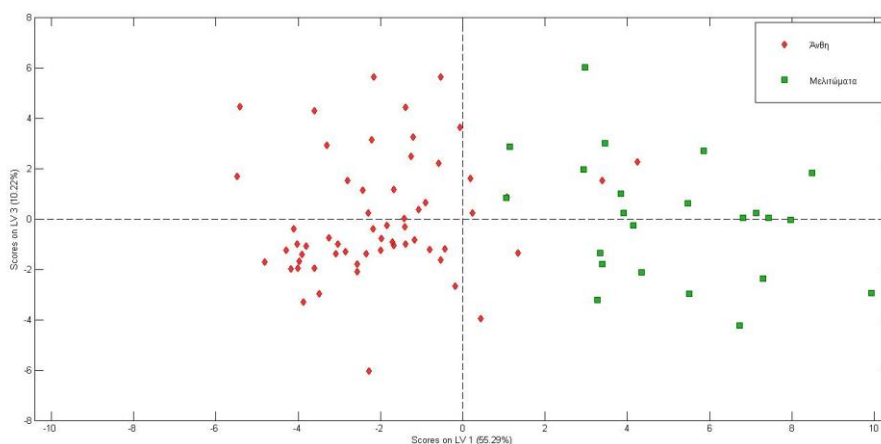


Εικόνα 4.27: Διάγραμμα συσχέτισης (score plot) με βάση την πρώτη, την τέταρτη και την πέμπτη λανθάνουσα μεταβλητή για τον διαχωρισμό της βοτανικής προέλευσης μελιών (Άνθη, Μελιτώματα) με φασματοσκοπία φθορισμού

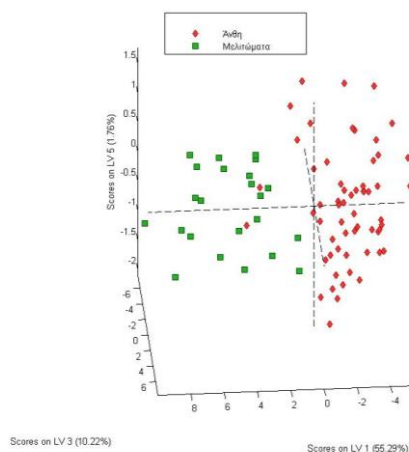
Πίνακας 4.8: Πίνακας κατάταξης μελιών (Άνθη, Μελιτώματα)

	Άνθη	Μελιτώματα
Πρόβλεψη ως άνθη	53	3
Πρόβλεψη ως μελιτώματα	6	20
Ορθή Ταξινόμηση %	89,83%	86,95%

Ωστόσο, σχετικά με το δεύτερο μοντέλο που εκπαιδεύτηκε από την διαχωριστική ανάλυση με ορθογώνια προβολή της πρώτης και τρίτης λανθάνουσες μεταβλητής, οι οποίες περιγράφουν το 63,88% της διακύμανσης των φασματοσκοπικών δεδομένων, προέκυψε το διάγραμμα της Εικόνας 4.28. Διακρίνεται ένας καλύτερος διαχωρισμός των μελιών από άνθη και από μελιτώματα σε σχέση με το προηγούμενο μοντέλο βάσει της πρώτης λανθάνουσας μεταβλητής. Μέσω του διαγράμματος της Εικόνας 4.29 που περιλαμβάνει την προβολή των δειγμάτων σε τρεις λανθάνουσες μεταβλητές υπάρχει μια καλύτερη οπτική απεικόνιση του διαχωρισμού. Από την απεικόνιση των αποτελεσμάτων μέσω των τετραγωνικών πινάκων προκύπτει ότι η πρόβλεψη των δειγμάτων του μελιού επιτυγχάνεται σε καλύτερο ποσοστό σε σχέση με το προηγούμενο μοντέλο. Προκύπτει, λοιπόν, το συμπέρασμα ότι με την χρήση των δύο συγκεκριμένων φασμάτων σύγχρονης σάρωσης ο διαχωρισμός των μελιών από άνθη και από μελιτώματα επιτυγχάνεται σε καλύτερο επίπεδο.



Εικόνα 4.28: Διάγραμμα συσχέτισης (score plot) με βάση την πρώτη και την τρίτη λανθάνουσα μεταβλητή για τον διαχωρισμό της βοτανικής προέλευσης μελιών (Άνθη, Μελιτώματα) με φασματοσκοπία φθορισμού



Εικόνα 4.29: Διάγραμμα συσχέτισης (score plot) με βάση την πρώτη, την τρίτη και την πέμπτη λανθάνουσα μεταβλητή για τον διαχωρισμό της βοτανικής προέλευσης μελιών (Άνθη, Μελιτώματα) με φασματοσκοπία φθορισμού

Πίνακας 4.9: Πίνακας κατάταξης μελιών (Άνθη, Μελιτώματα)

	Άνθη	Μελιτώματα
Πρόβλεψη ως άνθη	54	2
Πρόβλεψη ως μελιτώματα	5	21
Ορθή Ταξινόμηση %	91,52%	91,30%

4.5 Διαχωρισμός Βοτανικής Προέλευσης Άνθη- Θυμαρί

Το θυμαρίσιο μέλι είναι μια σημαντική κατηγορία μελιού για την Κρήτη αλλά και για ολόκληρη την Ελλάδα. Συνολικά η παραγωγή του θυμαρίσιου μελιού αποτελεί το 10% της συνολικής παραγωγής μελιού στην Ελλάδα. Το

θυμαρίσιο μέλι ίσως είναι και το διασημότερο ελληνικό μέλι από την αρχαιότητα και εξαιτίας των ιδιαίτερων οργανοληπτικών του χαρακτηριστικών και την εξαιρετική ποιότητα του έχει υψηλή εμπορική αξία. Όλα αυτά συντελούν στις περιπτώσεις νοθείας της συγκεκριμένης ποικιλίας αλλά συνάμα και την παραπλάνηση των καταναλωτών. Η νοθεία στην συγκεκριμένη ποικιλία μελιού μπορεί να περιλαμβάνει εκτός από την νοθεία του με άλλο μέλι, και νοθεία της γεωγραφικής του προέλευσης. Λόγω της φήμης που έχουν τα θυμαρίσια μέλια ορισμένων περιοχών, όπως αυτά της Κρήτης ή των Κυθήρων χαρακτηρίζονται με αυτούς τους γεωγραφικούς προσδιορισμούς θυμαρίσια μέλια άλλων περιοχών με στόχο υψηλότερη τιμή πώλησης στην αγορά. Συνεπώς η γνώση και η ταυτοποίηση της βοτανικής αλλά και της γεωγραφικής προέλευσης του θυμαρίσιου μελιού είναι αναγκαία για την ανάδειξη ιδιαίτερων τοπικών χαρακτηριστικών και για την προστασία του καταναλωτή.

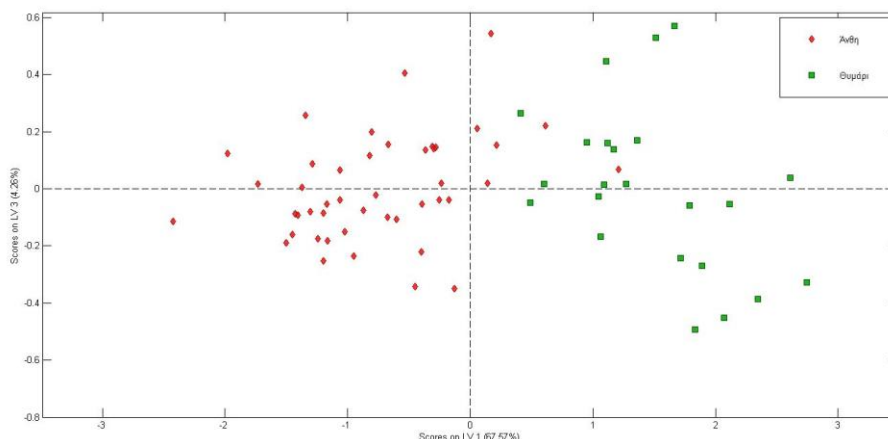
Στη παρούσα μελέτη πραγματοποιήθηκαν τεχνικές φασματοσκοπίας απορρόφησης στο υπεριώδες, στο ορατό έως και το υπέρυθρο, φασματοσκοπία φθορισμού και η φασματοσκοπία ATR-FT-IR και εξετάστηκαν τα δείγματα που άνηκαν στις ευρύτερες κατηγορίες διάκρισης του μελιού στα άνθη και του θυμαριού βάσει των αποτελεσμάτων της γυρεοσκοπικής ανάλυσης. Επίσης όσον αφορά τα δείγματα μελιού από θυμάρι συμπεριλήφθησαν και μέλια από διάφορους μελισσοπαραγωγούς. Το σύνολο των δειγμάτων ήταν 68 όπου στην κατηγορία άνθη ανήκαν 45 δείγματα και στην κατηγορία των μελιών από θυμάρι 23 δείγματα. Στο συγκεκριμένο διαχωρισμό χρησιμοποιήθηκε η ανάλυση με την μέθοδο PLS-DA και O-PLS-DA .

4.5.1 Διαχωρισμός Βοτανικής Προέλευσης Άνθη- Θυμάρι με Φασματοσκοπία απορρόφησης (200-500nm)

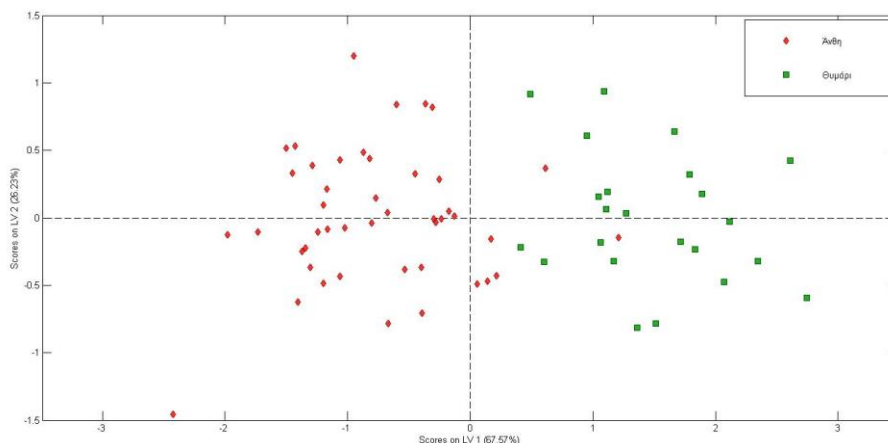
Με τα φασματοσκοπικά δεδομένα που συλλέχθηκαν με την φασματοσκοπία απορρόφησης στην περιοχή 200-500nm με την διαδικασία που αναφέρθηκε στο πειραματικό μέρος αναπτύχθηκε το μοντέλο ανάλυσης O-PLS-DA. Το μοντέλο εκπαιδεύτηκε στο σύνολο των δειγμάτων όπου στην κατηγορία άνθη ανήκαν 45 δείγματα και στην κατηγορία των θυμαριών 23 δείγματα. Με σκοπό την εξάλειψη τυχαίων ή συστηματικών σφαλμάτων, τα οποία επηρεάζουν την τιμή της απορρόφησης επιλέχθηκε η προ-επεξεργασία των φασματοσκοπικών δεδομένων με την μέθοδο log και mean center. Για το συγκεκριμένο μοντέλο επιλέχθηκαν πέντε λανθάνουσες μεταβλητές. Η αξιοπιστία του μοντέλου ελέγχθηκε μέσω διασταυρούμενης επικύρωσης με τη μέθοδο Venetian-Blinds. Η συγκεκριμένη μέθοδος βασίζεται στην επαναλαμβανόμενη εκτέλεση-έλεγχο του μαθηματικού αλγορίθμου με τον διαχωρισμό του πίνακα των δεδομένων σε επιμέρους ομάδες. Στο συγκεκριμένο μοντέλο που εκπαιδεύτηκε στη μέθοδο Venetian-Blinds δημιουργήθηκαν 11 ομάδες.

Η πρώτη παράλληλη λανθάνουσα μεταβλητή περιγράφει το 67,57% της διακύμανσης των φασματοσκοπικών δεδομένων, η δεύτερη ορθογώνια λανθάνουσα μεταβλητή περιγράφει το 26,23% και η τρίτη ορθογώνια λανθάνουσα μεταβλητή το 4,26%. Από την προβολή των δειγμάτων στις παραπάνω μεταβλητές προκύπτουν τα παρακάτω διαγράμματα (Εικόνες 4.30 & 4.31) και παρατηρείται ένας καλός διαχωρισμός μεταξύ των δύο υπό μελέτη

κατηγοριών βάσει της πρώτης λανθάνουσας μεταβλητής. Από την απεικόνιση των αποτελεσμάτων μέσω των τετραγωνικών πινάκων το μοντέλο μπορεί να προβλέψει σε έναν ικανοποιητικό βαθμό την βοτανική προέλευση των μελιών και πιο συγκεκριμένα με ποσοστό επιτυχίας 91,11% για τα μέλια από άνθη και 86,95% για τα θυμαρία μέλια. Σύμφωνα με το loading plot ο διαχωρισμός που προκύπτει από την πρώτη λανθάνουσα μεταβλητή, οφείλεται κυρίως στην απορρόφηση σε όλο το εύρος και επομένως η απόδοση του διαχωρισμού αποδίδεται σε όλες τις ουσίες που απορροφούν σε όλο αυτό το εύρος.



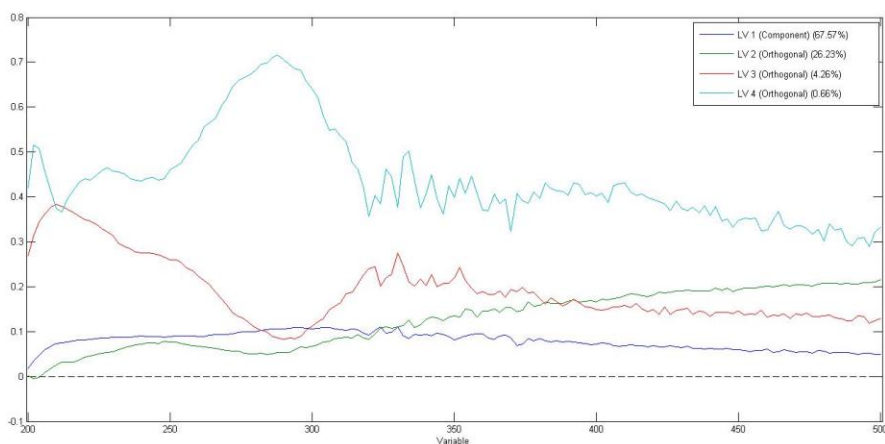
Εικόνα 4.30: Διάγραμμα συσχέτισης (score plot) με βάση την πρώτη και την τρίτη λανθάνουσα μεταβλητή για τον διαχωρισμό της βοτανικής προέλευσης μελιών (Άνθη, Θυμαρί) με φασματοσκοπία απορρόφησης (200-500nm)



Εικόνα 4.31: Διάγραμμα συσχέτισης (score plot) με βάση την πρώτη και την δεύτερη λανθάνουσα μεταβλητή για τον διαχωρισμό της βοτανικής προέλευσης μελιών (Άνθη, Θυμαρί) με φασματοσκοπία απορρόφησης (200-500nm)

Πίνακας 4.10: Πίνακας κατάταξης μελιών (Άνθη, Θυμαρί)

	Άνθη	Θυμαρί
Πρόβλεψη ως άνθη	41	3
Πρόβλεψη ως θυμάρι	4	20
Ορθή Ταξινόμηση %	91,11%	86,95%



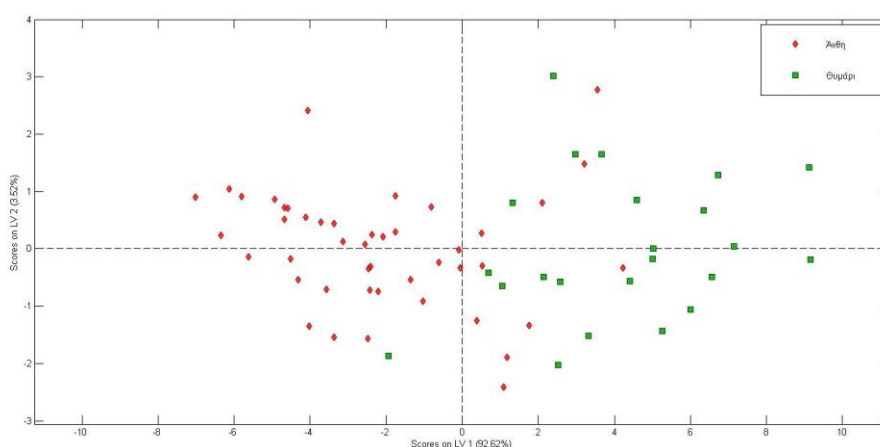
Εικόνα 4.32: Loading plots για την πρώτη, την δεύτερη, την τρίτη και την τέταρτη λανθάνουσα μεταβλητή

4.5.2 Διαχωρισμός Βοτανικής Προέλευσης Άνθη- Θυμάρι με Φασματοσκοπία απορρόφησης (200-2400nm)

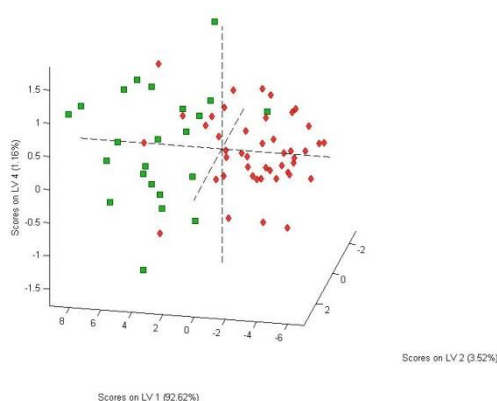
Με την μεθοδολογία που περιγράφηκε για την λήψη του φάσματος στο εύρος αυτό λαμβάνονται τα φασματοσκοπικά δεδομένα από ένα μεγάλο εύρος μήκους κύματος. Για αυτό εξετάζονται διαφορετικά μοντέλα που περιλαμβάνουν διαφορετικές περιοχές μήκους κύματος με σκοπό τον εντοπισμό των πιο καθοριστικών περιοχών. Στο συγκεκριμένο διαχωρισμό εκπαιδεύτηκαν τρία μοντέλα. Το πρώτο μοντέλο O-PLS-DA που εκπαιδεύτηκε περιλαμβάνει τα φασματοσκοπικά δεδομένα της απορρόφησης στις περιοχές 200-500nm και 1300-2400nm. Η προ-επεξεργασία που επιλέχθηκε για το συγκεκριμένο μοντέλο ήταν η μέθοδος *smoothing* σε συνδυασμό με την μέθοδο *SNV* και *mean center*, συμπεριλαμβάνει 6 λανθάνουσες μεταβλητές και η αξιοπιστία του μοντέλου επιβεβαιώθηκε μέσω διασταυρούμενης επικύρωσης με τη μέθοδο *Venetian-Blinds* όπου δημιουργήθηκαν 10 ομάδες. Το δεύτερο μοντέλο O-PLS-DA εκπαιδεύτηκε στα φασματοσκοπικά δεδομένα της περιοχής 1300-2400nm στο οποίο η προ-επεξεργασία που επιλέχθηκε ήταν ο συνδυασμός των μεθόδων *smoothing* και *mean center*, συμπεριλάμβανε 6 λανθάνουσες μεταβλητές και η αξιοπιστία του μοντέλου επιβεβαιώθηκε μέσω διασταυρούμενης επικύρωσης με τη μέθοδο *Venetian-Blinds* όπου δημιουργήθηκαν 6 ομάδες. Τέλος, το τρίτο μοντέλο O-PLS-DA που εκπαιδεύτηκε περιλαμβάνει τα φασματοσκοπικά δεδομένα της απορρόφησης στις περιοχές 200-500nm. Η προ-επεξεργασία που επιλέχθηκε για το συγκεκριμένο μοντέλο ήταν η μέθοδος *smoothing* σε συνδυασμό με την μέθοδο *mean center*, συμπεριλαμβάνει τρεις λανθάνουσες μεταβλητές και η αξιοπιστία του μοντέλου επιβεβαιώθηκε μέσω διασταυρούμενης επικύρωσης με τη μέθοδο *Venetian-Blinds* όπου δημιουργήθηκαν 6 ομάδες.

Με την εφαρμογή της μεθόδου ανάλυσης στο σύνολο των φασμάτων απορρόφησης στην περιοχή 200-500nm και 1300-2400nm με την εκπαίδευση του μοντέλου όπου περιγράφηκε και την προβολή των δειγμάτων με την πρώτη παράλληλη λανθάνουσα μεταβλητή, η οποία περιγράφει το 92,62% της διακύμανσης των φασματοσκοπικών δεδομένων, στην δεύτερη ορθογώνια λανθάνουσα μεταβλητή, η οποία περιγράφει το 3,52% της διακύμανσης των

φασματοσκοπικών δεδομένων, παρατηρείται ένας διαχωρισμός μεταξύ των μελιών από θυμάρι και των υπολοίπων από άνθη. Για την καλύτερη οπτική απεικόνιση των αποτελεσμάτων στην Εικόνα 4.34 υπάρχει η τρισδιάστατη απεικόνιση από την προβολή της πρώτης παράλληλης λανθάνουσας μεταβλητής με την δεύτερη ορθογώνια και τέταρτη λανθάνουσα μεταβλητή. Βάσει του Πίνακα 4.11 η ορθή ταξινόμηση των δειγμάτων είναι σε ένα ποσοστό περίπου 80% για την κάθε κατηγορία. Ο παρατηρούμενος διαχωρισμός οφείλεται στην πρώτη λανθάνουσα συνιστώσα και από την αξιολόγηση του αντίστοιχου loading plot παρατηρείται η περιοχή στα 200-500 nm να συνεισφέρει, αλλά και η περιοχή στο NIR να έχει συνεισφορά στον διαχωρισμό. Ωστόσο η περιοχή στο UV δείχνει να έχει περισσότερη συνεισφορά. Επομένως, είναι απαραίτητη η δημιουργία δύο νέων μοντέλων για την ανάδειξη της πιο καθοριστικής περιοχής.



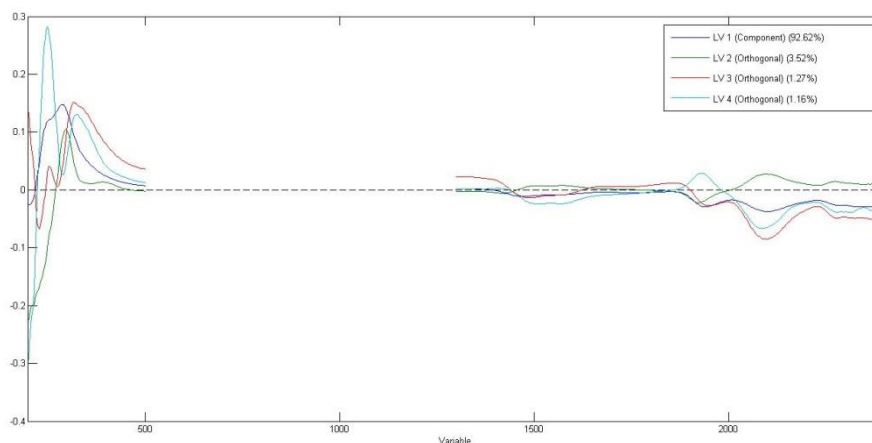
Εικόνα 4.33: Διάγραμμα συσχέτισης (score plot) με βάση την πρώτη και την δεύτερη λανθάνουσα μεταβλητή για τον διαχωρισμό της βοτανικής προέλευσης μελιών (Άνη, Θυμάρι) με φασματοσκοπία απορρόφησης (200-2400nm)



Εικόνα 4.34: Διάγραμμα συσχέτισης (score plot) με βάση την πρώτη, την δεύτερη και την τέταρτη λανθάνουσα μεταβλητή για τον διαχωρισμό της βοτανικής προέλευσης μελιών (Άνη, Θυμάρι) με φασματοσκοπία απορρόφησης (200-2400nm)

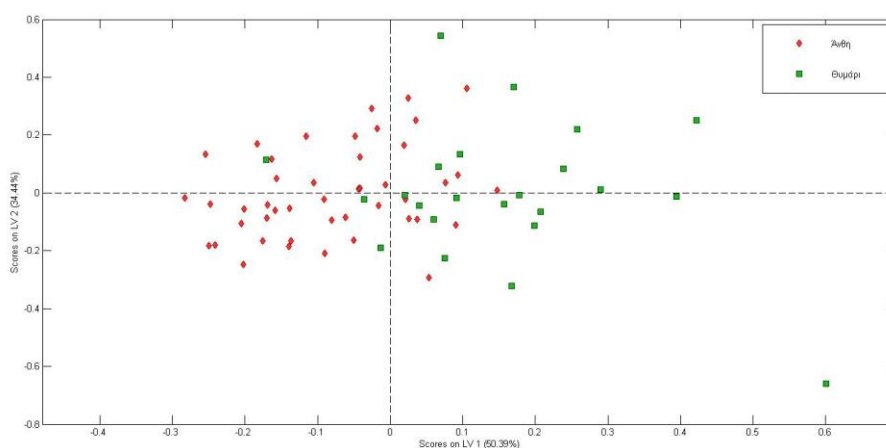
Πίνακας 4.11: Πίνακας κατάταξης μελιών (Άνθη, Θυμάρι)

	Άνθη	Θυμάρι
Πρόβλεψη ως άνθη	37	4
Πρόβλεψη ως θυμάρι	8	19
Ορθή Ταξινόμηση %	82,22%	82,60%

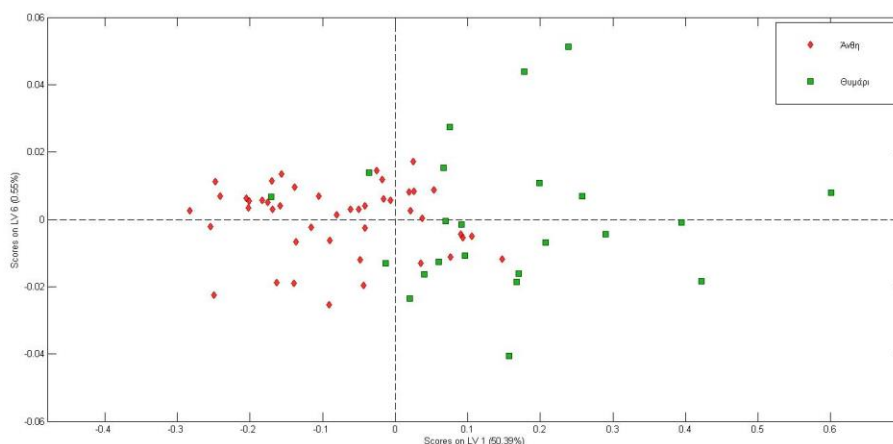


Εικόνα 4.35: Loading plots για την πρώτη, την δεύτερη, την τρίτη και την τέταρτη λανθάνουσα μεταβλητή

Το συγκεκριμένο μοντέλο στην περιοχή 1300-2400nm δημιουργήθηκε με σκοπό να αναδείξει πόσο καθοριστική είναι η συγκεκριμένη περιοχή για τον διαχωρισμό των μελιών από θυμάρι. Από την συνδυαστική αξιολόγηση του ενδεικτικού score plot και του πίνακα κατάταξης επιβεβαιώνεται ότι ο διαχωρισμός στο συγκεκριμένο μοντέλο είναι πιο ασαφής σε σχέση με το προηγούμενο μοντέλο καθώς και η ορθή κατάταξη των δειγμάτων του μοντέλου βάσει του πίνακα 4.11 κυμαίνεται σε χαμηλότερα ποσοστά σε σχέση με το προηγούμενο μοντέλο για τα μέλια από θυμάρι.



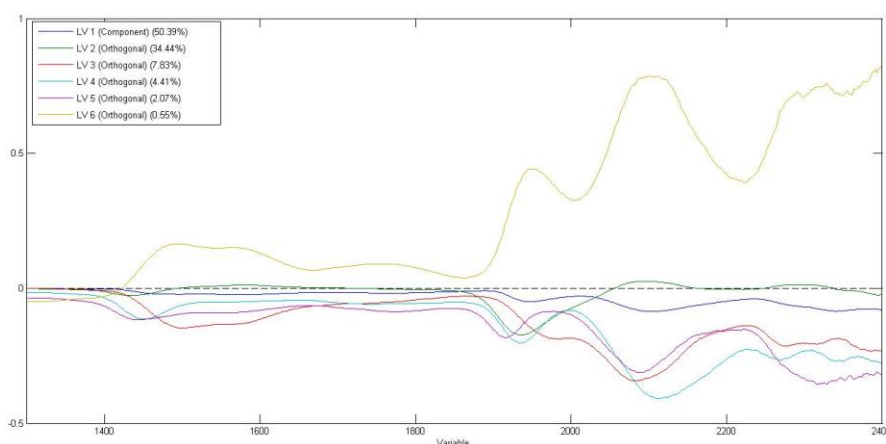
Εικόνα 4.36: Διάγραμμα συσχέτισης (score plot) με βάση την πρώτη και την δεύτερη λανθάνουσα μεταβλητή για τον διαχωρισμό της βοτανικής προέλευσης μελιών (Άνθη, Θυμάρι) με φασματοσκοπία απορρόφησης (1300-2400nm)



Εικόνα 4.37: Διάγραμμα συσχέτισης (score plot) με βάση την πρώτη και την έκτη λανθάνουσα μεταβλητή για τον διαχωρισμό της βοτανικής προέλευσης μελιών (Άνθη, Θυμάρι) με φασματοσκοπία απορρόφησης (1300-2400nm)

Πίνακας 4.12: Πίνακας κατάταξης μελιών (Άνθη, Θυμάρι)

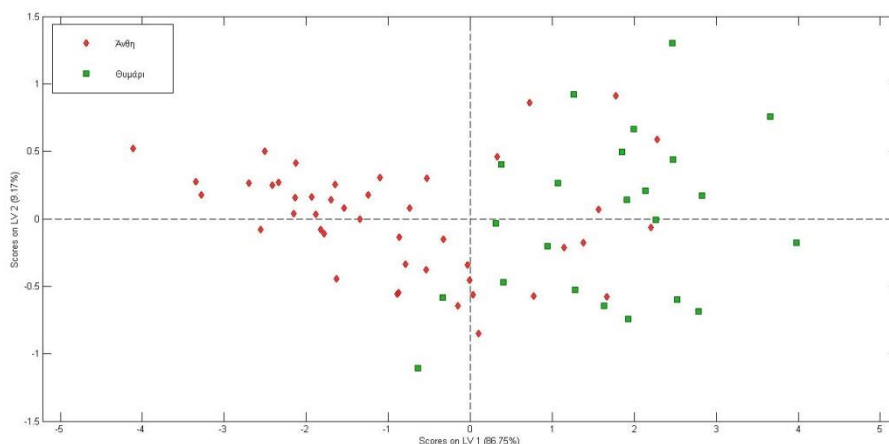
	Άνθη	Θυμάρι
Πρόβλεψη ως άνθη	38	7
Πρόβλεψη ως θυμάρι	7	16
Ορθή Ταξινόμηση %	84,44%	69,56%



Εικόνα 4.38: Loading plots για την πρώτη, την δεύτερη, την τρίτη, την τέταρτη, την πέμπτη και την έκτη λανθάνουσα μεταβλητή

Το τρίτο μοντέλο εκπαιδεύτηκε με τα φασματοσκοπικά δεδομένα στην περιοχή 200-500nm. Από την προβολή των δειγμάτων στην πρώτη παράλληλη λανθάνουσα μεταβλητή, η οποία περιγράφει το 86,75% της διακύμανσης των φασματοσκοπικών δεδομένων, με την δεύτερη ορθογώνια λανθάνουσα μεταβλητή προκύπτει το διάγραμμα της Εικόνας 4.39. Παρατηρείται ένας ικανοποιητικός διαχωρισμός των μελιών από άνθη και από θυμάρι ο οποίος οφείλεται στην πρώτη λανθάνουσα μεταβλητή. Στον πίνακα κατάταξης, όπως φαίνεται, η επιτυχία του μοντέλου είναι καλύτερη σε σχέση και με τα δύο προηγούμενα μοντέλα για τα μέλια από θυμάρι. Ο παραπάνω διαχωρισμός

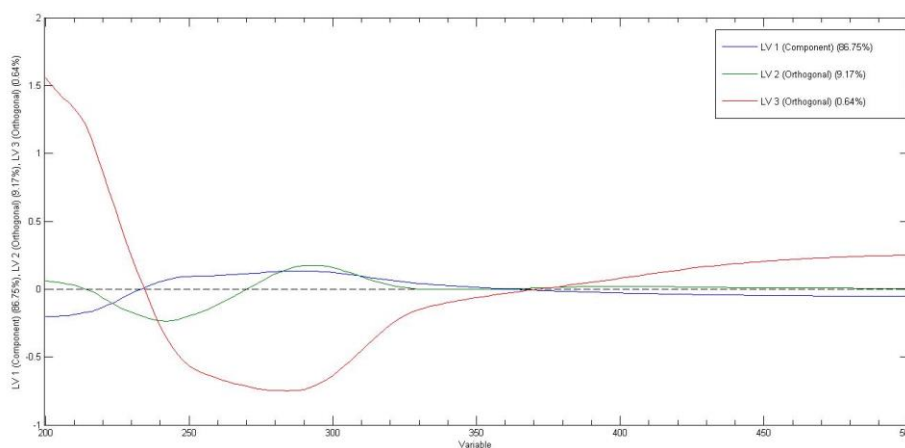
βάσει του loading plot οφείλεται στην απορρόφηση των φαινολικών ενώσεων και των φλαβονοειδών στο εύρος 200-310nm.



Εικόνα 4.39: Διάγραμμα συσχέτισης (score plot) με βάση την πρώτη και την δεύτερη λανθάνουσα μεταβλητή για τον διαχωρισμό της βοτανικής προέλευσης μελιών (Άνθη, Θυμάρι) με φασματοσκοπία απορρόφησης (200-500nm)

Πίνακας 4.13: Πίνακας κατάταξης μελιών (Άνθη, Θυμάρι)

	Άνθη	Θυμάρι
Πρόβλεψη ως άνθη	36	3
Πρόβλεψη ως θυμάρι	9	20
Ορθή Ταξινόμηση %	80,00%	86,95%



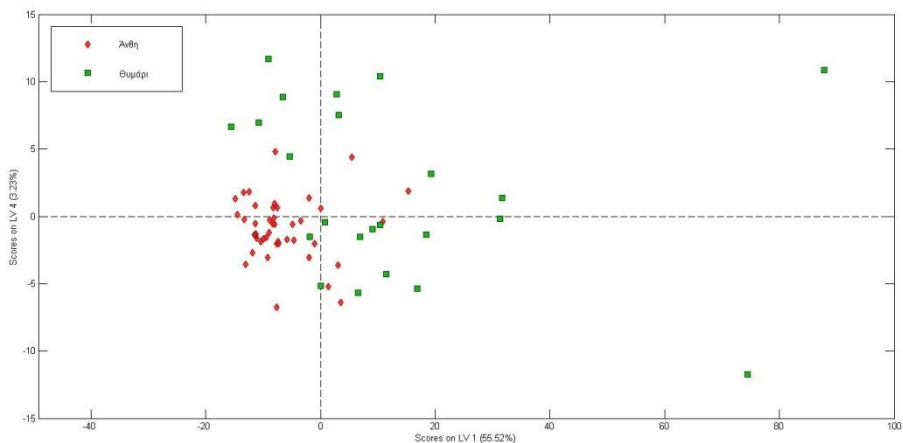
Εικόνα 4.40: Loading plots για την πρώτη, την δεύτερη και την τρίτη λανθάνουσα μεταβλητή

4.5.3 Διαχωρισμός Βοτανικής Προέλευσης Άνθη- Θυμάρι με Φασματοσκοπία ATR-FT-IR

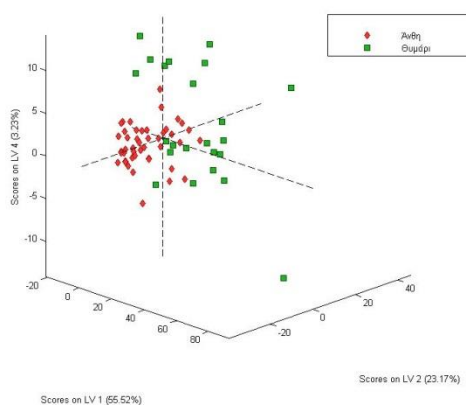
Όπως και σε άλλες τεχνικές γίνονται οι προσπάθειες να εκπαιδευτούν μοντέλα τα οποία να περιέχουν αρχικά όλη την πληροφορία που λαμβάνεται από την εκάστοτε τεχνική και σε επόμενο στάδιο να χρησιμοποιηθεί ένα μέρος της το οποίο ενδεχομένως να προσφέρει ένα καλύτερο διαχωρισμό. Στο

συγκεκριμένο διαχωρισμό εκπαιδεύτηκαν τρία μοντέλα. Το πρώτο μοντέλο PLS-DA που εκπαιδεύτηκε περιλαμβάνει τα φασματοσκοπικά δεδομένα από την φασματοσκοπία ATR-FT-IR χωρίς την πληροφορία από την περιοχή που αντιστοιχεί στο CO₂. Η προ-επεξεργασία που επιλέχθηκε για το συγκεκριμένο μοντέλο ήταν η μέθοδος smoothing σε συνδυασμό με την μέθοδο και mean center, το μοντέλο συμπεριλαμβάνει 4 λανθάνουσες μεταβλητές και η αξιοπιστία του μοντέλου επιβεβαιώθηκε μέσω διασταυρούμενης επικύρωσης με τη μέθοδο Venetian-Blinds όπου δημιουργήθηκαν 15 ομάδες. Το δεύτερο μοντέλο PLS-DA εκπαιδεύτηκε στα φασματοσκοπικά δεδομένα της περιοχής 700-1400cm⁻¹. Η προ-επεξεργασία που επιλέχθηκε στα συγκεκριμένα φασματοσκοπικά δεδομένα ήταν ο συνδυασμός της παραγωγή των δεδομένων με πολυώνυμο 1^{ου} βαθμού και της μεθόδου mean center. Το μοντέλο αυτό συμπεριλάμβανε τέσσερις λανθάνουσες μεταβλητές και η αξιοπιστία του μοντέλου επιβεβαιώθηκε μέσω διασταυρούμενης επικύρωσης με τη μέθοδο Venetian-Blinds όπου δημιουργήθηκαν 7 ομάδες. Το τρίτο μοντέλο εκπαιδεύτηκε με τα φασματοσκοπικά δεδομένα της περιοχής 2400-4000cm⁻¹. Η προεπεξεργασία που επιλέχθηκε ήταν η μέθοδος mean center, το μοντέλο περιλάμβανε πέντε λανθάνουσες μεταβλητές και η αξιοπιστία του μοντέλου επιβεβαιώθηκε μέσω διασταυρούμενης επικύρωσης με τη μέθοδο Venetian-Blinds όπου δημιουργήθηκαν 14 ομάδες.

Στο πρώτο μοντέλο, η πρώτη λανθάνουσα μεταβλητή περιγράφει το 55,52% της διακύμανσης των φασματοσκοπικών δεδομένων, η δεύτερη λανθάνουσα μεταβλητή περιγράφει το 23,17% και η τέταρτη λανθάνουσα μεταβλητή το 3,23%. Από την προβολή των δειγμάτων στην πρώτη λανθάνουσα μεταβλητή με την τέταρτη λανθάνουσα μεταβλητή προκύπτει το διάγραμμα της Εικόνας 4.41 και η τρισδιάστατη οπτική απεικόνιση (Εικόνα 4.42). Παρατηρείται ένας μέτριος διαχωρισμός μεταξύ των δύο υπό μελέτη κατηγοριών βάσει της πρώτης λανθάνουσας μεταβλητής καθώς και λόγω της τέταρτης λανθάνουσας συνιστώσας. Ωστόσο στο τρισδιάστατο διάγραμμα ο διαχωρισμός είναι πιο ευκρινής. Από την απεικόνιση των αποτελεσμάτων μέσω των τετραγωνικών πινάκων το μοντέλο μπορεί να προβλέψει με επιτυχία μεγαλύτερη του 90% και τις δύο κατηγορίες δειγμάτων. Σύμφωνα με το loading plot ο διαχωρισμός που προκύπτει από την πρώτη λανθάνουσα μεταβλητή, και από την τέταρτη λανθάνουσα μεταβλητή σχετίζεται με μεγάλο εύρος κυματάριθμων, επομένως η απόδοση του διαχωρισμού αποδίδεται σε όλες τις ουσίες που συνεισφέρουν στο σύνολο του φάσματος στο FT-IR.



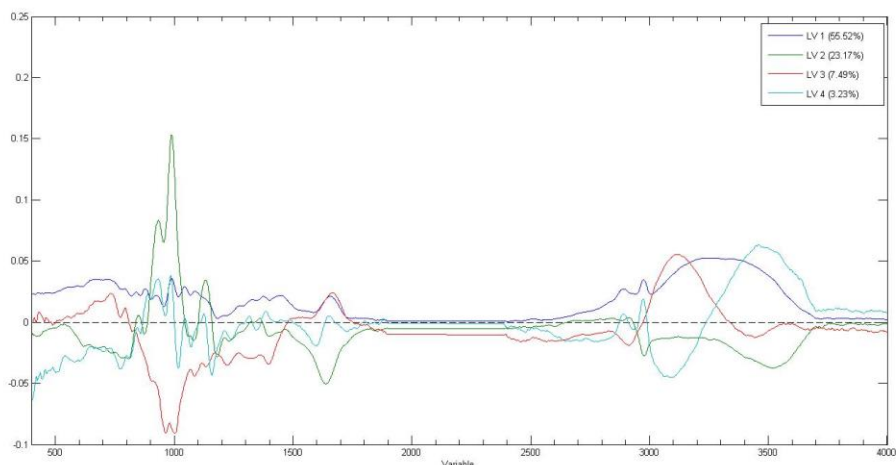
Εικόνα 4.41: Διάγραμμα συσχέτισης (score plot) με βάση την πρώτη και την τέταρτη λανθάνουσα μεταβλητή για τον διαχωρισμό της βοτανικής προέλευσης μελιών (Άνθη, Θυμάρι) με φασματοσκοπία ATR-FT-IR



Εικόνα 4.42: Διάγραμμα συσχέτισης (score plot) με βάση την πρώτη, την δεύτερη και την τέταρτη λανθάνουσα μεταβλητή για τον διαχωρισμό της βοτανικής προέλευσης μελιών (Άνθη, Θυμάρι) με φασματοσκοπία ATR-FT-IR

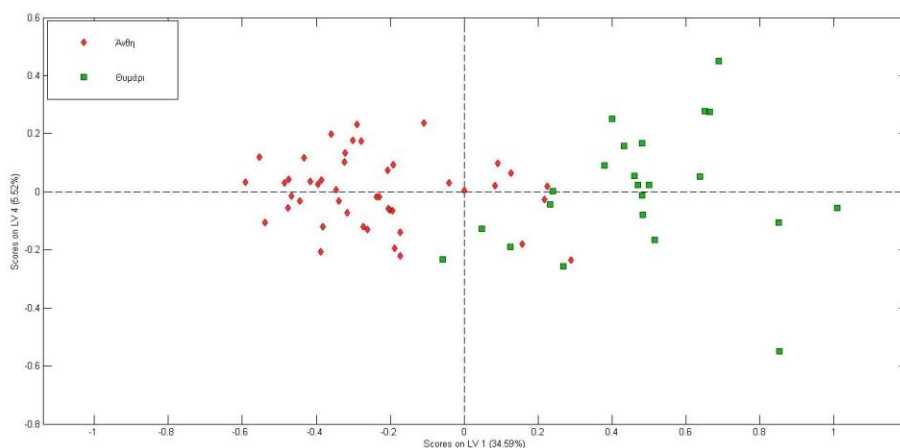
Πίνακας 4.14: Πίνακας κατάταξης μελιών (Άνθη, Θυμάρι)

	Άνθη	Θυμάρι
Πρόβλεψη ως άνθη	41	2
Πρόβλεψη ως θυμάρι	4	21
Ορθή Ταξινόμηση %	91,11%	91,30%

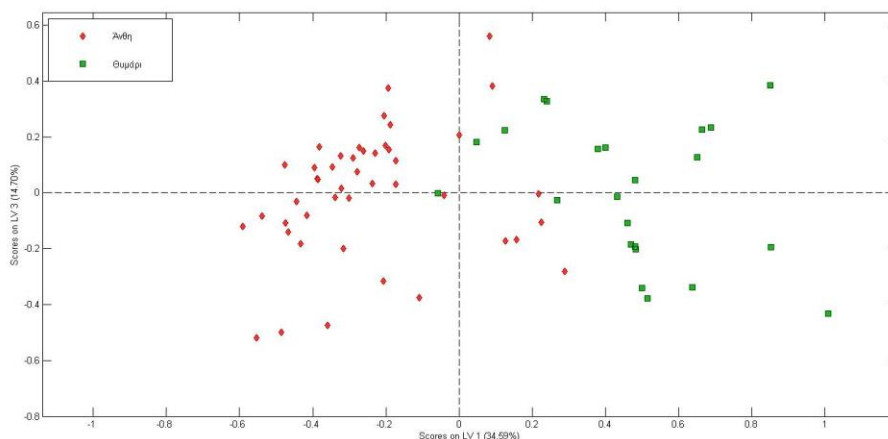


Εικόνα 4.43: Loading plots για την πρώτη, την δεύτερη, την τρίτη και την τέταρτη λανθάνουσα μεταβλητή

Το δεύτερο μοντέλο, όπως προαναφέρθηκε, περιλαμβάνει την περιοχή $700-1400\text{cm}^{-1}$. Σε σχέση με το προηγούμενο μοντέλο που εκπαιδεύτηκε υπάρχει μια καλύτερη οπτική απεικόνιση των αποτελεσμάτων από την προβολή των δειγμάτων στην πρώτη παράλληλη λανθάνουσα μεταβλητή με την τρίτη ορθογώνια λανθάνουσα μεταβλητή και με την τέταρτη ορθογώνια συνιστώσα. Ωστόσο, από τον πίνακα κατάταξης το ποσοστό επιτυχίας βελτιώθηκε μόνο για την κατηγορία των μελιτωμάτων. Από την συνεισφορά του loading plot της πρώτης λανθάνουσας μεταβλητής προκύπτει ότι από την συνεισφορά αυτής της περιοχής που οφείλεται στις δονήσεις των δεσμών των σακχάρων ο διαχωρισμός των θυμαρίσιων μελιών δεν βελτιώνεται.



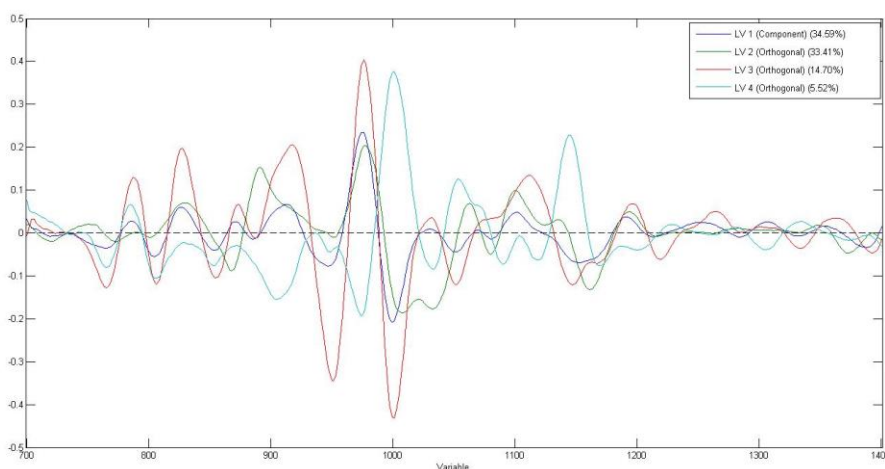
Εικόνα 4.44: Διάγραμμα συσχέτισης (score plot) με βάση την πρώτη και την τέταρτη λανθάνουσα μεταβλητή για τον διαχωρισμό της βοτανικής προέλευσης μελιών (Άνθη, Θυμαρί) με φασματοσκοπία ATR-FT-IR ($700-1400\text{cm}^{-1}$)



Εικόνα 4.45: Διάγραμμα συσχέτισης (score plot) με βάση την πρώτη και την τρίτη λανθάνουσα μεταβλητή για τον διαχωρισμό της βοτανικής προέλευσης μελιών (Άνθη, Θυμαρί) με φασματοσκοπία ATR-FT-IR ($700-1400\text{cm}^{-1}$)

Πίνακας 4.15: Πίνακας κατάταξης μελιών (Άνθη, Θυμαρί)

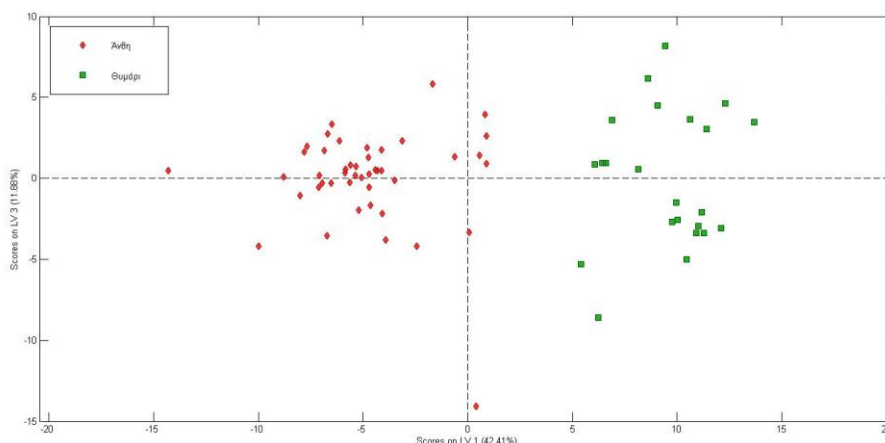
	Άνθη	Θυμαρί
Πρόβλεψη ως άνθη	38	2
Πρόβλεψη ως θυμάρι	7	21
Ορθή Ταξινόμηση %	84,44%	91,30%



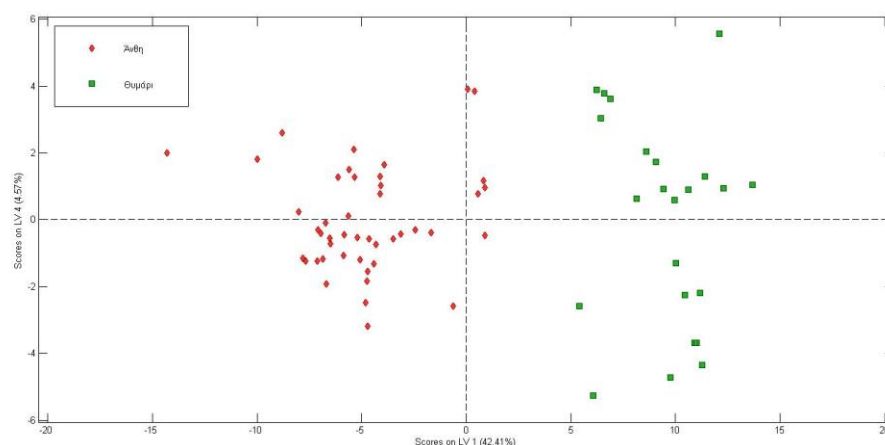
Εικόνα 4.46: Loading plots για την πρώτη, την δεύτερη, την τρίτη και την τέταρτη λανθάνουσα μεταβλητή

Το τρίτο μοντέλο εκπαιδεύτηκε με τα φασματοσκοπικά δεδομένα στην περιοχή $2400-4000\text{cm}^{-1}$ αφού από τα loading plot του πρώτου μοντέλου η συγκεκριμένη περιοχή είχε συνεισφορά στο διαχωρισμό. Από την προβολή των δειγμάτων στην πρώτη παράλληλη μεταβλητή με την τρίτη και τέταρτη ορθογώνια λανθάνουσα μεταβλητή προκύπτουν τα διαγράμματα των Εικόνων 4.47 και 4.48 αντίστοιχα. Ο διαχωρισμός των θυμαρίσιων μελιών είναι σαφής σε σχέση με τα μέλια από άνθη. Από τον πίνακα κατάταξης των δειγμάτων παρατηρούμε ότι το ποσοστό επιτυχίας για τα θυμαρίσια μέλια είναι 100% ενώ για τα μέλια από άνθη είναι στο 95,55%. Ο συγκεκριμένος διαχωρισμός είναι ο

καλύτερος διαχωρισμός των θυμαρίσιων μελιών. Ο διαχωρισμός αυτός οφείλεται στην πρώτη λανθάνουσα μεταβλητή και παρατηρώντας το loading plot της παρατηρείται ότι συνεισφέρει στο συγκεκριμένο διαχωρισμό η περιοχή που αντιστοιχεί στην δόνηση του $-OH$ που εμπεριέχεται στα σάκχαρα, νερό και στις φαινολικές ενώσεις.



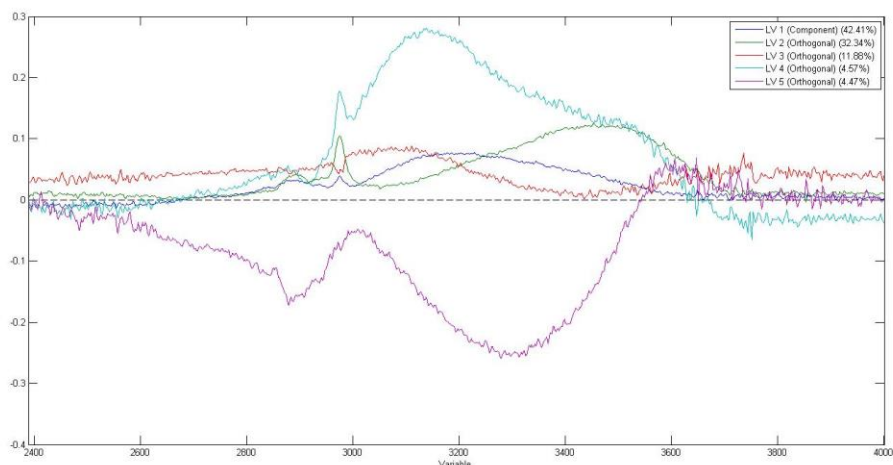
Εικόνα 4.47: Διάγραμμα συσχέτισης (score plot) με βάση την πρώτη και την τρίτη λανθάνουσα μεταβλητή για τον διαχωρισμό της βοτανικής προέλευσης μελιών (Άνθη, Θυμαρί) με φασματοσκοπία ATR-FT-IR ($2400-4000\text{cm}^{-1}$)



Εικόνα 4.48: Διάγραμμα συσχέτισης (score plot) με βάση την πρώτη και την τέταρτη λανθάνουσα μεταβλητή για τον διαχωρισμό της βοτανικής προέλευσης μελιών (Άνθη, Θυμαρί) με φασματοσκοπία ATR-FT-IR ($2400-4000\text{cm}^{-1}$)

Πίνακας 4.16: Πίνακας κατάταξης μελιών (Άνθη, Θυμαρί)

	Άνθη	Θυμαρί
Πρόβλεψη ως άνθη	43	0
Πρόβλεψη ως θυμάρι	2	23
Ορθή Ταξινόμηση %	95,55%	100%

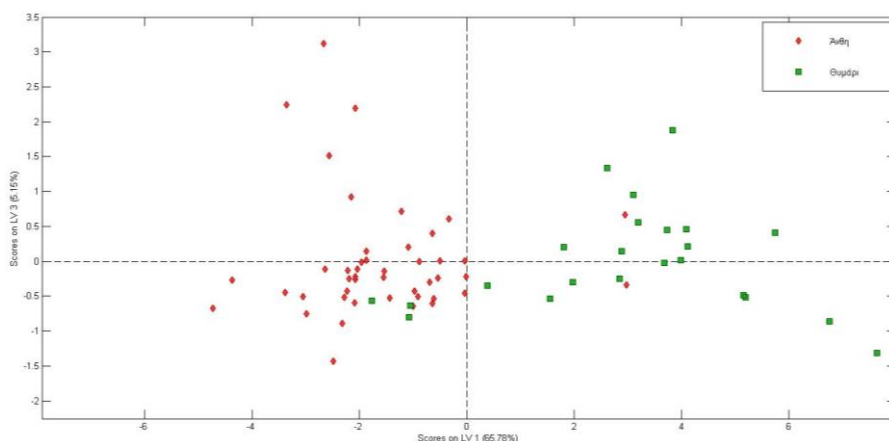


Εικόνα 4.49: Loading plots για την πρώτη, την δεύτερη, την τρίτη και την τέταρτη λανθάνουσα μεταβλητή

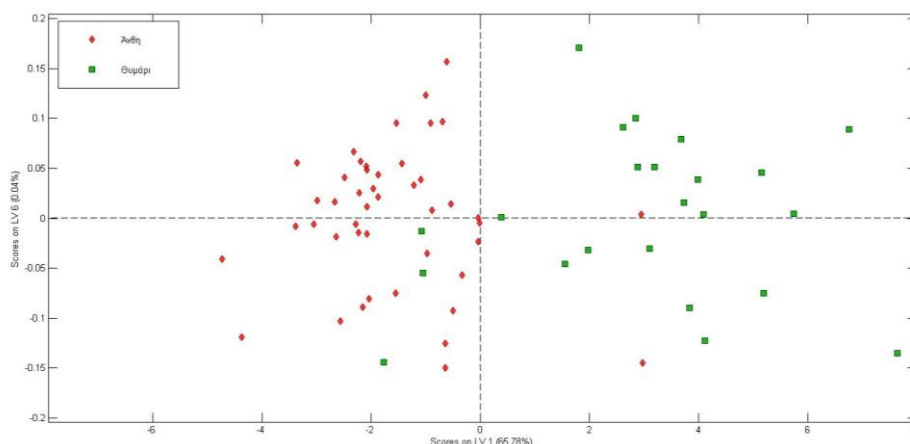
4.5.4 Διαχωρισμός Βοτανικής Προέλευσης Άνθη- Θυμαρί με Φασματοσκοπία φθορισμού

Στη συγκεκριμένη κατηγοριοποίηση από τα φασματοσκοπικά δεδομένα του φθορισμού εκπαιδεύτηκε ένα μοντέλο O-PLS-DA. Στο μοντέλο χρησιμοποιήθηκε η πληροφορία από τα φάσματα σύγχρονης σάρωσης με $\Delta\lambda=150\text{nm}$ και $\Delta\lambda=175\text{nm}$. Η προ-επεξεργασία των δεδομένων που επιλέχθηκε και για τα δύο μοντέλα ήταν η μέθοδος mean center. Στο μοντέλο επιλέχθηκαν έξι λανθάνουσες μεταβλητές και η αξιοπιστία του μοντέλου ελέγχθηκε μέσω διασταυρούμενης επικύρωσης με τη μέθοδο Venetian-Blinds με την δημιουργία 14 ομάδων.

Από την διαχωριστική ανάλυση με ορθογώνια προβολή της πρώτης με την τρίτη λανθάνουσα μεταβλητή και με την έκτη ορθογώνια λανθάνουσα μεταβλητή προέκυψε το διάγραμμα της Εικόνας 4.50 και της Εικόνας 4.51 αντιστοίχα. Διακρίνεται ο ικανοποιητικός διαχωρισμός των μελιών από άνθη και από μελιτώματα βάσει της πρώτης λανθάνουσας μεταβλητής. Από την απεικόνιση των αποτελεσμάτων μέσω των τετραγωνικών πινάκων προκύπτει ότι η πρόβλεψη των δειγμάτων μελιού από άνθη και μελιτώματα μπορεί να πραγματοποιηθεί σε έναν μέτριο βαθμό αφού το ποσοστό επιτυχίας του μοντέλου για τα μέλια από άνθη είναι 91,11% ενώ για τα θυμαρίσια μέλια είναι στο 73,91%.



Εικόνα 4.50: Διάγραμμα συσχέτισης (score plot) με βάση την πρώτη και την τρίτη λανθάνουσα μεταβλητή για τον διαχωρισμό της βοτανικής προέλευσης μελιών (Άνθη, Θυμαρί) με φασματοσκοπία φθορισμού



Εικόνα 4.51: Διάγραμμα συσχέτισης (score plot) με βάση την πρώτη και την έκτη λανθάνουσα μεταβλητή για τον διαχωρισμό της βοτανικής προέλευσης μελιών (Άνθη, Θυμαρί) με φασματοσκοπία φθορισμού

Πίνακας 4.17: Πίνακας κατάταξης μελιών (Άνθη, Θυμαρί)

	Άνθη	Θυμαρί
Πρόβλεψη ως άνθη	41	6
Πρόβλεψη ως θυμάρι	4	17
Ορθή Ταξινόμηση %	91,11%	73,91%

4.6 Διαχωρισμός Βοτανικής Προέλευσης Θυμαρί-Πεύκο

Το δημοφιλέστερο μέλι στη Κρήτη είναι το πευκοθυμαρόμελο το οποίο αποτελεί φυσική ανάμιξη θυμαρίσιου μελιού με πευκόμελο και προκύπτει από την ιδιαίτερη διαχείριση των μελισσών ή και τη συνύπαρξη όψιμα ανθισμένων θυμαρίων με τις μελιτοεκκρίσεις. Η φυσική ανάμιξη δασόμελου (πευκόμελου) με θυμάρι δημιουργεί μια ξεχωριστή κατηγορία μελιού, ένα ιδιότυπο προϊόν, το

οποίο συνδυάζει την ήπια γεύση του πευκόμελου με το έντονο αρωματικό προφίλ του θυμαριού και χαρακτηρίζεται από την παρουσία των κρητικών φυτών. Τα τελευταία χρόνια γίνονται προσπάθειες για τον χαρακτηρισμό του Πευκοθυμαρόμελου ως Π.Ο.Π..

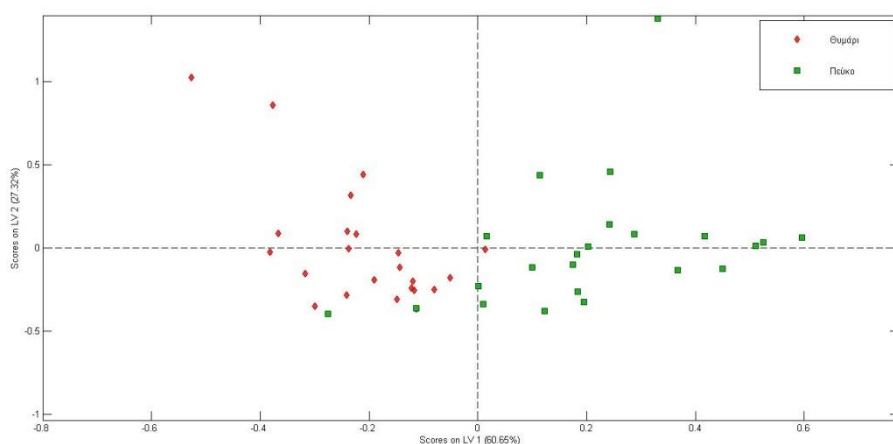
Στη παρούσα μελέτη πραγματοποιήθηκαν τεχνικές φασματοσκοπίας απορρόφησης στο υπεριώδες, στο ορατό έως και το υπέρυθρο, φασματοσκοπία φθορισμού και φασματοσκοπία ATR-FT-IR και εξετάστηκαν τα δείγματα που ανήκαν στις ευρύτερες κατηγορίες διάκρισης του μελιού στο θυμάρι και του πεύκου βάσει των αποτελεσμάτων της γυρεοσκοπικής ανάλυσης. Επίσης όσον αφορά τα δείγματα μελιού από θυμάρι συμπεριλήφθησαν και μέλια από διάφορους μελισσοπαραγωγούς. Απώτερος σκοπός είναι ο εντοπισμός των διαφοροποιήσεων αυτών των δύο ποικιλιών ουτως ώστε να δημιουργηθεί ένα μοντέλο το οποίο να μπορεί να ανιχνεύσει το Πευκοθυμαρόμελο και να αποτραπούν φαινόμενα νοθείας. Το σύνολο των δειγμάτων ήταν 46 όπου στην κατηγορία των μελιών από θυμάρι άνηκαν 23 δείγματα και στην κατηγορία των μελιών από πεύκο 23 δείγματα. Στο συγκεκριμένο διαχωρισμό χρησιμοποιήθηκε η ανάλυση με την μέθοδο PLS-DA και O-PLS-DA .

4.6.1 Διαχωρισμός Βοτανικής Προέλευσης Θυμαρι-Πεύκο με Φασματοσκοπία απορρόφησης (200-500nm)

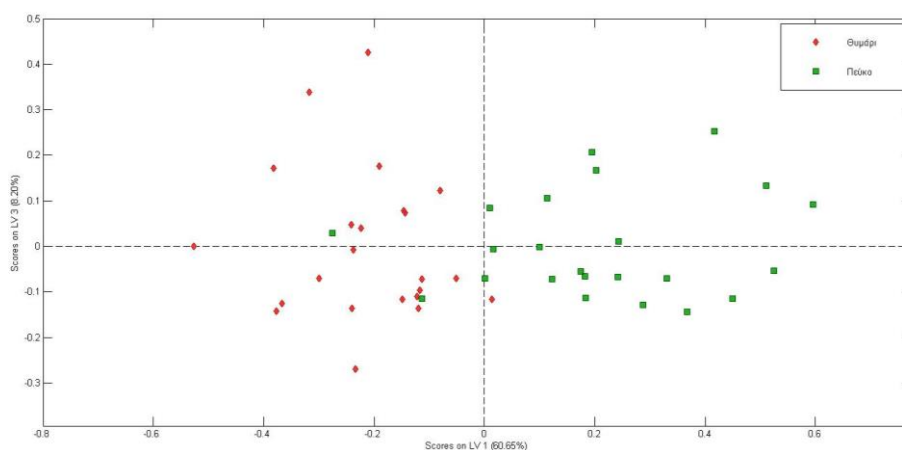
Τα φασματοσκοπικά δεδομένα που συλλέχθηκαν με την φασματοσκοπία απορρόφησης στην περιοχή 200-500nm με την διαδικασία που αναφέρθηκε στο πειραματικό μέρος χρησιμοποιήθηκαν για την εκπαίδευση του μοντέλου ανάλυσης O-PLS-DA. Το μοντέλο εκπαιδεύτηκε στο σύνολο των δειγμάτων όπου στην κατηγορία των θυμαρίσιων άνηκαν 23 δείγματα και στην κατηγορία των μελιών από πεύκο ήταν 23 δείγματα. Με σκοπό την εξάλειψη τυχαίων ή συστηματικών σφαλμάτων, τα οποία επηρεάζουν την τιμή της απορρόφησης επιλέχθηκε η προ-επεξεργασία των φασματοσκοπικών δεδομένων με την μέθοδο smoothing και mean center. Για το συγκεκριμένο μοντέλο επιλέχθηκαν οχτώ λανθάνουσες μεταβλητές. Η αξιοπιστία του μοντέλου ελέγχθηκε μέσω διασταυρούμενης επικύρωσης με τη μέθοδο Venetian-Blinds. Η συγκεκριμένη μέθοδος βασίζεται στην επαναλαμβανόμενη εκτέλεση-έλεγχο του μαθηματικού αλγορίθμου με τον διαχωρισμό του πίνακα των δεδομένων σε επιμέρους ομάδες. Στο συγκεκριμένο μοντέλο που εκπαιδεύτηκε στη μέθοδο Venetian-Blinds δημιουργήθηκαν 10 ομάδες.

Η πρώτη παράλληλη λανθάνουσα μεταβλητή περιγράφει το 60,65% της διακύμανσης των φασματοσκοπικών δεδομένων, η δεύτερη ορθογώνια λανθάνουσα μεταβλητή περιγράφει το 27,32% και η τρίτη ορθογώνια λανθάνουσα μεταβλητή το 8,20%. Από την προβολή των δειγμάτων στις παραπάνω μεταβλητές προκύπτουν τα παρακάτω διαγράμματα (Εικόνες 4.52 & 4.53) και παρατηρείται ένας καλός διαχωρισμός μεταξύ των δύο υπό μελέτη κατηγοριών βάσει της πρώτης λανθάνουσας μεταβλητής. Από την απεικόνιση των αποτελεσμάτων μέσω των τετραγωνικών πινάκων το μοντέλο μπορεί να

προβλέπει σε έναν ικανοποιητικό βαθμό την βοτανική προέλευση των μελιών από θυμάρι και πεύκο και πιο συγκεκριμένα με ποσοστό επιτυχίας 91,30% για τα μέλια από θυμάρι και 86,95% για τα μέλια από πεύκο. Σύμφωνα με το loading plot ο διαχωρισμός που προκύπτει από την πρώτη λανθάνουσα μεταβλητή, οφείλεται κυρίως στην απορρόφηση στο εύρος 200-240nm και επομένως η απόδοση του διαχωρισμού αποδίδεται στις φαινολικές ενώσεις με βενζοϊκό δακτύλιο που απορροφούν. Σημαντικό είναι ότι η άλλη περιοχή των φλαβονοειδών με μέγιστο στα 280nm δείχνει να έχει μικρή συνεισφορά στο διαχωρισμό των μελιών από θυμάρι και πεύκο.



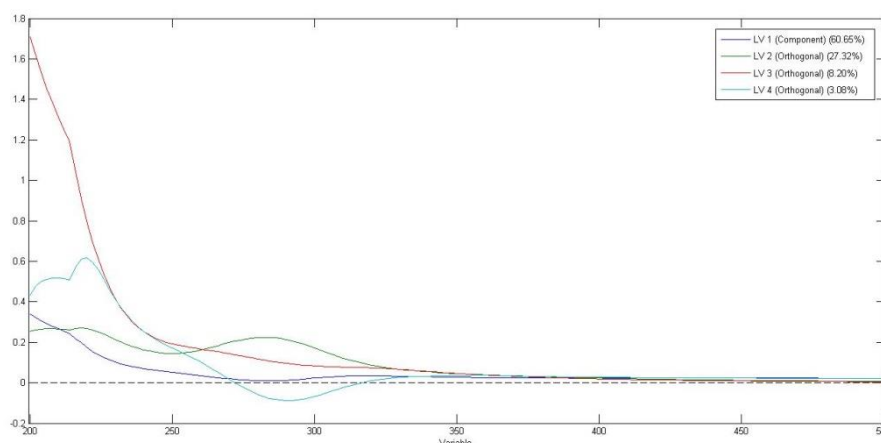
Εικόνα 4.52: Διάγραμμα συσχέτισης (score plot) με βάση την πρώτη και την δεύτερη λανθάνουσα μεταβλητή για τον διαχωρισμό της βοτανικής προέλευσης μελιών (Θυμάρι, Πεύκο) με φασματοσκοπία απορρόφησης (200-500nm)



Εικόνα 4.53: Διάγραμμα συσχέτισης (score plot) με βάση την πρώτη και την τρίτη λανθάνουσα μεταβλητή για τον διαχωρισμό της βοτανικής προέλευσης μελιών (Θυμάρι, Πεύκο) με φασματοσκοπία απορρόφησης (200-500nm)

Πίνακας 4.18: Πίνακας κατάταξης μελιών (Θυμάρι, Πεύκο)

	Θυμάρι	Πεύκο
Πρόβλεψη ως θυμάρι	21	3
Πρόβλεψη ως πεύκο	2	20
Ορθή Ταξινόμηση %	91,30%	86,95%



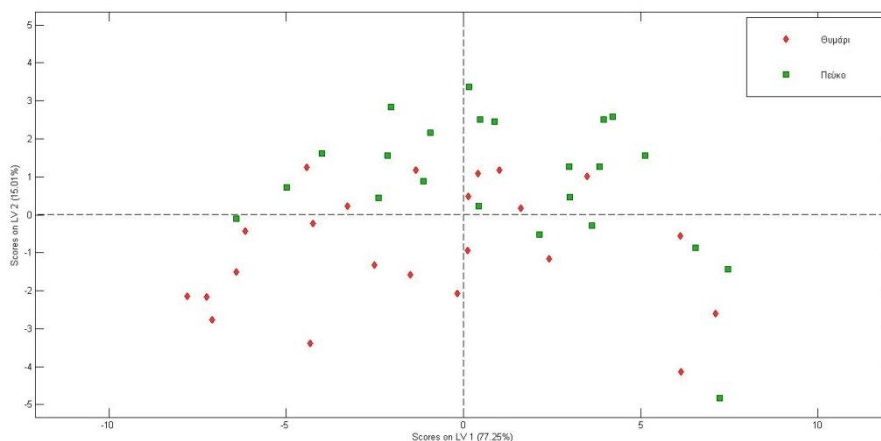
Εικόνα 4.54: Loading plots για την πρώτη, την δεύτερη, την τρίτη και την τέταρτη λανθάνουσα μεταβλητή

4.6.2 Διαχωρισμός Βοτανικής Προέλευσης Θυμάρι-Πεύκο με Φασματοσκοπία απορρόφησης (200-2400nm)

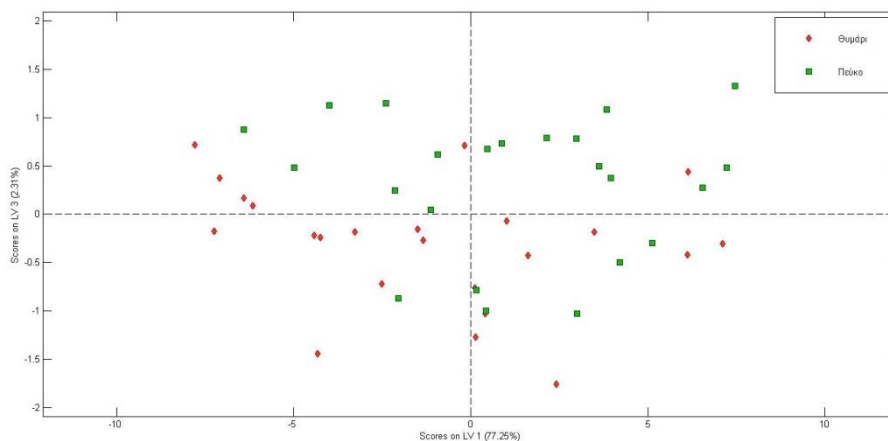
Τα φασματοσκοπικά δεδομένα με την συγκεκριμένη μεθοδολογία κυμαίνονται σε ένα μεγάλο εύρος μήκους κύματος. Για αυτό εξετάζονται διαφορετικά μοντέλα που περιλαμβάνουν διαφορετικές περιοχές μήκους κύματος με σκοπό τον εντοπισμό των πιο καθοριστικών περιοχών. Στο συγκεκριμένο διαχωρισμό εκπαιδεύτηκαν τρία μοντέλα. Το πρώτο μοντέλο PLS-DA που εκπαιδεύτηκε περιλαμβάνει τα φασματοσκοπικά δεδομένα της απορρόφησης στις περιοχές 200-500nm και 1300-2400nm. Η προ-επεξεργασία που επιλέχθηκε για το συγκεκριμένο μοντέλο ήταν η μέθοδος smoothing σε συνδυασμό με την μέθοδο SNV και mean center, συμπεριλαμβάνει 3 λανθάνουσες μεταβλητές και η αξιοπιστία του μοντέλου επιβεβαιώθηκε μέσω διασταυρούμενης επικύρωσης με τη μέθοδο Venetian-Blinds όπου δημιουργήθηκαν 5 ομάδες. Το δεύτερο μοντέλο PLS-DA εκπαιδεύτηκε στα φασματοσκοπικά δεδομένα της περιοχής 1300-2400nm στο οποίο η προ-επεξεργασία που επιλέχθηκε ήταν ο συνδυασμός των μεθόδων smoothing SNV και mean center, συμπεριλάμβανε 4 λανθάνουσες μεταβλητές και η αξιοπιστία του μοντέλου επιβεβαιώθηκε μέσω διασταυρούμενης επικύρωσης με τη μέθοδο Venetian-Blinds όπου δημιουργήθηκαν 10 ομάδες. Τέλος, το τρίτο μοντέλο PLS-DA που εκπαιδεύτηκε περιλαμβάνει τα φασματοσκοπικά δεδομένα της απορρόφησης στις περιοχές 200-500nm. Η προ-επεξεργασία που επιλέχθηκε για το συγκεκριμένο μοντέλο ήταν η μέθοδος smoothing σε συνδυασμό με την μέθοδο mean center, συμπεριλαμβάνει έξι λανθάνουσες μεταβλητές και η αξιοπιστία του μοντέλου επιβεβαιώθηκε μέσω

διασταυρούμενης επικύρωσης με τη μέθοδο Venetian-Blinds όπου δημιουργήθηκαν 10 ομάδες.

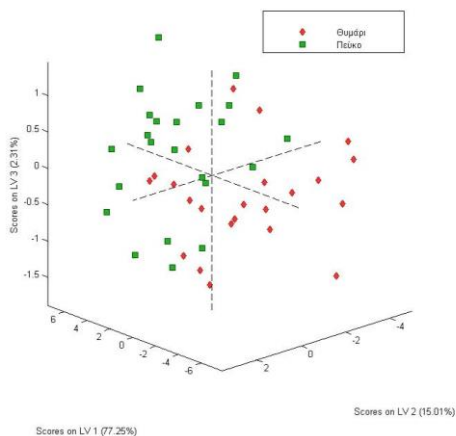
Με την εφαρμογή της μεθόδου ανάλυσης στο σύνολο των φασμάτων απορρόφησης στην περιοχή 200-500nm και 1300-2400nm, την εκπαίδευση του μοντέλου όπου περιγράφηκε και την προβολή των δειγμάτων με την πρώτη λανθάνουσα μεταβλητή, η οποία περιγράφει το 77,25% της διακύμανσης των φασματοσκοπικών δεδομένων, στην δεύτερη λανθάνουσα μεταβλητή (Εικόνα 4.55), η οποία περιγράφει το 15,01% της διακύμανσης των φασματοσκοπικών δεδομένων, και στην τρίτη λανθάνουσα μεταβλητή (Εικόνα 4.56), η οποία περιγράφει το 2,31% των φασματοσκοπικών δεδομένων, παρατηρείται ένας διαχωρισμός μεταξύ των μελιών από θυμάρι και των υπολοίπων από άνθη. Για την καλύτερη οπτική απεικόνιση των αποτελεσμάτων στην Εικόνα 4.57 υπάρχει η τρισδιάστατη απεικόνιση από την προβολή της πρώτης λανθάνουσας μεταβλητής με την δεύτερη και τρίτη λανθάνουσα μεταβλητή. Ο παρατηρούμενος διαχωρισμός οφείλεται και στις λανθάνουσες μεταβλητές για αυτό και στο τρισδιάστατο διάγραμμα ο διαχωρισμός φαίνεται ευκρινέστερα. Βάσει του πίνακα 4.19 η ορθή ταξινόμηση των δειγμάτων είναι σε ένα ποσοστό περίπου 80% για την κάθε κατηγορία. Ο παρατηρούμενος διαχωρισμός από την αξιολόγηση των loading plot οφείλεται στην περιοχή 200-500 nm αλλά και στην περιοχή στο NIR η οποία έχει συνεισφορά στον διαχωρισμό με την περιοχή στο UV δείχνει να έχει περισσότερη συνεισφορά. Για αυτό η εκπαίδευση περαιτέρω μοντέλων θεωρείται απαραίτητη.



Εικόνα 4.55: Διάγραμμα συσχέτισης (score plot) με βάση την πρώτη και την δεύτερη λανθάνουσα μεταβλητή για τον διαχωρισμό της βοτανικής προέλευσης μελιών (Θυμάρι, Πεύκο) με φασματοσκοπία απορρόφησης (200-500nm και 1300-2400nm)



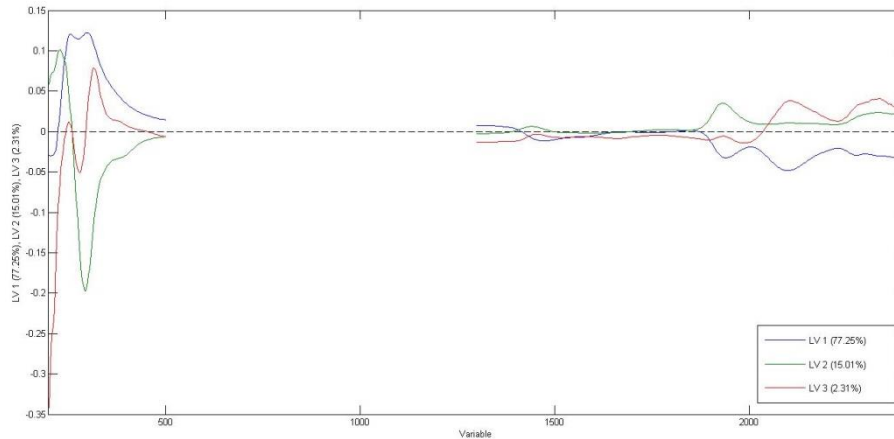
Εικόνα 4.56: Διάγραμμα συσχέτισης (score plot) με βάση την πρώτη και την τρίτη λανθάνουσα μεταβλητή για τον διαχωρισμό της βοτανικής προέλευσης μελιών (Θυμάρι, Πεύκο) με φασματοσκοπία απορρόφησης (200-500nm και 1300-2400nm)



Εικόνα 4.57: Διάγραμμα συσχέτισης (score plot) με βάση την πρώτη, την δεύτερη και την τρίτη λανθάνουσα μεταβλητή για τον διαχωρισμό της βοτανικής προέλευσης μελιών (Θυμάρι, Πεύκο) με φασματοσκοπία απορρόφησης (200-500nm και 1300-2400nm)

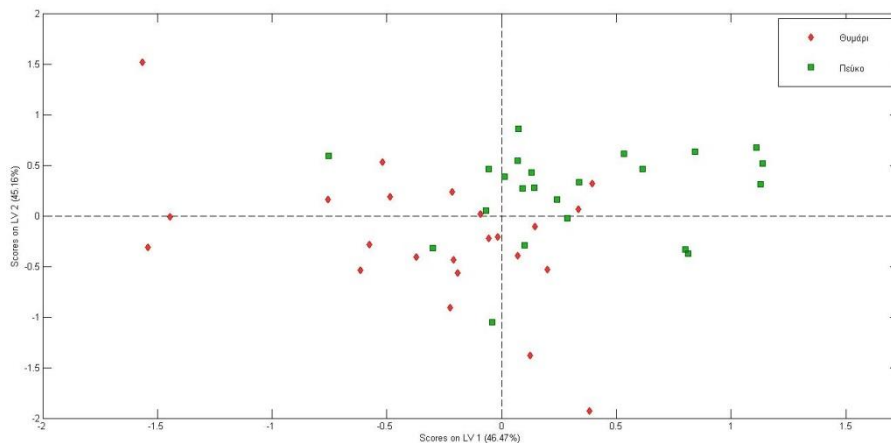
Πίνακας 4.19: Πίνακας κατάταξης μελιών (Θυμάρι, Πεύκο)

	Θυμάρι	Πεύκο
Πρόβλεψη ως θυμάρι	20	4
Πρόβλεψη ως πεύκο	3	19
Ορθή Ταξινόμηση %	86,95%	82,60%

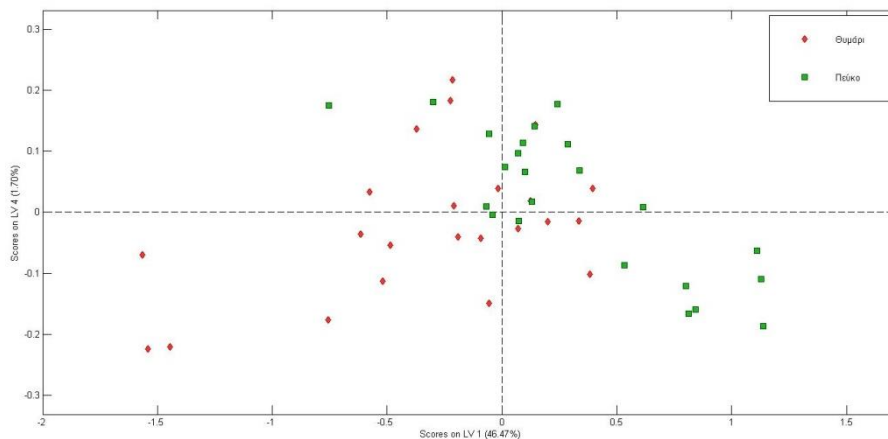


Εικόνα 4.58: Loading plots για την πρώτη, την δεύτερη και την τρίτη λανθάνουσα μεταβλητή

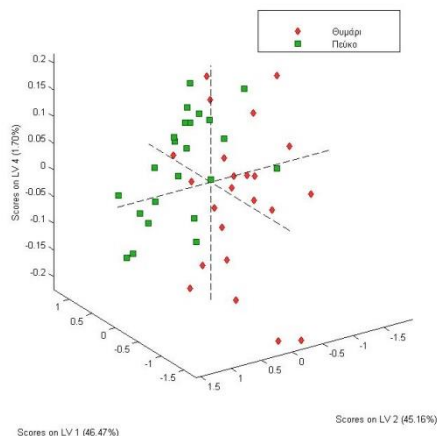
Το συγκεκριμένο μοντέλο στην περιοχή 1300-2400nm δημιουργήθηκε με σκοπό να αναδείξει πόσο καθοριστική είναι η συγκεκριμένη περιοχή για τον διαχωρισμό των μελιών από θυμάρι και πεύκο. Από την συνδυαστική αξιολόγηση του ενδεικτικού score plot και του πίνακα κατάταξης επιβεβαιώνεται ότι ο διαχωρισμός στο συγκεκριμένο μοντέλο είναι σε αντίστοιχα επίπεδα σε σχέση με το προηγούμενο μοντέλο καθώς και η ορθή κατάταξη των δειγμάτων του μοντέλου βάσει του πίνακα 4.20 κυμαίνεται σε αντίστοιχα ποσοστά επιτυχίας σε σχέση με το προηγούμενο μοντέλο για τα μέλια από θυμάρι και πεύκο.



Εικόνα 4.59: Διάγραμμα συσχέτισης (score plot) με βάση την πρώτη και την δεύτερη λανθάνουσα μεταβλητή για τον διαχωρισμό της βοτανικής προέλευσης μελιών (Θυμάρι, Πεύκο) με φασματοσκοπία απορρόφησης (1300-2400nm)



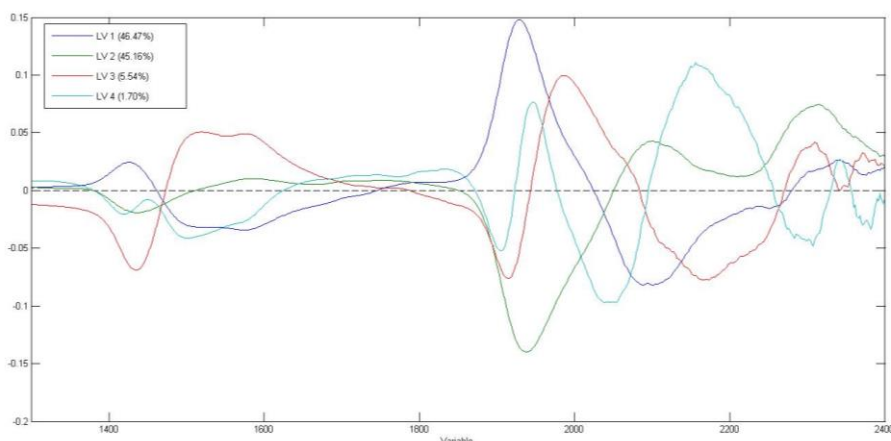
Εικόνα 4.60: Διάγραμμα συσχέτισης (score plot) με βάση την πρώτη και την τέταρτη λανθάνουσα μεταβλητή για τον διαχωρισμό της βοτανικής προέλευσης μελιών (Θυμάρι, Πεύκο) με φασματοσκοπία απορρόφησης (1300-2400nm)



Εικόνα 4.61: Διάγραμμα συσχέτισης (score plot) με βάση την πρώτη, την δεύτερη και την τέταρτη λανθάνουσα μεταβλητή για τον διαχωρισμό της βοτανικής προέλευσης μελιών (Θυμάρι, Πεύκο) με φασματοσκοπία απορρόφησης (1300-2400nm)

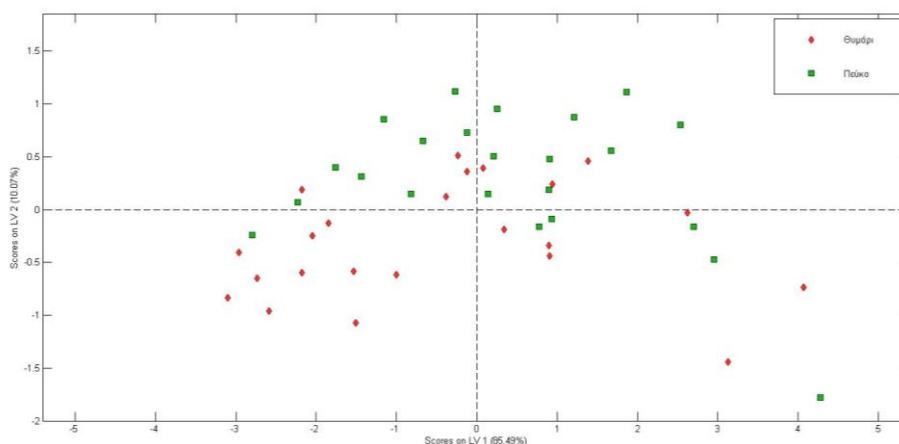
Πίνακας 4.20: Πίνακας κατάταξης μελιών (Θυμάρι, Πεύκο)

	Θυμάρι	Πεύκο
Πρόβλεψη ως θυμάρι	19	4
Πρόβλεψη ως πεύκο	4	19
Ορθή Ταξινόμηση %	82,60%	82,60%

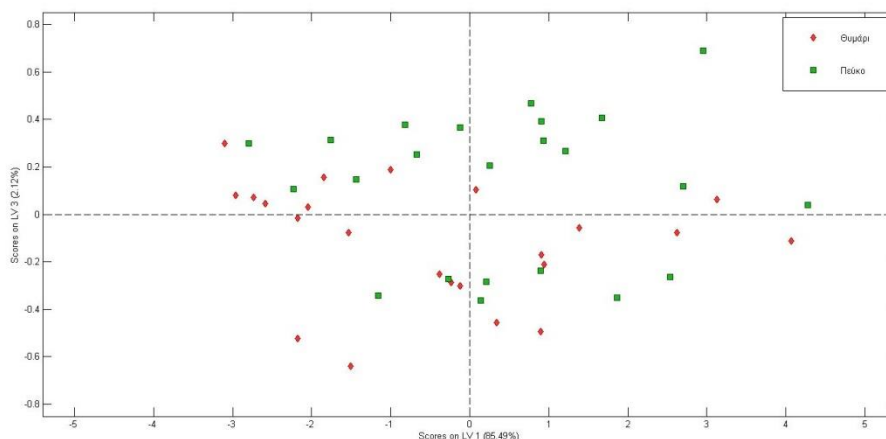


Εικόνα 4.62: Loading plots για την πρώτη, την δεύτερη, την τρίτη και την τέταρτη λανθάνουσα μεταβλητή

Το τρίτο μοντέλο εκπαιδεύτηκε με τα φασματοσκοπικά δεδομένα στην περιοχή 200-500nm. Από την προβολή των δειγμάτων στην πρώτη λανθάνουσα μεταβλητή, η οποία περιγράφει το 85,49% της διακύμανσης των φασματοσκοπικών δεδομένων, με την δεύτερη λανθάνουσα μεταβλητή προκύπτει το score plot της εικόνας 4.63 και με την προβολή στην τρίτη λανθάνουσα μεταβλητή προκύπτει το score plot της εικόνας 4.64. Παρατηρείται ένας ικανοποιητικός διαχωρισμός των μελιών από πεύκο και από θυμάρι ο οποίος οφείλεται στην δεύτερη και τρίτη λανθάνουσα μεταβλητή. Στον πίνακα κατάταξης, όπως φαίνεται, η επιτυχία του μοντέλου είναι καλύτερη σε σχέση και με τα δύο προηγούμενα μοντέλα για τα μέλια από θυμάρι και από πεύκο. Ο παραπάνω διαχωρισμός βάσει του loading plot της δεύτερης λανθάνουσας μεταβλητής οφείλεται στην απορρόφηση των ενώσεων με μέγιστο στα 280nm ενώ ο διαχωρισμός στην τρίτη λανθάνουσα μεταβλητή οφείλεται στην απορρόφηση των ουσιών στην περιοχή 200-240nm και 280-320nm. Λόγω του εκτεταμένου εύρους δεν μπορεί να γίνει περαιτέρω ανάθεση στις κορυφές.



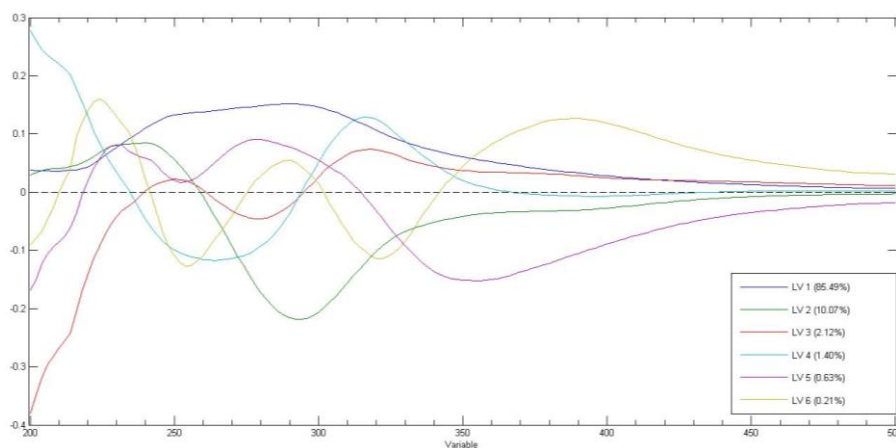
Εικόνα 4.63: Διάγραμμα συσχέτισης (score plot) με βάση την πρώτη και την δεύτερη λανθάνουσα μεταβλητή για τον διαχωρισμό της βοτανικής προέλευσης μελιών (Θυμάρι, Πεύκο) με φασματοσκοπία απορρόφησης (200-500nm)



Εικόνα 4.64: Διάγραμμα συσχέτισης (score plot) με βάση την πρώτη και την τρίτη λανθάνουσα μεταβλητή για τον διαχωρισμό της βοτανικής προέλευσης μελιών (Θυμάρι, Πεύκο) με φασματοσκοπία απορρόφησης (200-500nm)

Πίνακας 4.21: Πίνακας κατάταξης μελιών (Θυμάρι, Πεύκο)

	Θυμάρι	Πεύκο
Πρόβλεψη ως θυμάρι	20	2
Πρόβλεψη ως πεύκο	3	21
Ορθή Ταξινόμηση %	86,95%	91,30%



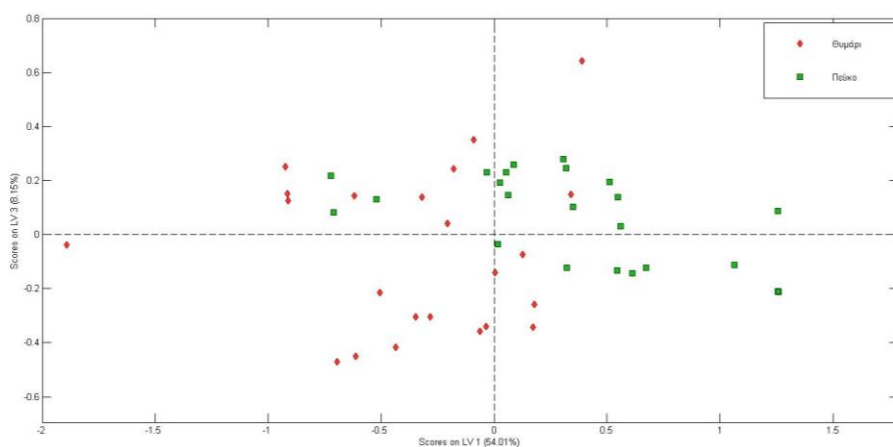
Εικόνα 4.65: Loading plots για την πρώτη, την δεύτερη, την τρίτη, την τέταρτη, την πέμπτη, και την έκτη λανθάνουσα μεταβλητή

4.6.3 Διαχωρισμός Βοτανικής Προέλευσης Θυμάρι-Πεύκο με Φασματοσκοπία ATR-FT-IR

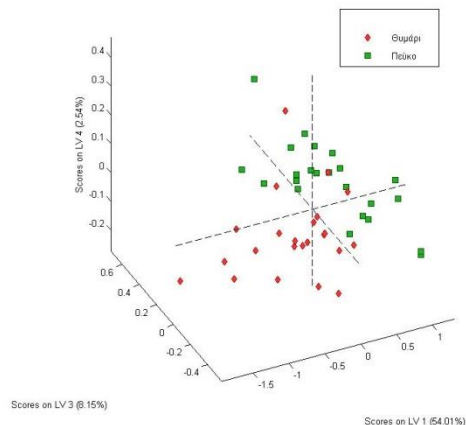
Όπως και σε άλλες τεχνικές γίνονται οι προσπάθειες να εκπαιδευτούν μοντέλα τα οποία να περιέχουν αρχικά όλη την πληροφορία που λαμβάνεται από την εκάστοτε τεχνική και σε επόμενο στάδιο να χρησιμοποιηθεί ένα μέρος της το οποίο ενδεχομένως να προσφέρει ένα καλύτερο διαχωρισμό. Στο

συγκεκριμένο διαχωρισμό εκπαιδεύτηκαν δύο μοντέλα. Το πρώτο μοντέλο PLS-DA που εκπαιδεύτηκε περιλαμβάνει τα φασματοσκοπικά δεδομένα από την φασματοσκοπία ATR-FT-IR χωρίς την πληροφορία από την περιοχή που αντιστοιχεί στο CO₂. Η προ-επεξεργασία που επιλέχθηκε για το συγκεκριμένο μοντέλο ήταν η μέθοδος smoothing σε συνδυασμό με την μέθοδο SNV και mean center, το μοντέλο συμπεριλαμβάνει 4 λανθάνουσες μεταβλητές και η αξιοπιστία του μοντέλου επιβεβαιώθηκε μέσω διασταυρούμενης επικύρωσης με τη μέθοδο Venetian-Blinds όπου δημιουργήθηκαν 11 ομάδες. Το δεύτερο μοντέλο O-PLS-DA εκπαιδεύτηκε στα φασματοσκοπικά δεδομένα της περιοχής 700-1800cm⁻¹ στο οποίο η προ-επεξεργασία που επιλέχθηκε ήταν ο συνδυασμός των μεθόδων smoothing, SNV και mean center, συμπεριλάμβανε πέντε λανθάνουσες μεταβλητές και η αξιοπιστία του μοντέλου επιβεβαιώθηκε μέσω διασταυρούμενης επικύρωσης με τη μέθοδο Venetian-Blinds όπου δημιουργήθηκαν 14 ομάδες.

Το πρώτο μοντέλο εκπαιδεύτηκε από την πρώτη λανθάνουσα μεταβλητή, όπου περιγράφει το 46,13% της διακύμανσης των φασματοσκοπικών δεδομένων, την τρίτη λανθάνουσα μεταβλητή που περιγράφει το 13,87% και την τέταρτη λανθάνουσα μεταβλητή που περιγράφει το 3,58%. Από την προβολή των δειγμάτων στην πρώτη λανθάνουσα μεταβλητή με την τρίτη λανθάνουσα μεταβλητή προκύπτει το παρακάτω διάγραμμα (εικόνα 4.66) και η τρισδιάστατη οπτική απεικόνιση φαίνεται στο διάγραμμα της εικόνας 4.67. Παρατηρείται ένας διαχωρισμός μεταξύ των δύο υπό μελέτη κατηγοριών βάσει της πρώτης λανθάνουσας μεταβλητής καθώς και λόγω της τρίτης λανθάνουσας συνιστώσας. Ωστόσο, στο τρισδιάστατο διάγραμμα, ο διαχωρισμός είναι πιο ευκρινής. Από την απεικόνιση των αποτελεσμάτων μέσω των τετραγωνικών πινάκων το μοντέλο μπορεί να προβλέψει με επιτυχία 86,95% για το μέλι από θυμάρι και 82,60% για τα μέλια από πεύκο. Σύμφωνα με το loading plot ο διαχωρισμός που προκύπτει από την πρώτη λανθάνουσα μεταβλητή, οφείλεται σε όλο το εύρος του φάσματος χωρίς να υπάρχει ξεκάθαρη εικόνα με άμεση συσχέτιση του διαχωρισμού με συγκεκριμένους κυματάρθρους. Επομένως η απόδοση του διαχωρισμού αποδίδεται σε όλες τις ουσίες που συνεισφέρουν.



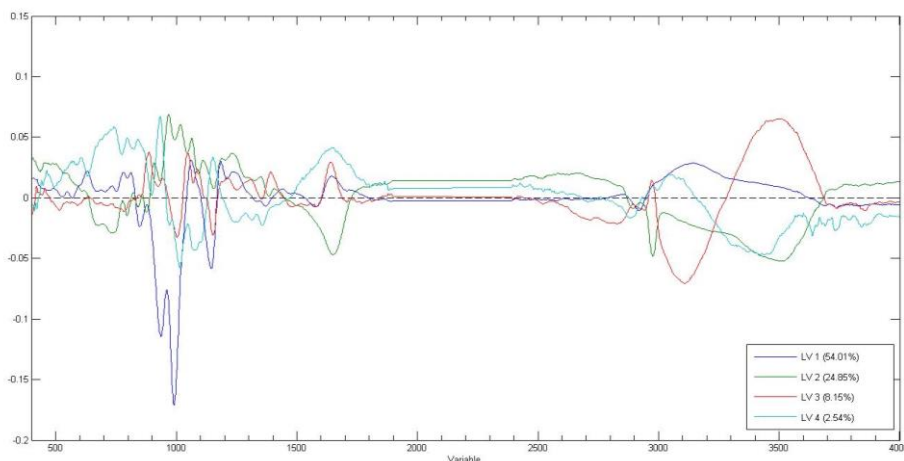
Εικόνα 4.66: Διάγραμμα συσχέτισης (score plot) με βάση την πρώτη και την τρίτη λανθάνουσα μεταβλητή για τον διαχωρισμό της βοτανικής προέλευσης μελιών (Θυμάρι, Πεύκο) με φασματοσκοπία FT-IR



Εικόνα 4.67: Διάγραμμα συσχέτισης (score plot) με βάση την πρώτη, την τρίτη και την τέταρτη λανθάνουσα μεταβλητή για τον διαχωρισμό της βοτανικής προέλευσης μελιών (Θυμάρι, Πεύκο) με φασματοσκοπία FT-IR

Πίνακας 4.22: Πίνακας κατάταξης μελιών(Θυμάρι, Πεύκο)

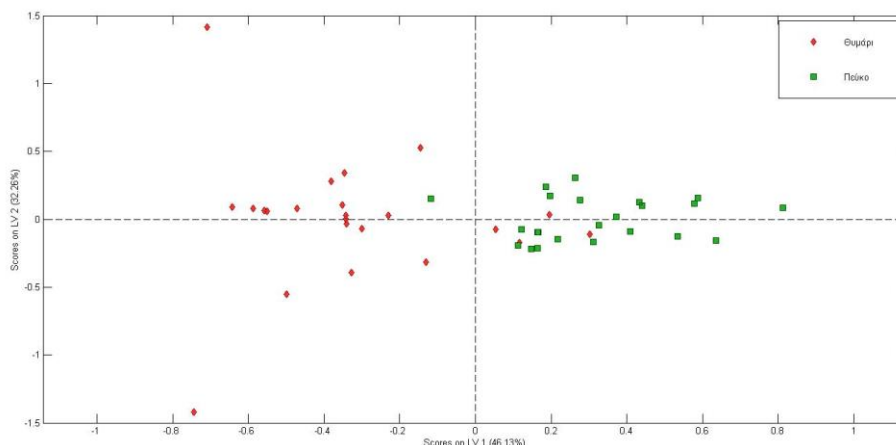
	Θυμάρι	Πεύκο
Πρόβλεψη ως θυμάρι	20	4
Πρόβλεψη ως πεύκο	3	19
Ορθή Ταξινόμηση %	86,95%	82,60%



Εικόνα 4.68: Loading plots για την πρώτη, την δεύτερη, την τρίτη και την τέταρτη λανθάνουσα μεταβλητή

Το συγκεκριμένο μοντέλο, όπως προαναφέρθηκε, περιλαμβάνει την περιοχή 700-1800cm⁻¹. Σε σχέση με το προηγούμενο μοντέλο που εκπαιδεύτηκε υπάρχει μια καλύτερη οπτική απεικόνιση των αποτελεσμάτων από την προβολή των δειγμάτων στην πρώτη παράλληλη λανθάνουσα μεταβλητή με την δεύτερη ορθογώνια λανθάνουσα μεταβλητή. Ωστόσο, από τον πίνακα κατάταξης το ποσοστό επιτυχίας βελτιώθηκε μόνο για την κατηγορία των

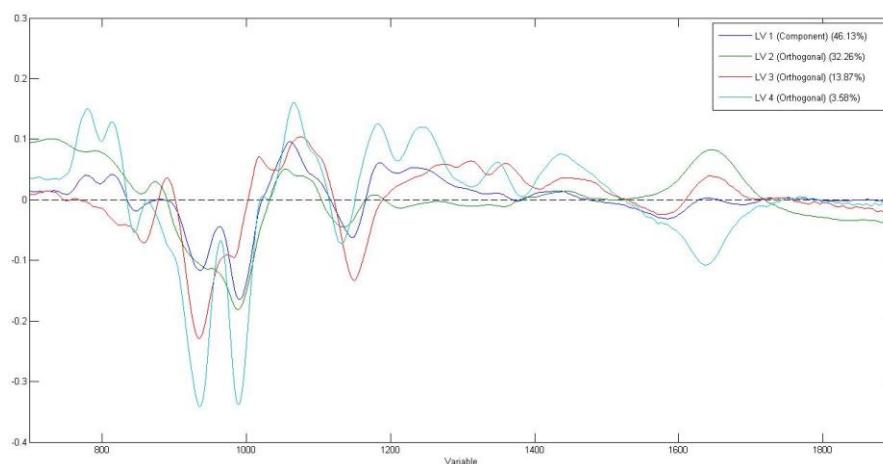
μελιών από πεύκο, ενώ για την κατηγορία του θυμαριού το ποσοστό επιτυχίας ήταν μόλις 78,26%. Από την συνεισφορά των αντίστοιχων loading plot παρατηρούνται οι περιοχές στα 919cm^{-1} , 994cm^{-1} και 1030cm^{-1} οι οποίες σχετίζονται με δονήσεις δεσμών στα σάκχαρα και στη πιο συγκεκριμένα στη γλυκόζη.



Εικόνα 4.69: Διάγραμμα συσχέτισης (score plot) με βάση την πρώτη και την τρίτη λανθάνουσα μεταβλητή για τον διαχωρισμό της βοτανικής προέλευσης μελιών (Θυμαρί, Πεύκο) με φασματοσκοπία FT-IR ($700\text{-}1800\text{ cm}^{-1}$)

Πίνακας 4.23: Πίνακας κατάταξης μελιών (Θυμαρί, Πεύκο)

	Θυμαρί	Πεύκο
Πρόβλεψη ως θυμάρι	18	1
Πρόβλεψη ως πεύκο	5	22
Ορθή Ταξινόμηση %	78,26%	95,65%

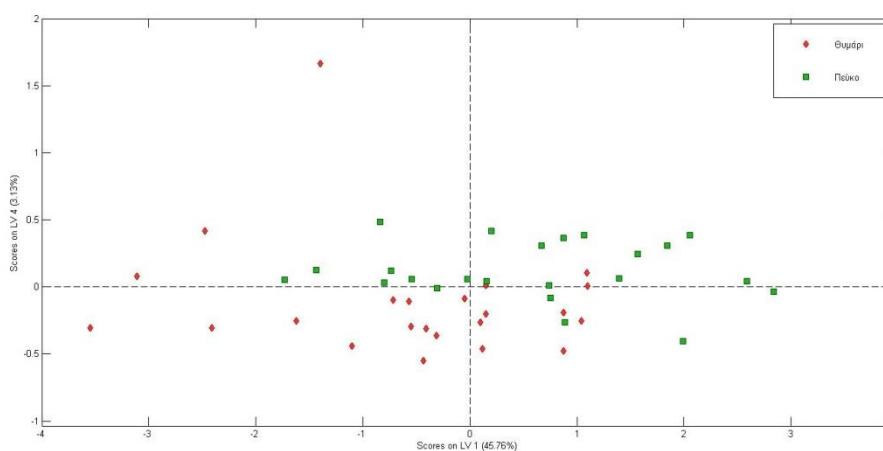


Εικόνα 4.70: Loading plots για την πρώτη, την δεύτερη, την τρίτη και την τέταρτη λανθάνουσα μεταβλητή

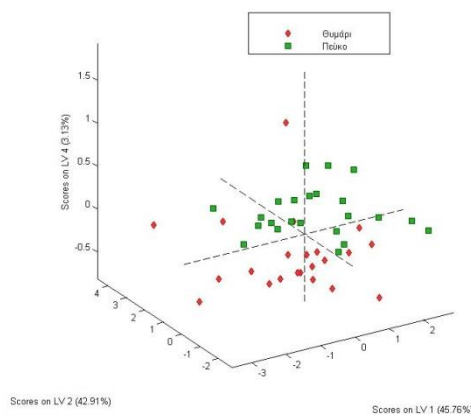
4.6.4 Διαχωρισμός Βοτανικής Προέλευσης Θυμαρί-Πεύκο με Φασματοσκοπία φθορισμού

Με τα φασματοσκοπικά δεδομένα του φθορισμού εκπαιδεύτηκε μοντέλο PLS-DA όπου χρησιμοποιήθηκε η πληροφορία από ένα φάσμα σύγχρονης σάρωσης με $\Delta\lambda=50\text{nm}$. Η προ-επεξεργασία των δεδομένων που επιλέχθηκε και για τα δύο μοντέλα ήταν ο συνδυασμός μεθόδων mean center. Στο μοντέλο επιλέχθηκαν επτά λανθάνουσες μεταβλητές και η αξιοπιστία του μοντέλου ελέγχθηκε μέσω διασταυρούμενης επικύρωσης με τη μέθοδο Venetian-Blinds με την δημιουργία 10 ομάδων.

Από την διαχωριστική ανάλυση με προβολή των δειγμάτων της πρώτης με την τρίτη λανθάνουσα μεταβλητή και με την τέταρτη λανθάνουσα μεταβλητή προέκυψαν τα διαγράμματα των εικόνων 4.71 και 4.72. Διακρίνεται ο ικανοποιητικός διαχωρισμός των μελιών από θυμαρί και από πεύκο βάσει της τρίτης λανθάνουσας μεταβλητής. Από την απεικόνιση των αποτελεσμάτων μέσω των τετραγωνικών πινάκων προκύπτει ότι η πρόβλεψη των δειγμάτων μελιού από άνθη και μελιτώματα μπορεί να πραγματοποιηθεί με ποσοστό επιτυχίας του μοντέλου 91,30% και για τις δύο κατηγορίες.



Εικόνα 4.71: Διάγραμμα συσχέτισης (score plot) με βάση την πρώτη και την τέταρτη λανθάνουσα μεταβλητή για τον διαχωρισμό της βοτανικής προέλευσης μελιών (Θυμαρί, Πεύκο) με φασματοσκοπία φθορισμού



Εικόνα 4.72: Διάγραμμα συσχέτισης (score plot) με βάση την πρώτη, την δεύτερη και την τέταρτη λανθάνουσα μεταβλητή για τον διαχωρισμό της βοτανικής προέλευσης μελιών (Θυμαρί, Πεύκο) με φασματοσκοπία φθορισμού

Πίνακας 4.24: Πίνακας κατάταξης μελιών (Θυμαρί, Πεύκο)

	Θυμαρί	Πεύκο
Πρόβλεψη ως θυμάρι	21	2
Πρόβλεψη ως πεύκο	2	21
Ορθή Ταξινόμηση %	91,30%	91,30%

4.7 Συσχέτιση φασματοσκοπικών δεδομένων απορρόφησης με άλλες μεθόδους

Τα φασματοσκοπικά δεδομένα μπορούν να συσχετιστούν με πιο ακριβή δεδομένα προερχόμενα από άλλες αναλυτικές τεχνικές που παρέχουν εξειδικευμένη πληροφορία, στοχεύοντας στον προσδιορισμό συγκεκριμένων ιδιοτήτων. Στη συγκεκριμένη μελέτη θα πραγματοποιηθεί η συσχέτιση της φασματοσκοπίας απορρόφησης με την ηλεκτρική αγωγιμότητα και τον δείκτη HMF.

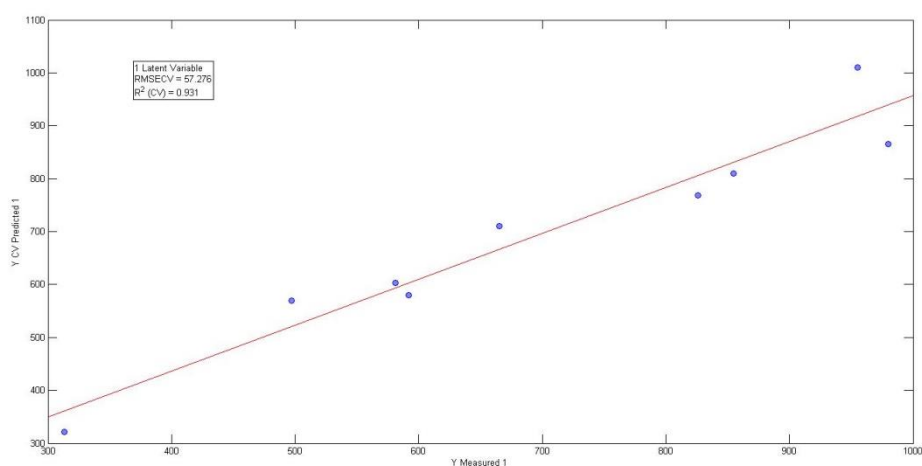
4.7.1 Συσχέτιση φασματοσκοπικών δεδομένων απορρόφησης με την ηλεκτρική αγωγιμότητα

Η ηλεκτρική αγωγιμότητα αποτελεί ένα ποιοτικό κριτήριο του μελιού και σχετίζεται με τα μεταλλικά άλατα, τα οργανικά οξέα και τις πρωτεΐνες του μελιού και χρησιμοποιείται για την διάκριση των μελιών που προέρχονται από το νέктar από εκείνο των μελιτωμάτων. Για τον προσδιορισμό αυτής της παραμέτρου πραγματοποιείται μέτρηση της αντίστασης ενός διαλύματος αποσταγμένου νερού και μελιού με τη βοήθεια αγωγιμόμετρου. Η αγωγιμότητα καταγράφεται σε μονάδες mS/cm. Οι μετρήσεις ηλεκτρικής αγωγιμότητας

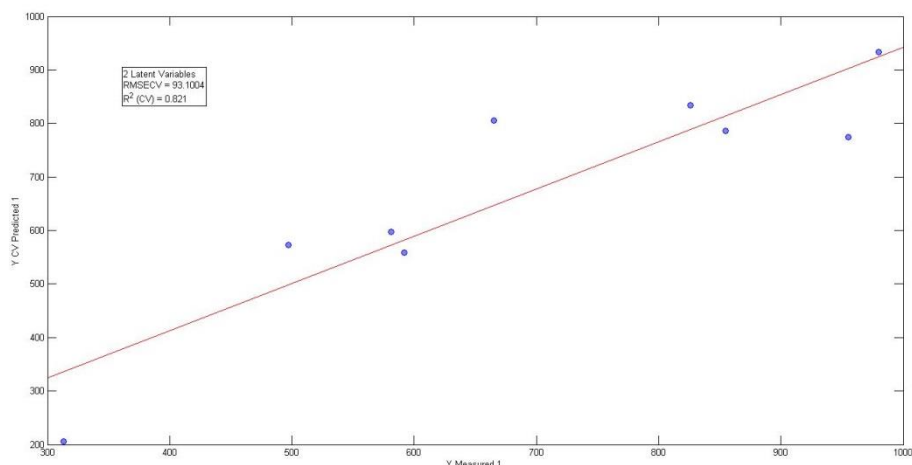
πραγματοποιήθηκαν από το εργαστήριο ΧΗΜΙΚΟΤΕΧΝΙΚΗ σε 9 δείγματα μελιού.

Από τα φασματοσκοπικά δεδομένα από την απορρόφηση στην περιοχή 200-2400nm και στην περιοχή 200-500nm όπου έχει πραγματοποιηθεί η αραίωση στο δείγμα εκπαιδεύτηκαν δύο μοντέλα με την μέθοδο PLS. Η προ-επεξεργασία που επιλέχθηκε για το συγκεκριμένο μοντέλο ήταν η μέθοδος mean center, συμπεριλαμβάνει 1 λανθάνουσα μεταβλητή και η αξιοπιστία του μοντέλου επιβεβαιώθηκε μέσω διασταυρούμενης επικύρωσης με τη μέθοδο Venetian-Blinds όπου δημιουργήθηκαν 3 ομάδες. Το δεύτερο μοντέλο PLS που εκπαιδεύτηκε επιλέχθηκε η προ-επεξεργασία που ήταν η μέθοδος mean center, συμπεριλάμβανε 2 λανθάνουσες μεταβλητές και η αξιοπιστία του μοντέλου επιβεβαιώθηκε μέσω διασταυρούμενης επικύρωσης με τη μέθοδο Venetian-Blinds όπου δημιουργήθηκαν 3 ομάδες.

Με την συγκεκριμένη μέθοδο μηχανικής μάθησης λαμβάνονται τα παρακάτω διαγράμματα (εικόνες 4.73, 4.74) όπου στον ένα άξονα είναι η μετρούμενη τιμή της ηλεκτρικής αγωγιμότητας και στον άλλο άξονα η τιμή που προβλέπει το μοντέλο. Η αξιολόγηση του συγκεκριμένου μοντέλου γίνεται με τους δείκτες R^2 και το $RMSECV$ (Root Mean Square Error Cross Validation). Όσον αφορά το πρώτο δείκτη, όσο πιο κοντά είναι στην μονάδα τόσο πιο κοντά είναι η προβλεπόμενη και η πραγματική μέτρηση και το $RMSECV$ όπου είναι το σφάλμα και όσο μικρότερη είναι η τιμή του τόσο πιο αξιόπιστο είναι το μοντέλο. Στα παρακάτω διαγράμματα η συσχέτιση των φασματοσκοπικών δεδομένων με την ηλεκτρική αγωγιμότητα είναι σε αρκετά ικανοποιητικό βαθμό με το πρώτο μοντέλο που περιλαμβάνει την περιοχή 200-2400 nm να είναι πιο αξιόπιστο.



Εικόνα 4.73: Διάγραμμα συσχέτισης φασματοσκοπικών δεδομένων απορρόφησης (200-2400nm) με την τιμή ηλεκτρικής αγωγιμότητας



Εικόνα 4.74: Διάγραμμα συσχέτισης φασματοσκοπικών δεδομένων απορρόφησης (200-500nm) με την τιμή ηλεκτρικής αγωγιμότητας

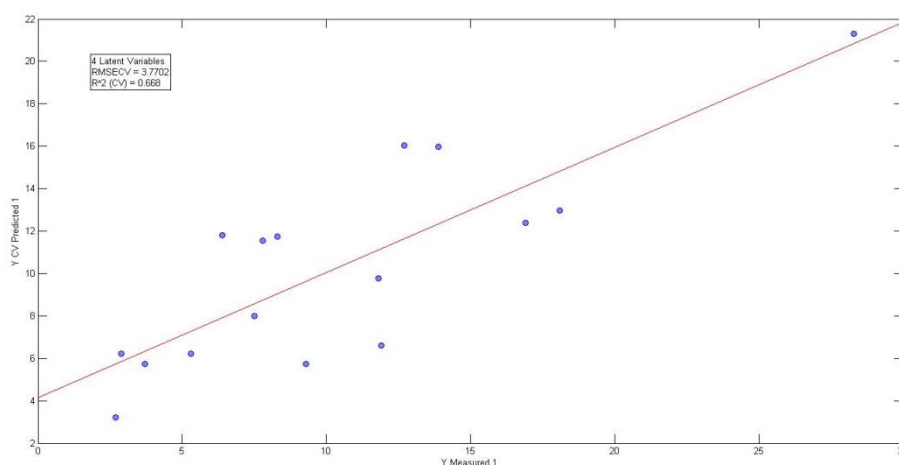
4.7.2 Συσχέτιση Φασματοσκοπικών δεδομένων απορρόφησης με τον δείκτη HMF

Ο δείκτης HMF είναι από τους σημαντικότερους παράγοντες ποιότητας, καθώς αποτελεί δείκτη φρεσκότητας του μελιού. Το φρέσκο μέλι περιέχει ελάχιστη ποσότητα HMF, η οποία αυξάνεται κατά την αποθήκευση, ανάλογα με το pH του μελιού και των θερμοκρασιών αποθήκευσης. Ορισμένοι εθνικοί οργανισμοί (π.χ. γερμανικός, βελγικός, αυστριακός, ιταλικός και ισπανικός) έχουν καθορίσει ανώτατο όριο τα 15 mg/Kg για το λεγόμενο μέλι ποιότητας. Η ευρωπαϊκή οδηγία έχει ως όριο τα 40 mg/Kg, με εξαίρεση το μέλι δηλωμένης προέλευσης από περιοχές με τροπικό κλίμα και μείγματα των μελιών αυτών, που έχει όριο τα 80 mg/Kg. Και εδώ, όπως και στην περίπτωση της διάστασης, η οδηγία αναφέρεται στο περιεχόμενο καθ' όλη την εμπορική ζωή του μελιού. Για τον προσδιορισμό του HMF απαιτούνται τα αντιδραστήρια που χρησιμοποιούνται να είναι Carrez I (σιδηροκυανιούχο καλίο 15% w/v), Carrez II (οξικός ψευδάργυρος 30% w/v), διάλυμα όξινου θειώδους νατρίου 0,20% w/v. Για τον προσδιορισμό της HMF ζυγίζεται μια ποσότητα μελιού και διαλύονται με απιονισμένο νερό. Στο διάλυμα προστίθενται ποσότητες του διαλύματος Carrez I και διαλύματος Carrez II. Το μίγμα διηθείται και παραλαμβάνεται το διήθημα και μεταφέρεται συγκεκριμένος όγκος διηθήματος. Μεταφέρονται σε δύο δοκιμαστικούς σωλήνες 18x150 mm στους οποίους προστίθενται νερό στο ένα (δείγμα) και 0,20% όξινου θειώδους νατρίου στον άλλο (τυφλό). Αναμιγνύονται με μηχανική ανάδευση (vortex) και καταγράφεται η απορρόφηση του δείγματος ως προς το τυφλό, στα 284 και 336 nm με κυψελίδα 1 cm σε φασματοφωτόμετρο.

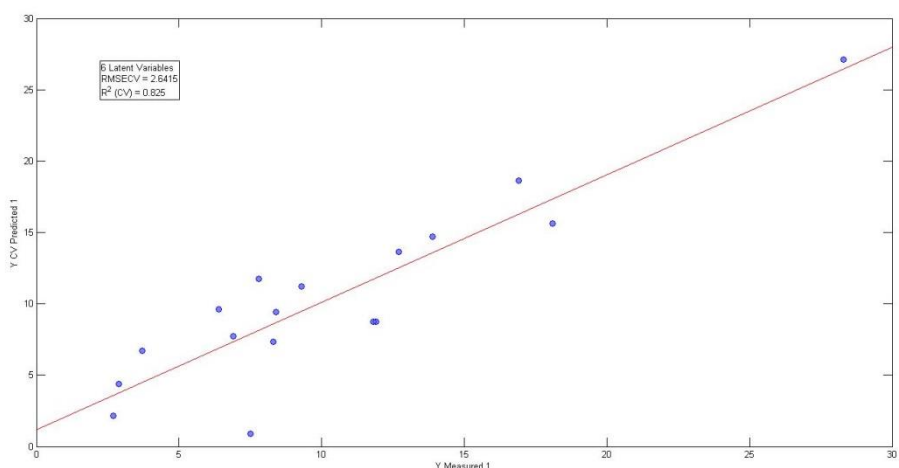
Τα φασματοσκοπικά δεδομένα από την απορρόφηση στην περιοχή 200-2400nm (όπου χρησιμοποιήθηκε η περιοχή 200-700nm για την εκπαίδευση του μοντέλου) και στην περιοχή 200-500nm όπου έχει πραγματοποιηθεί η αραιώση στο δείγμα χρησιμοποιήθηκαν για την εκπαίδευση δύο μοντέλων με την μέθοδο

PLS. Η προ-επεξεργασία που επιλέχθηκε για το πρώτο μοντέλο ήταν η μέθοδος mean center, συμπεριλαμβάνει 4 λανθάνουσες μεταβλητές και η αξιοπιστία του μοντέλου επιβεβαιώθηκε μέσω διασταυρούμενης επικύρωσης με τη μέθοδο Venetian-Blinds όπου δημιουργήθηκαν 4 ομάδες. Για το δεύτερο μοντέλο PLS που εκπαιδεύτηκε, επιλέχθηκε η προ-επεξεργασία που ήταν η παραγωγή των δεδομένων με πολυώνυμο 1^{ου} βαθμού και την μέθοδο mean center, συμπεριλάμβανε 6 λανθάνουσες μεταβλητές και η αξιοπιστία του μοντέλου επιβεβαιώθηκε μέσω διασταυρούμενης επικύρωσης με τη μέθοδο Venetian-Blinds όπου δημιουργήθηκαν 10 ομάδες.

Τα αποτελεσμάτα από αυτά τα μοντέλα (εικόνες 4.75 , 4.76) δείχνουν μια καλή συσχέτιση των φασματοσκοπικών δεδομένων με την τιμή του δείκτη HMF με το δεύτερο μοντέλο της περιοχής 200-500nm να είναι ικανοποιητικότερο.



Εικόνα 4.75: Διάγραμμα συσχέτισης φασματοσκοπικών δεδομένων απορρόφησης (200-700nm) με τον δείκτη HMF



Εικόνα 4.76: Διάγραμμα συσχέτισης φασματοσκοπικών δεδομένων απορρόφησης (200-500nm) με τον δείκτη HMF

Βιβλιογραφία

- [1] Bravo, L. (2009). Polyphenols: Chemistry, Dietary Sources, Metabolism, and Nutritional Significance. *Nutrition Reviews*, 56(11), pp.317-333.
- [2] Vinson, J., Hao, Y., Su, X. and Zubik, L. (1998). Phenol Antioxidant Quantity and Quality in Foods: Vegetables. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46(9), pp.3630-3634.
- [3] Gheldof, N., Wang, X. and Engeseth, N. (2002). Identification and Quantification of Antioxidant Components of Honeys from Various Floral Sources. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(21), pp.5870-5877.
- [4] Viuda-Martos, M., Ruiz-Navajas, Y., Fernández-López, J. and Pérez-Álvarez, J. (2008). Functional Properties of Honey, Propolis, and Royal Jelly. *Journal of Food Science*, 73(9), pp.R117-R124.
- [5] Khoddami, A., Wilkes, M. and Roberts, T. (2013). Techniques for Analysis of Plant Phenolic Compounds. *Molecules*, 18(2), pp.2328-2375.
- [6] Sophie Trautvetter, Isabelle Koelling-Speer, Karl Speer. Confirmation of phenolic acids and flavonoids in honeys by UPLC-MS. *Apidologie*, Springer Verlag, 2009, 40 (2), pp.140-150.
- [7] Tomás-Barberán, F., Gil, M., Cremin, P., Waterhouse, A., Hess-Pierce, B. and Kader, A. (2001). HPLC-DAD-ESIMS Analysis of Phenolic Compounds in Nectarines, Peaches, and Plums. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49(10), pp.4748-4760.
- [8] Tsiapara, A., Jaakkola, M., Chinou, I., Graikou, K., Tolonen, T., Virtanen, V. and Moutsatsou, P. (2009). Bioactivity of Greek honey extracts on breast cancer (MCF-7), prostate cancer (PC-3) and endometrial cancer (Ishikawa) cells: Profile analysis of extracts. *Food Chemistry*, 116(3), pp.702-708.
- [9] Melliou, E. and Chinou, I. (2011). Chemical constituents of selected unifloral Greek bee-honeys with antimicrobial activity. *Food Chemistry*, 129(2), pp.284-290.
- [10] Karabagias, I., Badeka, A., Kontakos, S., Karabournioti, S. and Kontominas, M. (2014). Characterisation and classification of Greek pine honeys according to their geographical origin based on volatiles, physicochemical parameters and chemometrics. *Food Chemistry*, 146, pp.548-557.
- [11] Karabagias, I., Badeka, A., Kontakos, S., Karabournioti, S. and Kontominas, M. (2014). Botanical discrimination of Greek unifloral honeys with physico-chemical and chemometric analyses. *Food Chemistry*, 165, pp.181-190.

- [12] Spilioti, E., Jaakkola, M., Tolonen, T., Lipponen, M., Virtanen, V., Chinou, I., Kassi, E., Karabournioti, S. and Moutsatsou, P. (2014). Phenolic Acid Composition, Antiatherogenic and Anticancer Potential of Honeys Derived from Various Regions in Greece. *PLoS ONE*, 9(4), p.e94860.
- [13] Yao, L., Datta, N., Tomás-Barberán, F., Ferreres, F., Martos, I. and Singanusong, R. (2003). Flavonoids, phenolic acids and abscisic acid in Australian and New Zealand Leptospermum honeys. *Food Chemistry*, 81(2), pp.159-168.
- [14] Siddiqui, I. (1970). The Sugars of Honey. *Advances in Carbohydrate Chemistry and Biochemistry*, pp.285-309.
- [15]Eva Crane (1991) Honey from honeybees and other insects, *Ethology Ecology & Evolution*, 3:sup1, 100-105
- [16] Thrasyvoulou, A. and Manikis, J. (1995). Some physicochemical and microscopic characteristics of Greek unifloral honeys. *Apidologie*, 26(6), pp.441-452.
- [17] Suárez-Luque, S., Mato, I., Huidobro, J., Simal-Lozano, J. and Sancho, M. (2002). Rapid determination of minority organic acids in honey by high-performance liquid chromatography. *Journal of Chromatography A*, 955(2), pp.207-214.
- [18] MATO, I., HUIDOBRO, J., SIMAL-LOZANO, J. and SANCHO, M. (2003). Significance of Nonaromatic Organic Acids in Honey. *Journal of Food Protection*, 66(12), pp.2371-2376.
- [19] Bosi, G. and Battaglini, M. (1978). Gas Chromatographic Analysis of Free and Protein Amino Acids in Some Unifloral Honeys. *Journal of Apicultural Research*, 17(3), pp.152-166.
- [20] Kivrak, S. (2017). Analysis of Amino Acid and Phenolic Content in Honey by UPLC-ESI-MS/MS. *Honey Analysis*.
- [21] Kowalski, S., Kopuncová, M., Ciesarová, Z. and Kukurová, K. (2017). Free amino acids profile of Polish and Slovak honeys based on LC–MS/MS method without the prior derivatisation. *Journal of Food Science and Technology*, 54(11), pp.3716-3723.
- [22] Hermosín, I., Chicón, R. and Dolores Cabezudo, M. (2003). Free amino acid composition and botanical origin of honey. *Food Chemistry*, 83(2), pp.263-268.
- [23] Mejías, E. and Garrido, T. (2017). Analytical Procedures for Determining Heavy Metal Contents in Honey: A Bioindicator of Environmental Pollution. *Honey Analysis*.

- [24] Sancho, Maria & Muniategui-Lorenzo, Soledad & SÁNCHEZ, P. & Huidobro, J.F. & Simal-Lozano, Jesús. (1992). Study Of Ash In Honey. *Bee Science*.
- [25] Fallico, B., Zappalà, M., Arena, E. and Verzera, A. (2004). Effects of conditioning on HMF content in unifloral honeys. *Food Chemistry*, 85(2), pp.305-313.
- [26] Alissandrakis, E., Tarantilis, P., Harizanis, P. and Polissiou, M. (2007). Aroma investigation of unifloral Greek citrus honey using solid-phase microextraction coupled to gas chromatographic–mass spectrometric analysis. *Food Chemistry*, 100(1), pp.396-404.
- [27] Cuevas-Glory, L., Pino, J., Santiago, L. and Sauri-Duch, E. (2007). A review of volatile analytical methods for determining the botanical origin of honey. *Food Chemistry*, 103(3), pp.1032-1043.
- [28] Δρίμτζιας Ν., 2004, «Γύρη. Μελέτη, γνώση και εφαρμογή στη Μελισσογυρεολογία», Εκδόσεις Ιδιωτική, σελίδες 34-36
- [29] Louveaux, J., Maurizio, A. and Vorwohl, G. (1978). Methods of Melissopalynology. *Bee World*, 59(4), pp.139-157.
- [30] Molan, P. (1998). The limitations of the methods of identifying the floral source of honeys. *Bee World*, 79(2), pp.59-68.
- [31] Karabagias, I., Louppis, A., Kontakos, S., Drouza, C. and Papastephanou, C. (2018). Characterization and Botanical Differentiation of Monofloral and Multifloral Honeys Produced in Cyprus, Greece, and Egypt Using Physicochemical Parameter Analysis and Mineral Content in Conjunction with Supervised Statistical Techniques. *Journal of Analytical Methods in Chemistry*, 2018, pp.1-10.
- [32] Aliferis, K., Tarantilis, P., Harizanis, P. and Alissandrakis, E. (2010). Botanical discrimination and classification of honey samples applying gas chromatography/mass spectrometry fingerprinting of headspace volatile compounds. *Food Chemistry*, 121(3), pp.856-862.
- [33] Senyuva, H., Gilbert, J., Silici, S., Charlton, A., Dal, C., Gürel, N. and Cimen, D. (2009). Profiling Turkish Honeys to Determine Authenticity Using Physical and Chemical Characteristics. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57(9), pp.3911-3919.

- [34] Fearnley, L., Greenwood, D., Schmitz, M., Stephens, J., Schlothauer, R. and Loomes, K. (2012). Compositional analysis of manuka honeys by high-resolution mass spectrometry: Identification of a manuka-enriched archetypal molecule. *Food Chemistry*, 132(2), pp.948-953.
- [35] Roshan, A., Gad, H., El-Ahmady, S., Khanbash, M., Abou-Shoer, M. and Al-Azizi, M. (2013). Authentication of Monofloral Yemeni Sidr Honey Using Ultraviolet Spectroscopy and Chemometric Analysis. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 61(32), pp.7722-7729.
- [36] Airado-Rodríguez, D., Durán-Merás, I., Galeano-Díaz, T. and Wold, J. (2011). Front-face fluorescence spectroscopy: A new tool for control in the wine industry. *Journal of Food Composition and Analysis*, 24(2), pp.257-264.
- [37] Airado-Rodríguez, D., Galeano-Díaz, T., Durán-Merás, I. and Wold, J. (2009). Usefulness of Fluorescence Excitation–Emission Matrices in Combination with PARAFAC, as Fingerprints of Red Wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57(5), pp.1711-1720.
- [38] Bisutti, V., Merlanti, R., Serva, L., Lucatello, L., Mirisola, M., Balzan, S., Tenti, S., Fontana, F., Trevisan, G., Montanucci, L., Contiero, B., Segato, S. and Capolongo, F. (2019). Multivariate and machine learning approaches for honey botanical origin authentication using near infrared spectroscopy. *Journal of Near Infrared Spectroscopy*, 27(1), pp.65-74.
- [39] Ruoff, K., Luginbühl, W., Bogdanov, S., Bosset, J., Estermann, B., Ziolkó, T. and Amadó, R. (2006). Authentication of the Botanical Origin of Honey by Near-Infrared Spectroscopy. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54(18), pp.6867-6872.
- [40] Escuredo, O., Carmen Seijo, M., Salvador, J. and Inmaculada González-Martín, M. (2013). Near infrared spectroscopy for prediction of antioxidant compounds in the honey. *Food Chemistry*, 141(4), pp.3409-3414.
- [41] Guelpa, A., Marini, F., du Plessis, A., Slabbert, R. and Manley, M. (2017). Verification of authenticity and fraud detection in South African honey using NIR spectroscopy. *Food Control*, 73, pp.1388-1396.
- [42] vila, S., Hornung, P., Teixeira, G., Beux, M., Lazzarotto, M. and Ribani, R. (2018). A chemometric approach for moisture control in stingless bee honey using near infrared spectroscopy. *Journal of Near Infrared Spectroscopy*, 26(6), pp.379-388.

- [43] Herrero Latorre, C., Peña Crecente, R., García Martín, S. and Barciela García, J. (2013). A fast chemometric procedure based on NIR data for authentication of honey with protected geographical indication. *Food Chemistry*, 141(4), pp.3559-3565.
- [44] Chen, L., Xue, X., Ye, Z., Zhou, J., Chen, F. and Zhao, J. (2011). Determination of Chinese honey adulterated with high fructose corn syrup by near infrared spectroscopy. *Food Chemistry*, 128(4), pp.1110-1114.
- [45] Kędzierska-Matysek, M., Matwijczuk, A., Florek, M., Barłowska, J., Wolanciuk, A., Matwijczuk, A., Chruściel, E., Walkowiak, R., Karcz, D. and Gładyszewska, B. (2018). Application of FTIR spectroscopy for analysis of the quality of honey. *BIO Web of Conferences*, 10, p.02008.
- [46] Ruoff, K., Luginbühl, W., Künzli, R., Iglesias, M., Bogdanov, S., Bosset, J., von der Ohe, K., von der Ohe, W. and Amadò, R. (2006). Authentication of the Botanical and Geographical Origin of Honey by Mid-Infrared Spectroscopy. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54(18), pp.6873-6880.
- [47] Almeida-Muradian, L., Sousa, R., Barth, O. and Gallmann, P. (2014). PRELIMINARY DATA ON BRAZILIAN MONOFLORAL HONEY FROM THE NORTHEAST REGION USING FT-IR ATR SPECTROSCOPIC, PALYNOLOGICAL, AND COLOR ANALYSIS. *Química Nova*, 37(4).
- [48] Ruoff, K., Luginbühl, W., Künzli, R., Bogdanov, S., Bosset, J., von der Ohe, K., von der Ohe, W. and Amadò, R. (2006). Authentication of the Botanical and Geographical Origin of Honey by Front-Face Fluorescence Spectroscopy. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54(18), pp.6858-6866.
- [49] Lenhardt, L., Zeković, I., Dramićanin, T., Dramićanin, M. and Bro, R. (2014). Determination of the Botanical Origin of Honey by Front-Face Synchronous Fluorescence Spectroscopy. *Applied Spectroscopy*, 68(5), pp.557-563.
- [50] Karoui, R., Dufour, E., Bosset, J. and De Baerdemaeker, J. (2007). The use of front face fluorescence spectroscopy to classify the botanical origin of honey samples produced in Switzerland. *Food Chemistry*, 101(1), pp.314-323.
- [51] Ruoff, K., Karoui, R., Dufour, E., Luginbühl, W., Bosset, J., Bogdanov, S. and Amadò, R. (2005). Authentication of the Botanical Origin of Honey by Front-Face Fluorescence Spectroscopy. A Preliminary Study. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(5), pp.1343-1347.

[52] Damićanin, T., Lenhardt Acković, L., Zeković, I. and Damićanin, M. (2018). Detection of Adulterated Honey by Fluorescence Excitation-Emission Matrices. *Journal of Spectroscopy*, 2018, pp.1-6.

Κεφάλαιο 5: Συμπεράσματα

Κεφάλαιο 2 Οίνος

Διαχωρισμός οίνων βάση της βοτανικής τους προέλευσης

Ο διαχωρισμός οίνων με βάση της βοτανικής τους προέλευσης επιτυγχάνεται σε καλύτερο βαθμό με τα φασματοσκοπικά δεδομένα της απορρόφησης στο υπεριώδες. Η φασματοσκοπία απορρόφησης υπεριώδους είναι μια τεχνική ικανή να διαχωρίσει τις διαφορετικές ποικιλίες ερυθρών και λευκών οίνων που μελετήθηκαν σε καλύτερο βαθμό από ότι οι άλλες φασματοσκοπικές τεχνικές που μελετήθηκαν. Ο διαχωρισμός οφείλεται στο διαφορετικό φαινολικό δυναμικό της κάθε ποικιλίας. Όσον αφορά τις άλλες τεχνικές που μελετήθηκαν οι οίνοι ο διαχωρισμός επιτεύχθηκε σε μικρότερο βαθμό. Η φασματοσκοπία απορρόφησης εγγύς υπερύθρου είναι μια τεχνική μη ικανή να διαχωρίσει τους οίνους με βάση την βοτανική τους προέλευση σε ικανοποιητικό βαθμό καθώς στη συγκεκριμένη περιοχή η απορρόφηση οφείλεται στην αιθανόλη, νερό και άλλες οργανικές ενώσεις που εμπεριέχονται στους οίνους, η οποία παραμένει σταθερή ανεξαρτήτως ποικιλίας. Ωστόσο, η συγκεκριμένη τεχνική Η φασματοσκοπία φθορισμού παρόλο που εμπεριέχει πληροφορίες για το φαινολικό δυναμικό των οίνων δεν είχε τα αναμενόμενα αποτελέσματα. Αυτό μπορεί να αποδοθεί στο γεγονός ότι το στατιστικό δείγμα που μελετήθηκε ήταν σχετικά μικρό και επομένως όχι ικανό για να δημιουργήσει τις επιθυμητές κατηγοριοποιήσεις.

Κεφάλαιο 3 Ελαιόλαδο

Γεωγραφική ταξινόμηση ελαιολάδου Κρήτη-Πελοπόννησος-Λέσβος

Ο διαχωρισμός των ελαιολάδων της Κρήτης, Πελοποννήσου και της Λέσβου επιτυγχάνεται σε ικανοποιητικό βαθμό με την χρήση φασματοσκοπικών δεδομένων από διαφορετικές τεχνικές. Οι πιο ικανές τεχνικές για το διαχωρισμό των ελαιολάδων είναι η φασματοσκοπία απορρόφησης ορατού και υπερύθρου στην περιοχή 800-1600nm καθώς και η φασματοσκοπία Raman. Στις συγκεκριμένες τεχνικές σε ορισμένες κατηγορίες το ποσοστό επιτυχίας των μοντέλων είναι 100% ενώ για τις υπόλοιπες το ποσοστό επιτυχίας κυμαίνεται από 87,5% - 95%. Επιπλέον, με την φασματοσκοπία απορρόφησης στο υπεριώδες στην περιοχή 220-280nm το ποσοστό επιτυχίας του μοντέλου είναι αρκετά ικανοποιητικό καθώς κυμαίνεται από 82,5%-87,5%. Ενώ εξίσου ικανοποιητικό διαχωρισμό απέδωσε και το μοντέλο που εκπαιδεύτηκε με τα φασματοσκοπικά δεδομένα της άλλης περιοχής του υπεριώδους στην περιοχή 260-410nm καθώς το ποσοστό επιτυχίας του μοντέλου κυμαίνεται από 75%-86,66%. Όσον αφορά τις άλλες φασματοσκοπικές τεχνικές που πραγματοποιήθηκαν και τα μοντέλα που κατασκευάστηκαν η αδυναμία πρόβλεψης των μοντέλων εντοπίζεται κυρίως στα ελαιόλαδα από την Πελοπόννησο. Από την συνολική αξιολόγηση των αποτελεσμάτων προκύπτει ότι η φασματοσκοπία απορρόφησης ορατού είναι μια τεχνική ικανή να διαχωρίσει τα ελαιόλαδα με βάση την γεωγραφική τους προέλευση και ο διαχωρισμός οφείλεται στην διαφορετική σύσταση των

ελαιολάδων σε καροτενοειδή και χλωροφύλλη. Ωστόσο και η φασματοσκοπία απορρόφησης στο εγγύς υπέρυθρο αποτελεί μια αξιόπιστη τεχνική για το διαχωρισμό των ελαιολάδων με τον διαχωρισμό να οφείλεται διαχωρισμός οφείλεται στη διαφορετική σύσταση των ελαιολάδων σε λιπαρά οξέα και τριακυλογλυκερόλη. Τέλος η φασματοσκοπία Raman αποτελεί μια ικανή τεχνική να διαχωρίσει δείγματα ελαιολάδου με βάση την διαφορετική σύσταση των ελαιολάδων σε λιπαρά οξέα.

Διαχωρισμός ελαιολάδου Πελοποννήσου Μεσσηνία-Λακωνία

Για τον επιμέρους διαχωρισμό των ελαιολάδων της Πελοποννήσου στα ελαιόλαδα από Μεσσηνία και Λακωνία εκπαιδεύτηκαν μοντέλα με 100% επιτυχία πρόβλεψης με την χρήση των φασματοσκοπικών τεχνικών της φασματοσκοπίας απορρόφησης στο ορατό, στο εγγύς υπέρυθρο στην περιοχή 800-1600nm και της φασματοσκοπίας Raman. Οι συγκεκριμένες φασματοσκοπικές τεχνικές, όπως αναφέρθηκε, είχαν και το καλύτερο ποσοστό επιτυχίας στο διαχωρισμό των ελαιολάδων Κρήτης, Πελοποννήσου και Λέσβου. Ωστόσο, λόγω του μικρού στατιστικού δείγματος αυτών των επιμέρους ελαιολάδων της Πελοποννήσου ήταν δυσκολότερο να εντοπιστούν καθαρά οι επιμέρους διαφοροποιήσεις τους στην ευρύτερη κατηγοριοποίηση. Σε αυτή την διάκριση που επιτυγχάνετε προέκυψε ότι η φασματοσκοπία απορρόφησης ορατού είναι μια ικανή τεχνική να διαχωρίσει τα ελαιόλαδα με βάση την γεωγραφική τους προέλευσης και ο διαχωρισμός οφείλεται στην διαφορετική σύσταση των ελαιολάδων σε καροτενοειδή και χλωροφύλλη. Ωστόσο και η φασματοσκοπία απορρόφησης στο εγγύς υπέρυθρο αποτελεί μια αξιόπιστη τεχνική για το διαχωρισμό των ελαιολάδων με τον διαχωρισμό να οφείλεται διαχωρισμός οφείλεται στη διαφορετική σύσταση των ελαιολάδων σε λιπαρά οξέα και τριακυλογλυκερόλη όπως και η φασματοσκοπία Raman αποτελεί μια εξίσου ικανή τεχνική να διαχωρίσει δείγματα ελαιολάδου με βάση την διαφορετική σύσταση των ελαιολάδων σε λιπαρά οξέα. Παρόλα αυτά ο διαχωρισμός αυτών των κατηγοριών επιτυγχάνετε σε ικανοποιητικό βαθμό και με άλλες φασματοσκοπικές τεχνικές όπως με την φασματοσκοπία φθορισμού όπου το φαινολικό δυναμικό των ελαιολάδων παίζει σημαντικό ρόλο στη διαχωρισμό καθώς τα δύο μοντέλα που εκπαιδεύτηκαν είχαν ποσοστό επιτυχίας 100% για τα ελαιόλαδα από Μεσσηνία και 75% για τα ελαιόλαδα της Λακωνίας.

Διαχωρισμός ελαιολάδου Κρήτης Ηράκλειο-Λασιθι-Χανιά-Ρέθυμνο

Ο διαχωρισμός των ελαιολάδων των νομών της Κρήτης με την χρήση φασματοσκοπικών δεδομένων αποτελεί ένα επίτευγμα για πρώτη φορά. Ο διαχωρισμός των ελαιολάδων δεν επιτυγχάνετε σε ικανοποιητικό βαθμό με όλες τις φασματοσκοπικές τεχνικές που μελετήθηκαν. Ο πιο ικανοποιητικός διαχωρισμός πραγματοποιήθηκε με την εκπαίδευση των μοντέλων με τα φασματοσκοπικά δεδομένα της φασματοσκοπίας Raman. Το μοντέλο που δημιουργήθηκε είχε επιτυχία πρόβλεψης από 77,77% έως 100% για τις επιμέρους κατηγορίες. Ο διαχωρισμός οφείλεται στη διαφορετική σύσταση των υπό μελέτη ελαιολάδων σε λιπαρά οξέα. Η φασματοσκοπία φθορισμού δεν ήταν ικανή να διαχωρίσει τα ελαιόλαδα από το νομό Χανίων, όμως για τους

υπόλοιπους τρεις νομούς το ποσοστό επιτυχίας κυμαινόταν από 75% έως 85,71% υποδεικνύοντας ότι το φαινολικό δυναμικό των ελαιολάδων είναι μοναδικό.

Διάκριση ελαιολάδου Λέσβου Κορωνέικη-Κολοβή

Η επιμέρους διάκριση των ελαιολάδων της Λέσβου έγινε βάση των δύο χαρακτηριστικών ποικιλιών της Λέσβου την κορωνέικη και την κολοβή. Οι φασματοσκοπικές τεχνικές που ήταν ικανές να διαχωρίσουν καλύτερα τις δύο ποικιλίες ήταν η φασματοσκοπία απορρόφησης υπεριώδους στην περιοχή 260-410nm, ορατού και η φασματοσκοπία φθορισμού. Με την φασματοσκοπία φθορισμού εκπαιδεύτηκαν δύο μοντέλα εκ των οποίων το μοντέλο που περιλάμβανε και την χλωροφύλλη είχε ποσοστό επιτυχίας 100% και για τις δύο ποικιλίες. Το άλλο μοντέλο καθώς και τα μοντέλα που εκπαιδεύτηκαν με τα φασματοσκοπικά δεδομένα της φασματοσκοπίας απορρόφησης υπεριώδους στην περιοχή 260-410nm και ορατού είχαν ποσοστό επιτυχίας 100% για την Κορωνέικη ποικιλία και 88,88% για την Κολοβή. Η φασματοσκοπία Raman έδειξε να έχει ικανοποιητικά αποτελέσματα στο διαχωρισμό των ελαιολάδων των δύο ποικιλιών καθώς τα ποσοστά επιτυχίας του μοντέλου με την συγκεκριμένη τεχνική ήταν 80% για την κορωνέικη ποικιλία και 88,88% για την κολοβή.

Κεφάλαιο 4 Μέλι

Διαχωρισμός Βοτανικής Προέλευσης Ανθέων- Μελιτωμάτων

Ο διαχωρισμός των μελιών στις ευρύτερες κατηγορίες ανθέων και μελιτωμάτων επιτυγχάνεται σε ένα ικανοποιητικό ποσοστό σχεδόν με όλες τις φασματοσκοπικές τεχνικές που μελετήθηκαν. Η πιο ικανή τεχνική ήταν η φασματοσκοπία απορρόφησης στην 200-2400nm και το μοντέλο που εκπαιδεύτηκε με τα φασματοσκοπικά δεδομένα της περιοχής 200-500nm. Το ποσοστό επιτυχίας του συγκεκριμένου μοντέλου ήταν 93,22% για την κατηγορία των ανθέων και 91,30% για την κατηγορία των μελιτωμάτων. Ο διαχωρισμός οφείλεται στο διαφορετικό φαινολικό δυναμικό των μελιών σε αυτές τις κατηγορίες. Με την φασματοσκοπία απορρόφησης στο υπεριώδους, αφού είχε προηγηθεί αραίωση, μελετήθηκαν εξίσου τα δείγματα μελιού και τα ποσοστά επιτυχίας του μοντέλου ήταν σε παρόμοια επίπεδα. Επίσης, η φασματοσκοπία φθορισμού ήταν εξίσου ικανή να διαχωρίσει σε ένα ικανοποιητικό ποσοστό τα μέλια των δύο κατηγοριών. Τα ποσοστά επιτυχίας του μοντέλου που περιλάμβανε μόλις δύο φάσματα σύγχρονης σάρωσης ήταν 91,53% και 91,30% για τις κατηγορίες άνθη και μελιτώματα, αντίστοιχα. Ο παρατηρούμενος διαχωρισμός με βάση αυτά τα δύο φάσματα σύγχρονης σάρωσης οφείλεται στο φαινολικό περιεχόμενο των μελιών. Τα κοντινά αποτελέσματα αυτών των δυο μοντέλων επιβεβαιώνουν ότι το φαινολικό δυναμικό των δύο κατηγοριών είναι ικανό να διαχωρίσει αυτές τις δύο κατηγορίες. Οι φασματοσκοπία απορρόφησης στο εγγύς υπέρυθρο όπως και η φασματοσκοπία FT-IR δεν απέδωσαν τόσο υψηλά ποσοστά επιτυχίας, όπως οι προηγούμενες τεχνικές, όμως τα ποσοστά επιτυχίας των μοντέλων

κυμαίνονταν από 78,26% έως 91,53% υποδεικνύοντας την δυναμικότητα τους στο διαχωρισμό των μελιών.

Διαχωρισμός Βοτανικής Προέλευσης Άνθη- Θυμαρί

Ο διαχωρισμός των θυμαρίσιων μελιών από τα υπόλοιπα άνθη πραγματοποιήθηκε πιο ικανοποιητικά με την φασματοσκοπία υπέρυθρου με μετασχηματισμό Fourier. Με τα φασματοσκοπικά δεδομένα της τεχνικής εκπαιδεύτηκαν τρία μοντέλα και η πιο καθοριστική περιοχή για τον διαχωρισμό των θυμαρίσιων μελιών από τα άνθη ήταν η περιοχή $2400-4000\text{cm}^{-1}$ όπου και το μοντέλο είχε ποσοστό επιτυχίας 100% για την κατηγορία των θυμαρίσιων και 95,55% για τα άνθη. Ωστόσο και η εκπαίδευση των υπόλοιπων μοντέλων είχε αξιολογα αποτελεσμάτα αφού το ποσοστό επιτυχίας του κυμαινόταν από 84,44% έως 91,30%. Οι διαφορές των θυμαρίσιων μελιών οφείλονται στη διαφορετική τους σύσταση σε σάκχαρα και φαινολικών ουσιών και λόγω διαφορετικού ποσοστού υγρασίας. Επιπλέον, οι φασματοσκοπίες απορρόφησης στο υπεριώδες έδειξαν ικανές να διακρίνουν τα θυμαρίσια μέλια από τα άνθη, αφού τα ποσοστά επιτυχίας των μοντέλων κυμαίνονταν από 80,00% έως 91,11%. Σύμφωνα με αυτό το αποτέλεσμα το φαινολικό δυναμικό των θυμαρίσιων μελιών δείχνει να διαφοροποιείται από τα υπόλοιπα των ανθέων. Ωστόσο, η φασματοσκοπία φθορισμού δεν κατάφερε να διαχωρίσει τα θυμαρίσια μέλια σε τόσο μεγάλο ποσοστό επιτυχίας όσο οι άλλες τεχνικές που μελετήθηκαν.

Διαχωρισμός Βοτανικής Προέλευσης Θυμαρί-Πεύκο

Ο επιμέρους διαχωρισμός των θυμαρίσιων μελιών από αυτά που προέρχονται από Πεύκο πραγματοποιήθηκε με σκοπό την εύρεση της βέλτιστης τεχνικής και μοντέλου για την ταυτοποίηση σε επόμενο στάδιο μελιών πευκοθυμαρόμελου. Για αυτό από το αρχική κατηγοριοποίηση άνθη και μελιτώμματα απομονώθηκαν τα δείγματα της συγκεκριμένης βοτανικής προέλευσης. Όπως και στην αρχική κατηγοριοποίηση άνθη μελιτώμματα ο διαχωρισμός επιτυγχάνετε σε ένα ικανοποιητικό ποσοστό με την χρήση των φασματοσκοπικών δεδομένων από την φασματοσκοπίας απορρόφησης υπεριώδους και με τις δύο τεχνικές. Το ποσοστό επιτυχίας των συγκεκριμένων μοντέλων κυμαίνονταν από 86,95% έως 91,30%. Ωστόσο, στη συγκεκριμένη κατηγοριοποίηση η φασματοσκοπία φθορισμού είχε τα υψηλότερα ποσοστά επιτυχίας πρόβλεψης με 91,30% για την κάθε κατηγοριοποίηση υποδεικνύοντας το φαινολικό δυναμικό της κάθε ποικιλίας αλλά και την περιοχή των αρωματικών αμινοξέων ως την κύρια διαφοροποίηση των δειγμάτων από θυμαρί και από Πεύκο. Οι φασματοσκοπία απορρόφησης στο εγγύς υπέρυθρο όπως και η φασματοσκοπία FT-IR δεν απέδωσαν τόσο υψηλά ποσοστά επιτυχίας, όπως οι προηγούμενες τεχνικές, όμως τα ποσοστά επιτυχίας των μοντέλων κυμαίνονταν σε ικανοποιητικά ποσοστά.

Συσχέτιση φασματοσκοπικών δεδομένων απορρόφησης με την ηλεκτρική αγωγιμότητα

Τα φασματοσκοπικά δεδομένα της απορρόφησης συσχετίστηκαν με την ηλεκτρική αγωγιμότητα και προέκυψαν δύο ικανοποιητικά μοντέλα πρόβλεψης της ηλεκτρικής αγωγιμότητας. Τα αποτελέσματα υποδεικνύουν την δυνατότητα των φασματοσκοπικών δεδομένων σε συνδυασμό με μοντέλα μηχανικής μάθησης να προβλέψουν ποιοτικά χαρακτηριστικά των δειγμάτων μελιών. Με σκοπό το συγκεκριμένο μοντέλο να επιβεβαιωθεί περαιτέρω απαραίτητο κρίνεται το μεγαλύτερο στατιστικό δείγμα.

Συσχέτιση Φασματοσκοπικών δεδομένων απορρόφησης με τον δείκτη HMF

Τα φασματοσκοπικά δεδομένα της απορρόφησης συσχετίστηκαν με ένα ποιοτικό κριτήριο των μελιών, το δείκτη HMF. Από την συσχέτιση προέκυψαν δύο ικανοποιητικά μοντέλα πρόβλεψης του δείκτη HMF.