

ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΚΡΗΤΗΣ

ΤΜΗΜΑ ΧΗΜΕΙΑΣ

ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ

**ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ
ΦΩΤΟΝΙΚΗΣ ΓΙΑ ΤΗΝ ΑΓΡΟΔΙΑΤΡΟΦΗ ΚΑΙ ΤΟ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝ
ΙΗΔΛ-ΙΤΕ**



ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΟ ΔΙΠΛΩΜΑ ΕΙΔΙΚΕΥΣΗΣ

**ΜΕΛΕΤΗ ΕΦΑΡΜΟΓΗΣ ΤΗΣ ΟΠΤΙΚΗΣ
ΦΑΣΜΑΤΟΣΚΟΠΙΑΣ ΣΕ ΣΥΝΔΥΑΣΜΟ ΜΕ ΜΕΘΟΔΟΥΣ
ΠΟΛΥΠΑΡΑΓΟΝΤΙΚΗΣ ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗΣ ΑΝΑΛΥΣΗΣ ΣΤΟΝ
ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟ ΤΗΣ ΠΡΟΕΛΕΥΣΗΣ ΚΑΙ ΤΗΣ
ΠΟΙΟΤΗΤΑΣ ΠΡΟΪΟΝΤΩΝ ΑΓΡΟΔΙΑΤΡΟΦΗΣ**

Ρενάτε Κοντζεδάκη

ΗΡΑΚΛΕΙΟ 2019

**UNIVERSITY OF CRETE
DEPARTMENT OF CHEMISTRY**

GENERAL POSTGRADUATE PROGRAMME

**LABORATORY
PHOTONICS FOR AGROFOOD AND ENVIRONMENT
IESL FORTH**



Master Thesis

**APPLICATION OF SPECTROSCOPIC TECHNIQUES
COUPLED WITH MULTIVARIATE STATISTICAL
ANALYSIS FOR THE ORIGIN DISCRIMINATION AND
QUALITY CONTROL OF AGROFOODS**

Renate Kontzedaki

HERAKLION 2019

Εξεταστική Επιτροπή

Απόστολος Κ. Ρίζος

Καθηγητής Τμήματος Χημείας Πανεπιστημίου Κρήτης (Επιβλέπων)

Μιχάλης Βελεγράκης

Διευθυντής Ερευνών Ινστιτούτου Ηλεκτρονικής Δομής & Λειζερ, ΙΤΕ (Συνεπιβλέπων)

Απόστολος Σπύρος

Αναπληρωτής Καθηγητής Τμήματος Χημείας Πανεπιστημίου Κρήτης

Ευχαριστίες

Το παρόν μεταπτυχιακό δίπλωμα ειδίκευσης πραγματοποιήθηκε στο Ινστιτούτο Ηλεκτρονικής Δομής και Λείζερ του Ιδρύματος Τεχνολογίας και Έρευνας υπό την επιστημονική επίβλεψη του Διευθυντή Ερευνών Βελεγράκη Μιχάλη και τη συνεπίβλεψη του Καθηγητή του Τμήματος Χημείας Ρίζου Απόστολου.

Θα ήθελα να εκφράσω τις ευχαριστίες μου στον υπεύθυνο της ερευνητικής μου εργασίας Μιχάλη Βελεγράκη για την ανάθεση της συγκεκριμένης εργασίας, τη συνεχή του καθοδήγηση, το ενδιαφέρον του αλλά και τον χρόνο που διέθεσε για την διεκπεραίωση της εργασίας μου. Πολλές ευχαριστίες θα ήθελα να δώσω στον καθηγητή του Τμήματος Χημείας Απόστολο Ρίζο και στον αναπληρωτή καθηγητή του Τμήματος Χημείας Απόστολο Σπύρο, οι οποίοι μέσω των επιστημονικών τους συμβουλών με βοήθησαν στην συγγραφή της εργασίας.

Ιδιαίτερες ευχαριστίες θα ήθελα να απευθύνω στον διδάκτωρ Άγγελο Φιλιππίδη, την διδάκτωρ Κατερίνα Ζουμή και την Κατερίνα Σταματάκη για την καθοριστική και πολύτιμη βοήθεια τους και τον χρόνο που αφιέρωσαν κατά την εκτέλεση του εργαστηριακού μέρους αλλά και για τις συμβουλές και τις γνώσεις τους κατά την συγγραφή της εργασίας. Φυσικά, θα ήθελα να ευχαριστήσω τους συνεργάτες Μανώλη Ορφανάκη και Γιώργο Σταυρακάκη για τη συμβολή τους και τη βοήθεια τους στη διαδικασία των πειραμάτων, καθώς και το φιλικό κλίμα που επικρατούσε κατά την εργασία μου. Επίσης, ευχαριστώ τις φοιτήτριες Κατερίνα Συμιανάκη, Στέλλα Μαυρακάκη, Γεωργία Σοφρά-Καραντή και Κωνσταντίνα Σκαρβελάκη για την βοήθεια στην πειραματική διαδικασία.

Τέλος θα ήθελα να ευχαριστήσω το Τμήμα Χημείας του Πανεπιστημίου Κρήτης που μου έδωσε τη δυνατότητα να ενταχθώ στο μεταπτυχιακό του πρόγραμμα καθώς και το Ινστιτούτο Ηλεκτρονικής Δομής και Λείζερ για την παροχή των υλικοτεχνικών υποδομών.

Βιογραφικό Σημείωμα

Προσωπικές πληροφορίες

Όνοματεπώνυμο: Κοντζεδάκη Ρενάτε

Διεύθυνση: Βαθυπέτρου 34, 70100, Αρχάνες

Τηλέφωνα επικοινωνίας: 2810752620, 6976846913

Email: renate.kontz@windowslive.com

Ημερομηνία γέννησης: 22/10/1994

Εκπαίδευση

03/2017- 11/2019: Μεταπτυχιακό δίπλωμα ειδίκευσης-Τμήμα Χημείας Πανεπιστήμιο Κρήτης

Θέμα διατριβής: Μελέτη εφαρμογής της οπτικής φασματοσκοπίας σε συνδυασμό με μεθόδους πολυπαραγοντικής στατιστικής ανάλυσης στον προσδιορισμό της προέλευσης και της ποιότητας προϊόντων αγροδιατροφής

09/2012-07/2016: Δίπλωμα Χημείας-Πανεπιστήμιο Κρήτης

Διπλωματική εργασία: Σύνθεση της Pygrolam B. Συνθετικές προσεγγίσεις για τα φυσικά προϊόντα Isoretrocanol και Trachelanthamidine.

Επιβλέπων: Βασιλικογιαννάκης Γεώργιος

Εργασιακή εμπειρία

05/2018-11/2019: Ίδρυμα Τεχνολογίας και Έρευνας -Ινστιτούτο Ηλεκτρονικής Δομής και Λείζερ (Ερευνητική δραστηριότητα)

09/2016-11/2016: Πανεπιστήμιο Sheffield (Ερευνητική δραστηριότητα)

Επιβλέπων: Steven Armes

Γλωσσομάθεια

Μητρική γλώσσα: Ελληνική

Ξένες γλώσσες

Αγγλική (κάτοχος FCE- Michigan & Edexcel)

-Ικανότητα ανάγνωσης άριστη

-Ικανότητα ομιλίας άριστη

-Ικανότητα γραφής άριστη

Γερμανική (κάτοχος Zertifikat)

-Ικανότητα ανάγνωσης καλή

-Ικανότητα ομιλίας καλή

-Ικανότητα γραφής καλή

Δεξιότητες

Γνώσεις H/Y: Microsoft Windows, Office, OriginLab, Matlab

Διδακτική εμπειρία

Βοηθός διδάσκοντα σε εκπαιδευτικά εργαστήρια Αναλυτικής Χημείας

Συνέδρια και σεμινάρια

“Analysis of Greek Extra Virgin Olive Oil by Spectroscopic Methods: Quality Control, Classification and Adulteration Studies”, “Optical Spectroscopic Techniques in the Classification and Quality Control of AgroFoods” (Posters) , 11th Aegean Analytical Chemical Days, September 2018

“Spectroscopic Analysis of Greek Extra Virgin Olive Oil: Origin Discrimination and Adulteration Studies” (Poster), 11th International Conference on Instrumental Methods of Analysis, September 2019

Διακρίσεις

Βραβείο καλύτερου poster στο συνέδριο 11th Aegean Analytical Chemical Days με τίτλο “Analysis of Greek Extra Virgin Olive Oil by Spectroscopic Methods: Quality Control, Classification and Adulteration Studies”

Curriculum Vitae

Personal Informations

Surname/ First name: Kontzedaki Renate

Address: Vathypetrou 34, 70100, Archanes

Phone Landline/ Mobile: 2810752620, 6976846913

Email: renate.kontz@windowslive.com

Date of Birth: 22/10/1994

Education

03/2017- 11/2019: MSc. In Chemistry- University of Crete

Thesis: Application of spectroscopic techniques coupled with multivariate statistical analysis for the origin discrimination and quality control of agrofoods.

09/2012-07/2016: Diploma of Chemistry – University of Crete

Diploma work: Synthesis of Pyrrolam B. Synthetic approaches of the natural products Isoretronecanol and Trachelanthamide.

Supervisor: Vassilikogiannakis Georgios

Employment

05/2018-11/2019: Forth (Research grants)

09/2016-11/2016: University of Sheffield (Research grants)

Supervisor: Steven Armes

Languages

Native Language: Greek

Other Languages

English (FCE- Michigan & Edexcel)

Understanding Efficiently

Speaking Efficiently

Writing Efficiently

German

Understanding Efficiently

Speaking Efficiently

Writing Efficiently

Skills

Computational skills: Microsoft Windows, Office, OriginLab, Matlab

Teaching experience

Lab's Teacher assistant in analytical chemistry laboratories

Conferences and Courses

“Analysis of Greek Extra Virgin Olive Oil by Spectroscopic Methods: Quality Control, Classification and Adulteration Studies”, “Optical Spectroscopic Techniques in the Classification and Quality Control of AgroFoods” (Posters) , 11th Aegean Analytical Chemical Days, September 2018

“Spectroscopic Analysis of Greek Extra Virgin Olive Oil: Origin Discrimination and Adulteration Studies” (Poster), 11th International Conference on Instrumental Methods of Analysis, September 2019

Awards

Best poster award at the conference 11th Aegean Analytical Chemical Days “Analysis of Greek Extra Virgin Olive Oil by Spectroscopic Methods: Quality Control, Classification and Adulteration Studies”

Πίνακας Περιεχομένων

Περίληψη	11
Abstract.....	12
1. Εισαγωγή	13
1.1 Προϊόντα Αγροδιατροφής.....	13
1.2 Πλεονεκτήματα Οπτικής Φασματοσκοπίας.....	13
1.3 Στόχος Μεταπτυχιακού Διπλώματος Ειδίκευσης	14
1.4 Κρασί	14
1.4.1 Ιστορικά Στοιχεία.....	14
1.4.2 Τύποι και Κατηγορίες Κρασιών.....	15
1.4.3 Χημική Σύσταση.....	17
1.4.4 Παλαίωση.....	23
1.5. Ελαιόλαδο.....	24
1.5.1 Ιστορικά Στοιχεία.....	24
1.5.2 Οργανοληπτική Αξιολόγηση Ελαιολάδου.....	25
1.5.3 Ποιοτικές Κατηγορίες Ελαιολάδου.....	26
1.5.4 Χημική Σύσταση.....	27
Βιβλιογραφία	33
2. Φασματοσκοπικές Μέθοδοι.....	35
2.1 Ηλεκτρομαγνητική Ακτινοβολία	35
2.2 Φασματοσκοπία Απορρόφησης Ορατού και Υπεριώδους.....	36
2.3 Φασματοσκοπία Υπερύθρου.....	38
2.4 Φασματοσκοπία Φθορισμού.....	39
2.5 Φασματοσκοπία Raman.....	41
Βιβλιογραφία	43
3. Πολυμεταβλητά Δεδομένα και Στατιστική Ανάλυση.....	44
3.2 Ανάλυση Κύριων Συνιστωσών (Principal Component Analysis, PCA).....	44
3.3 Ανάλυση Μερικών Ελαχίστων Τετραγώνων (Partial Least Squares Regression, PLS).....	45
Βιβλιογραφία	47
4. Πειραματικό Μέρος.....	48
4.1 Προετοιμασία Δειγμάτων	48
4.2 Μέτρηση Απορρόφησης	49
4.3 Μέτρηση Φθορισμού	50
4.4 Μέτρηση Raman.....	51
4.5 Επεξεργασία Φασματοσκοπικών Δεδομένων.....	53

Βιβλιογραφία	54
5. Αποτελέσματα Κρασιού	55
5.1 Διαχωρισμός Βοτανικής προέλευσης	55
5.1.1 Φασματοσκοπία Απορρόφησης Υπεριώδους.....	55
5.1.2 Φασματοσκοπία Απορρόφησης Ορατού.....	59
5.1.3 Φασματοσκοπία Φθορισμού.....	62
5.2 Διαχωρισμός Σταδίου Ωρίμανσης Κρασιού.....	66
5.2.1 Φασματοσκοπία Απορρόφησης Υπεριώδους.....	66
5.2.2 Φασματοσκοπία Απορρόφησης Ορατού.....	68
5.2.3 Φασματοσκοπία Απορρόφησης Εγγύς Υπερύθρου.....	71
5.2.4 Φασματοσκοπία Φθορισμού.....	74
5.3 Διαχωρισμός Τρόπου Ωρίμανσης Κρασιού.....	77
5.3.1 Φασματοσκοπία Απορρόφησης Υπεριώδους.....	77
5.3.2 Φασματοσκοπία Απορρόφησης Ορατού.....	82
5.4. Συσχέτιση Φασματοσκοπίας Απορρόφησης με Άλλες Μεθόδους.....	86
5.4.1 Συσχέτιση Φασματοσκοπίας Απορρόφησης Υπεριώδους με τη Συγκέντρωση των Φαινολικών Συστατικών.....	87
5.4.2 Συσχέτιση Φασματοσκοπίας Απορρόφησης Υπεριώδους με τη Συγκέντρωση των Ταννινών.....	88
5.4.3 Συσχέτιση Φασματοσκοπίας Απορρόφησης Ορατού με τη Συγκέντρωση των Ανθοκυανινών.....	89
Βιβλιογραφία	91
6. Αποτελέσματα Ελαιολάδου	94
6.1 Διάκριση Ποιότητας Ελαιολάδου	94
6.1.1 Φασματοσκοπία Απορρόφησης Υπεριώδους.....	94
6.1.2 Φασματοσκοπία Απορρόφησης Ορατού.....	98
6.1.3 Φασματοσκοπία Απορρόφησης Εγγύς Υπερύθρου.....	102
6.1.4 Φασματοσκοπία Φθορισμού.....	109
6.1.5 Φασματοσκοπία Raman.....	112
6.2 Διάκριση Τύπου Καλλιέργειας Ελαιολάδου.....	117
6.2.1 Φασματοσκοπία Απορρόφησης Υπεριώδους.....	117
6.2.2 Φασματοσκοπία Απορρόφησης Εγγύς Υπερύθρου.....	119
6.2.3 Φασματοσκοπία Raman.....	121
Βιβλιογραφία	125
Συμπεράσματα.....	126

Περίληψη

Ο ποιοτικός έλεγχος σε τρόφιμα είναι συχνά βασισμένος στις σύγχρονες και εξελιγμένες αναλυτικές μεθόδους και διαδικασίες οι οποίες είναι δαπανηρές, χρονοβόρες και απαιτούν εξειδικευμένο προσωπικό. Στο Ινστιτούτο Ηλεκτρονικής Δομής και Λέιζερ του ΙΓΕ, μελετήθηκε η γρήγορη καταγραφή των χαρακτηριστικών ουσιών που εμπεριέχονται σε δείγματα τροφίμων με ελάχιστη ή χωρίς επεξεργασία. Για τη μελέτη αυτή χρησιμοποιήθηκαν οι φασματοσκοπικές τεχνικές της απορρόφησης στο υπεριώδες, ορατό, εγγύς υπέρυθρο, καθώς και η φασματοσκοπία φθορισμού και Raman. Έτσι, είναι δυνατόν να καταγραφεί το οπτικό φάσμα που αποτελεί το χαρακτηριστικό «αποτύπωμα» και αντικατοπτρίζει τη χημική σύσταση ενός δείγματος. Διαφορετικά δείγματα έχουν διαφορετικό αποτύπωμα και αυτές οι διαφορές ή οι ομοιότητες χρησιμοποιούνται σε συνδυασμό με μεθόδους πολυπαραγοντικής στατιστικής ανάλυσης (Principal Component Analysis–PCA, Partial Least Squares Discriminant Analysis PLS-DA και PLS-regression) για τον έλεγχο προέλευσης και ποιότητας προϊόντων αγροδιατροφής. Στο παρόν μεταπτυχιακό δίπλωμα ειδίκευσης μελετήθηκαν δείγματα από ελληνικές ποικιλίες κρασιού (Ασύρτικο, Βηλάνια, Κοτσιφάλι, Λιάτικο και Μαντηλάρι) προερχόμενα από τρία οινοποιεία. Τα δείγματα εξετάστηκαν κατά τη διάρκεια της ωρίμανσης σε διαφορετικούς περιέκτες και σε χρόνο ωρίμανσης 0, 3, 6 και 9 μηνών. Ακόμα, πραγματοποιήθηκε συσχέτιση των φασματοσκοπικών δεδομένων με δεδομένα από άλλες αναλυτικές τεχνικές και κατασκευάστηκαν επιτυχημένα μοντέλα πρόβλεψης της φαινολικής σύστασης, της συγκέντρωσης σε ανθοκυανίνες και ταννίνες. Τέλος, μελετήθηκαν δείγματα Κρητικού Ελαιολάδου που λήφθηκαν από τον Παγκρήτιο Διαγωνισμό Ελαιολάδου και είχαν βαθμολογηθεί από εκπαιδευμένη ομάδα δοκιμαστών, χρησιμοποιώντας τις ανθρώπινες αισθήσεις. Τα δείγματα εξετάστηκαν ως προς την ποιότητα τους (υψηλής και χαμηλής ποιότητας) και τον τύπο καλλιέργειας (βιολογική και συμβατική καλλιέργεια).

Λέξεις Κλειδιά: Φασματοσκοπία Απορρόφησης, Φασματοσκοπία Φθορισμού, Φασματοσκοπία Raman, Κρασί, Ελαιόλαδο, Πολυπαραγοντική Στατιστική Ανάλυση, Ανάλυση Κύριων Συνιστωσών, Τεχνική Μερικών Ελαχίστων Τετραγώνων, Ανάλυση Διακριτότητας Μερικών Ελαχίστων Τετραγώνων

Abstract

Food quality control is often based on modern and sophisticated analytical methods and processes that are costly, time-consuming and require specialized personnel. At the Institute of Electronic Structure and Laser of FORTH, we employ an alternative approach in order to investigate the rapid determination of the characteristic substances contained in food samples, with little or no processing. For this study, optical spectroscopic techniques [Absorption (UV-Vis-NIR), Fluorescence and Raman spectroscopy] are applied. This way, we can record the optical spectrum that is the characteristic “fingerprint” and reflects the chemical composition of a sample. Different samples have a different fingerprint and the detected differences or similarities, coupled with multivariate statistical analysis methods (Principal Component Analysis–PCA, Partial Least Squares Discriminant Analysis PLS-DA and PLS-regression), are used for origin and quality control. Within the framework of the present thesis, Greek wine varieties (Asyrtiko, Vilana, Kotsifali, Liatiko and Mantilari) from three wineries were studied. Analysis of samples was implemented during their maturation in different types of containers at different stages of 0, 3, 6 and 9 months. Furthermore, spectral data were correlated with data obtained by use of other analytical methods. Efficient mathematical models were constructed that were capable of successfully estimating the content of wine in phenolics, anthocyanins and tannins. Finally, samples of Cretan olive oil were investigated, that were obtained from the Pancretan Olive Oil Competition and had been graded by a trained team of testers using human senses. The samples were discriminated based on their quality (high and low quality) and crop type (organic and conventional cultivation).

Key words: UV-VIS, Fluorescence, Raman, Wines, Olive Oil, Multivariate Statistical Analysis, Principal Component Analysis, Partial Least Squares Discriminant Analysis, Partial Least Squares regression

1. Εισαγωγή

1.1 Προϊόντα Αγροδιατροφής

Ως προϊόντα αγροδιατροφής ορίζονται τα υλικά αγαθά τα οποία παράγονται από φυτά και ζώα με το συνδυασμό των διαφόρων συντελεστών της αγροτικής παραγωγής. Παραδείγματα προϊόντων αγροδιατροφής είναι το ελαιόλαδο, το κρασί, το γάλα κ.ά.

Η ποιότητα των προϊόντων εξαρτάται από τις περιβαλλοντολογικές συνθήκες, την εποχικότητα, την επάρκεια του παραγωγού και τη διαθεσιμότητα κατάλληλων εγκαταστάσεων για τη διατήρηση της φρεσκάδας των προϊόντων. Το ενδιαφέρον των καταναλωτών για φρέσκα και καλής ποιότητας προϊόντα ολοένα και αυξάνεται. Τα συστήματα διασφάλισης ποιότητας, όπως τα HACCP (Hazard Analysis Critical Control Point) και EurepGap (EuroRetailer Produce Working Group for Good Agricultural Practice), ενσωματώνονται στην αλυσίδα αγροτικών προϊόντων τροφίμων διασφαλίζοντας την ασφάλεια και την ποιότητα τόσο των προϊόντων όσο και των διαδικασιών. Παρά το γεγονός ότι τα συστήματα διασφάλισης ποιότητας έχουν εξελιχθεί κατά τέτοιο τρόπο ώστε να διασφαλίζεται η ποιότητα στα προϊόντα, μπορεί επίσης να χρησιμοποιούνται από τις αγορές τροφίμων για την πιστοποίηση της ποιότητας. Επομένως ο έλεγχος ποιότητας, η ασφάλεια και η αυθεντικότητα των τροφίμων αποτελούν θέματα μείζονος σημασίας, τόσο για τους παραγωγούς, όσο και για τους καταναλωτές. Το ελαιόλαδο και το κρασί ανήκουν σε μια κατηγορία τροφίμων με πολύ μεγάλη διακύμανση της εμπορικής τους αξίας, καθιστώντας τα προϊόντα ιδιαίτερου ενδιαφέροντος, το οποίο δύναται να αποτελέσει εύκολο στόχο νοθείας [1].

Ο έλεγχος της ύπαρξης νοθείας στα τρόφιμα εξετάζεται με αναλυτικές τεχνικές. Από τις πιο συνηθισμένες είναι η υγρή χρωματογραφία υψηλής απόδοσης (High Performance Liquid Chromatography, HPLC), η αέρια χρωματογραφία (Gas Chromatography, GC), η φασματοσκοπία μάζας επαγωγικά συζευγμένου πλάσματος (Induced Coupled Plasma-Mass Spectroscopy, ICP-MS), η ατομική απορρόφηση (Atomic Absorption Spectroscopy, AAS), η φασματοσκοπία πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού (Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy, NMR) και φασματοσκοπικές τεχνικές οι οποίες βασίζονται στα φαινόμενα της απορρόφησης και του φθορισμού [2-6].

1.2 Πλεονεκτήματα Οπτικής Φασματοσκοπίας

Η οπτική φασματοσκοπία (φασματοσκοπία Raman, εγγύς υπερώθρου, υπεριώδους-ορατού και φθορισμού) χαρακτηρίζεται από απλότητα στη χρήση, καμία ή ελάχιστη προεπεξεργασία του δείγματος, υψηλή ευαισθησία καθώς και χαμηλό κόστος εξοπλισμού και ανάλυσης. Η εφαρμογή τους στην μελέτη του κρασιού και του ελαιολάδου είναι ήδη αρκετά διαδεδομένη [7-10]. Παρά ταύτα υπάρχουν αρκετά περιθώρια βελτιστοποίησης και εντοπισμού νέων δυνατοτήτων. Το κύριο ερευνητικό ενδιαφέρον των περισσότερων σχετίζεται με τη διερεύνηση της ικανότητας τους να διαφοροποιούν ή να κατηγοριοποιούν

δείγματα ως προς την βοτανική τους προέλευση, τη γεωγραφική τους προέλευση, το χρόνο παλαιώσης καθώς και την πρόβλεψη ποιοτικών και ποσοτικών χαρακτηριστικών [9-12].

1.3 Στόχος Μεταπτυχιακού Διπλώματος Ειδίκευσης

Η βασική ιδέα αυτής της εργασίας, ήταν η εφαρμογή οπτικών μεθόδων για την βελτίωση της ποιότητας του κρητικού ελαιολάδου και κρασιού μέσω καταγραφής και ελέγχου των παραμέτρων οινοποίησης. Μελετήθηκαν δείγματα κρασιού από γηγενείς ελληνικές ποικιλίες (Ασύρτικο, Βηλάννα, Κοτσιφάλι, Λιάτικο και Μαντηλάρι) κατά τη διαδικασία της παλαιώσης τους με διαφορετικό τρόπο (ανοξειδωτες δεξαμενές, ανοξειδωτη δεξαμενή με προσθήκη ρινισμάτων δρυός, ξύλινο βαρέλι γαλλικής δρυός, ξύλινο βαρέλι αμερικανικής δρυός). Ακόμα εξετάστηκαν δείγματα ελαιολάδου με σκοπό την ανάδειξη των ιδιαίτερων οργανοληπτικών χαρακτηριστικών, τη βελτίωση της τεχνογνωσίας γύρω από το έξτρα παρθένο ελαιόλαδο, την ποιοτική του αναβάθμιση και την ενδυνάμωση της εικόνας του Κρητικού ελαιόλαδου. Οι κύριοι ερευνητικοί στόχοι ήταν:

- ❖ Η διαφοροποίηση και κατηγοριοποίηση των διαθέσιμων δειγμάτων κρασιού με βάση την βοτανική τους προέλευση, το χρόνο και τον τρόπο ωρίμανσης.
- ❖ Η συσχέτιση των φασματοσκοπικών δεδομένων με άλλες αναλυτικές τεχνικές
- ❖ Η διάκριση των ελαιολάδων με βάση την ποιότητα τους
- ❖ Η διάκριση των ελαιολάδων με βάση τον τύπο της καλλιέργειας (βιολογική ή συμβατική)

1.4 Κρασί

1.4.1 Ιστορικά Στοιχεία

Το αμπέλι, από το οποίο προέρχεται το κρασί έχει σύμφωνα με τους παλαιοντολόγους, προϊστορία πολλών εκατομμυρίων ετών. Απολιθωμένα κλήματα ηλικίας 60 εκατομμυρίων ετών αποτελούν την αρχαιότερη επιστημονική απόδειξη της ηλικίας της αμπέλου. Πριν ακόμα από την εποχή των παγετώνων ευδοκίμουσε στην πολική ζώνη, κυρίως στην Ισλανδία, στη Βόρεια Ευρώπη αλλά και τη βορειοδυτική Ασία. Οι παγετώνες περιόρισαν σημαντικά την εξάπλωση του και επέβαλαν κατά κάποιο τρόπο τη γεωγραφική απομόνωση πολλών ποικιλιών. Στην πορεία των χρόνων, διάφοροι πληθυσμοί άγριων αμπέλων μετακινήθηκαν προς θερμότερες ζώνες, κυρίως προς την ευρύτερη περιοχή του νοτίου Καυκάσου. Στην περιοχή αυτή, μεταξύ Ευξείνου Πόντου, Κασπίας θάλασσας και Μεσοποταμίας, γεννήθηκε το είδος Άμπελος η οινοφόρος (λατ. *Vitis vinifera*). Οι διαφορετικές ποικιλίες αυτού του είδους καλλιεργούνται και σήμερα. Το πρώτο υπόλειμμα κρασιού σε δοχείο βρέθηκε στην επαρχία Henan της Κίνας και έχει ηλικία 9.000 ετών, ενώ το προηγούμενο εύρημα στο Hajji Firuz Tere του Ιράν ήταν ηλικίας 7.000 ετών. Η διαδικασία της αμπελοργίας εικάζεται πως έχει τις ρίζες της στην αγροτική επανάσταση και τη μόνιμη εγκατάσταση πληθυσμών με σκοπό την καλλιέργεια, χρονολογείται δηλαδή

γύρω στο 5.000 π.Χ. Από τους πρώτους γνωστούς αμπελοκαλλιεργητές θεωρούνται οι αρχαίοι Πέρσες, οι Σημιτικοί λαοί και οι Ασσύριοι. Μεταγενέστερα οι γνώσεις αμπελουργίας και οινοποιίας μεταφέρθηκαν στους Αιγύπτιους, τους λαούς της Φοινίκης και τους πληθυσμούς της Μ. Ασίας και του Ελλαδικού χώρου. Οι Αρχαίοι Έλληνες έπιναν το κρασί αναμειγνύοντας το με νερό, σε αναλογία συνήθως 1:3 (κρασί/νερό). Η λέξη "κρασί" υποδηλώνει ακριβώς τον αναμειγμένο με νερό οίνο, ενώ "άκρατος" λεγόταν ο ανόθευτος οίνος. Διέθεταν ειδικά σκεύη τόσο για την ανάμειξη (κρατήρες) όσο και για τη ψύξη του. Η πόση κρασιού που δεν είχε αναμειχθεί με νερό ("άκρατος οίνος") θεωρείτο βαρβαρότητα και συνηθιζόταν μόνο από αρρώστους ή κατά τη διάρκεια ταξιδιών ως τονωτικό. Διαδεδομένη ήταν ακόμα η κατανάλωση κρασιού με μέλι καθώς και η χρήση μυρωδικών. Ο τρόπος παραγωγής του κρασιού σε παλαιότερες εποχές δε διέφερε ουσιαστικά από τις σύγχρονες πρακτικές. Είναι αξιοσημείωτο πως σώζονται ως τις μέρες μας κείμενα του Θεόφραστου, τα οποία περιέχουν πληροφορίες γύρω από τους τρόπους καλλιέργειας. Οι Έλληνες γνώριζαν την παλαίωση του κρασιού, την οποία επιτύγχαναν μέσα σε θαμμένα πιθάρια, σφραγισμένα με γύψο και ρετσίνα. Το κρασί εμφιαλωνόταν σε ασκούς ή σε σφραγισμένους πήλινους αμφορείς, αλειμμένους με πίσσα για να μένουν στεγανοί. Το εμπόριο των ελληνικών κρασιών απλωνόταν σε ολόκληρη τη Μεσόγειο μέχρι την Ιβηρική χερσόνησο και τον Εύξεινο πόντο και αποτελούσε μία από τις σημαντικότερες οικονομικές δραστηριότητες. Σε αρκετές πόλεις υπήρχαν ειδικοί νόμοι ώστε να εξασφαλίζεται η ποιότητα του κρασιού, αλλά και ενάντια στον ανταγωνισμό και τις εισαγωγές. Χαρακτηριστικότερο παράδειγμα αποτελεί η νομοθεσία της Θάσου, σύμφωνα με την οποία πλοία με ξένο κρασί που πλησίαζαν το νησί θα έπρεπε να δημεύονται. Οι Ρωμαίοι ήρθαν σε επαφή με το κρασί από τους Έλληνες αποίκους και τους γηγενείς Ετρούσκους και επιδόθηκαν επίσης στην αμπελοκαλλιέργεια. Με την κατάρρευση της Ρώμης και τις μεταναστεύσεις των λαών η αμπελουργία γνώρισε περίοδο ύφεσης. Σε κάποιες περιοχές η αμπελουργία εγκαταλείφθηκε για αιώνες [13].

1.4.2 Τύποι και Κατηγορίες Κρασιών

Τα χαρακτηριστικά από τα οποία διακρίνεται ένα κρασί εξαρτώνται από πολλούς παράγοντες. Κατά κύριο λόγο όμως οφείλονται στην ποικιλία σταφυλιών από την οποία προέρχεται, στην περιοχή και τον τρόπο καλλιέργειας, στις μεθόδους που χρησιμοποιήθηκαν για τη μετατροπή του μούστου σε κρασί, κλπ. Κατά συνέπεια, το κάθε κρασί, ανάλογα με τον τόπο και τον τρόπο που παράγεται, ανήκει σε μια συγκεκριμένη κατηγορία και χαρακτηρίζεται από ένα επίσης συγκεκριμένο τύπο.

Πρώτο κριτήριο διαφοροποίησης των τύπων κρασιού αποτελεί το χρώμα. Πρόκειται για ένα χαρακτηριστικό που εξαρτάται κυρίως από την ποικιλία αμπέλου που χρησιμοποιείται για την παραγωγή του κρασιού, αλλά και από το είδος της οινοποίησης («κυρίως», γιατί είναι δυνατή και εφαρμόζεται η παραγωγή λευκών κρασιών από σκουρόχρωμες ποικιλίες). Έτσι τα κρασιά διακρίνονται σε:

- Λευκά
- Ροζέ
- Ερυθρά

Δεύτερο κριτήριο διαφοροποίησης είναι η γλυκύτητα, η περιεκτικότητα δηλαδή των κρασιών σε σάκχαρα, με αποτέλεσμα αυτά να διακρίνονται σε:

- Ξηρά,
- Ημίξηρα
- Ημίγλυκα
- Γλυκά

Η γλυκύτητα των κρασιών οφείλεται στα σάκχαρα που παραμένουν αζύμωτα εάν αποτραπεί ή διακοπεί η αλκοολική ζύμωση. Η ζύμωση δεν ξεκινά καν, όταν στο μούστο προστεθεί οινόπνευμα οινικής προέλευσης. Τότε έχουμε τα κρασιά του τύπου Vin de Liqueur. Η διακοπή της αλκοολικής ζύμωσης μπορεί να είναι φυσική, όπως στην περίπτωση των Φυσικώς Γλυκών Οίνων ή τεχνητή, πραγματοποιείται δηλαδή με την προσθήκη αλκοόλης όπως συμβαίνει στον Οίνο Γλυκό Φυσικό.

Τελευταίο κριτήριο διαφοροποίησης των τύπων κρασιών είναι το διοξείδιο του άνθρακα (CO₂). Ανάλογα με την περιεκτικότητά τους σε αυτό, τα κρασιά διακρίνονται σε:

- Ήσυχα
- Ημιαφρώδη
- Αφρώδη

Το CO₂ μπορεί να προέρχεται από την αλκοολική ζύμωση και να έχει διατηρηθεί στο κρασί (Φυσικώς Αφρώδεις Οίνοι) ή να έχει προστεθεί εκ των υστέρων (Τεχνητώς Αφρώδεις Οίνοι).

Οι γηγενείς ποικιλίες αριθμούν γύρω στις διακόσιες ενώ είναι σύνηθες το φαινόμενο η ονομασία μιας ποικιλίας να αλλάζει από τόπο σε τόπο. Μόνο πενήντα από αυτές χρησιμοποιούνται συστηματικά για την παραγωγή κρασιού ενώ λιγότερες από τριάντα έχουν αποκτήσει παγκόσμια φήμη. Κάποιες από αυτές είναι οι λευκές Αθήρι, Ασύρτικο, Βηλάνα, Μαλαγουζιά, Μοσχάτο και οι ερυθρές Αγιωργίτικο, Κοτσιφάλι, Μαντηλάρι, Λιάτικο, Μαυροδάφνη, Ξινόμαυρο.

Η ποικιλία Ασύρτικο καλλιεργείται κυρίως στις Κυκλάδες, με έδρα τη Σαντορίνη, και δευτερευόντως, αλλά με σπουδαία αποτελέσματα, στη Βόρεια Ελλάδα. Δίνει κρασιά αυστηρά και σικάτα, που χαρακτηρίζονται από τον ήπιων τόνων αρωματικό χαρακτήρα τους, όπου αναλόγως με τα εδάφη και την περιοχή που καλλιεργείται, μπορούμε να διακρίνουμε εκτός από αρώματα φρέσκων κίτρινων φρούτων και εσπεριδοειδών, νύξεις από φύλλα τσαγιού, ορυκτώδεις και μεταλλικές χροιές. Είναι πλούσιο και γεμάτο στο στόμα, με μεταλλικότητα και οξύτητα, χαρακτηριστικά που του χαρίζουν ανθεκτικότητα στο χρόνο. Αυτό καθιστά το Ασύρτικο, μια από τις λίγες ελληνικές λευκές ποικιλίες που έχουν τη

δυνατότητα να εξελίσσονται και να αναδεικνύονται και μέσω της παλαίωσης. Το Ασύρτικο είναι η κύρια ποικιλία που χρησιμοποιείται στην παραγωγή των σαντορινιών Vinsanto, που θεωρούνται παγκοσμίως από τα εκλεκτότερα επιδόρπια κρασιά.

Η Βηλάνα είναι μια δυναμική ποικιλία με επίκεντρο καλλιέργειας το Ηράκλειο. Δίνει κρασιά με αρκετά καλό αλκοολικό βαθμό, καλές οξύτητες, αλλά σχετικά χαμηλών τόνων, λεπτό αρωματικό δυναμικό με λεμονάτες και φρουτώδεις αποχρώσεις. Πρόσφατες προσπάθειες ωρίμανσης του κρασιού σε βαρέλι, δείχνουν πως η Βηλάνα ενδεχομένως, υπό τις κατάλληλες προϋποθέσεις, να δώσει και κρασιά με προφίλ παλαίωσης.

Το Μαντηλάρι είναι μια έντονα βαφική ποικιλία που προτιμάται κυρίως λόγω του πυκνού ερυθρού χρώματος του. Γι' αυτό παρόλο που είναι ποικιλία από τα νησιά του Αιγαίου, επεκτάθηκε και στην ηπειρωτική Ελλάδα. Είναι ποικιλία που δίνει κρασιά χωρίς αξιόλογο αρωματικό μπουκέτο, με μέτριες προς χαμηλές οξύτητες, χαμηλό αλκοολικό βαθμό και μέτριο σώμα. Ως επί το πλείστον συνοινοποιείται μαζί με άλλες ποικιλίες που τη συμπληρώνουν.

Το Κοτσιφάλι συνοινοποιείται συνήθως μαζί με το Μαντηλάρι, κι αυτό συμβαίνει λόγω της έλλειψης σταθερότητας στο χρώμα του. Έτσι αυτή η ποικιλία που καλλιεργείται ευρέως στη Κρήτη, δίνει ΠΟΠ οίνους από χαρμάνι των δυο ποικιλιών. Μονοποικιλιακές οινοποιήσεις του θα βρούμε λίγες. Σε αυτές τις περιπτώσεις εκφράζεται με διάφανο, κεραμιδί/κόκκινο χρώμα, με φρέσκα αρώματα κόκκινων φρούτων, όπως κεράσι και δαμάσκηνο, μεσαίου όγκου, με καλές οξύτητες και με δυνατότητες μικρής παλαίωσης.

Το Λιάτικο καλλιεργείται σε όλα τα μήκη και πλάτη της Κρήτης. Είναι μια ερυθρή, ευοξειδωτή ποικιλία, που δίνει κρασιά χαμηλής χρωματικής έντασης, με ήπια φρουτώδη αρώματα, υψηλόβαθμα και με μέτριες οξύτητες. Χρησιμοποιείται για την παραγωγή επιδόρπιων οίνων όπου παρουσιάζεται με γοητευτικούς οξειδωτικούς χαρακτήρες [14].

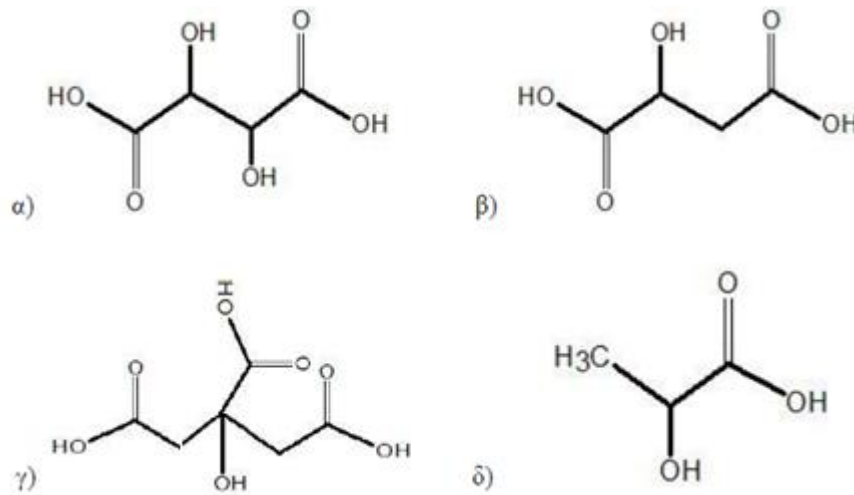
1.4.3 Χημική Σύσταση

Η χημική σύσταση του κρασιού εξαρτάται από τα σταφύλια τα οποία χρησιμοποιήθηκαν για οινοποίηση, την οινοποιητική διαδικασία, τις οινολογικές διεργασίες καθώς και τις συνθήκες αποθήκευσης της φιάλης.

Ο οίνος είναι ένα υδροαλκοολικό διάλυμα οργανικών οξέων και άλλων οργανικών και ανόργανων ενώσεων. Το νερό κυριαρχεί με περιεκτικότητα από 80-85% (v/v) , ακολουθεί η αιθανόλη με περιεκτικότητα 10-15% (v/v) ενώ το τρίτο σε συγκέντρωση χημικό στοιχείο είναι η γλυκερόλη. Σε μικρότερα ποσοστά το κρασί περιέχει οικογένειες ενώσεων όπως οργανικά οξέα, σάκχαρα, αλκοόλες, ανόργανα συστατικά, αζωτούχες ενώσεις, πτητικά συστατικά και φαινολικές ενώσεις.

1. Οργανικά Οξέα

Τα κυριότερα οξέα του σταφυλιού τα οποία μεταφέρονται στο γλεύκος είναι: τρυγικό οξύ και σε μικρότερες ποσότητες μηλικό οξύ και κιτρικό οξύ, καθώς και οξαλικό οξύ, ασκορικό οξύ, γαλακτουρανικό οξύ, γλυκουρονικό οξύ.



Εικόνα 1.1: Οργανικά οξέα. α) τρυγικό οξύ β) μηλικό οξύ γ) κιτρικό οξύ δ) γαλακτικό οξύ

Τα σταφύλια που έχουν προσβληθεί από φαιά σήψη περιέχουν: γλυκονικό οξύ, βλεννικό οξύ, κέτο-2-γλυκονικό οξύ, δίκετο-2,5-γλυκονικό οξύ. Τα κυριότερα οξέα που παράγονται κατά τη ζύμωση είναι: ηλεκτρικό οξύ, γαλακτικό οξύ, κιτρομηλικό οξύ, διαίθυλο-2,3-γλυκερινικό οξύ καθώς και μυρμηκικό οξύ, οξικό οξύ, προπιονικό οξύ, βουτυρικό οξύ, στα οποία οφείλεται η πτητική οξύτητα.

2. Αλκοόλες

Η μεθανόλη, προέρχεται από την απομεθυλίωση των πηκτινών από τα πηκτινολυτικά ένζυμα. Η περιεκτικότητα στον οίνο αυξάνει κατά την οινοποίηση σε ατμόσφαιρα CO₂ και κατά την θερμοοινοποίηση. Οι λευκοί οίνοι περιέχουν μικρότερες ποσότητες λόγω απουσίας εκχύλισης και η περιεκτικότητά τους σε μεθανόλη είναι 30 με 700 mg/L, οι ροζέ οίνοι 30 με 110 mg/L και οι ερυθροί οίνοι 70 με 150 mg/L. Η αιθανόλη είναι το κύριο προϊόν της αλκοολικής ζύμωσης [15].



Εικόνα 1.2: Οι κύριες αλκοόλες του κρασιού α) αιθανόλη β) γλυκερόλη

3. Σάκχαρα

Τα σάκχαρα του γλεύκους διακρίνονται σε αλδόζες με 6 άτομα άνθρακα (γλυκόζη, γαλακτόζη, μανόζη), σε αλδόζες με 5 άτομα άνθρακα (αραβινόζη, ξυλόζη), σε κετόζες με 6 άτομα άνθρακα (φρουκτόζη) και σε κετόζες με 5 άτομα άνθρακα (ξυλουλόζη, ριβουλόζη). Τα σάκχαρα με 6 άτομα άνθρακα μπορούν να ζυμωθούν και τα σάκχαρα με αλδεϋδική ή κετονική ομάδα μπορούν να δεσμεύσουν τον θειώδη ανυδρίτη. Ανάγοντα σάκχαρα είναι αυτά που έχουν ελεύθερη αλδεϋδική ή κετονική ομάδα. Στα μη ανάγοντα σάκχαρα ανήκει η σακχαρόζη (1,2-α-D γλυκόζη-β-D φρουκτόζη) η οποία υδρολύεται σε γλυκόζη και φρουκτόζη. Στο γλεύκος η σχέση γλυκόζης προς φρουκτόζη είναι κοντά στη μονάδα (0,95). Η γλυκόζη είναι λιγότερο σταθερή από τη φρουκτόζη. Γι' αυτό μεταβολίζεται κατά προτίμηση από τους μύκητες. Η σχέση γλυκόζης προς φρουκτόζη στους γλυκούς οίνους είναι πολύ κατώτερη από τη μονάδα. Όταν η σχέση είναι κοντά στη μονάδα αυτό είναι δείγμα προσθήκης σακχαρόζης ή γλεύκους. Η αραβινόζη και η ξυλόζη είναι σάκχαρα που δε μπορούν να ζυμωθούν. Είναι δυνατόν να αποικοδομηθούν από τα γαλακτικά βακτήρια με αντίστοιχη αύξηση της πτητικής οξύτητας. Θεωρούμε ότι η αλκοολική ζύμωση έχει τελειώσει όταν η περιεκτικότητα σε σάκχαρα είναι μικρότερη των 2 g/L για τους ερυθρούς οίνους ή 1,5 g/L για τους λευκούς οίνους.

4. Αζωτούχα συστατικά

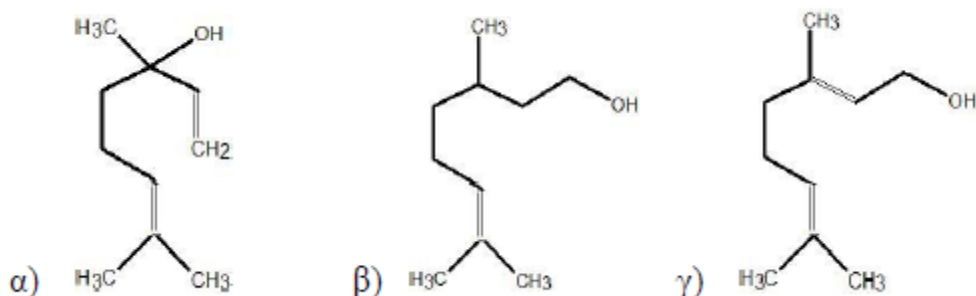
Μέσα στο κρασί το άζωτο βρίσκεται σε ανόργανη μορφή σε ποσοστό 5% περίπου και σε οργανική 95%. Από την οργανική το 45% περίπου αντιπροσωπεύουν τα ελεύθερα αμινοξέα, κυριότερα από τα οποία είναι η αλανίνη, το ασπαραγινικό οξύ, το γλουταμινικό οξύ (συγκέντρωση μεγαλύτερη από 100 mg/L), η προλίνη (300 mg/L), η θρεονίνη και η αργινίνη σε συγκεντρώσεις μικρότερες από 50 mg/L. Κατά τη διάρκεια της ζύμωσης ορισμένα αμινοξέα μεταβολίζονται σε ανώτερες αλκοόλες. Δεν έχουν κανένα ιδιαίτερο οργανοληπτικό ρόλο. Στον οίνο υπάρχουν αμίδια όπως η ασπαραγίνη και γλουταμίνη, πολυπεπίδια, αμίνες όπως η ισταμίνη που είναι τοξική και πρωτεΐνες. Στους ερυθρούς οίνους οι πρωτεΐνες ενώνονται με ταννίνες, κροκιδώνονται και καταβυθίζονται. Το ανόργανο άζωτο χρησιμοποιείται από τους μύκητες κατά τη διάρκεια της αλκοολικής ζύμωσης και η περιεκτικότητά του μειώνεται. Στους ερυθρούς οίνους η περιεκτικότητά σε άζωτο είναι διπλάσια απ' ό τι στους λευκούς. Αυτό οφείλεται στην εκχύλιση των στερεών συστατικών. Οι λευκοί οίνοι περιέχουν 70 με 200mg/L άζωτο δηλαδή 0,5 με 1,25 g/L αζωτούχες ενώσεις και οι ερυθροί 100 με 700 mg/L άζωτο δηλαδή 0,8 με 4 g/L αζωτούχες ενώσεις. Οι αζωτούχες ενώσεις αντιπροσωπεύουν το 20% περίπου του στερεού υπολείμματος του οίνου [15].



Εικόνα 1.3: Αζωτούχες ενώσεις α) αλανίνη β) ισταμίνη

5. Πτητικά και Αρωματικά Συστατικά

Αρωματικά Συστατικά του Σταφυλιού: Το άρωμα των λεγόμενων αρωματικών ποικιλιών όπως τα Μοσχάτα, Sauvignon Riesling οφείλεται σε τερπενικές ενώσεις όπως τερπινεόλη, λιναλοόλη, γερανιόλη, κιτρονελλόλη και σε παράγωγα αυτών.



Εικόνα 1.4: Αλκοολικά μονοτερπένια α) λιναλοόλη β) κιτρονελλόλη γ) γερανιόλη

Η συνολική συγκέντρωση αυτών των ενώσεων είναι 1 με 3 mg/L. Οι ενώσεις αυτές των οποίων η μελέτη δεν έχει ολοκληρωθεί, εμφανίζουν μεταξύ τους φαινόμενα αλληλεπίδρασης της μιας πάνω στο άρωμα της άλλης. Οι ενώσεις αυτές καταστρέφονται μερικώς κατά τη διάρκεια της αλκοολικής ζύμωσης και κατά την παλαίωση του οίνου οξειδώνονται σε ενώσεις λιγότερο αρωματικές. Οι ενώσεις που είναι υπεύθυνες για το άρωμα των λιγότερο αρωματικών ποικιλιών επειδή υπάρχουν σε πολύ μικρές συγκεντρώσεις δεν έχουν ακόμα προσδιοριστεί.

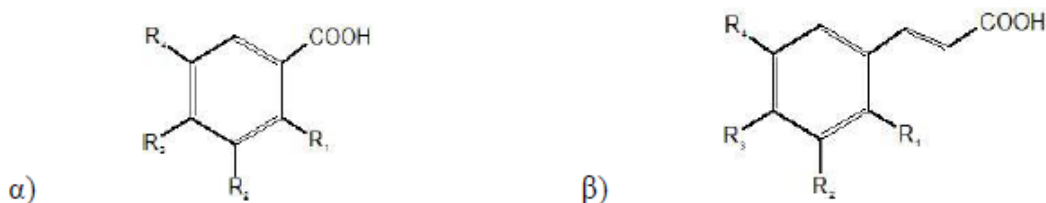
Αρωματικά Συστατικά της Ζύμωσης: Οφείλονται σε αλκοόλες και εστέρες οι οποίοι σχηματίζονται στη διάρκεια της αλκοολικής ζύμωσης όπως η προπανόλη, ισοβουτανόλη, ισοαμυλική αλκοόλη, φαινυλο-2-αιθανόλη, οξικός αιθυλεστέρας, ισοαμυλικός αιθυλεστέρας και άλλες. Αρωματικές ενώσεις σχηματίζονται και στη διάρκεια της μηλογαλακτικής ζύμωσης από τα βακτήρια όπως ο γαλακτικός αιθυλεστέρας.

Αρώματα Ωρίμανσης και Παλαίωσης: Κατά τη διάρκεια της ωρίμανσης και της παλαίωσης που ακολουθεί, υπάρχει μια αναγωγική διαδικασία που δίνει ενώσεις με ευχάριστο άρωμα, στις οποίες οφείλεται η εμφάνιση του αρωματικού μπουκέτου του οίνου. Κατά τη διάρκεια της ωρίμανσης και παλαίωσης του οίνου έχουμε επίσης σχηματισμό εστέρων με χημικές αντιδράσεις εστεροποίησης της αιθανόλης με οξέα οίνου όπως το ηλεκτρικό, τρυγικό,

μηλικό, και κιτρικό. Οι εστέρες αυτοί δεν επεμβαίνουν ή επεμβαίνουν ελάχιστα στο μπουκέτο του οίνου.

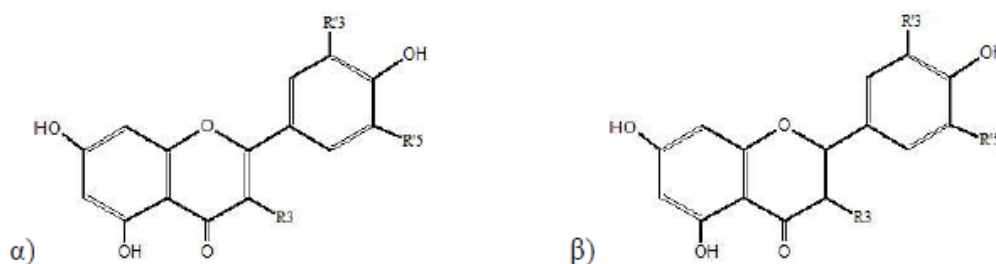
6. Φαινολικά Συστατικά

Τα φαινολικά συστατικά στον ερυθρό οίνο είναι υπεύθυνα για το χρώμα, τη λιπαρότητα της γεύσης και άλλα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά. Στη διάρκεια της παλαίωσης το χρώμα μεταβάλλεται. Από το ερυθροϊώδες στο καθαρά ερυθρό για να καταλήξει στο ερυθρό-κεραμιδί, με ταχύτητα που εξαρτάται από το είδος του οίνου και τις συνθήκες συντήρησης. Οι ποσότητες των φαινολικών συστατικών εξαρτώνται από την ποικιλία του σταφυλιού, το χρόνο τρυγητού και το τρόπο οινοποίησης, καθώς η ωρίμανση δεν είναι μόνο συνάρτηση της οξύτητας και των σακχάρων αλλά και των φαινολικών συστατικών. Από χημικής άποψης τα φαινολικά συστατικά των οίνων διακρίνονται σε φαινολικά οξέα, φλαβονοειδή, ανθοκυανίνες και τέλος ταννίνες. Τα φαινολικά οξέα διακρίνονται σε βενζοϊκά και κινναμωμικά ανάλογα με τη χημική τους δομή.



Εικόνα 1.5: Δομή φαινολικών οξέων α) βενζοϊκά β) κινναμωμικά

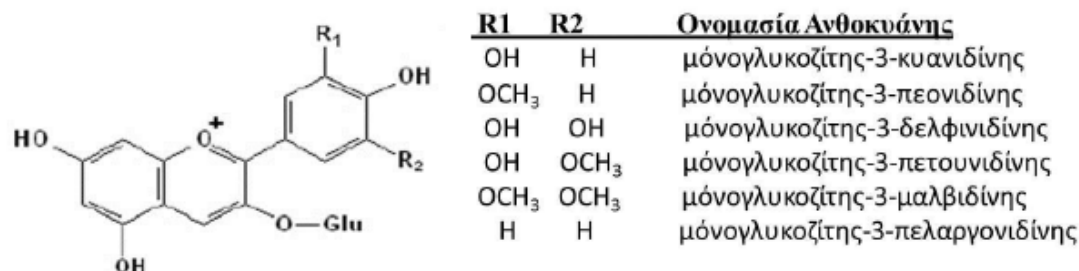
Το γαλλικό, το βανιλικό, το φερούλικό και το καφεϊκό οξύ είναι τα πιο συνηθισμένα φαινολικά οξέα με παρουσία τόσο σε λευκούς όσο και σε ερυθρούς οίνους. Τα φλαβονοειδή είναι μια μεγάλη κατηγορία χημικών ενώσεων, οι οποίες απορροφούν στο υπεριώδες και ορατό τμήμα του ηλεκτρομαγνητικού φάσματος. Η βασική τους δομή αποτελείται από ένα βενζοπυράνιο με υδροξύ υποκαταστάτες ενωμένο με ένα επιπλέον βενζολικό δακτύλιο.



Εικόνα 1.6: Φλαβονοειδή α) φλαβόνη (R³=H), φλαβονόλη (R³=OH) β) φλαβανόνη (R³=H), φλαβανόλη (R³=OH)

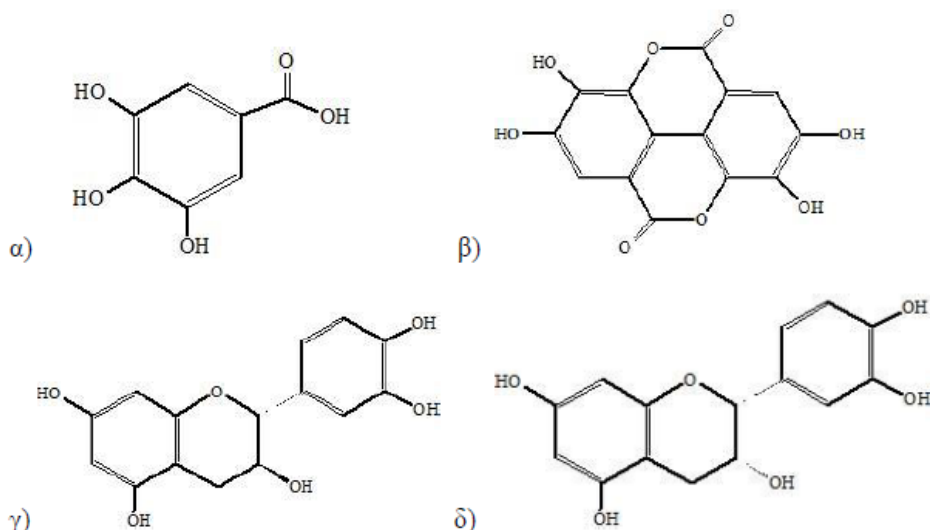
Χαρακτηριστικές μονομερείς τους μορφές είναι οι φλαβόνες, οι φλαβονόλες, οι φλαβανόνες και οι φλαβανόλες. Η κατεχίνη, η επικατεχίνη, η κερκετίνη, η μυρικετίνη και η καμφερόλη είναι τα πιο συνηθισμένα φλαβονοειδή με παρουσία κυρίως σε ερυθρούς οίνους. Οι ανθοκυανίνες θεωρούνται από τις κυριότερες χρωστικές ουσίες στη φύση και υπεύθυνες για το κόκκινο χρώμα του κρασιού. Συμμετέχουν σε διάφορες χημικές διεργασίες

σχηματίζοντας σύμπλοκα, παράγωγα και πολυμερείς ενώσεις. Η βασική χημική δομή των μονομερών τους μορφών αποτελείται από δύο βενζολικούς δακτυλίους ενωμένους με έναν ακόρεστο οξυγονομένο ετεροκυκλικό δακτύλιο και συναντώνται σαν μονο-γλυκοζίτες ή δι-γλυκοζίτες των ανθοκυανιδινών (κυανιδίνη, πεονιδίνη, πελαργονιδίνη, δελφινιδίνη, πετουινιδίνη και μαλβιδίνη).



Εικόνα 1.7: Χημική δομή ανθοκυανινών και οι έξι κύριες μορφές τους

Οι ταννίνες είναι πολυμερείς ενώσεις με μεγάλο μοριακό βάρος αποτέλεσμα συνένωσης μικρότερων φαινολικών δομών. Το κύριο χαρακτηριστικό τους είναι η αλληλεπίδραση με πρωτεΐνες και άλλα μεγάλα μόρια ενώ είναι υπεύθυνες για την αίσθηση στυφού. Στο κρασί συναντώνται δύο είδη ταννινών, οι υδρολυόμενες και οι συμπυκνωμένες. Οι υδρολυόμενες ταννίνες δεν προέρχονται από τα σταφύλια αλλά προστίθενται στο κρασί κατά την οινοποιητική διαδικασία. Οι συμπυκνωμένες ταννίνες προυπάρχουν σε διάφορα μέρη των σταφυλιών. Οι κύριες φαινολικές δομές των υδρολυόμενων ταννινών είναι το γαλλικό οξύ και το γαλλικό οξύ. Η χημική δομή των συμπυκνωμένων ταννινών είναι αποτέλεσμα του πολυμερισμού των φλαβονοειδών ενώσεων κατεχίνη και επικατεχίνη.



Εικόνα 1.8: Φαινολικές δομές ταννινών α) γαλλικό οξύ β) ελλαγικό οξύ γ) κατεχίνη δ) επικατεχίνη

7. Ανόργανα Συστατικά

Τα ανόργανα ιόντα στο σταφύλι βρίσκονται κυρίως στα στερεά μέρη. Αυτό έχει αποτέλεσμα η ερυθρή οينوποίηση να αυξάνει την περιεκτικότητα τους στο γλεύκος και στον οίνο [16].

1.4.4 Παλαίωση

Η παλαίωση του κρασιού είναι μια διαδικασία η οποία έχει ως σκοπό τη βελτίωση των οργανοληπτικών του χαρακτηριστικών. Το αρχικό στάδιο της παλαίωσης πραγματοποιείται σε ξύλινα βαρέλια ενώ η διαδικασία της παλαίωσης συνεχίζεται στη φιάλη.

Το ξύλο ως μη αδρανές υλικό μεταβάλλει τη σύσταση του κρασιού. Οι διάφορες θερμικές κατεργασίες που υφίσταται ένα βαρέλι κατά τη διάρκεια της κατασκευής του, τροποποιούν σημαντικά τη σύσταση του σε αρωματικά συστατικά τα οποία στη συνέχεια επηρεάζουν τους οργανοληπτικούς χαρακτήρες του κρασιού. Το συχνότερα χρησιμοποιούμενο είδος ξύλου είναι η δρυς [15]. Η χρήση της δρυός συμβάλλει σημαντικά στην οينوποίηση καθώς επηρεάζει το χρώμα, τη γεύση, τις ταννίνες και την υφή του παραγόμενου κρασιού. Η δρυς έρχεται σε επαφή με το κρασί είτε με τη χρήση βαρελιών κατά τη διάρκεια της ζύμωσης ή της ωρίμανσης είτε με την εισαγωγή chips ξύλου στη δεξαμενή ζύμωσης.

1.4.4.1. Επιδράσεις στο Κρασί

Η πορώδης φύση ενός βαρελιού δρυός επιτρέπει κάποια επίπεδα εξάτμισης και οξυγόνωσης στο κρασί, όχι όμως σε επίπεδα που θα προκαλέσουν την οξείδωση ή αλλοίωση του. Κατά τη διάρκεια ενός χρόνου, ένα τυπικό βαρέλι 225lt μπορεί να χάσει μέσω της πορείας της εξάτμισης 21-25lt κρασιού. Αυτή η εξάτμιση επιτρέπει στο κρασί να συμπυκνώσει τα συστατικά της γεύσης και του αρώματος του. Μικρά ποσά οξυγόνου περνούν στο βαρέλι και δρουν ως παράγοντας που μαλακώνει τις ταννίνες του κρασιού.

Οι χημικές ιδιότητες της ίδιας της δρυός μπορεί να έχουν σημαντική επίδραση στο κρασί. Για παράδειγμα οι φαινόλες εντός του ξύλου αλληλεπιδρούν με το κρασί και παράγονται αρώματα βανίλιας. Επίσης ο βαθμός καψίματος του βαρελιού μπορεί να προσδώσει διαφορετικές ιδιότητες επηρεάζοντας τα επίπεδα των ταννινών.

Οι υδρολυόμενες ταννίνες που βρίσκονται στο ξύλο, γνωστές ως ελλαγικές ταννίνες, προέρχονται από τις δομές της λιγνίνης του ξύλου και βοηθούν στην προστασία του κρασιού από την οξείδωση και την αναγωγή [17].

Το κρασί μπορεί είτε να ζυμωθεί είτε να τοποθετηθεί σε δρύινο βαρέλι μετά τη ζύμωση για την περίοδο ωρίμανσης ή παλαίωσης. Το κρασί που ωριμάζει σε δρυ λαμβάνει περισσότερα από τα αρώματα και τις ιδιότητες της δρυός

Η χρονική διάρκεια που παραμένει ένα κρασί σε βαρέλι εξαρτάται από την ποικιλία του. Η πλειονότητα των αρωμάτων της δρυός μεταδίδονται τους πρώτους μήνες που το κρασί βρίσκεται σε επαφή με τη δρυ, αλλά μια μακροχρόνια έκθεση μπορεί να επηρεάσει το κρασί μέσω του αερισμού που επιτρέπει το βαρέλι, κάτι που βοηθάει στην καθίζηση των φαινολικών συστατικών [18].

1.5. Ελαιόλαδο

1.5.1 Ιστορικά Στοιχεία

Η ελιά είναι ένα από τα πιο παλιά δέντρα, που έδωσαν τροφή στον άνθρωπο και σίγουρα ένα από τα πιο σημαντικά. Η ιστορία της, η καλλιέργεια της, οι καρποί της και το ελαιόλαδο, συνδέθηκαν άρρηκτα με τους λαούς της Μεσογείου. Αυτό το δέντρο που αγαπάει τη θάλασσα και τον μεσογειακό ήλιο, μεγαλώνει ακόμα και σε άγονα και πετρώδη εδάφη και αντέχει σε συνθήκες ανομβρίας και δυνατών ανέμων. Συντρόφευε τους κατοίκους αυτών των περιοχών τόσο σε εποχές ευμάρειας, όσο και σε εποχές στέρησης. Οι καρποί της ελιάς, το λάδι της, αλλά και τα κλαδιά της, χρησιμοποιήθηκαν για ανθηρό εμπόριο, πρόσφεραν μακροζωία, καλλώπισαν, στεφάνωσαν και συνδέθηκαν με θρύλους αλλά και με την πραγματική ιστορία και τον πολιτισμό της Ανατολικής Μεσογείου. Οι ιστορικοί αναζητούν την καταγωγή της ελιάς στη Συρία και στις μακρόστενες κοιλάδες μεταξύ Ταύρου και Λιβάνου. Άλλοι ιστορικοί αναφέρουν ότι το δέντρο της ελιάς είναι ιθαγενές, στη λεκάνη της Μεσογείου και ότι η αγριελιά προέρχεται από τη Μικρά Ασία και από την Αρχαία Ελλάδα. Άγριες ελιές συλλέγονταν από τη Νεολιθική εποχή, δηλαδή από την 8η χιλιετία π.Χ. Δεν είναι σαφές πότε και πού αναπτύχθηκαν τα πρώτα «εξημερωμένα» ελαιόδεντρα. Σύμφωνα όμως με την αρχαία ελληνική παράδοση, πατρίδα της ελιάς είναι η Αθήνα και η πρώτη ελιά φυτεύτηκε από τη θεά Αθηνά στην Ακρόπολη. Οι Έλληνες ήταν ο πρώτος λαός που καλλιέργησε την ελιά στον ευρωπαϊκό μεσογειακό χώρο. Τη μετέφεραν είτε Έλληνες άποικοι είτε Φοίνικες έμποροι. Όπως αναφέρει ο Πλίνιος, κατά το 580 π.Χ., ούτε το Λάτιο ούτε η Ισπανία ούτε η Τύνιδα γνώριζαν την ελιά και την καλλιέργειά της. Οι φιλόσοφοι μελέτησαν διεξοδικά την ιστορία του ελαιολάδου. Ο Αριστοτέλης περιέγραψε τον τρόπο καλλιέργειας της ελιάς, ο Σόλωνας νομοθέτησε για την προστασία της και ο Πλάτωνας δίδαξε στη σκιά της. Η θεά Αθηνά πρόσφερε στην ανθρωπότητα ένα ελαιόδεντρο ως σύμβολο ειρήνης, σοφίας και ευημερίας. Στους Ολυμπιακούς αγώνες που ξεκίνησαν το 776 π.Χ., οι αρχαίοι Έλληνες στεφάνωναν τους νικητές με «κότινο» φτιαγμένο από κλάδους ελιάς από το ίδιο άγριο ελαιόδεντρο. Στα Παναθήναια, στους νικητές έδιναν έναν αμφορέα γεμάτο ιερό ελαιόλαδο από τη θεά Αθηνά. Η επίσημη ονομασία της αειθαλούς υπεραιώνιας ελιάς είναι *Olea Europea Sativa*. Ανήκει στην Οικογένεια: Ελαιοειδή (*Oleaceae*) και Γένος: Ελαία (*Olea*). Στον Μεσογειακό χώρο τα ελαιόδεντρα ανθοφορούν στα τέλη της Άνοιξης (από Απρίλιο-Μάιο) ενώ η συγκομιδή ξεκινά από τα τέλη Νοεμβρίου και τελειώνει το Φεβρουάριο για τις πιο νότιες περιοχές [19].

1.5.2 Οργανοληπτική Αξιολόγηση Ελαιολάδου

Οργανοληπτική αξιολόγηση είναι η ανίχνευση και περιγραφή των ποιοτικών και ποσοτικών οσφραντικο–γευστικών χαρακτηριστικών του παρθένου ελαιολάδου χρησιμοποιώντας τις ανθρώπινες αισθήσεις και η ταξινόμηση αυτού σύμφωνα με τα οργανοληπτικά του χαρακτηριστικά. Η μέθοδος χρησιμοποιεί μια ομάδα δοκιμαστών επιλεγμένων και εκπαιδευμένων και εφαρμόζεται μόνο για την ταξινόμηση παρθένων ελαιολάδων σύμφωνα με την ένταση του ελαττώματος που γίνεται αντιληπτό με τη μεγαλύτερη ένταση και την παρουσία ή όχι του φρουτώδους.



Εικόνα 1.9: Ποτήρι γευσιγνωσίας ελαιολάδου

Κατά την αξιολόγηση ο δοκιμαστής παίρνει το ποτήρι στην παλάμη του (**εικόνα 2.1**) και κρατώντας το σκεπασμένο το γέρνει στα πλάγια και το περιστρέφει κατά τέτοιο τρόπο ώστε να διαβραχεί όσο το δυνατό μεγαλύτερη επιφάνεια του ποτηριού. Στη συνέχεια απομακρύνεται το κάλυμμα του ποτηριού και οσφρίζεται το δείγμα, παίρνοντας αργές, βαθιές αναπνοές για να αξιολογήσει το εξεταζόμενο ελαιόλαδο. Αυτή η διαδικασία δεν υπερβαίνει τα 30 δευτερόλεπτα. Ο δοκιμαστής προσπαθεί να ανιχνεύσει τις αρνητικές ή θετικές ιδιότητες του δείγματος. Όταν έχει τελειώσει την οσφραντική δοκιμή, λαμβάνεται μια μικρή γουλιά περίπου 3ml λάδι και διασκορπίζεται σε όλη τη στοματική κοιλότητα από το μπροστινό μέρος του στόματος έως το πίσω μέρος, τον ουρανίσκο, τη γλώσσα και το λαιμό, αφού η αντίληψη των 4 κυρίως γεύσεων (**εικόνα 2.2**) ποικίλλει σε ένταση εξαρτώμενη από την περιοχή της γλώσσας, του ουρανίσκου και του λαιμού.



Εικόνα 1.10: Περιοχές ευαισθησίας της γλώσσας

Είναι ορθό μια σημαντική ποσότητα ελαιολάδου να διασκορπιστεί πολύ αργά πάνω από το πίσω μέρος της γλώσσας προς τη βάση του ουρανίσκου και το λαιμό, ενώ ο δοκιμαστής συγκεντρώνεται για να εντοπίσει την σειρά με την οποία το “πικρό” και το “πικάντικο” εμφανίζονται. Οι θετικές ιδιότητες του ελαιολάδου είναι το φρουτώδες, το πικάντικο και το πικρό. Το φρουτώδες είναι ο συνδυασμός γευστικο-οσφραντικών αισθήσεων που προέρχονται από υγιείς, φρέσκες ελιές ώριμες ή άγουρες. Γίνεται αντιληπτό είτε απευθείας από τη μύτη είτε από το πίσω μέρος αυτής και εξαρτάται από την ποικιλία της ελιάς. Η ιδιότητα αυτή είναι η πλέον σημαντική στην οργανοληπτική αξιολόγηση διότι εάν δεν γίνει αντιληπτή το δοκιμαζόμενο ελαιόλαδο δεν θα ταξινομηθεί ως εξαιρετικό ή παρθένο. Το πικάντικο είναι η αίσθηση της ενόχλησης στο λαιμό, το πιπεράτο που προέρχεται από λάδια παραγόμενα στην αρχή της ελαιοκομικής περιόδου κυρίως από ανώριμες ελιές. Η αίσθηση αυτή προκαλείται από τη δράση φαινολικών ουσιών και εξαλείφεται λίγα δευτερόλεπτα μετά τη δοκιμή. Η ένταση του πικάντικου μειώνεται κατά τη διάρκεια της ωρίμανσης του ελαιολάδου. Τέλος το πικρό είναι η χαρακτηριστική γεύση ελαιολάδου που προέρχεται από πράσινες ελιές ή από ελιές που αρχίζει να αλλάζει το χρώμα τους. Η πικράδα μπορεί να είναι περισσότερο ή λιγότερο ευχάριστη, εξαρτώμενη από την ένταση της. Τα κυριότερα ελαττώματα του ελαιολάδου είναι το ταγγό, το ατροχάδο/μούργα, το μουχλιασμένο-νοτισμένο και το κρασώδες. Το ταγγό είναι η χαρακτηριστική οσμή-γεύση ελαιολάδου που έχει υποστεί μια διαδικασία οξειδωσης οφειλόμενη σε παρατεταμένη επαφή με τον ατμοσφαιρικό αέρα. Αυτή η γεύση είναι αδύνατον να διορθωθεί. Το ατροχάδο είναι η χαρακτηριστική οσμή-γεύση ελαίου που έχει ληφθεί από ελιές αποθηκευμένες σε σωρούς, που έχουν υποστεί ένα προχωρημένο στάδιο αναερόβιας ζύμωσης. Το μουχλιασμένο είναι η χαρακτηριστική οσμή-γεύση ελαίου που έχει ληφθεί από ελιές που έχουν προσβληθεί από μύκητες και ζυμομύκητες μετά από παραμονή των καρπών σε υγρό μέρος επί πολλές ημέρες. Το κρασώδες είναι η χαρακτηριστική οσμή-γεύση ελαιολάδου που θυμίζει κρασί ή ξύδι. Η γεύση αυτή οφείλεται κυρίως στο σχηματισμό οξικού οξέος, οξικού αιθυλεστερά και αιθανόλης.

1.5.3 Ποιοτικές Κατηγορίες Ελαιολάδου

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. Για τη εγγύηση της ποιότητας του ελαιολάδου έχει σχεδιαστεί ένα ευρύ και τεκμηριωμένο Σύστημα Διασφάλισης Ποιότητας, το οποίο ακολουθεί σαφείς και συγκεκριμένες διαδικασίες. Οι επίσημες ποιοτικές κατηγορίες του ελαιολάδου είναι:

Έλαια που λαμβάνονται από τον ελαιόκαρπο μόνο με μηχανικές μεθόδους ή άλλες φυσικές επεξεργασίες, με συνθήκες που δεν προκαλούν αλλοίωση του ελαίου και τα οποία δεν έχουν υποστεί καμία άλλη επεξεργασία πλην της πλύσης, της μετάγγισης, της φυγοκέντρωσης και της διήθησης. Εξαιρούνται τα έλαια που λαμβάνονται με διαλύτες, με βοηθητικές ύλες

παραλαβής που έχουν χημική ή βιοχημική δράση, ή με μεθόδους επανεστεροποίησης ή πρόσμειξης με έλαια άλλης φύσης. Τα έλαια αυτά κατατάσσονται και ταξινομούνται αναλυτικά με τις ακόλουθες ονομασίες:

1. Εξαιρετικό ή έξτρα Παρθένο Ελαιόλαδο (extra virgin olive oil): το ελαιόλαδο, του οποίου η περιεκτικότητα σε ελεύθερα λιπαρά οξέα (οξύτητα), δεν υπερβαίνει τα 0,8 g ανά 100 g (0,8%), είναι φρουτώδες και δεν έχει κάποιο ελάττωμα.
2. Παρθένο Ελαιόλαδο: το ελαιόλαδο η οξύτητα του οποίου δεν υπερβαίνει το 2,0% και η τιμή των ελαττωμάτων είναι μικρότερη από 2,5.
3. Ελαιόλαδο Λαμπάντε: το ελαιόλαδο του οποίου η οξύτητα είναι μεγαλύτερη του 2,0% και η τιμή των ελαττωμάτων είναι μεγαλύτερη από 2,5.
4. Εξευγενισμένο Ελαιόλαδο: το ελαιόλαδο που λαμβάνεται από τον εξευγενισμό παρθένων ελαιολάδων, η οξύτητα του οποίου δεν υπερβαίνει το 0,3 % .
5. Ελαιόλαδο-αποτελούμενο από εξευγενισμένα ελαιόλαδα και παρθένα ελαιόλαδα: το έλαιο που λαμβάνεται από ανάμειξη εξευγενισμένου ελαιολάδου και παρθένων ελαιολάδων, εκτός από το ελαιόλαδο λαμπάντε, η οξύτητα του οποίου δεν υπερβαίνει το 1,0% .
6. Ακατέργαστο Πυρηνέλαιο: το έλαιο που λαμβάνεται από τους πυρήνες της ελιάς, κατόπιν επεξεργασίας με διαλύτες ή με φυσικά μέσα.
7. Εξευγενισμένο Πυρηνέλαιο: το έλαιο που λαμβάνεται από τον εξευγενισμό του ακατέργαστου πυρηνελαίου, η οξύτητα του οποίου δεν υπερβαίνει το 0,3% [20].

1.5.4 Χημική Σύσταση

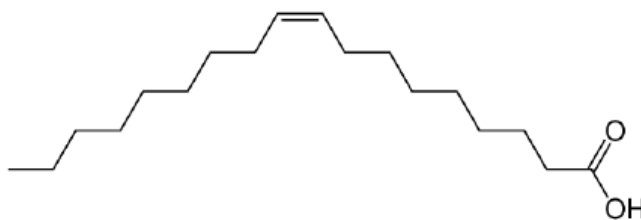
Το ελαιόλαδο είναι κυρίως μείγμα εστέρων της γλυκερίνης με τα ανώτερα λιπαρά οξέα, μερικά από τα οποία είναι ακόρεστα ενώ άλλα είναι κορεσμένα. Εκτός από τα τριγλυκερίδια το ελαιόλαδο περιέχει μικρές ποσότητες και από άλλα συστατικά όπως: ελεύθερα λιπαρά οξέα, φωσφολιπίδια, στερόλες, φαινόλες, αλειφατικές αλκοόλες, τοκοφερόλες, χρωστικές και πτητικές οργανικές ενώσεις.

Τα συστατικά του ελαιολάδου, διακρίνονται σε σαπωνοποιήσιμα (τριγλυκερίδια, φωσφολιπίδια, ελεύθερα λιπαρά οξέα κ.α) και ασαπωνοποίητα (υδρογονάνθρακες, αλειφατικές αλκοόλες, στερόλες, φαινόλες, κα). Το 98-99,5% περίπου των συστατικών είναι σαπωνοποιήσιμα. Παρά το γεγονός ότι το μη σαπωνοποιήσιμο κλάσμα είναι ποσοτικά μικρό, τα συστατικά του διαδραματίζουν σημαντικό διατροφικό και βιολογικό ρόλο.

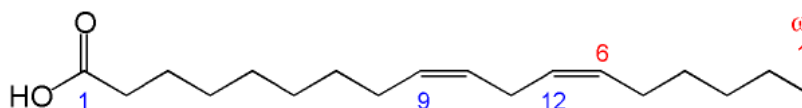
1. Λιπαρά οξέα

Η σύσταση του ελαιολάδου όπως και των άλλων φυτικών ελαίων σε λιπαρά οξέα, δεν είναι σταθερή, παράγοντες όπως η ποικιλία της ελιάς, οι εδαφοκλιματολογικές συνθήκες της περιοχής, ο βαθμός ωριμότητας του καρπού και διάφοροι άλλοι, επηρεάζουν τη σύσταση του ελαιολάδου σε λιπαρά οξέα. Τα σημαντικότερα λιπαρά οξέα του ελαιολάδου είναι ακόρεστα. Μεταξύ αυτών, σε μεγαλύτερη αναλογία υπάρχει το μονοακόρεστο ελαϊκό οξύ.

Το δεύτερο σημαντικότερο ακόρεστο λιπαρό οξύ του ελαιολάδου είναι το λινελαϊκό. Άλλα ακόρεστα λιπαρά οξέα που απαντούν στο ελαιόλαδο σε μικρές ποσότητες, είναι το λινολενικό, το αραχιδονικό και το παλμιτελαϊκό. Από τα κορεσμένα οξέα σε μεγαλύτερη αναλογία απαντά το παλμιτικό και ακολούθως το στεατικό. Τα κύρια γλυκερίδια του ελαιολάδου είναι αυτά στα οποία απαντά το ελαϊκό οξύ, καθώς αποτελούν το 70-80% του βάρους του ελαίου, επειδή τα τριγλυκερίδια αυτά είναι υγρά σε θερμοκρασία δωματίου. Το ελαιόλαδο στο σύνολο του παραμένει σε υγρή κατάσταση σε θερμοκρασία δωματίου. Εκτός από τα κύρια λιπαρά οξέα που προαναφέρθηκαν, στο ελαιόλαδο απαντούν σε ποσοστό μικρότερο του 0,1% τα οξέα μυριστικό, λαουρικό και αραχιδικό.



Εικόνα 1.11: Ελαϊκό οξύ



Εικόνα 1.12: Λινελαϊκό οξύ

2. Φωσφολιπίδια

Το παρθένο ελαιόλαδο περιέχει μικρό ποσοστό φωσφολιπιδίων. Η συγκέντρωσή τους κυμαίνεται από 40 έως 35 mg/kg. Η μεγαλύτερη ποσότητα των φωσφολιπιδίων αυτών προέρχεται από τον πυρήνα του ελαιοκάρπου. Τα φωσφολιπίδια που απαντούν στο ελαιόλαδο είναι κυρίως η λεκιθίνη και η κεφαλίνη. Το ελαϊκό οξύ είναι το κυριότερο από τα λιπαρά οξέα που συνθέτουν το μόριο των φωσφολιπιδίων του ελαιολάδου.

3. Υδρογονάνθρακες

Στο ελαιόλαδο απαντώνται υδρογονάνθρακες που είναι εν μέρει κορεσμένοι και εν μέρει ακόρεστοι. Αυτοί είναι πιθανότατα παραπροϊόντα της βιοσύνθεσης των λιπαρών οξέων. Τα αλκάνια με έντεκα μέχρι τριάντα άτομα άνθρακα (C_{11} - C_{30}), καθώς και υδρογονάνθρακες με διακλαδισμένη αλυσίδα, αποτελούν επίσης συστατικά του κλάσματος αυτού. Ωστόσο το κύριο συστατικό του κλάσματος των υδρογονανθράκων του ελαιολάδου είναι ένας τριτερπενικός υδρογονάνθρακας και ενδιάμεσο της βιοσυνθετικής οδού της χοληστερόλης, το σκουαλένιο. Το έξτρα παρθένο ελαιόλαδο περιέχει σκουαλένιο σε ποσότητα περίπου 400- 450 mg/100g, ενώ το ραφινρισμένο ελαιόλαδο περιέχει κατά 25% περίπου λιγότερο. Εκτός από το σκουαλένιο, υπάρχουν και άλλοι υδρογονάνθρακες, όπως η προβιταμίνη Α και το β-καροτένιο, σε πολύ μικρές όμως ποσότητες (β-καροτένιο: 0,03- 0,36 mg/100g). Στο ελαιόλαδο έχουν ταυτοποιηθεί και πολυκυκλικοί αρωματικοί υδρογονάνθρακες, όπως το

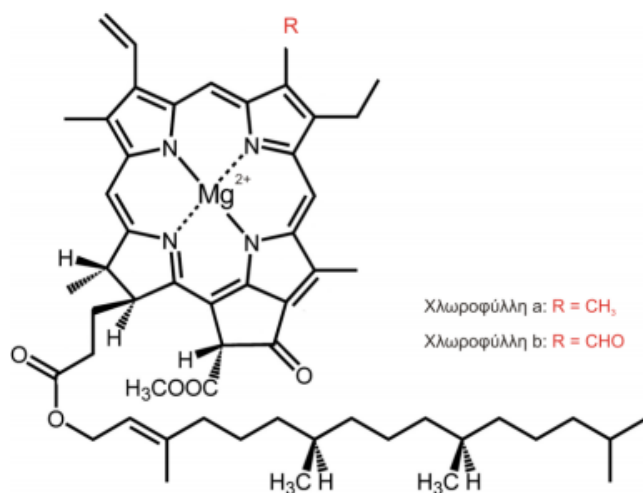
πυρένιο, το φθοουρανθένιο, το χρυσένιο το 1,2-βενζανθρακένιο κ.α. Οι υδρογονάνθρακες αυτοί δεν είναι ωστόσο φυσικά συστατικά του ελαιολάδου, αλλά προσμίξεις που η παρουσία τους οφείλεται στην ρύπανση του περιβάλλοντος.

4. Καροτενοειδή

Στο ελαιόλαδο απαντούν διάφορα καροτενοειδή στα οποία αποδίδεται η κίτρινη απόχρωση του. Η λουτεΐνη ($C_{40}H_{56}O_2$) που ανήκει στις ξανθοφύλλες είναι το κύριο καροτενοειδές του ελαιολάδου. Άλλα σημαντικά καροτενοειδή είναι τα καροτένια (α -, β - και γ - καροτένιο), ακόρεστοι υδρογονάνθρακες που έχουν μοριακό τύπο $C_{40}H_{56}$. Το επικρατέστερο από αυτά είναι το β -καροτένιο που αποτελεί το 85% του συνόλου των καροτενίων και ακολουθεί το α -καροτένιο (15%). Η λουτεΐνη και το β -καροτένιο βρέθηκαν σε συγκεντρώσεις που ποικίλουν ανάλογα με την κατηγορία του ελαιολάδου και τον τρόπο επεξεργασίας του. Οι ξανθοφύλλες, βιολαξανθίνη και νεοξανθίνη απαντούν επίσης στο ελαιόλαδο. Η λουτεΐνη είναι το κύριο συστατικό του κλάσματος και ακολουθούν το β -καροτένιο, η βιολαξανθίνη και η νεοξανθίνη [21].

5. Χλωροφύλλες

Στο ελαιόλαδο απαντούν και άλλες χρωστικές, όπως η χλωροφύλλη a και b. Η χλωροφύλλη b διαφέρει από την a στο ότι έχει αλδεϋδική ομάδα αντί μεθύλιο. Η χλωροφύλλη a έχει κυανοπράσινο χρώμα, ενώ η χλωροφύλλη b είναι κιτρινοπράσινη και είναι αυτές που δίνουν το χαρακτηριστικό πράσινο χρώμα στο ελαιόλαδο.



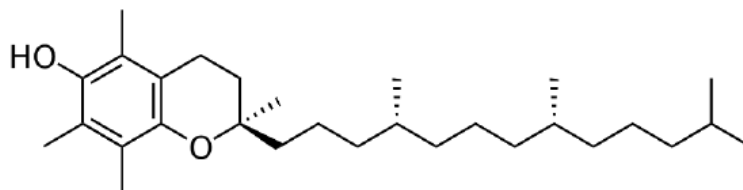
Εικόνα 1.13: Χλωροφύλλη a και b

Ωστόσο, αποτελούν και παράγοντα στον οποίο οφείλεται η υποβάθμιση της ποιότητας του, όταν αυτό έρθει σε επαφή με το φως, καθώς οι ενώσεις αυτές εμφανίζουν μέγιστο απορρόφησης στα 670 και 650 nm αντίστοιχα. Οι χρωστικές αυτές αποικοδομούνται εύκολα και μετατρέπονται στις αντίστοιχες φαιοφυτίνες. Η χλωροφύλλη με την επίδραση οξέων μετατρέπεται εύκολα σε φαιοφυτίνη και μαγνήσιο. Η ποσότητα της χλωροφύλλης στο ελαιόλαδο εξαρτάται από: την ποικιλία του καρπού, το έδαφος, τις κλιματολογικές συνθήκες, το στάδιο ωριμότητας του καρπού και τον τρόπο επεξεργασίας. Με την πρόοδο

της ωρίμανσης του ελαιοκάρπου καθώς και με τον χρόνο αποθήκευσης του ελαιολάδου μειώνεται η περιεκτικότητα του ελαιολάδου σε χλωροφύλλες.

6. Τοκοφερόλες

Οι τοκοφερόλες είναι ετεροκυκλικές ενώσεις μεγάλου μοριακού βάρους. Οι διάφορες ομόλογες τοκοφερόλες διαφέρουν μεταξύ τους ως προς τον αριθμό των μεθυλικών ομάδων που έχουν στο μόριο τους ή στη θέση στην οποία βρίσκονται οι ομάδες αυτές. Η α-τοκοφερόλη είναι το πλέον ισχυρό αντιοξειδωτικό από τις τοκοφερόλες.



Εικόνα 1.14: α-τοκοφερόλη

Κατά μέσον όρο, η ποσότητα της α-τοκοφερόλης στο ελαιόλαδο είναι περίπου 12 έως 25 mg/100g. Η ποσότητα που υπάρχει στο ελαιόλαδο εξαρτάται από ποικίλους παράγοντες όπως η καλλιεργούμενη ποικιλία, η ωριμότητα του καρπού καθώς και οι συνθήκες και η διάρκεια της αποθήκευσης. Η α-τοκοφερόλη αποτελεί περίπου το 88,5% των συνολικών τοκοφερολών στο ελαιόλαδο, η β- μαζί με τη γ-τοκοφερόλη αποτελούν το 9,9% ενώ η δ-τοκοφερόλη το 1,6% του συνόλου των τοκοφερολών. Ο προσδιορισμός της συγκέντρωσης των τοκοφερολών στο ελαιόλαδο είναι χρήσιμος και υπό προϋποθέσεις μπορεί να βοηθήσει στην ανίχνευση νοθείας του με άλλα φυτικά έλαια [22].

7. Στερόλες

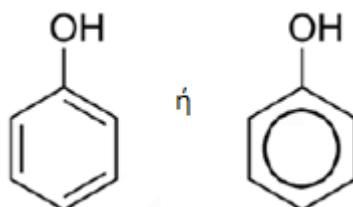
Οι στερόλες είναι κυκλικές αλκοόλες μεγάλου μοριακού βάρους. Βρίσκονται σε όλες τις φυσικές λιπαρές ύλες, είτε ελεύθερες είτε δεσμευμένες με τη μορφή εστέρων με λιπαρά οξέα. Είναι διαλυτές στα λίπη, στα έλαια και στους μη πολικούς διαλύτες και αδιάλυτες στο νερό. Αποτελούν την κύρια τάξη ασαπωνοποίητων συστατικών των λιπαρών υλών, όταν δεν είναι δεσμευμένες. Ο στερολικός δακτύλιος είναι κοινό χαρακτηριστικό σε όλες τις στερόλες, ενώ οι διαφοροποιήσεις συναντώνται στην πλευρική αλυσίδα. Η χοληστερόλη απαντά σε όλα τα ζωϊκά κύτταρα, όπου διαδραματίζει σημαντικό βιολογικό ρόλο. Αποτελεί πρόδρομη ένωση της βιταμίνης D και μαζί με τα χολικά οξέα συντελεί στη γαλακτωματοποίηση των λιπαρών οξέων και τροφών, πράγμα που αποτελεί βασική προϋπόθεση για την αφομοίωση τους. Μέχρι στιγμής, έχουν αναγνωριστεί περισσότερες από 40 στερόλες, ενώ η συνολική ποσότητα τους στο ελαιόλαδο, κυμαίνεται μεταξύ 113-265 mg/100g ελαιολάδου. Δύο παράγοντες που επηρεάζουν την ποσότητα αυτή είναι η καλλιεργούμενη ποικιλία και ο βαθμός ωριμότητας των καρπών της ελιάς. Η κύρια στερόλη που απαντάται στο ελαιόλαδο είναι η β-σιτοστερόλη που αποτελεί έως και το 90-95 % των συνολικών στερολών, ενώ η καμπεστερόλη και η στιγμαστερόλη αποτελούν περίπου το 3% και 1% αντιστοίχως. [21].

8. Τριτερπενικά οξέα

Στο ελαιόλαδο έχει βρεθεί και ένα τριτερπενικό οξύ που ανήκει στη σειρά της α-αμυρίνης, το ελεανολικό οξύ. Το οξύ αυτό έχει μάλιστα συσχετισθεί με την οξειδωτική σταθερότητα του ελαιολάδου. Βρίσκεται σε μεγαλύτερες συγκεντρώσεις στα φύλλα απ' ό τι στον ελαιόκαρπο, αλλά και στο πυρηνέλαιο απ' ό τι στο ελαιόλαδο. Το οξύ αυτό προκαλεί πολλές φορές θολότητα στο πυρηνέλαιο. Άλλα τριτερπενικά οξέα που απαντούν σε ίχνη είναι το μασλινικό και το ουρσολικό.

9. Φαινόλες

Φαινόλες ονομάζονται οι ενώσεις που περιέχουν τουλάχιστον ένα βενζολικό δακτύλιο και ένα ή περισσότερα υδροξύλια στο βενζολικό δακτύλιο. Μπορεί να είναι απλές φαινόλες, φαινολικά οξέα, φλαβονοειδή ή φαινολικές αλκοόλες [21].



Εικόνα 1.15: Απλούστερη φαινόλη

Οι απλές φαινόλες είναι άχρωμες στερεές ενώσεις όταν είναι καθαρές αλλά συνήθως οξειδώνονται και αποκτούν σκούρο χρώμα όταν εκτίθενται στον αέρα. Η ιδιότητα τους να διαλύονται στο νερό αυξάνεται ανάλογα με τον αριθμό των φαινολικών υδροξυλικών ομάδων που έχουν στο μόριο τους, αλλά η διαλυτότητα 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 οξείδωσης των ελαίων. Η εισαγωγή στο μόριο τους δεύτερης ή τρίτης φαινολικής υδροξυλικής ομάδας αυξάνει σε μεγάλο βαθμό την αντιοξειδωτική δράση. Στο ελαιόλαδο απαντούν φαινολικές ενώσεις οι οποίες προέρχονται από τον ελαιόκαρπο, αλλά σε μικρό βαθμό και από τα φύλλα της ελιάς. Πολλές φαινολικές ενώσεις με απλή ή πολύπλοκη δομή έχουν εντοπισθεί στον καρπό της ελιάς. Μάλιστα η σάρκα της ελιάς είναι ιδιαίτερα πλούσια σε φαινολικά συστατικά υπολογίσιμες ποσότητες των οποίων έχουν βρεθεί και στο ελαιόλαδο. Οι κυριότερες από τις φαινόλες που απαντούν στο ελαιόλαδο σε ελεύθερη και δεσμευμένη μορφή είναι η τυροσόλη και η υδροξυτυροσόλη. Η τελευταία παρουσιάζει αξιόλογη αντιοξειδωτική δράση. Εκτός από τις δύο αυτές φαινολικές ενώσεις, στο ελαιόλαδο έχουν ανιχνευθεί και φαινολικά οξέα όπως το καφεϊκό, το πρωτοκατεχικό, το βανιλικό, το κουμαρικό και το γαλλικό. Ακόμη έχουν ανιχνευθεί πιο πολύπλοκα μόρια όπως λιγνάνες και φλαβονοειδή, όπως για παράδειγμα η απιγενίνη ή λουτεολίνη. Τόσο η τυροσόλη όσο και η υδροξυτυροσόλη πιστεύεται ότι προέρχονται από την υδρόλυση διαφόρων σεκοϊριδοειδών όπως είναι η ελευρωπαΐνη και ο γλιγτροζίτης (2,8 mg/100g στο έξτρα παρθένο ελαιόλαδο και 0,93 mg/100g στο ραφιναρισμένο ελαιόλαδο αντίστοιχα). Το

περιεχόμενο του λαδιού σε φαινολικές ενώσεις εξαρτάται από την καλλιεργούμενη ποικιλία και την ωριμότητα των ελιών κατά το χρόνο συγκομιδής. Για παράδειγμα, η συγκέντρωση υδροξυτυροσόλης, τυροσόλης και λουτεολίνης αυξάνεται καθώς ωριμάζει ο καρπός, ενώ η συνολική ποσότητα φαινολικών ενώσεων και α -τοκοφερόλης μειώνεται με την ωριμότητα [23].

Βιβλιογραφία

1. Zumbier P. Supply Chain Management in the Fresh Produce Industry: A Mile to Go? *Journal of food distribution research*, 1999, 30, 20-30.
2. Proestos C. *et al.* High performance liquid chromatography analysis of phenolic substances in Greek wines. *Food Control*. 2005, 16, 319-323.
3. Anastasiadi M. *et al.* ¹H NMR-Based Metabolomics for the classification of Greek wines according to variety, region and vintage comparison with HPLC data. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2009, 57, 23, 11067-11074.
4. Mannina L. *et al.* Geographical Characterization of Italian Extra Virgin Olive Oils Using High Field ¹H-NMR Spectroscopy, *J. Agr. Food. Chem* 2001, 49, 2687–2696.
5. Plante M. *et al.* Determination of Olive Oil Adulteration by Principal Component Analysis with HPLC–Charged Aerosol Detector Data. *AOCS*. 2014, 05/14S.
6. Aparicio R., Aparicio-Ruiz, R. Authentication of vegetable oils by chromatographic techniques. *J. Chromatogr. A*. 2000, 881, 93-104.
7. Urickova V. *et al.* Determination of geographical origin of alcoholic beverages using ultraviolet, visible and infrared spectroscopy: a review. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 2015, 148, 131–137.
8. Mutavdzic M. *et al.* Differentiation of wine commercial samples by using fluorescence spectroscopy and multivariate analysis, *Acta Agriculturae Serbica*, 2013, 18, 169-177.
9. Jin T. *et al.* Detection of extra virgin olive oil adulteration with edible oils using front-face fluorescence and visible spectroscopies, *J Am Oil Chem Soc*, 2018, 95, 535-546.
10. Bertran E. *et al.* Near infrared spectrometry and pattern recognition as screening methods for the authentication of virgin olive oils of very close geographical origins, *J Near Infrared Spectrosc*, 2000, 8, 45-52.
11. Arvanitoyiannis L.S. *et al.* Application of quality control methods for accessing wine authenticity: use of multivariate analysis (chemometrics), *Trends in Food Science & Technology*, 1999, 10, 321-336.
12. Gonzalez A. *et al.* Elemental fingerprint of wines from the protected designation of origin Valencia. *Food Chemistry*, 2009, 112, 26-34.

13. Βαρουφάκης Γ. Ο έλεγχος ποιότητας των προϊόντων και η προστασία του καταναλωτή στην αρχαιότητα. *Αρχαιολογία και Τέχνες*. 2005, 95, 81-87.
14. De La Guardia M. *et al.* Food Protected Designation of Origin: Methodologies and Applications. *Comprehensive Analytical Chemistry*, Elsevier Science, 2013, 60, 409-435.
15. Τσακίρης Α. *Οινολογία*, Εκδόσεις: Ψύχαλος, 2008, 480-556.
16. Ribereau-Gayon P. *et al.* Handbook of enology, vol 2: the chemistry of wine stabilization and treatments. Wiley, 2006, 66-70.
17. Robinso, J. *The Oxford Companion to Wine*, Oxford: Oxford University Press, 2015, 15-34.
18. MacNeil, K. *The wine bible*. NY: Workman Publishing Company; Second Edition, 2015, 850-875.
19. Θεοδωρίδης Π., Ταλιάνης Δ. *Η ελιά στην Ελλάδα*, Μουσείο Φυσικής Ιστορίας Απολιθωμένου Δάσους Λέσβου, Εκδόσεις Τοπίο, 2001.
20. Muzzalupo I. *et al.* Olive Germplasm-The Olive Cultivation, Table Olive and Olive Oil Industry in Italy. Council for Agricultural Research and Economics, 2012.
21. Kiritsakis A. K. Flavor components of olive oil. A review. *Journal of American Oil Chemistry Society*, 1998, 81, 71-75.
22. Eitenmiller R. R. *et al.* *Vitamin Analysis for the Health and Food Sciences*. 2 edn CRC Press, New York. 200, 119-179.
23. Bendini, A. *et al.* 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*, 2007, 12, 1679-1719.

2. Φασματοσκοπικές Μέθοδοι

2.1 Ηλεκτρομαγνητική Ακτινοβολία

Η αλληλεπίδραση της ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας με την ύλη και οι κβαντικές μεταβολές ενέργειας κατά την απορρόφηση ή εκπομπή ακτινοβολίας είναι το κύριο χαρακτηριστικό της φασματοσκοπίας.

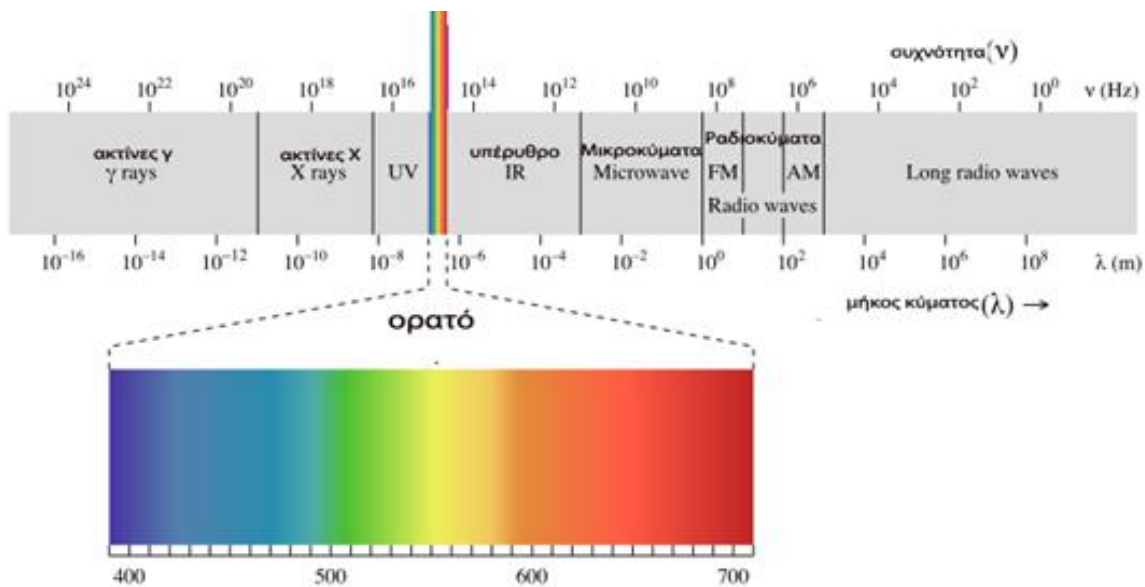
Η ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία έχει τόσο κυματική όσο και σωματιδιακή φύση. Με βάση την κυματική της φύση η ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία αποτελείται από κύματα που είναι συνδυασμός ηλεκτρικών και μαγνητικών πεδίων. Τα κύματα αυτά διαδίδονται στο χώρο με την ταχύτητα του φωτός που είναι ίση με 3×10^8 m/s. Με βάση τη σωματιδιακή της φύση, η ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία συνιστάται από φωτόνια. Στην περίπτωση του φωτονίου η βασική εξίσωση για την ενέργεια του είναι:

$$E = h\nu \quad (1)$$

όπου ν είναι η συχνότητα και $h = 6.626 \times 10^{-34}$ J s (σταθερά του Planck).

Για να υπάρξει μηχανισμός αλληλεπίδρασης της ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας και του χημικού μορίου πρέπει οι πυρηνικές και ηλεκτρονικές μεταβολές του να προκαλέσουν κάποιο ηλεκτρικό ή μαγνητικό αποτέλεσμα, που με τη σειρά του θα επιδράσει στα ηλεκτρικά και μαγνητικά πεδία της ακτινοβολίας. Οι χαρακτηριστικές περιοχές του ηλεκτρομαγνητικού φάσματος φαίνονται στην **εικόνα 4.1** και είναι:

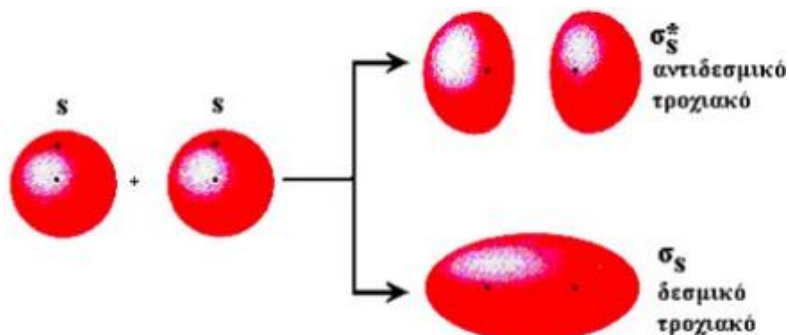
1. Περιοχή Ραδιοσυχνότητας: Η ενεργειακή μεταβολή στην περιοχή αυτή αφορά το spin πυρήνα ή ηλεκτρονίου. Η περιστροφή του πυρήνα ή του ηλεκτρονίου γύρω από τον άξονα τους δημιουργεί ένα μικροσκοπικό μαγνητικό δίπολο.
2. Περιοχή Μικροκυμάτων: Περιοχή απορρόφησης ή εκπομπής ακτινοβολίας λόγω της περιστροφής των μορίων. Μόρια με μόνιμη ηλεκτρική διπολική ροπή όταν περιστρέφονται γύρω από ένα άξονα, μεταβάλλουν το άνυσμα της διπολικής τους ροπής επιδρώντας επί του ηλεκτρικού πεδίου της ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας.
3. Περιοχή Υπερύθρου: Περιοχή όπου κυρίως παρατηρούνται δονήσεις ή στρεβλώσεις της δομής των μορίων. Η δόνηση των μορίων δημιουργεί αλλαγές στην ηλεκτρονική διπολική ροπή τους και κατά συνέπεια επίδραση επί του κυματοειδούς ηλεκτρικού πεδίου της ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας.
4. Περιοχή Ορατού και Υπεριώδους: Η διέγερση των ηλεκτρονίων σθένους προκαλεί μεταβολές της ηλεκτρονικής δομής και αλλαγή της ηλεκτρικής διπολικής ροπής του μορίου. Η μεταβολή αυτή της ηλεκτρικής διπολικής ροπής αλληλεπιδρά με το ηλεκτρικό πεδίο της ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας.
5. Περιοχή Ακτίνων X: Οι ενεργειακές μεταβολές στην περιοχή αυτή αφορούν τα εσωτερικά ηλεκτρόνια του ατόμου ή του μορίου.
6. Περιοχή Ακτίνων γ : Στην περιοχή αυτή παρατηρούνται ανακατατάξεις των πυρηνικών σωματιδίων [\[1\]](#).

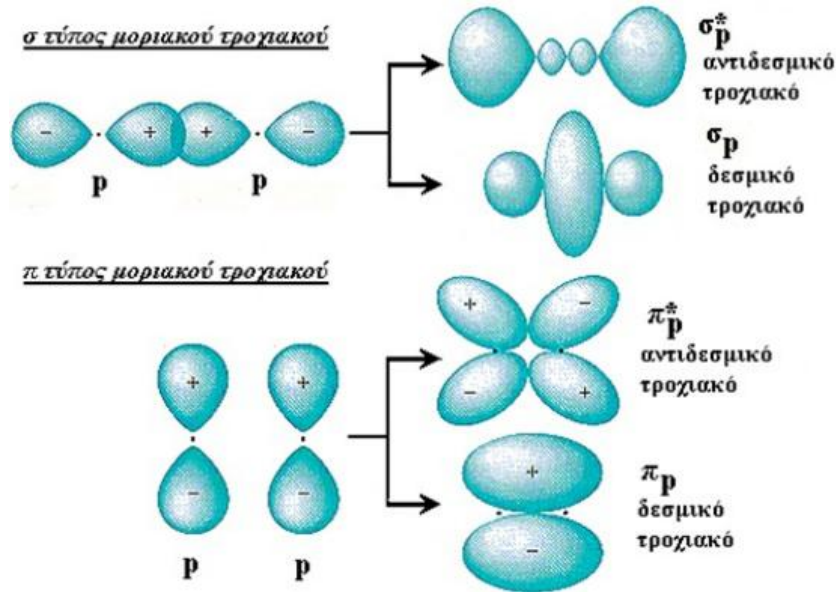


Εικόνα 2.1: Περιοχές ηλεκτρομαγνητικού φάσματος

2.2 Φασματοσκοπία Απορρόφησης Ορατού και Υπεριώδους

Ως απορρόφηση ορίζεται η δέσμευση ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας από την ύλη. Στο υπεριώδες-ορατό τμήμα του ηλεκτρομαγνητικού φάσματος οι διεργασίες είναι κυρίως ηλεκτρονικής φύσεως αλλά υπάρχει συνεισφορά και από δονητικο-περιστροφικές κινήσεις των μορίων. Με βάση τη θεωρία της κβαντομηχανικής, τα ηλεκτρόνια εντοπίζονται σε μοριακά τροχιακά. Τα μοριακά τροχιακά προκύπτουν με συνδυασμό των ατομικών τροχιακών όπως φαίνεται στην **εικόνα 2.2**. Ανάλογα με τους δεσμούς μεταξύ των ατόμων και τον τρόπο συνένωσης των ατομικών τροχιακών τα μοριακά τροχιακά διακρίνονται σε δεσμικά και αντιδεσμικά. Τα δεσμικά μοριακά τροχιακά (σ, π) συγκεντρώνουν τη μέγιστη ηλεκτρονιακή πυκνότητα μεταξύ των συνδεδεμένων ατόμων διατηρώντας χαμηλότερη την ενέργεια του συστήματος. Τα αντιδεσμικά μοριακά τροχιακά (σ^*, π^*) παρουσιάζουν χαμηλή ηλεκτρονιακή πυκνότητα και χαρακτηρίζονται από υψηλή ενέργεια.





Εικόνα 2.2: Δεσμικά και αντιδεσμικά μοριακά τροχιακά

Το φαινόμενο της απορρόφησης στο υπεριώδες-ορατό τμήμα του ηλεκτρομαγνητικού φάσματος λαμβάνει χώρα όταν ένα ηλεκτρόνιο από δεσμικό ή αντιδεσμικό μοριακό τροχιακό μεταβεί σε αντιδεσμικό μοριακό τροχιακό. Το ποσό της ενέργειας που απαιτείται για τη διέγερση ενός ηλεκτρονίου εξαρτάται από τη διαφορά ενέργειας μεταξύ της βασικής και της διεγερμένης κατάστασης. Οι μεταβάσεις $\sigma-\sigma^*$, $\sigma-\pi^*$, $\pi-\sigma^*$ ή $\pi-\pi^*$ απαιτούν φως στην περιοχή του υπεριώδους. Ωστόσο συζυγικά π συστήματα παρουσιάζουν μεταβάσεις $\pi-\pi^*$ οι οποίες απορροφούν στην περιοχή μεταξύ 200-800nm. Σε αυτά τα συζυγικά συστήματα η ενεργειακή διαφορά μεταξύ βασικής και διεγερμένης κατάστασης είναι μειωμένη [2].

Η φασματοσκοπία απορρόφησης ορατού και υπεριώδους βασίζεται στον νόμο Beer-Lambert, που εκφράζεται από τις ακόλουθες εξισώσεις:

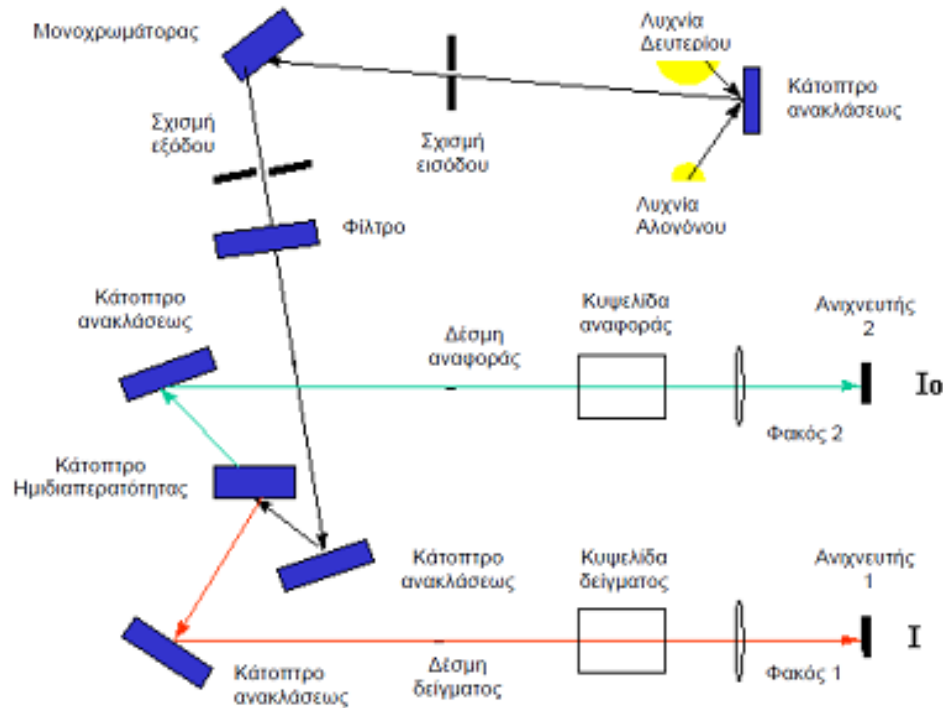
$$I = I_0 10^{-\epsilon cl} \quad (2)$$

$$\ln \frac{I_0}{I} = \ln \frac{1}{T} = \epsilon cl = A \quad (3)$$

όπου I_0 η αρχική ένταση της προσπίπτουσας ακτινοβολίας, I η ένταση της ακτινοβολίας μετά τη διέλευση της από το μέσο απορρόφησης, ϵ η γραμμομοριακή απορροφητικότητα της χημικής ουσίας σε $M^{-1} cm^{-1}$, c η συγκέντρωση της χημικής ουσίας σε M , l το μήκος του οπτικού δρόμου εντός της κυψελίδας σε cm , T η διαπερατότητα που ισούται με $\frac{I}{I_0}$ και A η τιμή της απορρόφησης.

Για τη μέτρηση του φαινομένου της απορρόφησης χρησιμοποιείται το φασματοφωτόμετρο. Τα φασματοφωτόμετρα απορρόφησης Υπεριώδους-Ορατού χωρίζονται σε μονής δέσμης και διπλής δέσμης. Η διαφορά τους είναι ότι τα διπλής δέσμης χωρίζουν την ακτινοβολία

της πηγής σε δυο δέσμες. Η μια από αυτές περνάει μέσα από το προς μέτρηση δείγμα και η άλλη από ένα πρότυπο δείγμα. Η μέτρηση γίνεται αφαιρώντας τις δυο μετρήσεις που δίνει ο ανιχνευτής ψηφιακά ή αναλογικά, φιλτράροντας την DC τάση και μετρώντας το πλάτος της εναλλασσόμενης τάσης που καταγράφεται.



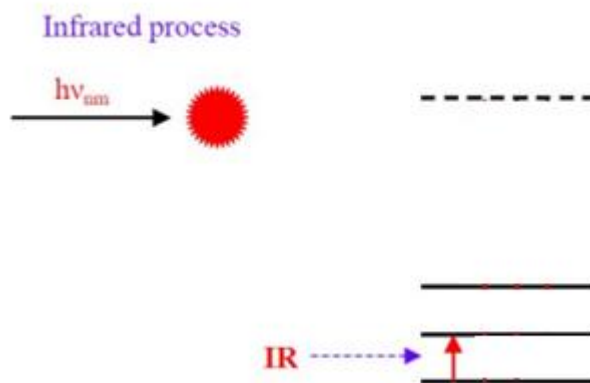
Εικόνα 2.3: Διάταξη φασματοφωτομέτρου απορρόφησης υπεριώδους-ορατού διπλής δέσμης.

Ένα φασματοφωτόμετρο απορρόφησης υπεριώδους-ορατού (UV-Vis) αποτελείται από δύο φωτεινές πηγές (λαμπτήρας δευτερίου για το υπεριώδες και λαμπτήρας βολφραμίου για το ορατό), διάφορα κάτοπτρα που κατευθύνουν τη δέσμη του φωτός, μονοχρωμάτορες για την επιλογή των μηκών κύματος, θέσεις για την τοποθέτηση των κυψελίδων του δείγματος και της αναφοράς καθώς και ανιχνευτές για τον προσδιορισμό της έντασης της προσπίπτουσας ακτινοβολίας (I_0) και της εξερχόμενης ακτινοβολίας (I). Ο μονοχρωμάτορας (πρίσμα, ή περιθλαστικό φράγμα), αναλύει το λευκό φως στις διάφορες μονοχρωματικές περιοχές του και επιλέγει το επιθυμητό μήκος κύματος, με μεγάλη ακρίβεια. Ο διαχωριστής δέσμης, χωρίζει την εξερχόμενη δέσμη σε δύο ίσα μέρη. Οι κυψελίδες που περιέχουν το τυφλό και το δείγμα μέτρησης, κατασκευάζονται από χαλαζία για το υπεριώδες και από ύαλο για το ορατό. Οι ανιχνευτές 1 και 2 συνδυαζόμενοι βρίσκουν το σήμα που οφείλεται στην ουσία που θέλουμε να προσδιορίσουμε. Ο ενισχυτής, ενισχύει το εξερχόμενο σήμα. [3].

2.3 Φασματοσκοπία Υπερύθρου

Η φασματοσκοπία υπερύθρου προκύπτει από απορρόφηση της ακτινοβολίας και μετάβαση του μορίου σε ανώτερο ενεργειακό επίπεδο. Στην περιοχή υπερύθρου του φάσματος της

ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας (IR) συμβαίνουν απορροφήσεις που οφείλονται σε δονήσεις ή κάμψεις των δεσμών των μορίων για ενώσεις με μόνιμη διπολική ροπή, που μεταβάλλεται κατά την παραμόρφωση του μορίου και απορροφούν ισχυρά στην περιοχή υπέρυθρου [4].

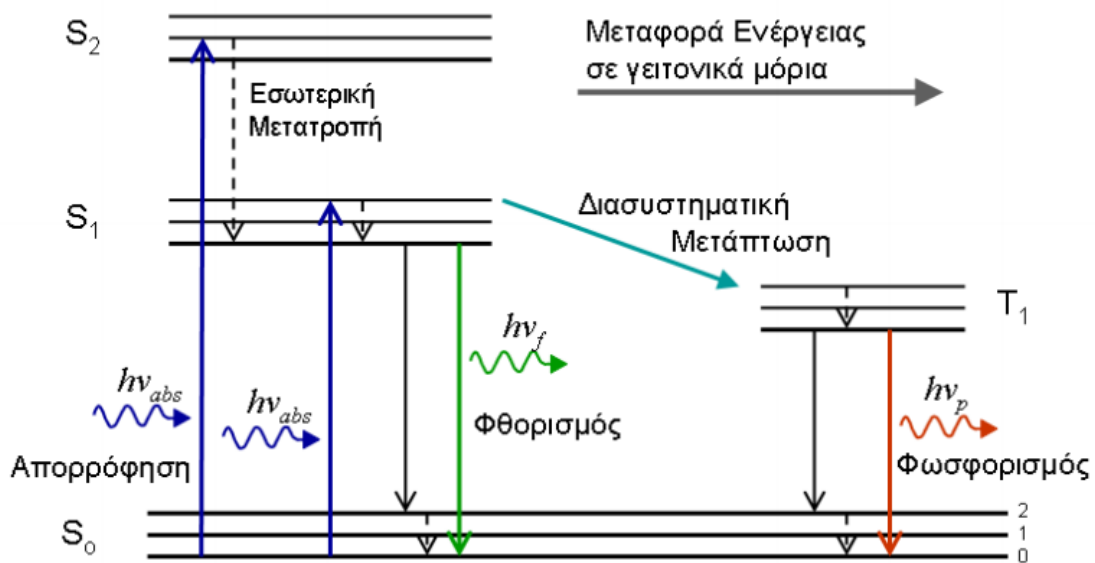


Εικόνα 2.4: Αναπαράσταση των δονητικών διαδικασιών IR

Οι δονήσεις των χαρακτηριστικών ομάδων ενός μορίου είναι ανεξάρτητες της υπόλοιπης δομής του. Η συνηθισμένη περιοχή χαρακτηριστικών απορροφήσεων είναι μεταξύ 4000 cm^{-1} και $1600\text{-}1400\text{ cm}^{-1}$. Υπάρχουν αρκετές χαρακτηριστικές ομάδες οργανικών ενώσεων που απορροφούν σε συγκεκριμένη περιοχή ανεξάρτητα του υπόλοιπου μορίου (π.χ. O-H, C=O, C≡N, C≡C, C=S, NH₂). Άλλα παραδείγματα θα μπορούσαν να είναι: η καρβονυλο-ομάδα (C=O) που παρουσιάζει μία ισχυρή απορρόφηση στην περιοχή $1600\text{-}1750\text{ cm}^{-1}$, ανάλογα με τη δομή του υπόλοιπου μορίου, η θειονυλο-ομάδα (C=S) που εμφανίζει μία ταινία απορρόφησης στα 1100 cm^{-1} , και η ομάδα -SH που παρουσιάζει χαρακτηριστική απορρόφηση στα 2580 cm^{-1} [5].

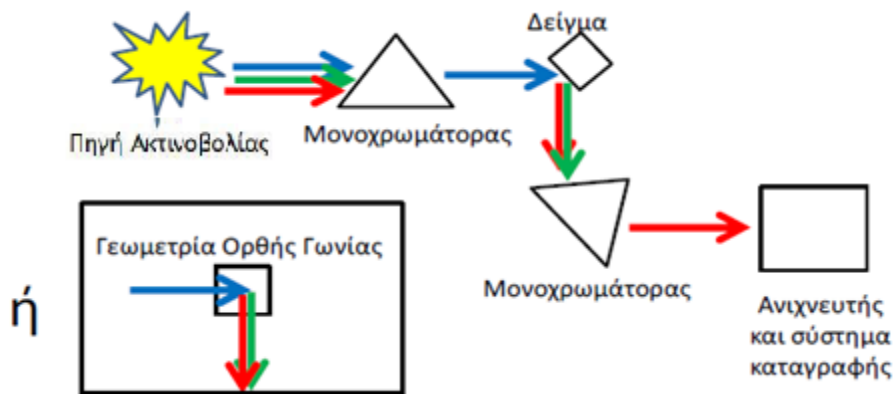
2.4 Φασματοσκοπία Φθορισμού

Ως φθορισμός ορίζεται το φαινόμενο της εκπομπής ακτινοβολίας από μια χημική ένωση ή υλικό, που ονομάζεται φθοροφόρο. Η γενική αρχή του φαινομένου απεικονίζεται στο διάγραμμα Jablonski. Το φαινόμενο του φθορισμού αποτελείται από τρία στάδια. Το πρώτο στάδιο περιλαμβάνει την απορρόφηση ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας η οποία προκαλεί διέγερση του μορίου από τη θεμελιώδη κατάσταση (S_0). Στο δεύτερο στάδιο το μόριο που βρίσκεται στη διεγερμένη κατάσταση (S_2) υπόκειται διάφορες διεργασίες μερικής αποδιέγερσης (δονητική χαλάρωση ή άλλες ενδομοριακές διεργασίες) και καταλήγει στο χαμηλότερο δονητικό επίπεδο της διεγερμένης ηλεκτρονιακής κατάστασης (S_1). Τέλος στο τρίτο στάδιο το μόριο επιστρέφει στη θεμελιώδη κατάσταση εκπέμποντας ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία χαμηλότερης ενέργειας από αυτήν που αρχικά απορροφήθηκε [6].



Εικόνα 2.5: Διάγραμμα Jablonski

Η συνήθης οργανολογία για τη μέτρηση του φθορισμού φαίνεται στην **εικόνα 2.6** και περιλαμβάνει μια λυχνία ξένου ή λυχνία υδραργύρου ως πηγή ακτινοβολίας για το υπεριώδες και το ορατό τμήμα του ηλεκτρομαγνητικού φάσματος, έναν μονοχρωμάτορα ο οποίος ρυθμίζει το μήκος κύματος διέγερσης και έναν μονοχρωμάτορα ο οποίος ρυθμίζει το μήκος κύματος εκπομπής, μια κυψελίδα για το δείγμα, ένα φωτοπολλαπλασιαστή για την ανίχνευση του σήματος και ένα σύστημα καταγραφής δεδομένων.



Εικόνα 2.6: Τυπική διάταξη για τη μέτρηση του φαινομένου του φθορισμού

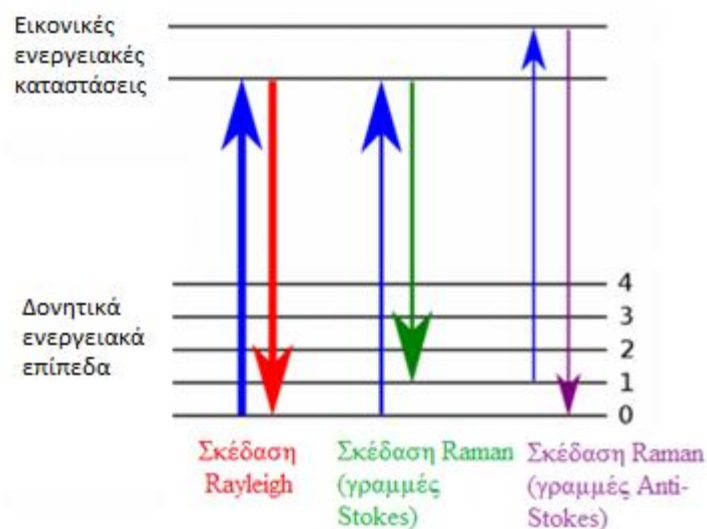
Η πιο συνηθισμένη γεωμετρία για τη μέτρηση του φθορισμού είναι αυτή της ορθής γωνίας η οποία είναι κατάλληλη για αραιωμένα δείγματα. Για στερεά ή πυκνά δείγματα με έντονα φαινόμενα απορρόφησης χρησιμοποιείται η γεωμετρία της εμπρόσθιας όψης. Στη γεωμετρία αυτή το δείγμα ακτινοβολείται υπό γωνία 30° - 60° .

Η απεικόνιση του φαινομένου του φθορισμού γίνεται με τη μορφή φασμάτων. Διακρίνουμε τρεις κατηγορίες φασμάτων: φάσματα διέγερσης, φάσματα εκπομπής και τα 3D φάσματα

που περιλαμβάνουν τους χάρτες φθορισμού εκπομπής-διέγερσης και τα σύγχρονα φάσματα. Στα φάσματα διέγερσης το μήκος κύματος εκπομπής παραμένει σταθερό ενώ το μήκος κύματος διέγερσης μεταβάλλεται. Στα φάσματα εκπομπής το μήκος κύματος διέγερσης παραμένει σταθερό ενώ το μήκος κύματος εκπομπής μεταβάλλεται. Στους χάρτες φθορισμού χρησιμοποιούνται οι μονοχρωμάτορες εκπομπής και διέγερσης επομένως είναι δυνατή η μέτρηση των φασμάτων εκπομπής για διαφορετικά μήκη κύματος διέγερσης. Αυτό έχει σαν αποτέλεσμα μια συλλογή φασμάτων εκπομπής σε διαφορετικά μήκη κύματος διέγερσης με ένα σταθερό βήμα. Τέλος στα σύγχρονα φάσματα μεταβάλλεται τόσο το μήκος κύματος εκπομπής όσο και το μήκος κύματος διέγερσης διατηρώντας μια σταθερή διαφορά μεταξύ τους [7].

2.5 Φασματοσκοπία Raman

Η φασματοσκοπία Raman αποτελεί μία δονητική μοριακή τεχνική. Η συγκεκριμένη φασματοσκοπική τεχνική βασίζεται στην αλληλεπίδραση φωτός και ύλης και πιο συγκεκριμένα στην ανελαστική σκέδαση του φωτός από την ύλη. Οι λαμβανόμενες φασματικές ζώνες συχνοτήτων αντιστοιχούν σε χαρακτηριστικούς δονητικούς τρόπους μορίων ή υλικών. Κατά τη διαδικασία του φαινομένου Raman έχουμε διέγερση του μορίου σε μία εικονική ενεργειακή κατάσταση (virtual state) μέσω της ακτινοβολίας από laser και στη συνέχεια εκπομπή των φωτονίων κατά την αποδιέγερση (εικόνα 2.7). Ένα ποσοστό των φωτονίων παραμένουν ενεργειακά αμετάβλητα και επιστρέφουν στην κατώτερη ενεργειακά στάθμη (τότε έχουμε την λεγόμενη σκέδαση Rayleigh), ενώ ένα πολύ μικρό ποσοστό σκεδάζεται με μεταβολή της ενέργειας τους (σκέδαση Raman). Επίσης, διαφορετικοί κανόνες επιλογής καθορίζουν τις εντάσεις των παρατηρούμενων τρόπων δόνησης.



Εικόνα 2.7: Σχηματική αναπαράσταση του φαινομένου Raman

Εάν χρησιμοποιηθεί ακτίνα μονοχρωματικής ακτινοβολίας, τότε η ενέργεια που σκεδάζεται αποτελείται σχεδόν εξ' ολοκλήρου (98%) από ακτινοβολία συχνότητας παρόμοιας με αυτή της προσπίπτουσας ακτινοβολίας (σκέδαση Rayleigh), αλλά ένα μέρος της αποτελείται από μερικές διακεκριμένες συχνότητες άνω και κάτω από τη συχνότητα της προσπίπτουσας. Η σκέδαση αυτή ονομάζεται Raman. Τα τελευταία χρόνια η ανάπτυξη της τεχνολογίας των laser έδωσε μία σημαντική ώθηση στη φασματοσκοπία Raman καθώς οι ακτίνες laser χρησιμοποιήθηκαν ως πηγές ακτινοβολίας βασιζόμενες στη μονοχρωματικότητα και την έντασή τους. Κατά την ανελαστική σκέδαση δύο διαδικασίες μπορεί να πραγματοποιηθούν και να οδηγήσουν σε δύο διαφορετικά είδη φασματικών γραμμών. Οι φασματικές γραμμές των οποίων η συχνότητα είναι μικρότερη της συχνότητας της προσπίπτουσας ακτινοβολίας laser καλούνται γραμμές Stokes και οφείλονται στη σύγκρουση φωτονίων με μόρια που βρίσκονται στη θεμελιώδη ενεργειακή κατάσταση, ενώ οι φασματικές γραμμές με συχνότητα μεγαλύτερη καλούνται γραμμές anti-Stokes και οφείλονται στη σύγκρουση φωτονίων με μόρια που βρίσκονται σε διεγερμένες ενεργειακά δονητικές καταστάσεις. Στη δεύτερη αυτή περίπτωση η περίσσεια ενέργειας μεταφέρεται στα φωτόνια καθώς τα μόρια επανέρχονται στην αρχική θεμελιώδη ενεργειακή κατάσταση. Η εξήγηση του φαινομένου Raman κατά την κβαντομηχανική είναι η παρακάτω. Όταν ακτινοβολία συχνότητας ν και ενέργειας $E=h\nu$ (h είναι σταθερά Planck) προσπέσει πάνω σε μόρια μιας ένωσης τότε υπόκεινται ελαστικές διαθλάσεις και ένας ανιχνευτής, σε ορθή γωνία ως προς την κατεύθυνση της προσπίπτουσας ακτινοβολίας, μπορεί να δεχθεί διαθλώμενα φωτόνια ενέργειας $h\nu$ και συχνότητας ν . Εάν όμως υπάρξει ανταλλαγή ενέργειας κατά τη διάρκεια των “ανελαστικών” συγκρούσεων μεταξύ φωτονίων και μορίων, πράγμα που συμβαίνει στην πραγματικότητα, τότε τα μόρια κερδίζουν ή χάνουν ποσότητα ενέργειας, σύμφωνα με τους νόμους της κβαντομηχανικής. Η διαφορά ενέργειας, ΔE , μεταξύ δύο επιτρεπόμενων καταστάσεων αντιπροσωπεύει αλλαγές στη δονητική και περιστροφική ενέργεια του μορίου. Στην περίπτωση του φαινομένου Raman οι κβαντικές ενεργειακές μεταβολές οφείλονται στη δυνατότητα πόλωσης του χημικού μορίου, δηλαδή την ικανότητα ενός ατόμου ή μορίου να υποστεί διαχωρισμό των κέντρων θετικού και αρνητικού φορτίου μέσα σε ένα ηλεκτρικό πεδίο. Κατά την κλασική θεωρία, ένα χημικό μόριο μέσα σε ένα στατικό ηλεκτρικό πεδίο υφίσταται ένα είδος ελαστικής στρέβλωσης του σχήματος της δομής του, με αποτέλεσμα οι θετικά φορτισμένοι πυρήνες να έλκονται προς τον αρνητικό πόλο του πεδίου και τα ηλεκτρόνια προς τον θετικό. 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:

$$\mu = \alpha E \quad (4)$$

όπου α είναι η σταθερά επιδεκτικότητας πόλωσης του μορίου (ή πολωσιμότητα) [8].

Βιβλιογραφία

1. Βαλαβανίδης Α. Βασικές Αρχές Μοριακής Φασματοσκοπίας και Εφαρμογές στην Οργανική Χημεία. Σύγχρονα Θέματα ,2008, 19-22.
2. McGorin R.J. Encyclopedia of Analytical Chemistry, Food analysis techniques: Introduction. John Wiley & Sons, Ltd, 2006.
3. Harris D.C. Quantitative Chemical Analysis. W. H. Freeman, 2015, 200-790.
4. Siewsler H.W. *et al.* Near-Infrared Spectroscopy. Principles, Instruments, Applications. Wiley-VCH, Weinheim, 2008, 270-280.
5. Stuart B. Infrared Spectroscopy: Fundamentals and Applications. JohnWiley & Sons, Chichester, 2004, 10-25.
6. Lakowicz, J.R. Principles of Fluorescence Spectroscopy. Springer Science and Business Media, LLC, 2006, 1-26.
7. Locquet N. *et al.* 3D Fluorescence Spectroscopy and Its Applications. JohnWiley & Sons, Ltd, 2018, 15-28.
8. Lewis I.R. *et al.* Handbook of Raman Spectroscopy, Marcel Dekker, New York, 2001, 13-27.

3. Πολυμεταβλητά Δεδομένα και Στατιστική Ανάλυση

Όπως είναι φυσικό, τα δείγματα που εξετάζονται περιλαμβάνουν μεγάλο αριθμό πληροφοριών, με αποτέλεσμα η χημική πολυπλοκότητα του δείγματος να οδηγεί σε υψηλή πολυπλοκότητα στο φάσμα, δυσχεραίνοντας την ερμηνεία και την εξαγωγή χρήσιμων πληροφοριών. Συνεπώς, αφού πραγματοποιηθεί η καταγραφή των δειγμάτων με κάποια από τις αναλυτικές τεχνικές που χρησιμοποιούνται, τα δεδομένα που συλλέγονται πρέπει να υποστούν προεπεξεργασία, ώστε να είναι συγκρίσιμα μεταξύ τους, για να μπορεί να εξαχθεί χρήσιμη πληροφορία από αυτά, που θα μπορεί να αξιοποιηθεί.

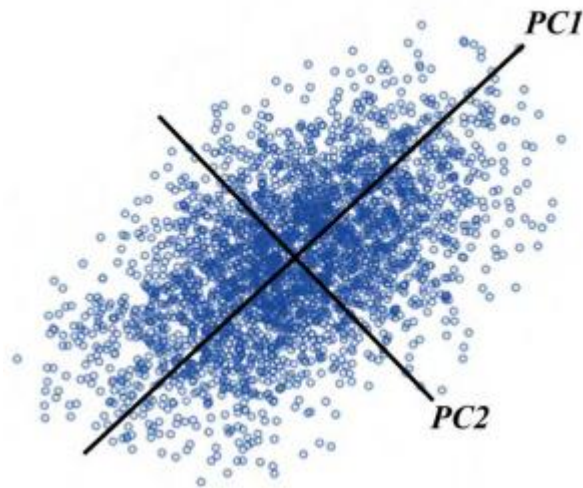
Συνεπώς, εφαρμόζονται πολυμεταβλητές τεχνικές για τη μείωση των διαστάσεων του προβλήματος, μέσω μείωσης των αρχικών μεταβλητών και διατήρησης ενός μικρότερου αριθμού νέων μεταβλητών.

Στη συνέχεια, τα φασματικά δεδομένα αποτυπώνονται σε ένα πίνακα τιμών, οι σειρές του οποίου αντιπροσωπεύουν δείγματα και οι στήλες του μεταβλητές (μήκη κύματος). Ακολουθεί ένα στάδιο προεπεξεργασίας κατά το οποίο γίνεται αναδιαμόρφωση των στηλών και των γραμμών του πίνακα. Σε αυτό το στάδιο επιλέγεται ποιος τύπος προεπεξεργασίας είναι καταλληλότερος για τα δεδομένα. Συνήθεις μέθοδοι προεπεξεργασίας δεδομένων είναι η μεσοστάθμιση (meancentering), η κανονικοποίηση (normalization) και διάφοροι τύποι κλιμάκωσης δεδομένων (scaling). Με αυτόν τον τρόπο, δημιουργούνται σχετικά απλά γραφήματα, που βοηθούν στην ανάδειξη ενδιαφέρουσων σχέσεων στα δεδομένα και διευκολύνουν την ερμηνεία των αποτελεσμάτων [1]. Η ανάλυση των δεδομένων έγινε με την ανάλυση κύριων συνιστωσών, την ανάλυση μερικών ελαχίστων τετραγώνων και την ανάλυση διακριτότητας μερικών ελαχίστων τετραγώνων.

3.2 Ανάλυση Κύριων Συνιστωσών (Principal Component Analysis, PCA)

Η Ανάλυση Κύριων Συνιστωσών ανήκει στην κατηγορία των μη επιβλεπόμενων (unsupervised) στατιστικών τεχνικών. Είναι μία ευρέως χρησιμοποιούμενη μέθοδο ανάλυσης πολυμεταβλητών δεδομένων που στοχεύει στη μείωση των αρχικών μεταβλητών και την αντιπροσώπευση τους από λιγότερες αλλά ικανοποιητικά επεξηγηματικές, καινούργιες μεταβλητές (κύριες συνιστώσες), οι οποίες έχουν προκύψει από γραμμικό συνδυασμό των αρχικών μεταβλητών, ενώ δεν σχετίζονται γραμμικά μεταξύ τους (**εικόνα 3.1**). Οι κύριες συνιστώσες που προκύπτουν είναι ίσες σε αριθμό ή λιγότερες από τις αρχικές μεταβλητές και ακολουθούν φθίνουσα σειρά διακύμανσης, με την πρώτη κύρια συνιστώσα να εξηγεί τη μεγαλύτερη δυνατή διακύμανση που αναπτύσσεται μεταξύ των αρχικών μεταβλητών (δηλαδή ερμηνεύει το μεγαλύτερο ποσοστό μεταβλητότητας των δεδομένων), τη δεύτερη κύρια συνιστώσα να έχει την αμέσως επόμενη μεγαλύτερη διακύμανση και ούτω καθεξής. Στόχος της ανάλυσης είναι να διατηρηθεί ένας μικρός αριθμός κύριων συνιστωσών που θα εξηγεί παράλληλα ένα πολύ μεγάλο ποσοστό της μεταβλητότητας των δεδομένων. Στη συνέχεια, μέσω γραφικής αναπαράστασης των πρώτων κύριων συνιστωσών, επιτυγχάνεται η αρχικά ανέφικτη οπτικοποίηση των

δεδομένων [2]. Για την ερμηνεία των αποτελεσμάτων που προκύπτουν από την ανάλυση κύριων συνιστωσών, είναι σημαντικό να προσδιοριστεί ποιες από τις αρχικές μεταβλητές συνέβαλαν στη διαμόρφωση κάθε μίας από τις πρώτες κύριες συνιστώσες και κατά πόσο. Δηλαδή, χρησιμοποιούμε τις συσχετίσεις μεταξύ των κύριων συνιστωσών και των αρχικών μεταβλητών για να ερμηνεύσουμε κάθε συνιστώσα, εστιάζοντας στις μεταβλητές που έχουν την ισχυρότερη συσχέτιση με κάθε κύρια συνιστώσα. Τέτοιες σχέσεις αναπαρίστανται γραφικά μέσω του διαγράμματος των “loadings” (φορτία), όπου τα φορτία δείχνουν τη συνεισφορά κάθε μεταβλητής στη διαμόρφωση της εξεταζόμενης κύριας συνιστώσας. Συνολικά, σκοπός της ανάλυσης κύριων συνιστωσών είναι να εξάγει τις πιο σημαντικές πληροφορίες από τον πίνακα δεδομένων, συμπιέζοντας το μέγεθος του συνόλου δεδομένων και διατηρώντας μόνο τις σημαντικές πληροφορίες, προκειμένου να απλουστευτεί η περιγραφή του συνόλου των δεδομένων και να αναλυθεί η δομή των παρατηρήσεων και των μεταβλητών [3].



Εικόνα 3.1: Αναπαράσταση των κατευθύνσεων των δύο πρώτων κύριων συνιστωσών σε ένα σύνολο δεδομένων.

3.3 Ανάλυση Μερικών Ελαχίστων Τετραγώνων (Partial Least Squares Regression, PLS)

Η ανάλυση μερικών ελαχίστων τετραγώνων αποτελεί μία επιβλεπόμενη μέθοδο (supervised method) κατηγοριοποίησης που όμως έχει προκύψει από την Ανάλυση Κύριων Συνιστωσών. Πρόκειται για μέθοδο που επιτυγχάνει μείωση των αρχικών μεταβλητών και αντιπροσώπευση τους από λιγότερες. Ωστόσο οι νέες μεταβλητές που προκύπτουν (λανθάνουσες μεταβλητές) δεν εξηγούν πλέον διακύμανση, αλλά τη συνδιακύμανση του πίνακα των προβλεπουσών μεταβλητών με τον πίνακα των μεταβλητών απόκρισης [4-5]. Η ανάλυση μερικών ελαχίστων τετραγώνων συνδυάζεται, αρκετά συχνά, με τη διαχωριστική ανάλυση (Partial Least Squares-Discriminant Analysis, PLS-DA). Στην PLS-DA ο πίνακας των μεταβλητών απόκρισης περιλαμβάνει μία κατηγορική μεταβλητή, που παίρνει δύο τιμές

δηλώνοντας την κλάση των δειγμάτων. Συνεπώς, η PLS-DA χρησιμοποιεί την πληροφορία για την κατηγοριοποίηση των δειγμάτων και βελτιώνει τον διαχωρισμό μεταξύ των δύο συγκρινόμενων ομάδων δειγμάτων. Η συγκεκριμένη μέθοδος χρησιμοποιείται τόσο για οπτικοποίηση των αποτελεσμάτων, βάσει της κλάσης στην οποία ανήκουν τα δείγματα και την ανάδειξη διαφορών, όσο και για πρόβλεψη. Δηλαδή, εφόσον έχει δημιουργηθεί μία σχέση μεταξύ των προβλεπουσών μεταβλητών και της κατηγορικής μεταβλητής, μπορεί να γίνει πρόβλεψη της κλάσης στην οποία κατατάσσεται ένα τυχαίο δείγμα [6].

Βιβλιογραφία

1. Forina M. *et al.* Chemometrics in Food Chemistry. Chemometrics and species identification, 1987, 91-143.
2. Bro R. *et al.* Principal component analysis. Analytical Methods, 2014, 6, 2812-1831.
3. Abdi H. *et al.* Principal component analysis. Wiley Interdisciplinary Reviews: Computational Statistics, 2010, 2, 433-459.
4. Wold S. *et al.* PLS-regression: a basic tool of chemometrics. Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems, 2001, 58, 109-130.
5. Chin W. W. *et al.* A partial least squares latent variable modeling approach for measuring interaction effects: results from a Monte Carlo simulation study and an electronic-mail emotion/adoption study. Information systems research, 2003, 14, 189-217.
6. Szymanska E. *et al.* Double-check: validation of diagnostic statistics for PLS-DA models in metabolomics studies. Metabolomics, 2011, 8, 3-16.

4. Πειραματικό Μέρος

Ο σχεδιασμός των πειραματικών μελετών για τα δείγματα κρασιού προσδιορίστηκε σύμφωνα με τους στόχους του ερευνητικού προγράμματος “ΟΙΝΟΦΑΣΜΑ”. Ειδικότερα ο κύριος ερευνητικός στόχος του έργου ήταν η εφαρμογή καινοτόμων οπτικών μεθόδων για τη βελτίωση της ποιότητας του ελληνικού κρασιού μέσω καταγραφής και ελέγχου των παραμέτρων οινοποίησης. Τα δείγματα τα οποία εξετάστηκαν αποτελούνται από πέντε ποικιλίες των οποίων η οινοποίηση δίνει δύο λευκούς (Ασύρτικο, Βηλάννα) και τρεις ερυθρούς οίνους (Κοτσιφάλι, Λιάτικο, Μαντηλάρι).

Στο πρόγραμμα συμμετείχαν τρία οινοποιεία από το νομό Ηρακλείου. Συγκεκριμένα για τα οινοποιεία “Α” και “Π” εξετάστηκε η επίδραση της ωρίμανσης στα ποιοτικά χαρακτηριστικά του κρασιού. Η ωρίμανση έγινε σε διαφορετικούς περιέκτες:

- i) ανοξειδωτή δεξαμενή
- ii) ανοξειδωτή δεξαμενή με προσθήκη ρινισμάτων δρυός και
- iii) ξύλινο βαρέλι γαλλικής δρυός.

Για το οινοποιείο “Δ” εξετάστηκε η επίδραση του διαφορετικού μεγέθους και διαφορετικού ξύλου βαρελιού στα ποιοτικά χαρακτηριστικά λευκού οίνου, και η διαφοροποίηση των ποιοτικών χαρακτηριστικών ερυθρού οίνου, ζυμωμένου σε ανοξειδωτή δεξαμενή και σε ξύλινα βαρέλια.

Όσον αφορά τα δείγματα ελαιολάδου, εξετάστηκαν δείγματα που λήφθηκαν από τον Παγκρήτιο Διαγωνισμό Ελαιολάδου (διεξάγεται μία φορά ανά έτος και διοργανώνεται από την Περιφέρεια Κρήτης και την Αγροδιατροφική Σύμπραξη Περιφέρειας Κρήτης). Στο διαγωνισμό συμμετέχουν επιχειρήσεις τυποποίησης ελαιολάδου, συνεταιριστικές οργανώσεις και παραγωγοί ή ομάδες παραγωγών που διαθέτουν στην αγορά επώνυμο και τυποποιημένο εξαιρετικό παρθένο ελαιόλαδο, συμβατικής ή/και βιολογικής καλλιέργειας. Η συμμετοχή των τυποποιημένων Κρητικών ελαιολάδων στο διαγωνισμό έχει σκοπό την ανάδειξη των ιδιαίτερων οργανοληπτικών χαρακτηριστικών του ποιοτικού και επώνυμου Κρητικού ελαιολάδου, τη βελτίωση της τεχνογνωσίας γύρω από το έξτρα παρθένο ελαιόλαδο και την ποιοτική του αναβάθμιση και την ενδυνάμωση της εικόνας του Κρητικού ελαιόλαδου και την προβολή του εντός και εκτός της χώρας μας.

4.1 Προετοιμασία Δειγμάτων

Η διαδικασία της προετοιμασίας των δειγμάτων κρασιού έχει ως εξής: παραλαβή των δειγμάτων κρασιού σε φιάλες των 375ml, μετάγγιση σε φιαλίδια των 20ml, εξισορρόπηση σε θερμοκρασία δωματίου και μετάγγιση αυτών σε κυψελίδες χαλαζία για φασματοσκοπική ανάλυση. Για την ανάλυση στο υπεριώδες πραγματοποιείται αραίωση του οίνου με υπερκίθαρο νερό σε αναλογία 1:20 για τους λευκούς και 1:100 για τους ερυθρούς οίνους. Η αραίωση γίνεται για τη διατήρηση της τιμής απορρόφησης σε ένα εύρος τιμών 0-1,5. Για

την ανάλυση στο ορατό, εγγύς υπέρυθρο και στη μέτρηση φθορισμού σε γεωμετρία εμπρόσθια όψης δεν είναι απαραίτητη η αραιώση.

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. Για την ανάλυση στο υπεριώδες πραγματοποιείται αραιώση 1% (v/v) με ισο-οκτάνιο. Για την ανάλυση στο ορατό, εγγύς υπέρυθρο, στη μέτρηση Rama και στη μέτρηση φθορισμού σε γεωμετρία εμπρόσθια όψης δεν είναι απαραίτητη η αραιώση.

4.2 Μέτρηση Απορρόφησης

Για τη μέτρηση της απορρόφησης στο υπεριώδες και ορατό χρησιμοποιήθηκε το φασματοφωτόμετρο Shimadzu UV-1900, το οποίο καλύπτει τις περιοχές από τα 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 4.1: Φασματοφωτόμετρο Shimadzu UV-1900

Για τη μέτρηση της απορρόφησης στο εγγύς υπέρυθρο χρησιμοποιήθηκε ένα υψηλής διακριτικής ικανότητας φασματοφωτόμετρο (Perkin Elmer-Lambda 950) το οποίο καλύπτει τις περιοχές από 175 έως 3300nm. 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, έναν φωτοπολλαπλασιαστή R6872 και ένα ανιχνευτή PbS [2].



Εικόνα 4.2: Φασματοφωτόμετρο Perkin Elmer-Lambda 950

Η μέτρηση απορρόφησης σε δείγματα κρασιού πραγματοποιείται με ένα βήμα σάρωσης 2nm. Για το υπεριώδες τμήμα της ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας το εύρος μελέτης κυμαίνεται στην περιοχή 220-400nm, για το ορατό στην περιοχή 400-700nm και για το εγγύς υπέρυθρο στην περιοχή 800-1800nm. Η οπτική διαδρομή των κυψελίδων οι οποίες χρησιμοποιούνται είναι 10mm για το υπεριώδες και 1mm για το ορατό και το εγγύς υπέρυθρο.

Η μέτρηση απορρόφησης σε δείγματα ελαιολάδου πραγματοποιείται με ένα βήμα σάρωσης 2nm. Για το υπεριώδες τμήμα της ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας το εύρος μελέτης κυμαίνεται στην περιοχή 220-280nm, για το ορατό στην περιοχή 400-800nm και για το εγγύς υπέρυθρο στην περιοχή 800-1600nm και 1800-2200nm. Η οπτική διαδρομή των κυψελίδων οι οποίες χρησιμοποιούνται είναι 10mm για το εγγύς υπέρυθρο ενώ 2mm για το ορατό και το υπεριώδες.

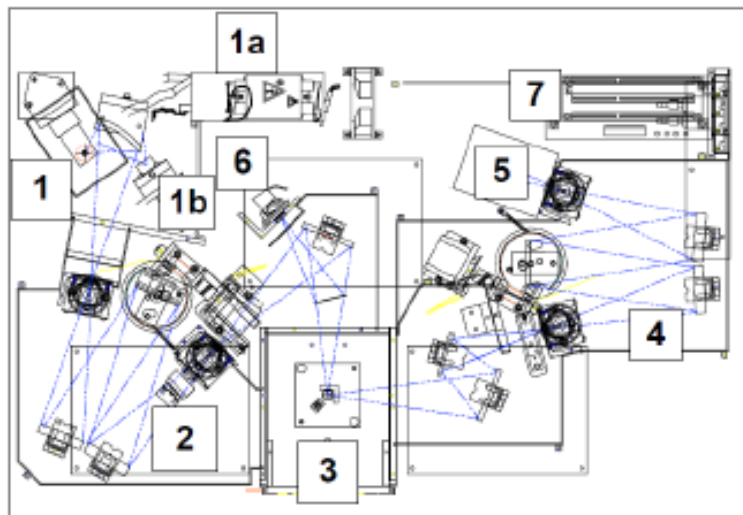
4.3 Μέτρηση Φθορισμού

Για τη μέτρηση του φθορισμού χρησιμοποιήθηκε ένα φασματοφθορισμόμετρο Fluoromax-P, Horiba. Το όργανο αποτελείται από μια λυχνία ξένου ισχύος 150Watt, ένα μονοχρωμάτορα διέγερσης (220-600nm) και ένα μονοχρωμάτορα εκπομπής (290-850nm) τύπου Czerny-Turner, σχισμές, κλείστρα, φακούς, κάτοπτρα και ένα φωτοπολλαπλασιαστή τύπου R928P [3].

Η μέτρηση του φθορισμού σε δείγματα κρασιού πραγματοποιήθηκε λαμβάνοντας χάρτες φθορισμού. Το δείγμα τοποθετήθηκε σε κυψελίδα χαλαζία, οπτικής διαδρομής 10mm, ακτινοβόληθηκε υπό γωνία 35 μοιρών. Η σάρωση έγινε σε ένα εύρος μηκών κύματος διέγερσης από 260 έως 500nm με βήμα 4nm και σε ένα εύρος μηκών κύματος εκπομπής από 290 έως 590nm με βήμα 5nm. Ο χρόνος σάρωσης ορίστηκε στα 0,2s.

Η μέτρηση του φθορισμού σε δείγματα ελαιολάδου πραγματοποιήθηκε λαμβάνοντας σύγχρονα φάσματα, δηλαδή υπήρχε μεταβολή τόσο του μήκους κύματος εκπομπής όσο και του μήκους κύματος διέγερσης, διατηρώντας μια σταθερή διαφορά μεταξύ τους. Η τοποθέτηση του δείγματος έγινε σε κυψελίδα χαλαζία οπτικής διαδρομής 10mm και η ακτινοβόληση σε γεωμετρία εμπρόσθιας όψης (γωνία 35 μοιρών). Η σάρωση

πραγματοποιήθηκε σε ένα εύρος μηκών κύματος διέγερσης από 270 έως 600nm με βήμα 2nm και χρόνο σύρωσης στα 0,25s. Λήφθηκαν δώδεκα σύγχρονα φάσματα ανά 30nm. Στο πρώτο φάσμα η διαφορά μονοχρωμάτορα εκπομπής με μονοχρωμάτορα διέγερσης είναι 30 nm, στο δεύτερο φάσμα είναι 60 nm, κλπ.



1	Λυχνία ξένου- Xe
2	Μονοχρωμάτορας διέγερσης
3	Θέση τοποθέτησης δείγματος
4	Μονοχρωμάτορας εκπομπής
5	Ανιχνευτής σήματος
6	Ανιχνευτής (φωτοδίοδος και μονάδα λήψης ρεύματος)
7	Χειριστήριο οργάνου

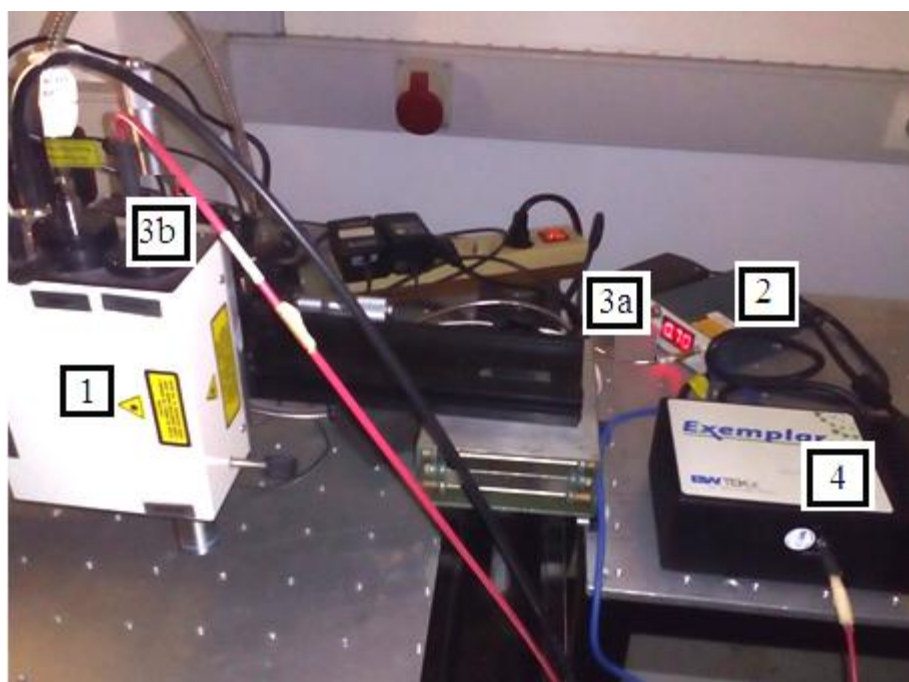
Εικόνα 4.3: Φασματοφθορισμόμετρο Fluoromax-P Horiba

4.4 Μέτρηση Raman

Για τη λήψη των φασμάτων Raman χρησιμοποιήθηκε ένα φορητό φασματόμετρο Raman της εταιρείας (HE 785, Horiba-Jobin Yvon). 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 100μm. 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 υπάρχει μία πηγή led και μία πολυχρωματική κάμερα που προσφέρουν μια σαφή/ευκρινή εικόνα της 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 100μm) συνδέει την οπτική κεφαλή με το φασματόμετρο (Exemplar Plus, 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) $98-3362\text{ cm}^{-1}$, με διακριτική ικανότητα $8-10\text{ cm}^{-1}$.

Σε ένα τυπικό πείραμα μέτρησης φαινομένου Raman το δείγμα ελαιολάδου τοποθετήθηκε χωρίς κάποια προεπεξεργασία και χωρίς αραίωση σε ειδικό δειγματοφορέα. Ο αντικειμενικός φακός που χρησιμοποιήθηκε παρείχε μεγέθυνση $\times 20$ 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.



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 4.4: Πειραματική διάταξη για μέτρηση Raman.

4.5 Επεξεργασία Φασματοσκοπικών Δεδομένων

Για την προβολή και τη μελέτη των φασματοσκοπικών δεδομένων χρησιμοποιούνται διάφορα λογισμικά. Αρχικά τα δεδομένα συλλέγονται στα λογισμικά των φασματοσκοπικών οργάνων και στη συνέχεια μεταφέρονται σε φύλλα εργασίας του OriginLab [4]. 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 [5], όπου 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 (όπως το PLS_Toolbox 8.1) η οποία εξειδικεύεται στην ανάλυση φασματοσκοπικών δεδομένων [6].

Βιβλιογραφία

1. UV-1900 UV-VIS Spectrophotometer. [Online] Shimadzu.
https://www.shimadzu.com/an/molecular_spectro/uv/uv-1900/index.html
2. LAMBDA 950 UV/Vis/NIR Spectrophotometer. [Online] Perkin Elmer.
<http://www.perkinelmer.com/product/lambda-950-uv-vis-nir-spectrophotometer-1950>
3. Fluoromax Series [Online] Horiba Scientific.
<http://www.horiba.com/uk/scientific/products/fluorescence-spectroscopy/steady-state/fluoromax/fluoromax-series-524/>
4. OriginLab. [Online] <http://www.originlab.com/>
5. Mathworks. [Online] <https://www.mathworks.com/products/matlab.html>
6. PLS_Toolbox. [Online] Eigenvector Research Incorporated. [Online]
http://eigenvector.com/software/pls_toolbox.htm

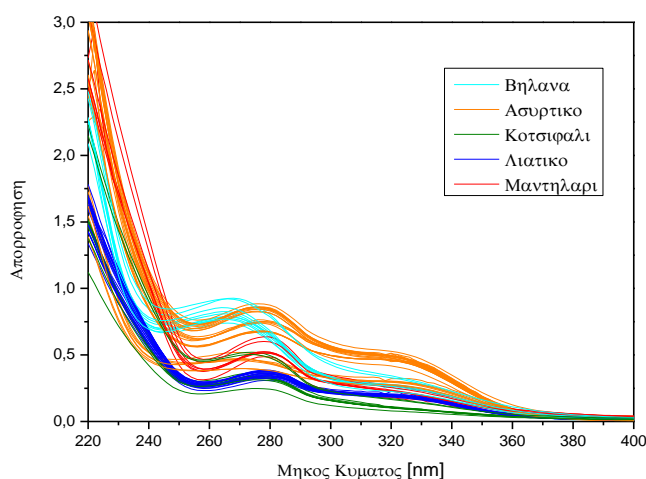
5. Αποτελέσματα Κρασιού

5.1 Διαχωρισμός Βοτανικής προέλευσης

Ο χαρακτηρισμός της βοτανικής προέλευσης του κρασιού αποτελεί θέμα ιδιαίτερου ενδιαφέροντος τόσο για τους παραγωγούς όσο και για τους καταναλωτές. Στη βιβλιογραφία εντοπίζονται επιστημονικές εργασίες οι οποίες μελετούν την ικανότητα των φασματοσκοπικών τεχνικών της απορρόφησης και του φθορισμού στον προσδιορισμό της βοτανικής προέλευσης του κρασιού. Συγκεκριμένα, έχουν μελετηθεί κρασιά προερχόμενα από διαφορετικές ποικιλίες με φασματοσκοπία απορρόφησης ορατού και εγγύς υπεριώθρου σε συνδυασμό με μεθόδους στατιστικής ανάλυσης [1-3]. Βασιζόμενοι σε προηγούμενες μελέτες, θα εξετάσουμε τη βοτανική προέλευση των διαφορετικών ποικιλιών κρασιού που μελετήσαμε χρησιμοποιώντας φασματοσκοπία απορρόφησης υπεριώδους και ορατού, όπως επίσης και φασματοσκοπία φθορισμού. Σε κάθε περίπτωση θα γίνει επεξεργασία των δεδομένων με μεθόδους στατιστικής ανάλυσης.

5.1.1 Φασματοσκοπία Απορρόφησης Υπεριώδους

Μετρήθηκαν δύο λευκές (Ασύρτικο, Βηλάννα) και τρεις ερυθρές (Κοτσιφάλι, Λιάτικο, Μαντηλάρι) ποικιλίες. Αρχικά προβάλλεται το σύνολο των φασμάτων απορρόφησης στην περιοχή του υπεριώδους (220-400nm) με σκοπό τον εντοπισμό ομοιοτήτων και διαφορών μεταξύ τους. Παρατηρούνται οπτικά πέντε διαφορετικές ομάδες που υποδηλώνονται με τους αντίστοιχους χρωματισμούς, οι οποίες ταυτίζονται με τις πέντε ποικιλίες (εικόνα 5.1)



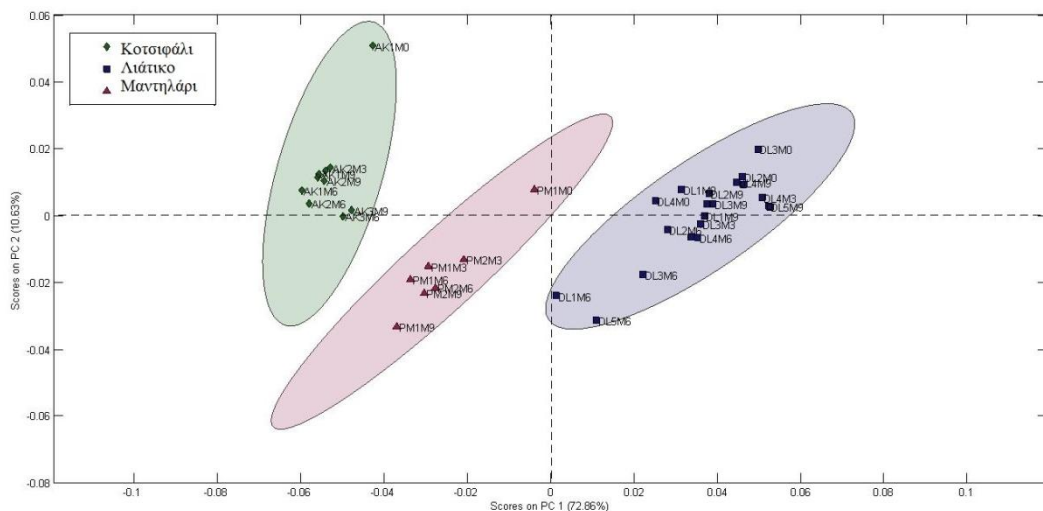
Εικόνα 5.1: Φάσματα απορρόφησης κρασιού στο υπεριώδες 220-400nm.

Η απορρόφηση γύρω στα 220-245nm οφείλεται σε φαινολικές ενώσεις, όπως υδροξικινναμικά οξέα (καφεϊκό οξύ, φερουλικό οξύ, p-κουμαρικό οξύ) [4]. Η απορρόφηση γύρω από τα 280nm συνδέεται με το συνολικό φαινολικό περιεχόμενο του κρασιού και συναντάται σε όλες τις ποικιλίες. Τα φάσματα της ποικιλίας Βηλάννα εμφανίζουν αυτή την κορυφή με μια ελαφριά μετατόπιση του μεγίστου απορρόφησης προς μικρότερα μήκη κύματος. Μία ακόμα ιδιαιτερότητα της ποικιλίας αυτής είναι η εμφάνιση μίας ευρείας κορυφής με μέγιστο γύρω στα 320nm. Αυτή συνδέεται κυρίως με ενώσεις της οικογένειας των φλαβονοειδών και των κινναμωμικών οξέων, ενώ εμφανίζεται και στις υπόλοιπες ποικιλίες σαν “ώμος” στο φάσμα απορρόφησης [5-7]. Στη συνέχεια ακολουθεί η στατιστική ανάλυση των φασμάτων. Κάθε σημείο αναπαριστά ένα φάσμα απορρόφησης για τη συγκεκριμένη ποικιλία.

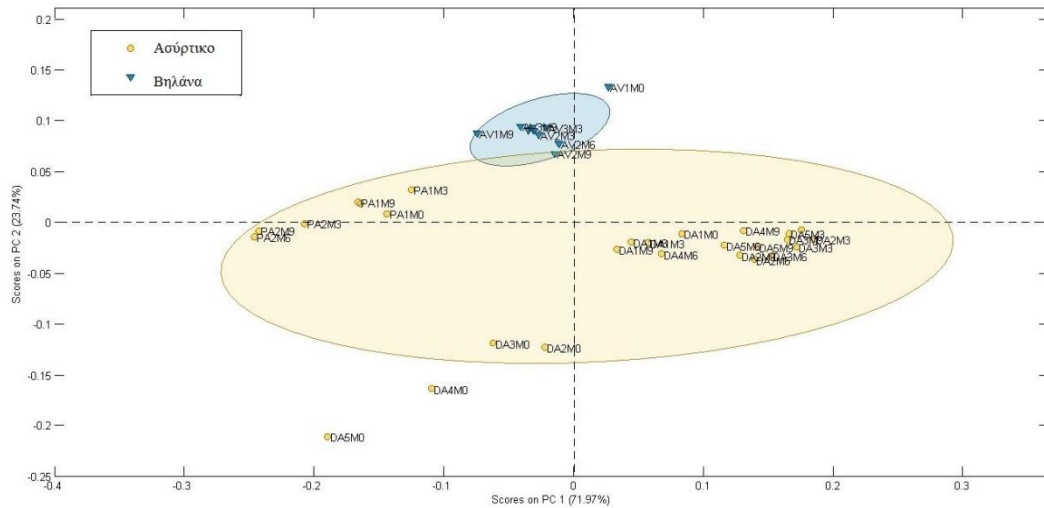
Με σκοπό την εξάλειψη τυχαίων ή συστηματικών σφαλμάτων, τα οποία επηρεάζουν την τιμή της απορρόφησης επιλέχθηκε η προ-επεξεργασία των φασματοσκοπικών δεδομένων με τη παραγωγή τους (1^{ου} βαθμού) και τη μέθοδο mean center.

Ανάλυση Κύριων Συνιστωσών (PCA)

Για τη διερευνητική μελέτη των φασματοσκοπικών δεδομένων χρησιμοποιήθηκε η ανάλυση κύριων συνιστωσών (PCA), η οποία προσφέρει μια πιο συστηματική οπτική απεικόνιση του διαχωρισμού. Ακολουθούν τα score plot και loading plot από την ανάλυση των λευκών και των κόκκινων κρασιών.



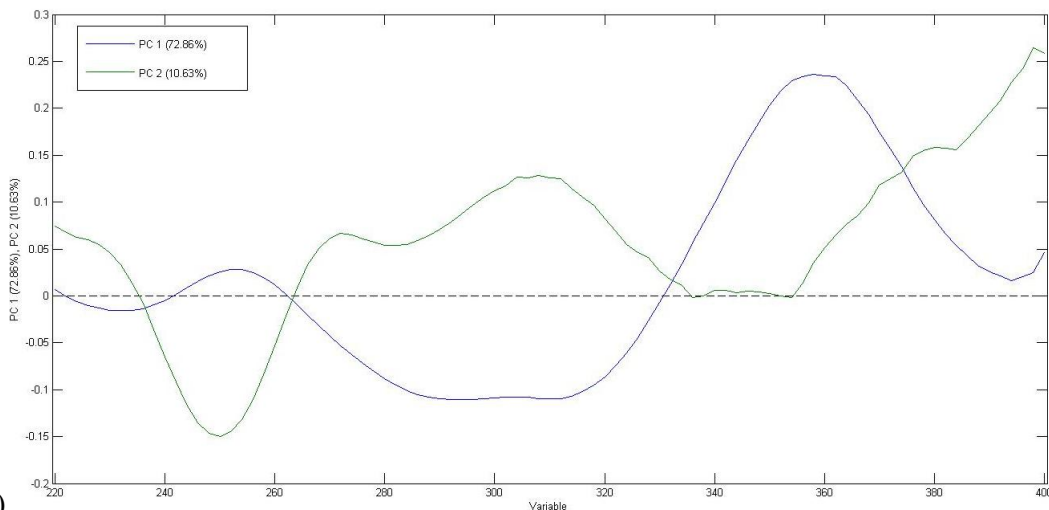
α)



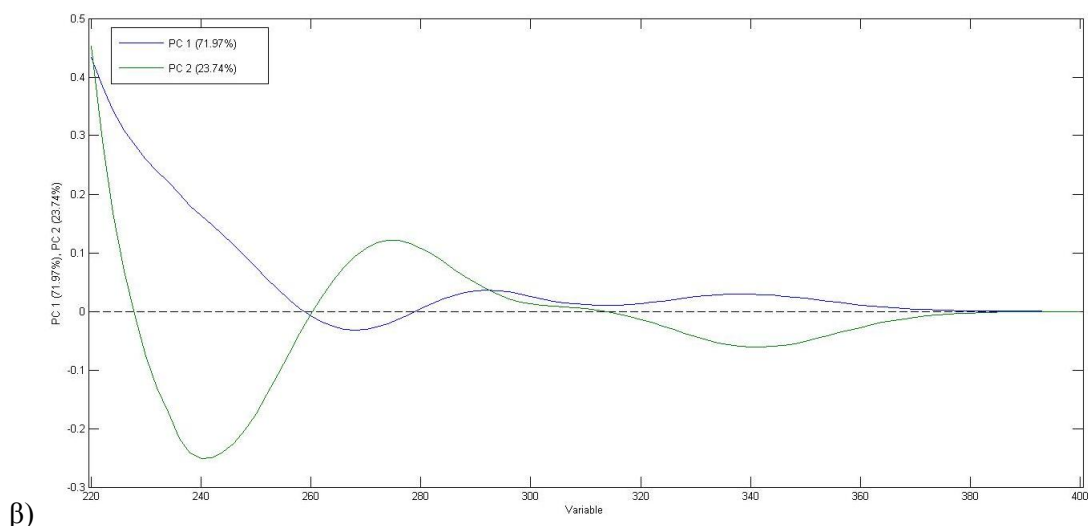
β)

Εικόνα 5.2: Διερευνητική μελέτη με την ανάλυση κύριων συνιστωσών. α) Score plot στις δύο πρώτες κύριες συνιστώσες για τις κόκκινες ποικιλίες β) Score plot στις δύο πρώτες κύριες συνιστώσες για τις λευκές ποικιλίες.

Η προβολή των δειγμάτων στις δύο πρώτες κύριες συνιστώσες (score plots) δείχνει έναν ικανοποιητικό διαχωρισμό μεταξύ των κόκκινων και των λευκών ποικιλιών (**εικόνα 5.2**). Οι δύο πρώτες κύριες συνιστώσες ερμηνεύουν υψηλό ποσοστό της διακύμανσης των δεδομένων 83,5% (το άθροισμα των PC1-άξονας x και PC2-άξονας y) για τις κόκκινες και 95,71% για τις λευκές ποικιλίες. Τα αντίστοιχα loading plots (**εικόνα 5.3**) υποδεικνύουν τις φασματικές περιοχές, οι οποίες είναι υπεύθυνες για τον παρατηρούμενο διαχωρισμό. Οι φασματικές περιοχές από τις οποίες εξαρτάται ο διαχωρισμός είναι διαφορετικές για τις λευκές και τις κόκκινες ποικιλίες.



α)



Εικόνα 5.3: Διερευνητική μελέτη με την ανάλυση κύριων συνιστωσών. α) Loading plot στις δύο πρώτες κύριες συνιστώσες για τις κόκκινες ποικιλίες β) Loading plot στις δύο πρώτες κύριες συνιστώσες για τις λευκές ποικιλίες.

Τα loading plots υποδεικνύουν τις φασματικές περιοχές, οι οποίες είναι υπεύθυνες για τον παρατηρούμενο διαχωρισμό. Οι φασματικές περιοχές από τις οποίες εξαρτάται ο διαχωρισμός είναι διαφορετικές για τις λευκές και τις κόκκινες ποικιλίες.

Από τη συνδυαστική αξιολόγηση των score plots, των loading plots και των αρχικών φασμάτων απορρόφησης, συνάγονται τα ακόλουθα:

1) η φασματοσκοπία απορρόφησης στο υπεριώδες τμήμα του ηλεκτρομαγνητικού φάσματος είναι ικανή να διαχωρίσει δείγματα λευκού και κόκκινου κρασιού προερχόμενα από τις διαφορετικές ποικιλίες που εξετάστηκαν

2) εντοπίζονται μεγάλες διαφορές και υπάρχει σαφής διαχωρισμός μεταξύ των ποικιλιών Κοτσιφάλι, Λιάτικο και Μαντηλάρι

3) εντοπίζονται μικρότερες διαφορές μεταξύ των ποικιλιών Ασύρτικο και Βηλάνα

4) για τις κόκκινες ποικιλίες:

- ❖ η πρώτη κύρια συνιστώσα συνδέεται με την απορρόφηση στο εύρος γύρω από τις κορυφές των 300 και 360nm και είναι υπεύθυνη για τον διαχωρισμό των ποικιλιών.
- ❖ η δεύτερη κύρια συνιστώσα συνδέεται με την απορρόφηση στο εύρος γύρω από τις κορυφές στα 250 και 320nm και είναι υπεύθυνη για διαφοροποιήσεις μεταξύ κρασιών προερχόμενων από την ίδια ποικιλία.

5) για τις λευκές ποικιλίες:

- ❖ η πρώτη κύρια συνιστώσα συνδέεται με την απορρόφηση γύρω από την κορυφή των 280nm και είναι υπεύθυνη για διαφοροποιήσεις μεταξύ κρασιών προερχόμενων από την ίδια ποικιλία.

- ❖ η δεύτερη κύρια συνιστώσα συνδέεται με την απορρόφηση στο εύρος γύρω από τις κορυφές στα 240, 280 και 340 nm και είναι υπεύθυνη για τον διαχωρισμό των ποικιλιών.

Ανάλυση Διακριτότητας Μερικών Ελαγίστων Τετραγώνων (PLS-DA)

Κατά την εξέταση των φασματοσκοπικών δεδομένων με αυτή τη μέθοδο θεωρείται γνωστή η ποικιλία του κρασιού και μελετάται η ικανότητα των φασματοσκοπικών δεδομένων στην πρόβλεψη αυτής της κατηγορίας.

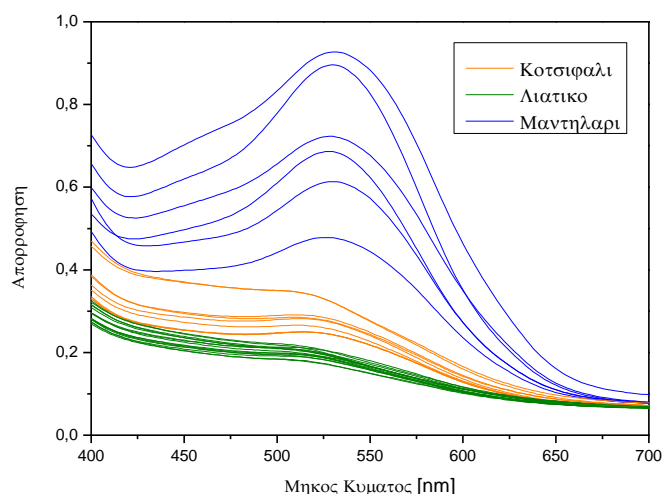
Πίνακας 5.1: Κατηγοριοποίηση ποικιλιών στην περιοχή του υπεριώδους

Cross Validation LV=6	# Δειγμάτων	Προβλεπόμενη Ομάδα				
		Βηλάνα	Ασύρτικο	Κοτσιφάλι	Λιάτικο	Μαντηλάρι
Βηλάνα	10	10	0	0	0	0
Ασύρτικο	27	0	27	0	0	0
Κοτσιφάλι	10	0	0	8	2	0
Λιάτικο	20	0	0	1	19	0
Μαντηλάρι	7	0	0	0	0	7

Το μαθηματικό μοντέλο το οποίο επιλέχθηκε αποτελείται από έξι λανθάνουσες μεταβλητές. Από τα δέκα δείγματα Βηλάνα το μοντέλο προέβλεψε ότι και τα δέκα είναι Βηλάνα. Δεν συμβαίνει όμως το ίδιο για το Κοτσιφάλι όπου από τα δέκα δείγματα, προέβλεψε ότι τα οκτώ είναι Κοτσιφάλι και τα δύο Λιάτικο. Για να είναι το μοντέλο 100% επιτυχές είναι απαραίτητο η διαγώνιος του πίνακα να έχει αριθμούς, ενώ όλα τα άλλα κελιά να είναι μηδενικά. Στον **πίνακα 5.1** φαίνεται η επιτυχής πρόβλεψη της βοτανικής προέλευσης των πέντε ποικιλιών κρασιού σε ποσοστό 95,94% (σωστή πρόβλεψη των εβδομήντα ένα από τα εβδομήντα τέσσερα δείγματα).

5.1.2 Φασματοσκοπία Απορρόφησης Ορατού

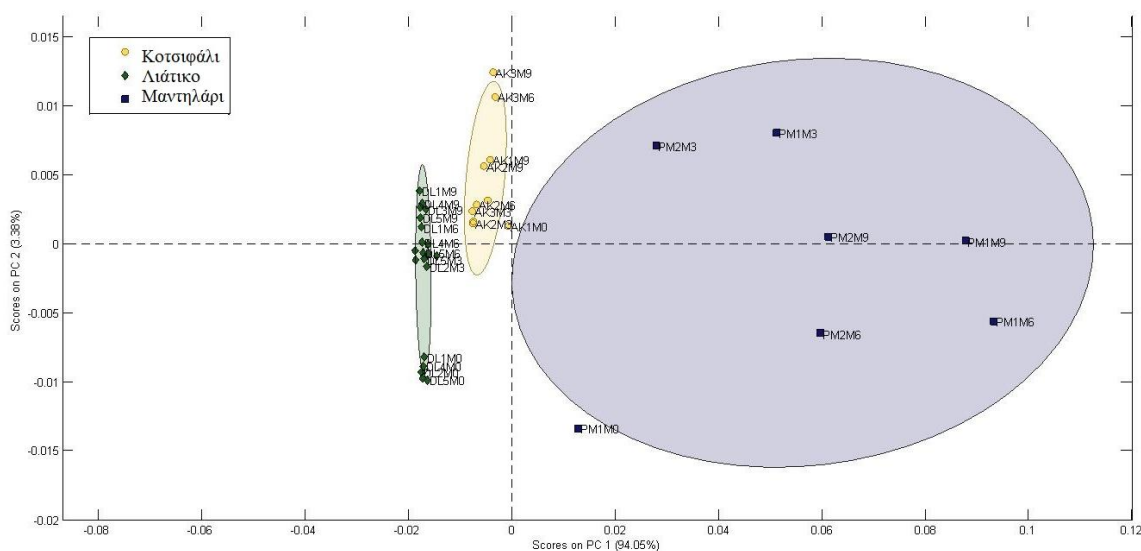
Στην περιοχή του ορατού απορροφούν φαινολικές ενώσεις της οικογένειας των ανθοκυανινών [8]. Εξαιτίας της παρουσίας αυτών των ενώσεων μόνο στα κόκκινα κρασιά, η μελέτη περιορίζεται στις ποικιλίες Κοτσιφάλι, Λιάτικο και Μαντηλάρι. Αρχικά προβάλλεται το σύνολο των φασμάτων απορρόφησης. Ήδη από την προβολή των φασμάτων είναι εμφανής η διαφοροποίηση μεταξύ των τριών ποικιλιών κόκκινου κρασιού. Με σκοπό την εξάλειψη τυχαίων ή συστηματικών σφαλμάτων, τα οποία επηρεάζουν την τιμή της απορρόφησης επιλέχθηκε η προ-επεξεργασία των φασματοσκοπικών δεδομένων με τη παραγωγή τους (1^{ου} βαθμού) και τη μέθοδο mean center.



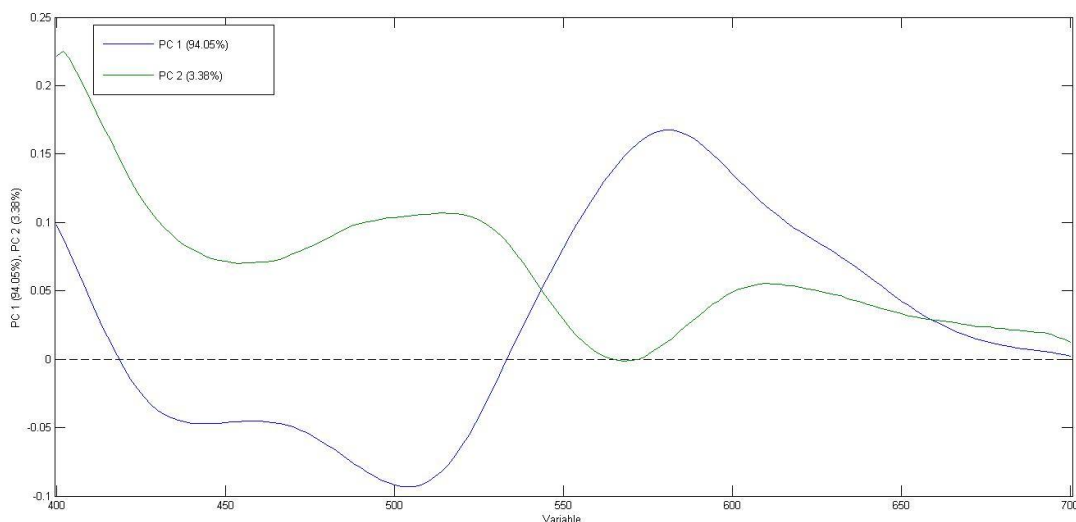
Εικόνα 5.4: Φάσματα απορρόφησης κρασιού στο ορατό 400-700nm.

Ανάλυση Κύριων Συνιστωσών (PCA)

Με την εφαρμογή της μεθόδου της ανάλυσης κύριων συνιστωσών (PCA) δίνεται μια καλύτερη οπτική απεικόνιση του διαχωρισμού. Από την προβολή των δειγμάτων στις δύο πρώτες κύριες συνιστώσες (**εικόνα 5.5**) η διαφοροποίηση είναι εμφανής και οφείλεται σε διαφορετικά χημικά είδη της οικογένειας των ανθοκυανινών που απορροφούν σε μήκος κύματος 450, 500 και 570nm όπως φαίνεται στο loading plot της **εικόνας 5.6**. Μελετώντας το score plot ξεχωριστά για κάθε ποικιλία παρατηρείται μια μεγάλη διασπορά στα δείγματα της ποικιλίας Μαντηλάρι σε σχέση με τις άλλες δύο ποικιλίες.



Εικόνα 5.5: Διερευνητική μελέτη με την ανάλυση κύριων συνιστωσών. Score plot στις δύο πρώτες κύριες συνιστώσες για τις κόκκινες ποικιλίες



Εικόνα 5.6: Διερευνητική μελέτη με την ανάλυση κύριων συνιστωσών. Loading plot στις δύο πρώτες κύριες συνιστώσες για τις κόκκινες ποικιλίες

Η πρώτη κύρια συνιστώσα η οποία περιγράφει το 94,05% της διακύμανσης των φασματοσκοπικών δεδομένων συνδέεται με την απορρόφηση στην περιοχή 400-550nm και 500-650nm, ενώ η δεύτερη κύρια συνιστώσα η οποία περιγράφει το 3,38% της διακύμανσης συνδέεται με την απορρόφηση στην περιοχή 400-550nm. Η πρώτη κύρια συνιστώσα είναι υπεύθυνη για το διαχωρισμό των ποικιλιών ενώ η δεύτερη είναι υπεύθυνη για διαφοροποιήσεις μεταξύ κρασιών προερχόμενων από την ίδια ποικιλία.

Από τη συνδυαστική αξιολόγηση του score plot, του loading plot και των αρχικών φασμάτων απορρόφησης, συνάγονται τα ακόλουθα:

- 1) η φασματοσκοπία απορρόφησης στο ορατό τμήμα του ηλεκτρομαγνητικού φάσματος είναι ικανή να διαχωρίσει δείγματα κόκκινου κρασιού προερχόμενα από τις διαφορετικές ποικιλίες που εξετάστηκαν
- 2) εντοπίζονται μεγάλες διαφορές μεταξύ των ποικιλιών Κοτσιφάλι, Λιάτικο και Μαντηλάρι
- 3) η ποικιλία Μαντηλάρι επηρεάζεται περισσότερο από το χρόνο ωρίμανσης σε σχέση με τις άλλες δύο ποικιλίες καθώς δεν έχει αξιολογικό αρωματικό μπουκέτο
- 4) η πρώτη κύρια συνιστώσα συνδέεται με την απορρόφηση στο εύρος γύρω από τα 450-500nm και 550-600nm και είναι υπεύθυνη για το διαχωρισμό των ποικιλιών. Η δεύτερη κύρια συνιστώσα συνδέεται με την απορρόφηση στο εύρος γύρω από τα 450-500nm και είναι υπεύθυνη για διαφοροποιήσεις μεταξύ κρασιών προερχόμενων από την ίδια ποικιλία

Ανάλυση Διακριτότητας Μερικών Ελαχίστων Τετραγώνων (PLS-DA)

Για την επιβεβαίωση της δυνατότητας της φασματοσκοπίας απορρόφησης ορατού στον διαχωρισμό των κόκκινων ποικιλιών χρησιμοποιήθηκε η ανάλυση διακριτότητας μερικών ελαχίστων τετραγώνων (PLS-DA).

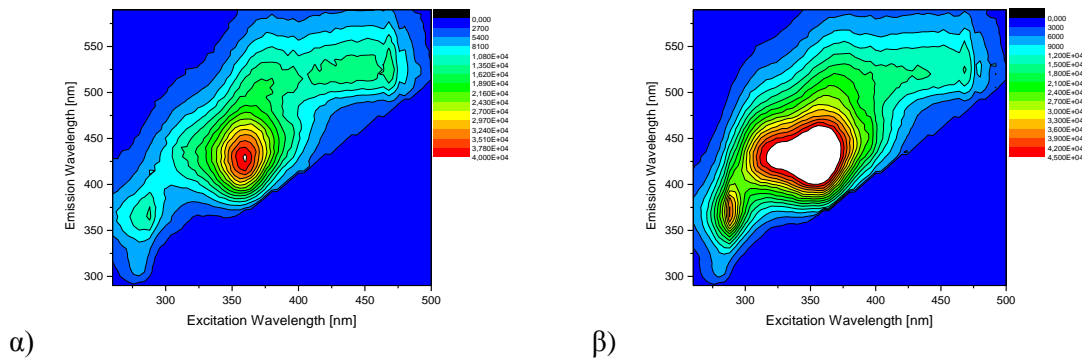
Πίνακας 5.2: Κατηγοριοποίηση κόκκινων ποικιλιών στην περιοχή του ορατού

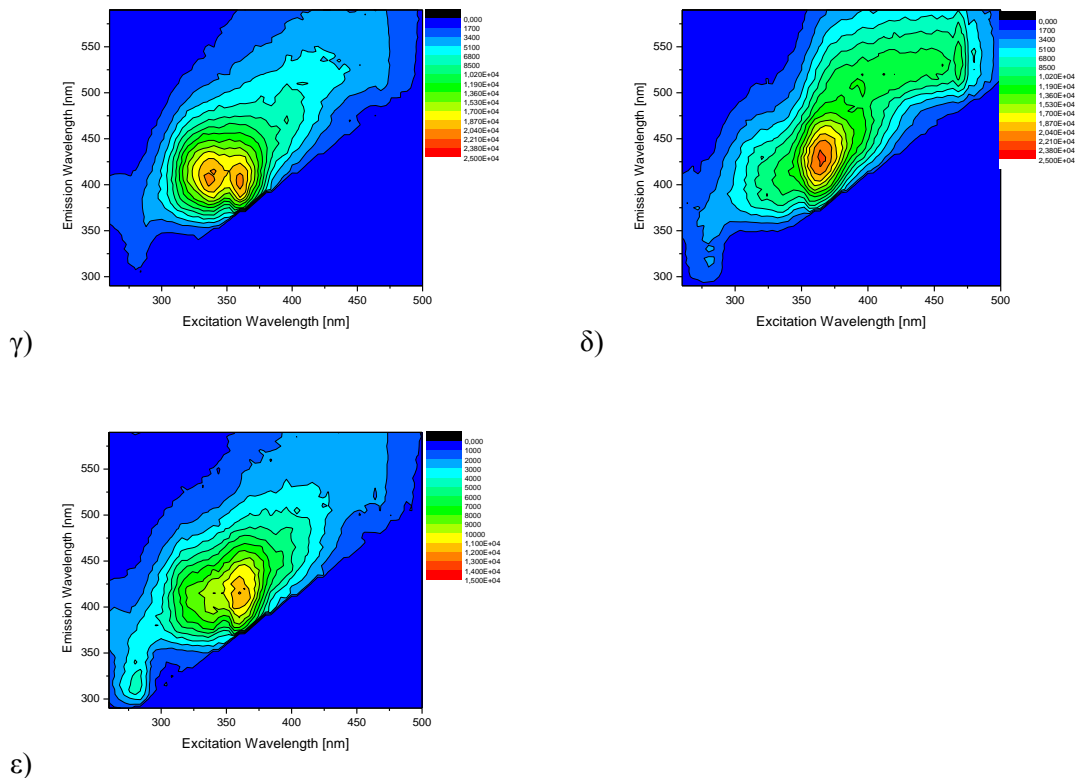
Cross Validation LV=5	Προβλεπόμενη Ομάδα			
	# Δειγμάτων	Κοτσιφάλι	Λιάτικο	Μαντηλάρι
Κοτσιφάλι	10	9	0	1
Λιάτικο	20	0	20	0
Μαντηλάρι	7	0	0	7

Το μαθηματικό μοντέλο το οποίο επιλέχθηκε αποτελείται από πέντε λανθάνουσες μεταβλητές. Στον **πίνακα 5.2** φαίνεται η επιτυχής πρόβλεψη της βοτανικής προέλευσης των κόκκινων ποικιλιών κρασιού σε ποσοστό 97,30% (σωστή πρόβλεψη των τριάντα εξι από τα τριάντα εφτά δείγματα).

5.1.3 Φασματοσκοπία Φθορισμού

Παρουσιάζονται τα αποτελέσματα του διαχωρισμού της βοτανικής προέλευσης με τη χρήση της φασματοσκοπίας φθορισμού. Η προβολή του φθορισμού έγινε μέσω χαρτών φθορισμού καθώς επιτυγχάνεται μια πληρέστερη εικόνα σχετικά με το φθορισμό των κρασιών. Οι χάρτες φθορισμού προκύπτουν από τη διαδοχική συλλογή φασμάτων εκπομπής σε διαφορετικά μήκη κύματος διέγερσης. Η μέτρηση του φθορισμού έγινε με γεωμετρία εμπρόσθιας όψης (γωνία 35°) χωρίς αραίωση των δειγμάτων. Το εύρος σάρωσης διέγερσης ήταν 260-500nm με βήμα 4nm, ενώ το εύρος σάρωσης εκπομπής ήταν 290-590nm με βήμα 5nm. Στην **εικόνα 5.7** απεικονίζονται πέντε χάρτες φθορισμού, οι οποίοι αντιστοιχούν στις πέντε μελετώμενες ποικιλίες.



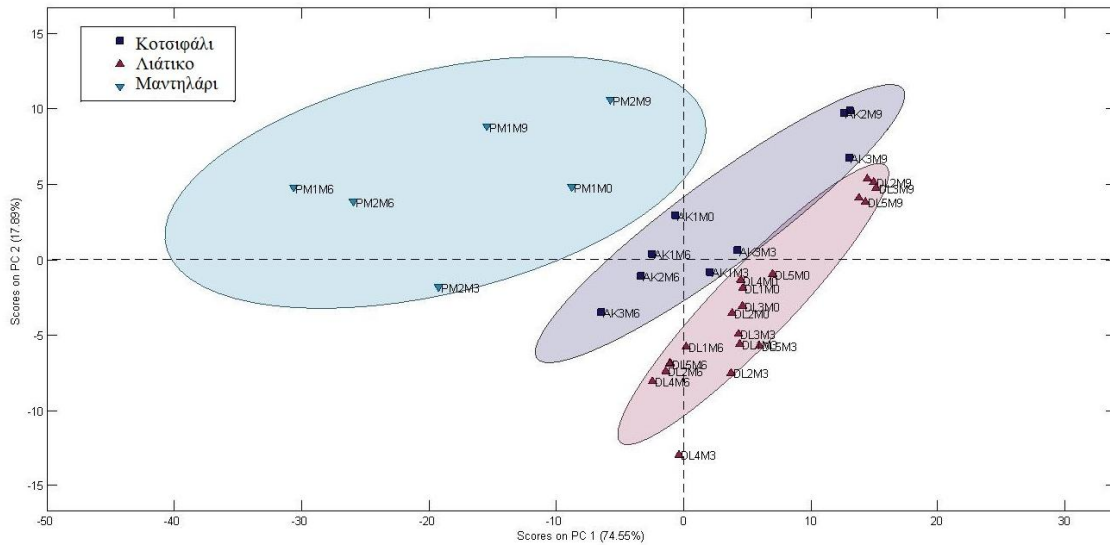


Εικόνα 5.7: Χάρτες φθορισμού για τις ποικιλίες. α) Ασύρτικο β) Βηλάνα
 γ) Κοτσιφάλι δ) Λιάτικο ε) Μαντηλάρι

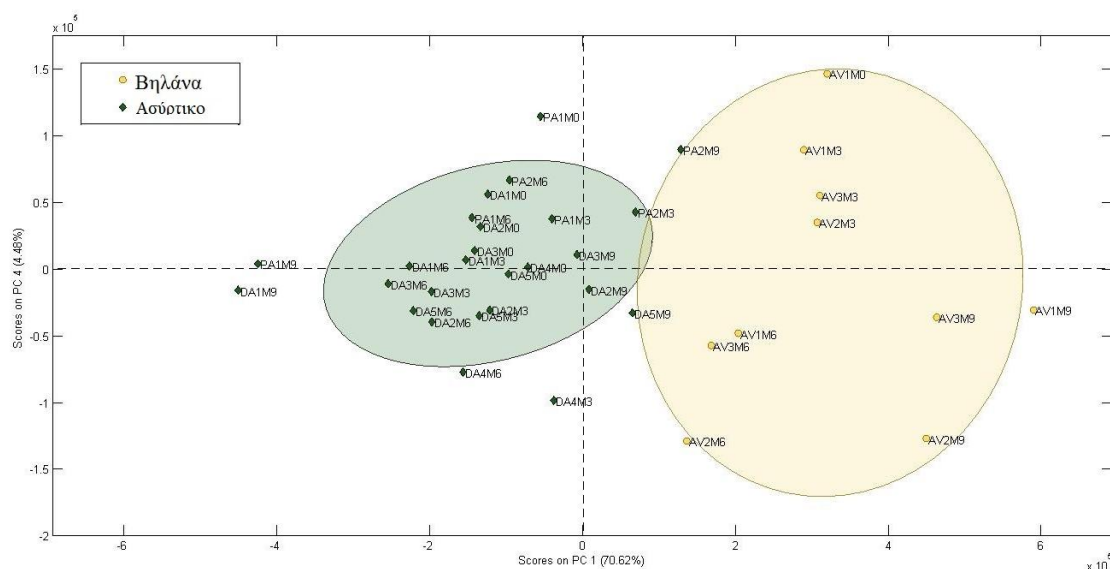
Διακρίνονται ομοιότητες και διαφορές ανάμεσα στους χάρτες, οι οποίες σχετίζονται με την ένταση του φθορισμού και με το μήκος κύματος διέγερσης/εκπομπής. Σε όλους τους χάρτες εμφανίζονται δύο κύριες περιοχές φθορισμού. Η πρώτη αντιστοιχεί σε διέγερση στην περιοχή γύρω από τα 280nm, εκπομπή γύρω από τα 360nm και σχετίζεται με φαινολικές ενώσεις της οικογένειας των φαινολικών οξέων και φλαβονοειδών. Η δεύτερη αντιστοιχεί σε διέγερση στην περιοχή γύρω από τα 350nm, εκπομπή γύρω από τα 425nm και σχετίζεται με φαινολικές ενώσεις της οικογένειας των φαινολικών οξέων και φλαβονοειδών καθώς και με την οικογένεια των στυλβενοειδών [9-10]. Με σκοπό την εξάλειψη τυχαίων ή συστηματικών σφαλμάτων επιλέχθηκε η προ-επεξεργασία των φασματοσκοπικών δεδομένων με τη λογαριθμισμό τους και τη μέθοδο mean center.

Ανάλυση Κύριων Συνιστωσών (PCA)

Για τη διερευνητική μελέτη των φασματοσκοπικών δεδομένων χρησιμοποιήθηκε η ανάλυση κύριων συνιστωσών (PCA), η οποία προσφέρει μια πιο συστηματική οπτική απεικόνιση του διαχωρισμού.



Εικόνα 5.8: Διερευνητική μελέτη με την ανάλυση κύριων συνιστωσών. Score plot στις δύο πρώτες κύριες συνιστώσες για τις κόκκινες ποικιλίες



Εικόνα 5.9: Διερευνητική μελέτη με την ανάλυση κύριων συνιστωσών. Score plot στην πρώτη και στην τέταρτη κύρια συνιστώσα για τις λευκές ποικιλίες

Η προβολή των δειγμάτων στις δύο πρώτες κύριες συνιστώσες (score plots) δείχνει έναν ικανοποιητικό διαχωρισμό μεταξύ των κόκκινων ποικιλιών (εικόνα 5.8). Οι δύο πρώτες κύριες συνιστώσες ερμηνεύουν υψηλό ποσοστό της διακύμανσης των δεδομένων 92,44% για τις κόκκινες. Η προβολή των δειγμάτων στην πρώτη και στην τέταρτη κύρια συνιστώσα (score plots) δείχνει έναν ικανοποιητικό διαχωρισμό μεταξύ των λευκών ποικιλιών (εικόνα 5.9). Οι κύριες συνιστώσες ερμηνεύουν υψηλό ποσοστό της διακύμανσης των δεδομένων 75,10% για τις λευκές ποικιλίες.

Από την συνδυαστική αξιολόγηση των score plots και των χαρτών φθορισμού εξάγονται τα εξής:

- 1) η φασματοσκοπία φθορισμού είναι ικανή να διαχωρίσει δείγματα κρασιού προερχόμενα από τις πέντε μελετώμενες ποικιλίες
- 2) η ένταση φθορισμού είναι πολύ υψηλότερη για τις λευκές ποικιλίες
- 3) οι λευκές ποικιλίες εμφανίζουν υψηλότερη ένταση φθορισμού στην περιοχή διέγερσης γύρω από τα 280nm, εκπομπής γύρω από τα 360nm η οποία σχετίζεται με φαινολικές ενώσεις της οικογένειας των φαινολικών οξέων και φλαβονοειδών
- 4) για τις λευκές ποικιλίες η πρώτη κύρια συνιστώσα είναι υπεύθυνη για τον διαχωρισμό των ποικιλιών ενώ η δεύτερη κύρια συνιστώσα είναι υπεύθυνη για διαφοροποιήσεις μεταξύ κρασιών προερχόμενων από την ίδια ποικιλία.

Ανάλυση Διακριτότητας Μερικών Ελαγίστων Τετραγώνων (PLS-DA)

Κατά την εξέταση των φασματοσκοπικών δεδομένων με αυτή τη μέθοδο θεωρείται γνωστή η ποικιλία του κρασιού και μελετάται η ικανότητα των φασματοσκοπικών δεδομένων στην πρόβλεψη αυτής της κατηγορίας. Το μαθηματικό μοντέλο το οποίο επιλέχθηκε αποτελείται από τρεις λανθάνουσες μεταβλητές

Πίνακας 5.3: Κατηγοριοποίηση Κόκκινων Ποικιλιών

Cross Validation LV=3	Προβλεπόμενη Ομάδα			
	# Δειγμάτων	Κοτσιφάλι	Λιάτικο	Μαντηλάρι
Κοτσιφάλι	10	10	0	0
Λιάτικο	20	0	20	0
Μαντηλάρι	7	0	0	7

Πίνακας 5.4: Κατηγοριοποίηση Λευκών Ποικιλιών

Cross Validation LV=3	Προβλεπόμενη Ομάδα		
	# Δειγμάτων	Ασύρτικο	Βηλάνα
Ασύρτικο	10	10	0
Βηλάνα	27	0	27

Στους πίνακες 5.3 και 5.4 φαίνεται η επιτυχής πρόβλεψη της βοτανικής προέλευσης των κόκκινων και των λευκών ποικιλιών κρασιού σε ποσοστό 100%.

Συμπεραίνοντας, η φασματοσκοπία απορρόφησης υπεριώδους είναι μια τεχνική ικανή να διαχωρίσει με μεγάλη επιτυχία (95,94%) δείγματα κρασιού με βάση τη βοτανική τους προέλευση. Ο διαχωρισμός οφείλεται στο διαφορετικό φαινολικό δυναμικό της κάθε ποικιλίας. Οι μεγαλύτερες διαφορές εμφανίζονται μεταξύ των ποικιλιών Κοτσιφάλι και

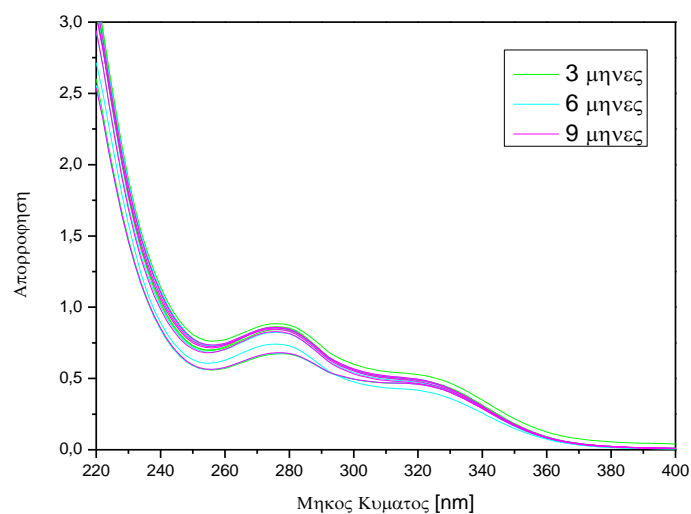
Λιάτικο. Η φασματοσκοπία απορρόφησης ορατού είναι μια τεχνική ικανή να διαχωρίσει με μεγάλη επιτυχία (97,30%) δείγματα κρασιού με βάση τη βοτανική τους προέλευση (Κοτσιφάλι, Λιάτικο και Μαντηλάρι). Ο διαχωρισμός οφείλεται στην διαφορετική σύσταση σε ανθοκυανίνες. Η ποικιλία Μαντηλάρι με μεγαλύτερη συγκέντρωση και μεγαλύτερη διακύμανση σε ανθοκυανίνες εμφανίζει διαφοροποιήσεις στο χρώμα σε σχέση με τις άλλες δύο ποικιλίες. Η φασματοσκοπία απορρόφησης εγγύς υπεριώθρου είναι μια τεχνική μη ικανή να διαχωρίσει δείγματα κρασιού με βάση τη βοτανική τους προέλευση. Αυτό πιθανότατα οφείλεται στη σύσταση των κρασιών σε αιθανόλη, νερό και άλλες οργανικές ενώσεις, η οποία παραμένει σταθερή ανεξαρτήτως ποικιλίας. Τέλος η φασματοσκοπία φθορισμού είναι μια τεχνική ικανή να διαχωρίσει με απόλυτη επιτυχία (100%) δείγματα κρασιού με βάση τη βοτανική τους προέλευση (Κοτσιφάλι, Λιάτικο και Μαντηλάρι). Ο διαχωρισμός οφείλεται στην διαφορετική σύσταση φθορίζουσών ουσιών και συγκεκριμένα ουσιών που φθορίζουν στις εξής περιοχές διέγερσης/εκπομπής: 280nm/360nm, 350nm/425nm, 425nm/520nm.

5.2 Διαχωρισμός Σταδίου Ωρίμανσης Κρασιού

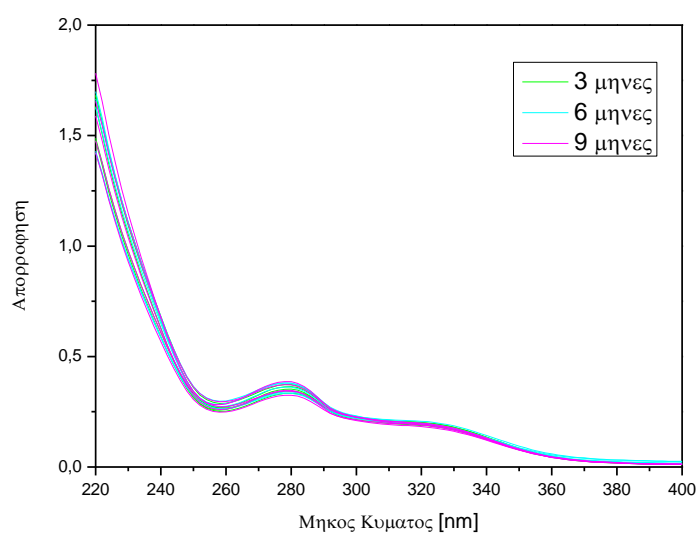
Ο προσδιορισμός του σταδίου ωρίμανσης του κρασιού αποτελεί θέμα ιδιαίτερου ενδιαφέροντος. Στη βιβλιογραφία εντοπίζονται επιστημονικές εργασίες οι οποίες μελετούν την ικανότητα των φασματοσκοπικών τεχνικών της απορρόφησης και του φθορισμού στον προσδιορισμό του σταδίου ωρίμανσης του κρασιού [11]. Εξετάστηκαν δείγματα κρασιού που έχουν ωριμάσει 3, 6 ή 9 μήνες χρησιμοποιώντας φασματοσκοπία απορρόφησης υπεριώδους, ορατού και εγγύς υπεριώθρου, όπως επίσης και φασματοσκοπία φθορισμού. Σε κάθε περίπτωση θα γίνει επεξεργασία των δεδομένων με μεθόδους στατιστικής ανάλυσης.

5.2.1 Φασματοσκοπία Απορρόφησης Υπεριώδους

Στην ενότητα αυτή παρουσιάζονται αποτελέσματα των ποικιλιών Ασύρτικο και Λιάτικο σε χρόνο ωρίμανσης 3, 6 και 9 μηνών. Αρχικά προβάλλεται το σύνολο των φασμάτων απορρόφησης στην περιοχή 220-400nm. Η απορρόφηση γύρω στα 220-245 nm οφείλεται σε φαινολικές ενώσεις, όπως υδροξικινναμικά οξέα (καφεικό οξύ, φερουλικό οξύ, p-κουμαρικό οξύ) [12]. Η απορρόφηση γύρω από τα 280nm συνδέεται με το συνολικό φαινολικό περιεχόμενο του κρασιού και συναντάται σε όλες τις ποικιλίες. Η ευρεία κορυφή με μέγιστο γύρω στα 320nm συνδέεται κυρίως με ενώσεις της οικογένειας των φλαβονοειδών και των κινναμωμικών οξέων [13-15].



Εικόνα 5.10: Φάσματα απορρόφησης της ποικιλίας Ασύρτικο στο υπεριώδες 220-400nm.



Εικόνα 5.11: Φάσματα απορρόφησης της ποικιλίας Λιάτικο στο υπεριώδες 220-400nm.

Από την προβολή των φασμάτων παρατηρείται επικάλυψη των δειγμάτων των 3, 6 και 9 μηνών ωρίμανσης.

Ανάλυση Διακριτότητας Μερικών Ελαγίστων Τετραγώνων (PLS-DA)

Για την επιβεβαίωση της ικανότητας της φασματοσκοπίας υπεριώδους ως προς το διαχωρισμό με βάση το χρόνο ωρίμανσης στην περίπτωση της ποικιλίας Ασύρτικο και Λιάτικο, χρησιμοποιήθηκε η χημειομετρική μέθοδος της ανάλυσης διακριτότητας μερικών ελαγίστων τετραγώνων.

Πίνακας 5.5: Κατηγοριοποίηση με βάση το χρόνο ωρίμανσης της ποικιλίας Ασύρτικο

Cross Validation LV=4	Προβλεπόμενη Ομάδα			
	# Δειγμάτων	3 μήνες	6 μήνες	9 μήνες
3 μήνες	5	5	0	0
6 μήνες	5	1	3	1
9 μήνες	5	0	3	2

Πίνακας 5.6: Κατηγοριοποίηση με βάση το χρόνο ωρίμανσης της ποικιλίας Λιάτικο

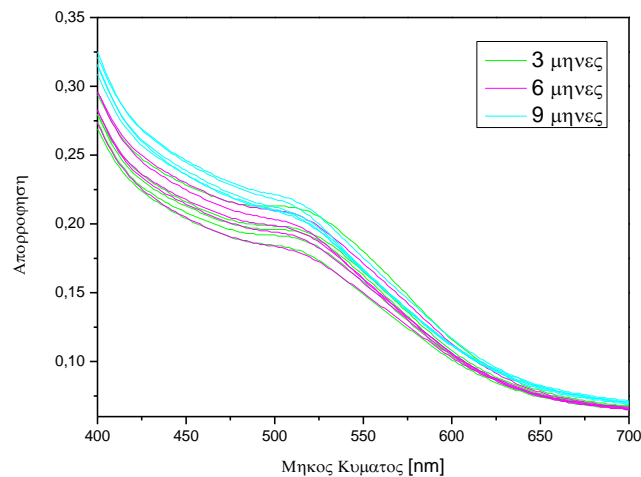
Cross Validation LV=5	Προβλεπόμενη Ομάδα			
	# Δειγμάτων	3 μήνες	6 μήνες	9 μήνες
3 μήνες	5	5	0	0
6 μήνες	5	0	4	1
9 μήνες	5	0	1	4

Από την αξιολόγηση των αρχικών φασμάτων απορρόφησης συνάγονται τα ακόλουθα:

- 1) η φασματοσκοπία απορρόφησης στο υπεριώδες τμήμα του ηλεκτρομαγνητικού φάσματος δεν είναι ικανή να διαχωρίσει δείγματα κρασιού με βάση το χρόνο ωρίμανσης
- 2) για την ποικιλία Ασύρτικο παρατηρούνται κάποιες διαφοροποιήσεις στα φάσματα, οι οποίες σχετίζονται με την ένταση της απορρόφησης
- 3) για την ποικιλία Λιάτικο δεν παρατηρούνται ιδιαίτερες διαφοροποιήσεις στα φάσματα

5.2.2 Φασματοσκοπία Απορρόφησης Ορατού

Στην περιοχή του ορατού απορροφούν φαινολικές ενώσεις της οικογένειας των ανθοκυανινών [16] επομένως η μελέτη περιορίζεται στις κόκκινες ποικιλίες. Στη συνέχεια παρουσιάζεται η περίπτωση της ποικιλίας Λιάτικο.

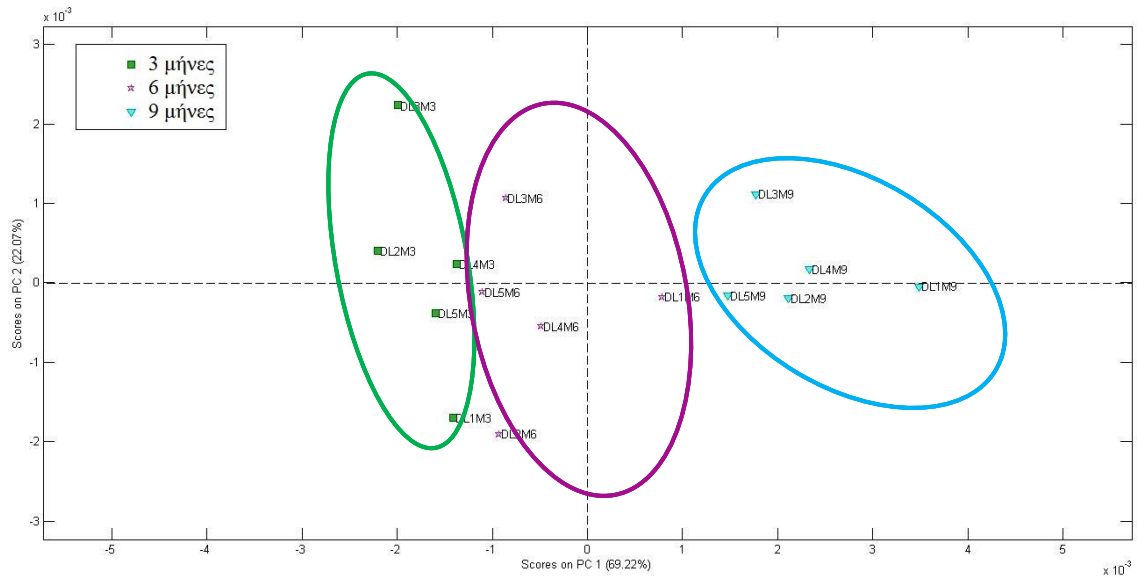


Εικόνα 5.12: Φάσματα απορρόφησης της ποικιλίας Λιάτικο στο ορατό 400-700nm.

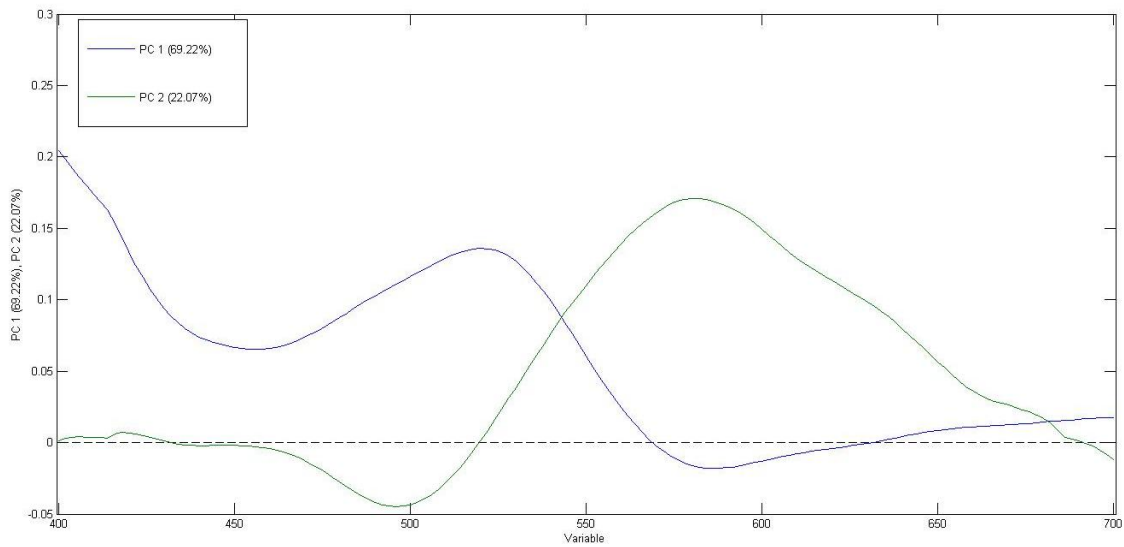
Αρχικά προβάλλεται το σύνολο των φασμάτων απορρόφησης με σκοπό τον εντοπισμό ομοιοτήτων και διαφορών (**εικόνα 5.12**). Με σκοπό την εξάλειψη τυχαίων ή συστηματικών σφαλμάτων, τα οποία επηρεάζουν την τιμή της απορρόφησης επιλέχθηκε η προ-επεξεργασία των φασματοσκοπικών δεδομένων με τη παραγωγή τους (1^{ου} βαθμού), τη μέθοδο smoothing και τη μέθοδο mean center.

Ανάλυση Κύριων Συνιστωσών (PCA)

Για τη διερευνητική μελέτη των φασματοσκοπικών δεδομένων χρησιμοποιήθηκε η ανάλυση κύριων συνιστωσών (PCA), η οποία προσφέρει μια πιο συστηματική οπτική απεικόνιση του διαχωρισμού. Οι δύο πρώτες κύριες συνιστώσες ερμηνεύουν το 91,29% της διακύμανσης των φασματοσκοπικών δεδομένων. Η προβολή των δειγμάτων στις δύο πρώτες κύριες συνιστώσες (**εικόνα 5.13**) δείχνει έναν ικανοποιητικό διαχωρισμό, ο οποίος οφείλεται κυρίως στην πρώτη κύρια συνιστώσα και συνδέεται με χημικά είδη ανθοκυανινών που απορροφούν στα 520nm όπως φαίνεται στο loading plot της **εικόνας 5.14**.



Εικόνα 5.13: Διερευνητική μελέτη με την ανάλυση κύριων συνιστωσών. Score plot στις δύο πρώτες κύριες συνιστώσες για την ποικιλία Λιάτικο



Εικόνα 5.14: Διερευνητική μελέτη με την ανάλυση κύριων συνιστωσών. Loading plot στις δύο πρώτες κύριες συνιστώσες για την ποικιλία Λιάτικο

Από τη συνδυαστική αξιολόγηση του score plot, του loading plot και των αρχικών φασμάτων απορρόφησης, συνάγονται τα ακόλουθα:

- 1) είναι εμφανείς κάποιες διαφοροποιήσεις μεταξύ των φασμάτων με μια πτωτική τάση της τιμής της απορρόφησης σε φάσματα δειγμάτων αρχικού σταδίου ωρίμανσης
- 2) η φασματοσκοπία απορρόφησης στο ορατό τμήμα του ηλεκτρομαγνητικού φάσματος είναι ικανή να διαχωρίσει δείγματα της ποικιλίας Λιάτικο με βάση το χρόνο ωρίμανσης

3) η πρώτη κύρια συνιστώσα συνδέεται με την απορρόφηση στο εύρος γύρω από τα 500-550nm και είναι υπεύθυνη για τον διαχωρισμό των δειγμάτων με βάση τον χρόνο ωρίμανσης. Η δεύτερη κύρια συνιστώσα συνδέεται με την απορρόφηση γύρω από τα 600nm και είναι υπεύθυνη για διαφοροποιήσεις μεταξύ κρασιών που έχουν ωριμάσει ίδιο χρονικό διάστημα.

Ανάλυση Διακριτότητας Μερικών Ελαχίστων Τετραγώνων (PLS-DA)

Για την επιβεβαίωση της ικανότητας της φασματοσκοπίας ορατού ως προς το διαχωρισμό με βάση το χρόνο ωρίμανσης στην περίπτωση της ποικιλίας Λιάτικο, χρησιμοποιήθηκε η χημειομετρική μέθοδος της ανάλυσης διακριτότητας μερικών ελαχίστων τετραγώνων.

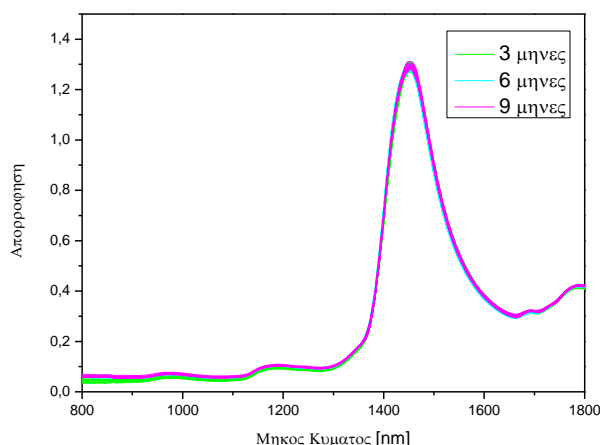
Πίνακας 5.7: Κατηγοριοποίηση με βάση τον χρόνο ωρίμανσης της ποικιλίας Λιάτικο

Cross Validation LV=4	Προβλεπόμενη Ομάδα			
	# Δειγμάτων	3 μήνες	6 μήνες	9 μήνες
3 μήνες	5	5	0	0
6 μήνες	5	0	5	0
9 μήνες	5	0	0	5

Το μαθηματικό μοντέλο το οποίο επιλέχθηκε αποτελείται από τέσσερις λανθάνουσες μεταβλητές. Στον **πίνακα 5.7** φαίνεται η επιτυχής πρόβλεψη του χρόνου ωρίμανσης για την ποικιλία Λιάτικο σε ποσοστό 100%.

5.2.3 Φασματοσκοπία Απορρόφησης Εγγύς Υπερύθρου

Στην ενότητα αυτή παρουσιάζονται αποτελέσματα για όλες τις ποικιλίες κρασιού σε χρόνο ωρίμανσης 3, 6 και 9 μηνών. Αρχικά προβάλλεται το σύνολο των φασμάτων απορρόφησης στην περιοχή 800-1800nm (**εικόνα 5.15**). Μεταξύ των φασμάτων των πέντε ποικιλιών παρατηρείται σχεδόν πλήρης επικάλυψη. Όλα τα φάσματα εμφανίζουν πέντε χαρακτηριστικές κορυφές. Στα 1450nm, 1690nm και 1790nm οι οποίες οφείλονται σε υπερτόνους δονήσεων των μορίων του νερού και της αιθανόλης. Ακόμα εμφανίζονται δύο μικρότερες κορυφές στα 990 και 1200nm οι οποίες οφείλονται στην δεύτερη υπερτονική έκταση του δεσμού O-H των σακχάρων και των οργανικών οξέων [17].

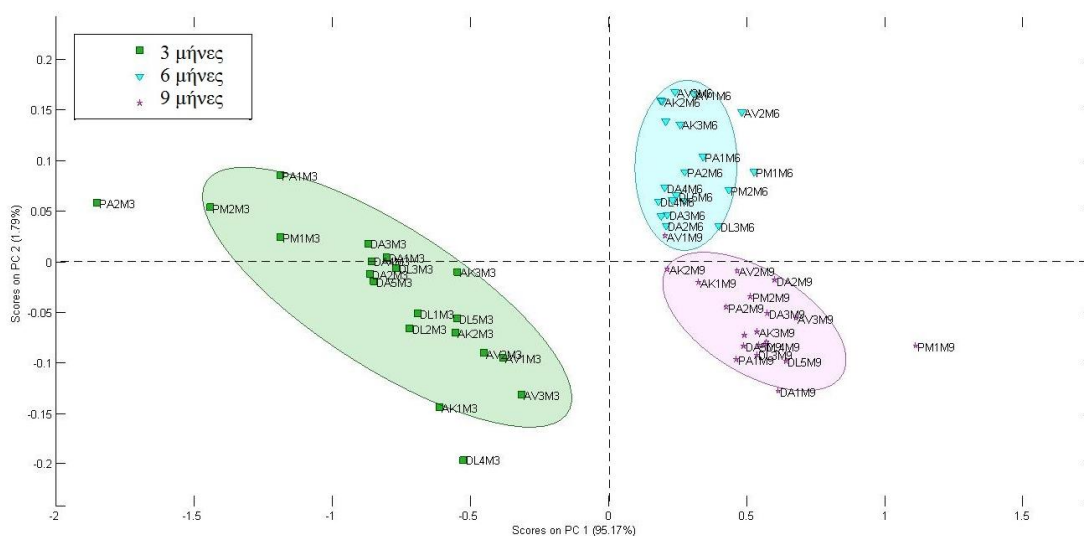


Εικόνα 5.15: Φάσματα απορρόφησης στο εγγύς υπέρυθρο 800-1800nm.

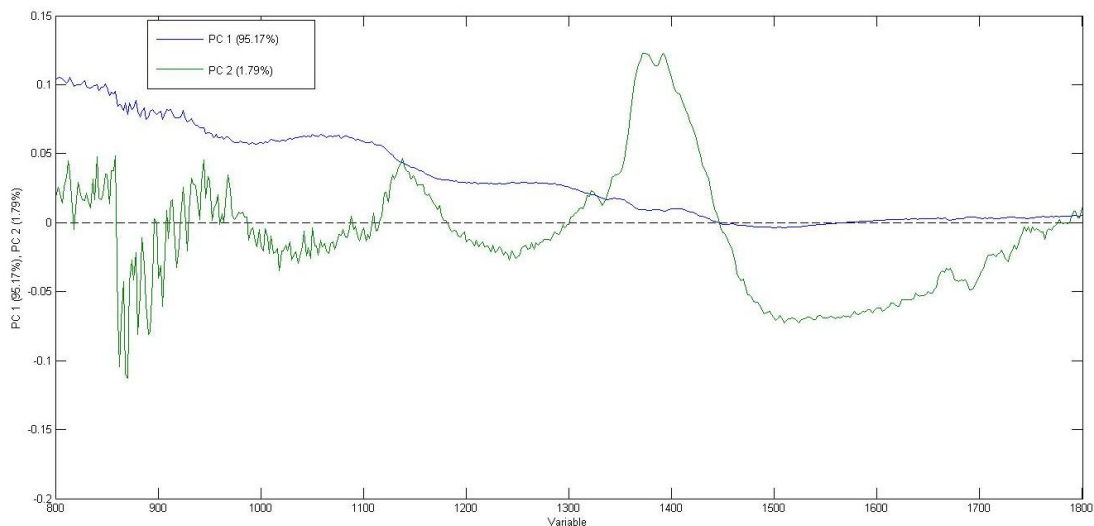
Με σκοπό την εξάλειψη τυχαίων ή συστηματικών σφαλμάτων, τα οποία επηρεάζουν την τιμή της απορρόφησης επιλέχθηκε η προ-επεξεργασία των φασματοσκοπικών δεδομένων με τη λογαριθμική τους και τη μέθοδο mean center.

Ανάλυση Κύριων Συνιστωσών (PCA)

Για τη διερευνητική μελέτη των φασματοσκοπικών δεδομένων χρησιμοποιήθηκε η ανάλυση κύριων συνιστωσών (PCA), η οποία προσφέρει μια καλύτερη απεικόνιση του διαχωρισμού. Η προβολή των δειγμάτων στις δύο πρώτες κύριες συνιστώσες (εικόνα 5.16) δείχνει έναν ικανοποιητικό διαχωρισμό των σταδίων ωρίμανσης. Οι δύο πρώτες κύριες συνιστώσες ερμηνεύουν το 96,96% της διακύμανσης των φασματοσκοπικών δεδομένων.



Εικόνα 5.16: Διερευνητική μελέτη με την ανάλυση κύριων συνιστωσών. Score plot στις δύο πρώτες κύριες συνιστώσες για τις πέντε μελετώμενες ποικιλίες



Εικόνα 5.17: Διερευνητική μελέτη με την ανάλυση κύριων συνιστωσών. Loading plot στις δύο πρώτες κύριες συνιστώσες για τις πέντε μελετώμενες ποικιλίες

Από τη συνδυαστική αξιολόγηση του score plot, του loading plot και των αρχικών φασμάτων απορρόφησης, συνάγονται τα ακόλουθα:

- 1) υπάρχουν κάποιες διαφοροποιήσεις μεταξύ των φασμάτων των 3 και 9 μηνών στις κορυφές στα 990 και 1200nm οι οποίες οφείλονται στην δεύτερη υπερτονική έκταση του δεσμού O-H των σακχάρων και των οργανικών οξέων
- 2) η φασματοσκοπία απορρόφησης εγγύς υπερύθρου είναι ικανή να διαχωρίσει δείγματα κρασιού με βάση το χρόνο ωρίμανσης
- 3) η πρώτη κύρια συνιστώσα συνδέεται με την απορρόφηση γύρω από τις κορυφές στα 990 και 1200nm και είναι υπεύθυνη για το διαχωρισμό των δειγμάτων των 3 μηνών με τα δείγματα των 6 και 9 μηνών. Η δεύτερη κύρια συνιστώσα συνδέεται με την απορρόφηση γύρω από την κορυφή στα 1400nm και είναι υπεύθυνη για το διαχωρισμό των δειγμάτων των 6 και 9 μηνών.

Ανάλυση Διακριτότητας Μερικών Ελαχίστων Τετραγώνων (PLS-DA)

Για την επιβεβαίωση της ικανότητας της φασματοσκοπίας εγγύς υπερύθρου ως προς το διαχωρισμό με βάση το χρόνο ωρίμανσης στην περίπτωση της ποικιλίας Ασύρτικο και Λιάτικο, χρησιμοποιήθηκε η χημειομετρική μέθοδος της ανάλυσης διακριτότητας μερικών ελαχίστων τετραγώνων.

Πίνακας 5.8: Κατηγοριοποίηση με βάση το χρόνο ωρίμανσης της ποικιλίας Ασύρτικο

Cross Validation LV=3	Προβλεπόμενη Ομάδα			
	# Δειγμάτων	3 μήνες	6 μήνες	9 μήνες
3 μήνες	5	5	0	0
6 μήνες	5	0	5	0
9 μήνες	5	0	0	5

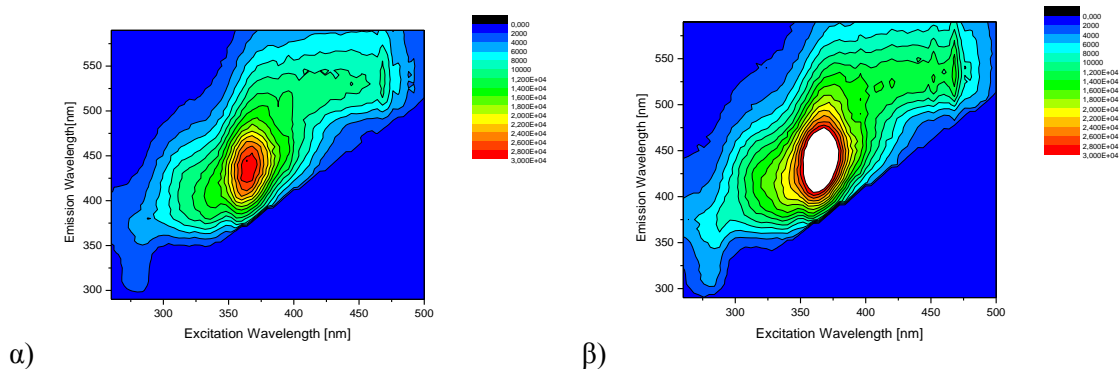
Πίνακας 5.9: Κατηγοριοποίηση με βάση το χρόνο ωρίμανσης της ποικιλίας Λιάτικο

Cross Validation LV=2	Προβλεπόμενη Ομάδα			
	# Δειγμάτων	3 μήνες	6 μήνες	9 μήνες
3 μήνες	5	5	0	0
6 μήνες	5	0	5	0
9 μήνες	5	0	0	5

Το μαθηματικό μοντέλο το οποίο επιλέχθηκε αποτελείται από τρεις λανθάνουσες μεταβλητές για την ποικιλία Ασύρτικο και δύο λανθάνουσες μεταβλητές για την ποικιλία Λιάτικο. Στους πίνακες 5.8 και 5.9 φαίνεται η επιτυχής πρόβλεψη του χρόνου ωρίμανσης σε ποσοστό 100%.

5.2.4 Φασματοσκοπία Φθορισμού

Στην ενότητα αυτή παρουσιάζονται ενδεικτικά τα αποτελέσματα για την ποικιλία Λιάτικο σε χρόνο ωρίμανσης 0, 3, 6 και 9 μηνών. Οι μετρήσεις των συνολικά 20 δειγμάτων πραγματοποιήθηκαν σε γεωμετρία εμπρόσθια όψης. Το εύρος σάρωσης διέγερσης ήταν 260-500nm με βήμα 4nm, ενώ το εύρος σάρωσης εκπομπής ήταν 290-590nm με βήμα 5nm.



Εικόνα 5.18: Ενδεικτικοί χάρτες φθορισμού για την ποικιλία Λιάτικο σε χρόνο ωρίμανσης

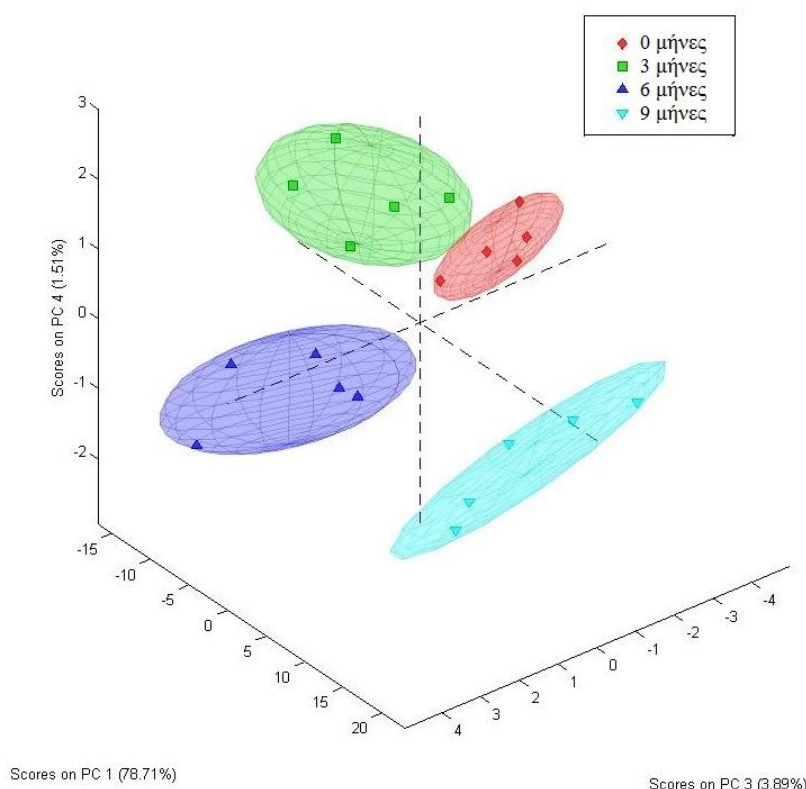
α) 0 μηνών και β) 9 μηνών

Διακρίνονται ομοιότητες και διαφορές ανάμεσα στους χάρτες, οι οποίες σχετίζονται με την ένταση του φθορισμού. Σε όλους τους χάρτες εμφανίζονται δύο κύριες περιοχές φθορισμού. Η πρώτη αντιστοιχεί σε διέγερση στην περιοχή γύρω από τα 280nm, εκπομπή γύρω από τα 360nm και σχετίζεται με φαινολικές ενώσεις της οικογένειας των φαινολικών οξέων και φλαβονοειδών. Η δεύτερη αντιστοιχεί σε διέγερση στην περιοχή γύρω από τα 350nm, εκπομπή γύρω από τα 425nm και σχετίζεται με φαινολικές ενώσεις της οικογένειας των φαινολικών οξέων και φλαβονοειδών καθώς και με την οικογένεια των στυλβενοειδών [18-19].

Με σκοπό την εξάλειψη τυχαίων ή συστηματικών σφαλμάτων επιλέχθηκε η προεπεξεργασία των φασματοσκοπικών δεδομένων με τη μέθοδο SNV και τη μέθοδο mean center.

Ανάλυση Κύριων Συνιστωσών (PCA)

Για τη διερευνητική μελέτη των φασματοσκοπικών δεδομένων χρησιμοποιήθηκε η ανάλυση κύριων συνιστωσών (PCA). Η πρώτη, η τρίτη και η τέταρτη κύριες συνιστώσες ερμηνεύουν το 84,11% της διακύμανσης των φασματοσκοπικών δεδομένων. Η προβολή των δειγμάτων σε αυτές τις κύριες συνιστώσες (εικόνα 5.19) δείχνει έναν ικανοποιητικό διαχωρισμό.



Εικόνα 5.19: Διερευνητική μελέτη με την ανάλυση κύριων συνιστωσών. Τρισδιάστατο score plot για την ποικιλία Λιάτικο

Από τη συνδυαστική αξιολόγηση των score plots και των χαρτών φθορισμού εξάγονται τα εξής:

- 1) η φασματοσκοπία φθορισμού είναι ικανή να διαχωρίσει δείγματα κρασιού με βάση το χρόνο ωρίμανσης προερχόμενα από την ποικιλία Λιάτικο
- 2) η ένταση φθορισμού είναι χαμηλή στο μήνα 0 αλλά είναι πολύ υψηλότερη στο μήνα 9

3) ο χάρτης φθορισμού για το μήνα 9 εμφανίζει υψηλότερη ένταση φθορισμού στην περιοχή διέγερσης γύρω από τα 280nm και εκπομπής γύρω από τα 360nm η οποία σχετίζεται με φαινολικές ενώσεις της οικογένειας των φαινολικών οξέων και φλαβονοειδών και στην περιοχή διέγερσης γύρω από τα τα 350nm και εκπομπής γύρω από τα 425nm που σχετίζεται με φαινολικές ενώσεις της οικογένειας των φαινολικών οξέων και φλαβονοειδών καθώς και με την οικογένεια των στιλβενοειδών.

Ανάλυση Διακριτότητας Μερικών Ελαχίστων Τετραγώνων (PLS-DA)

Για την επιβεβαίωση της ικανότητας της φασματοσκοπίας φθορισμού ως προς το διαχωρισμό με βάση το χρόνο ωρίμανσης στην περίπτωση της ποικιλίας Λιάτικο και Λιάτικο, χρησιμοποιήθηκε η χημειομετρική μέθοδος της ανάλυσης διακριτότητας μερικών ελαχίστων τετραγώνων.

Πίνακας 5.10: Κατηγοριοποίηση με βάση τον χρόνο ωρίμανσης για την ποικιλία Λιάτικο

Cross Validation LV=3	Προβλεπόμενη Ομάδα			
	# Δειγμάτων	3 μήνες	6 μήνες	9 μήνες
3 μήνες	5	5	0	0
6 μήνες	5	0	5	0
9 μήνες	5	0	0	5

Το μαθηματικό μοντέλο το οποίο επιλέχθηκε αποτελείται από τρεις λανθάνουσες μεταβλητές για την ποικιλία Λιάτικο. Στον **πίνακα 5.10** φαίνεται η επιτυχής πρόβλεψη του χρόνου ωρίμανσης σε ποσοστό 100%.

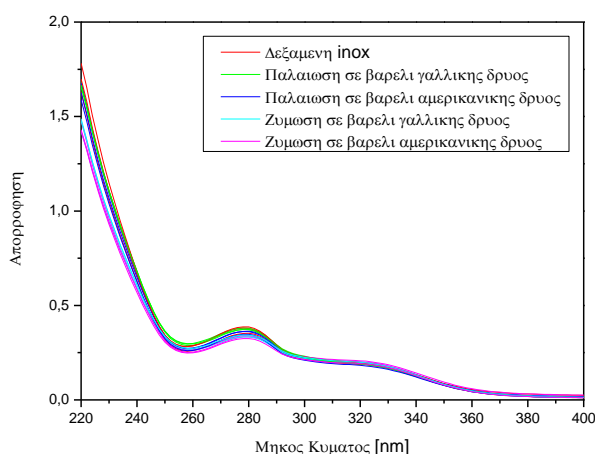
Συμπεραίνοντας, η φασματοσκοπία απορρόφησης υπεριώδους είναι μια τεχνική ικανή να διαχωρίσει δείγματα κρασιού (Ασύρτικο, Λιάτικο) με βάση το στάδιο ωρίμανσης. Το ποσοστό επιτυχίας κυμαίνεται από 60-80% και διαχωρισμός οφείλεται σε μεταβολές στο φαινολικό δυναμικό κατά την ωρίμανση. Η φασματοσκοπία απορρόφησης ορατού είναι μια τεχνική ικανή να διαχωρίσει με απόλυτη επιτυχία (100%) δείγματα κόκκινου κρασιού (Λιάτικο) με βάση το στάδιο ωρίμανσης. Ο διαχωρισμός οφείλεται σε μεταβολές στην κύρια κορυφή απορρόφησης των ανθοκυανινών στα 520nm. Η φασματοσκοπία απορρόφησης εγγύς υπερύθρου είναι μια τεχνική ικανή να διαχωρίσει με απόλυτη επιτυχία (100%) δείγματα κρασιού με βάση το στάδιο ωρίμανσης. Ο διαχωρισμός οφείλεται σε μεταβολές στη συγκέντρωση της αιθανόλης και του νερού κατά την ωρίμανση. Τέλος η φασματοσκοπία φθορισμού είναι μια τεχνική ικανή να διαχωρίσει με απόλυτη επιτυχία (100%) δείγματα κρασιού (Λιάτικο) με βάση το στάδιο ωρίμανσης. Ο διαχωρισμός οφείλεται σε μεταβολές στη σύσταση των φθοριζουσών ουσιών κατά την ωρίμανση

5.3. Διαχωρισμός Τρόπου Ωρίμανσης Κρασιού

Ο προσδιορισμός του τρόπου ωρίμανσης θεωρείται εξίσου σημαντικό θέμα μελέτης εξαιτίας της άμεσης σχέσης του με τα ποιοτικά χαρακτηριστικά του κρασιού. Εκτός από τα συνηθισμένα δρύινα βαρέλια, έχουν αρχίσει να χρησιμοποιούνται εναλλακτικοί τρόποι ωρίμανσης. Στη μελέτη που παρουσιάζεται, χρησιμοποιήθηκαν δείγματα κρασιού κατόπιν ωρίμανσης με έξι διαφορετικούς τρόπους. Ο διαχωρισμός των δειγμάτων με βάση τον τρόπο ωρίμανσης είναι αρκετά δύσκολος και πιθανόν αυτός να είναι ο λόγος απουσίας τέτοιων επιστημονικών μελετών από τη βιβλιογραφία.

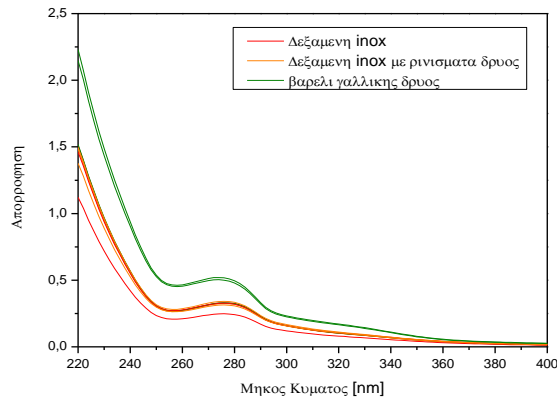
5.3.1 Φασματοσκοπία Απορρόφησης Υπεριώδους

Για την παρουσίαση του διαχωρισμού ως προς τον τρόπο ωρίμανσης επιλέχθηκαν οι ποικιλίες Λιάτικο και Κοτσιφάλι. Αρχικά προβάλλεται το σύνολο των φασμάτων απορρόφησης στην περιοχή 220-400nm για το Λιάτικο (εικόνα 5.20). Στη συγκεκριμένη περίπτωση μελετήθηκαν πέντε διαφορετικοί τρόποι ωρίμανσης, δείγματα κρασιού τα οποία ωρίμασαν σε δεξαμενή inox, δείγματα κρασιού τα οποία ζυμώθηκαν σε δεξαμενή inox και στη συνέχεια μεταφέρθηκαν σε βαρέλι γαλλικής ή αμερικάνικης δρυός και τέλος δείγματα τα οποία ζυμώθηκαν και ωρίμασαν σε βαρέλι γαλλικής ή αμερικάνικης δρυός. Μεταξύ των φασμάτων των διαφορετικών τρόπων ωρίμανσης παρατηρείται σχεδόν πλήρης επικάλυψη. Με σκοπό την εξάλειψη τυχαιών ή συστηματικών σφαλμάτων, τα οποία επηρεάζουν την τιμή της απορρόφησης επιλέχθηκε η προ-επεξεργασία των φασματοσκοπικών δεδομένων με τη παραγωγή τους ($1^{ου}$ βαθμού) και τη μέθοδο mean center.



Εικόνα 5.20: Φάσματα απορρόφησης της ποικιλίας Λιάτικο στο υπεριώδες 220-400nm.

Για την ποικιλία Κοτσιφάλι προβάλλεται το σύνολο των φασμάτων απορρόφησης στην περιοχή 220-400nm (εικόνα 5.21). Μελετήθηκαν τρεις διαφορετικοί τρόποι ωρίμανσης: δεξαμενή Inox, δεξαμενή inox με ρινίσματα δρυός και βαρέλι γαλλικής δρυός

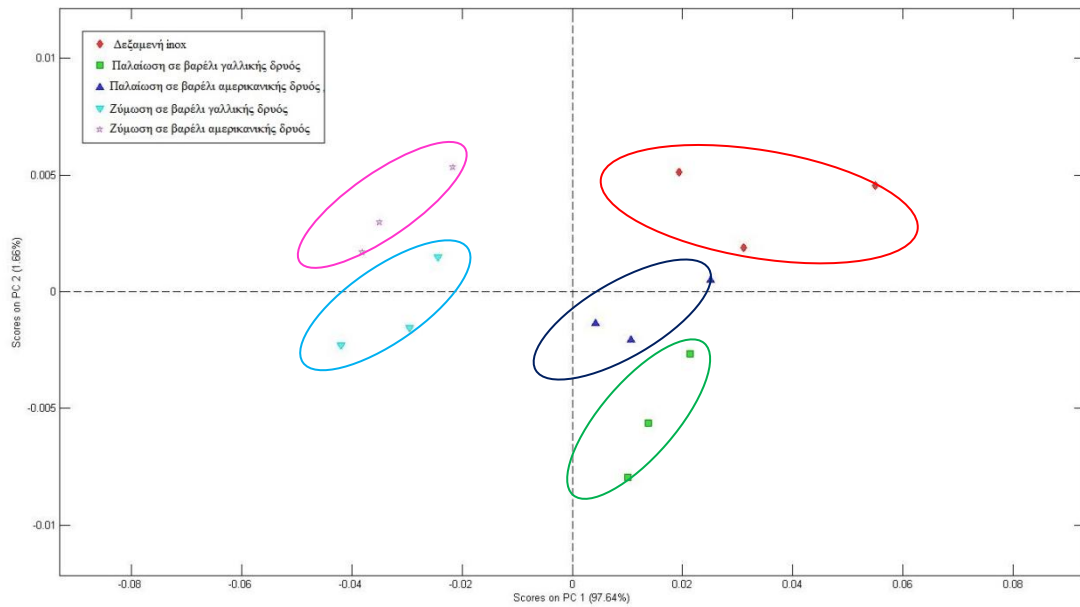


Εικόνα 5.21: Φάσματα απορρόφησης της ποικιλίας Κοτσιφάλι στο υπεριώδες 220-400nm.

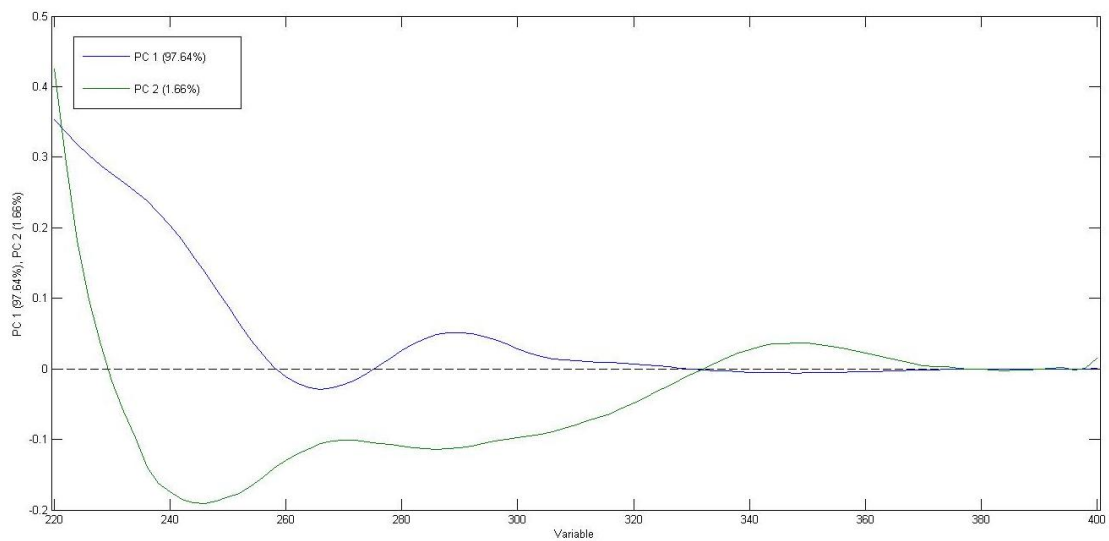
Με σκοπό την εξάλειψη τυχαίων ή συστηματικών σφαλμάτων, τα οποία επηρεάζουν την τιμή της απορρόφησης επιλέχθηκε η προ-επεξεργασία των φασματοσκοπικών δεδομένων με τη παραγωγή τους (1^{ου} βαθμού), τη λογαρίθμιση τους και τη μέθοδο mean center.

Ανάλυση Κύριων Συνιστωσών (PCA)

Για τη διερευνητική μελέτη των φασματοσκοπικών δεδομένων χρησιμοποιήθηκε η ανάλυση κύριων συνιστωσών (PCA). Οι δύο πρώτες κύριες συνιστώσες για την ποικιλία Λιάτικο ερμηνεύουν το 99,30% της διακύμανσης των φασματοσκοπικών δεδομένων. Η προβολή των δειγμάτων σε αυτές τις κύριες συνιστώσες (εικόνα 5.22) δείχνει έναν ικανοποιητικό διαχωρισμό ενώ το loading plot (εικόνα 5.23) υποδεικνύει τις φασματικές περιοχές που είναι υπεύθυνες για το διαχωρισμό.

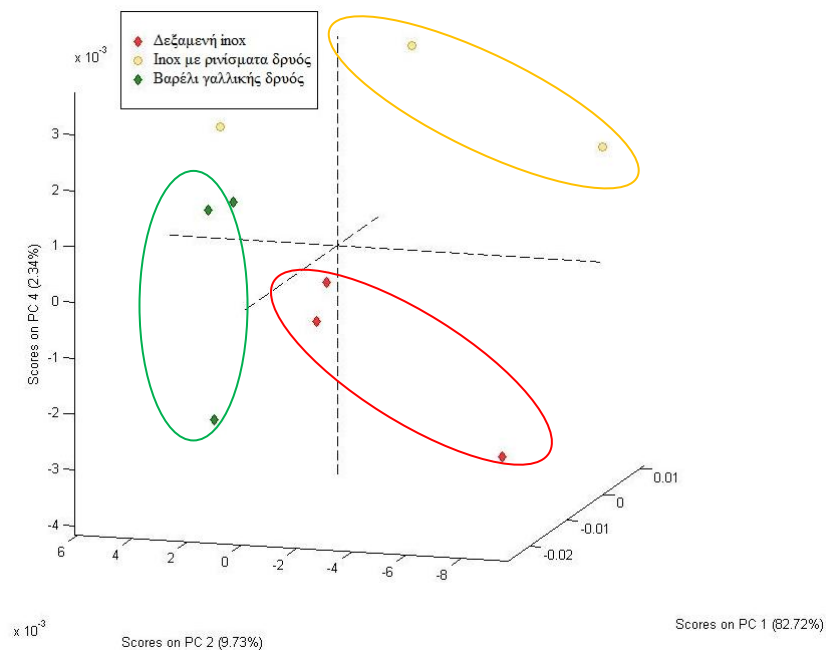


Εικόνα 5.22: Διερευνητική μελέτη με την ανάλυση κύριων συνιστωσών. Score plot στις δύο πρώτες κύριες συνιστώσες για την ποικιλία Λιάτικο και τους διαφορετικούς τρόπους ωρίμανσης

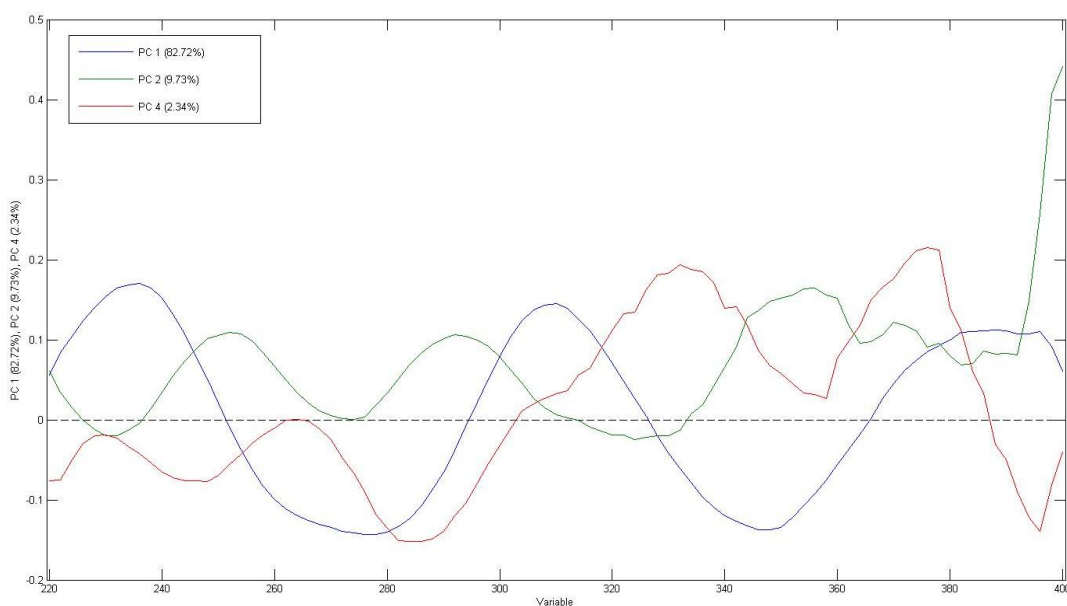


Εικόνα 5.23: Διερευνητική μελέτη με την ανάλυση κύριων συνιστωσών. Loading plot στις δύο πρώτες κύριες συνιστώσες για τους διαφορετικούς τρόπους ωρίμανσης

Οι τρεις πρώτες κύριες συνιστώσες για την ποικιλία Κοτσιφάλι ερμηνεύουν το 94,79% της διακύμανσης των φασματοσκοπικών δεδομένων. Η προβολή των δειγμάτων σε αυτές τις κύριες συνιστώσες (εικόνα 5.24) δείχνει έναν ικανοποιητικό διαχωρισμό.



Εικόνα 5.24: Διερευνητική μελέτη με την ανάλυση κύριων συνιστωσών. Τρισδιάστατο score plot για την ποικιλία Κοτσιφάλι και τους διαφορετικούς τρόπους ωρίμανσης



Εικόνα 5.25: Διερευνητική μελέτη με την ανάλυση κύριων συνιστωσών. Loading plot στις τρεις πρώτες κύριες συνιστώσες για τους διαφορετικούς τρόπους ωρίμανσης

Από τη συνδυαστική αξιολόγηση των score plots, των loading plots και των αρχικών φασμάτων απορρόφησης, συνάγονται τα ακόλουθα:

1) για την ποικιλία Κοτσιφάλι είναι εμφανείς οι διαφοροποιήσεις μεταξύ των φασμάτων με μια πτωτική τάση της τιμής της απορρόφησης σε φάσματα δειγμάτων που ωρίμασαν σε δεξαμενή inox

2) για την ποικιλία Λιάτικο παρατηρείται επικάλυψη μεταξύ των φασμάτων

3) η φασματοσκοπία απορρόφησης στο υπεριώδες τμήμα του ηλεκτρομαγνητικού φάσματος είναι ικανή να διαχωρίσει δείγματα των ποικιλιών Κοτσιφάλι και Λιάτικο προερχόμενα από διαφορετικούς περιέκτες

4) για την ποικιλία Λιάτικο η πρώτη κύρια συνιστώσα συνδέεται με την απορρόφηση στο εύρος γύρω στα 220-250nm και είναι υπεύθυνη για τον διαχωρισμό των δειγμάτων τα οποία ζυμώθηκαν σε βαρέλι γαλλικής ή αμερικάνικης δρυός με τα δείγματα τα οποία ζυμώθηκαν σε δεξαμενή inox

5) για την ποικιλία Κοτσιφάλι η πρώτη κύρια συνιστώσα συνδέεται με την απορρόφηση γύρω στα 240, 280, 310, 350 και 380nm και είναι υπεύθυνη για το διαχωρισμό των δειγμάτων που ωρίμασαν σε δεξαμενή inox και δεξαμενή inox με ρινίσματα δρυός. Η δεύτερη κύρια συνιστώσα συνδέεται με την απορρόφηση γύρω στα 250, 300 και 360nm και είναι υπεύθυνη για τον διαχωρισμό των δειγμάτων τα οποία ωρίμασαν σε βαρέλι γαλλικής δρυός με τα δείγματα τα οποία ωρίμασαν σε δεξαμενή inox.

Ανάλυση Διακριτότητας Μερικών Ελαχίστων Τετραγώνων (PLS-DA)

Για την επιβεβαίωση της ικανότητας της φασματοσκοπίας υπεριώδους ως προς το διαχωρισμό του τρόπου ωρίμανσης, χρησιμοποιήθηκε η χημειομετρική μέθοδος της ανάλυσης διακριτότητας μερικών ελαχίστων τετραγώνων.

Πίνακας 5.11: Κατηγοριοποίηση με βάση τον τρόπο ωρίμανσης για την ποικιλία Λιάτικο

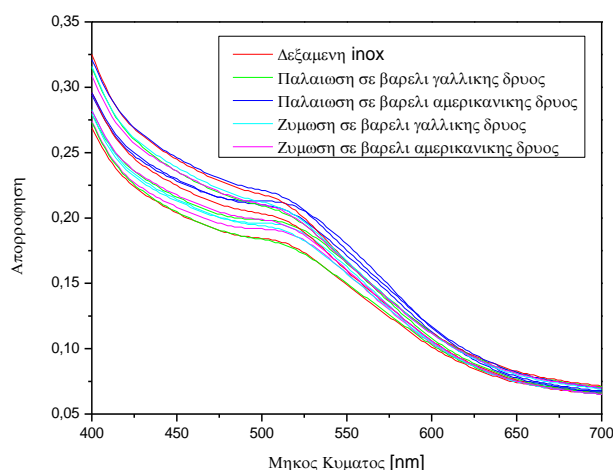
Cross Validation LV=4	Προβλεπόμενη Ομάδα					
	# Δειγμάτων	Inox	Παλαίωση σε γαλλική δρύ	Παλαίωση σε αμερικάνικη δρυ	Ζύμωση σε γαλλική δρυ	Ζύμωση σε αμερικάνικη δρυ
Inox	3	3	0	0	0	0
Παλαίωση σε γαλλική δρύ	3	0	3	0	0	0
Παλαίωση σε αμερικάνικη δρυ	3	0	0	3	0	0
Ζύμωση σε γαλλική δρυ	3	0	0	0	1	2
Ζύμωση σε αμερικάνικη δρυ	3	0	0	0	3	0

Πίνακας 5.12: Κατηγοριοποίηση με βάση τον τρόπο ωρίμανσης για την ποικιλία Κοτσιφάλι

Cross Validation LV=3	Προβλεπόμενη Ομάδα			
	# Δειγμάτων	Ιnox	Ιnox με ρινίσματα δρυός	Βαρέλι γαλλικής δρυός
Ιnox	3	2	1	0
Ιnox με ρινίσματα δρυός	3	0	2	1
Βαρέλι γαλλικής δρυός	3	0	1	2

5.3.2 Φασματοσκοπία Απορρόφησης Ορατού

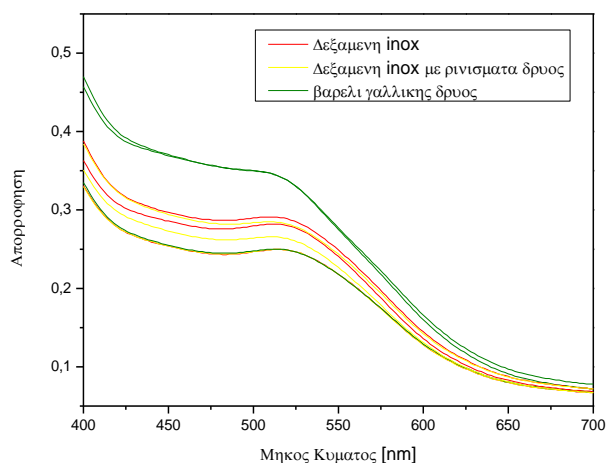
Για την παρουσίαση του διαχωρισμού ως προς τον τρόπο ωρίμανσης επιλέχθηκαν οι ποικιλίες Λιάτικο και Κοτσιφάλι. Αρχικά προβάλλεται το σύνολο των φασμάτων απορρόφησης στην περιοχή 400-700nm για το Λιάτικο (εικόνα 5.26). Στη συγκεκριμένη περίπτωση μελετήθηκαν πέντε διαφορετικοί τρόποι ωρίμανσης. Δείγματα κρασιού τα οποία ωρίμασαν σε δεξαμενή inox, δείγματα κρασιού τα οποία ζυμώθηκαν σε δεξαμενή inox και στη συνέχεια μεταφέρθηκαν σε βαρέλι γαλλικής ή αμερικάνικης δρυός και τέλος δείγματα τα οποία ζυμώθηκαν και ωρίμασαν σε βαρέλι γαλλικής ή αμερικάνικης δρυός. Μεταξύ των φασμάτων των διαφορετικών τρόπων ωρίμανσης παρατηρείται επικάλυψη.



Εικόνα 5.26: Φάσματα απορρόφησης της ποικιλίας Λιάτικο στο ορατό 400-700nm.

Με σκοπό την εξάλειψη τυχαίων ή συστηματικών σφαλμάτων, τα οποία επηρεάζουν την τιμή της απορρόφησης επιλέχθηκε η προ-επεξεργασία των φασματοσκοπικών δεδομένων για την ποικιλία Λιάτικο με τη παραγωγή τους (1^{ου} βαθμού), τη μέθοδο SNV και τη μέθοδο mean center.

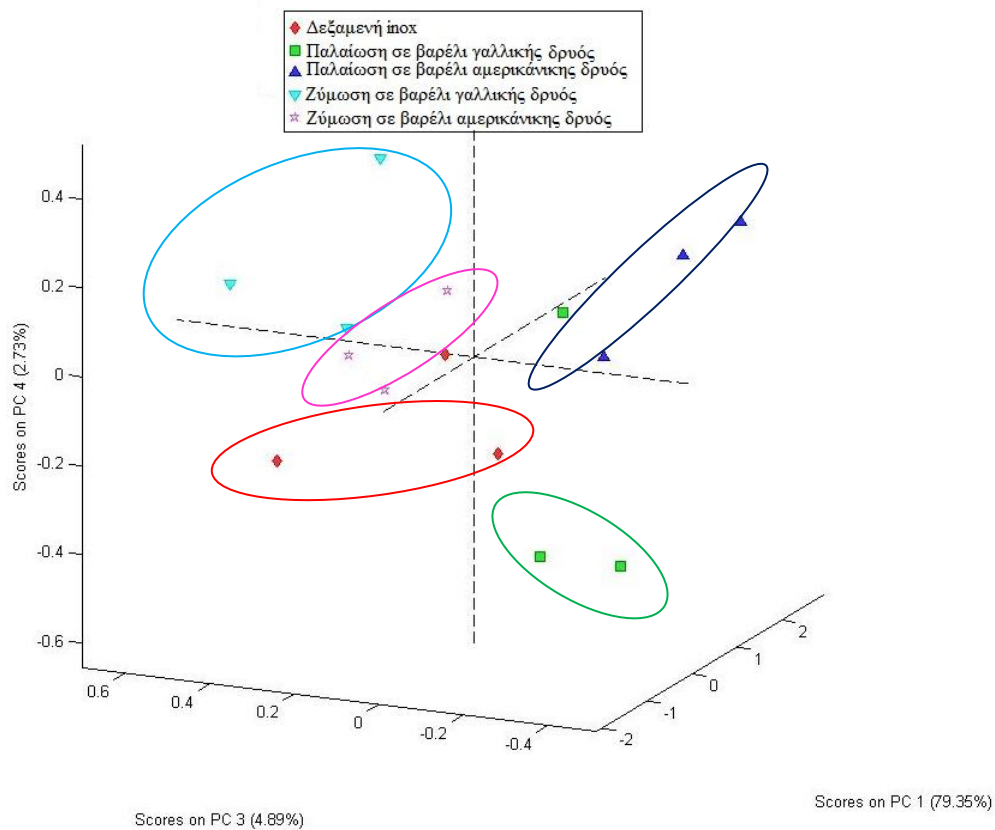
Για την ποικιλία Κοτσιφάλι προβάλλεται το σύνολο των φασμάτων απορρόφησης στην περιοχή 400-700nm (εικόνα 5.27). Μελετήθηκαν τρεις διαφορετικοί τρόποι ωρίμανσης: δεξαμενή Ιnox, δεξαμενή inox με ρινίσματα δρυός και βαρέλι γαλλικής δρυός. Με σκοπό την εξάλειψη τυχαίων ή συστηματικών σφαλμάτων, τα οποία επηρεάζουν την τιμή της απορρόφησης επιλέχθηκε η προ-επεξεργασία των φασματοσκοπικών δεδομένων για την ποικιλία Κοτσιφάλι με τη παραγωγή τους (1^{ου} βαθμού), τη μέθοδο SNV και τη μέθοδο mean center.



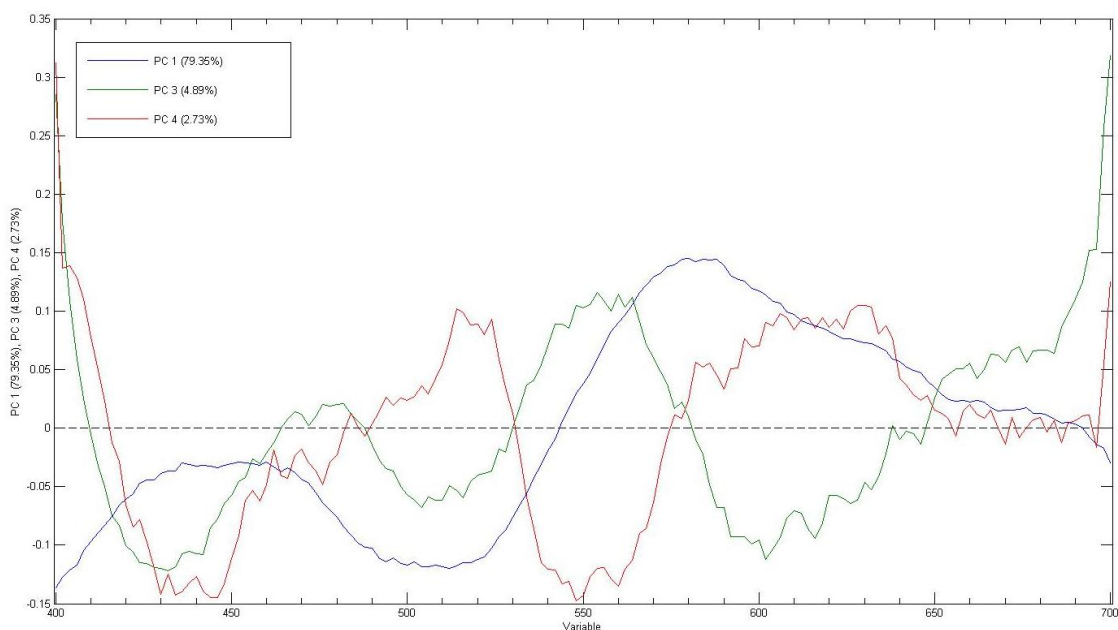
Εικόνα 5.27: Φάσματα απορρόφησης της ποικιλίας Κοτσιφάλι στο ορατό 400-700nm.

Ανάλυση Κύριων Συνιστωσών (PCA)

Για τη διερευνητική μελέτη των φασματοσκοπικών δεδομένων χρησιμοποιήθηκε η ανάλυση κύριων συνιστωσών (PCA). Οι τρεις πρώτες κύριες συνιστώσες ερμηνεύουν το 86,97% της διακύμανσης των φασματοσκοπικών δεδομένων για την ποικιλία Λιάτικο. Η προβολή των δειγμάτων σε αυτές τις κύριες συνιστώσες (εικόνα 5.28) δείχνει έναν καλό διαχωρισμό.



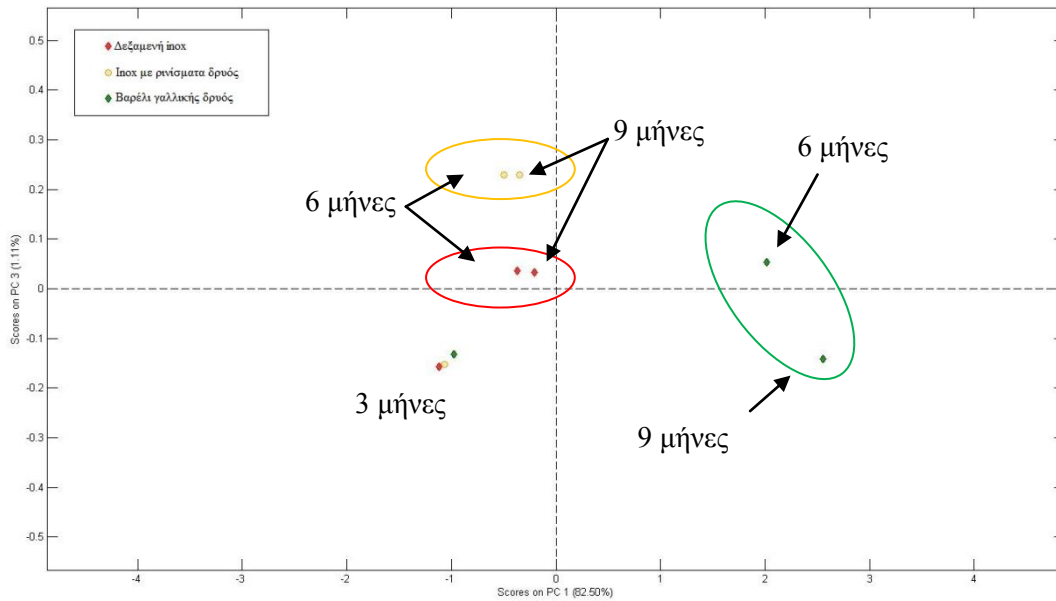
Εικόνα 5.28: Διερευνητική μελέτη με την ανάλυση κύριων συνιστωσών. Τριδιάστατο score plot για την ποικιλία Λιάτικο και τους διαφορετικούς τρόπους ωρίμανσης



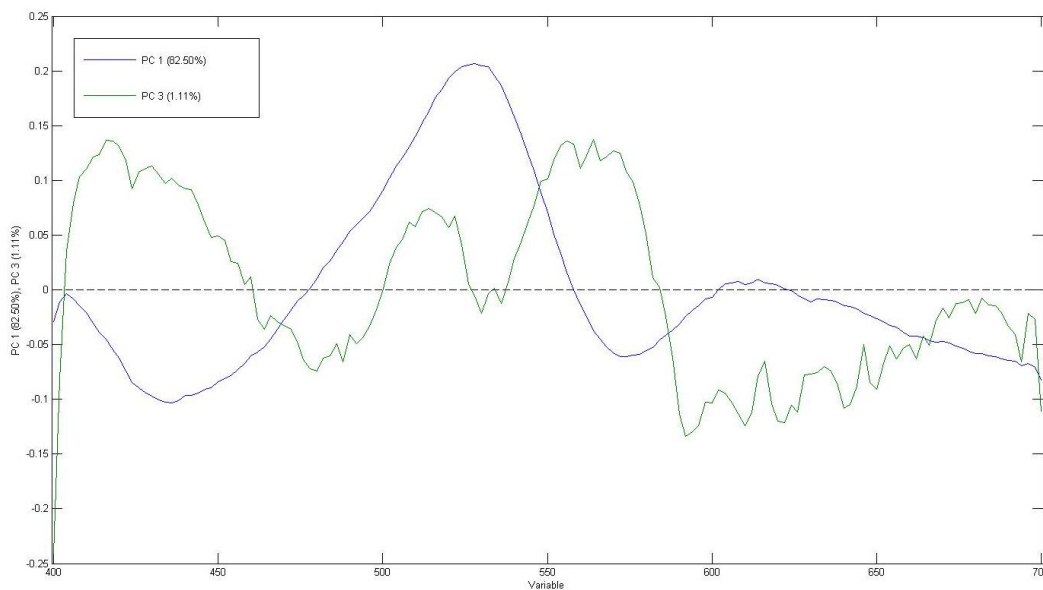
Εικόνα 5.29: Διερευνητική μελέτη με την ανάλυση κύριων συνιστωσών. Loading plot στις τρεις πρώτες κύριες συνιστώσες για τους διαφορετικούς τρόπους ωρίμανσης

Για τη διερευνητική μελέτη των φασματοσκοπικών δεδομένων της ποικιλίας Κοτσιφάλι χρησιμοποιήθηκε η ανάλυση κύριων συνιστωσών (PCA). Οι τρεις πρώτες κύριες συνιστώσες

ερμηνεύουν το 83,61% της διακύμανσης των φασματοσκοπικών δεδομένων. Η προβολή των δειγμάτων σε αυτές τις κύριες συνιστώσες (εικόνα 5.30) δείχνει έναν ικανοποιητικό διαχωρισμό.



Εικόνα 5.30: Διερευνητική μελέτη με την ανάλυση κύριων συνιστωσών. Score plot στην πρώτη και στην τρίτη κύρια συνιστώσα για την ποικιλία Κοτσιφάλι και τους διαφορετικούς τρόπους ωρίμανσης



Εικόνα 5.31: Διερευνητική μελέτη με την ανάλυση κύριων συνιστωσών. Loading plot στην πρώτη και στην τρίτη κύρια συνιστώσα για τους διαφορετικούς τρόπους ωρίμανσης

Από τη συνδυαστική αξιολόγηση των score plots, των loading plots και των αρχικών φασμάτων απορρόφησης, συνάγονται τα ακόλουθα:

1) για την ποικιλία Κοτσιφάλι είναι εμφανείς οι διαφοροποιήσεις στα φάσματα δειγμάτων που ωρίμασαν σε δεξαμενή inox και σε φάσματα δειγμάτων τα οποία ωρίμασαν σε βαρέλι γαλλικής δρυός

2) για την ποικιλία Λιάτικο παρατηρείται επικάλυψη μεταξύ των φασμάτων

3) η φασματοσκοπία απορρόφησης στο ορατό τμήμα του ηλεκτρομαγνητικού φάσματος είναι ικανή να διαχωρίσει δείγματα των ποικιλιών Κοτσιφάλι και Λιάτικο προερχόμενα από διαφορετικούς περιέκτες

4) για την ποικιλία Λιάτικο, η τρίτη κύρια συνιστώσα συνδέεται με την απορρόφηση στο εύρος γύρω στα 425 και 550nm και είναι υπεύθυνη για τον διαχωρισμό των δειγμάτων τα οποία ζυμώθηκαν σε βαρέλι γαλλικής δρυός με τα δείγματα τα οποία ζυμώθηκαν σε δεξαμενή inox.

5) στην ποικιλία Κοτσιφάλι παρατηρείται ένας ικανοποιητικός διαχωρισμός για τα δείγματα των 6 και 9 μηνών ωρίμανσης με βάση τον τρόπο ωρίμανσης. Αντίθετα ο τρόπος ωρίμανσης των δειγμάτων δεν έχει επηρεάσει τα δείγματα των 3 μηνών καθώς δεν παρατηρείται καθόλου διαχωρισμός

6) για την ποικιλία Κοτσιφάλι η πρώτη κύρια συνιστώσα συνδέεται με την απορρόφηση στο εύρος γύρω στα 450 και 550nm και είναι υπεύθυνη για το διαχωρισμό των δειγμάτων που ωρίμασαν σε δεξαμενή inox και των δειγμάτων που ωρίμασαν σε βαρέλι γαλλικής δρυός. Η τρίτη κύρια συνιστώσα συνδέεται με την απορρόφηση στο εύρος γύρω στα 420 και 560nm και είναι υπεύθυνη για το διαχωρισμό των δειγμάτων τα οποία ωρίμασαν σε δεξαμενή inox με τα δείγματα τα οποία ωρίμασαν σε δεξαμενή inox με ρινίσματα δρυός.

Συμπεραίνοντας, η φασματοσκοπία απορρόφησης υπεριώδους είναι μια τεχνική ικανή να διαχωρίσει δείγματα κρασιού (Λιάτικο, Κοτσιφάλι) με βάση τον τρόπο ωρίμανσης. Το ποσοστό επιτυχίας είναι 66,66% και ο διαχωρισμός οφείλεται σε μεταβολές στο φαινολικό δυναμικό κατά την επαφή του κρασιού με το ξύλο. Η φασματοσκοπία απορρόφησης ορατού είναι μια τεχνική ικανή να διαχωρίσει δείγματα κόκκινου κρασιού (Λιάτικο, Κοτσιφάλι) με βάση τον τρόπο ωρίμανσης. Ο διαχωρισμός οφείλεται σε μεταβολές στη σύσταση των ανθοκυανινών κατά την επαφή του κρασιού με το ξύλο. Η φασματοσκοπία απορρόφησης εγγύς υπερύθρου είναι μια τεχνική μη ικανή να διαχωρίσει δείγματα κρασιού με βάση τον τρόπο ωρίμανσης. Τέλος η φασματοσκοπία φθορισμού είναι μια τεχνική μη ικανή να διαχωρίσει δείγματα κρασιού με βάση τον τρόπο ωρίμανσης.

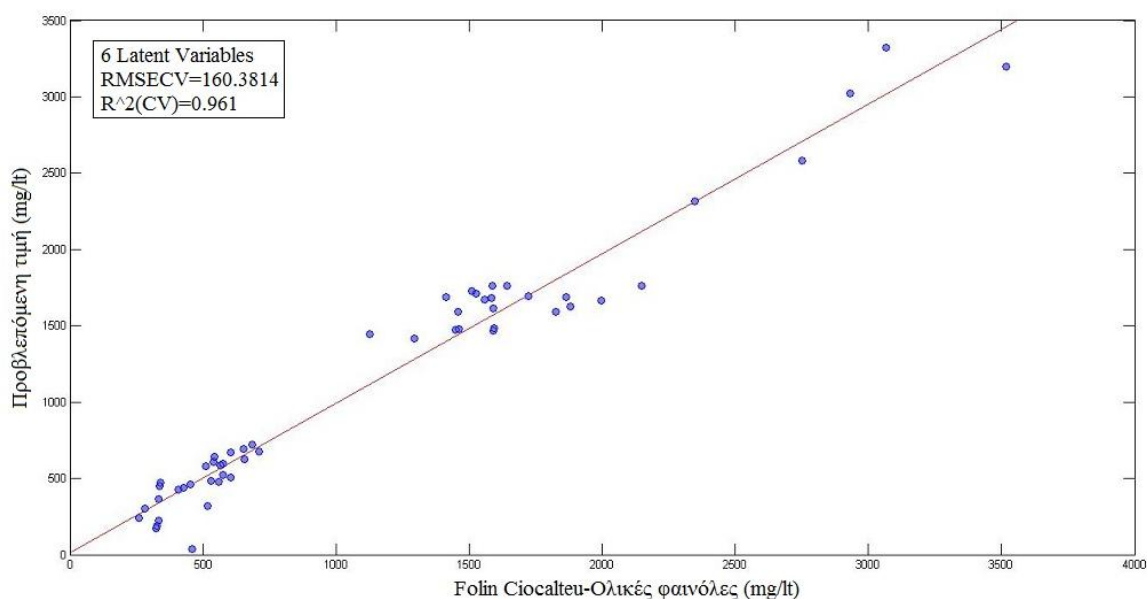
5.4 Συσχέτιση Φασματοσκοπίας Απορρόφησης με Άλλες Μεθόδους

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 βιβλιογραφία εντοπίζονται επιστημονικές εργασίες οι οποίες χρησιμοποιούν φάσματα απορρόφησης υπεριώδους και ορατού σε συνδυασμό με την τεχνική μερικών ελαχίστων τετραγώνων επιτυγχάνοντας πρόβλεψη της συγκέντρωσης των ταννινών, ανθοκυανινών και ολικών φαινολών σε κόκκινα κρασιά [20,21]. Ακόμα έχουν χρησιμοποιηθεί φάσματα απορρόφησης εγγύς υπερύθρου σε συνδυασμό με την τεχνική μερικών ελαχίστων τετραγώνων επιτυγχάνοντας πρόβλεψη της συγκέντρωσης των ανθοκυανινών σε κόκκινα κρασιά [22].

5.4.1 Συσχέτιση Φασματοσκοπίας Απορρόφησης Υπεριώδους με τη Συγκέντρωση των Φαινολικών Συστατικών

Σε αυτή την ενότητα παρουσιάζονται τα αποτελέσματα της μελέτης σχετικά με την ικανότητα της φασματοσκοπίας απορρόφησης υπεριώδους 220-400nm όσον αφορά στην πρόβλεψη της φαινολικής σύστασης του κρασιού. Ως μέθοδος αναφοράς χρησιμοποιήθηκε η μέθοδος Folin-Ciocalteu η οποία παρέχει δεδομένα για τη συνολική φαινολική σύσταση του κρασιού. Η μέθοδος βασίζεται στην οξείδωση των φαινολικών συστατικών από το αντιδραστήριο Folin-Ciocalteu που είναι μίγμα φωσφο-μολυβδαινικού ($H_3PMO_{12}O_{40}$) και φωσφο-βολφραμικού οξέος ($H_3PW_{12}O_{40}$) [23]. Στη συνέχεια μετράται η τιμή της απορρόφησης στα 750nm η οποία είναι ανάλογη της συγκέντρωσης του συνόλου των φαινολικών ουσιών. Η εφαρμογή της μεθόδου Folin-Ciocalteu πραγματοποιήθηκε από την επιστημονική ομάδα του Εργαστηρίου Παραγωγής Γεωργικών Προϊόντων και Πολλαπλασιαστικού Υλικού-Τμήματος Γεωπονίας του Ελληνικού Μεσογειακού Πανεπιστημίου (ΕΛΜΕΠΑ), στο πλαίσιο του ερευνητικού προγράμματος «Οινοφάσμα». Η απορρόφηση του κρασιού στο υπεριώδες τμήμα του ηλεκτρομαγνητικού φάσματος συνδέεται άμεσα με τα φαινολικά συστατικά. Επομένως αναμένεται ισχυρή συσχέτιση των φασματικών χαρακτηριστικών του κρασιού στο υπεριώδες με τη φαινολική του σύσταση.

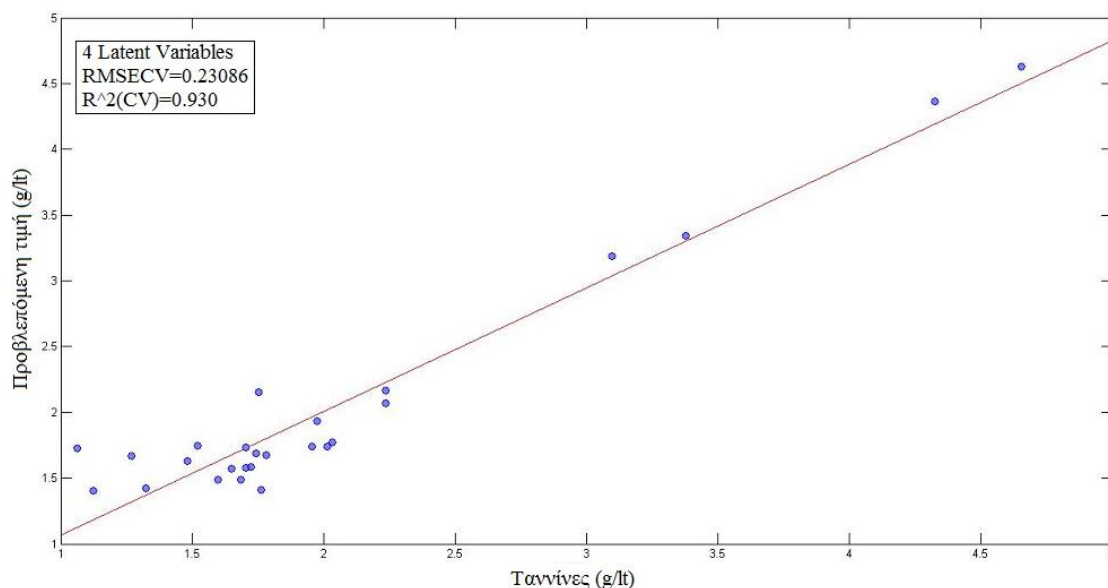


Εικόνα 5.32: Σύγκριση της προβλεπόμενης τιμής η οποία προκύπτει από τη φασματοσκοπία υπεριώδους με την αντίστοιχη τιμή από τη μέθοδο Folin Ciocalteu

Στην **εικόνα 5.32** απεικονίζεται η ικανότητα του μοντέλου πρόβλεψης για τις πέντε μελετώμενες ποικιλίες. Σε αυτή την περίπτωση το μοντέλο είναι αξιόπιστο όμως πρέπει να σημειωθεί ότι το ευρύ φάσμα μελέτης ενισχύει το συντελεστή συσχέτισης μεταξύ εξαρτημένων και ανεξάρτητων μεταβλητών και αντίστοιχα την προβλεπτική ικανότητα του μαθηματικού μοντέλου.

5.4.2 Συσχέτιση Φασματοσκοπίας Απορρόφησης Υπεριώδους με τη Συγκέντρωση των Ταννινών

Σε αυτή την ενότητα παρουσιάζονται τα αποτελέσματα της μελέτης σχετικά με την ικανότητα της φασματοσκοπίας απορρόφησης υπεριώδους 220-400nm όσον αφορά στην πρόβλεψη της σύστασης του κρασιού σε ταννίνες. Ως μέθοδος αναφοράς χρησιμοποιήθηκε η μέθοδος Ribereau-Gayon & Stonestreet. Τα δείγματα θερμαίνονται σε όξινο περιβάλλον (HCl) προκαλώντας τη διάσπαση των ταννινών σε κυανιδίνη και στη συνέχεια μετράται η απορρόφηση στα 550nm [24]. Η εφαρμογή της μεθόδου πραγματοποιήθηκε από την επιστημονική ομάδα του Εργαστηρίου Παραγωγής Γεωργικών Προϊόντων και Πολλαπλασιαστικού Υλικού-Τμήματος Γεωπονίας του Ελληνικού Μεσογειακού Πανεπιστημίου (ΕΛΜΕΠΑ), στο πλαίσιο του ερευνητικού προγράμματος «Οινοφάσμα». Η απορρόφηση του κρασιού στο υπεριώδες τμήμα του ηλεκτρομαγνητικού φάσματος συνδέεται άμεσα με τις ταννίνες. Επομένως αναμένεται ισχυρή συσχέτιση των φασματικών χαρακτηριστικών του κρασιού στο υπεριώδες με τη συγκέντρωση των ταννινών.



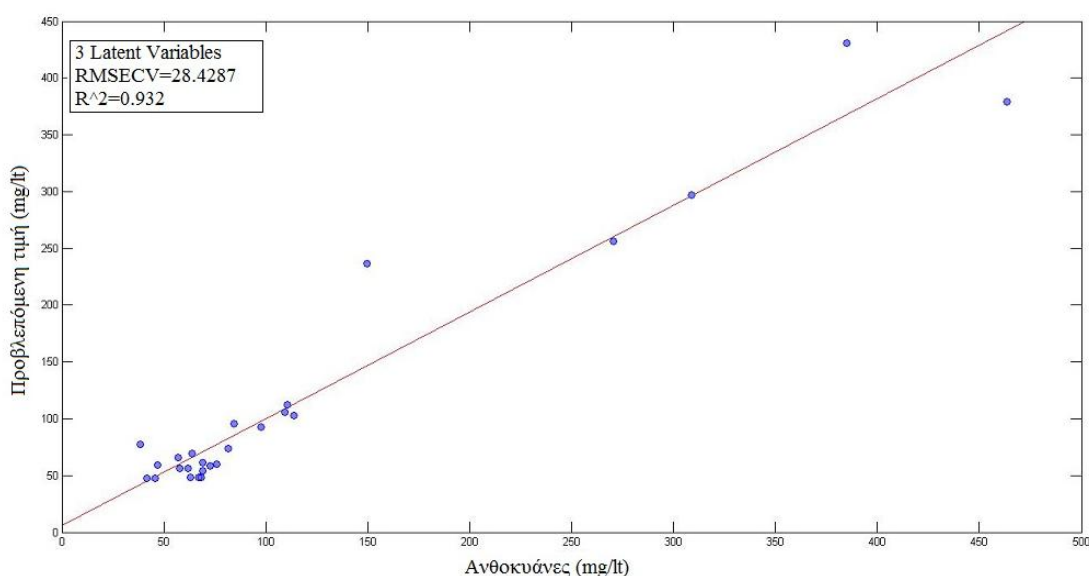
Εικόνα 5.33: Σύγκριση της προβλεπόμενης τιμής η οποία προκύπτει από τη φασματοσκοπία υπεριώδους με την αντίστοιχη τιμή από τη μέθοδο Ribereau-Gayon & Stonestreet

Στην **εικόνα 5.33** απεικονίζεται η ικανότητα του μοντέλου πρόβλεψης για τις τρεις κόκκινες μελετώμενες ποικιλίες. Σε αυτή την περίπτωση το μοντέλο είναι αξιόπιστο όμως πρέπει να σημειωθεί ότι το ευρύ φάσμα μελέτης ενισχύει το συντελεστή συσχέτισης μεταξύ

εξαρτημένων και ανεξάρτητων μεταβλητών και αντίστοιχα την προβλεπτική ικανότητα του μαθηματικού μοντέλου.

5.4.3 Συσχέτιση Φασματοσκοπίας Απορρόφησης Ορατού με τη Συγκέντρωση των Ανθοκυανινών

Σε αυτή την ενότητα παρουσιάζονται τα αποτελέσματα της μελέτης σχετικά με την ικανότητα της φασματοσκοπίας απορρόφησης ορατού 400-700nm όσον αφορά στην πρόβλεψη της σύστασης του κρασιού σε ανθοκυανίνες. Ως μέθοδος αναφοράς χρησιμοποιήθηκε η μέθοδος Somers. Η μέθοδος βασίζεται στη μέτρηση της απορρόφησης στα 520nm μετά από αραίωση των δειγμάτων με πυκνό υδροχλωρικό οξύ HCl 1M και προσθήκη SO₂ [25]. Η εφαρμογή της μεθόδου πραγματοποιήθηκε από την επιστημονική ομάδα του Εργαστηρίου Παραγωγής Γεωργικών Προϊόντων και Πολλαπλασιαστικού Υλικού-Τμήματος Γεωπονίας του Ελληνικού Μεσογειακού Πανεπιστημίου (ΕΛΜΕΠΙΑ), στο πλαίσιο του ερευνητικού προγράμματος «Οινοφάσμα». Η απορρόφηση του κρασιού στο ορατό τμήμα του ηλεκτρομαγνητικού φάσματος συνδέεται άμεσα με τις ανθοκυανίνες. Επομένως αναμένεται ισχυρή συσχέτιση των φασματικών χαρακτηριστικών του κρασιού στο υπεριώδες με τη συγκέντρωση των ανθοκυανινών.



Εικόνα 5.34: Σύγκριση της προβλεπόμενης τιμής η οποία προκύπτει από τη φασματοσκοπία υπεριώδους με την αντίστοιχη τιμή από τη μέθοδο Somers

Στην **εικόνα 5.34** απεικονίζεται η ικανότητα του μοντέλου πρόβλεψης για τις τρεις κόκκινες μελετώμενες ποικιλίες. Σε αυτή την περίπτωση το μοντέλο είναι αξιόπιστο όμως πρέπει να σημειωθεί ότι το ευρύ φάσμα μελέτης ενισχύει το συντελεστή συσχέτισης μεταξύ εξαρτημένων και ανεξάρτητων μεταβλητών και αντίστοιχα την προβλεπτική ικανότητα του μαθηματικού μοντέλου.

Από τη συσχέτιση της φαινολικής σύστασης και της σύστασης του κρασιού σε ταννίνες με τα φασματοσκοπικά δεδομένα στο υπεριώδες προκύπτουν εξαιρετικά μοντέλα πρόβλεψης. Τέλος από τη συσχέτιση της σύστασης του κρασιού σε ανθοκυανίνες με τα φασματοσκοπικά δεδομένα στο ορατό προκύπτει ένα εξαιρετικό μοντέλο πρόβλεψης.

Βιβλιογραφία

1. Philippidis A. *et al.* Characterization of Greek Wines by Ultraviolet Visible Absorption Spectroscopy and Statistical Multivariate Methods. *Analytical Letters* 2017, 50, 1950–1963.
2. Cozzolino D. *et al.* Feasibility study on the use of visible and near-infrared spectroscopy together with chemometrics to discriminate between commercial white wines of different varietal origins. *J. Agric. Food Chem*, 2003, 51, 7703-7708.
3. Yu J. *et al.* Identification of Wine According to Grape Variety Using Near-Infrared Spectroscopy Based on Radial Basis Function Neural Networks and Least-Squares Support Vector Machines. *Food Analytical Methods*, 2017, 10, 3306-3311.
4. Urickova V. *et al.* Determination of geographical origin of alcoholic beverages using ultraviolet, visible and infrared spectroscopy: a review. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 2015, 148, 131-137.
5. Sanna R. *et al.* Multivariate Statistical Analysis of the UV-Vis Profiles of Wine Polyphenolic Extracts during Vinification. *Journal of Agricultural Science*, 2014, 6, 152-154.
6. Urbano M. *et al.* Ultraviolet-visible spectroscopy and pattern recognition methods for differentiation and classification of wines. *Food Chemistry*, 2006, 97, 166-175.
7. Anouar E. H. *et al.* UV/Visible spectra of natural Polyphenols: a time-dependent density functional theory study. *Food Chemistry*, 2012, 12, 79-89.
8. He F. *et al.* Anthocyanins and their variation in red wines I. Monomeric anthocyanins and their color expression. *Molecules*, 2012, 17, 1571-1601.
9. 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, 24, 257-264.
10. Dufour E. *et al.* Investigation of variety, typicality and vintage of French and German wines using front-face fluorescence spectroscopy. *Analytica Chimica*, 2006, 563, 292-299.
11. Nikolova K. *et al.* Fluorescence and absorption spectroscopy-fast methods for determining the content of antioxidants and age of Bulgarian wines. *Scripta Scientifica Pharmaceutica*, 2017, 4, 46-54.

12. Urickova V. *et al.* Determination of geographical origin of alcoholic beverages using ultraviolet, visible and infrared spectroscopy: a review. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 2015, 148, 131-137.
13. Sanna R. *et al.* Multivariate Statistical Analysis of the UV-Vis Profiles of Wine Polyphenolic Extracts during Vinification. *Journal of Agricultural Science*, 2014, 6, 152-155.
14. Urbano M. *et al.* Ultraviolet-visible spectroscopy and pattern recognition methods for differentiation and classification of wines. *Food Chemistry*, 2006, 97, 166-175.
15. Anouar E. H. *et al.* UV/Visible spectra of natural Polyphenols: a time-dependent density functional theory study. *Food Chemistry*, 2012, 12, 79-89.
16. He F. *et al.* Anthocyanins and their variation in red wines I. Monomeric anthocyanins and their color expression. *Molecules*, 2012, 17, 1571-1601.
17. Cozzolino D. *et al.* Feasibility study on the use of visible and near-infrared spectroscopy together with chemometrics to discriminate between commercial white wines of different varietal origins. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 2003, 51, 7703-7708.
18. 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, 24, 257-264.
19. Dufour E. *et al.* Investigation of variety, typicality and vintage of French and German wines using front-face fluorescence spectroscopy. *Analytica Chimica*, 2006, 563, 292-299.
20. Tudo A. *et al.* Robust Ultraviolet–Visible (UV–Vis) Partial Least-Squares (PLS) Models for Tannin Quantification in Red Wine. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2015, 63, 1088-1098.
21. Alexandre-Tudo J.L. *et al.* Phenolic profiling of grapes, fermenting samples and wines with UV-Visible spectroscopy with chemometrics. *Food Control*, 2018, 85, 11-22.

22. Cozzolino D. *et al.* Prediction of phenolic compounds in red wine fermentations by visible and near infrared spectroscopy. *Analytica Chimica Acta*, 2004, 513, 73-80.
23. Waterhouse A.L. *et al.* Determination of total phenolics. *Current Protocols in Food Analytical Chemistry*, John Wiley & Sons, 2002
24. Mercurio M.D. *et al.* High throughput analysis of red wine and grape phenolics- Adaptation and validation of methyl cellulose precipitable tannin assay and modified somers color assay to a rapid 96 well plate format. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2007, 55, 4651-4657.
25. Ribereau-Gayon P. *et al.* Le dosage des anthocyanes dans le vin rouge. *Bull. Soc. Chim. Fr.* , 1965, 9, 2649-2652

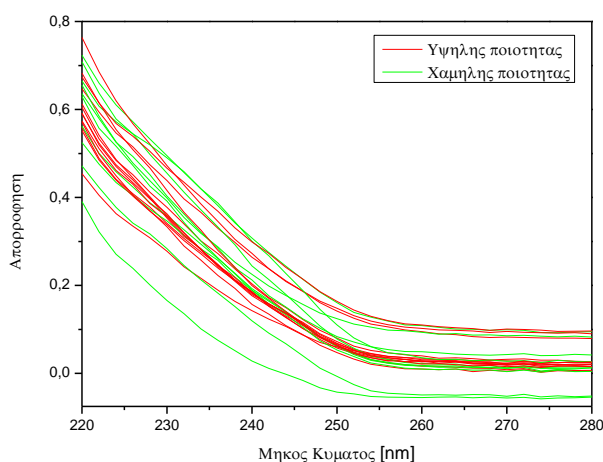
6. Αποτελέσματα Ελαιολάδου

6.1 Διάκριση Ποιότητας Ελαιολάδου

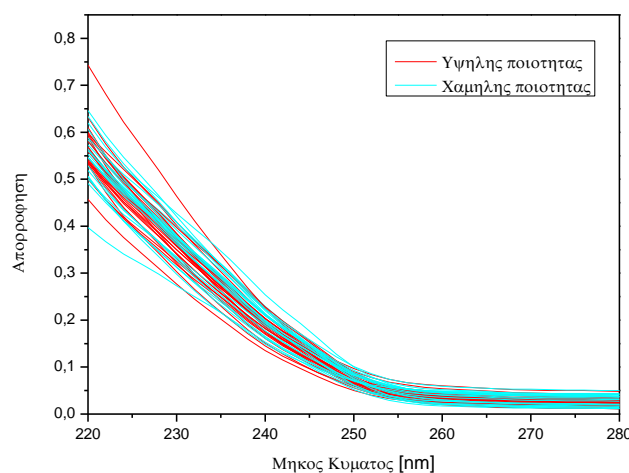
Σε συνεργασία με το Εργαστήριο Οργανοληπτικής Αξιολόγησης Ελαιολάδου του Α.Σ. Ρεθύμνου λήφθηκαν 24 δείγματα εξαιρετικά παρθένου ελαιολάδου από τον 4^ο Παγκρήτιο Διαγωνισμό Ελαιολάδου (2018) και 74 δείγματα εξαιρετικά παρθένου ελαιολάδου από τον 5^ο Παγκρήτιο Διαγωνισμό Ελαιολάδου (2019), τα οποία είχαν βαθμολογηθεί από εκπαιδευμένη ομάδα δοκιμαστών, χρησιμοποιώντας τις ανθρώπινες αισθήσεις. Από τα 24 δείγματα του 4^{ου} διαγωνισμού, 13 δείγματα χαρακτηρίστηκαν ως υψηλής ποιότητας (βαθμολογία από 95 έως 85), 1 δείγμα χαρακτηρίστηκε ως μέτριας ποιότητας (βαθμολογία από 85 έως 75) και 10 δείγματα χαρακτηρίστηκαν ως χαμηλής ποιότητας (βαθμολογία από 75 έως 65). Από τον 5^ο διαγωνισμό λήφθηκαν 22 βιολογικά δείγματα από τα οποία 7 δείγματα χαρακτηρίστηκαν ως υψηλής ποιότητας (βαθμολογία από 95 έως 85), 9 δείγματα χαρακτηρίστηκαν ως μέτριας ποιότητας (βαθμολογία από 85 έως 75), 6 δείγματα χαρακτηρίστηκαν ως χαμηλής ποιότητας (βαθμολογία από 75 έως 65) και 52 συμβατικά δείγματα από τα οποία 20 δείγματα χαρακτηρίστηκαν ως υψηλής ποιότητα, 14 δείγματα χαρακτηρίστηκαν ως μέτριας ποιότητα, 18 δείγματα χαρακτηρίστηκαν ως χαμηλής ποιότητας. Όλα τα δείγματα εξετάστηκαν φασματοσκοπικά και στη συνέχεια έγινε η στατιστική τους ανάλυση.

6.1.1 Φασματοσκοπία Απορρόφησης Υπεριώδους

Αρχικά προβάλλεται το σύνολο των φασμάτων απορρόφησης (220-280nm) με σκοπό τον εντοπισμό ομοιοτήτων και διαφορών μεταξύ τους. Η εικόνα είναι παρόμοια για τα ελαιόλαδα του 2018 (εικόνα 6.1α) και 2019(εικόνα 6.1β).



α)



β)

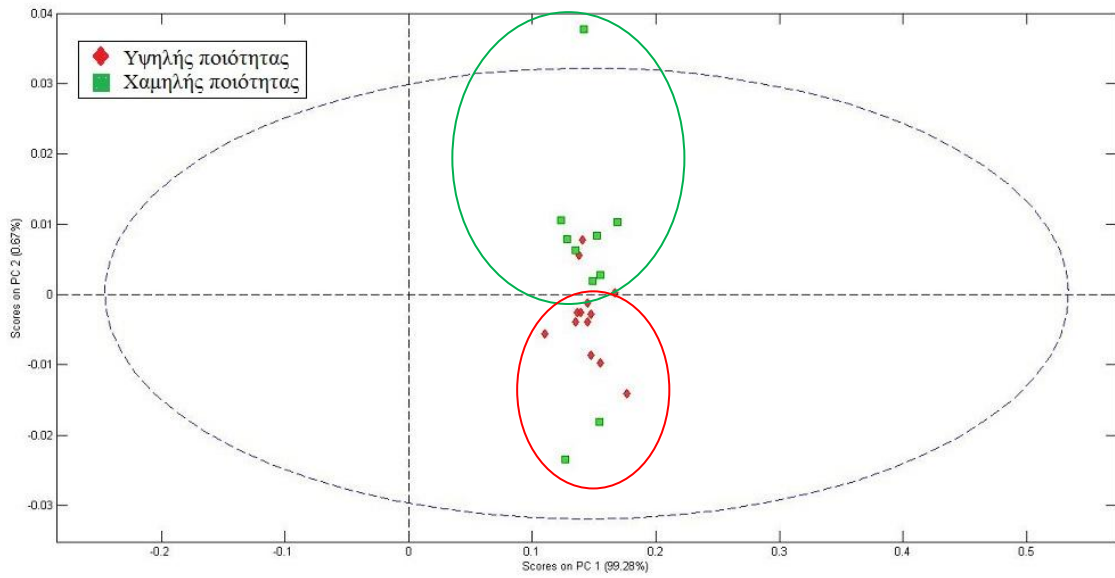
Εικόνα 6.1: Φάσματα απορρόφησης στο υπεριώδες 220-280nm

α) ελαιόλαδα 2018 β) ελαιόλαδα 2019

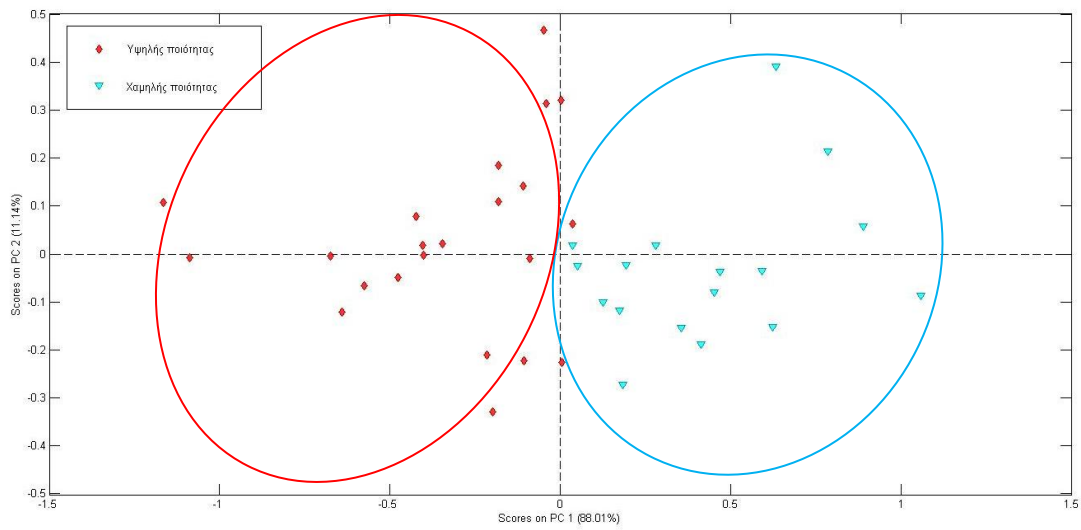
Η απορρόφηση γύρω στα 220-245 nm οφείλεται στις ολικές φαινόλες και συνδέεται με την πικράδα του ελαιολάδου [1]. Με σκοπό την εξάλειψη τυχαίων ή συστηματικών σφαλμάτων, τα οποία επηρεάζουν την τιμή της απορρόφησης επιλέχθηκε η προ-επεξεργασία των φασματοσκοπικών δεδομένων με την παραγωγή τους (1^{ου} βαθμού) για τα δείγματα του 2018. Για τα δείγματα του 2019 επιλέχθηκε η μέθοδος SNV και η μέθοδος mean center.

Ανάλυση Κύριων Συνιστωσών (PCA)

Για τη διερευνητική μελέτη των φασματοσκοπικών δεδομένων χρησιμοποιήθηκε η ανάλυση κύριων συνιστωσών (PCA). Οι δύο πρώτες κύριες συνιστώσες ερμηνεύουν το 99,95% της διακύμανσης των φασματοσκοπικών δεδομένων. Η προβολή των δειγμάτων σε αυτές τις κύριες συνιστώσες (εικόνα 6.2α) δείχνει έναν ικανοποιητικό διαχωρισμό για τα δείγματα του 2018. Οι τρεις πρώτες κύριες συνιστώσες ερμηνεύουν το 99,70% της διακύμανσης των φασματοσκοπικών δεδομένων. Η προβολή των δειγμάτων σε αυτές τις κύριες συνιστώσες (εικόνα 6.2β) δείχνει έναν ικανοποιητικό διαχωρισμό για τα δείγματα του 2019.

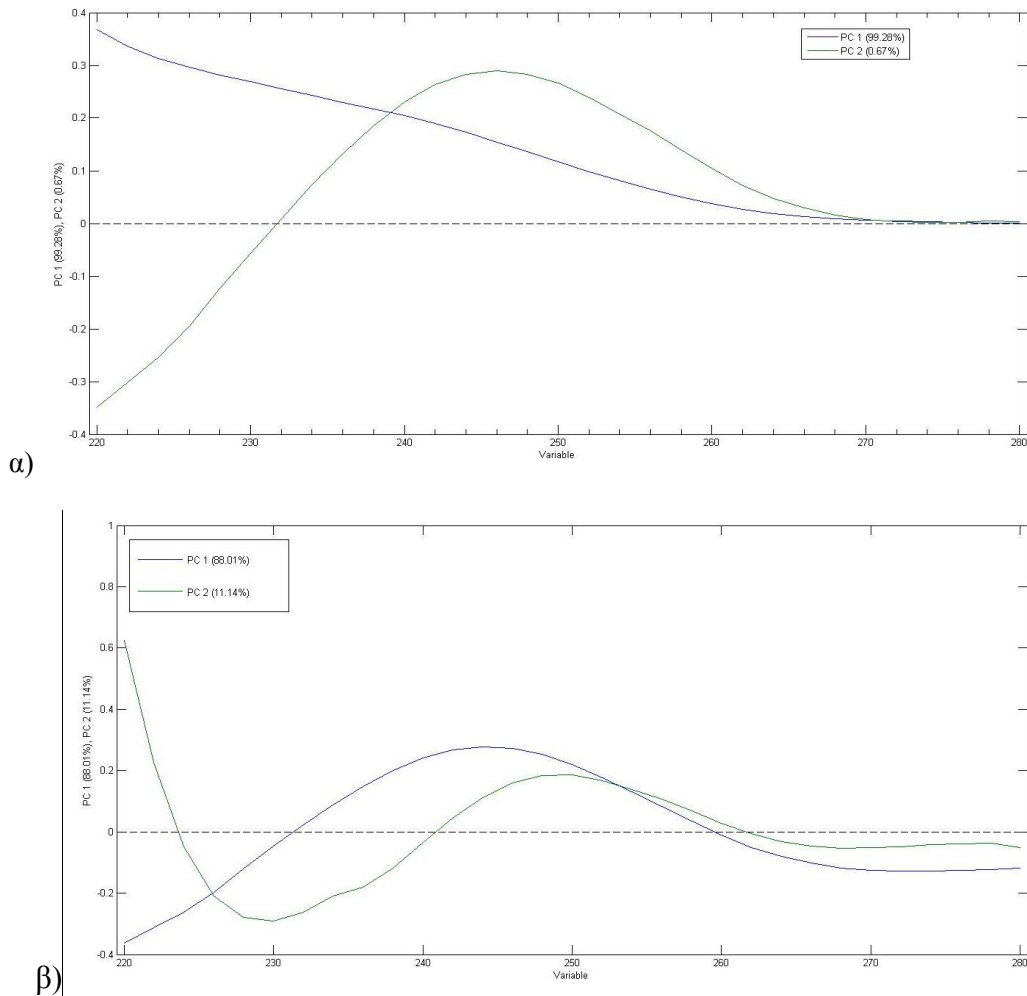


α)



β)

Εικόνα 6.2: Διερευνητική μελέτη με την ανάλυση κύριων συνιστωσών α) score plot για ελαιόλαδα του 2018 β) score plot για ελαιόλαδα του 2019



Εικόνα 6.3: Διερευνητική μελέτη με την ανάλυση κύριων συνιστωσών. α) Loading plot στις δύο πρώτες κύριες συνιστώσες για ελαιόλαδα του 2018 β) Loading plot στις τρεις πρώτες κύριες συνιστώσες για ελαιόλαδα του 2019

Από τη συνδυαστική αξιολόγηση των score plots, των loading plots και των αρχικών φασμάτων απορρόφησης, συνάγονται τα ακόλουθα:

- 1) για τα δείγματα του 2018 είναι εμφανείς οι διαφοροποιήσεις μεταξύ των φασμάτων με μια πτωτική τάση της τιμής της απορρόφησης σε φάσματα δειγμάτων χαμηλής ποιότητας
- 2) παρατηρείται επικάλυψη μεταξύ των φασμάτων για τα ελαιόλαδα υψηλής και χαμηλής ποιότητας του 2019
- 3) για τα δείγματα του 2018 η δεύτερη κύρια συνιστώσα συνδέεται με την απορρόφηση γύρω στα 245nm και είναι υπεύθυνη για το διαχωρισμό των δειγμάτων υψηλής και χαμηλής ποιότητας

4) για τα δείγματα του 2019 η πρώτη κύρια συνιστώσα συνδέεται με την απορρόφηση γύρω στα 245nm και είναι υπεύθυνη για το διαχωρισμό των δειγμάτων υψηλής και χαμηλής ποιότητας.

Ανάλυση Διακριτότητας Μερικών Ελαχίστων Τετραγώνων (PLS-DA)

Για την επιβεβαίωση της ικανότητας της φασματοσκοπίας υπεριώδους ως προς τη διάκριση της ποιότητας του ελαιολάδου, χρησιμοποιήθηκε η χημειομετρική μέθοδος της ανάλυσης διακριτότητας μερικών ελαχίστων τετραγώνων.

Πίνακας 6.1: Κατηγοριοποίηση με βάση την ποιότητα του ελαιολάδου (2018)

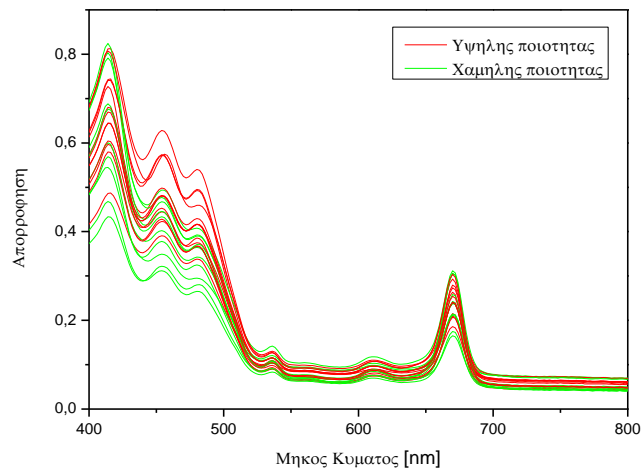
Cross Validation LV=4	Προβλεπόμενη Ομάδα		
	# Δειγμάτων	Υψηλής ποιότητας	Χαμηλής ποιότητας
Υψηλής ποιότητας	13	10	3
Χαμηλής ποιότητας	10	3	7

Πίνακας 6.2: Κατηγοριοποίηση με βάση την ποιότητα του ελαιολάδου (2019)

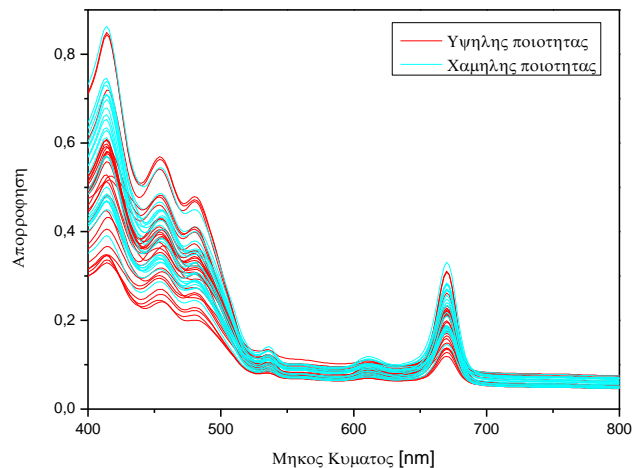
Cross Validation LV=2	Προβλεπόμενη Ομάδα		
	# Δειγμάτων	Υψηλής ποιότητας	Χαμηλής ποιότητας
Υψηλής ποιότητας	24	17	7
Χαμηλής ποιότητας	22	5	17

6.1.2 Φασματοσκοπία Απορρόφησης Ορατού

Αρχικά προβάλλεται το σύνολο των φασμάτων απορρόφησης (400-800nm) με σκοπό τον εντοπισμό ομοιοτήτων και διαφορών μεταξύ τους. Η εικόνα είναι παρόμοια για τα ελαιόλαδα του 2018 (εικόνα 6.4α) και 2019(εικόνα 6.4β).



α)



β)

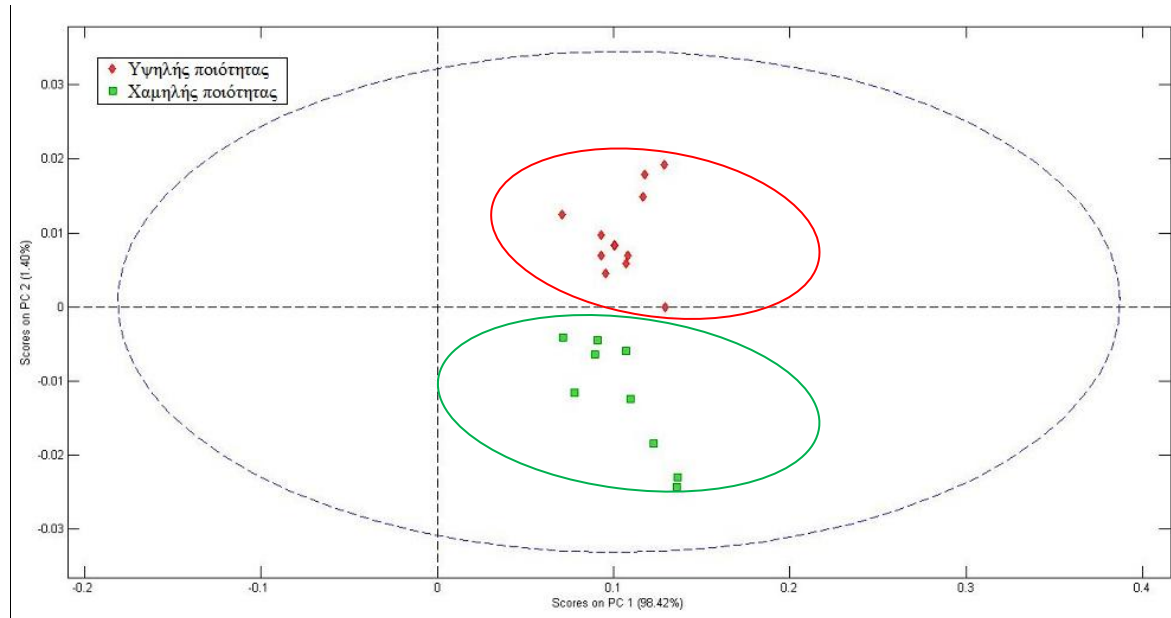
Εικόνα 6.4: Φάσματα απορρόφησης στο ορατό 400-800nm α) ελαιόλαδα 2018 β) ελαιόλαδα 2019

Στην περιοχή 400-800nm εμφανίζονται έξι κορυφές. Οι κορυφές στα 414, 458 και 483nm αντιστοιχούν στα καροτενοειδή. Οι κορυφές στα 530 και 610nm οφείλονται στη χλωροφύλλη και η κορυφή στα 675nm στη φαιοφυτίνη α [2-3]. Με σκοπό την εξάλειψη τυχαίων ή συστηματικών σφαλμάτων, τα οποία επηρεάζουν την τιμή της απορρόφησης επιλέχθηκε η προ-επεξεργασία των φασματοσκοπικών δεδομένων με τη παραγωγή τους (1^{ου} βαθμού) και τη μέθοδο smoothing.

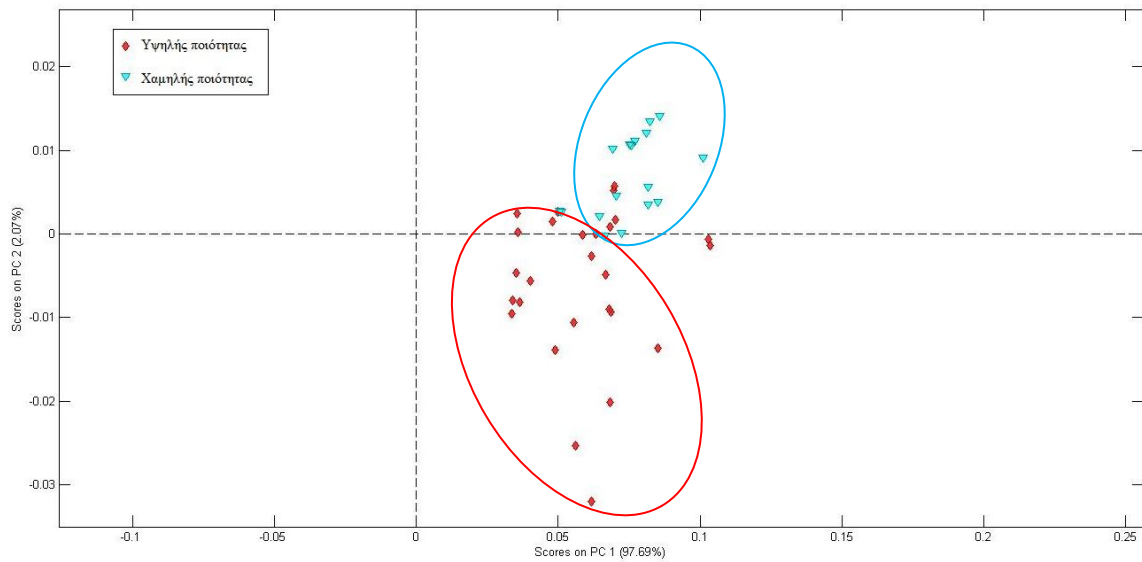
Ανάλυση Κύριων Συνιστωσών (PCA)

Για τη διερευνητική μελέτη των φασματοσκοπικών δεδομένων χρησιμοποιήθηκε η ανάλυση κύριων συνιστωσών (PCA). Οι δύο πρώτες κύριες συνιστώσες ερμηνεύουν το 99,82% της διακύμανσης των φασματοσκοπικών δεδομένων για τα δείγματα του 2018. Η προβολή των δειγμάτων σε αυτές τις κύριες συνιστώσες (εικόνα 6.5α) δείχνει έναν ικανοποιητικό

διαχωρισμό. Οι δύο πρώτες κύριες συνιστώσες ερμηνεύουν το 99,76% της διακύμανσης των φασματοσκοπικών δεδομένων για τα δείγματα του 2019. Η προβολή των δειγμάτων σε αυτές τις κύριες συνιστώσες (εικόνα 6.5β) δείχνει έναν ικανοποιητικό διαχωρισμό.

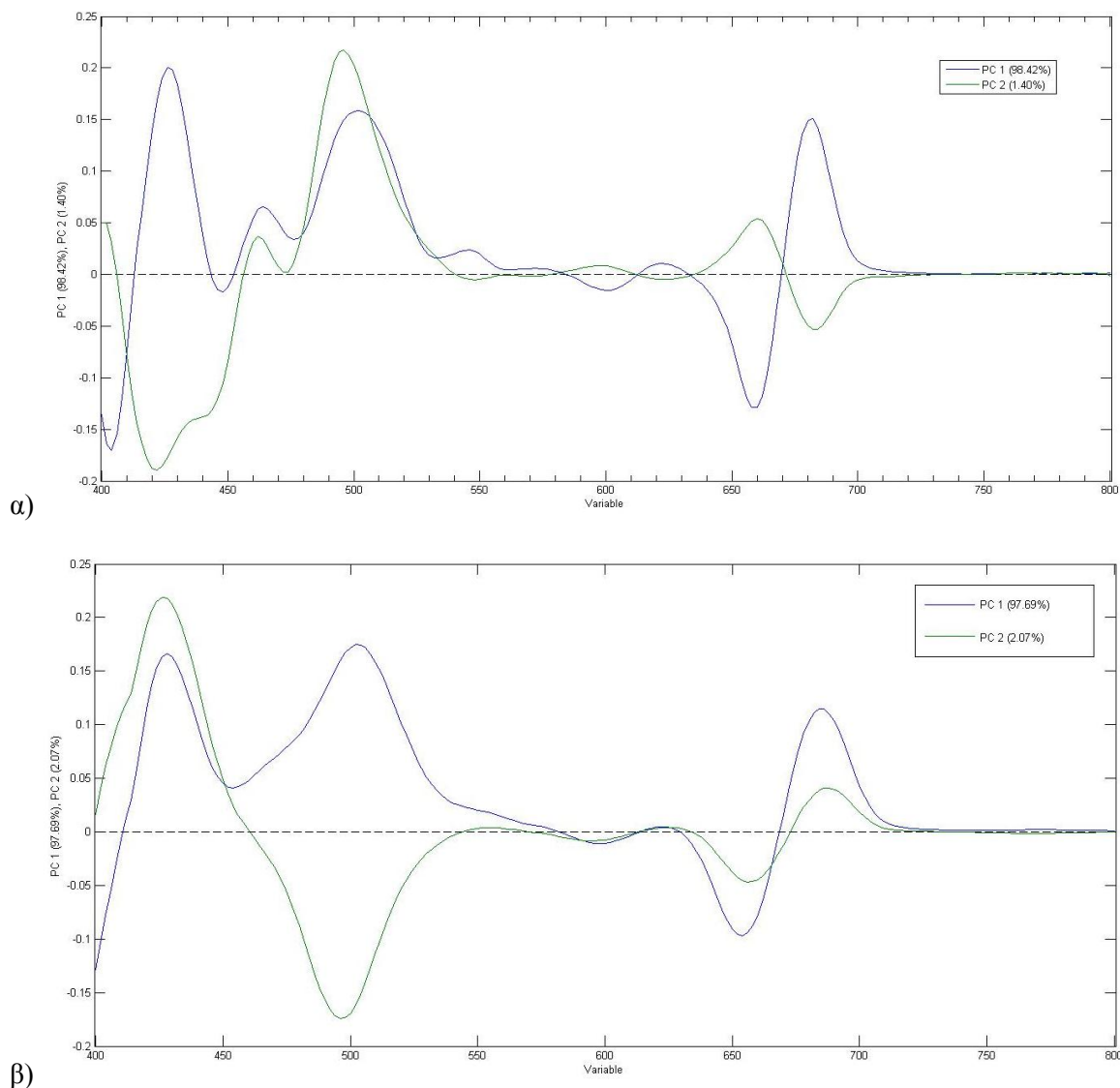


α)



β)

Εικόνα 6.5: Διερευνητική μελέτη με την ανάλυση κύριων συνιστωσών. α) Score plot για ελαιόλαδα του 2018 β) Score plot για ελαιόλαδα του 2019



Εικόνα 6.6: Διερευνητική μελέτη με την ανάλυση κύριων συνιστωσών. Loading plot στις δύο πρώτες κύριες συνιστώσες α) ελαιόλαδα του 2018 β) ελαιόλαδα του 2019

Από τη συνδυαστική αξιολόγηση των score plots, των loading plots και των αρχικών φασμάτων απορρόφησης, συνάγονται τα ακόλουθα:

- 1) για τα δείγματα του 2018 είναι εμφανείς οι διαφοροποιήσεις μεταξύ των φασμάτων με μια πτωτική τάση της τιμής της απορρόφησης σε φάσματα δειγμάτων χαμηλής ποιότητας
- 2) παρατηρείται επικάλυψη μεταξύ των φασμάτων για τα ελαιόλαδα υψηλής και χαμηλής ποιότητας του 2019
- 3) για τα δείγματα του 2018 η δεύτερη κύρια συνιστώσα συνδέεται με την απορρόφηση στο εύρος γύρω στα 425, 500, 650-700nm και είναι υπεύθυνη για το διαχωρισμό των δειγμάτων υψηλής και χαμηλής ποιότητας

4) για τα δείγματα του 2019 η δεύτερη κύρια συνιστώσα συνδέεται με την απορρόφηση στο εύρος γύρω στα 425, 500, 650-700nm και είναι υπεύθυνη για τον διαχωρισμό των δειγμάτων υψηλής και χαμηλής ποιότητας.

Ανάλυση Διακριτότητας Μερικών Ελαχίστων Τετραγώνων (PLS-DA)

Για την επιβεβαίωση της ικανότητας της φασματοσκοπίας ορατού ως προς τη διάκριση της ποιότητας του ελαιολάδου, χρησιμοποιήθηκε η χημειομετρική μέθοδος της ανάλυσης διακριτότητας μερικών ελαχίστων τετραγώνων.

Πίνακας 6.3: Κατηγοριοποίηση με βάση την ποιότητα του ελαιολάδου (2018)

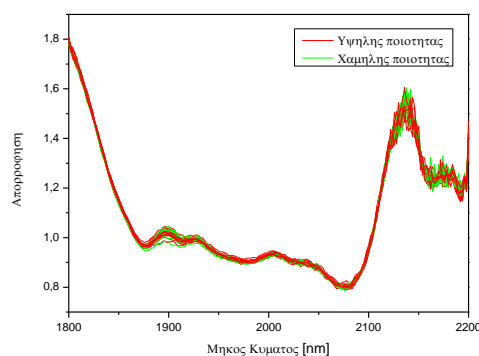
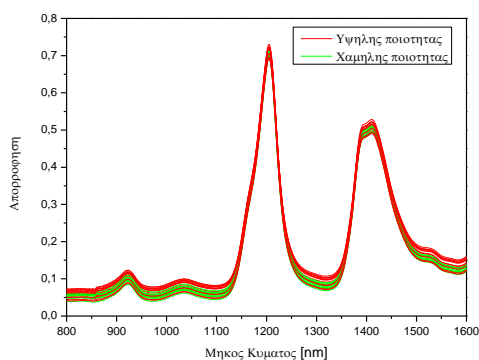
Cross Validation LV=4	Προβλεπόμενη Ομάδα		
	# Δειγμάτων	Υψηλής ποιότητας	Χαμηλής ποιότητας
Υψηλής ποιότητας	13	12	1
Χαμηλής ποιότητας	10	1	9

Πίνακας 6.4: Κατηγοριοποίηση με βάση την ποιότητα του ελαιολάδου (2019)

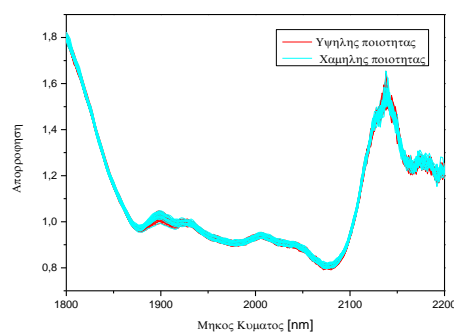
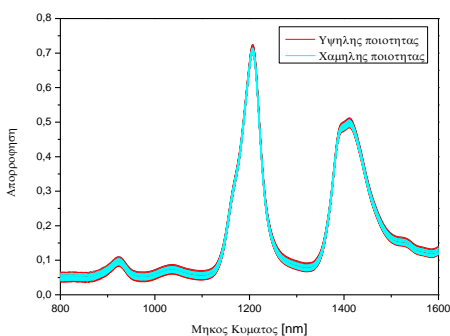
Cross Validation LV=4	Προβλεπόμενη Ομάδα		
	# Δειγμάτων	Υψηλής ποιότητας	Χαμηλής ποιότητας
Υψηλής ποιότητας	24	21	3
Χαμηλής ποιότητας	22	4	18

6.1.3 Φασματοσκοπία Απορρόφησης Εγγύς Υπερύθρου

Αρχικά προβάλλεται το σύνολο των φασμάτων απορρόφησης (800-1600nm, 1800-2200nm) με σκοπό τον εντοπισμό ομοιοτήτων και διαφορών μεταξύ τους. Η εικόνα είναι παρόμοια για τα ελαιόλαδα του 2018 (εικόνα 6.7α) και 2019(εικόνα 6.7β).



α)



β)

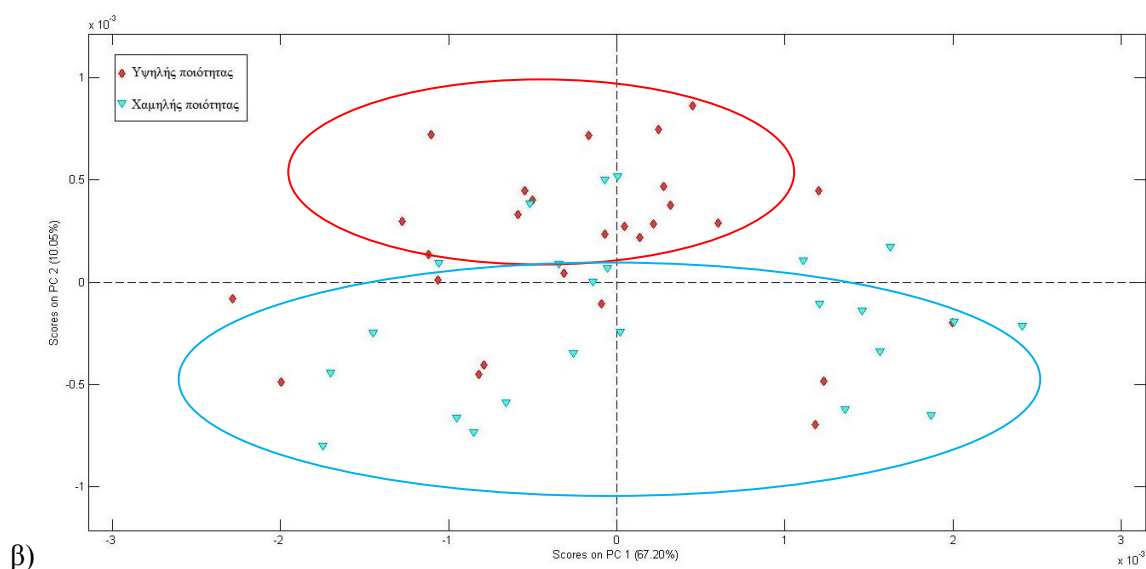
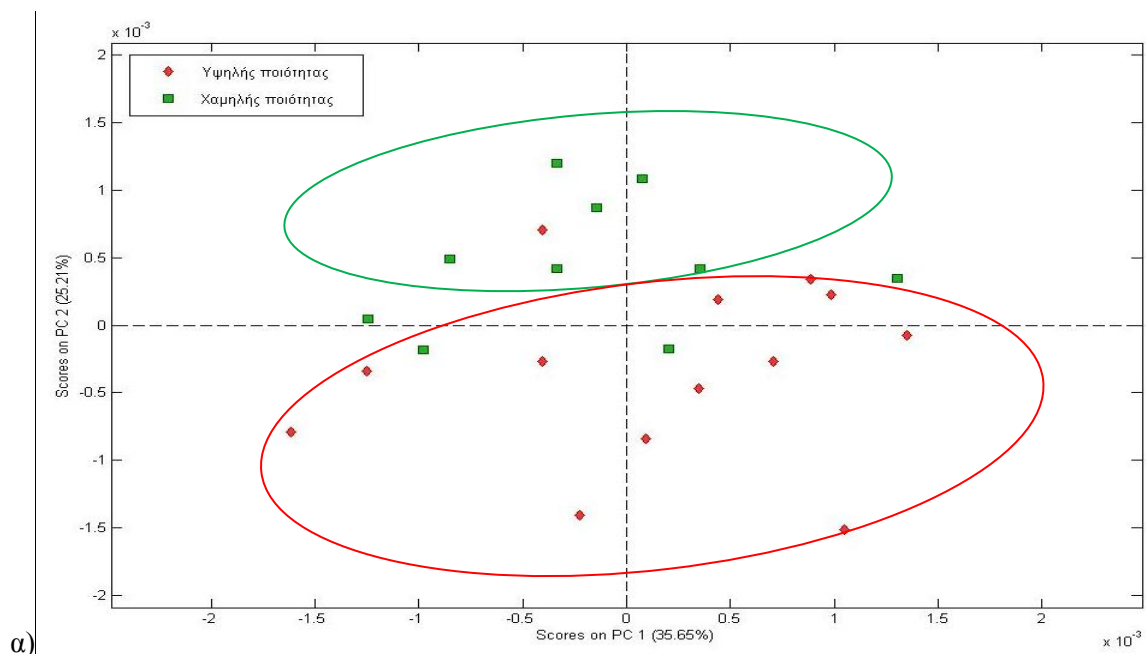
Εικόνα 6.7: Φάσματα απορρόφησης στο εγγύς υπέρυθρο 800-1600nm και 1800-2200nm α) ελαιόλαδα 2018 β) ελαιόλαδα 2019

Στην περιοχή 800-1600nm εμφανίζονται δύο κύριες κορυφές στα 1210 και 1400nm οι οποίες οφείλονται στη δεύτερη υπερτονική έκταση του δεσμού C-H του $-CH_2$ και στην έκταση και κάμψη του δεσμού C-H του $-(CH_2)_n$, αντίστοιχα. Ακόμα εμφανίζονται δύο μικρότερες κορυφές στα 930 και 1040nm οι οποίες οφείλονται στην τρίτη υπερτονική έκταση του δεσμού C-H του $-CH_2$ και στην έκταση και κάμψη του δεσμού C-H του $-(CH_2)_n$, αντίστοιχα [4]. Στην περιοχή 1800-2200nm εμφανίζονται δύο κύριες κορυφές στα 2140 και 2190nm οι οποίες οφείλονται σε δονήσεις του δεσμού C-H [5]. Με σκοπό την εξάλειψη τυχαίων ή συστηματικών σφαλμάτων, τα οποία επηρεάζουν την τιμή της απορρόφησης επιλέχθηκε η προ-επεξεργασία των φασματοσκοπικών δεδομένων με τη παραγωγή τους (1^{ου} βαθμού) και τη μέθοδο mean center για την περιοχή 800-1600nm. Για την περιοχή 1800-2200nm επιλέχθηκε η προ-επεξεργασία των φασματοσκοπικών δεδομένων με τη λογαρίθμηση τους και τη μέθοδο mean center.

Ανάλυση Κύριων Συνιστωσών (PCA)

Για τη διερευνητική μελέτη των φασματοσκοπικών δεδομένων χρησιμοποιήθηκε η ανάλυση κύριων συνιστωσών (PCA). Για τα δείγματα του 2018 στην περιοχή 800-1600nm οι δύο πρώτες κύριες συνιστώσες ερμηνεύουν το 60,86% της διακύμανσης των φασματοσκοπικών δεδομένων. Η προβολή των δειγμάτων σε αυτές τις κύριες συνιστώσες (εικόνα 6.8α) δείχνει μια διαφοροποίηση μεταξύ των δειγμάτων υψηλής και χαμηλής ποιότητας. Για τα δείγματα του 2019 στην περιοχή 800-1600nm οι δύο πρώτες κύριες συνιστώσες ερμηνεύουν το

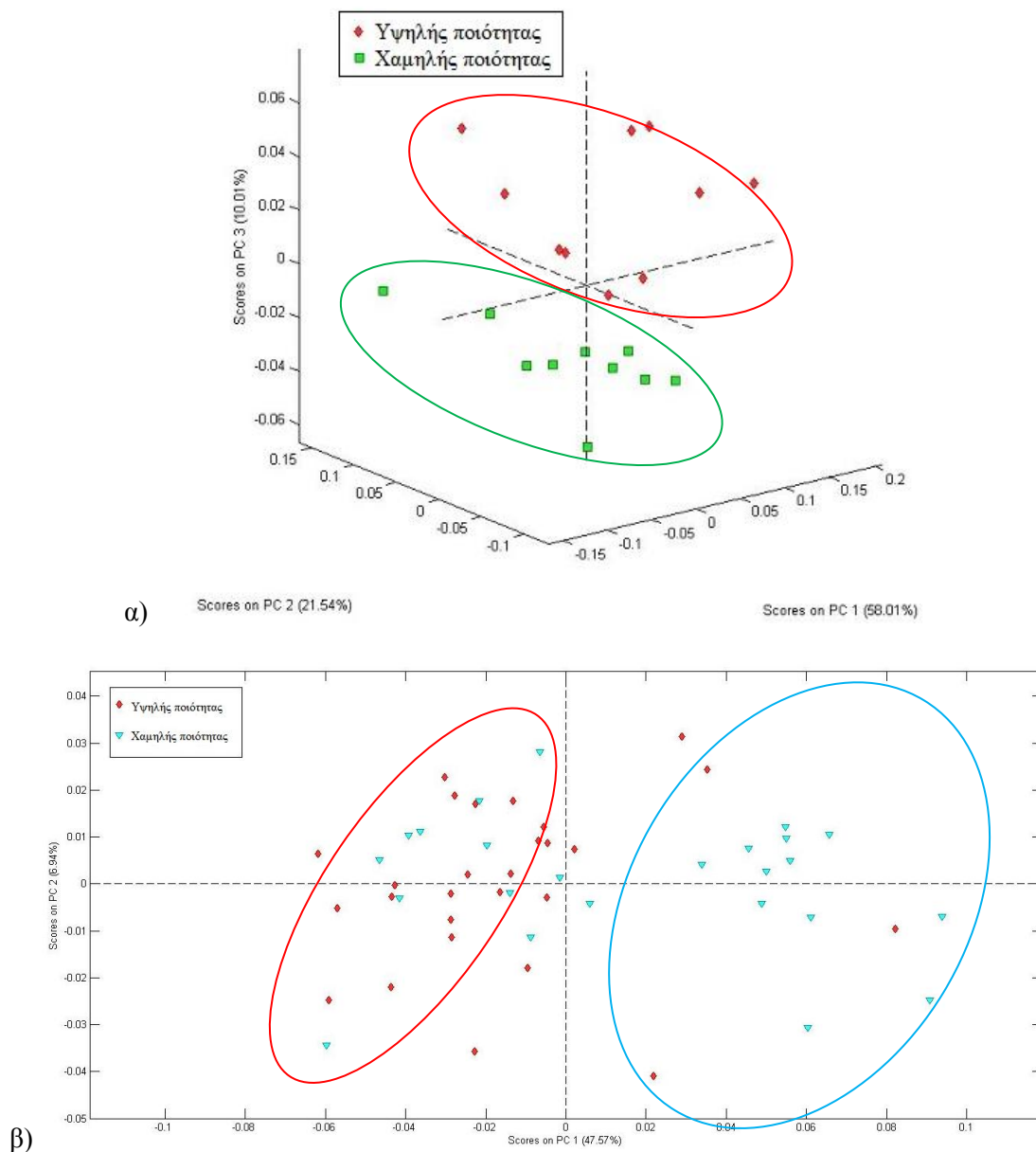
77,25% της διακύμανσης των φασματοσκοπικών δεδομένων. Η προβολή των δειγμάτων σε αυτές τις κύριες συνιστώσες (εικόνα 6.8β) δείχνει μια διαφοροποίηση μεταξύ των δειγμάτων υψηλής και χαμηλής ποιότητας.



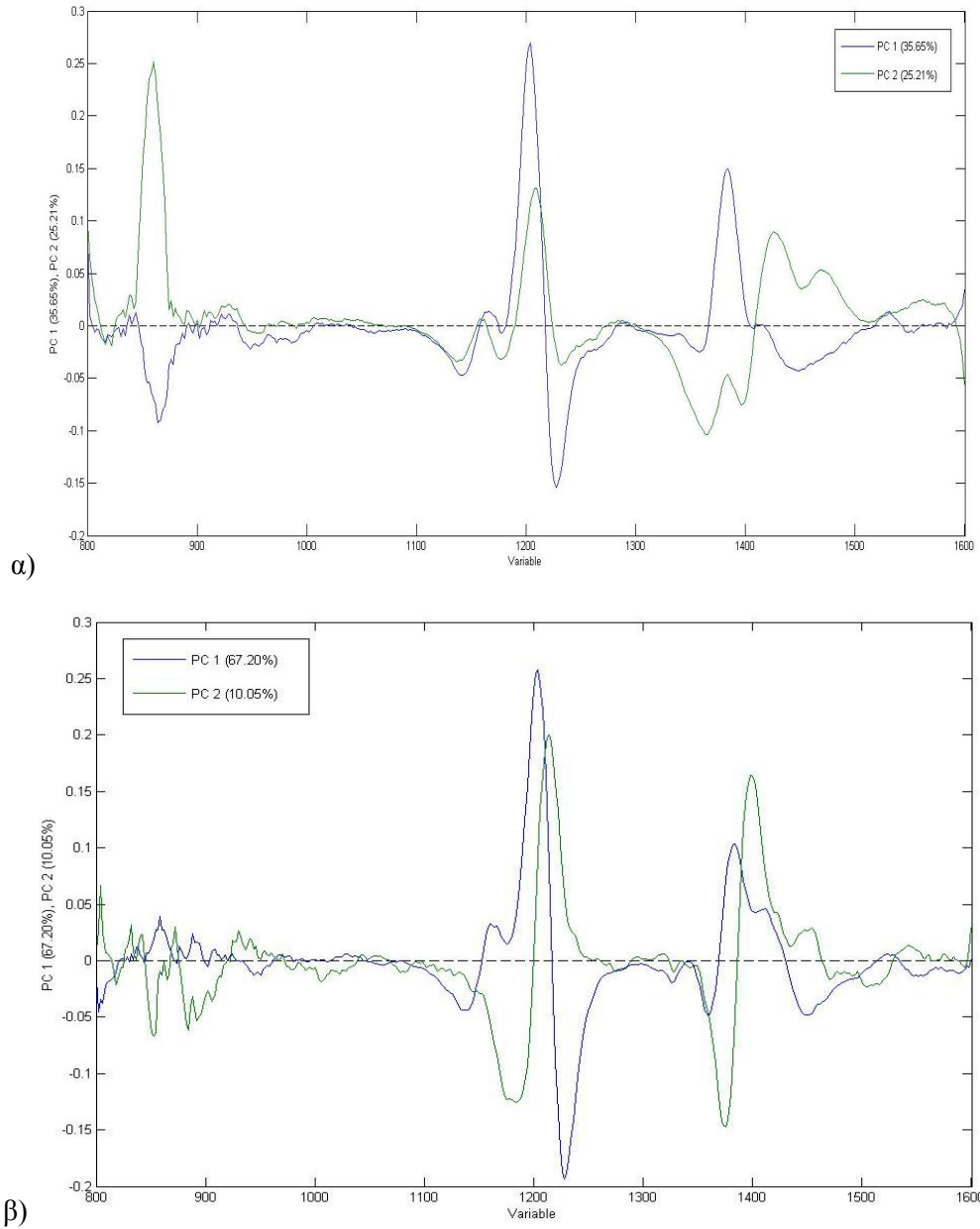
Εικόνα 6.8: Διερευνητική μελέτη με την ανάλυση κύριων συνιστωσών. Score plot στην περιοχή 800-1600nm για α) ελαιόλαδα του 2018 β) ελαιόλαδα του 2019

Για τα δείγματα του 2018 στην περιοχή 1800-2200nm οι τρεις πρώτες κύριες συνιστώσες ερμηνεύουν το 89,56% της διακύμανσης των φασματοσκοπικών δεδομένων. Η προβολή των δειγμάτων σε αυτές τις κύριες συνιστώσες (εικόνα 6.9α) δείχνει μια διαφοροποίηση μεταξύ των δειγμάτων υψηλής και χαμηλής ποιότητας.

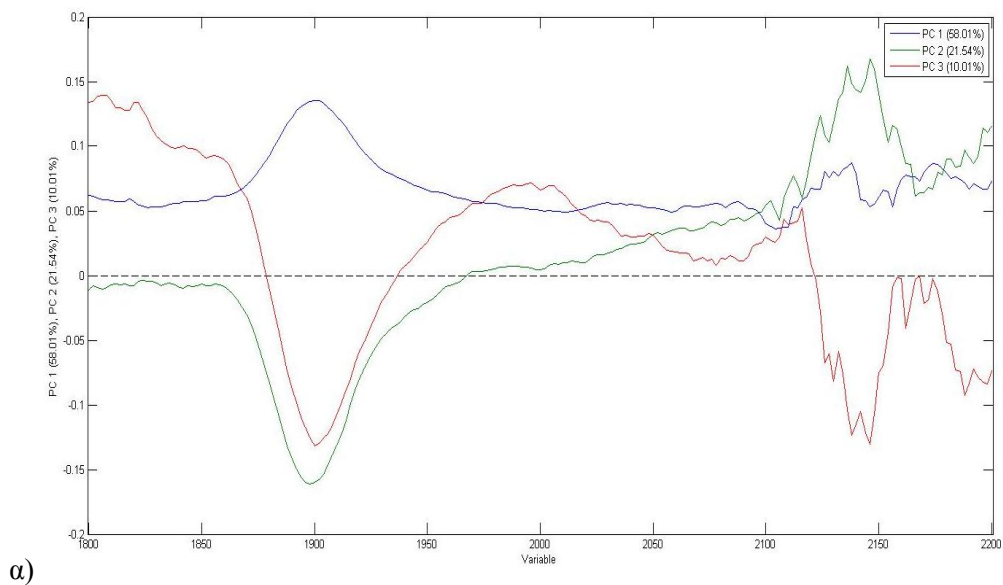
Για τα δείγματα του 2019 στην περιοχή 1800-2200nm οι δύο πρώτες κύριες συνιστώσες ερμηνεύουν το 54,51% της διακύμανσης των φασματοσκοπικών δεδομένων. Η προβολή των δειγμάτων σε αυτές τις κύριες συνιστώσες (εικόνα 6.9β) δείχνει μια διαφοροποίηση μεταξύ των δειγμάτων υψηλής και χαμηλής ποιότητας.



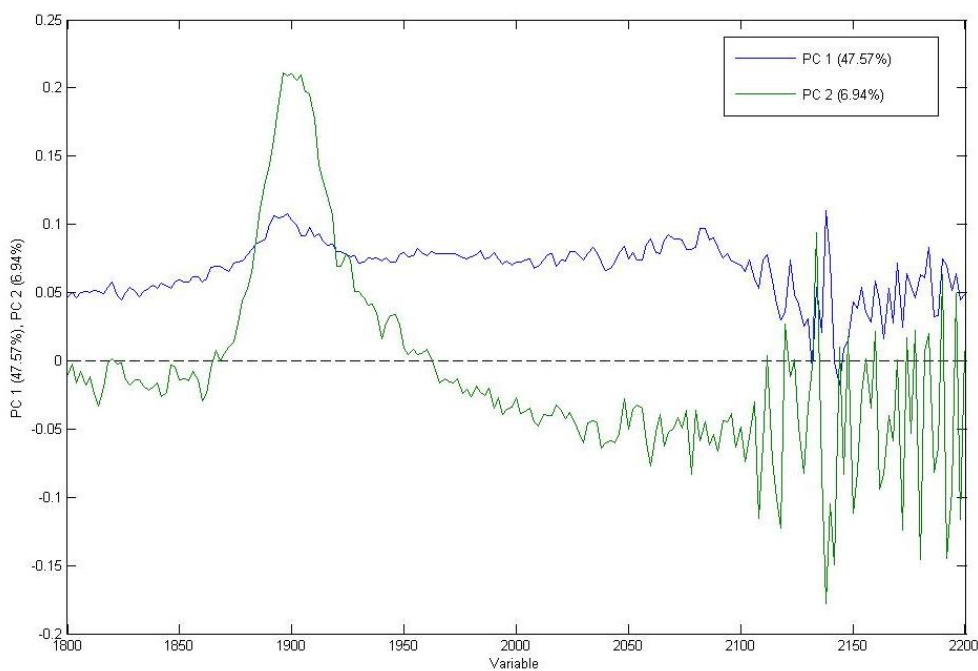
Εικόνα 6.9: Διερευνητική μελέτη με την ανάλυση κύριων συνιστωσών. Score plot στην περιοχή 1800-2200nm για α) ελαιόλαδα του 2018 β) ελαιόλαδα του 2019



Εικόνα 6.10: Διερευνητική μελέτη με την ανάλυση κύριων συνιστωσών. Loading plot στις δύο πρώτες κύριες συνιστώσες για α) ελαιόλαδα του 2018 β) ελαιόλαδα του 2019



α)



β)

Εικόνα 6.11: Διερευνητική μελέτη με την ανάλυση κύριων συνιστωσών. Loading plot στις δύο πρώτες κύριες συνιστώσες για α) ελαιόλαδα του 2018 β) ελαιόλαδα του 2019

Από τη συνδυαστική αξιολόγηση των score plots, των loading plots και των αρχικών φασμάτων απορρόφησης, συνάγονται τα ακόλουθα:

1) παρατηρείται επικάλυψη μεταξύ των φασμάτων και στις δύο περιοχές του εγγύς υπερύθρου τόσο για τα δείγματα του 2018 όσο και για τα δείγματα του 2019

2) για τα δείγματα του 2018 στην περιοχή 800-1600nm η δεύτερη κύρια συνιστώσα συνδέεται με την απορρόφηση στο εύρος γύρω στα 850, 1200 και 1370-1470nm και είναι υπεύθυνη για το διαχωρισμό των δειγμάτων

3) για τα δείγματα του 2019 στην περιοχή 800-1600nm η δεύτερη κύρια συνιστώσα συνδέεται με την απορρόφηση στο εύρος γύρω στα 1200 και 1400nm και είναι υπεύθυνη για το διαχωρισμό των δειγμάτων

4) για τα δείγματα του 2018 στην περιοχή 1800-2200nm η τρίτη κύρια συνιστώσα συνδέεται με την απορρόφηση γύρω στα 1900 nm και είναι υπεύθυνη για τον διαχωρισμό των δειγμάτων

5) για τα δείγματα του 2019 στην περιοχή 1800-2200nm η πρώτη κύρια συνιστώσα είναι υπεύθυνη για το διαχωρισμό των δειγμάτων.

Ανάλυση Διακριτότητας Μερικών Ελαχίστων Τετραγώνων (PLS-DA)

Για την επιβεβαίωση της ικανότητας της φασματοσκοπίας εγγύς υπερύθρου ως προς τη διάκριση της ποιότητας του ελαιολάδου, χρησιμοποιήθηκε η χημειομετρική μέθοδος της ανάλυσης διακριτότητας μερικών ελαχίστων τετραγώνων.

Πίνακας 6.5: Κατηγοριοποίηση με βάση την ποιότητα των ελαιολάδων του 2018 (800-1600nm)

Cross Validation LV=2	Προβλεπόμενη Ομάδα		
	# Δειγμάτων	Υψηλής ποιότητας	Χαμηλής ποιότητας
Υψηλής ποιότητας	13	12	1
Χαμηλής ποιότητας	10	1	9

Πίνακας 6.6: Κατηγοριοποίηση με βάση την ποιότητα των ελαιολάδων του 2019 (800-1600nm)

Cross Validation LV=2	Προβλεπόμενη Ομάδα		
	# Δειγμάτων	Υψηλής ποιότητας	Χαμηλής ποιότητας
Υψηλής ποιότητας	24	20	4
Χαμηλής ποιότητας	22	3	19

Πίνακας 6.7: Κατηγοριοποίηση με βάση την ποιότητα των ελαιολάδων του 2018 (1800-2200nm)

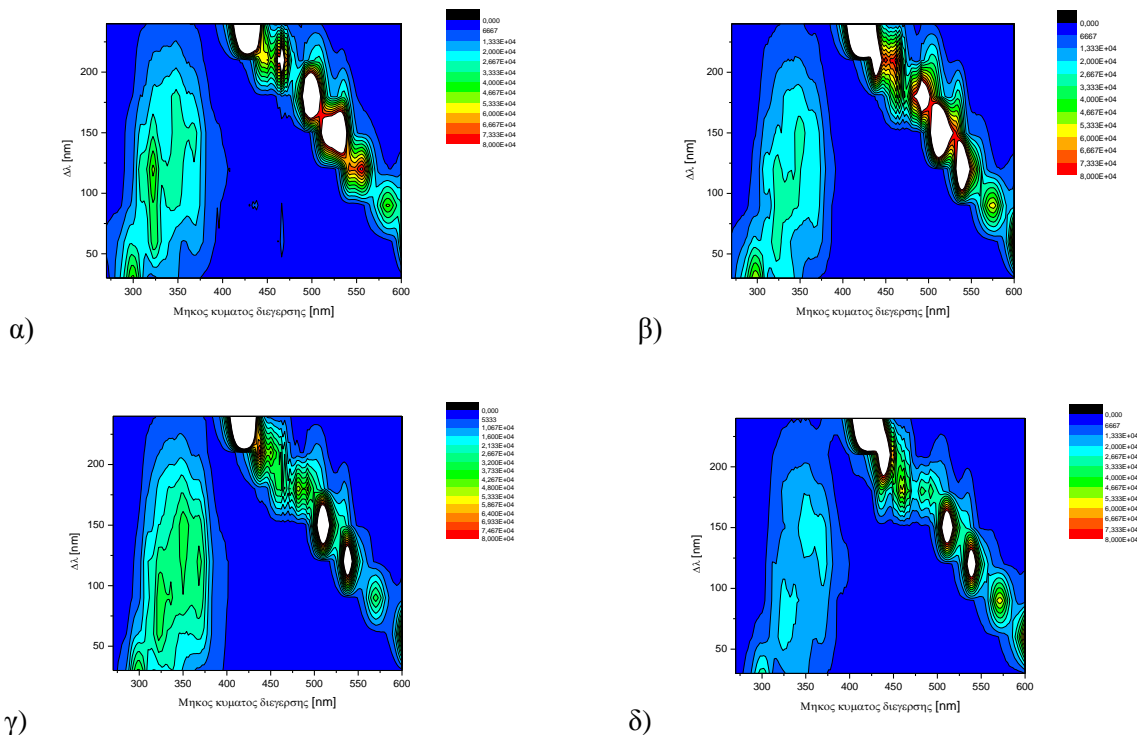
Cross Validation LV=3	Προβλεπόμενη Ομάδα		
	# Δειγμάτων	Υψηλής ποιότητας	Χαμηλής ποιότητας
Υψηλής ποιότητας	13	11	2
Χαμηλής ποιότητας	10	3	7

Πίνακας 6.8: Κατηγοριοποίηση με βάση την ποιότητα των ελαιολάδων του 2019(1800-2200nm)

Cross Validation LV=3	Προβλεπόμενη Ομάδα		
	# Δειγμάτων	Υψηλής ποιότητας	Χαμηλής ποιότητας
Υψηλής ποιότητας	24	20	4
Χαμηλής ποιότητας	22	4	18

6.1.4 Φασματοσκοπία Φθορισμού

Η προβολή του φθορισμού έγινε μέσω σύγχρονων φασμάτων με γεωμετρία εμπρόσθιας όψης χωρίς αραίωση των δειγμάτων, σάρωση σε ένα εύρος μηκών κύματος από 270 έως 600nm με βήμα 2nm. Λήφθηκαν οκτώ σύγχρονα φάσματα ανά 30nm. Στην εικόνα απεικονίζονται δύο χάρτες φθορισμού, οι οποίοι αντιστοιχούν σε ένα χαμηλής και ένα υψηλής ποιότητας ελαιόλαδο.



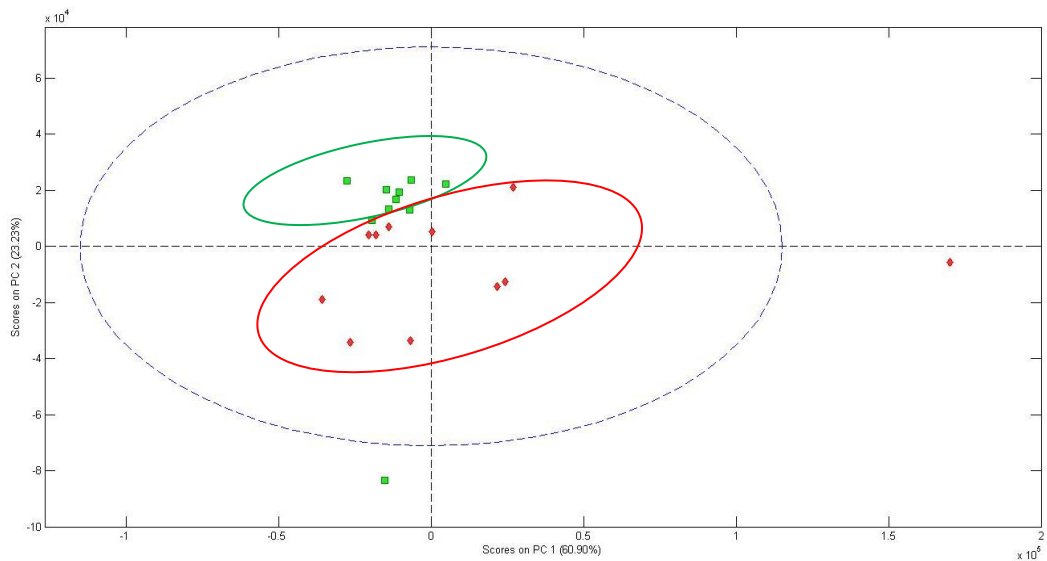
Εικόνα 6.12: Χάρτες φθορισμού για α) χαμηλής ποιότητας ελαιόλαδο του 2018 β) υψηλής ποιότητας ελαιόλαδο του 2018 γ) χαμηλής ποιότητας ελαιόλαδο του 2019 δ) υψηλής ποιότητας ελαιόλαδο του 2019

Διακρίνονται ομοιότητες και διαφορές ανάμεσα στους χάρτες, οι οποίες σχετίζονται με την ένταση του φθορισμού. Σε όλους τους χάρτες 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 [6-7]. Με σκοπό την

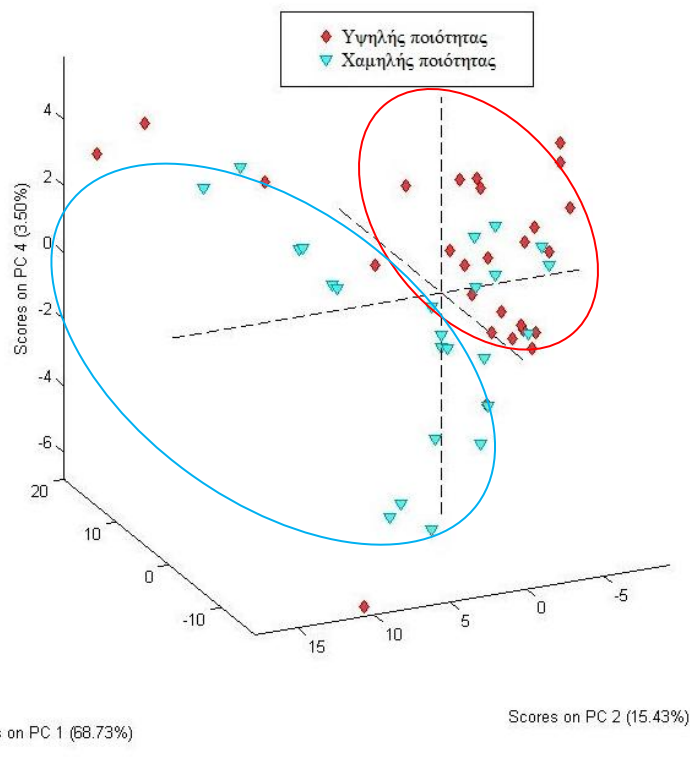
εξάλειψη τυχαίων ή συστηματικών σφαλμάτων επιλέχθηκε η προ-επεξεργασία των φασματοσκοπικών δεδομένων με τη παραγωγή τους (1^{ου} βαθμού), τη μέθοδο SNV και τη μέθοδο mean center.

Ανάλυση Κύριων Συνιστωσών (PCA)

Για τη διερευνητική μελέτη των φασματοσκοπικών δεδομένων χρησιμοποιήθηκε η ανάλυση κύριων συνιστωσών (PCA). Η πρώτη, η δεύτερη και η τέταρτη κύρια συνιστώσα ερμηνεύουν το 87.66% της διακύμανσης των φασματοσκοπικών δεδομένων. Η προβολή των δειγμάτων σε αυτές τις κύριες συνιστώσες (εικόνα 6.13) δείχνει μια διαφοροποίηση μεταξύ των δειγμάτων υψηλής και χαμηλής ποιότητας.



α)



β)

Εικόνα 6.13: Διερευνητική μελέτη με την ανάλυση κύριων συνιστωσών α) τρισδιάστατο score plot για ελαιόλαδα του 2018 β) score plot για ελαιόλαδα του 2019

Από τη συνδυαστική αξιολόγηση των score plots και των χαρτών φθορισμού, συνάγονται τα ακόλουθα:

- 1) η ένταση φθορισμού στην περιοχή 270-350nm, η οποία σχετίζεται με τοκοφερόλες και τοκοτριενόλες, είναι υψηλότερη για τα ελαιόλαδα χαμηλής ποιότητας
- 2) στην περιοχή 425-550nm η ένταση φθορισμού δεν παρουσιάζει ιδιαίτερες διαφορές για τα ελαιόλαδα υψηλής και χαμηλής ποιότητας
- 3) για τα δείγματα του 2018 η δεύτερη κύρια συνιστώσα είναι υπεύθυνη για το διαχωρισμό των ελαιολάδων με βάση την ποιότητα τους
- 4) για τα δείγματα του 2019 η τέταρτη κύρια συνιστώσα είναι υπεύθυνη για το διαχωρισμό των ελαιολάδων με βάση την ποιότητα τους.

Ανάλυση Διακριτότητας Μερικών Ελαχίστων Τετραγώνων (PLS-DA)

Για την επιβεβαίωση της ικανότητας της φασματοσκοπίας φθορισμού ως προς τη διάκριση της ποιότητας του ελαιολάδου, χρησιμοποιήθηκε η χημειομετρική μέθοδος της ανάλυσης διακριτότητας μερικών ελαχίστων τετραγώνων.

Πίνακας 6.9: Κατηγοριοποίηση με βάση την ποιότητα του ελαιολάδου (2018)

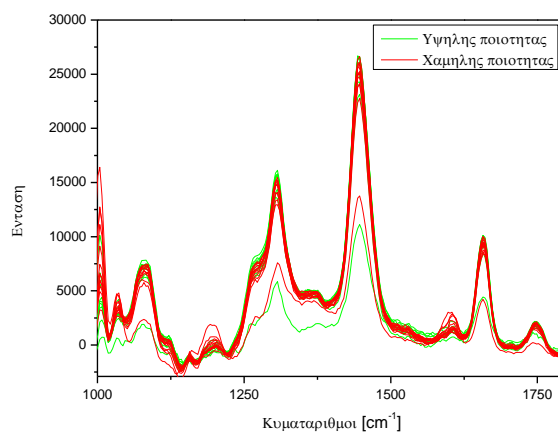
Cross Validation LV=5	Προβλεπόμενη Ομάδα		
	# Δειγμάτων	Υψηλής ποιότητας	Χαμηλής ποιότητας
Υψηλής ποιότητας	13	12	1
Χαμηλής ποιότητας	10	2	8

Πίνακας 6.10: Κατηγοριοποίηση με βάση την ποιότητα του ελαιολάδου (2019)

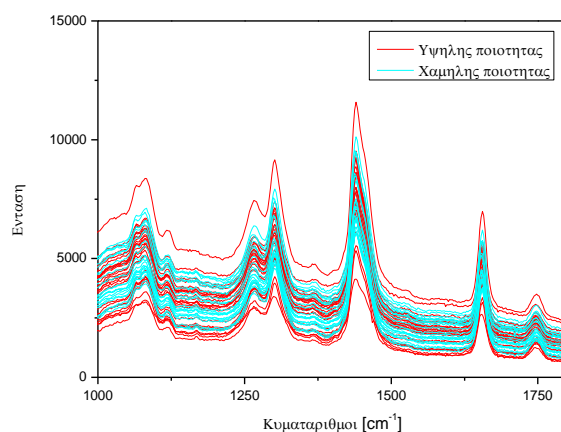
Cross Validation LV=4	Προβλεπόμενη Ομάδα		
	# Δειγμάτων	Υψηλής ποιότητας	Χαμηλής ποιότητας
Υψηλής ποιότητας	26	21	5
Χαμηλής ποιότητας	20	2	18

6.1.5 Φασματοσκοπία Raman

Αρχικά προβάλλεται το σύνολο των φασμάτων απορρόφησης ($1000-1800\text{cm}^{-1}$) με σκοπό τον εντοπισμό ομοιοτήτων και διαφορών μεταξύ τους. Μεταξύ των φασμάτων παρατηρείται επικάλυψη.



α)



β)

Εικόνα 6.14: Φάσματα Raman για α) ελαιόλαδα του 2018 β) ελαιόλαδα του 2019

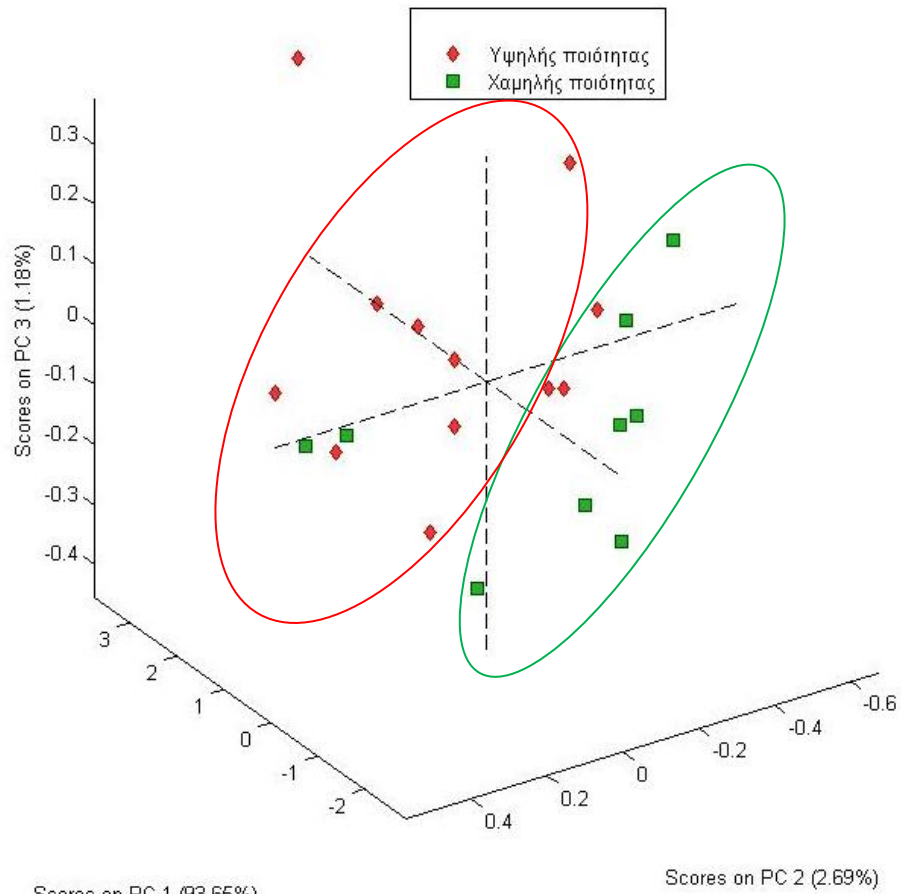
Στην περιοχή $1000-1800\text{cm}^{-1}$ εμφανίζονται έξι κορυφές στους 1076 , 1265 , 1300 , 1439 , 1651 και 1747cm^{-1} οι οποίες οφείλονται στην έκταση του δεσμού C-C του $-(\text{CH}_2)_n-$, στην κάμψη του δεσμού $=\text{C}-\text{H}$ των μορίων $\text{cis RCH}=\text{CHR}$, στην κάμψη (συστροφή) του δεσμού C-H του CH_2 , στην κάμψη (δόνηση ψαλιδιού) του δεσμού C-H του CH_2 , στην έκταση του δεσμού C=C των μορίων $\text{cis RCH}=\text{CHR}$ και στην έκταση του δεσμού C=O των μορίων $\text{RC}=\text{OOR}$, αντίστοιχα [3-4]. Με σκοπό την εξάλειψη τυχαίων ή συστηματικών σφαλμάτων επιλέχθηκε η προ-επεξεργασία των φασματοσκοπικών δεδομένων με τη παραγωγή τους ($1^{\text{ου}}$ βαθμού) και τη μέθοδο mean center.

Ανάλυση Κύριων Συνιστωσών (PCA)

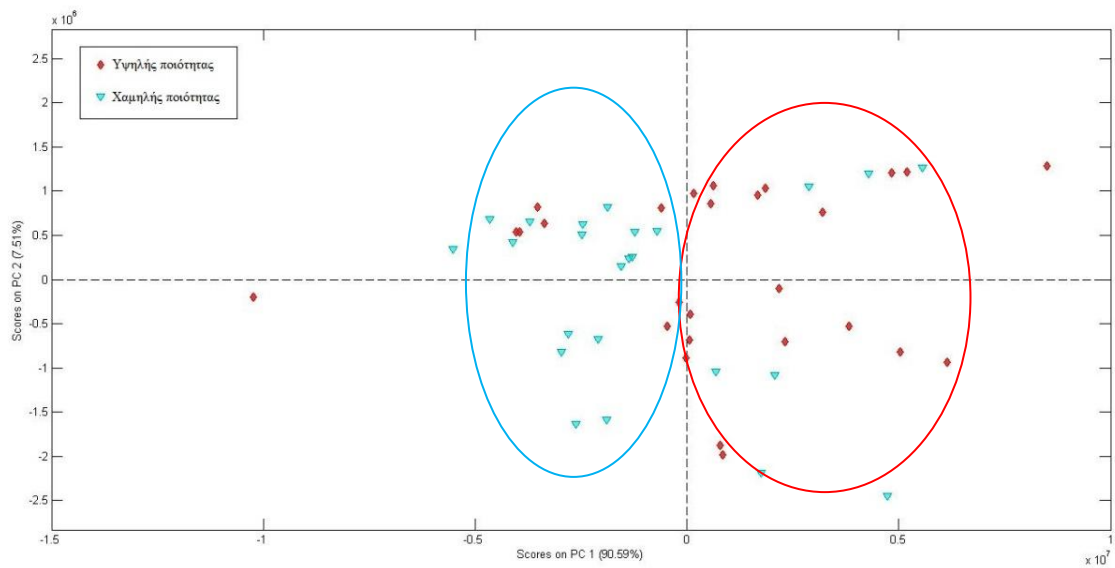
Για τη διερευνητική μελέτη των φασματοσκοπικών δεδομένων χρησιμοποιήθηκε η ανάλυση κύριων συνιστωσών (PCA).

Για τα δείγματα του 2018 οι τρεις πρώτες κύριες συνιστώσες ερμηνεύουν το 97,52% της διακύμανσης των φασματοσκοπικών δεδομένων. Η προβολή των δειγμάτων σε αυτές τις κύριες συνιστώσες (εικόνα 6.15α) δείχνει μια διαφοροποίηση μεταξύ των δειγμάτων υψηλής και χαμηλής ποιότητας.

Για τα δείγματα του 2019 οι δύο πρώτες κύριες συνιστώσες ερμηνεύουν το 98,10% της διακύμανσης των φασματοσκοπικών δεδομένων. Η προβολή των δειγμάτων σε αυτές τις κύριες συνιστώσες (εικόνα 6.15β) δείχνει μια διαφοροποίηση μεταξύ των δειγμάτων υψηλής και χαμηλής ποιότητας.

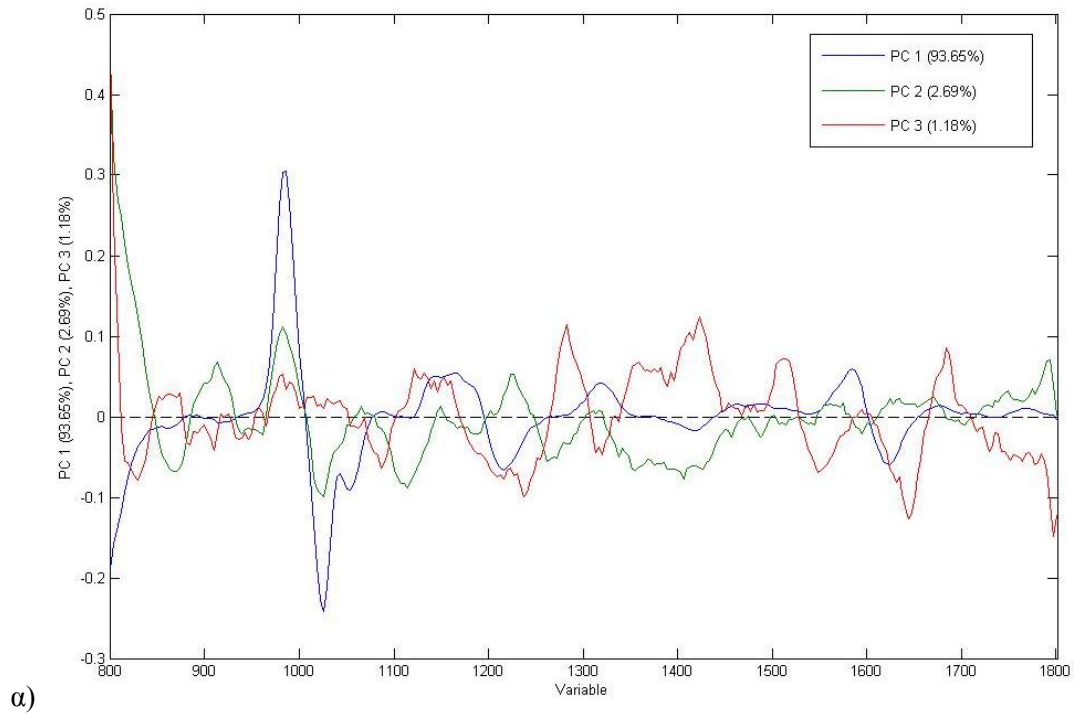


α)

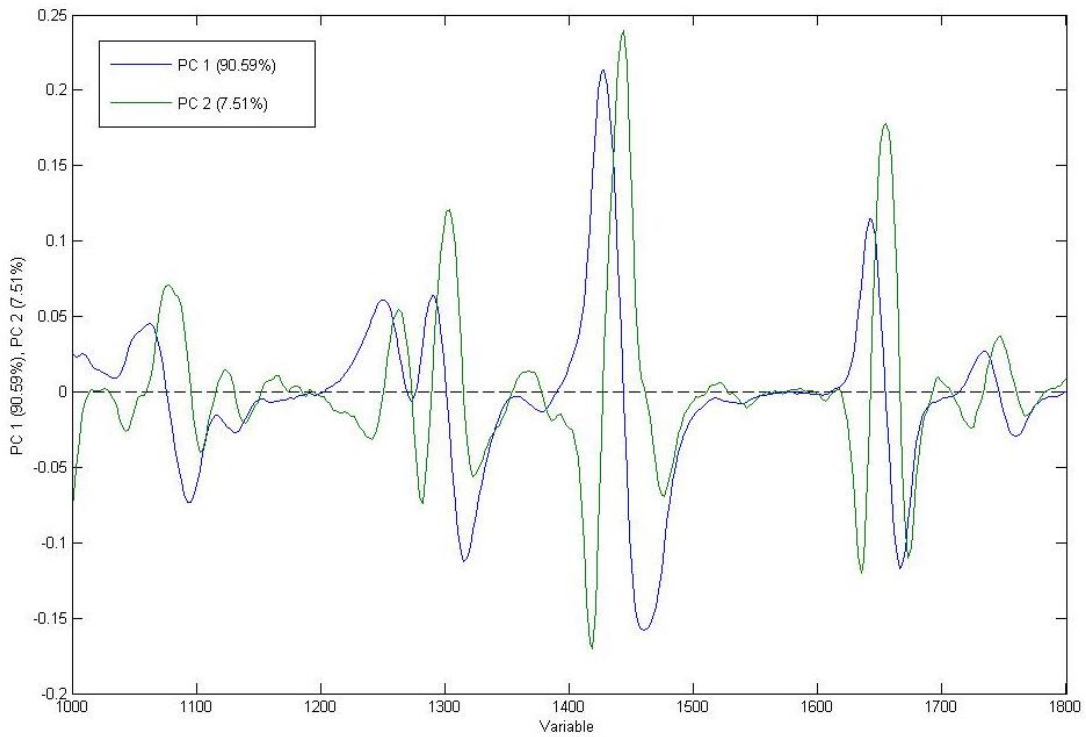


β)

Εικόνα 6.15: Διερευνητική μελέτη με την ανάλυση κύριων συνιστωσών α) τρισδιάστατο score plot για ελαιόλαδα του 2018 β) score plot για ελαιόλαδα του 2019



α)



β)

Εικόνα 6.16: Διερευνητική μελέτη με την ανάλυση κύριων συνιστωσών. Loading plot στις τρεις πρώτες κύριες συνιστώσες για ελαιόλαδα του 2018 β) Loading plot στις δύο πρώτες κύριες συνιστώσες για ελαιόλαδα του 2019

Από τη συνδυαστική αξιολόγηση των score plots, των loading plots και των αρχικών φασμάτων απορρόφησης, συνάγονται τα ακόλουθα:

1) παρατηρείται επικάλυψη μεταξύ των φασμάτων

2) για τα δείγματα του 2018 και οι τρεις κύριες συνιστώσες συνεισφέρουν στο διαχωρισμό

3) για τα δείγματα του 2019 η πρώτη κύρια συνιστώσα συνδέεται με την απορρόφηση στο εύρος γύρω στα 1400-1470 και 1600-1700nm και είναι υπεύθυνη για το διαχωρισμό των δειγμάτων.

Ανάλυση Διακριτότητας Μερικών Ελαχίστων Τετραγώνων (PLS-DA)

Για την επιβεβαίωση της ικανότητας της φασματοσκοπίας Raman ως προς τη διάκριση της ποιότητας του ελαιολάδου, χρησιμοποιήθηκε η χημειομετρική μέθοδος της ανάλυσης διακριτότητας μερικών ελαχίστων τετραγώνων.

Πίνακας 6.11: Κατηγοριοποίηση με βάση την ποιότητα του ελαιολάδου (2018)

Cross Validation LV=3	Προβλεπόμενη Ομάδα		
	# Δειγμάτων	Υψηλής ποιότητας	Χαμηλής ποιότητας
Υψηλής ποιότητας	13	10	3
Χαμηλής ποιότητας	10	2	8

Πίνακας 6.12: Κατηγοριοποίηση με βάση την ποιότητα του ελαιολάδου (2019)

Cross Validation LV=3	Προβλεπόμενη Ομάδα		
	# Δειγμάτων	Υψηλής ποιότητας	Χαμηλής ποιότητας
Υψηλής ποιότητας	24	18	6
Χαμηλής ποιότητας	22	4	18

Συμπεραίνοντας, η φασματοσκοπία απορρόφησης υπεριώδους είναι μια τεχνική ικανή να διαχωρίσει δείγματα ελαιολάδου με βάση την ποιότητα. Το ποσοστό επιτυχίας είναι 73,91% και ο διαχωρισμός οφείλεται στο διαφορετικό φαινολικό δυναμικό των ελαιολάδων. Η φασματοσκοπία απορρόφησης ορατού είναι μια τεχνική ικανή να διαχωρίσει δείγματα ελαιολάδου με βάση την ποιότητα. Το ποσοστό επιτυχίας είναι 91,30% για τα δείγματα του 2018 και 84,78% για τα δείγματα του 2019. Ο διαχωρισμός οφείλεται στη διαφορετική σύσταση των ελαιολάδων σε καρροτενοειδή και χλωροφύλλη. Η φασματοσκοπία απορρόφησης εγγύς υπερόθρου είναι μια τεχνική ικανή να διαχωρίσει δείγματα ελαιολάδου με βάση την ποιότητα. Το ποσοστό επιτυχίας κυμαίνεται από 78-92% και ο διαχωρισμός οφείλεται στη διαφορετική σύσταση των ελαιολάδων σε λιπαρά οξέα και τριακυλογλυκερόλη. Η φασματοσκοπία φθορισμού είναι μια τεχνική ικανή να διαχωρίσει δείγματα ελαιολάδου με βάση την ποιότητα. Το ποσοστό επιτυχίας είναι 86,96% για τα δείγματα του 2018 και 84,78% για τα δείγματα του 2019. Ο διαχωρισμός οφείλεται στη διαφορετική σύσταση φθοριζουσών ουσιών όπως τοκοφερόλες, τοκοτριενόλες και χλωροφύλλη. Τέλος η φασματοσκοπία Raman είναι μια τεχνική ικανή να διαχωρίσει

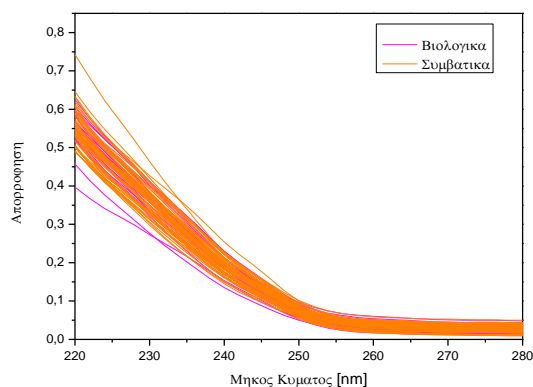
δείγματα ελαιολάδου με βάση την ποιότητα. Το ποσοστό επιτυχίας είναι 78,26%. Ο διαχωρισμός οφείλεται στη διαφορετική σύσταση των ελαιολάδων σε λιπαρά οξέα.

6.2 Διάκριση Τύπου Καλλιέργειας Ελαιολάδου

Σε συνεργασία με το Εργαστήριο Οργανοληπτικής Αξιολόγησης Ελαιολάδου του Α.Σ. Ρεθύμνου λήφθηκαν 74 δείγματα εξαιρετικά παρθένου ελαιολάδου. Αναλυτικά λήφθηκαν 22 βιολογικά και 52 συμβατικά δείγματα. Τα βιολογικά δείγματα ελαιολάδου παρήχθησαν χωρίς τη χρήση συνθετικών λιπασμάτων και ζιζανιοκτόνων, ρυθμιστών ανάπτυξης των φυτών και ορμονών. Αντίθετα τα συμβατικά δείγματα παρήχθησαν με τη χρήση γεωργικών φαρμάκων και λιπασμάτων.

6.2.1 Φασματοσκοπία Απορρόφησης Υπεριώδους

Αρχικά προβάλλεται το σύνολο των φασμάτων απορρόφησης (220-280nm) με σκοπό τον εντοπισμό ομοιοτήτων και διαφορών μεταξύ τους. Μεταξύ των φασμάτων παρατηρείται επικάλυψη.



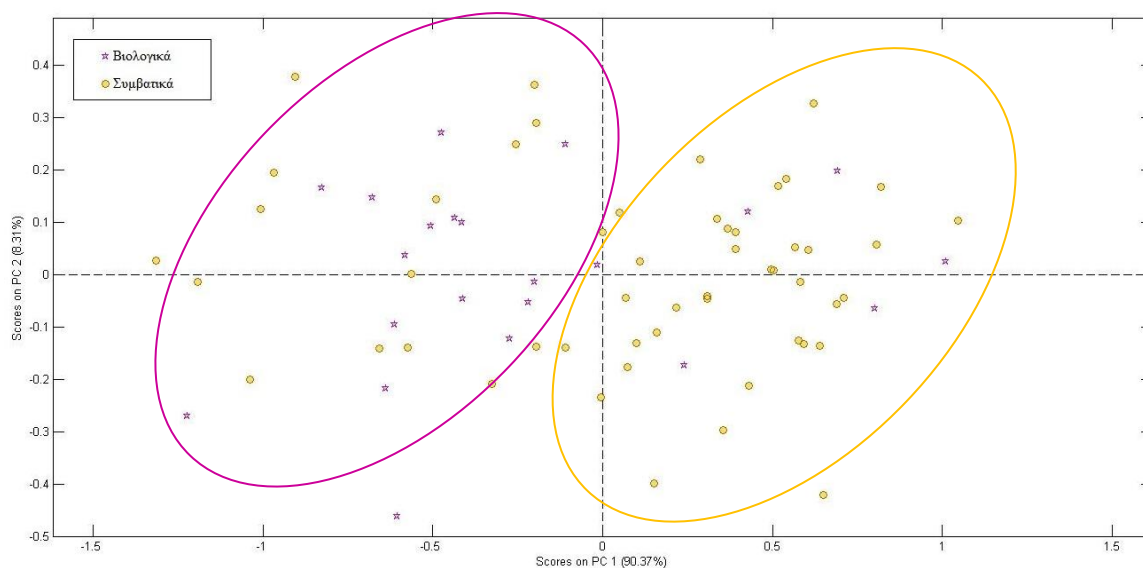
Εικόνα 6.17: Φάσματα απορρόφησης στο υπεριώδες 220-280nm

Με σκοπό την εξάλειψη τυχαίων ή συστηματικών σφαλμάτων, τα οποία επηρεάζουν την τιμή της απορρόφησης επιλέχθηκε η προ-επεξεργασία των φασματοσκοπικών δεδομένων με τη λογαρίθμιση τους και τη μέθοδο mean center.

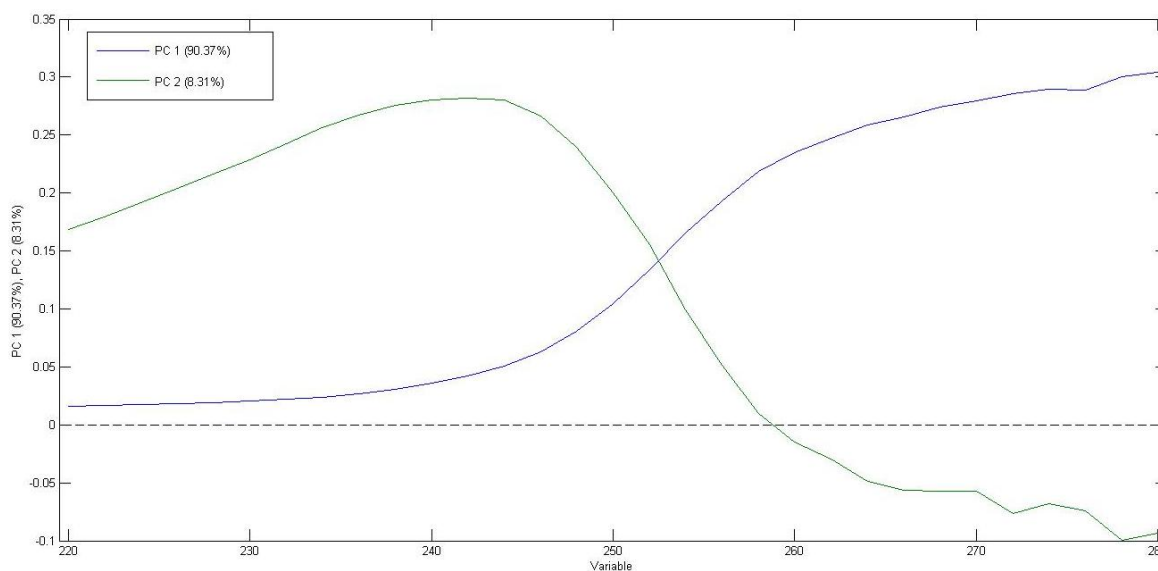
Ανάλυση Κύριων Συνιστωσών (PCA)

Για τη διερευνητική μελέτη των φασματοσκοπικών δεδομένων χρησιμοποιήθηκε η ανάλυση κύριων συνιστωσών (PCA). Οι δύο πρώτες κύριες συνιστώσες ερμηνεύουν το 98.68% της

διακύμανσης των φασματοσκοπικών δεδομένων. Η προβολή των δειγμάτων σε αυτές τις κύριες συνιστώσες (εικόνα 6.18) δείχνει μια διαφοροποίηση, η οποία οφείλεται στη διαφορετική συγκέντρωση φαινολικών ουσιών μεταξύ των βιολογικών και συμβατικών δειγμάτων [8].



Εικόνα 6.18: Διερευνητική μελέτη με την ανάλυση κύριων συνιστωσών. Score plot για βιολογικά και συμβατικά ελαιόλαδα



Εικόνα 6.19: Διερευνητική μελέτη με την ανάλυση κύριων συνιστωσών. Loading plot στις δύο πρώτες κύριες συνιστώσες

Από τη συνδυαστική αξιολόγηση του score plot, του loading plot και των αρχικών φασμάτων απορρόφησης, συνάγονται τα ακόλουθα:

- 1) παρατηρείται επικάλυψη μεταξύ των φασμάτων για τα ελαιόλαδα βιολογικής και συμβατικής καλλιέργειας
- 2) η πρώτη κύρια συνιστώσα συνδέεται με την απορρόφηση γύρω στα 240nm και είναι υπεύθυνη για το διαχωρισμό των δειγμάτων βιολογικής και συμβατικής καλλιέργειας
- 3) η δεύτερη κύρια συνιστώσα συνδέεται με την απορρόφηση γύρω στα 260-270nm και είναι υπεύθυνη για διαφοροποιήσεις μεταξύ ελαιολάδων του ίδιου τύπου καλλιέργειας.

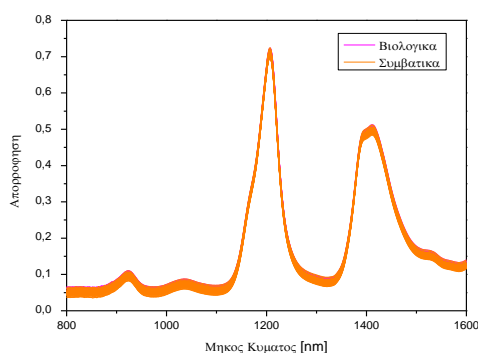
Ανάλυση Διακριτότητας Μερικών Ελαχίστων Τετραγώνων (PLS-DA)

Για την επιβεβαίωση της ικανότητας της φασματοσκοπίας απορρόφησης υπεριώδους ως προς τη διάκριση του τύπου καλλιέργειας του ελαιολάδου, χρησιμοποιήθηκε η χημειομετρική μέθοδος της ανάλυσης διακριτότητας μερικών ελαχίστων τετραγώνων.

Πίνακας 6.13: Κατηγοριοποίηση με βάση τον τύπο καλλιέργειας του ελαιολάδου

Cross Validation LV=3	Προβλεπόμενη Ομάδα		
	# Δειγμάτων	Βιολογικά	Συμβατικά
Βιολογικά	20	16	4
Συμβατικά	47	8	39

6.2.2 Φασματοσκοπία Απορρόφησης Εγγύς Υπερύθρου

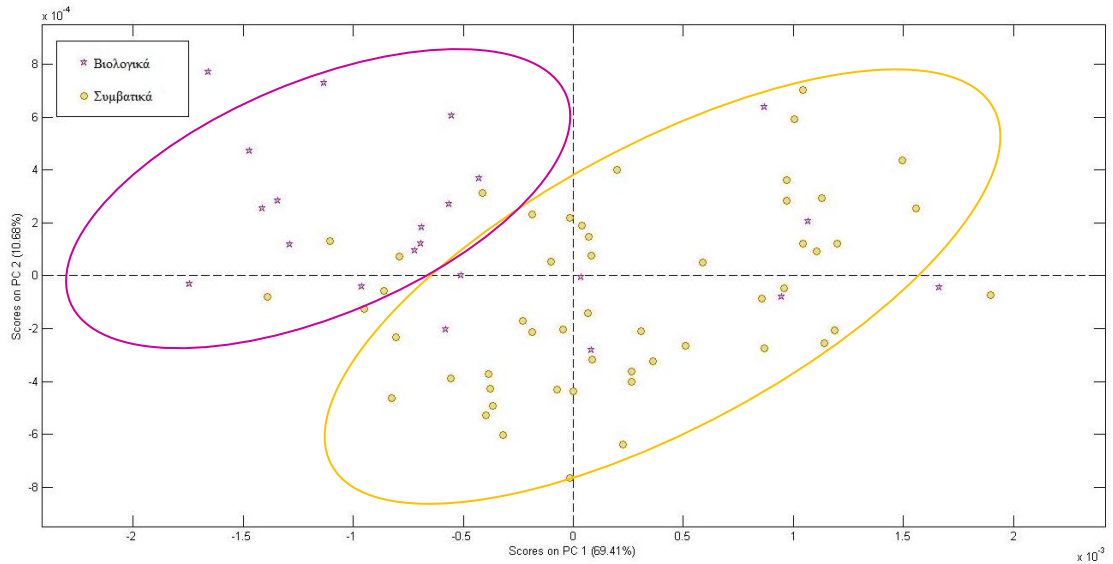


Εικόνα 6.20: Φάσματα απορρόφησης στο εγγύς υπέρυθρο 800-1600nm

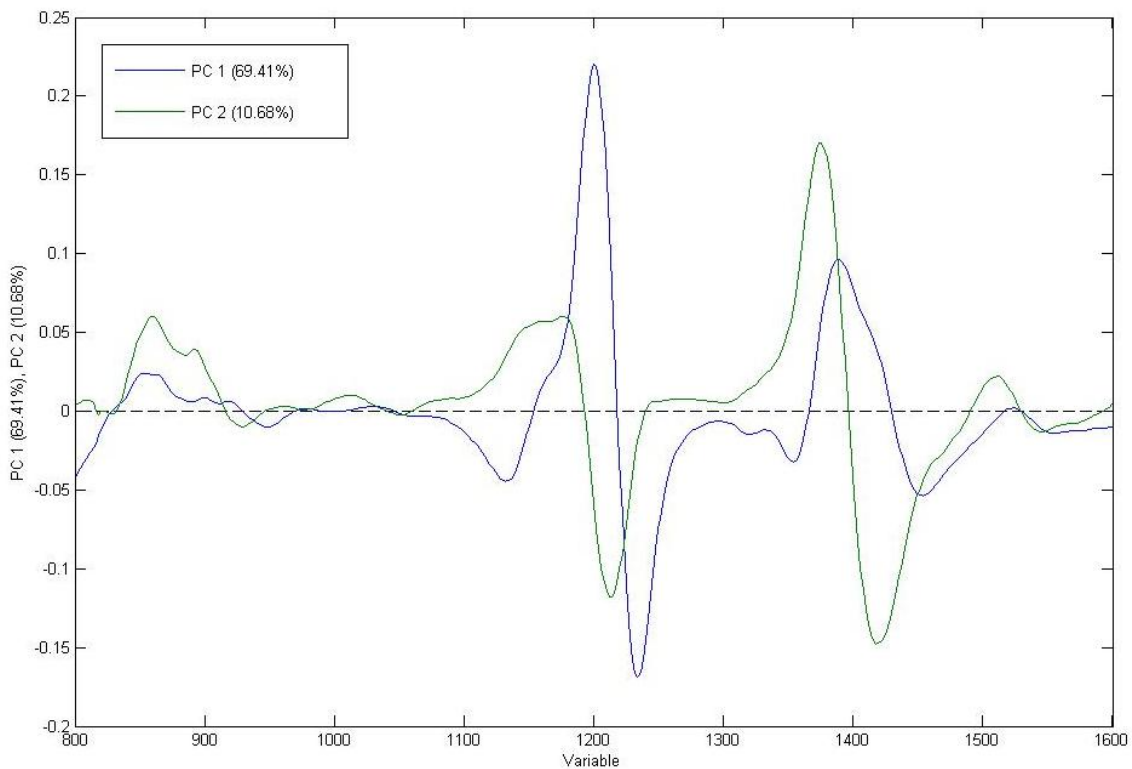
Με σκοπό την εξάλειψη τυχαίων ή συστηματικών σφαλμάτων, τα οποία επηρεάζουν την τιμή της απορρόφησης επιλέχθηκε η προ-επεξεργασία των φασματοσκοπικών δεδομένων με τη παραγωγή τους (1^{ου} βαθμού), τη μέθοδο smoothing και τη μέθοδο mean center.

Ανάλυση Κύριων Συνιστωσών (PCA)

Για τη διερευνητική μελέτη των φασματοσκοπικών δεδομένων χρησιμοποιήθηκε η ανάλυση κύριων συνιστωσών (PCA). Οι δύο πρώτες κύριες συνιστώσες ερμηνεύουν το 80,09% της διακύμανσης των φασματοσκοπικών δεδομένων. Η προβολή των δειγμάτων σε αυτές τις κύριες συνιστώσες (εικόνα 6.21) δείχνει μια διαφοροποίηση μεταξύ των βιολογικών και συμβατικών δειγμάτων.



Εικόνα 6.21: Διερευνητική μελέτη με την ανάλυση κύριων συνιστωσών. Score plot για βιολογικά και συμβατικά ελαιόλαδα



Εικόνα 6.22: Διερευνητική μελέτη με την ανάλυση κύριων συνιστωσών. Loading plot στις δύο πρώτες κύριες συνιστώσες

Από τη συνδυαστική αξιολόγηση του score plot, του loading plot και των αρχικών φασμάτων απορρόφησης, συνάγονται τα ακόλουθα:

- 1) παρατηρείται επικάλυψη μεταξύ των φασμάτων για τα ελαιόλαδα βιολογικής και συμβατικής καλλιέργειας
- 2) η πρώτη κύρια συνιστώσα συνδέεται με την απορρόφηση στο εύρος γύρω στα 1200-1250nm
- 3) η δεύτερη κύρια συνιστώσα συνδέεται με την απορρόφηση γύρω στα 1400nm.

Ανάλυση Διακριτότητας Μερικών Ελαχίστων Τετραγώνων (PLS-DA)

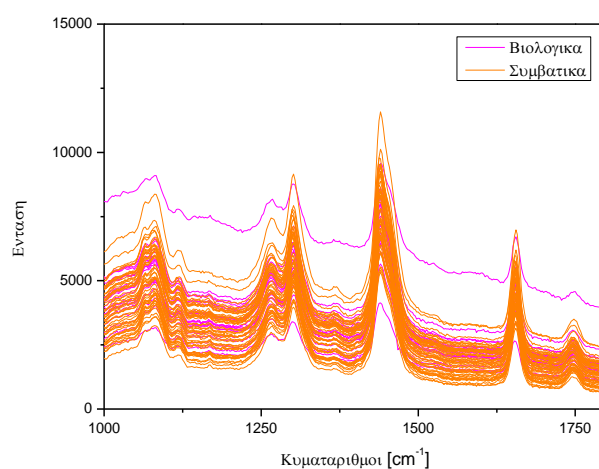
Για την επιβεβαίωση της ικανότητας της φασματοσκοπίας απορρόφησης εγγύς υπερύθρου ως προς τη διάκριση του τύπου καλλιέργειας του ελαιολάδου, χρησιμοποιήθηκε η χημειομετρική μέθοδος της ανάλυσης διακριτότητας μερικών ελαχίστων τετραγώνων.

Πίνακας 6.14: Κατηγοριοποίηση με βάση τον τύπο καλλιέργειας του ελαιολάδου

Cross Validation LV=5	Προβλεπόμενη Ομάδα		
	# Δειγμάτων	Βιολογικά	Συμβατικά
Βιολογικά	20	17	3
Συμβατικά	47	3	44

6.2.3 Φασματοσκοπία Raman

Αρχικά προβάλλεται το σύνολο των φασμάτων ($1000-1800\text{cm}^{-1}$) με σκοπό τον εντοπισμό ομοιοτήτων και διαφορών μεταξύ τους. Μεταξύ των φασμάτων παρατηρείται επικάλυψη.

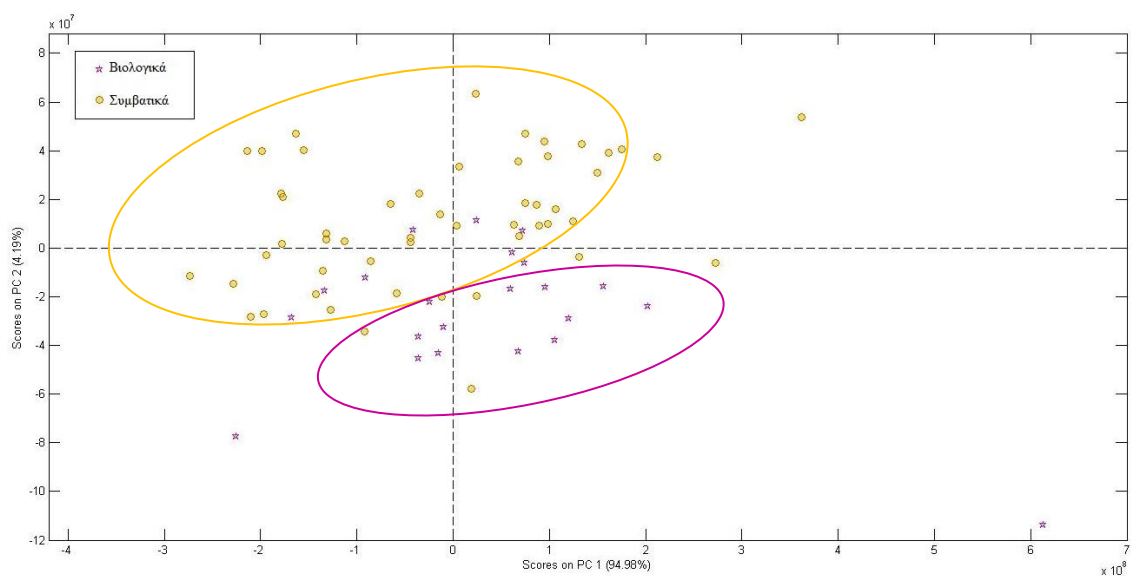


Εικόνα 6.23: Φάσματα Raman

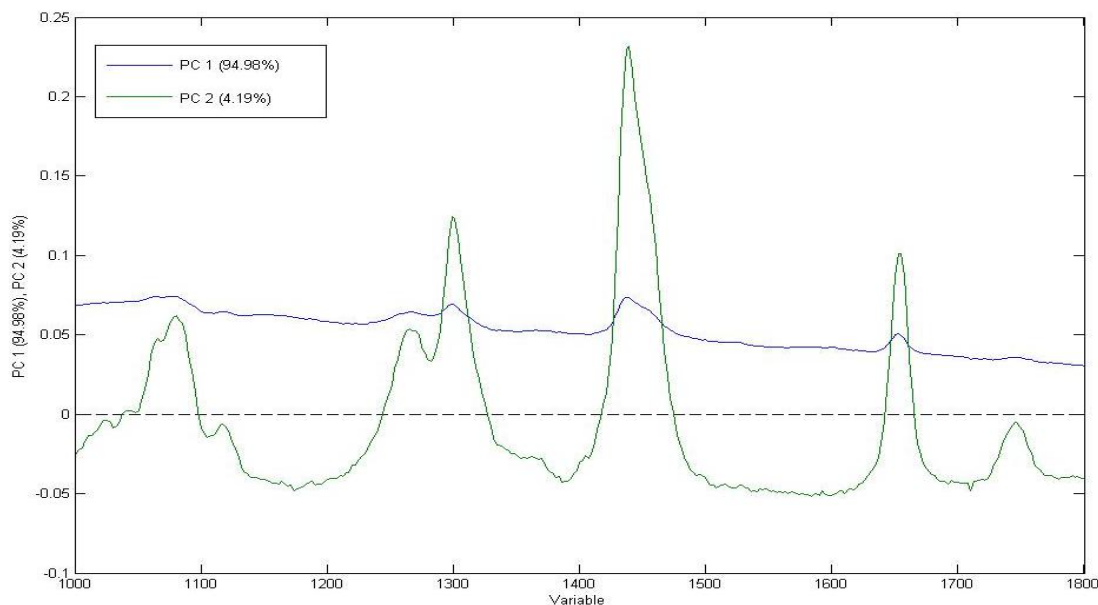
Με σκοπό την εξάλειψη τυχαίων ή συστηματικών σφαλμάτων, τα οποία επηρεάζουν την τιμή της απορρόφησης επιλέχθηκε η προ-επεξεργασία των φασματοσκοπικών δεδομένων με τη μέθοδο mean center.

Ανάλυση Κύριων Συνιστωσών (PCA)

Για τη διερευνητική μελέτη των φασματοσκοπικών δεδομένων χρησιμοποιήθηκε η ανάλυση κύριων συνιστωσών (PCA). Οι δύο πρώτες κύριες συνιστώσες ερμηνεύουν το 99,17% της διακύμανσης των φασματοσκοπικών δεδομένων. Η προβολή των δειγμάτων σε αυτές τις κύριες συνιστώσες (εικόνα 6.24) δείχνει έναν ικανοποιητικό διαχωρισμό, ο οποίος οφείλεται στη διαφορετική συγκέντρωση των λιπαρών οξέων μεταξύ συμβατικών και βιολογικών δειγμάτων [9].



Εικόνα 6.24: Διερευνητική μελέτη με την ανάλυση κύριων συνιστωσών. Score plot για βιολογικά και συμβατικά ελαιόλαδα



Εικόνα 6.25: Διερευνητική μελέτη με την ανάλυση κύριων συνιστωσών. Loading plot στις δύο πρώτες κύριες συνιστώσες

Από τη συνδυαστική αξιολόγηση του score plot, του loading plot και των αρχικών φασμάτων, συνάγονται τα ακόλουθα:

- 1) παρατηρείται επικάλυψη μεταξύ των φασμάτων για τα ελαιόλαδα βιολογικής και συμβατικής καλλιέργειας
- 2) η δεύτερη κύρια συνιστώσα συνδέεται με την απορρόφηση στους 1076, 1265, 1300, 1439, 1651 και 1747 cm^{-1} και είναι υπεύθυνη για τον διαχωρισμό των δειγμάτων βιολογικής και συμβατικής καλλιέργειας.

Ανάλυση Διακριτότητας Μερικών Ελαχίστων Τετραγώνων (PLS-DA)

Για την επιβεβαίωση της ικανότητας της φασματοσκοπίας Raman ως προς τη διάκριση του τύπου καλλιέργειας του ελαιολάδου, χρησιμοποιήθηκε η χημειομετρική μέθοδος της ανάλυσης διακριτότητας μερικών ελαχίστων τετραγώνων.

Πίνακας 6.15: Κατηγοριοποίηση με βάση τον τύπο καλλιέργειας του ελαιολάδου

Cross Validation LV=5	Προβλεπόμενη Ομάδα		
	# Δειγμάτων	Βιολογικά	Συμβατικά
Βιολογικά	21	19	2
Συμβατικά	46	4	42

Συμπεραίνοντας, η φασματοσκοπία απορρόφησης υπεριώδους είναι μια τεχνική ικανή να διαχωρίσει δείγματα ελαιολάδου με βάση τον τύπο της καλλιέργειας. Το ποσοστό επιτυχίας είναι 82,09%. Ο διαχωρισμός οφείλεται στο διαφορετικό φαινολικό δυναμικό των ελαιολάδων. Η φασματοσκοπία απορρόφησης εγγύς υπερύθρου είναι μια τεχνική ικανή να

διαχωρίσει δείγματα ελαιολάδου με βάση τον τύπο της καλλιέργειας. Το ποσοστό επιτυχίας είναι 91,04%. Ο διαχωρισμός οφείλεται στη διαφορετική σύσταση των ελαιολάδων σε λιπαρά οξέα και τριακυλογλυκερόλη. Η φασματοσκοπία απορρόφησης ορατού και η φασματοσκοπία φθορισμού είναι τεχνικές μη ικανές να διαχωρίσουν δείγματα ελαιολάδου με βάση τον τύπο της καλλιέργειας. Τέλος η φασματοσκοπία Raman είναι μια τεχνική ικανή να διαχωρίσει δείγματα ελαιολάδου με βάση τον τύπο καλλιέργειας. Το ποσοστό επιτυχίας είναι 91,04%. Ο διαχωρισμός οφείλεται στη διαφορετική σύσταση των ελαιολάδων σε λιπαρά οξέα.

Βιβλιογραφία

1. Beltran G. *et al.* Evaluation of virgin olive oil bitterness by total phenol content analysis. *Eur. J. Lipid Sci. Technol*, 2007, 109, 193-197.
2. Lazzerini C. *et al.* Pigments in extra virgin olive oils produced in different mediteranean countries in 2014: near UV-vis spectroscopy versus HPLC-DAD. *LWT- Food Science and Technology*, 2017, 84, 586-594.
3. Philippidis, A. *et al.* Comparative Study using Raman and Visible Spectroscopy of Cretan Extra Virgin Olive Oil Adulteration with Sunflower Oil. *Analytical Letters* 2017, 50, 1182–1195.
4. Yang H. *et al.* Comparison of Near-Infrared, Fourier transform-Raman methods for determining olive pomace oil adulteration in extra virgin olive oil. *JAOCS*, 2001, 78, 889-895.
5. Galtier O. *et al.* Geographical origins and compositions of virgin olive oils determined by chemometric analysis of NIR spectra. *Analytica Chimica Acta*, 2007, 595, 136-144.
6. Sikorska E. *et al.* Characterization of edible oils using total luminescence spectroscopy. *Journal of Fluorescence*, 2004, 14, 25-35.
7. Diaz T. G. *et al.* Simultaneous fluorometric determination of chlorophylls a and b and pheophytins a and b in olive oil by partial least squares calibration. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2003, 51, 6934-6940.
8. Lorez-Yerena A. *et al.* Effects of organic and conventional growing systems on the phenolic profile of extra-virgin olive oil. *Molecules*, 2019, 24, 2-14.
9. Gutierrez F. *et al.* Influence of ecological cultivation on virgin olive oil quality. *JAOCS*, 1999, 76, 617-621.

Συμπεράσματα

Η παρούσα μεταπτυχιακή διατριβή επικεντρώθηκε στον προσδιορισμό της ποιότητας και της προέλευσης των προϊόντων αγροδιατροφής, συγκεκριμένα κρασιού και ελαιολάδου. Για τη μελέτη αυτή χρησιμοποιήθηκε η φασματοσκοπία απορρόφησης υπεριώδους, ορατού, εγγύς υπερώθρου, φασματοσκοπία φθορισμού και φασματοσκοπία Raman. Πιο συγκεκριμένα, η διάκριση των ελαιολάδων έγινε με βάση την ποιότητα τους, υψηλής και χαμηλής ποιότητας ελαιόλαδα, καθώς και τον τύπο της καλλιέργειας (βιολογικά και συμβατικά).

Διακρίσεις διαφόρων ποικιλιών κρασιού επιτεύχθηκαν επίσης με τις οπτικές φασματοσκοπικές τεχνικές. Ακόμα πραγματοποιήθηκε διαχωρισμός των δειγμάτων κρασιού με βάση τον χρόνο και τον τρόπο ωρίμανσης. Τέλος πραγματοποιήθηκε συσχέτιση των φασματοσκοπικών δεδομένων με δεδομένα από άλλες αναλυτικές τεχνικές και κατασκευάστηκαν επιτυχημένα μοντέλα πρόβλεψης της φαινολικής σύστασης, της συγκέντρωσης σε ανθοκυανίνες και ταννίνες.