



**ΓΕΩΠΟΝΙΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ
ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ & ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ ΤΟΥ ΑΝΘΡΩΠΟΥ
ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΓΕΝΙΚΗΣ ΧΗΜΕΙΑΣ**

**ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ
ΤΡΟΦΙΜΑ ΔΙΑΤΡΟΦΗ ΚΑΙ ΥΓΕΙΑ**

Μεταπτυχιακή Διπλωματική Εργασία

Γεωγραφική διαφοροποίηση ελαιολάδου ποικιλίας Μεγαρείτικης με τη
χρήση χρωματογραφικών και φασματοσκοπικών τεχνικών σε
συνδυασμό με χημειομετρικές μεθόδους

Ειρήνη Κ. Ξέρα

Επιβλέπων καθηγητής:
Πέτρος Ταραντίλης, Καθηγητής ΓΠΑ

**ΑΘΗΝΑ
2021**

**ΓΕΩΠΟΝΙΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ
ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ & ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ ΤΟΥ ΑΝΘΡΩΠΟΥ
ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΓΕΝΙΚΗΣ ΧΗΜΕΙΑΣ**

Μεταπτυχιακή Διπλωματική Εργασία

Γεωγραφική διαφοροποίηση ελαιολάδου ποικιλίας Μεγαρείτικης με τη
χρήση χρωματογραφικών και φασματοσκοπικών τεχνικών σε
συνδυασμό με χημειομετρικές μεθόδους

“Geographical differentiation of Megareitiki olive oil using
chromatographic and spectroscopic techniques in combination with
chemometric methods”

Ειρήνη Κ. Ξέρα

Εξεταστική Επιτροπή:

Πέτρος Ταραντίλης, Καθηγητής ΓΠΑ (επιβλέπων)

Χρήστος Παππάς, Αναπληρωτής Καθηγητής ΓΠΑ

Χρυσανγή Γαρδέλη, Επίκουρος Καθηγήτρια ΓΠΑ

Γεωγραφική διαφοροποίηση ελαιολάδου ποικιλίας Μεγαρείτικης με τη χρήση χρωματογραφικών και φασματοσκοπικών τεχνικών σε συνδυασμό με χημειομετρικές μεθόδους

ΠΜΣ Τρόφιμα Διατροφή και Υγεία
Τμήμα Επιστήμης & Τεχνολογίας Τροφίμων & Διατροφής του Ανθρώπου
Εργαστήριο Γενικής Χημείας

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Αντικείμενο της παρούσας διπλωματικής μελέτης αποτέλεσε η ανάλυση δειγμάτων ελαιολάδου Μεγαρείτικης ποικιλίας από διαφορετικές περιοχές της Ελλάδας με σκοπό την γεωγραφική τους διαφοροποίηση. Τα δείγματα ελήφθησαν από την Πελοπόννησο, την Αττική και την Στερεά Ελλάδα.

Μέσω της ανάλυσης πραγματοποιήθηκε η ταυτοποίηση και ο ημιποσοτικός προσδιορισμός των πτητικών συστατικών με μικρο-εκχύλιση στερεής φάσης σε συνδυασμό με αέρια χρωματογραφία-φασματομετρία μάζας (SPME-GC-MS) και η ταυτοποίηση και ο ποσοτικός προσδιορισμός των λιπαρών οξέων με αέρια χρωματογραφία με ανιχνευτή ιοντισμού φλόγας (GC-FID). Το προφίλ των πτητικών ενώσεων και στις τρεις περιοχές χαρακτηρίστηκε από την υψηλή συγκέντρωση αλδευδών, ειδικά της C₆ αλδευδής 2-εξενάλη. Επίσης, σε ότι αφορά τα λιπαρά οξέα, το ελαϊκό οξύ ήταν πάντα η πιο άφθονη ένωση, φτάνοντας τουλάχιστον το 68,13% των συνολικών λιπαρών οξέων.

Επιπλέον, πραγματοποιήθηκε η μελέτη των φαινολικών συστατικών με υγρή χρωματογραφία υψηλής πίεσης σε συνδυασμό με ηλεκτροσπεκασμό και τετραπολική φασματομετρία μάζας χρόνου πτήσης (HPLC-ESI-QTOF-MS) καθώς και ο ποσοτικός προσδιορισμός των ολικών φαινολικών συστατικών με τη μέθοδο Folin-Ciocalteu. Επίσης, πραγματοποιήθηκε και η λήψη των φασμάτων FTIR-ATR.

Με βάση τα αποτελέσματα των παραπάνω αναλύσεων αλλά και των αποτελεσμάτων ποσοτικού προσδιορισμού των λιπαρών οξέων με GC-FID από τα εργαστήρια ΕΡΓΑΝΑΛ, πραγματοποιήθηκε η γεωγραφική διαφοροποίηση των δειγμάτων ελαιολάδου με την χρήση των μεθόδων της γραμμικής διακριτικής ανάλυσης (LDA) και της τετραγωνικής διακριτικής ανάλυσης (QDA). Ακόμα, πραγματοποιήθηκε η στατιστική ανάλυση της μη παραμετρικής συσχέτισης των δεδομένων με την χρήση των συντελεστών συσχέτισης Spearman's *rho*.

Έτσι λοιπόν, η γεωγραφική διαφοροποίηση των δειγμάτων ελαιολάδου ήταν επιτυχής με βάση τα πτητικά τους συστατικά και τα λιπαρά οξέα, με ποσοστό σωστής ταξινόμησης 96,67 % για την LDA και 100,00 % για την QDA. Τα συστατικά που φάνηκαν σημαντικά για αυτή την διαφοροποίηση είναι το λινολενικό οξύ, το παλμιτικό οξύ, το ελαϊκό οξύ, ο οξικός εξυλεστέρας και η 2,4-εξαδιενάλη. Επίσης, στην γεωγραφική διαφοροποίηση, φάνηκε να μην έχουν σημαντικό ρόλο τα ολικά φαινολικά συστατικά.

Επιστημονική περιοχή διατριβής: Χημεία Τροφίμων

Λέξεις κλειδιά: ελαιόλαδο, Μεγαρείτικη ποικιλία, πτητικά συστατικά, φαινολικά συστατικά, λιπαρά οξέα, FTIR-ATR, γεωγραφική διαφοροποίηση

Geographical differentiation of Megareitiki olive oil using chromatographic and spectroscopic techniques in combination with chemometric methods

*MSc Food Nutrition and Health
Department of Food Science & Technology & Human Nutrition
Laboratory of General Chemistry*

ABSTRACT

The object of this dissertation was the analysis of samples of olive oil of Megaritiki variety from different regions of Greece for the purpose of their geographical differentiation. The samples were taken from the Peloponnese, Attica and Central Greece.

Through the analysis, the identification and semi-quantitative determination of the volatile components was performed by solid phase micro-extraction in combination with gas chromatography-mass spectrometry (SPME-GC-MS) and the identification and quantification of fatty acids by GC-FID. The profile of volatile compounds in all three regions was characterized by the high concentration of aldehydes, especially C6 aldehyde 2-hexenal. Also, in terms of fatty acids, oleic acid has always been the most abundant compound, reaching at least 68.13% of total fatty acids

Also, the study of phenolic components by high pressure liquid chromatography in combination with electrospray and quadrupole flight time mass spectrometry (HPLC-ESI-QTOF-MS) was performed, as well as the quantification of total phenolic components by the Folin-Ciocalteu method. In addition, the FTIR-ATR spectra were taken.

Finally, the geographical differentiation of the olive oil samples was done by the statistical processing of the data obtained using the methods of linear discriminant analysis (LDA) and quadratic discriminant analysis (QDA). Furthermore, the statistical analysis of the non-parametric correlation of the data was performed using the Spearman's rho correlation coefficients.

Thus, the geographical differentiation of the olive oil samples was successful based on their volatile components and fatty acids, with a percentage of correct classification of 96.67% for the LDA and 100.00% for the QDA. The components that appeared to be important for this differentiation were linolenic acid, palmitic acid, oleic acid, hexyl acetate and 2,4-hexadienal. Also, in the geographical variation, the total phenolic components did not seem to play a significant role.

Dissertation scientific area: Food Chemistry

Keywords: olive oil, Megaritki variety, volatile constituents, phenolic constituents, fatty acids, FTIR-ATR, geographical variation

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Με την ολοκλήρωση της μεταπτυχιακής μου εργασίας, θα ήθελα να εκφράσω τις θερμές μου ευχαριστίες σε όλους όσους συνέβαλλαν στην εκπόνησή της.

Ευχαριστώ θερμά τον επιβλέποντα καθηγητή μου, κύριο Ταραντίλη Πέτρο, για την πολύτιμη υποστήριξή του, τις παραγωγικές υποδείξεις του και το πολύ καλό κλίμα συνεργασίας που διαμόρφωσε συμβάλλοντας τα μέγιστα για την κατάρτιση της διπλωματικής μου εργασίας.

Επιπλέον, θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά την τεχνολόγο τροφίμων και μεταδιδακτορική ερευνήτρια του ΓΠΑ, Παναγιώτα-Κυριακή Ρεβέλου, για την υπομονή της, την εμπιστοσύνη που μου έδειξε, αλλά και την πολύτιμη καθοδήγηση και υποστήριξη που μου παρείχε καθ' όλη τη διάρκεια αυτής της προσπάθειας μέχρι την ολοκλήρωση της διπλωματικής μου εργασίας.

Επιπροσθέτως, θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά τα εργαστήρια ΕΡΓΑΝΑΛ για την παροχή των αποτελεσμάτων ανάλυσης των λιπαρών οξέων των δειγμάτων ελαιολάδου που μελετήθηκαν στην παρούσα εργασία.

Επίσης, θα ήθελα να ευχαριστήσω όλους τους υποψήφιους διδάκτορες και τους συναδέλφους μου μεταπτυχιακούς φοιτητές για τις ανταλλαγές απόψεων, το ειλικρινές ενδιαφέρον τους και για τη σημαντική βοήθειά τους σε όλα τα στάδια της εργασίας.

Τέλος, θα ήθελα να απευθύνω τις ευχαριστίες μου στους γονείς μου για όλη την υποστήριξή τους, διότι χωρίς αυτή δεν θα είχα καταφέρει να υλοποιήσω τους στόχους μου.

ΠΙΝΑΚΑΣ ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΩΝ

ΠΕΡΙΛΗΨΗ.....	1
ABSTRACT.....	2
ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ.....	3
ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΣΥΝΤΟΜΟΓΡΑΦΙΩΝ.....	5
ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ ΕΙΚΟΝΩΝ.....	6
ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ ΠΙΝΑΚΩΝ.....	8
1.ΕΙΣΑΓΩΓΗ.....	10
1.1.ΕΛΑΙΟΛΑΔΟ.....	11
1.1.ΣΤΑΔΙΑ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ ΕΛΑΙΟΛΑΔΟΥ.....	12
1.2.ΚΑΤΗΓΟΡΙΕΣ ΕΛΑΙΟΛΑΔΟΥ.....	14
1.3.ΦΑΙΝΟΛΙΚΑ ΣΥΣΤΑΤΙΚΑ ΕΛΑΙΟΛΑΔΟΥ.....	15
1.4.ΠΤΗΤΙΚΑ ΣΥΣΤΑΤΙΚΑ ΕΛΑΙΟΛΑΔΟΥ.....	18
1.5.ΛΙΠΑΡΑ ΟΞΕΑ ΤΟΥ ΕΛΑΙΟΛΑΔΟΥ.....	23
1.6.ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ.....	25
2.ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ.....	26
2.1.ΜΕΘΟΔΟΙ ΚΑΙ ΥΛΙΚΑ.....	26
2.1.1.ΔΕΙΓΜΑΤΑ ΕΛΑΙΟΛΑΔΟΥ.....	26
2.1.2.ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗ ΠΟΡΕΙΑ ΓΙΑ ΤΗΝ ΤΑΥΤΟΠΟΙΗΣΗ ΚΑΙ ΤΟΝΗΜΠΟΣΟΤΙΚΟ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟ ΤΩΝ ΠΤΗΤΙΚΩΝ.....	27
2.1.3.ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗ ΠΟΡΕΙΑ ΓΙΑ ΤΟΝ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟ ΤΗΣΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΗΣ ΤΩΝ ΣΥΝΟΛΙΚΩΝ ΦΑΙΝΟΛΙΚΩΝ.....	30
2.1.4.ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗ ΠΟΡΕΙΑ ΓΙΑ ΤΗΝ ΑΝΑΛΥΣΗ ΤΟΥΦΑΙΝΟΛΙΚΟΥ ΚΛΑΣΜΑΤΟΣ (Q-TOF-MS).....	35
2.1.5.ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗ ΠΟΡΕΙΑ ΓΙΑ ΤΗΝ ΚΑΤΑΓΡΑΦΗΦΑΣΜΑΤΩΝ ATR-FTIR.....	36
2.1.6.ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗ ΠΟΡΕΙΑ ΓΙΑ ΤΗΝ ΑΝΑΛΥΣΗ ΤΩΝ.....	38
2.1.7.ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ.....	40
3.ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ-ΣΥΖΗΤΗΣΗ.....	41
3.1.ΤΑΥΤΟΠΟΙΗΣΗ ΚΑΙ ΗΜΠΟΣΟΤΙΚΟΣ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΤΩΝΠΤΗΤΙΚΩΝ ΣΥΣΤΑΤΙΚΩΝ (SPME-GC/MS).....	41
3.2.ΔΟΚΙΜΗ FOLIN-CIOCALTEU.....	45
3.3.ΑΝΑΛΥΣΗ ΦΑΙΝΟΛΙΚΟΥ ΚΛΑΣΜΑΤΟΣ (Q-TOF).....	47
3.4.ΚΑΤΑΓΡΑΦΗ ΦΑΣΜΑΤΩΝ ATR-FTIR.....	52
3.5.ΑΝΑΛΥΣΗ ΤΩΝ ΜΕΘΥΛΕΣΤΕΡΩΝ ΤΩΝ ΛΙΠΑΡΩΝ ΟΞΕΩΝ ΜΕΑΕΡΙΑ ΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΑ.....	53
3.6.ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ.....	55

4.ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ.....	71
5.ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....	72
5.1.ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....	72
5.2.ΞΕΝΗ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....	72
6.ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ.....	77
6.1.SPME- GC/MS.....	77
6.1.1.ΠΕΛΟΠΟΝΝΗΣΟΣ.....	77
6.1.2.ΑΤΤΙΚΗ.....	81
6.1.3.ΣΤΕΡΕΑ ΕΛΛΑΔΑ.....	87
6.2.FTIR-ATR.....	92
6.2.1.ΠΕΛΟΠΟΝΝΗΣΟΣ.....	92
6.2.2.ΑΤΤΙΚΗ.....	96
6.2.3.ΣΤΕΡΕΑ ΕΛΛΑΔΑ.....	102
6.3.GC-FID.....	107

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΣΥΝΤΟΜΟΓΡΑΦΙΩΝ

SPME-GC-MS (solid phase micro extraction-gas chromatography- mass spectrometry): μικρο-εκχύλιση στερεής φάσης σε συνδυασμό με αέρια χρωματογραφία-φασματομετρία μάζας

GC-FID (gas Chromatography with flame ionization detection): αέρια χρωματογραφία με ανιχνευτή ιοντισμού φλόγας

HPLC-ESI-QTOF-MS (high-performance liquid chromatography coupled to electrospray ionization quadropole time-of-flight mass spectrometry): υγρή χρωματογραφία υψηλής πίεσης σε συνδυασμό με ηλεκτροψεκασμό και τετραπολική φασματομετρία μάζας χρόνου πτήσης

FTIR-ATR (Fourier transform infrared spectroscopic method with attenuated total reflectance): φασματοσκοπική μέθοδος υπερύθρου μετασχηματισμού Fourier με εξασθενημένη ολική ανάκλαση

LDA (linear discriminant analysis): γραμμικής διακριτική ανάλυση

QDA (quadratic discriminant analysis): τετραγωνική διακριτική ανάλυση

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ ΕΙΚΟΝΩΝ

Εικόνα 1. Αριθμός ελαιοδένδρων ανά γεωγραφικό διαμέρισμα (Υπουργείο Αγροτικής Ανάπτυξης και Τροφίμων, 2016).....	10
Εικόνα 2. Γεωγραφική κατανομή των ελαιουργικών περιοχών (Cimato and Attilio, 2011).....	11
Εικόνα 3 Στάδια παραγωγής ελαιολάδου (Australian Olive Oil Association, 2021).....	14
Εικόνα 4 Χημικές δομές φαινολικών συστατικών του ελαιολάδου.....	16
Εικόνα 5. Σχηματική επισκόπηση του φασματομέτρου μάζας QToF (Alba, Lacorte and R., 2006).....	18
Εικόνα 6 Σχηματισμός πτητικών ενώσεων του ελαιολάδου από το 13-υδροπεροξειδίου του λινελαϊκού και του λινολενικού οξέος με την δράση ενζύμων (Angerosa, Basti and Vito 1999).....	19
Εικόνα 7. Πτητικές ενώσεις που έχουν ταυτοποιηθεί σε διαφορετικά είδη παρθένων ελαιολάδων (Morales and Tsimidou 2000).....	20
Εικόνα 8. Σχηματικό διάγραμμα μιας εμπορικής συσκευής SPME (Vas and Vékey, 2004).....	21
Εικόνα 9. Διαδικασία SPME για GC (Vas and Vékey, 2004).....	22
Εικόνα 10. Προφίλ λιπαρού οξέος δείγματος παρθένου ελαιολάδου που έχει ληφθεί με αέρια χρωματογραφία. Υπόμνημα κορυφών : 1-C16:0; 2-C16:1n7; 3-C17:0; 4-C17:1n7; 4-C18:0; 6-C18:1n9; 7-C18:2n6; 8-C20:0; 9-C20:1n9; 10-C18:3n3; 11-C22:0 (Amaral, Marfa and Oliveira , 2010).....	24
Εικόνα 11. Εκχύλιση των πτητικών συστατικών με μικροεκχύλιση στερεάς φάσης SPME.....	27
Εικόνα 12. Ανάλυση των πτητικών συστατικών σε αέριο χρωματογράφο-φασματογράφο μάζας.....	28
Εικόνα 13. Ζύγισμα ελαιολάδου.....	31
Εικόνα 14. Ογκομετρικός σωλήνας με 30 mL εξάνιου και το εξάνιο που χρησιμοποιήθηκε.....	31
Εικόνα 15. Διαχωριστική χοάνη με τις δύο φάσεις που έχουν σχηματιστεί από τις εκχυλίσεις με υδατική μεθανόλη (η πάνω είναι η φάση με το εξάνιο και η κάτω η μεθανολική φάση με τα φαινολικά).....	32
Εικόνα 16. Συνολικό μεθανολικό εκχύλισμα.....	32
Εικόνα 17. Ογκομετρική φιάλη των 25 mL με το εκχύλισμά μας αραιωμένο με υδατική μεθανόλη 60%.....	33
Εικόνα 18. Επώαση στο σκοτάδι και καλλιεργητικό τρυβλίο έτοιμο για επώαση.....	34
Εικόνα 19. Πρότυπη καμπύλη γαλλικού οξέος.....	34
Εικόνα 20. Agilent 6530 Q-TOF LC/MS.....	36
Εικόνα 21. Φασματοφωτόμετρο FT-IR Ostec IROS-05 5017.....	37
Εικόνα 22. GC Perkin Elmer Clarus 500.....	40
Εικόνα 23. Τυπικό χρωματογράφημα δείγματος ελαιολάδου.....	43
Εικόνα 24. Χρωματογράφημα φαινολικών συστατικών που ανιχνεύθηκαν στο δείγμα από την Πελοπόννησο (2: συριγγικό οξύ, 3: p-κουμαρικό οξύ, 4: καφεϊκό οξύ, 5: πρωτοκατεχικό οξύ, 6: p-υδροξυβενζοϊκό οξύ, 8: κινναμωμικό οξύ, 9: βενζοϊκό οξύ, 10: οξική υδροξυτυροσόλη).....	51
Εικόνα 25. Χρωματογράφημα φαινολικών συστατικών που ανιχνεύθηκαν στο δείγμα από την Στερεά Ελλάδα (3:p-κουμαρικό οξύ, 4:καφεϊκό οξύ, 5:πρωτοκατεχικό οξύ, 6: p-υδροξυβενζοϊκό οξύ, 8:κινναμωμικό οξύ, 10:οξική υδροξυτυροσόλη).....	52
Εικόνα 26. Φάσματα ATR-FTIR δειγμάτων ελαιολάδου Μεγαρείτικης ποικιλίας από την περιοχή της Αττικής, της Στερεάς Ελλάδας και της Πελοποννήσου, σε συχνότητα 4000-650	

cm ⁻¹	53
Εικόνα 27. Γεωγραφική διαφοροποίηση των δειγμάτων από την Αττική , την Πελοπόννησο και την Στερεά Ελλάδα με βάση τα πτητικά συστατικά χρησιμοποιώντας την βηματική διάκριση και την LDA.....	57
Εικόνα 28. Γεωγραφική διαφοροποίηση των δειγμάτων από την Αττική , την Πελοπόννησο και την Στερεά Ελλάδα με βάση τα πτητικά συστατικά χρησιμοποιώντας την βηματική διάκριση και την QDA.....	58
Εικόνα 29. Γεωγραφική διαφοροποίηση των δειγμάτων από την Αττική , την Πελοπόννησο και την Στερεά Ελλάδα με βάση τα λιπαρά οξέα χρησιμοποιώντας την βηματική διάκριση και την LDA.....	60
Εικόνα 30.Γεωγραφική διαφοροποίηση των δειγμάτων από την Αττική , την Πελοπόννησο και την Στερεά Ελλάδα με βάση τα λιπαρά οξέα χρησιμοποιώντας την βηματική διάκριση και την QDA.....	61
Εικόνα 31. Γεωγραφική διαφοροποίηση των δειγμάτων από την Αττική , την Πελοπόννησο και την Στερεά Ελλάδα με βάση τα λιπαρά οξέα και τα πτητικά συστατικά χρησιμοποιώντας την βηματική διάκριση και την LDA.....	63
Εικόνα 32. Γεωγραφική διαφοροποίηση των δειγμάτων από την Αττική , την Πελοπόννησο και την Στερεά Ελλάδα με βάση τα λιπαρά οξέα και τα πτητικά συστατικά χρησιμοποιώντας την βηματική διάκριση και την QDA.....	64
Εικόνα 33. Φάσματα ATR-FTIR δειγμάτων ελαιολάδου Μεγαρείτικης ποικιλίας από την περιοχή της Αττικής , της Στερεάς Ελλάδας και της Πελοποννήσου , σε συχνότητα 4000-650 cm ⁻¹ . Η φασματική σήμανση με διακεκομμένη γραμμή χρησιμοποιήθηκε για την γεωγραφική διαφοροποίηση δειγμάτων ελαιολάδου.....	67
Εικόνα 34. Γεωγραφική διαφοροποίηση των δειγμάτων από την Αττική , την Πελοπόννησο και την Στερεά Ελλάδα με βάση τα δεδομένα FTIR-ATR χρησιμοποιώντας την βηματική διάκριση και την LDA.....	68
Εικόνα 35. Γεωγραφική διαφοροποίηση των δειγμάτων από την Αττική , την Πελοπόννησο και την Στερεά Ελλάδα με βάση τα δεδομένα FTIR-ATR χρησιμοποιώντας την βηματική διάκριση και την QDA.....	68
Εικόνα 36. Χρωματικό διάγραμμα σχετικά με τις συσχετίσεις μεταξύ λιπαρών οξέων και πτητικών ενώσεων των δειγμάτων από τις τρεις γεωγραφικές περιοχές.....	70
Εικόνα 37.Χρωματογράφημα πτητικών συστατικών του δείγματος MEG_KOR_2018_01.....	77
Εικόνα 38.Χρωματογράφημα πτητικών συστατικών του δείγματος MEG_KOR_2019_92.....	78
Εικόνα 39. Χρωματογράφημα πτητικών συστατικών του δείγματος MEG_ARG_2018_72.....	78
Εικόνα 40. Χρωματογράφημα πτητικών συστατικών του δείγματος MEG_ARK_2019_103.....	79
Εικόνα 41. Χρωματογράφημα πτητικών συστατικών του δείγματος MEG_HLE_2019_102.....	79
Εικόνα 42. Χρωματογράφημα πτητικών συστατικών του δείγματος MEG_ARK_2019_187.....	80
Εικόνα 43. Χρωματογράφημα πτητικών συστατικών του δείγματος MEG_ARK_2019_188.....	80
Εικόνα 44. Χρωματογράφημα πτητικών συστατικών του δείγματος MEG_ATT_2019_156.....	81
Εικόνα 45. Χρωματογράφημα πτητικών συστατικών του δείγματος MEG_ATT_2019_157.....	81
Εικόνα 46. Χρωματογράφημα πτητικών συστατικών του δείγματος MEG_ATT_2019_160.....	82
Εικόνα 47. Χρωματογράφημα πτητικών συστατικών του δείγματος MEG_ATT_2019_161.....	82
Εικόνα 48. Χρωματογράφημα πτητικών συστατικών του δείγματος MEG_ATT_2019_163.....	83
Εικόνα 49. Χρωματογράφημα πτητικών συστατικών του δείγματος MEG_ATT_2019_164.....	83
Εικόνα 50. Χρωματογράφημα πτητικών συστατικών του δείγματος MEG_ATT_2019_165.....	84
Εικόνα 51. Χρωματογράφημα πτητικών συστατικών του δείγματος MEG_ATT_2019_191.....	84
Εικόνα 52. Χρωματογράφημα πτητικών συστατικών του δείγματος MEG_ATT_2019_192.....	85

Εικόνα 53. Χρωματογράφημα πτητικών συστατικών του δείγματος MEG_ATT_2019_216.....	85
Εικόνα 54. Χρωματογράφημα πτητικών συστατικών του δείγματος MEG_ATT_2019_217.....	86
Εικόνα 55. Χρωματογράφημα πτητικών συστατικών του δείγματος MEG_ATT_2019_78.....	86
Εικόνα 56. Χρωματογράφημα πτητικών συστατικών του δείγματος MEG_ATT_2019_82.....	87
Εικόνα 57. Χρωματογράφημα πτητικών συστατικών του δείγματος MEG_FTH_2019_94.....	87
Εικόνα 58. Χρωματογράφημα πτητικών συστατικών του δείγματος MEG_FTH_2019_97.....	88
Εικόνα 59. Χρωματογράφημα πτητικών συστατικών του δείγματος MEG_FTH_2019_93.....	88
Εικόνα 60. Χρωματογράφημα πτητικών συστατικών του δείγματος MEG_FTH_2019_95.....	89
Εικόνα 61. Χρωματογράφημα πτητικών συστατικών του δείγματος MEG_FTH_2019_96.....	89
Εικόνα 62. Χρωματογράφημα πτητικών συστατικών του δείγματος MEG_FTH_2019_98.....	90
Εικόνα 63. Χρωματογράφημα πτητικών συστατικών του δείγματος MEG_BOI_2018_46.....	90
Εικόνα 64. Χρωματογράφημα πτητικών συστατικών του δείγματος MEG_STE_2018_45.....	91
Εικόνα 65. Χρωματογράφημα πτητικών συστατικών του δείγματος MEG_EYB_2019_113.....	91
Εικόνα 66. Φάσμα FTIR-ATR του δείγματος MEG_ARG_2018_01.....	92
Εικόνα 67. Φάσμα FTIR-ATR του δείγματος MEG_ARG_2018_72.....	92
Εικόνα 68. Φάσμα FTIR-ATR του δείγματος MEG_ARK_2019_103.....	93
Εικόνα 69. Φάσμα FTIR-ATR του δείγματος MEG_ARK_2019_187.....	93
Εικόνα 70. Φάσμα FTIR-ATR του δείγματος MEG_ARK_2019_188.....	94
Εικόνα 71. Φάσμα FTIR-ATR του δείγματος MEG_KOR_2018_01.....	94
Εικόνα 72. Φάσμα FTIR-ATR του δείγματος MEG_KOR_2019_92.....	95
Εικόνα 73. Φάσμα FTIR-ATR του δείγματος MEG_HLE_2019_102.....	95
Εικόνα 74. Φάσμα FTIR-ATR του δείγματος MEG_ATT_2019_78.....	96
Εικόνα 75. Φάσμα FTIR-ATR του δείγματος MEG_ATT_2019_82.....	96
Εικόνα 76. Φάσμα FTIR-ATR του δείγματος MEG_ATT_2019_156.....	97
Εικόνα 77. Φάσμα FTIR-ATR του δείγματος MEG_ATT_2019_157.....	97
Εικόνα 78. Φάσμα FTIR-ATR του δείγματος MEG_ATT_2019_160.....	98
Εικόνα 79. Φάσμα FTIR-ATR του δείγματος MEG_ATT_2019_161.....	98
Εικόνα 80. Φάσμα FTIR-ATR του δείγματος MEG_ATT_2019_163.....	99
Εικόνα 81. Φάσμα FTIR-ATR του δείγματος MEG_ATT_2019_164.....	99
Εικόνα 82. Φάσμα FTIR-ATR του δείγματος MEG_ATT_2019_165.....	100
Εικόνα 83. Φάσμα FTIR-ATR του δείγματος MEG_ATT_2019_191.....	100
Εικόνα 84. Φάσμα FTIR-ATR του δείγματος MEG_ATT_2019_192.....	101
Εικόνα 85. Φάσμα FTIR-ATR του δείγματος MEG_ATT_2019_216.....	101
Εικόνα 86. Φάσμα FTIR-ATR του δείγματος MEG_ATT_2019_217.....	102
Εικόνα 87. Φάσμα FTIR-ATR του δείγματος MEG_BOI_2018_46.....	102
Εικόνα 88. Φάσμα FTIR-ATR του δείγματος MEG_EVOIA_2019_113.....	103
Εικόνα 89. Φάσμα FTIR-ATR του δείγματος MEG_FTH_2019_93.....	103
Εικόνα 90. Φάσμα FTIR-ATR του δείγματος MEG_FTH_2019_94.....	104
Εικόνα 91. Φάσμα FTIR-ATR του δείγματος MEG_FTH_2019_95.....	104
Εικόνα 92. Φάσμα FTIR-ATR του δείγματος MEG_FTH_2019_96.....	105
Εικόνα 93. Φάσμα FTIR-ATR του δείγματος MEG_FTH_2019_97.....	105
Εικόνα 94. Φάσμα FTIR-ATR του δείγματος MEG_FTH_2019_98.....	106
Εικόνα 95. Χρωματογράφημα λιπαρών οξέων του δείγματος MEG_APΓ_2018_72.....	107
Εικόνα 96. Χρωματογράφημα λιπαρών οξέων του δείγματος MEG_ΦΘΙ_2019_95.....	108
Εικόνα 97. Χρωματογράφημα λιπαρών οξέων του δείγματος MEG_ATT_2019_216.....	109

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ ΠΙΝΑΚΩΝ

Πίνακας 1. Φαινολικές ενώσεις στο παρθένο ελαιόλαδο (Carrasco-Pancorbo et al., 2005).....	15
Πίνακας 2. Λιπαρά οξέα ελαιολάδου (Κυριτσάκης, 2007).....	23
Πίνακας 3. Συγκέντρωση γαλλικού οξέος.....	34

Πίνακας4. Πτητικά συστατικά που ανιχνεύθηκαν στα δείγματα ελαιολάδου που αναλύθηκαν.	44
Πίνακας 5. Ολικά φαινολικά συστατικά των δειγμάτων που αναλύθηκαν.	46
Πίνακας6. Φαινολικά συστατικά που ανιχνεύθηκαν στα δείγματα ελαιολάδου που αναλύθηκαν.	50
Πίνακας7. Λιπαρά οξέα που ανιχνεύθηκαν στα δείγματα που αναλύθηκαν.	54
Πίνακας8. Ιδιοτιμές για τον διαχωρισμό με βάση τα πτητικά συστατικά.	56
Πίνακας9. Τυποποιημένοι κανονικοί συντελεστές διακριτικής λειτουργίας.	57
Πίνακας10. Μεταβλητές που επιλέχθηκαν από την βηματική μέθοδο.	59
Πίνακας11. Ιδιοτιμές για τον διαχωρισμό με βάση τα λιπαρά οξέα.	59
Πίνακας12. Τυποποιημένοι κανονικοί συντελεστές διακριτικής λειτουργίας.	59
Πίνακας13. Μεταβλητές που επιλέχθηκαν από την βηματική μέθοδο.	62
Πίνακας14. Ιδιοτιμές για τον διαχωρισμό με βάση τα λιπαρά οξέα και τα πτητικά συστατικά.	62
Πίνακας15. Τυποποιημένοι κανονικοί συντελεστές διακριτικής λειτουργίας.	62
Πίνακας16. Μεταβλητές που επιλέχθηκαν από την βηματική μέθοδο.	66
Πίνακας17. Ιδιοτιμές για τον διαχωρισμό με βάση τους κυματαριθμούς.	66
Πίνακας18. Τυποποιημένοι κανονικοί συντελεστές διακριτικής λειτουργίας.	66

1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Οι λαοί της Μεσογείου χρησιμοποιούν το ελαιόλαδο επί χιλιάδες χρόνια σαν το κύριο λίπος στην διατροφή τους καθώς αποτελεί μία από τις σημαντικότερες πηγές αντιοξειδωτικών και έχει μεγάλη διατροφική αξία λόγω των μονοακόρεστων λιπαρών οξέων που περιέχει.

Παράλληλα η κατανάλωση της ελιάς και του ελαιόλαδου ενισχύει σε μεγάλο βαθμό την υγεία του ανθρώπινου οργανισμού καθώς, μεταξύ άλλων :

- Αφομοιώνεται σε μεγάλο ποσοστό από τον οργανισμό προκαλώντας αίσθημα κορεσμού.
- Βελτιώνει την λειτουργία του στομάχου και του εντέρου.
- Περιέχει τα απαραίτητα λιπαρά οξέα για την ανάπτυξη νεογνών και βρεφών.
- Λόγω των πολυφαινολών του μπορεί να μειώνει τα επίπεδα της πίεσης του αίματος (αρτηριακή πίεση)
- Προλαμβάνει πολλά είδη καρκίνου, όπως καρκίνο του μαστού, του παχέος εντέρου, του προστάτη , του οισοφάγου κ.α. (International Olive Council, 2021).

Στην Ελλάδα υπάρχουν τουλάχιστον 24 ποικιλίες ελαιολάδου , με την πιο γνωστή την ποικιλία Κορωνέικη (**Olea europaea var. Microcarpa alba**) που απαντάται συνήθως στην Πελοπόννησο και στην Κρήτη. Άλλες ποικιλίες, όπως η Αμφίσσης (**Olea europaea var. med. rotunda**) και η Μεγαρείτικη (**Olea europaea var. argentata**) είναι πιο εμφανείς σε περιοχές όπως η Κεντρική Ελλάδα και η Θεσσαλία (Revelou et al., 2021).



Εικόνα 1. Αριθμός ελαιοδένδρων ανά γεωγραφικό διαμέρισμα (Υπουργείο Αγροτικής Ανάπτυξης και Τροφίμων, 2016)

1.1. ΣΤΑΔΙΑ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ ΕΛΑΙΟΛΑΔΟΥ

Τα στάδια παραγωγής του ελαιολάδου είναι τα εξής:

1. ΠΑΡΑΛΑΒΗ ΚΑΡΠΟΥ

Ο ελαιόκαρπος μεταφέρεται από τον ελαιώνα στο ελαιουργείο. Η παραμονή του εκεί, πριν την επεξεργασία, θα πρέπει να περιοριστεί στο ελάχιστο δυνατό για να αποφευχθούν τυχών αλλοιώσεις.

2. ΤΡΟΦΟΔΟΣΙΑ-ΑΠΟΦΥΛΛΩΣΗ

Η απομάκρυνση των φύλλων της ελιάς είναι απαραίτητη καθώς όταν συνθλίβονται μαζί με τον καρπό, το ελαιόλαδο αποκτά πικρίζουσα γεύση.

3. ΠΛΥΣΙΜΟ

Με το πλύσιμο απομακρύνονται ξένες ύλες που μεταφέρει ο ελαιόκαρπος (πχ σκόνη και χώμα). Επίσης, σε αυτό το στάδιο απομακρύνονται τυχόν ίχνη φυτοφαρμάκων που παραμένουν στον καρπό από τους ψεκασμούς.

4. ΣΠΑΣΙΜΟ-ΑΛΕΣΗ ΕΛΑΙΟΚΑΡΠΟΥ

Το συγκεκριμένο στάδιο αποτελεί το πρώτο κύριο στάδιο της επεξεργασίας του καρπού για την παραλαβή του ελαιολάδου, όπου ο καρπός μεταφέρεται με την βοήθεια μεταφορικού κοιλία στο σπαστήρα για άλεση.

5. ΜΑΛΑΞΗ

Η μάλαξη αποτελεί το πιο βασικό στάδιο, καθώς συντελεί στην συνένωση των μικρών ελαιοσταγονιδίων σε μεγαλύτερες σταγόνες ελαιολάδου.

6. ΔΙΑΧΩΡΙΣΜΟΣ ΤΟΥ ΕΛΑΙΟΛΑΔΟΥ ΑΠΟ ΤΗΝ ΕΛΑΙΟΖΥΜΗ

Ο διαχωρισμός του ελαιολάδου μπορεί να γίνει με τους εξής τρόπους:

➤ ΠΙΕΣΗ

Η εφαρμογή της πίεσης για τον διαχωρισμό του ελαιολάδου από τα άλλα συστατικά της ελαιοζύμης χρονολογείται από τότε που άρχισε η καλλιέργεια της ελιάς.

➤ ΦΥΓΟΚΕΝΤΡΙΣΗ

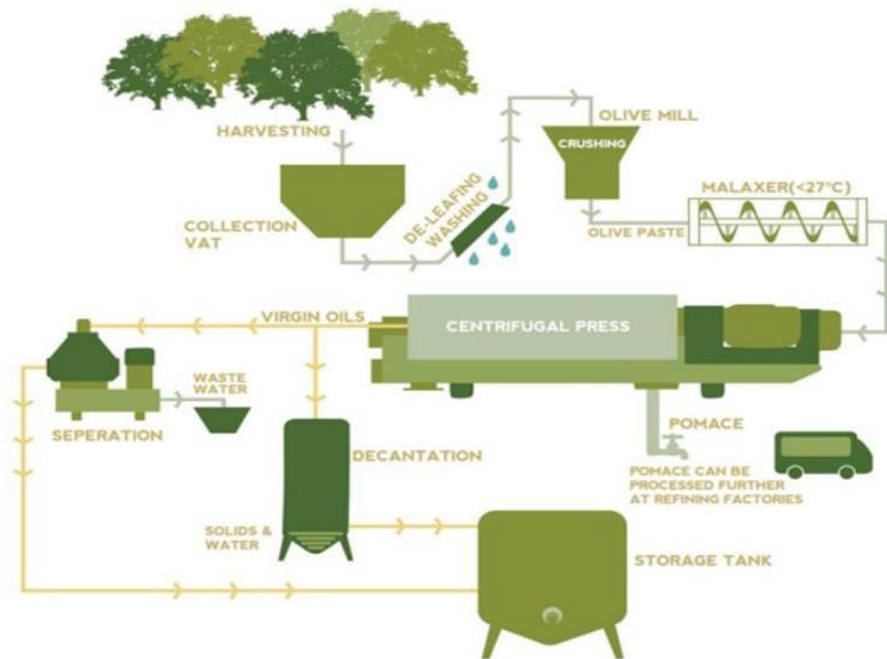
Η φυγοκέντριση βασίζεται στη διαφορά του ειδικού βάρους που παρουσιάζουν συστατικά της ελαιοζύμης (ελαιόλαδο, νερό και στερεά συστατικά). Ο διαχωρισμός επιτυγχάνεται μέσω ενός οριζόντιου φυγοκεντρίτη.

➤ ΣΥΝΑΦΕΙΑ

Το μηχάνημα στο οποίο εφαρμόζεται η συνάφεια λέγεται “Sinolea”. Όταν τα μεταλλικά ελάσματα του μηχανήματος έρχονται σε επαφή με την ελαιοζύμη, λόγω της μεγάλης συνάφειας ελαιολάδου-μετάλλου συγκροτούν μικρές ποσότητες ελαιολάδου, το οποίο στην συνέχεια απομακρύνεται με την μορφή σταγόνων και συγκεντρώνεται σε ειδική λεκάνη.

7. ΤΕΛΙΚΟΣ ΔΙΑΧΩΡΙΣΜΟΣ-ΚΑΘΑΡΙΣΜΟΣ ΕΛΑΙΟΛΑΔΟΥ

Για τον τελικό καθαρισμό του ελαιολάδου είναι απαραίτητο το πέρασμά του από τον ελαιοδιαχωριστήρα. Το ελαιόλαδο στην τελική του έξοδο από τον διαχωριστήρα θα πρέπει να είναι παχύρευστο (Κυριτσάκης, 2007).



Εικόνα 3 Στάδια παραγωγής ελαιόλαδου (Australian Olive Oil Association, 2021)

1.2. ΚΑΤΗΓΟΡΙΕΣ ΕΛΑΙΟΛΑΔΟΥ

Σύμφωνα με την οξύτητα, το ελαιόλαδο διακρίνεται στις παρακάτω κατηγορίες (Κυριτσάκης, 2007) (International Olive Council, 2020) :

- Εξαιρετικά παρθένο ελαιόλαδο με οξύτητα που δεν ξεπερνά το 0,8%
- Εκλεκτό παρθένο ελαιόλαδο με οξύτητα μικρότερη από 1,5%
- Κοινό παρθένο ελαιόλαδο του οποίου η οξύτητα είναι μικρότερη από 2,0%
- Εξευγενισμένο ή ραφινέ ελαιόλαδο το οποίο προκύπτει από υποβαθμισμένα ελαιόλαδα μετά από επεξεργασία τους με διάφορες φυσικοχημικές μεθόδους και έχει οξύτητα μικρότερη του 0,3%

- Ελαιόλαδο αποτελούμενο από εξευγενισμένα και παρθένα ελαιόλαδα με οξύτητα που δεν υπερβαίνει το 1,5%
- Ελαιόλαδο lampante (μειονεκτικό) με οξύτητα μεγαλύτερη του 2,0%
- Πυρηνέλαιο του οποίου η οξύτητα είναι μικρότερη του 1,5%

1.3. ΦΑΙΝΟΛΙΚΑ ΣΥΣΤΑΤΙΚΑ ΕΛΑΙΟΛΑΔΟΥ

Οι πολυφαινόλες είναι ένας ευρύτερος όρος που χρησιμοποιείται στη βιβλιογραφία φυσικών προϊόντων για τον ορισμό ουσιών που διαθέτουν δακτύλιο βενζολίου που φέρει μία ή περισσότερες υδροξυλομάδες, συμπεριλαμβανομένων και των λειτουργικών παραγώγων (Carrasco-Pancorbo et al., 2005).

Το παρθένο ελαιόλαδο περιέχει διαφορετικές κατηγορίες φαινολικών ενώσεων όπως φαινολικά οξέα, φαινολικές αλκοόλες, φλαβονοειδή, σεκοϊριδοειδή και λιγνάνες όπως αναφέρονται στον Πίνακα 1 (Carrasco-Pancorbo et al., 2005). Οι κυριότερες από τις φαινόλες που απαντούν στο ελαιόλαδο σε ελεύθερη και δεσμευμένη μορφή είναι η τυροσόλη και υδροξυτυροσόλη. Εκτός από τις δύο αυτές φαινολικές ενώσεις στο ελαιόλαδο έχουν ανιχνευθεί και φαινολικά οξέα όπως το καφεϊκό, το πρωτοκατεχικό και διάφορα άλλα (Κυριτσάκης, 2007).

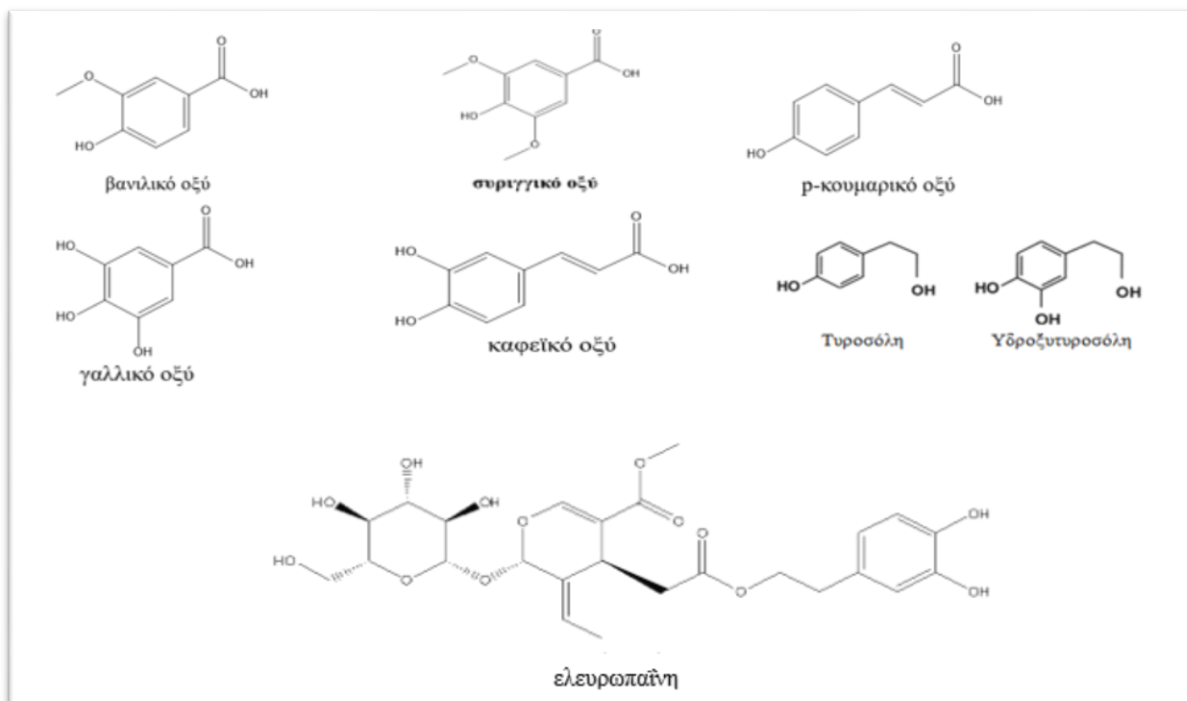
Τα ευεργετικά αποτελέσματα της μεσογειακής διατροφής μπορούν να αποδοθούν όχι μόνο στην υψηλή σχέση μεταξύ ακόρεστων και κορεσμένων λιπαρών οξέων του ελαιολάδου, αλλά και στην αντιοξειδωτική ιδιότητα των φαινολικών του ενώσεων. Ο πολτός των ελιών περιέχει αυτές τις ενώσεις, οι οποίες είναι υδρόφιλες, αλλά βρίσκονται και στο ελαιόλαδο (Tripoli et al., 2005).

Πίνακας 1. Φαινολικές ενώσεις στο παρθένο ελαιόλαδο (Carrasco-Pancorbo et al., 2005)

Φαινολικά οξέα	Φαινολικές αλκοόλες
βανιλικό οξύ	Υδροξυτυροσόλη
συριγγικό οξύ	Τυροσόλη

p-κουμαρικό οξύ	
καφεϊκό οξύ	Φλαβόνες
πρωτοκατεχικό οξύ	απιγενίνη
p-υδροξυβενζοϊκό οξύ	λουτεολίνη
φερουλικό οξύ	
κινναμωμικό οξύ	Λιγνάνες
βενζοϊκό οξύ	(+)-ακετοξυπινορεσινόλη
οξική υδροξυτυροσόλη	(+)-πινορεσινόλη
γαλλικό οξύ	

Σεκοϊριδοειδή
ελαιασίνη (3,4 DHPEA-EDA)
ελαιοκανθάλη (p-HPEA EDA)
άγλυκο ελευρωπαϊνή (3,4 DHPEA-EA)
άγλυκο του λιγκστροσίδη
ελευρωπαϊνή



Εικόνα 4 Χημικές δομές φαινολικών συστατικών του ελαιολάδου

Η περιεκτικότητα του ελαιολάδου σε φαινολικές ενώσεις εξαρτάται από τον τόπο καλλιέργειας, το κλίμα, την ποικιλία και το επίπεδο ωρίμανσης των ελιών κατά τη συγκομιδή. Το επίπεδό τους μειώνεται συνήθως με την υπερβολική ωρίμανση των ελιών, ακόμη και αν υπάρχουν κάποιες εξαιρέσεις σε αυτόν τον κανόνα. Για παράδειγμα, οι ελιές που καλλιεργούνται σε θερμότερα κλίματα, παρά την ταχύτερη ωρίμανσή τους, παράγουν έλαια πλουσιότερα σε φαινόλες. Τέλος, η φαινολική περιεκτικότητα του ελαιολάδου επηρεάζεται και από τη διαδικασία παραγωγής (Tripoli et al., 2005).

- ΔΟΚΙΜΗ FOLIN-CIOCALTEU

Η δοκιμή Folin – Ciocalteu (F – C) είναι μία από τις πιο δημοφιλείς δοκιμές για φαινολική ανάλυση. Η αρχή της ανάλυσης F-C είναι η μείωση του αντιδραστηρίου Folin Ciocalteu (FCR) παρουσία φαινολικών με αποτέλεσμα την παραγωγή μπλε μολυβδαινίου-βολφραμίου που μετρείται φασματοφωτομετρικά και η ένταση αυξάνεται γραμμικά με τη συγκέντρωση των φαινολικών στο μέσο αντίδρασης.

Το FCR παρέχει βελτίωση έναντι του αντιδραστηρίου Folin-Denis με την προσθήκη θειικού λιθίου στο αντιδραστήριο. Τα άλατα λιθίου μειώνουν την ποσότητα του ιζήματος που μπορεί να σχηματιστεί όταν χρησιμοποιούνται υψηλές συγκεντρώσεις αντιδραστηρίου για την αύξηση της αντιδραστικότητας του προσδιορισμού. Τέλος, η δοκιμή F – C είναι απλή και χρησιμοποιείται ευρέως για τον προσδιορισμό των συνολικών φαινολικών στα φρούτα και τα λαχανικά (Malta and Liu, 2014).

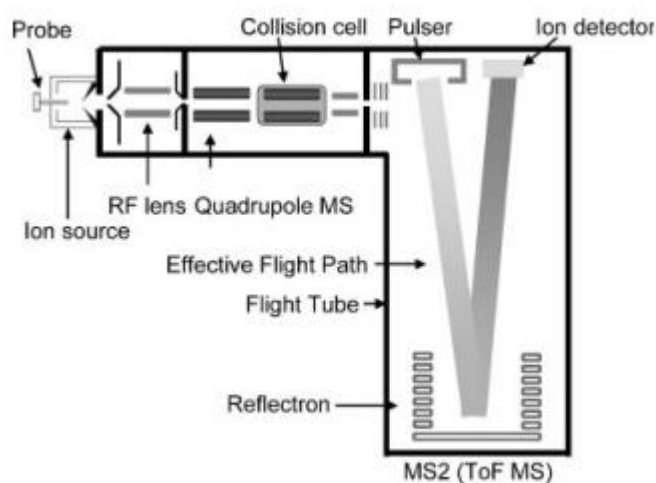
- ΑΝΑΛΥΣΗ ΥΓΡΗΣ ΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΑΣ ΥΨΗΛΗΣ ΠΙΕΣΗΣ ΣΕ ΣΥΝΔΥΑΣΜΟ ΜΕ ΗΛΕΚΤΡΟΨΕΚΑΣΜΟ ΚΑΙ ΤΕΤΡΑΠΟΛΙΚΗ ΦΑΣΜΑΤΟΜΕΤΡΙΑ ΜΑΖΑΣ ΧΡΟΝΟΥ ΠΤΗΣΗΣ (HPLC-ESI-QTOF-MS)

Η ακριβής αναγνώριση των φαινολικών ενώσεων μπορεί να είναι μία πολύπλοκη διαδικασία, επειδή περιέχουν πολλαπλές δομές. Σε αυτήν την περίπτωση, το HPLC-MS έχει αποδειχθεί ότι είναι ένα πολύ χρήσιμο εργαλείο για το χαρακτηρισμό των φυσικών προϊόντων. Ειδικά ο ιονισμός με ηλεκτροψεκασμό (ESI), επειδή είναι μια τεχνολογία μαλακού ιονισμού, μπορεί να παράγει ταυτόχρονα πρωτονιωμένα και μη πρωτονιωμένα μόρια, οπότε έχει χρησιμοποιηθεί ευρέως. Η ακριβής μέτρηση της μάζας των μικρών σωματιδίων χρησιμοποιείται για τον προσδιορισμό των τύπων στοιχείων, βοηθώντας έτσι στον εντοπισμό άγνωστων ουσιών.

Δεδομένου ότι οι ενώσεις σε πραγματικά δείγματα συν-εκλύονται και η φασματομετρία μάζας (MS) δεν είναι σε θέση να κάνει διάκριση μεταξύ ισοβαρών ουσιών, απαιτούνται δομικές

πληροφορίες όταν δεν είναι διαθέσιμες πρότυπες ενώσεις και αυτό μπορεί να ληφθεί μέσω MS / MS.

Η τετραπολική φασματομετρία μάζας χρόνου πτήσης (QTOF-MS) συνδυάζει την υψηλή ευαισθησία και την ακρίβεια μάζας των προδρόμων ιόντων και των ιόντων προϊόντων και παρέχει στοιχειακή σύνθεση προδρόμων ιόντων και θραυσμάτων ιόντων. Αυτή η λειτουργία βοηθά στην ταυτοποίηση των ενώσεων και τη διάκριση των ισοβαρών ενώσεων. Τέλος, αρκετές μελέτες έχουν τονίσει τη χρήση του HPLC-ESI-QTOF-MS για τον ποιοτικό έλεγχο (Quirantes-Piné et al., 2013).



Εικόνα 5. Σχηματική επισκόπηση του φασματόμετρου μάζας QToF (Alba, Lacorte and R., 2006).

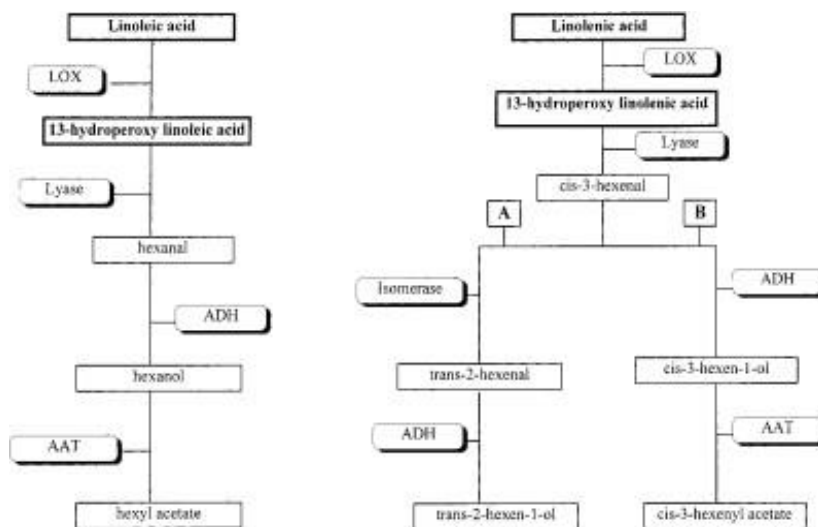
1.4. ΠΗΗΤΙΚΑ ΣΥΣΤΑΤΙΚΑ ΕΛΑΙΟΛΑΔΟΥ

Το ξεχωριστό άρωμα και η μοναδική γεύση του ελαιολάδου οφείλονται στην παρουσία ορισμένων πτητικών και μη πτητικών συστατικών (Κυριτσάκης, 2007). Οι πτητικές ενώσεις είναι ενώσεις χαμηλού μοριακού βάρους οι οποίες εξατμίζονται εύκολα σε θερμοκρασία δωματίου (Kalua et al., 2007).

Ο σχηματισμός των πτητικών συστατικών του ελαιοκάρπου που συνεισφέρουν στη διαμόρφωση του χαρακτηριστικού αρώματος του ελαιολάδου οφείλεται σε μία αλληλουχία ενζυμικών αντιδράσεων, η ταχύτητα των οποίων εξαρτάται από την τιμή του pH και τη

θερμοκρασία. Αρχικά σχηματίζεται με τη δράση της λιποξυγενάσης το 13-υδρο-υπερόξυ-9,11-δεκαοκταδιενικό λόγω ενζυμικής οξείδωσης του λινελαϊκού εστέρα που απεικοδομείται προς εξανάλη με τη δράση μιας λυάσης. Η αλδεΐδη μπορεί να αναχθεί ενζυμικά προς 1-εξανόλη. Με ανάλογο τρόπο, από το αντίστοιχο υδρουπεροξειδίο του λινολενικού οξέος προκύπτει η cis-3-εξανάλη, η οποία με τη δράση μιας ισομεράσης μετατρέπεται στην trans-2-εξανάλη. Από την ενζυμική αναγωγή αυτών των αλδεϋδών προκύπτουν η cis-3-εξανόλη και η trans-2-εξανόλη.

Υπάρχει επίσης μία άλλη ενζυμική οδός που ερμηνεύει τον σχηματισμό των προαναφερθέντων πτητικών καθώς και των αντίστοιχων οξικών εστέρων της 1-εξανόλης, της cis-3-εξανόλης και της trans-2-εξανόλης. Στη διεργασία αυτή εμπλέκεται εκτός από τη λιποξυγενάση και τη λυάση και μια ακυλυδρολάση. Η τελευταία καταλύει την υδρόλυση των τριγλυκεριδίων και των φωσφολιπιδίων προς λιπαρά οξέα. Τα πολυακόρεστα λιπαρά οξέα οξειδώνονται με τη δράση της λιποξυγενάσης προς τα 9- και 13-υδρουπεροξειδία του λινελαϊκού οξέος και του λινολενικού οξέος. Τελικά η λυάση συμβάλλει στο σχηματισμό πτητικών αλδεϋδών (εξανάλης και cis-εξανάλης), προϊόντων αποικοδόμησης του 13-υδρουπεροξειδίου του λινελαϊκού και του λινολενικού οξέος αντίστοιχα (Εικόνα 6) (Angerosa et al., 1999)



Εικόνα 6 Σχηματισμός πτητικών ενώσεων του ελαιολάδου από το 13-υδρουπεροξειδίο του λινελαϊκού και του λινολενικού οξέος με την δράση ενζύμων (Angerosa, Basti and Vito 1999)

Τα προφίλ των πτητικών συστατικών στα παρθένα ελαιόλαδα μπορεί να είναι αρκετά διαφορετικό, ανάλογα με την ποιότητα των ελαίων. Τα φρέσκα παρθένα ελαιόλαδα υψηλής ποιότητας έχουν ένα προφίλ που αποτελείται κυρίως από πτητικές ενώσεις που παράγονται από βιογενείς οδούς που είναι υπεύθυνες για τη γεύση του παρθένου ελαιολάδου. Το παρθένο ελαιόλαδο χαμηλότερης ποιότητας δείχνει συνήθως ένα πιο περίπλοκο προφίλ στο οποίο μπορεί να βρεθεί μεγαλύτερος αριθμός πτητικών ενώσεων. Αυτές οι ενώσεις είναι υπεύθυνες για τα

διάφορα αισθητηριακά ελαττώματα που μπορεί να προκληθούν στο ελαιόλαδο. Εκτός από τις πτητικές ενώσεις που είναι υπεύθυνες για την γεύση, πολλές πτητικές ενώσεις έχουν αναγνωριστεί σε παρθένα ελαιόλαδα από διάφορους συγγραφείς που έχουν χρησιμοποιήσει διαφορετικές αναλυτικές διαδικασίες (Εικόνα 7).

Παρόλο που η ποιοτική σύνθεση των πτητικών του παρθένου ελαιολάδου είναι παρόμοια, έχουν ανιχνευθεί ποσοτικές αλλαγές όταν μελετήθηκαν διάφορες ποικιλίες ελιάς, διαφορετικοί βαθμοί ωριμότητας και διαφορετικά συστήματα εξαγωγής ή ζώνες παραγωγής. Όπως αναμενόταν, η ποικιλία έχει μεγάλη σημασία στην παραγωγή πτητικών παρθένου ελαιολάδου, επειδή τα ένζυμα, που εξαρτώνται από τα γενετικά χαρακτηριστικά κάθε ποικιλίας, είναι υπεύθυνα για το σχηματισμό πτητικών ενώσεων. Ο χαρακτηρισμός των συστημάτων εκχύλισης μπορεί επίσης να πραγματοποιηθεί χρησιμοποιώντας πτητικές ενώσεις. Επίσης, ο βαθμός ωρίμανσης των φρούτων έχει επίσης μεγάλη επίδραση στην πτητική παραγωγή (Morales and Tsimidou, 2000).

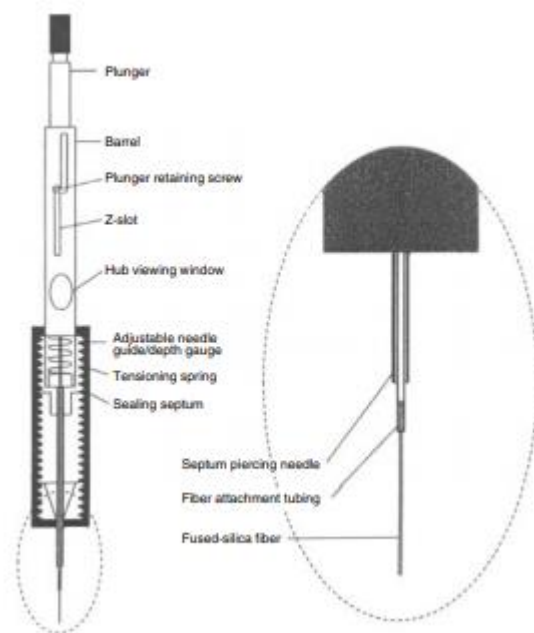
Aldehydes Acetaldehyde 2-Methylbutanal 3-Methylbutanal 2-Methyl-2-butenal Pentanal (E)-2-Pentenal (Z)-2-Pentenal Hexanal 2-Hexenal (E)-2-Hexenal (Z)-2-Hexenal 3-Hexenal (Z)-3-Hexenal 2,4-Hexadienal Heptanal (E)-2-Heptenal (Z)-2-Heptenal 2,4-Heptadienal Octanal (E)-2-Octenal Nonanal (E)-2-Nonenal 2,4-Nonadienal (E)-2-Decenal 2,4-Decadienal (E)-2-Undecenal Benzaldehyde	Alcohols Methanol Ethanol 2-Methyl-1-butanol 3-Methyl-1-butanol 2-Methyl-3-butenol 1-Pentanol 3-Pentanol 1-Hexanol 1-Penten-3-ol 3-Hexen-1-ol (E)-3-Hexen-1-ol (Z)-3-Hexen-1-ol 2-Hexen-1-ol (E)-2-Hexen-1-ol (Z)-2-Hexenol 4-Hexen-1-ol 1-Heptanol 1-Octanol 1-Octen-3-ol 2-Octen-1-ol 1-Nonanol 1-Decanol Lavandulol Linalool Benzyl alcohol 2-Phenylethanol α -Terpineol 2-Penten-1-ol	Esters Methyl acetate Ethyl acetate Butyl acetate 2-Methylbutyl acetate Isopentyl acetate Hexyl acetate 2-Hexenyl acetate 3-Hexenyl acetate (Z)-3-Hexenyl acetate Octyl acetate 2-Ethylphenyl acetate Benzyl acetate Phenethyl acetate Ethyl propanoate Propyl propanoate Ethyl 2-methylpropanoate Propyl 2-methylpropanoate Methyl butanoate Ethyl butanoate Methyl 2-methylbutanoate Ethyl 2-methylbutanoate Methyl 3-methylbutanoate Ethyl 3-methylbutanoate Butyl 3-methylbutanoate Methyl pentanoate Methyl hexanoate Ethyl hexanoate Methyl heptanoate Methyl octanoate	Hydrocarbons 2-Methylbutane 2-Methylpentane 3-Methylpentane Hexane Hexene Heptane Octane 1-Octene Nonane Tridecene Pentene dimers Methyl benzene Styrene Phenols Anisole	Ketones 2-Butanone 3-Methyl-2-butanone 3-Pentanone 4-Methyl-2-pentanone 1-Penten-3-one 2-Hexanone 2-Heptanone 6-Methyl-5-hepten-2-one 2-Octanone 3-Octanone 2-Nonanone Acetophenone Sulfur compounds 3-Isopropenylthiophene 2,5-Diethylthiophene 2-Ethyl-5-hexylthiophene Furans Ethylfuran 2-Propylfuran 3-Propylfuran 3-Methyl-2-pentylfuran 2-Propylidihydrofuran 3,4-Methyl-3-pentenyl furan Ethers Diethyl ether 1,8-Cineole
---	---	---	---	---

Εικόνα 7. Πτητικές ενώσεις που έχουν ταυτοποιηθεί σε διαφορετικά είδη παρθένων ελαιολάδων (Morales and Tsimidou 2000)

Τέλος, είναι σημαντικό να σημειωθεί ότι η υψηλότερη συγκέντρωση πτητικών συστατικών στο ελαιόλαδο παρατηρείται κατά την περίοδο που ο ελαιόκαρπος έχει αρχίσει να αλλάζει χρώμα από πρασινοκίτρινο σε μελανοιώδες. Το στάδιο αυτό συμπίπτει με τη μεγαλύτερη περιεκτικότητα του καρπού σε έλαιο (Κυριτσάκης, 2007).

- ΜΙΚΡΟ-ΕΚΧΥΛΙΣΗ ΣΤΕΡΕΗΣ ΦΑΣΗΣ (SPME)

Για την ανάλυση και τον προσδιορισμό των πτητικών συστατικών του παρθένου ελαιολάδου έχουν χρησιμοποιηθεί κατά καιρούς διάφορες τεχνικές. Μία από αυτές τις τεχνικές είναι και η μικρο-εκχύλιση στερεής φάσης (SPME) (Κυριτσάκης, 2007).



Εικόνα 8. Σχηματικό διάγραμμα μιας εμπορικής συσκευής SPME (Vas and Vékey, 2004)

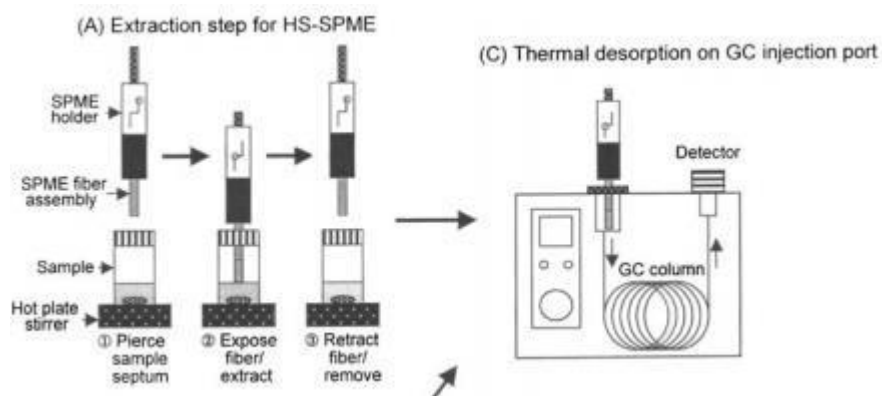
Η έννοια της μικρο-εκχύλιση στερεής φάσης (SPME) μπορεί να έχει προέλθει από την ιδέα μιας εμβαπτισμένης τριχοειδούς στήλης αέριας χρωματογραφίας (GC). Η συσκευή SPME είναι μια πολύ απλή συσκευή. Μοιάζει με τροποποιημένη σύριγγα (Εικόνα 8) που αποτελείται από ένα συγκρατητήρα ιών και ένα συγκρότημα ιών, το τελευταίο περιέχει μια ανασυρόμενη ίνα SPME μήκους 1-2 cm. Η ίδια η ίνα SPME είναι μια λεπτή συντηγμένη οπτική ίνα σίλικας, επικαλυμμένη με λεπτό φιλμ πολυμερούς (όπως πολυδιμεθυλοσιλοξάνιο (PDMS)), που χρησιμοποιείται συμβατικά ως υλικό επικάλυψης στη χρωματογραφία.

Υπάρχουν δύο τυπικές εφαρμογές SPME, αυτή της αέριας δειγματοληψίας (κενός χώρος (HS)) ή της δειγματοληψίας διαλυμάτων. Σε κάθε περίπτωση, η βελόνα SPME εισάγεται στην κατάλληλη θέση (π.χ. μέσω ενός διαφράγματος στον άνω χώρο), η βελόνα που προστατεύει την ίνα αποσύρεται και η ίνα εκτίθεται στο περιβάλλον. Η επικάλυψη πολυμερούς δρα σαν

σφουγγάρι, συγκεντρώνοντας τους αναλυτές με διαδικασίες απορρόφησης / προσρόφησης. Η εξαγωγή βασίζεται σε μια παρόμοια αρχή με τη χρωματογραφία, με βάση την κατανομή αερίου-υγρού ή υγρού-υγρού. Η κινητική της διαδικασίας εκχύλισης SPME εξαρτάται από έναν αριθμό παραμέτρων (π.χ. πάχος φιλμ, ανάδευση του δείγματος). Οι χρόνοι δειγματοληψίας είναι συνήθως της τάξης μερικών λεπτών.

Μετά τη δειγματοληψία, η ίνα αποσύρεται στη μεταλλική βελόνα (για μηχανική προστασία) και το επόμενο βήμα είναι η μεταφορά του αναλυτή από την ίνα στον χρωματογράφο. Η αέρια χρωματογραφία (GC ή GC / MS) είναι μία από τις προτιμώμενες χρησιμοποιούμενες τεχνικές. Σε αυτήν την περίπτωση, η θερμική εκρόφηση της αναλυόμενης ουσίας λαμβάνει χώρα στον θερμό εγχυτήρα GC. Μετά την εισαγωγή της βελόνας στον εγχυτήρα, η ίνα ωθείται έξω από τη μεταλλική βελόνα. Η άλλη κοινή επιλογή είναι η ανάλυση με HPLC (HPLC / MS).

Η επιλογή μεταξύ δειγματοληψίας και χρωματογραφίας εξαρτάται κυρίως από την πολικότητα και την πτητικότητα των αναλυτών. Τα πτητικά μελετώνται πιο εύκολα με ανάλυση HS ακολουθούμενη από GC (GC / MS). Δεδομένου ότι δεν υπάρχει διαλύτης (μόνο αυτός που απορροφάται από τις ίνες), χρησιμοποιείται συνήθως διαχωρισμένη ένεση και η ανάλυση είναι πολύ ευαίσθητη. Τα πολικά και μη πτητικά δείγματα μελετώνται συχνότερα με δειγματοληψία άμεσης εμβάπτισης (DI) (η ίνα βυθίζεται σε ένα υγρό), ακολουθούμενη από ανάλυση GC ή HPLC, πιθανώς με τριχοειδή ηλεκτροφόρηση (CE). Τέλος, οι ίνες δειγματοληψίας μπορούν να χρησιμοποιηθούν πολλές φορές, εκατοντάδες αναλύσεις στην περίπτωση ανάλυσης HS και δεκάδες φορές στην περίπτωση ανάλυσης εμβάπτισης (Vas and Vékéy, 2004).



Εικόνα 9. Διαδικασία SPME για GC (Vas and Vékéy, 2004).

1.5. ΛΙΠΑΡΑ ΟΞΕΑ ΤΟΥ ΕΛΑΙΟΛΑΔΟΥ

Τα λιπαρά οξέα που υπάρχουν στο ελαιόλαδο είναι το παλμιτικό (C16: 0), παλμιτελαϊκό (C16: 1), το στεατικό (C18: 0), το ελαϊκό (C18: 1), το λινελαϊκό (C18: 2) και το λινολενικό (C18: 3). Τα μυριστικά (C14: 0), επταδεκανοϊκά και εικοσανοϊκά οξέα βρίσκονται σε πολύ μικρές ποσότητες.

Η σύνθεση των λιπαρών οξέων μπορεί να διαφέρει από δείγμα σε δείγμα, ανάλογα με τη ζώνη παραγωγής, το γεωγραφικό πλάτος, το κλίμα, την ποικιλία και το στάδιο ωριμότητας του καρπού. Τα ελληνικά, τα ιταλικά και τα ισπανικά ελαιόλαδα είναι χαμηλά σε λινελαϊκό και παλμιτικό οξύ και έχουν υψηλό ποσοστό ελαϊκού οξέος (Boskou et al., 2006).

Επίσης, το ελαιόλαδο έχει σύνθεση λιπαρών οξέων παρόμοια με εκείνη του φουντουκέλαιου, του αμυγδαλέλαιου και των ηλιελαίων με υψηλή περιεκτικότητα σε ελαϊκό οξύ. Αυτή η σύνθεση διαφέρει σημαντικά από οποιονδήποτε άλλο τύπο βρώσιμου ελαίου και λίπους (Tsimidou, Blekas and Boskou, 2003).

Πίνακας 2. Λιπαρά οξέα ελαιολάδου (Κυριτσάκης, 2007)

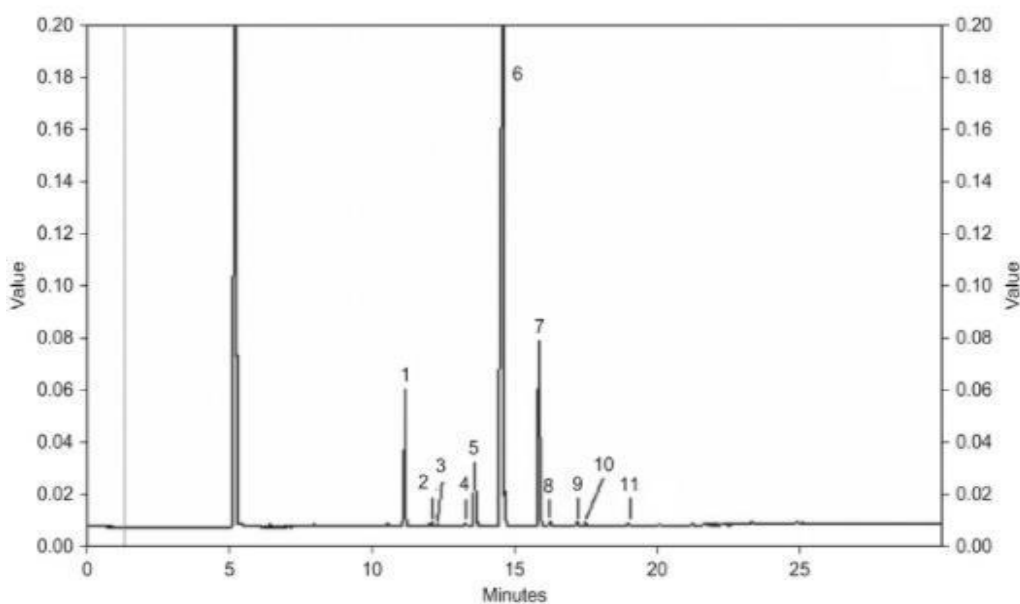
Λιπαρά Οξέα	Περιεκτικότητα (%)	Λιπαρά Οξέα	Περιεκτικότητα (%)
Ελαϊκό	56,0-83,0	Μυριστικό	ίχνη-0,1
Παλμιτικό	7,5-20,0	Αραχιδικό	μεγ. 0,8
Λινελαϊκό	3,5-20,0	Βεχενικό	μεγ. 0,2
Στεατικό	0,5-5,0	Λιγνοκερικό	μεγ. 1,0
Παλμιτελαϊκό	0,3-3,5	Δεκαεπτανοϊκό	μεγ. 0,5
Λινολενικό	ίχνη-1,5	Δεκαεπτενείκό	μεγ. 0,6

Τέλος, με βάση την ανάλυση δειγμάτων από διάφορες χώρες, τα ελαιόλαδα ταξινομούνται σε δύο τύπους, ο ένας με χαμηλή περιεκτικότητα σε λινελαϊκό –παλμιτικό οξύ και υψηλό ελαϊκό οξύ και ο άλλος με υψηλή περιεκτικότητα σε λινελαϊκό-παλμιτικό οξύ και χαμηλό ελαϊκό οξύ (Boskou et al., 2006).

- ΑΝΑΛΥΣΗ ΑΕΡΙΑΣ ΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΑΣ ΜΕ ΑΝΙΧΝΕΥΣΗ ΙΟΝΤΙΣΜΟΥ ΦΛΟΓΑΣ

Η αέρια χρωματογραφία (GC) μεθυλεστέρων λιπαρών οξέων με ανίχνευση ιοντισμού φλόγας(FID) είναι η πιο συχνή χρησιμοποιούμενη μέθοδος για την ανάλυση λιπαρών οξέων. Η έλευση των επικαλυμμένων χρωματογραφικών στηλών, τώρα διαθέσιμων με διαφορετικές στάσεις φάσεων, προσφέρει εξαιρετικές δυνατότητες ανάλυσης ανεξάρτητα από τον τύπο του δείγματος(Nc and Ge, 1992).

Ο ανιχνευτής ιοντισμού φλόγας (FID) είναι ο πιο δημοφιλής ανιχνευτής για το GC. Χρησιμοποιεί μια φλόγα που παράγεται από την καύση υδρογόνου και αέρα. Για βέλτιστη λειτουργία FID, ο φορέας, το υδρογόνο και η ροή αέρα πρέπει να ρυθμιστούν και να προσαρμοστούν σωστά (Wang and Jocelyn Paré, 1997).



Εικόνα 10. Προφίλ λιπαρού οξέος δείγματος παρθένου ελαιολάδου που έχει ληφθεί με αέρια χρωματογραφία. Υπόμνημα κορυφών : 1-C16:0; 2- C16:1n7; 3-C17:0; 4-C17:1n7; 4-C18:0; 6-C18:1n9; 7-C18:2n6; 8-C20:0; 9-C20:1n9; 10-C18:3n3; 11-C22:0 (Amaral,Marfa and Oliveira , 2010)

1.6. ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ

Είναι γνωστό ότι η σύνθεση των ελαιολάδων ποικίλλει ανάλογα με τη γεωγραφική προέλευση, λόγω ορισμένων διαφορετικών παραγόντων: διαφορές στο κλίμα, το έδαφος και τη γεωργική πρακτική. Ωστόσο, είναι επίσης γνωστό ότι τα κύρια και δευτερεύοντα συστατικά του ελαιολάδου επηρεάζονται το καθένα διαφορετικά από αυτούς τους παράγοντες. Ως εκ τούτου, η συνολική σχέση μεταξύ προέλευσης και σύνθεσης είναι λεπτή και μπορεί να μην παραμείνει συνεπής σε περισσότερες από μία συγκομιδές.

Η επαλήθευση της δηλωμένης προέλευσης ή ο προσδιορισμός της προέλευσης ενός αγνώστου ελαιολάδου είναι επομένως ένα δύσκολο πρόβλημα. Έχουν γίνει πολλές μελέτες που προσπαθούν να διευκρινίσουν τη σχέση μεταξύ της σύνθεσης και της γεωγραφικής προέλευσης χρησιμοποιώντας μια ποικιλία αναλυτικών τεχνικών (Tapp et al., 2003).

Με αυτόν τον τρόπο, πολλές μελέτες έχουν ταξινομήσει τα ελαιόλαδα σύμφωνα με τη γεωγραφική προέλευση μέσω στατιστικής ανάλυσης που εφαρμόζεται σε λιπαρά οξέα, σε σύνθεση πτητικών (αέρια χρωματογραφία, GC, με φασματομετρία μάζας, GC-MS) και δευτερεύοντα συστατικά, ειδικά φαινολικές ενώσεις. Στη βιβλιογραφία έχουν αναφερθεί αρκετές σημαντικές διαφορές μεταξύ του συνολικού φαινολικού περιεχομένου που υπολογίστηκε με φασματοφωτομετρική μέθοδο που βασίζεται στο αντιδραστήριο Folin Ciocalteu (Bakhouche et al., 2013; Tapp et al., 2003).

Μια άλλη τεχνική μοριακής φασματοσκοπίας, η φασματοσκοπία υπερύθρου μετασχηματισμού Fourier (FTIR), έχει αποδειχθεί ότι είναι χρήσιμη για την ανάλυση των ελαιολάδων παρόλο που δεν έχει χρησιμοποιηθεί αρκετά για την γεωγραφική διαφοροποίηση (Tapp et al., 2003). Επίσης, η FTIR είναι μια εύκολη, γρήγορη και οικονομικά αποδοτική μέθοδος και σε συνδυασμό με τη χημειομετρία, αποτελεί ένα τέλειο εργαλείο για γρήγορη ανάλυση και χαρακτηρισμό των συστατικών των τροφίμων (Revelou et al., 2021). Έτσι λοιπόν, σκοπός της παρούσας εργασίας ήταν η γεωγραφική διαφοροποίηση δειγμάτων ελαιολάδου Μεγαρείτικης ποικιλίας από την Πελοπόννησο, τη Στερεά Ελλάδα και την Αττική με τη χρήση χημειομετρικών μεθόδων.

Προκειμένου να πραγματοποιηθεί η γεωγραφική διαφοροποίηση των δειγμάτων ελαιολάδου χρησιμοποιήθηκε ο συνδυασμός των εξής τεχνικών, μεθόδων και αναλύσεων :

- Ταυτοποίηση και ημιποσοτικός προσδιορισμός των πτητικών συστατικών με μικρο-εκχύλιση στερεής φάσης σε συνδυασμό με αέρια χρωματογραφία-φασματομετρία μάζας (SPME-GC-MS).
- Ταυτοποίηση και ποσοτικός προσδιορισμός των λιπαρών οξέων με αέρια χρωματογραφία με ανιχνευτή ιοντισμού φλόγας (GC-FID).
- Μελέτη των φαινολικών συστατικών με υγρή χρωματογραφία υψηλής πίεσης σε συνδυασμό με ηλεκτροψεκασμό και τετραπολική φασματομετρία μάζας χρόνου πτήσης (HPLC-ESI-QTOF-MS) .
- Ποσοτικός προσδιορισμός των ολικών φαινολικών συστατικών με τη δοκιμή Folin-Ciocalteu.
- Λήψη των φασμάτων FTIR με την τεχνική της εξασθενημένης ολικής ανάκλασης (ATR).
- Στατιστική επεξεργασία των αποτελεσμάτων.
- Γεωγραφική διαφοροποίηση των δειγμάτων ελαιολάδου με τη χρήση της γραμμικής διακριτικής ανάλυσης (LDA) και της τετραγωνικής διακριτικής ανάλυσης (QDA).

2. ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

2.1. ΜΕΘΟΔΟΙ ΚΑΙ ΥΛΙΚΑ

2.1.1. ΔΕΙΓΜΑΤΑ ΕΛΑΙΟΛΑΔΟΥ

Συλλέχθηκαν συνολικά 30 δείγματα ελαιολάδου από τοπικούς παραγωγούς και ελαιοτριβεία κατά τη διάρκεια της περιόδου συγκομιδής 2018-2019. Αυτό το σετ δειγμάτων αποτελείται από ελαιόλαδα Μεγαρείτικης ποικιλίας που λαμβάνονται από τρεις διαφορετικές περιοχές: Πελοπόννησος (8 δείγματα), Αττική (13 δείγματα) και Στερεά Ελλάδα (9 δείγματα). Η δειγματοληψία πραγματοποιήθηκε κατά τους μήνες Νοέμβριο έως τα τέλη Ιανουαρίου. Τέλος, τα δείγματα ελαιολάδου αποθηκεύτηκαν σε γυάλινες σκουρόχρωμες φιάλες των 500 mL.

2.1.2. ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗ ΠΟΡΕΙΑ ΓΙΑ ΤΗΝ ΤΑΥΤΟΠΟΙΗΣΗ ΚΑΙ ΤΟΝ ΗΜΙΠΟΣΟΤΙΚΟ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟ ΤΩΝ ΠΤΗΤΙΚΩΝ ΣΥΣΤΑΤΙΚΩΝ (SPME-GC/MS)

Οι απορροφούμενες πτητικές ενώσεις αναλύθηκαν χρησιμοποιώντας ένα Thermo GC-TRACE ultra, διασυνδεδεμένο με ένα Thermo Mass Spectrometer DSQ II (Thermo Scientific Inc., Waltham, MA, USA). Επίσης, το πρόγραμμα που χρησιμοποιήθηκε για την ρύθμιση του μηχανήματος αλλά και για την λήψη των αποτελεσμάτων είναι το X-CALIBUR.

Τα βήματα που ακολουθήθηκαν στην ανάλυση αυτή είναι τα εξής :

1. Ζυγίζουμε 5 gr ελαιόλαδο σε γυάλινο φιαλίδιο.
2. Προσθέτουμε 1 μl β-ιονόνη (Alfa Aesar, Ward Hill, MA, USA) (εσωτερικό πρότυπο).
3. Ξεπλένουμε την σύριγγα του προτύπου 20 φορές με ακετόνη.
4. Τοποθετούμε ένα μαγνητάκι μέσα στο φιαλίδιο.
5. Βάζουμε το δείγμα μας για επώαση και ανάδευση στους 50 °C για 30 min.



Εικόνα 11. Εκχύλιση των πτητικών συστατικών με μικροεκχύλιση στερεάς φάσης SPME.

6. Παράλληλα βάζουμε και την ίνα διβινυλοβενζολίου / καρβοξενίου / πολυδιμεθυλοσιλοξανίου (DVB / CAR / PDMS) (Supelco, Bellefonte, PA, USA) με μήκος 1 cm. για θέρμανση (φούρνος : 40 °C και δεξιά είσοδος : 260 °C)
7. Μετά το πέρας των 30 min μεταφέρουμε την ίνα στο δείγμα για 15 min .
8. Ορίζουμε την μέθοδο <<clean >> στο μηχάνημα

9. Μετά το πέρας των 12,5 min το μηχάνημα είναι έτοιμο για την εισαγωγή του δείγματος.
10. Αφού κάνουμε την ένεση και περάσουν 3 min αποσύρουμε την ένεση από το μηχάνημα .
11. Τέλος, αφού ολοκληρωθεί ο διαχωρισμός των πτητικών παραλαμβάνουμε ταχρωματογραφήματα.



Εικόνα 12. Ανάλυση των πτητικών συστατικών σε αέριο χρωματογράφο-φασματογράφο μάζας..

Οι συνθήκες εκρόφησης ήταν:

- Θερμοκρασία εισόδου GC 260 °C για 3 min στη λειτουργία χωρίς διάσπαση με επένδυση μπεκ 0,8 mm (SGE International Pty Ltd, Αυστραλία).
- Η στήλη που χρησιμοποιήθηκε ήταν μία Restek Rtx-5MS, 30 m x 0,25 mm x 0,25 μm (Restek, Bellefonte, PA, USA).
- Ο ρυθμός ροής του ηλίου ήταν 1,0 mL / min.
- Η στήλη διατηρήθηκε στους 40 °C για 6 λεπτά.
- Στη συνέχεια θερμάνθηκε στους 120 °C με ρυθμό 5 °C / min και έπειτα θερμάνθηκε στους 160 °C με ρυθμό 3 °C / min.
- Τέλος, θερμάνθηκε στους 250 °C με ρυθμό 15 °C / min και διατηρήθηκε στους 250 °C για 1 min.

Οι συνθήκες MS ήταν οι εξής:

- Θερμοκρασία πηγής : 240 °C.
- Θερμοκρασία τετραπόλου : 150 °C.
- Θερμοκρασία γραμμής μεταφοράς: 290 °C και
- Εύρος μάζας m / z: 35–650

Τέλος, η ταυτοποίηση των κορυφών πραγματοποιήθηκε με σύγκριση των δεικτών κατακράτησης (RI) και των φασμάτων μάζας των εκλούόμενων ενώσεων με εκείνους της βιβλιοθήκης φασμάτων μάζας Wiley 275 καθώς και φασματικών δεδομένων και αριθμητικού δείκτη που παρέχονται από τον Adams.

Οι τιμές του δείκτη κατακράτησης (RI) πτητικών ενώσεων υπολογίστηκαν χρησιμοποιώντας πρότυπα n-αλκανίου (C8-C20) (Supelco, Bellefonte, PA, USA). Οι πτητικές ενώσεις ημιποσοτικοποιήθηκαν διαιρώντας τις περιοχές κορυφής των ενώσεων ενδιαφέροντος με την περιοχή κορυφής του εσωτερικού προτύπου (β-ιονόνη) και πολλαπλασιάζοντας αυτόν τον λόγο με την αρχική συγκέντρωση του εσωτερικού προτύπου (εκφραζόμενο σε mg kg⁻¹). Οι περιοχές αιχμής μετρήθηκαν σε πλήρη σάρωση χρωματογράφου χρησιμοποιώντας ολικό ρεύμα ιόντων (TIC) (Kosma et al., 2017).

2.1.3. ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗ ΠΟΡΕΙΑ ΓΙΑ ΤΟΝ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟ ΤΗΣ ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΗΣ ΤΩΝ ΣΥΝΟΛΙΚΩΝ ΦΑΙΝΟΛΙΚΩΝ ΣΥΣΤΑΤΙΚΩΝ (FOLIN CIOCALTEU)

Για τον προσδιορισμό της περιεκτικότητας σε ολικά φαινολικά συστατικά των δειγμάτων ελαιολάδου Μεγαρείτικης ποικιλίας πραγματοποιήθηκε αρχικά η εκχύλιση αυτών με την εξής διαδικασία :

- Ζυγίζουμε 10g ελαιόλαδο



Εικόνα 13. Ζύγισμα ελαιόλαδου

- Προσθέτουμε 30mL εξάνιο



Εικόνα 14. Ογκομετρικός σωλήνας με 30 mL εξανίου και το εξάνιο που χρησιμοποιήθηκε

- Στην συνέχεια τοποθετούμε το διάλυμά μας σε διαχωριστική χοάνη των 100 mL.

- Πραγματοποιούμε 3 εκχυλίσεις, με 8 mL υδατική μεθανόλη 60% σε κάθε εκχύλιση.



Εικόνα 15. Διαχωριστική χοάνη με τις δύο φάσεις που έχουν σχηματιστεί από τις εκχυλίσεις με υδατική μεθανόλη (η πάνω είναι η φάση με το εξάνιο και η κάτω η μεθανολική φάση με τα φαινολικά)

- Παραλαμβάνουμε και τα 3 εκχυλίσματα , που είναι τα μεθανολικά εκχυλίσματα (κάτω φάση στην διαχωριστική χοάνη).



Εικόνα 16. Συνολικό μεθανολικό εκχύλισμα

- Μεταφέρουμε το εκχύλισμά μας σε ογκομετρική φιάλη των 25 mL και αραιώνουμε με υδατική μεθανόλη 60%.

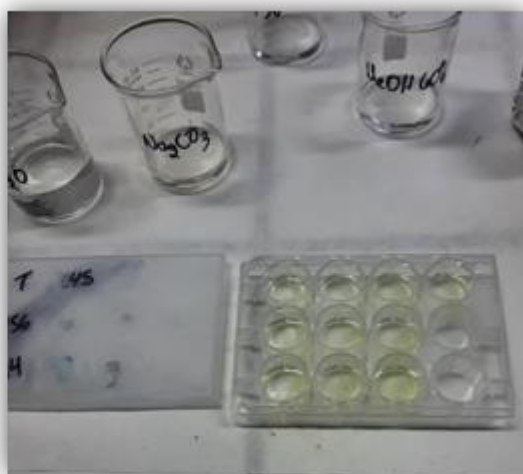


Εικόνα 17. Ογκομετρική φιάλη των 25 mL με το εκχύλισμά μας αραιωμένο με υδατική μεθανόλη 60%.

Στην συνέχεια, προκειμένου να προσδιοριστούν τα ολικά φαινολικά, παρασκευάστηκε διάλυμα ανθρακικού νατρίου Na_2CO_3 , 20% w/w με την εξής διαδικασία :

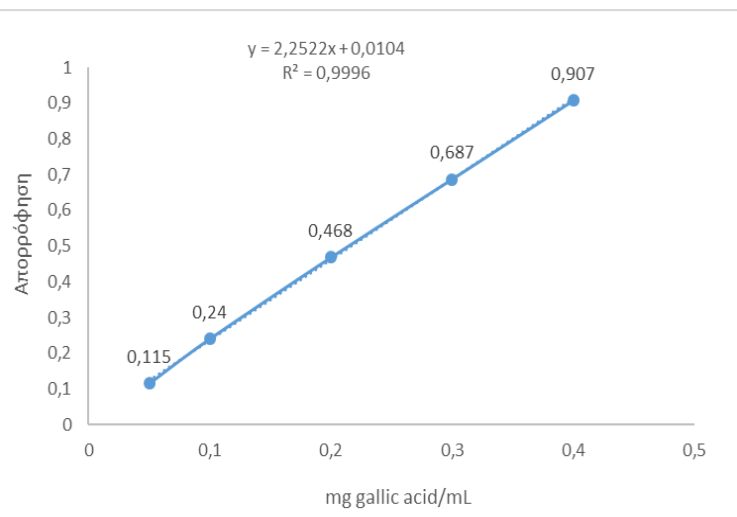
- Ζυγίζουμε 20g Na_2CO_3
- Διαλύουμε τα 20g Na_2CO_3 σε 100 mL απιονισμένο νερό

Ακολούθως, σε καλλιεργητικά τρυβλία 24 βοθρίων τοποθετούμε 1.5 mL απιονισμένο H_2O , 25 μL δείγματος και 125 μL αντιδραστηρίου Folin-Ciocalteu. Μετά από 3 min προσθέτουμε 375 μL διαλύματος Na_2CO_3 20% w/w και 475 μL απιονισμένου H_2O . Μετά από επώαση 2 ωρών στο σκοτάδι ακολούθησε η μέτρηση της απορρόφησης στα 725 nm στο φασματοφωτόμετρο υπεριώδους – ορατού (UV-Vis), μοντέλο V-1200 (VWR Spectrophotometers). Επίσης, όλα τα δείγματα μετρήθηκαν τρεις φορές.



Εικόνα 18. Επώαση στο σκοτάδι και καλλιεργητικό τρυβλίο έτοιμο για επώαση

Τέλος, τα αποτελέσματα εκφράζονται σε ισοδύναμα γαλλικού οξέος και για αυτό κατασκευάστηκε και πρότυπη καμπύλη, για την οποία παρασκευάστηκαν διαλύματα γνωστών συγκεντρώσεων γαλλικού οξέος και ακολουθήθηκε η ίδια διαδικασία με τα δείγματα.



Πίνακας 3. Συγκέντρωση γαλλικού οξέος

mg γαλλικού οξέος / mL	Απορρόφηση
0,4	0,907
0,3	0,687
0,2	0,468
0,1	0,24
0,05	0,115

Εικόνα 19. Πρότυπη καμπύλη γαλλικού οξέος

2.1.4. ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗ ΠΟΡΕΙΑ ΓΙΑ ΤΗΝ ΑΝΑΛΥΣΗ ΤΟΥ ΦΑΙΝΟΛΙΚΟΥ ΚΛΑΣΜΑΤΟΣ (Q-TOF-MS)

Τα φαινολικά συστατικά απομονώθηκαν από τα δείγματα ελαιολάδου εφαρμόζοντας τη μέθοδο της υγρής-υγρής εκχύλισης η οποία πραγματοποιήθηκε με τα εξής βήματα (Bakhouche et al., 2014):

- Περίπου 2,5 g έλαιο ζυγίστηκαν και διαλύθηκαν σε 5 mL εξάνιο.
- Στη συνέχεια προστέθηκαν 5 mL μεθανόλης.
- Ύστερα, το μίγμα ανακινήθηκε έντονα με στροβιλισμό και φυγοκεντρίστηκε στις 5000 rpm για 10 min στους 5°C.
- Έπειτα, το υδατομεθανολικό εκχύλισμα συμπυκνώθηκε σε περιστρεφόμενο εξατμιστήρα κενού στους 35°C
- Τέλος, το εκχύλισμα διαλύθηκε σε 1000 μ L μίγμα μεθανόλης/νερού (50/50,v/v) και διηθήθηκε με χρήση υδρόφιλου φίλτρου 0,45 μ m.

Στην συνέχεια για την ανάλυση του φαινολικού κλάσματος που απομονώθηκε και την ταυτοποίηση των φαινολικών συστατικών χρησιμοποιήθηκε η μέθοδος υγρής χρωματογραφίας σε συνδυασμό με φασματομετρία μάζας και τετραπολικό ιοντισμό με ηλεκτροψεκασμό (HPLC-QTOF-MS). Επίσης ,για την μέθοδο αυτή χρησιμοποιήθηκε το Agilent 6530 Q-TOF LC/MS και η στήλη υγρής χρωματογραφίας υψηλής πίεσης (HPLC) EC 100/4,6 NUCLEOSHELL Bluebird RP18, 2.7 μ m, 4,6 x 100 mm (Macherey-Nagel , Ντούρεν , Γερμανία).

Ως αέριο σύγκρουσης χρησιμοποιήθηκε το άζωτο, ενώ τα πειράματα διεξήχθησαν στον αρνητικό ιοντισμό με ηλεκτροψεκασμό. Η μέθοδος που εφαρμόστηκε είχε τις εξής παραμέτρους:

- Θερμοκρασία αερίου αποδιαλύτωσης, 300 °C.
- Ροή αερίου αποδιαλύτωσης, 10 l/min.
- Δυναμικό τριχοειδούς, 3500 V.
- Πίεση αερίου εκνεφωτή, 45 psig
- Δυναμικό θραυσματοποίησης, 170 V.

- Δυναμικό αποκορυφωτή / διαχωριστή ιόντων, 65 V.
- Ταχύτητα σάρωσης, 2 scan/sec.
- Εύρος ανιχνευόμενων μαζών, 50-1700 m/z .



Εικόνα 20. Agilent 6530 Q-TOF LC/MS.

2.1.5. ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗ ΠΟΡΕΙΑ ΓΙΑ ΤΗΝ ΚΑΤΑΓΡΑΦΗ ΦΑΣΜΑΤΩΝ ATR-FTIR

Τα φάσματα FTIR ελήφθησαν χρησιμοποιώντας ένα φασματοφωτόμετρο FT-IR Ostec IROS-05 5017 (Simex Co.,Ltd, Russia), μαζί με ένα οριζόντιο αξεσουάρ ATR με κρύσταλλο ZnSe (Spectra-Tech Inc., Inc. Stamford, CT, ΗΠΑ) και το λογισμικό ZaIR 3.5.



Εικόνα 21. Φασματοφωτόμετρο FT-IR Ostec IROS-05 5017.

Για την καταγραφή των φασμάτων ακολουθήθηκε η εξής διαδικασία:

- Ένα δείγμα 200 μL ελαιολάδου χύθηκε στον κρύσταλλο ATR.
- Στην συνέχεια, τα φάσματα καταγράφηκαν με ανάλυση 4 cm^{-1} και 100 σαρώσεις και η ταχύτητα του κινούμενου καθρέφτη ήταν $0,6329\text{ mm / s}$.
- Έπειτα, συλλέχθηκε ένα φάσμα φόντου χρησιμοποιώντας μόνο τον κρύσταλλο ATR, πριν από την καταγραφή του φάσματος κάθε δείγματος.
- Τέλος, τα φάσματα ATR-FTIR εξομαλύνονταν χρησιμοποιώντας τον αλγόριθμο Savitsky – Golay (κινούμενο πολυώνυμο δευτέρου βαθμού κινήσεων 5 σημείων) και η βασική γραμμή διορθώθηκε χρησιμοποιώντας την «αυτόματη σωστή συνάρτηση γραμμής βάσης» (πολυωνύμων δευτέρου βαθμού, είκοσι επαναλήψεις).

Τα φάσματα ATR-FTIR των δειγμάτων ελαιολάδου καταγράφηκαν εις τριπλούν και μετρήθηκε και ομαλοποιήθηκε το μέσο φάσμα κάθε δείγματος. Κάθε μέσο φάσμα εξήχθη και αποθηκεύτηκε ως αρχείο csv για χρήση τους στη στατιστική ανάλυση. Η συλλογή και

επεξεργασία φασματικών δεδομένων πραγματοποιήθηκε χρησιμοποιώντας το OMNIC ver. 9.1.24 λογισμικό (Thermo Fisher Scientific Inc., Waltham, MA, USA).

2.1.6. ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗ ΠΟΡΕΙΑ ΓΙΑ ΤΗΝ ΑΝΑΛΥΣΗ ΤΩΝ ΜΕΘΥΛΕΣΤΕΡΩΝ ΤΩΝ ΛΙΠΑΡΩΝ ΟΞΕΩΝ ΜΕ ΑΕΡΙΑ ΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΑ.

Αρχικά, για την παρασκευή μεθυλεστέρων λιπαρών οξέων ελαιολάδου ακολουθήθηκε η μέθοδος της μετεστεροποίησης σε μεθανολικό διάλυμα υδροξειδίου του καλίου σε θερμοκρασία δωματίου, το πρώτο στάδιο της οποίας είναι ο καθαρισμός των δειγμάτων που γίνεται ως εξής :

- Τα δείγματα καθαρίζονται με διοχέτευση του ελαίου από φύσιγγα εκχύλισης στερεάς φάσης από διοξείδιο του πυριτίου.
- Φύσιγγα διοξειδίου του πυριτίου τοποθετείται σε συσκευή εκλούσεως υπό κενό και πλένεται με 6 mL εξανίου.
- Η πλύση πραγματοποιείται σε ατμοσφαιρική πίεση.
- Στη συνέχεια, εισάγεται στη στήλη διάλυμα ελαίου (περίπου 0,12 g) σε 0,5 mL εξανίου για εισαγωγή του διαλύματος στο διοξείδιο του πυριτίου
- Στη συνέχεια γίνεται έκλουση με 10 mL εξανίου/διαιθυλαιθέρα (87:13 v/v).
- Το σύνολο των εκλουσμάτων ομοιογενοποιείται και χωρίζεται σε δύο ίσα μέρη.
- Το ένα εκ των δύο μερών εξατμίζεται μέχρι ξηράνσεως σε περιστροφικό εξατμιστήρα υπό ελαττωμένη πίεση και σε θερμοκρασία περιβάλλοντος.
- Το υπόλειμμα διαλύεται σε 1 mL επτανίου.
- Τέλος, το λαμβανόμενο διάλυμα είναι έτοιμο για την ανάλυση των λιπαρών οξέων με αέριο χρωματογράφο.

Έπειτα, τα βήματα που ακολουθήθηκαν για την παρασκευή των μεθυλεστέρων των λιπαρών οξέων είναι τα εξής :

- Αρχικά, σε δοκιμαστικό σωλήνα με βιδωτό πώμα των 5 mL, ζυγίζονται περίπου 0,1 g δείγματος ελαίου.
- Έπειτα, προστίθενται 2 mL επτανίου και αναδεύονται.
- Ακολούθως, προστίθενται 0,2 mL μεθανολικού διαλύματος υδροξειδίου του καλίου, ο σωλήνας πωματίζεται με το εφοδιασμένο με παρέμβυσμα από PTFE πώμα και το όλον αναδεύεται ισχυρά επί 30 δευτερόλεπτα.
- Ο σωλήνας αφήνεται σε ηρεμία μέχρις ότου το πάνω μέρος του διαλύματος καταστεί διαυγές.
- Η άνω στιβάδα, η οποία και περιέχει τους μεθυλεστέρες, μεταγγίζεται.
- Τέλος, το διάλυμα επτανίου είναι έτοιμο για έγχυση στον αέριο χρωματογράφο.

Η ανάλυση της αέριας χρωματογραφίας πραγματοποιήθηκε με τον αέριο χρωματογράφο (GC) Perkin Elmer Clarus 500, για την ταυτοποίηση των λιπαρών οξέων, με ανιχνευτή ιοντισμού φλόγας (FID), για την ποσοτικοποίηση των λιπαρών οξέων και την στήλη σίλικας SP 2560 Capillary GC (Supelco, Bellefonte, PA, USA) με διαστάσεις 75 m x 0.18 mm x 0.14 μm.

Το ήλιο χρησιμοποιήθηκε ως αέριο φορέας με ρυθμό ροής 1,5 mL/min. Ο όγκος της ένεσης που χρησιμοποιήθηκε ήταν 1 μL και ο εγχυτήρας λειτούργησε στους 250 °C σε κατάσταση διάσπασης (αναλογία διάσπασης 20: 1). Η στήλη διατηρήθηκε στους 140 °C για 5 λεπτά, θερμάνθηκε στους 170 °C με ρυθμό 8 °C/min, θερμάνθηκε στους 210 °C με ρυθμό 2 °C/min διατηρήθηκε για 2 λεπτά, θερμάνθηκε στους 250 °C με ρυθμό 20 °C/min και διατηρήθηκε στους 250 °C για 10 λεπτά. Τα λιπαρά οξέα αναγνωρίστηκαν με βάση τους χρόνους διατήρησής τους, χρησιμοποιώντας ένα πρότυπο μείγμα (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA). Το περιεχόμενο λιπαρών οξέων εκφράστηκε ως ποσοστό m/m από την περιοχή της κορυφής.



Εικόνα 22. GC Perkin Elmer Clarus 500.

2.1.7. ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ

Η στατιστική ανάλυση πραγματοποιήθηκε με το λογισμικό XLSTAT ver. 2021.3.1.0 (Addinsoft Deutschland, Andernach, Γερμανία) και το λογισμικό JMP Pro 13.2.1(SAS Institute, Κάρι, Βόρεια Καρολίνα, ΗΠΑ). Πριν από τη στατιστική ανάλυση τα δεδομένα τυποποιήθηκαν. Με το λογισμικό XLSTAT ver. 2021.3.1.0 (Addinsoft Deutschland, Andernach, Γερμανία) πραγματοποιήθηκε στα 30 δείγματα ανάλυση γραμμικής (Linear Discriminant Analysis , LDA) και τετραγωνικής (Quadratic Discriminant Analysis, QDA) διάκρισης. Ενώ, με το λογισμικό JMP Pro 13.2.1(SAS Institute, Κάρι, Βόρεια Καρολίνα, ΗΠΑ) πραγματοποιήθηκε η ανάλυση της συσχέτισης.

3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ-ΣΥΖΗΤΗΣΗ

3.1. ΤΑΥΤΟΠΟΙΗΣΗ ΚΑΙ ΗΜΙΠΟΣΟΤΙΚΟΣ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΤΩΝ ΠΗΤΗΤΙΚΩΝ ΣΥΣΤΑΤΙΚΩΝ (SPME-GC/MS)

Σαράντα έξι πτητικές ενώσεις ταυτοποιήθηκαν χρησιμοποιώντας την τεχνική SPME-GC-MS, οι οποίες στη συνέχεια ημιποσοτικοποιήθηκαν (Πίνακας 4). Αντιπροσωπευτικά χρωματογραφήματα της Μεγαρείτικης ποικιλίας φαίνονται στο κεφάλαιο 6.1 (παράρτημα). Ο προσδιορισμός του υπεύθυνων πτητικών συστατικών για τη γεύση του ελαιολάδου είναι ουσιαστικής σημασίας για την αξιολόγηση της ποιότητάς του (Revelou et al., 2021)

Πτητικές αλδεΐδες, αλκοόλες, κετόνες και εστέρες αλκοολών με πέντε και έξι άτομα άνθρακα ($C_5 - C_6$) παράγονται ενζυμικά από πολυακόρεστα λιπαρά οξέα μέσω της λεγόμενης οδού της λιποξυγενάσης (LOX) και οι συγκεντρώσεις τους εξαρτώνται από το επίπεδο και τη δραστηριότητα κάθε ενζύμου που εμπλέκεται σε αυτό το βιοσυνθετικό μονοπάτι (LOX) (Angerosa et al., 2004)

Στην συγκεκριμένη έρευνα που πραγματοποιήθηκε παρατηρήθηκε ότι στα δείγματα που αναλύθηκαν, οι κύριες αλκοόλες που ανιχνεύθηκαν ήταν με 5 άτομα άνθρακα (C_5) και με 6 άτομα άνθρακα (C_6) και όλες σχηματίστηκαν από το βιοσυνθετικό μονοπάτι της λιποξυγενάσης. Οι C_5 αλκοόλες ήταν η 1-πεντεν-3-όλη, η 1-πεντανόλη και η 2-πεντέν-1-όλη, οι οποίες βρέθηκαν σε μικρές ποσότητες. Οι C_6 αλκοόλες ήταν η 3-εξεν-1-όλη, η οποία φαίνεται να υπήρχε σε μεγαλύτερη συγκέντρωση στα δείγματα από την περιοχή της Αττικής, η 2-εξενόλη και η 1-εξανόλη. Σύμφωνα με την βιβλιογραφία, οι C_5 αλκοόλες συμβάλλουν στα θετικά χαρακτηριστικά του ελαιολάδου καθώς παρέχουν πικάντικη αίσθηση στο λάδι και σχετίζονται με την πικράδα του, ενώ οι C_6 αλκοόλες συμβάλλουν και αυτές ευνοϊκά στο άρωμα του ελαιολάδου καθώς σχετίζονται με την γλυκύτητά του (Kalua et al., 2007).

Σε ότι αφορά τις αλδεΐδες, είναι η κατηγορία ενώσεων που ανιχνεύθηκε σε μεγαλύτερη συγκέντρωση, το οποίο οφείλεται στην υψηλή συγκέντρωση, σε όλες τις γεωγραφικές περιοχές, της C_6 αλδεΐδης 2-εξανάλη, η οποία σχηματίζεται από το LOX και προσθέτει την τυπική «πράσινη νότα» που υπάρχει στο ελαιόλαδο. Άλλες C_6 αλδεΐδες που ανιχνεύθηκαν είναι η εξανάλη, η οποία είναι δεύτερη μεγαλύτερη σε συγκέντρωση ένωση που ανιχνεύθηκε και η 3-εξανάλη. Επίσης, οι C_5 αλδεΐδες που ανιχνεύθηκαν είναι η πεντανάλη και η 2-πεντενάλη σε αρκετά μικρές συγκεντρώσεις και στις τρεις γεωγραφικές περιοχές. Επιπλέον, είναι σημαντικό

να αναφερθεί ότι οι C₅ και C₆ αλδεΐδες συνεισφέρουν γενικά θετικά στο άρωμα του ελαιολάδου. Άλλες διάφορες αλδεΐδες που ανιχνεύθηκαν στα δείγματα αλλά σε μικρότερες συγκεντρώσεις είναι η 2-βουτενάλη, η επτανάλη, η (E,E)-2,4-εξαδιενάλη, η 2-επτενάλη, η οκτανάλη, η 2-οκτενάλη, η νονανάλη και η 2-νονενάλη. Σύμφωνα με έρευνες που έχουν γίνει κάποιες από αυτές τις ενώσεις, όπως η νονανάλη και η οκτανάλη σχετίζονται με την οξείδωση του ελαιολάδου (Kalua et al., 2007; Revelou et al., 2021).

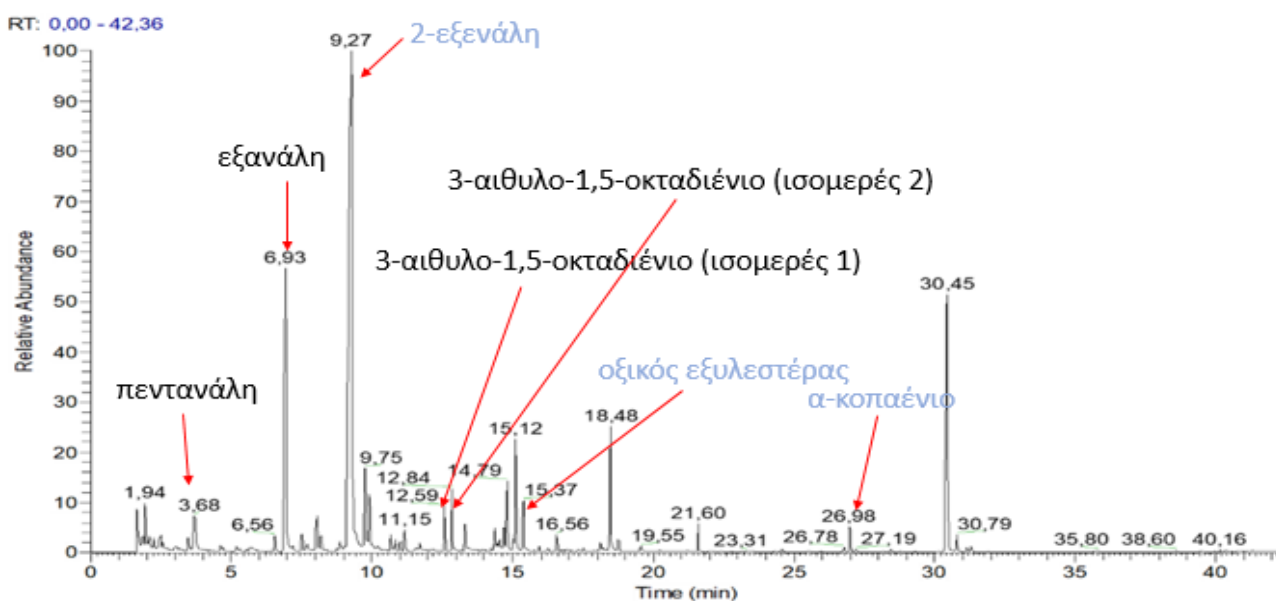
Οι εστέρες που ανιχνεύθηκαν, σε μικρές συγκεντρώσεις, σε όλα τα δείγματα που μελετήθηκαν είναι ο 2-μεθυλ-αιθυλεστέρας του βουτυρικού οξέος, ο 1-βουτανολη-3-μεθυλεστέρας, ο οξικός εστέρας της (Z)-3-εξεν-1-όλης και ο οξικός εξυλεστέρας. Οι εστέρες συνδέονται κυρίως με το θετικό φρουτώδες άρωμα ελαιολάδου. Πιο συγκεκριμένα, ο 2-μεθυλ-αιθυλεστέρας του βουτυρικού οξέος είναι υπεύθυνος για το φρουτώδες άρωμα των δειγμάτων ενώ ο οξικός εστέρας της (Z)-3-εξεν-1-όλης είναι υπεύθυνος για το «πράσινο» άρωμα και το άρωμα «μπανάνας» στα δείγματα. Τέλος, ο οξικός εξυλεστέρας είναι υπεύθυνος για το γλυκό, φρουτώδες και «πράσινο» άρωμα του ελαιολάδου (Kalua et al., 2007).

Οι κετόνες που ανιχνεύθηκαν, σε μικρές συγκεντρώσεις, σχεδόν σε όλες τις γεωγραφικές περιοχές είναι η 2-επτανόνη, η σουλκατόνη, η 3-οκτεν-2-όνη και η 6,8-εννεαδιέν-2-όνη,6-μεθύλ-5. Σύμφωνα με την βιβλιογραφία, οι κετόνες, όπως και οι εστέρες, συνδέονται κυρίως με το θετικό φρουτώδες άρωμα ελαιολάδου. Πιο συγκεκριμένα, η 2-επτανόνη συνδέεται με το γλυκό και φρουτώδες άρωμα του ελαιολάδου και ανιχνεύθηκε μόνο στα δείγματα από την περιοχή της Πελοποννήσου. Επίσης, είναι σημαντικό να σημειωθεί ότι σε άλλες έρευνες που έχουν γίνει, η 2-επτανόνη δεν έχει ανιχνευθεί σε δείγματα από την Μεγαρείτικη ποικιλία. Τέλος, η σουλκατόνη συνδέεται με το «πράσινο» και πικάντικο άρωμα του ελαιολάδου και προέρχεται από την οξείδωση των τερπενικών αλκοολών από ψευδομονάδες (Kalua et al., 2007; Revelou et al., 2021).

Η τελευταία κατηγορία πτητικών ενώσεων που ανιχνεύθηκε στα δείγματα που μελετήθηκαν είναι οι υδρογονάνθρακες. Οι υδρογονάνθρακες του ελαιολάδου έχουν μελετηθεί από διαφορετικούς συγγραφείς ως πιθανούς δείκτες για τη διάκριση του παρθένου ελαιολάδου από διαφορετικές ποικιλίες ελιάς ή διαφορετική γεωγραφική προέλευση (Vichi et al., 2003). Πιο συγκεκριμένα, στα δείγματα ανιχνεύθηκαν το 1-οκτένιο, το οκτάνιο, το 3-αιθυλο-1,5-οκταδιένιο (ισομερές 1), το 3-αιθυλο-1,5-οκταδιένιο (ισομερές 2), το 2-αιθενυλο-1,1-διμεθυλο-3-μεθυλοκυκλοδεκάνιο και το μεθυλο-κυκλοδεκάνιο. Επίσης, ανιχνεύθηκαν και τερπενικοί υδρογονάνθρακες όπως το α-πινένιο, το α-κοπαένιο, το α-μουρολένιο, το α-φαρνεσένιο και το D-λιμονένιο. Η παρουσία ενώσεων όπως το 1-οκτένιο και το οκτάνιο, σε αρκετά χαμηλές συγκεντρώσεις, οφείλονται στις αντιδράσεις αυτοοξείδωσης που ξεκινούν αναπόφευκτα μετά

την εξαγωγή του παρθένου ελαιολάδου (Vichi et al., 2003). Επίσης, η παρουσία των δύο ισομερών του 3-αιθυλο-1,5-οκταδιενίου οφείλεται σε ένα άλλο παρακλάδι του LOX (Revelou et al., 2021). Επίσης, η παρουσία, σε όλες τις γεωγραφικές περιοχές, των τερπενικών υδρογονανθράκων συνδέεται με το μεταβολισμό των φυτών, δεδομένου ότι βιοσυντίθενται μέσω της οδού του μεβαλονικού οξέος και η εμφάνισή τους εξαρτάται σε μεγάλο βαθμό από τη γεωγραφική προέλευση (Revelou et al., 2021). Τέλος, αξίζει να σημειωθεί ότι σε άλλες έρευνες που έχουν γίνει δεν έχει ανιχνευτεί σε δείγματα της Μεγαρείτικης ποικιλίας.

Είναι σημαντικό να αναφερθεί ότι ανιχνεύθηκαν επίσης ορισμένες ενώσεις που προέρχονται από την ζύμωση σακχάρων και τον μετασχηματισμό αμινοξέων. Ήταν η αιθανόλη και το οξικό οξύ (Vichi et al., 2003).



Εικόνα 23. Τυπικό χρωματογράφημα δείγματος ελαιολάδου

Πίνακας 4. Πηκτικά συστατικά που ανιχνεύθηκαν στα δείγματα ελαιολάδου που αναλύθηκαν

ΕΝΩΣΕΙΣ	RI	RI βιβλιογραφίας	Πελοπόννησος Μ.Ο. ± SD	Αττική Μ.Ο. ± SD	Στερεά Ελλάδα Μ.Ο. ± SD
Αλκοόλες					
Αιθανόλη	<500	443	3,9 ± 3,3	4,3 ± 3,5	2,7 ± 2,4
1-πεντεν-3-όλη	674	684	1,9 ± 2,5	1,8 ± 3,5	0,8 ± 1,7
ισοαμυλική αλκοόλη	714	723	0,5 ± 0,3	1,4 ± 1,5	0,6 ± 0,5
2-μεθυλοβουτανόλη	715	724	0,1 ± 0,2	0,6 ± 1,0	0,3 ± 0,5
πενταν-1-όλη	754	762	0,2 ± 0,4	0,9 ± 1,0	0,6 ± 1,2
2-πεντέν-1-όλη	758	765	0,9 ± 0,6	2,5 ± 2,1	0,9 ± 1,2
3-εξεν-1-όλη	875	868	13,5 ± 13,0	25,2 ± 16,4	12,4 ± 17,0
2-εξενόλη	851	851	13,5 ± 21,3	17,8 ± 28,0	14,0 ± 24,1
εξαν-1-όλη	855	863	10,2 ± 9,0	11,6 ± 9,1	10,0 ± 7,4
Σύνολο			44,7 ± 5,8	66,1 ± 8,9	42,3 ± 5,7
Αλδεΐδες					
2-βουτενάλη	623	627	0,1 ± 0,3	0,5 ± 1,4	0,1 ± 0,3
πεντανάλη	697	704	0,9 ± 2,6	3,4 ± 8,1	2,1 ± 6,3
2-πεντενάλη	738	744	1,0 ± 0,5	1,2 ± 1,7	0,7 ± 0,7
3-εξενάλη	815	814	7,6 ± 15,6	6,4 ± 10,1	4,3 ± 5,8
εξανάλη	816	806	30,4 ± 24,5	29,4 ± 28,4	32,4 ± 44,3
2-εξενάλη	838	846	83,4 ± 72,4	85,2 ± 39,8	69,0 ± 58,3
επτανάλη	887	901	1,1 ± 1,0	0,9 ± 0,9	1,4 ± 2,7
(E,E)-2,4-εξαδιενάλη	899	907	2,8 ± 3,2	1,9 ± 2,5	1,4 ± 1,5
2-επτανάλη	945	947	1,5 ± 1,5	1,8 ± 3,8	1,1 ± 1,6
οκτανάλη	992	998	0,4 ± 0,8	0,5 ± 0,9	1,8 ± 3,8
2-οκτενάλη	1049	1049	0,1 ± 0,2	0,0 ± 0,0	0,3 ± 0,7
νονανάλη	1096	1100	5,1 ± 5,4	2,6 ± 1,7	4,3 ± 6,5
2-νονενάλη	1153	1161	0,1 ± 0,2	0,0 ± 0,0	0,1 ± 0,2
Σύνολο			134,5 ± 23,4	133,8 ± 23,8	119,0 ± 19,9
Κετόνες					
2-εξανόνη	761	771	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0
2-επτανόνη	883	892	0,3 ± 0,7	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0
σουλκατόνη	984	989	1,4 ± 2,2	0,1 ± 0,2	0,9 ± 2,0
3-οκτεν-2-όνη	1062	1030	0,2 ± 0,2	0,0 ± 0,0	0,1 ± 0,2
6,8-εννεαδιέν-2-όνη,6-μεθύλ-5	1408	1387	0,1 ± 0,1	0,1 ± 0,0	0,1 ± 0,1
Σύνολο			2,0 ± 0,6	0,2 ± 0,1	1,1 ± 0,4
Εστέρες					
2-μεθυλ-αιθυλεστέρας του βουτυρικού οξέος	833	843	0,0 ± 0,1	0,2 ± 0,3	0,1 ± 0,1

1-βουτανολη-3-μεθυλεστέρας	862	869	0,9 ± 0,8	0,7 ± 1,2	0,0 ± 0,1
Οξικός εστέρας της (Z)-3-εξεν-1-όλης	995	1004	9,9 ± 4,0	5,5 ± 3,4	4,4 ± 7,1
Οξικός εξυλεστέρας	1002	1007	4,4 ± 3,4	1,9 ± 1,4	1,4 ± 2,4
Σύνολο			15,2 ± 4,5	8,3 ± 2,4	5,9 ± 2,1
Υδρογονάνθρακες					
1-οκτένιο	785	788	0,7 ± 1,1	0,6 ± 1,1	0,5 ± 1,0
οκτάνιο	790	800	0,0 ± 0,0	0,1 ± 0,3	0,0 ± 0,0
2-οκτένιο	802	808	0,5 ± 0,8	0,2 ± 0,1	0,4 ± 0,9
1,3-οκταδιένιο	815	820	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0
α-πινένιο	953	932	0,1 ± 0,1	0,5 ± 1,1	0,6 ± 1,5
3-αιθυλο-1,5-οκταδιένιο (ισομερές 1)	925	930	4,6 ± 3,1	5,4 ± 2,9	3,4 ± 3,1
3-αιθυλο-1,5-οκταδιένιο (ισομερές 2)	932	930	6,1 ± 3,8	6,1 ± 3,3	5,2 ± 5,0
D-λιμονένιο	1053	1024	0,6 ± 1,0	0,4 ± 0,4	0,4 ± 0,6
β-οκιμένιο	1071	1044	1,4 ± 1,1	1,9 ± 1,9	1,8 ± 0,6
2-αιθενυλο-1,1-διμεθυλο-3-μεθυλοκυκλοεξάνιο	1105		1,7 ± 0,9	2,3 ± 1,0	1,3 ± 1,0
μεθυλο-κυκλοδεκάνιο	1204	1202	0,3 ± 0,9	1,9 ± 1,7	5,1 ± 6,0
α-κοπαένιο	1370	1374	2,5 ± 1,5	6,2 ± 3,0	2,9 ± 2,9
α-μουρολένιο	1531	1499	0,8 ± 0,5	1,4 ± 0,5	0,8 ± 0,6
α-φαρνεσένιο	1536	1505	0,7 ± 0,4	0,3 ± 0,3	1,0 ± 0,6
Σύνολο			20,0 ± 1,8	27,3 ± 2,3	23,4 ± 1,8
Διάφορες ενώσεις					
Οξικό οξύ	585	576	2,8 ± 3,7	0,0 ± 0,0	0,6 ± 1,7
Ολικά πτητικά					
			219,2 ± 50,4	235,7 ± 52,6	192,3 ± 45,5

RI: δείκτης κατακράτησης, M.O: μέσος όρος, S.D.: τυπική απόκλιση

3.2. ΔΟΚΙΜΗ FOLIN-CIOCALTEU

Τα αποτελέσματα της δοκιμής Folin Ciocalteu φαίνονται στον Πίνακα 5. Έτσι λοιπόν, όπως γίνεται φανερό το δείγμα με τα περισσότερα ολικά φαινολικά είναι το ΜΕΓ_ΑΡΚ_2019_103 με 210 mg γαλλικού οξέος / kg ελαιολάδου. Ακολουθούν τα δείγματα ΜΕΓ_ΑΤΤ_2019_216 και ΜΕΓ_ΦΘΙ_2019_96 με 112,5 mg γαλλικού οξέος / kg ελαιολάδου και 165 mg γαλλικού οξέος / kg ελαιολάδου, αντίστοιχα.

Σύμφωνα με άλλες μελέτες που έχουν πραγματοποιηθεί, παρατηρείται ότι τα δείγματα που αναλύθηκαν παρουσιάζουν σχετικά μικρό αριθμό ολικών φαινολικών συστατικών (Esti et al.,

2009). Αυτό ίσως να οφείλεται στο ότι τα δείγματα που αναλύθηκαν είναι παραγωγής των ετών 2018 και 2019 και δεν είναι φετινής σοδειάς και έτσι ίσως να έχουν υποστεί κάποιο βαθμό οξείδωσης κατά την διάρκεια της αποθήκευσής τους (Kotsiou and Tasioula-Margari, 2015). Για παράδειγμα, όπως φαίνεται από τον Πίνακα 5 το δείγμα με τα χαμηλότερα ολικά φαινολικά είναι του έτους 2018 και είναι το ΜΕΓ_ΑΡΓ_2018_72 με 10 mg γαλλικού οξέος / kg ελαιολάδου.

Τέλος, αξίζει να αναφερθεί το γεγονός ότι τα αναλυθέντα δείγματα έδειξαν ένα μεγάλο εύρος μεταβλητότητας στη συνολική συγκέντρωση φαινολικών ενώσεων. Οι παρατηρούμενες διαφορές στη συνολική συγκέντρωση φαινολικών ενώσεων , ίσως να οφείλονται στην επίδραση του σταδίου ωριμότητας του καρπού καθώς και της γεωγραφικής περιοχής από την οποία πάρθηκε το κάθε δείγμα (Baiano et al., 2009; Kotsiou and Tasioula-Margari, 2015).

Πίνακας 5. Ολικά φαινολικά συστατικά των δειγμάτων που αναλύθηκαν.

ΔΕΙΓΜΑΤΑ	ΟΛΙΚΑ ΦΑΝΟΛΙΚΑ (mg γαλλικού οξέος / kg ελαιολάδου)
ΠΕΛΟΠΟΝΝΗΣΟΣ	
ΜΕΓ_ΚΟΡ_2018_01	20
ΜΕΓ_ΚΟΡ_2019_92	45
ΜΕΓ_ΑΡΓ_2018_72	10
ΜΕΓ_ΑΡΓ_2018_01	35
ΜΕΓ_ΑΡΚ_2019_103	210
ΜΕΓ_ΑΡΚ_2019_187	47,5
ΜΕΓ_ΑΡΚ_2019_188	32,5
ΜΕΓ_ΗΛΕ_2019_102	65
ΑΤΤΙΚΗ	
ΜΕΓ_ΑΤΤ_2019_156	25
ΜΕΓ_ΑΤΤ_2019_157	140
ΜΕΓ_ΑΤΤ_2019_160	40
ΜΕΓ_ΑΤΤ_2019_161	32,5
ΜΕΓ_ΑΤΤ_2019_163	80
ΜΕΓ_ΑΤΤ_2019_164	15
ΜΕΓ_ΑΤΤ_2019_165	27,5
ΜΕΓ_ΑΤΤ_2019_191	27,5
ΜΕΓ_ΑΤΤ_2019_192	12,5
ΜΕΓ_ΑΤΤ_2019_216	112,5
ΜΕΓ_ΑΤΤ_2019_217	100
ΜΕΓ_ΑΤΤ_2019_78	27,5
ΜΕΓ_ΑΤΤ_2019_82	52,5
ΣΤΕΡΕΑ	
ΜΕΓ_ΦΘΙ_2019_94	70
ΜΕΓ_ΦΘΙ_2019_97	32,5

ΜΕΓ_ΦΘΙ_2019_93	60
ΜΕΓ_ΦΘΙ_2019_95	130
ΜΕΓ_ΦΘΙ_2019_96	165
ΜΕΓ_ΦΘΙ_2019_98	65
ΜΕΓ_ΒΟΙ_2018_46	22,5
ΜΕΓ_ΣΤΕ_2018_45	27,5
ΜΕΓ_ΕΥΒ_2019_113	57,5

3.3. ΑΝΑΛΥΣΗ ΦΑΙΝΟΛΙΚΟΥ ΚΛΑΣΜΑΤΟΣ (Q-TOF)

Τα αποτελέσματα που φαίνονται στον παρακάτω πίνακα (Πίνακας 6) πάρθηκαν από την ανάλυση τριών δειγμάτων, ένα από κάθε περιοχή, και επιλέχθηκαν αυτά με τα περισσότερα ολικά φαινολικά συστατικά.

Όπως μπορεί να φανεί και από τον Πίνακα 6 οι φαινολικές ενώσεις που ανιχνεύθηκαν ανήκουν σε διαφορετικές κατηγορίες όπως σεκοϊριδοειδή, φαινολικά οξέα, φαινολικές αλκοόλες και φλαβόνες.

➤ Σεκοϊριδοειδή:

Οι ουσίες που ανήκουν σε αυτή την κατηγορία και ανιχνεύθηκαν είναι η ελαιασίνη, η ελαιοκανθάλη και το άγλυκο της ελευρωπαϊκής. Η ελαιασίνη ταυτοποιήθηκε με πρότυπο από την βιβλιογραφία, με το θραύσμα με m/z 181,0505. Η ελαιοκανθάλη και το άγλυκο της ελευρωπαϊκής ταυτοποιήθηκαν και αυτές με πρότυπο από την βιβλιογραφία, με τα θραύσματα με m/z 285,1127 και m/z 153,0561, αντίστοιχα. Επίσης, οι ουσίες αυτές ανιχνεύθηκαν μόνο στο δείγμα από την περιοχή της Αττικής, όπως φαίνεται και στην Εικόνα 24.

Επιπλέον, αξίζει να σημειωθεί ότι αυτές οι ουσίες είναι παράγωγα των σεκοϊριδοειδών γλυκοζιτών που περιέχονται στον καρπό της ελιάς, που προέρχονται κατά τη διάρκεια της διαδικασίας μηχανικής εκχύλισης ελαίου, με υδρόλυση της ελευρωπαϊκής, της διμεθυλελευρωπαϊκής και του λικγιστροσίδη.

Τέλος, η συγκέντρωση αυτών των ουσιών επηρεάζεται σε μεγάλο βαθμό από τις αγρονομικές και τεχνολογικές συνθήκες της παραγωγής ελαιολάδου. Συγκεκριμένα, η καλλιέργεια, το στάδιο ωρίμανσης, η γεωγραφική προέλευση της ελιάς και η άρδευση των ελαιόδεντρων είναι οι κύριες αγρονομικές πτυχές που μπορούν να τροποποιήσουν τη σύνθεση σεκοϊριδοειδών στο ελαιόλαδο, έτσι σε κάποιον από αυτούς τους παράγοντες

μπορεί να οφείλεται το γεγονός ότι δεν ανιχνεύθηκε σε κανένα δείγμα η ελευρωπαϊνή (Servili et al., 2009).

➤ Φαινολικά οξέα:

Οι ουσίες που ανήκουν σε αυτή την κατηγορία και ανιχνεύθηκαν είναι το συριγγικό οξύ, το p-κουμαρικό οξύ, το καφεϊκό οξύ, το πρωτοκατεχικό οξύ, το p-υδροξυβενζοϊκό οξύ, το φεουλικό οξύ, το κινναμωμικό οξύ, το βενζοϊκό οξύ και η οξική υδροξυτυροσόλη.

Το p-κουμαρικό οξύ ταυτοποιήθηκε και στα τρία δείγματα που αναλύθηκαν, με το θραύσμα με m/z 119,0500 για το δείγμα από την Πελοπόννησο, με το θραύσμα με m/z 119,0494 για το δείγμα από την Αττική και με το θραύσμα με m/z 119,0501 για το δείγμα από την Στερεά Ελλάδα. Το καφεϊκό οξύ ταυτοποιήθηκε σε δύο από τα τρία δείγματα, με το θραύσμα με m/z 135,0451 για το δείγμα από την Πελοπόννησο και με το θραύσμα με m/z 135,0452 για το δείγμα από την Στερεά Ελλάδα.

Το πρωτοκατεχικό οξύ ταυτοποιήθηκε σε δύο από τα τρία δείγματα, με το θραύσμα με m/z 112,9856 για τα δείγματα από Πελοπόννησο και Στερεά Ελλάδα. Το p-υδροξυβενζοϊκό οξύ ταυτοποιήθηκε και στα τρία δείγματα που αναλύθηκαν, με το θραύσμα με m/z 93,0345 για το δείγμα από την Πελοπόννησο, με το θραύσμα με m/z 93,0347 για το δείγμα από την Αττική και με το θραύσμα με m/z 93,0349 για το δείγμα από την Στερεά Ελλάδα.

Το φεουλικό οξύ ταυτοποιήθηκε μόνο στο δείγμα από την Αττική, με το θραύσμα με m/z 178,0272. Το κινναμωμικό οξύ ταυτοποιήθηκε σε δύο από τα τρία δείγματα, με το θραύσμα με m/z 103,0556 για το δείγμα από την Πελοπόννησο και με το θραύσμα με m/z 103,0554 για το δείγμα από την Στερεά Ελλάδα. Το βενζοϊκό οξύ ταυτοποιήθηκε και αυτό σε δύο από τα τρία δείγματα, με το θραύσμα με m/z 77,0391 για το δείγμα από την Πελοπόννησο και με το θραύσμα με m/z 68,9977 για το δείγμα από την Αττική.

Επιπροσθέτως, η οξική υδροξυτυροσόλη ταυτοποιήθηκε και στα τρία δείγματα που αναλύθηκαν, με το θραύσμα με m/z 165,0551 για το δείγμα από την Πελοπόννησο με το θραύσμα με m/z 165,0556 για το δείγμα από την Αττική και με το θραύσμα με m/z 165,0561 για το δείγμα από την Στερεά Ελλάδα. Τέλος, αξίζει να αναφερθεί ότι τα φαινολικά οξέα αποτελούν τις πρώτες φαινόλες που ανακαλύφθηκαν στο ελαιόλαδο και

ότι τα παραπάνω ευρήματα συμβαδίζουν με μελέτες από την βιβλιογραφία (Servili et al., 2009).

➤ Φαινολικές αλκοόλες:

Μόνο μία ουσία ανιχνεύθηκε από αυτή την ομάδα ενώσεων και αυτή είναι η υδροξυτυροσόλη. Η αλκοόλη αυτή ταυτοποιήθηκε μόνο στο δείγμα από την Αττική, με το θραύσμα με m/z 123,0450. Επίσης, η υδροξυτυροσόλη είναι μία από τις κύριες φαινολικές ενώσεις στις ελιές, στο παρθένο λάδι και στα λύματα που λαμβάνονται κατά τη διάρκεια παραγωγής του ελαιολάδου (Tripoli et al., 2005).

Τέλος, η συγκέντρωση της υδροξυτυροσόλης και γενικά των φαινολικών αλκοολών είναι γενικά χαμηλή σε φρέσκα έλαια αλλά αυξάνεται κατά την αποθήκευση του ελαιολάδου (Servili et al., 2009).

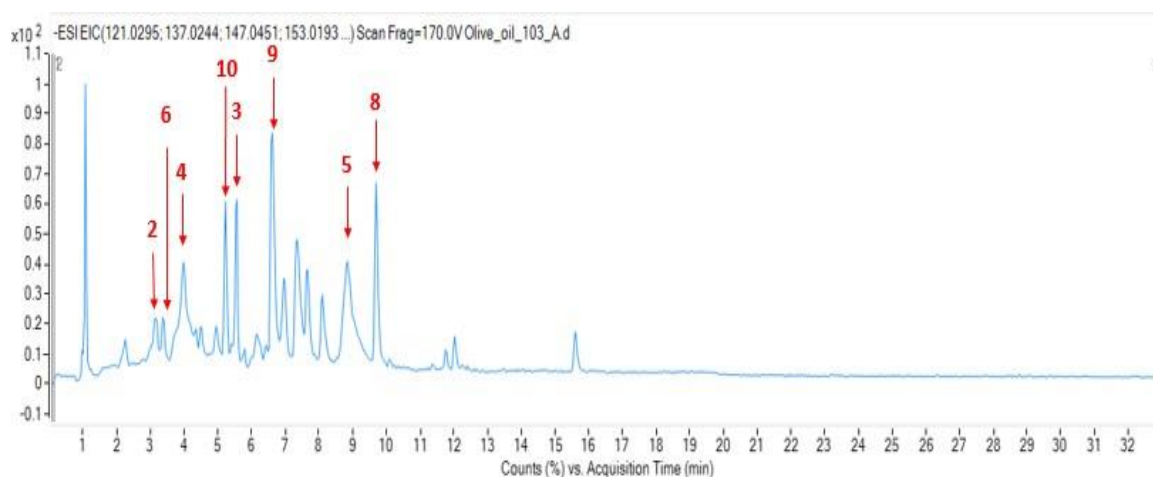
➤ Φλαβόνες:

Οι ουσίες που ανήκουν σε αυτή την ομάδα ενώσεων και ανιχνεύθηκαν είναι η απιγενίνη και η λουτεολίνη. Η απιγενίνη ταυτοποιήθηκε μόνο στο δείγμα από την περιοχή της Αττικής, με το θραύσμα με m/z 112,9855. Η λουτεολίνη ταυτοποιήθηκε και αυτή μόνο στο δείγμα της Αττικής, με το θραύσμα με m/z 283,0242. Τέλος, είναι σημαντικό να αναφερθεί ότι αρκετοί συγγραφείς ανέφεραν ότι φλαβονοειδή όπως η λουτεολίνη και η απιγενίνη είναι φαινολικά συστατικά του ελαιολάδου, οπότε τα παραπάνω ευρήματα συμβαδίζουν με ευρήματα από την βιβλιογραφία (Bendini et al., 2007)

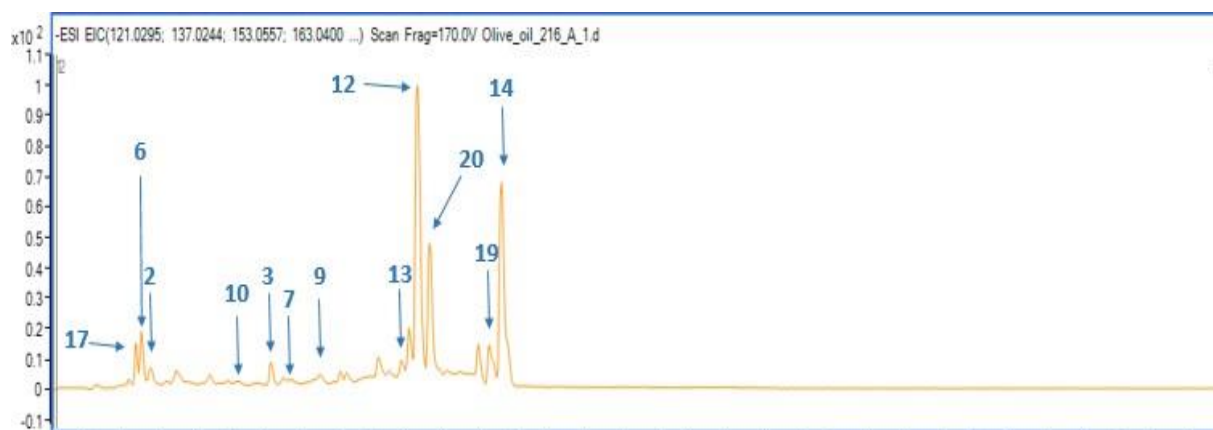
Πίνακας 6. Φαινολικά συστατικά που ανιχνεύθηκαν στα δείγματα ελαιολάδου που αναλύθηκαν

ΕΝΩΣΕΙΣ	ΜΟΡΙΑΚΟΣ ΤΥΠΟΣ	ΠΑΡΑΤΗΡΟΥΜΕΝΟ ΙΟΝ (m/z) [M-H] ⁻	Rt(min)	ΣΦΑΛΜΑ ΜΑΖΑΣ	ΜΕΓ_ΑΡΚ_103	ΜΕΓ_ΑΤΤ_216	ΜΕΓ_ΦΘΙ_96
Φαινολικά οξέα							
βανιλικό οξύ ¹	C ₈ H ₈ O ₄	-	-	-	-	-	-
συριγγικό οξύ ²	C ₉ H ₁₀ O ₅	197,0452	4,28	1,5	+	+	-
p-κουμαρικό οξύ ³	C ₉ H ₈ O ₃	163,0398	5,56	1,2	+	+	+
καφεϊκό οξύ ⁴	C ₉ H ₈ O ₄	179,0345	3,97	2,8	+	-	+
πρωτοκατεχικό οξύ ⁵	C ₇ H ₆ O ₄	153,0193	1,24	0,0	+	-	+
p-υδροξυβενζοϊκό οξύ ⁶	C ₇ H ₆ O ₃	137,0243	3,43	0,7	+	+	+
φερουλικό οξύ ⁷	C ₁₀ H ₁₀ O ₄	193,0503	6,07	1,6	-	+	-
κινναμωμικό οξύ ⁸	C ₉ H ₈ O ₂	147,0451	9,68	0,0	+	-	+
βενζοϊκό οξύ ⁹	C ₇ H ₆ O ₂	121,0297	7,56	-1,7	+	+	-
οξική υδροξυτυροσόλη ¹⁰	C ₁₀ H ₁₂ O ₄	195,0658	5,26	2,6	+	+	+
γαλλικό οξύ ¹¹	C ₇ H ₆ O ₅	-	-	-	-	-	-
Σεκοιριδοειδή							
ελαιασίνη (3,4 DHPEA-EDA) ¹²	C ₁₇ H ₂₀ O ₆	319,1177	10,30	3,1	-	+	-
ελαιοκανθάλη (p-HPEA-EDA) ¹³	C ₁₇ H ₂₀ O ₅	303,1229	9,86	3,0	-	+	-
άγλυκο ελευρωπαΐνης (3,4 DHPEA-EA) ¹⁴	C ₁₉ H ₂₂ O ₈	377,1226	12,66	4,2	-	+	-
άγλυκο του λικγυτροσίδη ¹⁵	C ₁₉ H ₂₂ O ₇	-	-	-	-	-	-
ελευρωπαΐνη ¹⁶	C ₂₅ H ₃₂ O ₁₃	-	-	-	-	-	-
Φαινολικές αλκοόλες							
υδροξυτυροσόλη ¹⁷	C ₈ H ₁₀ O ₃	153,0557	2,35	0,0	-	+	-
τυροσόλη ¹⁸	C ₈ H ₁₀ O ₂	-	-	-	-	-	-
Φλαβόνες							
απυγενίνη ¹⁹	C ₁₅ H ₁₀ O ₅	269,0448	11,64	2,6	-	+	-
λουτεολίνη ²⁰	C ₁₅ H ₁₀ O ₆	285,0397	9,99	2,5	-	+	-
Λιγνάνες							

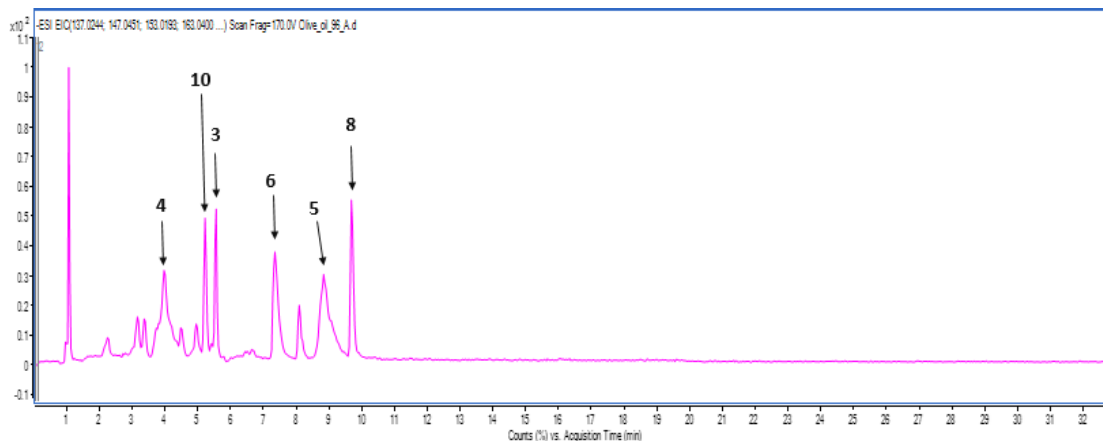
(+)- ακετοξίπινορεσινόλη ²¹	C ₂₂ H ₂₄ O ₈	-	-	-	-	-	-
(+)-πινορεσινόλη ²²	C ₂₀ H ₂₂ O ₆	-	-	-	-	-	-



Εικόνα 24. Χρωματογράφημα φαινολικών συστατικών που ανιχνεύθηκαν στο δείγμα από την Πελοπόννησο (2: συριγγικό οξύ, 3: p-κουμαρικό οξύ, 4: καφεϊκό οξύ, 5: πρωτοκατεχικό οξύ, 6: p-υδροξυβενζοϊκό οξύ, 8: κινναμωμικό οξύ, 9: βενζοϊκό οξύ, 10: οξική υδροξυτυροσόλη)



Εικόνα 25. Χρωματογράφημα φαινολικών συστατικών που ανιχνεύθηκαν στο δείγμα από την Αττική (2: συριγγικό οξύ, 3: p-κουμαρικό οξύ, 6: p-υδροξυβενζοϊκό οξύ, 7: φερουλικό οξύ, 9: βενζοϊκό οξύ, 10: οξική υδροξυτυροσόλη, 12: ελαιασίνη, 13: ελαιοκανθάλη, 14: άγλυκο ελευρωπαΐνης, 17: υδροξυτυροσόλη, 19: απιγενίνη, 20: λουτεολίνη)

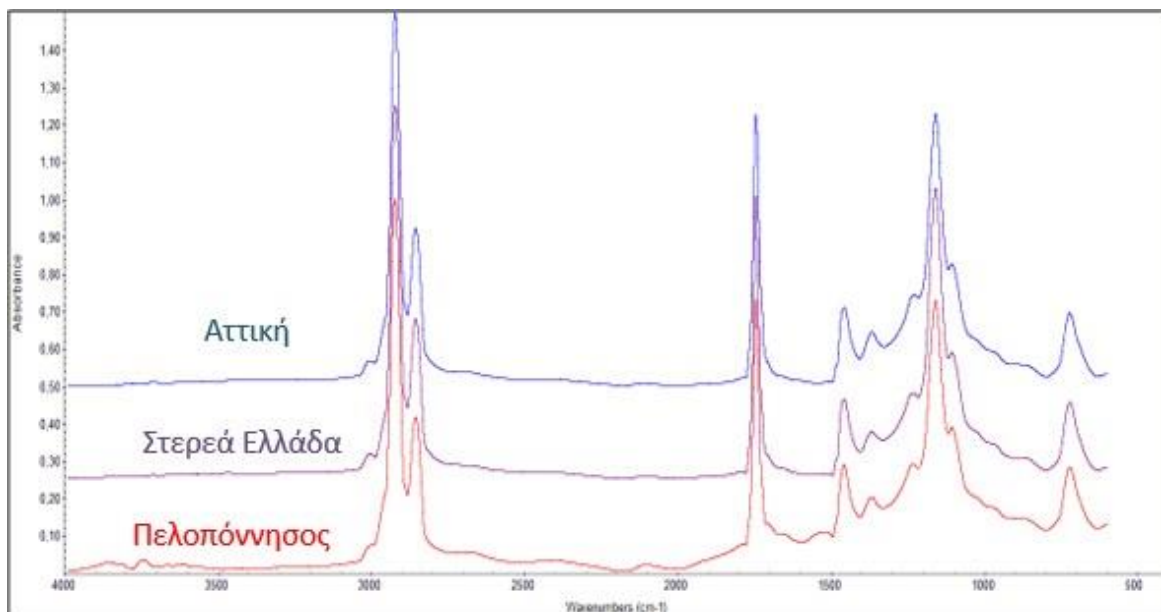


Εικόνα 25. Χρωματογράφημα φαινολικών συστατικών που ανιχνεύθηκαν στο δείγμα από την Στερεά Ελλάδα(3: *p*-κουμαρικό οξύ, 4: καφεϊκό οξύ, 5: πρωτοκατεχικό οξύ, 6: *p*-υδροξυβενζοϊκό οξύ, 8: κινναμωμικό οξύ, 10: οξική υδροξυτυροσώλη)

3.4. ΚΑΤΑΓΡΑΦΗ ΦΑΣΜΑΤΩΝ ATR-FTIR

Η ανάλυση FTIR πραγματοποιήθηκε χρησιμοποιώντας την τεχνική ATR. Αυτή η τεχνική έχει το πλεονέκτημα της εφαρμογής του δείγματος ελαιολάδου απευθείας στον κρύσταλλο ATR χωρίς να προηγηθεί κάποια προετοιμασία ή επεξεργασία. Η οπτική εξέταση των φασμάτων ATR-FTIR των δειγμάτων ελαιολάδου αποκάλυψε ότι δεν υπάρχουν ουσιαστικές διαφορές μεταξύ των φασματικών χαρακτηριστικών τους (Εικόνα 27).

Τα φάσματα ελαιολάδου έδειξαν ζώνες απορρόφησης σε διαφορετικούς κυματάρηθμους, ως εξής: 3005 cm^{-1} (δόνηση τάσης *cis* διπλών δεσμών), 2924 cm^{-1} (δόνηση τάσης της αλειφατικής ομάδας CH_2), 2853 cm^{-1} (δόνηση τάσης των αλειφατικών ομάδων CH_2 και CH_3), 1743 cm^{-1} (δόνηση τάσης των εστέρων, καρβονυλικών ομάδων, των τριγλυκεριδίων), 1460 cm^{-1} (δόνηση κάμψης αλειφατικών ομάδων CH_2), 1417 cm^{-1} (δόνηση κάμψης των *cis* διπλών δεσμών), 1401 cm^{-1} (δόνηση κάμψης διπλών δεσμών), $1200 - 1000\text{ cm}^{-1}$ (δόνηση τάσης των εστέρων C – O) και 721 cm^{-1} (δόνηση κάμψης αλειφατικών ομάδων CH_2) (Poiana et al., 2015; Rohman and Man, 2010).



Εικόνα 26. Φάσματα ATR-FTIR δειγμάτων ελαιολάδου Μεγαρείτικης ποικιλίας από την περιοχή της Αττικής, της Στερεάς Ελλάδας και της Πελοποννήσου, σε συχνότητα 4000-650 cm^{-1} .

3.5. ΑΝΑΛΥΣΗ ΤΩΝ ΜΕΘΥΛΕΣΤΕΡΩΝ ΤΩΝ ΛΙΠΑΡΩΝ ΟΞΕΩΝ ΜΕ ΑΕΡΙΑ ΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΑ.

Τα ταυτοποιημένα λιπαρά οξέα ήταν (Εικόνα 96 και Εικόνα 97, Παράρτημα): το εικοσενοϊκό (C20:1), το παλμιτικό (C16: 0), το παλμιτελαϊκό (C16: 1), το στεατικό (C18: 0), το ελαϊκό (C18: 1), το λινελαϊκό (C18: 2), λινολενικό (C18: 3) και το λιγνοκηρικό οξύ (C24:0) (Πίνακας 7). Το ελαϊκό, το λινελαϊκό και το παλμιτικό ήταν αυτά που ανιχνεύθηκαν σε μεγαλύτερες ποσότητες σε όλα τα δείγματα ενώ τα υπόλοιπα ανιχνεύθηκαν σε μικρότερες ποσότητες.

Το ελαϊκό οξύ ήταν πάντα η πιο άφθονη ένωση, φτάνοντας τουλάχιστον το 68,13% των συνολικών λιπαρών οξέων. Η περιεκτικότητα σε παλμιτικό οξύ κυμαινόταν μεταξύ 13,65% και 15,84%, ανάλογα με τη γεωγραφική περιοχή. Η περιεκτικότητα σε λινελαϊκό οξύ κυμαινόταν μεταξύ 12,13% και 12,45%, σύμφωνα με την γεωγραφική περιοχή.

Οι παραλλαγές της περιεκτικότητας σε ελαϊκό και λινελαϊκό οξύ που παρατηρούνται στα δείγματα ελαιολάδου που αναλύθηκαν (Πίνακας 7) πιθανώς σχετίζονται με την αλληλεπίδραση καλλιέργειας-περιβάλλοντος κατά την ανάπτυξη και την ωριμότητα των φρούτων. Τέλος, αξίζει να σημειωθεί ότι η καθυστέρηση στη συγκομιδή τείνει να αυξάνει την περιεκτικότητα σε

ακόρεστα λιπαρά οξέα, ειδικά σε λινελαϊκό, εις βάρος του παλμιτικού οξέος (Youssef et al., 2011).

Πίνακας 7. Λιπαρά οξέα που ανιχνεύθηκαν στα δείγματα που αναλύθηκαν.

Λιπαρά οξέα	Πελοπόννησος Μ.Ο. ± SD (%)	Αττική Μ.Ο. ± SD (%)	Στερεά Ελλάδα Μ.Ο. ± SD (%)
Δεκαπεντανοϊκό οξύ (C15:0)	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
Δεκαπεντενοϊκό οξύ (C15:1)	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
Δοκοσαεξανοϊκό οξύ (C22:6)	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
Εικοσενοϊκό οξύ (C20:1)	0,25 ± 0,03	0,21 ± 0,02	0,28 ± 0,06
Εικοσιπεντανοϊκό οξύ (C20:5)	0 ± 0,0	0 ± 0,0	0 ± 0,0
Ελαϊκό οξύ (C18:1)	67,18 ± 4,46	65,66 ± 1,52	68,13 ± 4,88
Ερουκικό οξύ (C22:1)	0 ± 0,0	0 ± 0,0	0 ± 0,0
Καπρικό οξύ (C10:0)	0 ± 0,0	0 ± 0,0	0 ± 0,0
Καπρονικό οξύ (C6:0)	0 ± 0,0	0 ± 0,0	0 ± 0,0
Καπρυλικό οξύ (C8:0)	0 ± 0,0	0 ± 0,0	0 ± 0,0
Λαουρικό οξύ (C12:0)	0 ± 0,0	0 ± 0,0	0 ± 0,0
Λιγνοκηρικό οξύ (C24:0)	0,06 ± 0,01	0,06 ± 0,01	0,06 ± 0,01
Λινελαϊκό οξύ (C18:2)	12,34 ± 3,43	12,45 ± 0,93	12,13 ± 3,14
Λινολενικό οξύ (C18:3)	0,69 ± 0,08	0,63 ± 0,05	0,76 ± 0,09
Μυριστελαϊκό οξύ (C14:1)	0 ± 0,0	0 ± 0,0	0 ± 0,0
Μυριστικό οξύ (C14:0)	0 ± 0,0	0 ± 0,0	0 ± 0,0
Νερβονικό οξύ (C24:1)	0 ± 0,0	0 ± 0,0	0 ± 0,0
Παλμιτελαϊκό οξύ (C16:1)	1,31 ± 0,35	1,58 ± 0,17	1,18 ± 0,49
Παλμιτικό οξύ (C16:0)	14,50 ± 1,25	15,84 ± 0,72	13,65 ± 1,88
Στεατικό οξύ (C18:0)	2,30 ± 0,25	2,27 ± 0,14	2,33 ± 0,18
Τριδεκανοϊκό οξύ (C13:0)	0 ± 0,0	0 ± 0,0	0 ± 0,0

Μ.Ο.: μέσος όρος, S.D.: τυπική απόκλιση

3.6. ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ

Η ταξινόμηση των δειγμάτων ελαιολάδου πραγματοποιήθηκε χρησιμοποιώντας τις μεθόδους γραμμικής διακριτικής ανάλυσης (LDA) και της τετραγωνικής διακριτικής ανάλυσης (QDA). Οι μέθοδοι αυτοί χρησιμοποιήθηκαν για να βρεθεί αν υπάρχει κάποιος γεωγραφικός διαχωρισμός μεταξύ των δειγμάτων με βάση :

- τα πτητικά τους συστατικά
- τα λιπαρά οξέα
- τα πτητικά συστατικά και τα λιπαρά οξέα
- τα πτητικά και τα ολικά φαινολικά συστατικά τους
- τα λιπαρά οξέα και τα ολικά φαινολικά συστατικά τους
- τα πτητικά , τα ολικά φαινολικά τους συστατικά και τα λιπαρά τους οξέα και
- τα φάσματα FTIR-ATR

Προκειμένου να πραγματοποιηθούν οι συγκεκριμένες μέθοδοι όλα τα δεδομένα τυποποιήθηκαν.

➤ ΔΙΑΧΩΡΙΣΜΟΣ ΜΕ ΒΑΣΗ ΤΑ ΠΤΗΤΙΚΑ ΣΥΣΤΑΤΙΚΑ

Για την στατιστική ανάλυση των δεδομένων των πτητικών συστατικών εφαρμόστηκαν οι μέθοδοι LDA και QDA. Επίσης, προκειμένου να προσδιοριστούν οι πιο σημαντικές μεταβλητές εφαρμόστηκε και στις δύο μεθόδους η βηματική ανάλυση διάκρισης (stepwise discriminant analysis). Η διακριτική ισχύς των μεταβλητών που επιλέγονται από αυτόν τον αλγόριθμο ορίζεται από την τιμή F (ο λόγος διακύμανσης μεταξύ ομάδων προς τη διακύμανση εντός των ομάδων). Όσο υψηλότερη είναι η τιμή F, τόσο μεγαλύτερη είναι η δυνατότητα διάκρισης των μεταβλητών. Έτσι λοιπόν , από την μέθοδο αυτή επιλέχθηκαν τέσσερα πτητικά συστατικά , τα οποία είναι ο οξικός εξυλεστεράς , ο 2-μεθυλ-αιθυλεστεράς του βουτυρικού οξέος, η 2-πεντέν-1-όλη και η ισοαμυλική αλκοόλη (Πίνακας 9) . Έτσι, στις παραπάνω μεταβλητές εφαρμόστηκε η LDA και βρέθηκε ότι υπάρχει σημαντική διαφορά μεταξύ των μέσων της γεωγραφικής περιοχής των δειγμάτων. Αυτό βρέθηκε καθώς το Wilks' Lambda = 0,188 , το F = 7,825 και το p-value < 0,0001 < 0,05 και το Pillai's trace = 1,120 , το F= 7,959 και το p-value < 0,0001 < 0,05. Επίσης, σύμφωνα με τις ιδιοτιμές (eigenvalues) (Πίνακας 8) και οι δύο συναρτήσεις που προέκυψαν, F₁ και F₂, είναι σημαντικές για την διαφοροποίηση των δειγμάτων.

Ο διαχωρισμός μεταξύ των τριών γεωγραφικών περιοχών των δειγμάτων φαίνεται στην Εικόνα 28, όπου η συνάρτηση F₁ διαχωρίζει τα δείγματα της Αττικής από αυτά της Στερεάς.

Επίσης, σύμφωνα με τους τυποποιημένους κανονικούς συντελεστές διακριτικής λειτουργίας (Πίνακας 10), συμπεραίνουμε ότι ο 2-μεθυλ-αιθυλεστέρας του βουτυρικού οξέος, η 2-πεντέν-1-όλη και η ισοαμυλική αλκόολη συνέβαλλαν περισσότερο στην διαφοροποίηση των δειγμάτων της Αττικής από αυτά της Στερεάς. Σε ότι αφορά την δεύτερη συνάρτηση, η F₂ διαχωρίζει τα δείγματα της Πελοποννήσου από αυτά της Στερεάς και από τους τυποποιημένους κανονικούς συντελεστές διακριτικής λειτουργίας συμπεραίνουμε ότι ο οξικός εξυλεστέρας συνέβαλλε στην διαφοροποίησης των δειγμάτων της Πελοποννήσου από αυτά της Στερεάς. Τέλος τα ποσοστά της σωστής ταξινόμησης και της διασταυρωμένης επικύρωσης είναι 90,0 % και 86,67 % αντίστοιχα.

Πίνακας 8. Ιδιοτιμές για τον διαχωρισμό με βάση τα πτητικά συστατικά

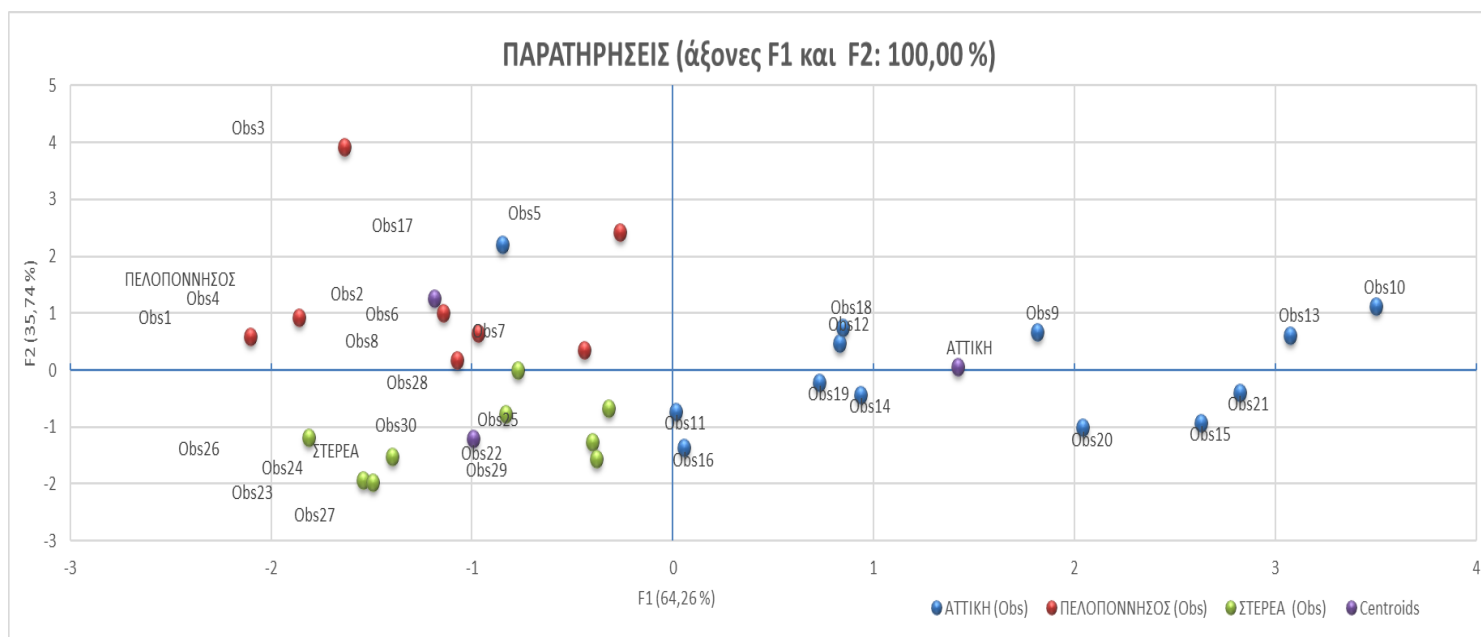
	F1	F2
Ιδιοτιμή	1,716	0,955
Διαφοροποίηση(%)	64,255	35,745
Αθροιστικό (%)	64,255	100,000

Πίνακας 9. Μεταβλητές που επιλέχθηκαν από την βηματική μέθοδο

Nbr. of variables	Variable IN/OUT	Status	Partial R ²	F	Pr > F	Wilks' Lambda	Pr < Lambda
1	οξικός εξυλεστέρας	IN	0,472	12,090	0,000	0,528	0,000
2	2-μεθυλ-αιθυλεστέρας του βουτυρικού οξέος	IN	0,324	6,239	0,006	0,356	<0,0001
3	2-πεντέν-1-όλη	IN	0,276	4,758	0,018	0,258	<0,0001
4	ισοαμυλική αλκόολη	IN	0,271	4,451	0,023	0,188	<0,0001

Πίνακας 9. Τυποποιημένοι κανονικοί συντελεστές διακριτικής λειτουργίας

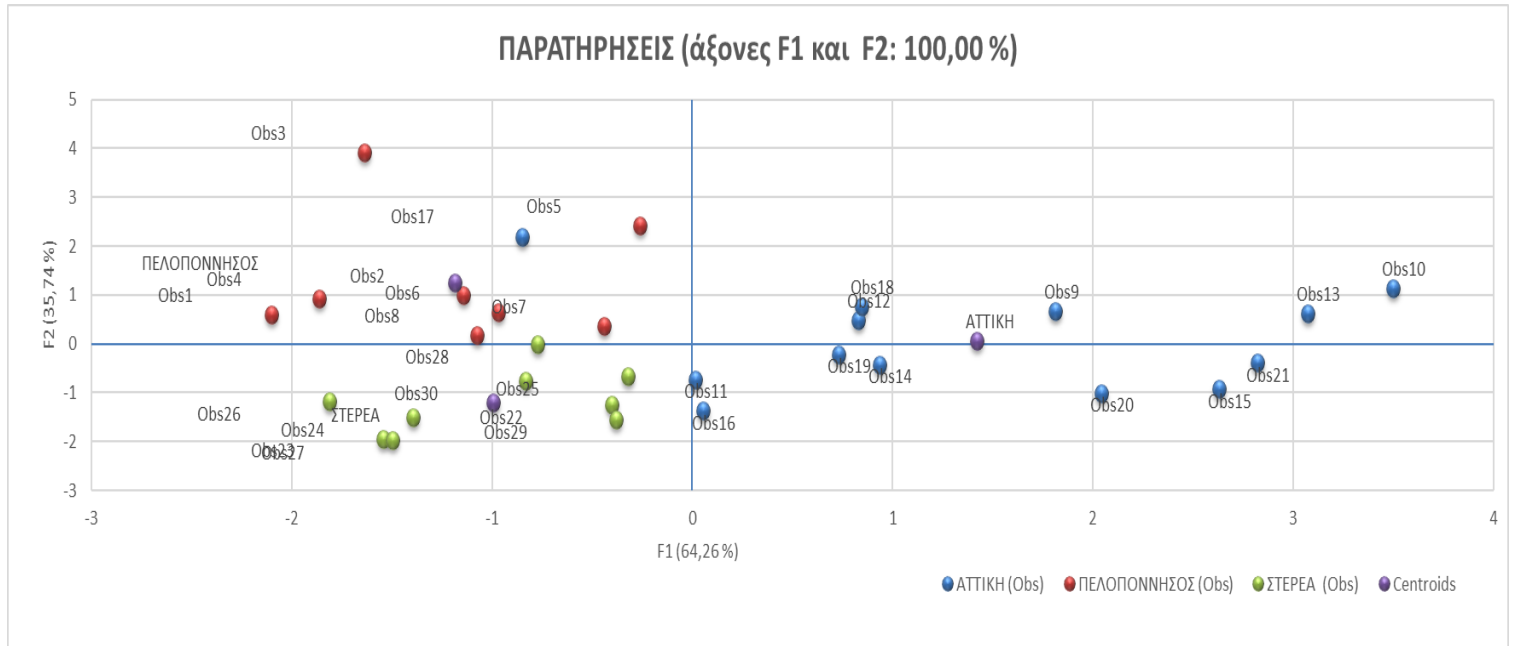
	F1	F2
ισοαμυλική αλκοόλη	0,704	0,200
2-πεντέν-1-όλη	0,849	0,402
2-μεθύλ-αιθυλεστέρας του βουτυρικού οξέος	0,844	-0,014
οξικός εξυλεστέρας	-0,119	1,042



Εικόνα 27. Γεωγραφική διαφοροποίηση των δειγμάτων από την Αττική, την Πελοπόννησο και την Στερεά Ελλάδα με βάση τα πτητικά συστατικά χρησιμοποιώντας την βηματική διάκριση και την LDA.

Επίσης, όπως ειπώθηκε και παραπάνω στις μεταβλητές που επιλέχθηκαν από την βηματική διάκριση εφαρμόστηκε και η QDA (Εικόνα 29), όπου το ποσοστό της σωστής ταξινόμησης και της διασταυρωμένης επικύρωσης είναι 93,33 %. Αυτό σημαίνει ότι σε αυτή την περίπτωση η QDA ταξινόμησε καλύτερα τα δείγματα σε σχέση με την LDA.

Τέλος, είναι σημαντικό να σημειωθεί ότι σε έρευνα που έχει πραγματοποιηθεί έχουν βρεθεί κάποια από τα πτητικά συστατικά, η ισοαμυλική αλκοόλη και η 2-πεντέν-1-όλη που βρέθηκαν και εδώ ως στατιστικά σημαντικά για την γεωγραφική διαφοροποίηση των δειγμάτων που μελετήθηκαν (Pizarro et al., 2011).



Εικόνα 28. Γεωγραφική διαφοροποίηση των δειγμάτων από την Αττική, την Πελοπόννησο και την Στερεά Ελλάδα με βάση τα πτητικά συστατικά χρησιμοποιώντας την βηματική διάκριση και την QDA

➤ ΔΙΑΧΩΡΙΣΜΟΣ ΜΕ ΒΑΣΗ ΤΑ ΛΙΠΑΡΑ ΟΞΕΑ

Για την στατιστική ανάλυση των δεδομένων των λιπαρών οξέων εφαρμόστηκαν οι μέθοδοι LDA και QDA. Επίσης, προκειμένου να προσδιοριστούν οι πιο σημαντικές μεταβλητές εφαρμόστηκε και στις δύο μεθόδους η βηματική ανάλυση διάκρισης (stepwise discriminant analysis). Η διακριτική ισχύς των μεταβλητών που επιλέγονται από αυτόν τον αλγόριθμο ορίζεται από την τιμή F (ο λόγος διακύμανσης μεταξύ ομάδων προς τη διακύμανση εντός των ομάδων). Όσο υψηλότερη είναι η τιμή F, τόσο μεγαλύτερη είναι η δυνατότητα διάκρισης των μεταβλητών. Έτσι λοιπόν, από την μέθοδο αυτή επιλέχθηκαν δύο λιπαρά οξέα, τα οποία είναι το λινολενικό και το παλμιτικό οξύ (Πίνακας 11). Έτσι, στις παραπάνω μεταβλητές εφαρμόστηκε η LDA και βρέθηκε ότι οι μήτρες συνδιασποράς εντός των κλάσεων είναι διαφορετικές. Αυτό βρέθηκε καθώς στο Box test (Fisher's F asymptotic approximation) βρέθηκε ότι το $-2\text{Log}(M) = 17,137$ και το $p\text{-value} < 0,0001 < 0,05$. Επίσης, σύμφωνα με τις ιδιοτιμές (eigenvalues) (Πίνακας 12) μόνο η συνάρτηση F_1 είναι σημαντική για την διαφοροποίηση των δειγμάτων.

Πίνακας 10. Μεταβλητές που επιλέχθηκαν από την βηματική μέθοδο

Nbr. of variables	Variable IN/OUT	Status	Partial R ²	F	Pr > F	Wilks' Lambda	Pr < Lambda
1	Λινολενικό οξύ (C18:3)	IN	0,411	9,433	0,001	0,589	0,001
2	Παλμιτικό οξύ (C16:0)	IN	0,282	5,115	0,013	0,422	0,000

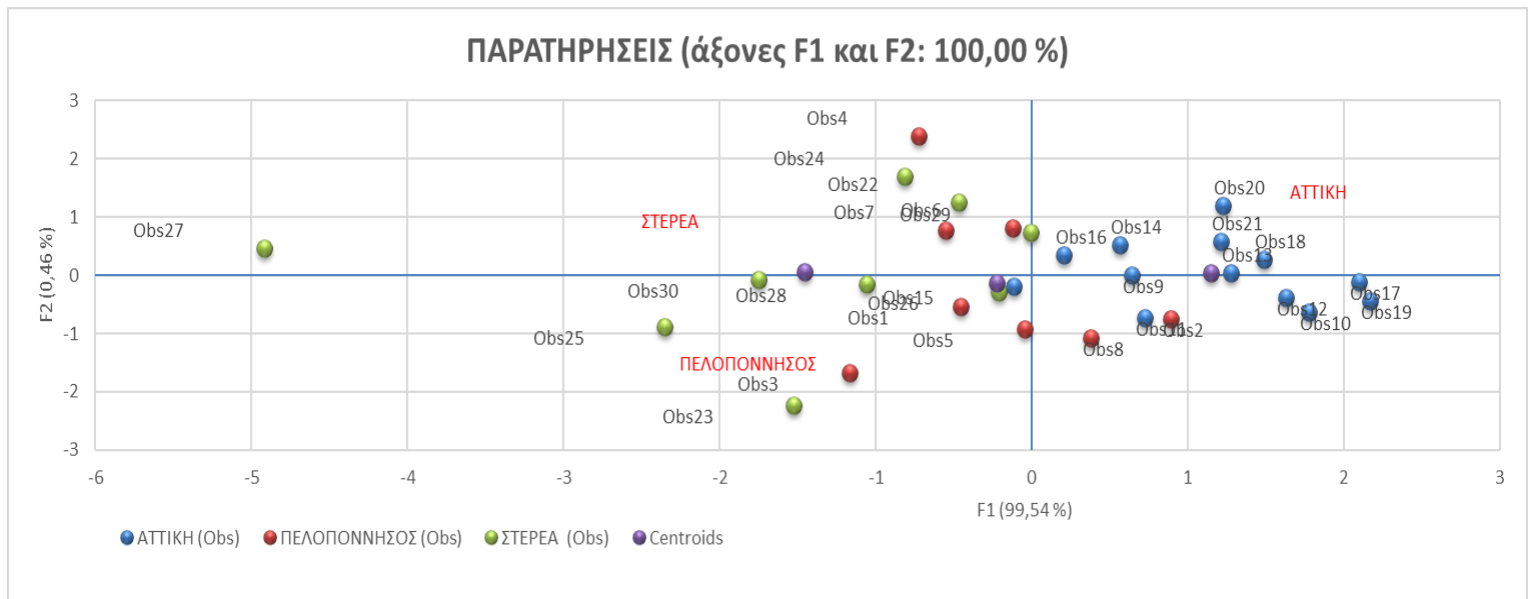
Πίνακας 11. Ιδιοτιμές για τον διαχωρισμό με βάση τα λιπαρά οξέα

	F1	F2
Ιδιοτιμή	1,352	0,006
Διάφοροποίηση(%)	99,543	0,457
Αθροιστικό(%)	99,543	100,000

Ο διαχωρισμός μεταξύ των τριών γεωγραφικών περιοχών των δειγμάτων φαίνεται στην Εικόνα 30, όπου η συνάρτηση F1 διαχωρίζει τα δείγματα της Αττικής από αυτά της Στερεάς. Επίσης, σύμφωνα με τους τυποποιημένους κανονικούς συντελεστές διακριτικής λειτουργίας (Πίνακας 13), συμπεραίνουμε ότι το λινολενικό οξύ συνέβαλλε περισσότερο στην διαφοροποίηση των δειγμάτων της Αττικής από αυτά της Στερεάς. Σε ότι αφορά την δεύτερη συνάρτηση, η F2 δεν φαίνεται να είναι σημαντική και να διαφοροποιεί τα δείγματα. Τέλος τα ποσοστά της σωστής ταξινόμησης και της διασταυρωμένης επικύρωσης είναι 73,33 % και 63,33 % αντίστοιχα.

Πίνακας 12. Τυποποιημένοι κανονικοί συντελεστές διακριτικής λειτουργίας

	F1	F2
Λινολενικό οξύ (C18:3)	-0,767	0,646
Παλμιτικό οξύ (C16:0)	0,699	0,719

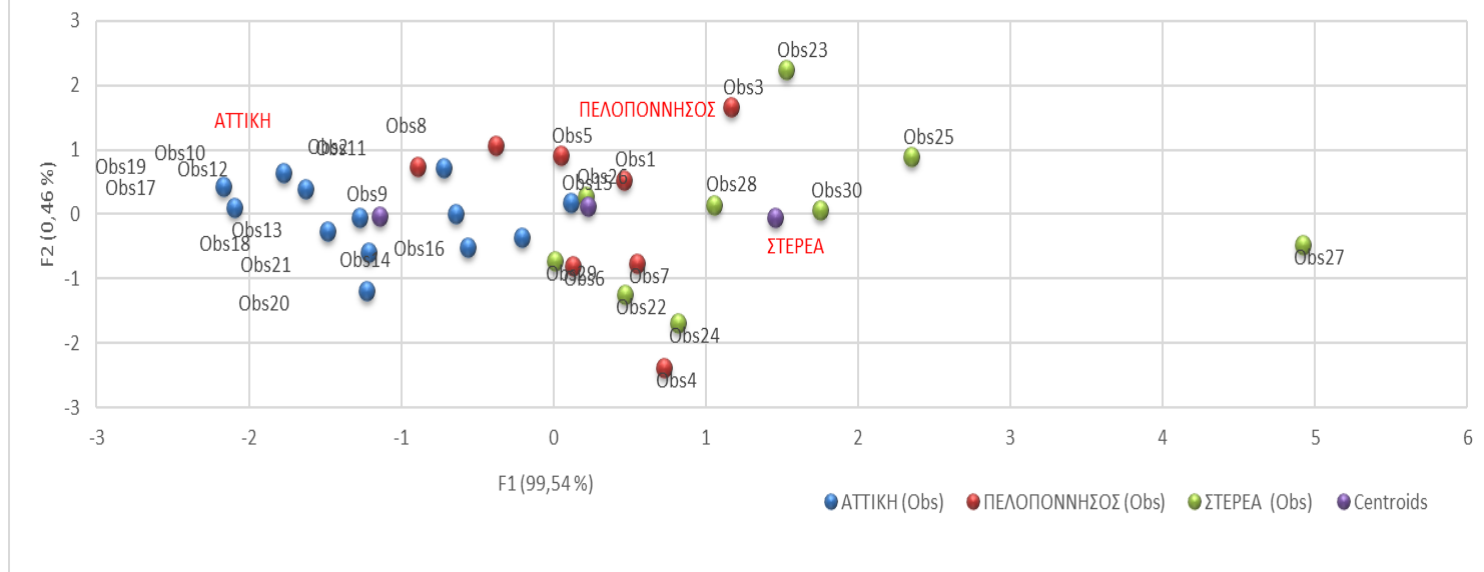


Εικόνα 29. Γεωγραφική διαφοροποίηση των δειγμάτων από την Αττική, την Πελοπόννησο και την Στερεά Ελλάδα με βάση τα λιπαρά οξέα χρησιμοποιώντας την βηματική διάκριση και την LDA.

Επίσης, όπως ειπώθηκε και παραπάνω στις μεταβλητές που επιλέχθηκαν από την βηματική διάκριση εφαρμόστηκε και η QDA (Εικόνα 31), όπου τα ποσοστά της σωστής ταξινόμησης και της διασταυρωμένης επικύρωσης είναι 76,67 % και 86,67 %. Αυτό σημαίνει ότι σε αυτή την περίπτωση η QDA ταξινόμησε καλύτερα τα δείγματα σε σχέση με την LDA.

Τέλος είναι σημαντικό να σημειωθεί ότι και σε άλλη έρευνα που βρέθηκε από την βιβλιογραφία το λινολενικό οξύ έχει χρησιμοποιηθεί για την γεωγραφική διαφοροποίηση δειγμάτων με βάση τα λιπαρά οξέα (Hlima et al., 2017).

ΠΑΡΑΤΗΡΗΣΕΙΣ (άξονες F1 και F2: 100,00 %)



Εικόνα 30. . Γεωγραφική διαφοροποίηση των δειγμάτων από την Αττική , την Πελοπόννησο και την Στερεά Ελλάδα με βάση τα λιπαρά οξέα χρησιμοποιώντας την βηματική διάκριση και την QDA.

➤ ΔΙΑΧΩΡΙΣΜΟΣ ΜΕ ΒΑΣΗ ΤΑ ΠΗΤΗΤΙΚΑ ΚΑΙ ΤΑ ΛΙΠΑΡΑ ΣΥΣΤΑΤΙΚΑ

Για την στατιστική ανάλυση των δεδομένων των λιπαρών οξέων εφαρμόστηκαν οι μέθοδοι LDA και QDA. Επίσης, προκειμένου να προσδιοριστούν οι πιο σημαντικές μεταβλητές εφαρμόστηκε και στις δύο μεθόδους η βηματική ανάλυση διάκρισης (stepwise discriminant analysis). Η διακριτική ισχύς των μεταβλητών που επιλέγονται από αυτόν τον αλγόριθμο ορίζεται από την τιμή F (ο λόγος διακύμανσης μεταξύ ομάδων προς τη διακύμανση εντός των ομάδων). Όσο υψηλότερη είναι η τιμή F, τόσο μεγαλύτερη είναι η δυνατότητα διάκρισης των μεταβλητών. Έτσι λοιπόν , από την μέθοδο αυτή επιλέχθηκαν το παλμιτικό οξύ , το ελαϊκό οξύ, το α-κοπαένιο, ο οξικός εξυλεστέρας και η (E,E)-2,4-εξαδιενάλη (Πίνακας 14). Έτσι, στις παραπάνω μεταβλητές εφαρμόστηκε η LDA και βρέθηκε ότι οι μήτρες συνδιασποράς εντός των κλάσεων είναι διαφορετικές. Αυτό βρέθηκε καθώς στο Box test (Fisher's F asymptotic approximation) βρέθηκε ότι το $-2\text{Log}(M) = 128,385$ και το $p\text{-value} < 0,0001 < 0,05$. Επίσης, σύμφωνα με τις ιδιοτιμές (eigenvalues) (Πίνακας 15) και οι δυο συναρτήσεις, F_1 και F_2 που σχηματίστηκαν είναι σημαντικές για την διαφοροποίηση των δειγμάτων.

Πίνακας 13. Μεταβλητές που επιλέχθηκαν από την βηματική μέθοδο

Nbr. of variables	Variable IN/OUT	Status	Partial R ²	F	Pr > F	Wilks' Lambda	Pr < Lambda
1	οξικός εξυλεστλερας	IN				0,528	0,000
2	Λινολενικό οξύ (C18:3)	IN	0,416	9,254	0,001	0,308	<0,0001
3	(E,E)-2,4-εξαδιενάλη	IN	0,341	6,478	0,005	0,203	<0,0001
4	Παλμιτικό οξύ (C16:0)	IN	0,255	4,099	0,029	0,151	<0,0001
5	Ελαϊκό οξύ (C18:1)	IN	0,269	4,228	0,027	0,111	<0,0001
6	α-κοπαένιο	IN	0,279	4,246	0,028	0,091	<0,0001

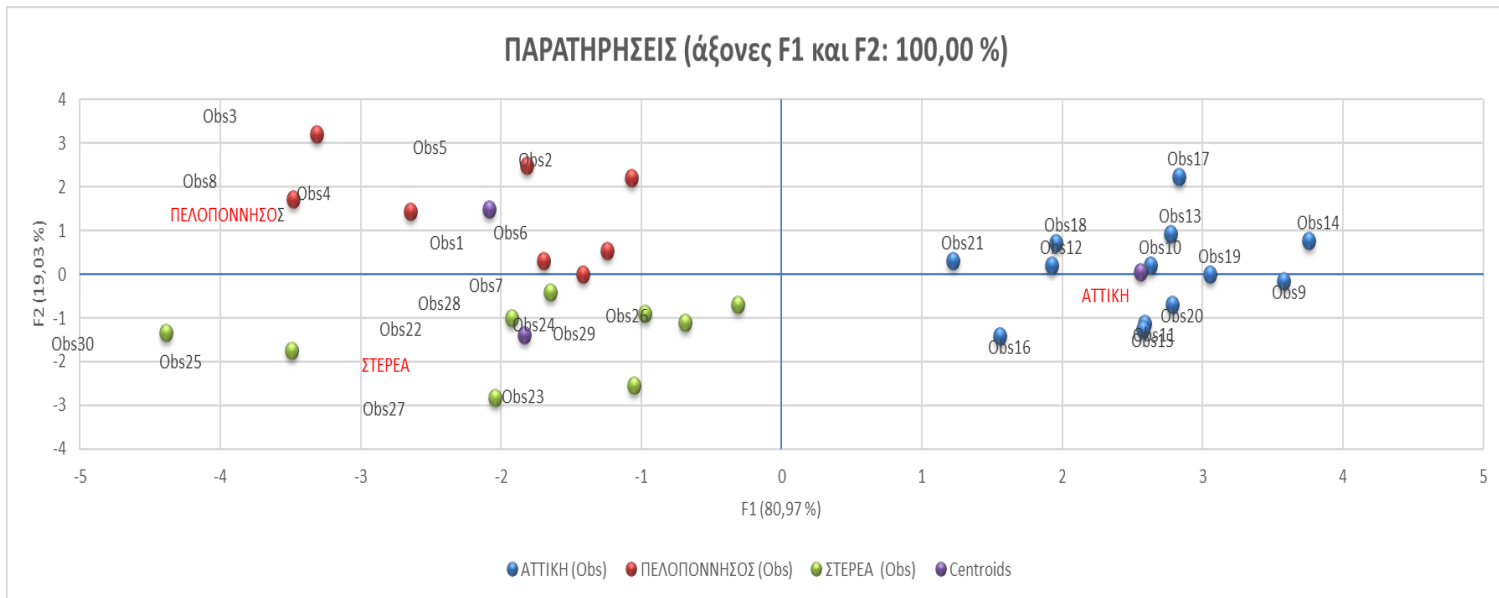
Πίνακας 14. Ιδιοτιμές για τον διαχωρισμό με βάση τα λιπαρά οξέα και τα πτητικά συστατικά

	F1	F2
Ιδιοτιμή	5,556	1,305
Διαφοροποίηση (%)	80,974	19,026
Αθροιστικό(%)	80,974	100,000

Ο διαχωρισμός μεταξύ των τριών γεωγραφικών περιοχών των δειγμάτων φαίνεται στην Εικόνα 32, όπου η συνάρτηση F1 διαχωρίζει τα δείγματα της Αττικής από αυτά της Στερεάς και της Πελοποννήσου. Επίσης, σύμφωνα με τους τυποποιημένους κανονικούς συντελεστές διακριτικής λειτουργίας (Πίνακας 16), συμπεραίνουμε ότι το παλμιτικό και το ελαϊκό οξύ συνέβαλλαν περισσότερο στην διαφοροποίηση των δειγμάτων της Αττικής από αυτά της Στερεάς και της Πελοποννήσου. Σε ότι αφορά την δεύτερη συνάρτηση, η F2 διαχωρίζει τα δείγματα της Πελοποννήσου από αυτά της Στερεάς και από τους τυποποιημένους κανονικούς συντελεστές διακριτικής λειτουργίας συμπεραίνουμε ότι ο οξικός εξυλεστέρας και η (E,E)-2,4-εξαδιενάλη συνέβαλλαν περισσότερο στην διαφοροποίηση των συγκεκριμένων δειγμάτων. Τέλος, τα ποσοστά της σωστής ταξινόμησης και της διασταυρωμένης επικύρωσης είναι 96,67 % και 90,00 % αντίστοιχα.

Πίνακας 15. Τυποποιημένοι κανονικοί συντελεστές διακριτικής λειτουργίας

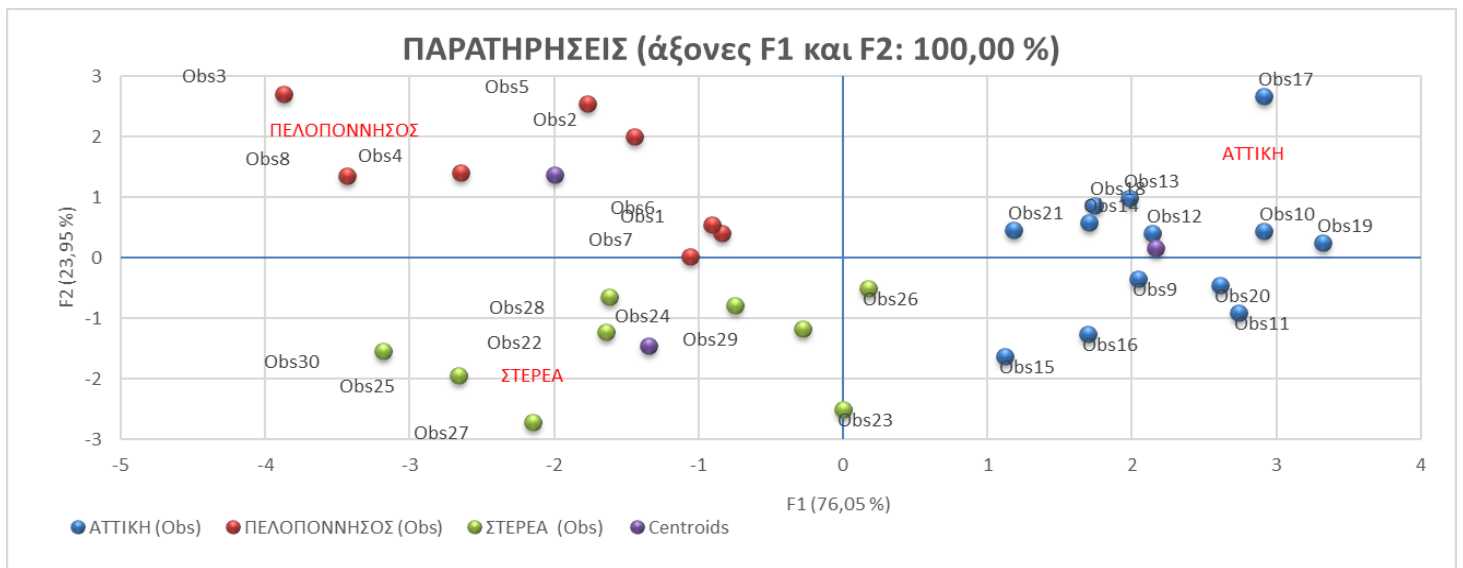
	F1	F2
Ελαϊκό οξύ (C18:1)	2,687	-0,139
Παλμιτικό οξύ (C16:0)	2,898	0,335
(E,E)-2,4-εξαδιενάλη	-1,541	0,558
οξικός εξυλεστέρας	-0,091	0,908



Εικόνα 31. Γεωγραφική διαφοροποίηση των δειγμάτων από την Αττική, την Πελοπόννησο και την Στερεά Ελλάδα με βάση τα λιπαρά οξέα και τα πτητικά συστατικά χρησιμοποιώντας την βηματική διάκριση και την LDA.

Επίσης, όπως ειπώθηκε και παραπάνω στις μεταβλητές που επιλέχθηκαν από την βηματική διάκριση εφαρμόστηκε και η QDA (Εικόνα 33), όπου το ποσοστό της σωστής ταξινόμησης και της διασταυρωμένης επικύρωσης είναι 100,00%. Αυτό σημαίνει ότι σε αυτή την περίπτωση η QDA ταξινόμησε καλύτερα τα δείγματα σε σχέση με την LDA.

Τέλος, είναι σημαντικό να σημειωθεί ότι και σε άλλες έρευνες που έχουν βρεθεί από την βιβλιογραφία, το ελαϊκό οξύ και ο οξικός εξυλεστέρας σχετίζονται με την γεωγραφική διαφοροποίηση δειγμάτων ελαιολάδου (Hlima et al., 2017; Pizarro et al., 2011). Επίσης, έχει αναφερθεί στην βιβλιογραφία ότι τα τερπενοειδή, όπως το α -κοπαένιο, μπορούν να παίξουν πολύ σημαντικό ρόλο στη γεωγραφική διαφοροποίησης (Brkić Bubola et al., 2014).



Εικόνα 32. Γεωγραφική διαφοροποίηση των δειγμάτων από την Αττική, την Πελοπόννησο και την Στερεά Ελλάδα με βάση τα λιπαρά οξέα και τα πτητικά συστατικά χρησιμοποιώντας την βηματική διάκριση και την QDA.

➤ ΔΙΑΧΩΡΙΣΜΟΣ ΜΕ ΒΑΣΗ ΤΑ ΠΤΗΤΙΚΑ ΚΑΙ ΤΑ ΟΛΙΚΑ ΦΑΙΝΟΛΙΚΑ

Στην συγκεκριμένη στατιστική ανάλυση που πραγματοποιήθηκε φάνηκε ότι τα ολικά φαινολικά δεν είναι καθόλου σημαντικά για την διαφοροποίηση των δειγμάτων. Έτσι, η διαφοροποίηση έγινε μόνο με τα πτητικά συστατικά και είχαμε τα ίδια αποτελέσματα με ανάλυση που πραγματοποιήθηκε παραπάνω. Το γεγονός ότι τα ολικά φαινολικά συστατικά δεν έπαιξαν ρόλο στην γεωγραφική διαφοροποίηση ίσως να οφείλεται στο ότι η περιεκτικότητα του ελαιολάδου σε φαινόλες εξαρτάται, εκτός από το κλίμα και από τις καλλιεργητικές συνθήκες, την διαδικασία παραγωγής αλλά και τις συνθήκες αποθήκευσης (Tripoli et al., 2005). Τέλος, στην βιβλιογραφία βρέθηκε έρευνα όπου πάλι τα ολικά φαινολικά δεν ήταν σημαντικά για την γεωγραφική διαφοροποίηση των δειγμάτων (Hassine et al., 2014).

➤ ΔΙΑΧΩΡΙΣΜΟΣ ΜΕ ΒΑΣΗ ΤΑ ΛΙΠΑΡΑ ΟΞΕΑ ΚΑΙ ΤΑ ΟΛΙΚΑ ΦΑΙΝΟΛΙΚΑ

Στην συγκεκριμένη στατιστική ανάλυση που πραγματοποιήθηκε φάνηκε ότι τα ολικά φαινολικά δεν είναι καθόλου σημαντικά για την διαφοροποίηση των δειγμάτων. Έτσι, η διαφοροποίηση έγινε μόνο με τα λιπαρά οξέα και είχαμε τα ίδια αποτελέσματα με ανάλυση που

πραγματοποιήθηκε παραπάνω. Το γεγονός ότι τα ολικά φαινολικά συστατικά δεν έπαιξαν ρόλο στην γεωγραφική διαφοροποίηση ίσως να οφείλεται στο ότι η περιεκτικότητα του ελαιολάδου σε φαινόλες εξαρτάται, εκτός από το κλίμα και από τις καλλιεργητικές συνθήκες, την διαδικασία παραγωγής αλλά και τις συνθήκες αποθήκευσης (Tripoli et al., 2005). Τέλος, στην βιβλιογραφία βρέθηκε έρευνα όπου πάλι τα ολικά φαινολικά δεν ήταν σημαντικά για την γεωγραφική διαφοροποίηση των δειγμάτων (Hassine et al., 2014).

➤ ΔΙΑΧΩΡΙΣΜΟΣ ΜΕ ΒΑΣΗ ΤΑ ΠΤΗΤΙΚΑ ΣΥΣΤΑΤΙΚΑ , ΤΑ ΛΙΠΑΡΑ ΟΞΕΑ ΚΑΙ ΤΑ ΟΛΙΚΑ ΦΑΙΝΟΛΙΚΑ

Στην συγκεκριμένη στατιστική ανάλυση που πραγματοποιήθηκε φάνηκε ότι τα ολικά φαινολικά δεν είναι καθόλου σημαντικά για την διαφοροποίηση των δειγμάτων. Έτσι, η διαφοροποίηση έγινε με βάση τα πτητικά συστατικά και τα λιπαρά οξέα και είχαμε τα ίδια αποτελέσματα με ανάλυση που πραγματοποιήθηκε παραπάνω. Το γεγονός ότι τα ολικά φαινολικά συστατικά δεν έπαιξαν ρόλο στην γεωγραφική διαφοροποίηση ίσως να οφείλεται στο ότι η περιεκτικότητα του ελαιολάδου σε φαινόλες εξαρτάται, εκτός από το κλίμα και από τις καλλιεργητικές συνθήκες, την διαδικασία παραγωγής αλλά και τις συνθήκες αποθήκευσης (Tripoli et al., 2005). Τέλος, στην βιβλιογραφία βρέθηκε έρευνα όπου πάλι τα ολικά φαινολικά δεν ήταν σημαντικά για την γεωγραφική διαφοροποίηση των δειγμάτων (Hassine et al., 2014).

➤ ΔΙΑΧΩΡΙΣΜΟΣ ΜΕ ΒΑΣΗ ΤΑ ΦΑΣΜΑΤΑ FTIR-ATR

Για την στατιστική ανάλυση των δεδομένων των FTIR-ATR φασμάτων εφαρμόστηκαν οι μέθοδοι LDA και QDA. Επίσης, προκειμένου να προσδιοριστούν οι πιο σημαντικές μεταβλητές εφαρμόστηκε και στις δύο μεθόδους η βηματική ανάλυση διάκρισης (stepwise discriminant analysis). Η διακριτική ισχύς των μεταβλητών που επιλέγονται από αυτόν τον αλγόριθμο ορίζεται από την τιμή F (ο λόγος διακύμανσης μεταξύ ομάδων προς τη διακύμανση εντός των ομάδων). Όσο υψηλότερη είναι η τιμή F, τόσο μεγαλύτερη είναι η δυνατότητα διάκρισης των μεταβλητών. Έτσι λοιπόν, από την μέθοδο αυτή επιλέχθηκαν οι μεταβλητές, 1138.183 και 2835.812, που αντιστοιχούν στην δόνηση τάσης του δεσμού -CO-O- των εστέρων και στην δόνηση τάσης του δεσμού C-H των -CH₂ και -CH₃ αλειφατικών ενώσεων (Panagiota-Kyriaki Revelou, 2020) (Πίνακας 17). Έτσι, στις παραπάνω μεταβλητές εφαρμόστηκε η LDA και βρέθηκε ότι οι μήτρες συνδιασποράς εντός των κλάσεων είναι διαφορετικές. Αυτό βρέθηκε

καθώς στο Box test (Fisher's F asymptotic approximation) βρέθηκε ότι το $-2\text{Log}(M) = 43,667$ και το $p\text{-value} < 0,0001 < 0,05$. Επίσης, σύμφωνα με τις ιδιοτιμές (eigenvalues) (Πίνακας 18) και οι δυο συναρτήσεις, F1 και F2 που σχηματίστηκαν είναι σημαντικές για την διαφοροποίηση των δειγμάτων.

Πίνακας 16. Μεταβλητές που επιλέχθηκαν από την βηματική μέθοδο

Nbr. of variables	Variable IN/OUT	Status	Partial R ²	F	Pr > F	Wilks' Lambda	Pr < Lambda
1	1138,183	IN	0,438	10,513	0,000	0,562	0,000
4	2835,812	IN	0,282	4,706	0,019	0,198	<0,0001

Πίνακας 17. Ιδιοτιμές για τον διαχωρισμό με βάση τους κυματαριθμούς

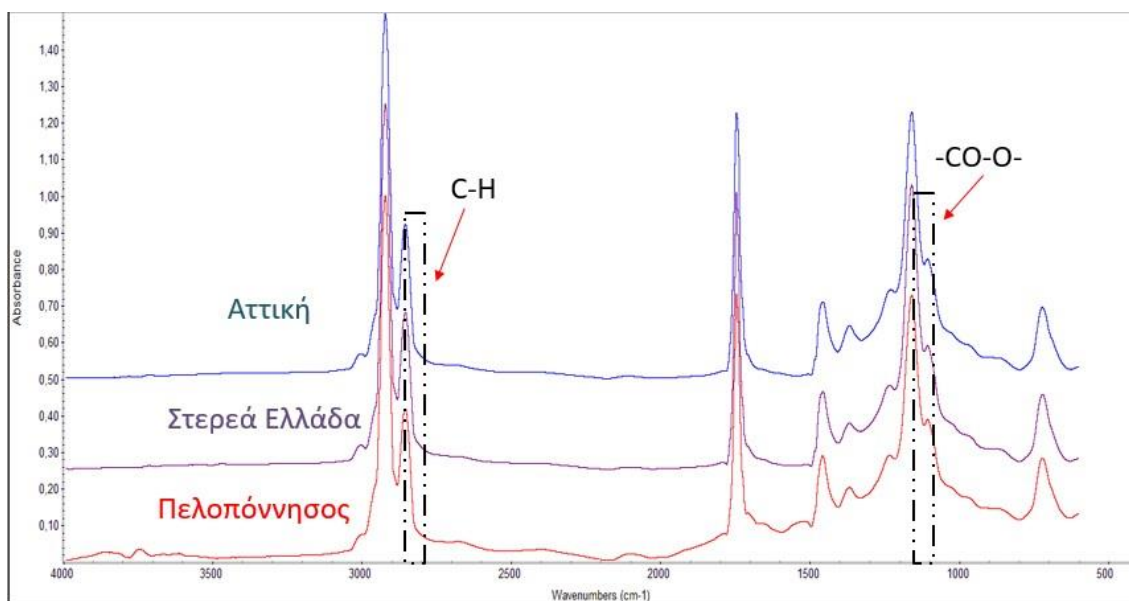
	F1	F2
Ιδιοτιμή	2,169	1,299
Διαφοροποίηση(%)	62,538	37,462
Αθροιστικό(%)	62,538	100,000

Ο διαχωρισμός μεταξύ των τριών γεωγραφικών περιοχών των δειγμάτων φαίνεται στην Εικόνα 35, όπου η συνάρτηση F1 διαχωρίζει τα δείγματα της Αττικής από αυτά της Στερεάς. Επίσης, σύμφωνα με τους τυποποιημένους κανονικούς συντελεστές διακριτικής λειτουργίας (Πίνακας 19) , συμπεραίνουμε ότι η δόνηση τάσης του δεσμού -CO-O- των εστέρων συνέβαλλε περισσότερο στην διαφοροποίηση των δειγμάτων της Αττικής από αυτά της Στερεάς. Σε ότι αφορά την δεύτερη συνάρτηση, η F2 διαχωρίζει τα δείγματα της Πελοποννήσου από αυτά της Στερεάς και από τους τυποποιημένους κανονικούς συντελεστές διακριτικής λειτουργίας συμπεραίνουμε ότι η δόνηση τάσης του δεσμού C-H των -CH₂ και -CH₃ αλειφατικών ενώσεων συνέβαλλε περισσότερο στην διαφοροποίηση των συγκεκριμένων δειγμάτων. Τέλος τα ποσοστά της σωστής ταξινόμησης και της διασταυρωμένης επικύρωσης είναι 93,33 % και 83,33% αντίστοιχα.

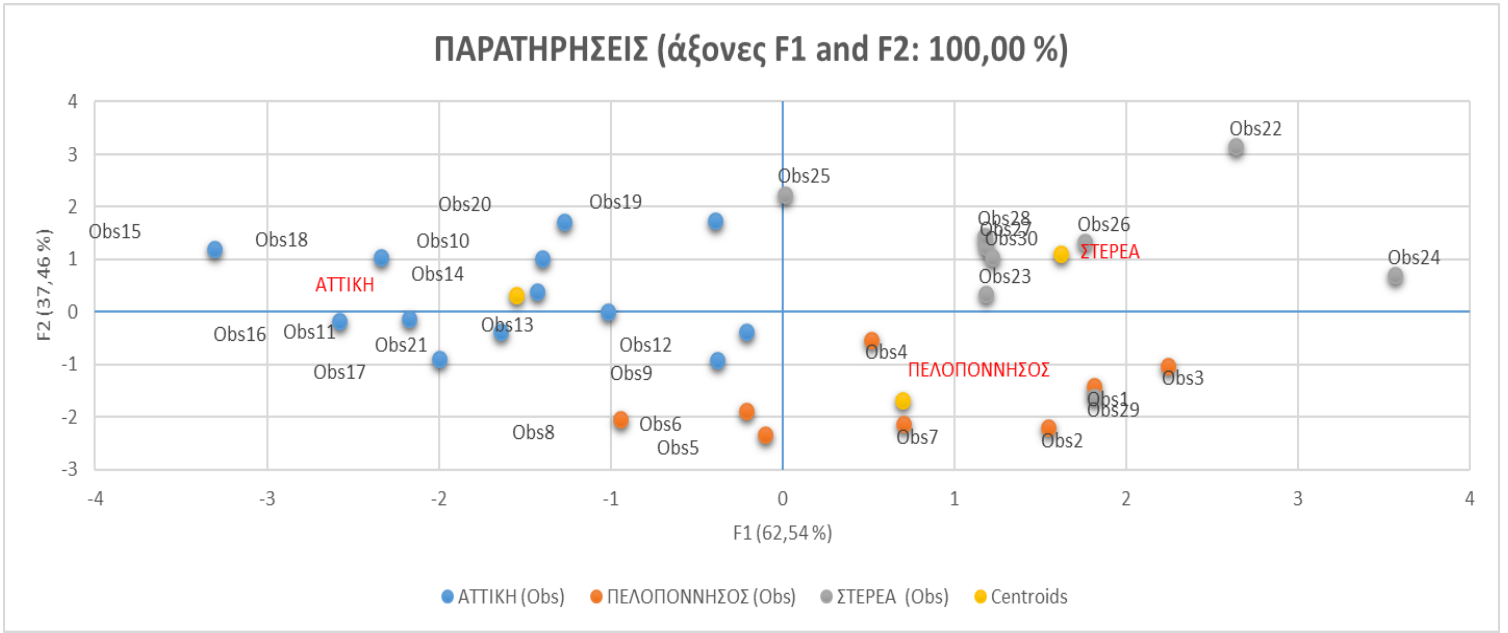
Πίνακας 18. Τυποποιημένοι κανονικοί συντελεστές διακριτικής λειτουργίας

	F1	F2
1138,183	1,302	1,973
2835,812	-0,369	-2,237

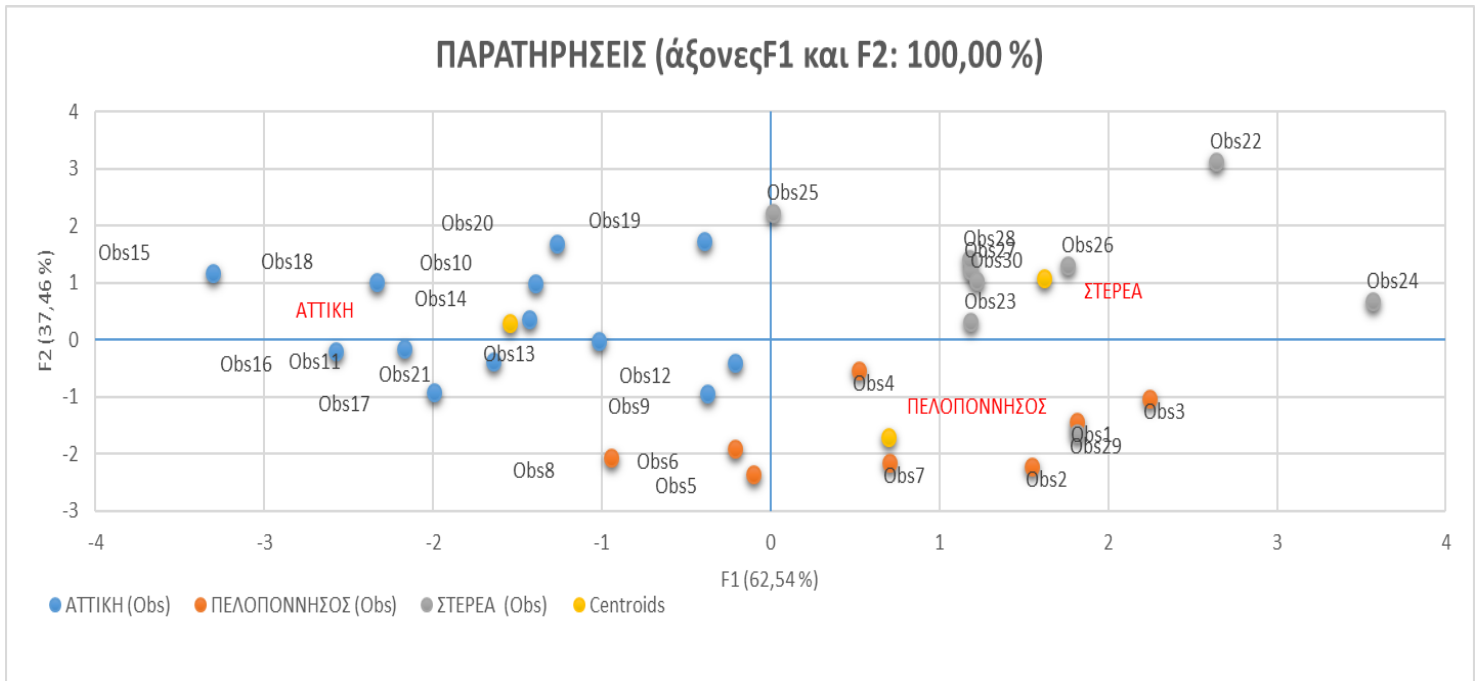
Επίσης, όπως ειπώθηκε και παραπάνω στις μεταβλητές που επιλέχθηκαν από την βηματική διάκριση εφαρμόστηκε και η QDA (Εικόνα 36), όπου το ποσοστό της σωστής ταξινόμησης και της διασταυρωμένης επικύρωσης είναι 56,67 % και 60,00 % αντίστοιχα. Αυτό σημαίνει ότι σε αυτή την περίπτωση η LDA ταξινόμησε καλύτερα τα δείγματα σε σχέση με την QDA.



Εικόνα 33. Φάσματα ATR-FTIR δειγμάτων ελαιολάδου Μεγαρείτικης ποικιλίας από την περιοχή της Αττικής, της Στερεάς Ελλάδας και της Πελοποννήσου, σε συχνότητα 4000-650 cm⁻¹. Η φασματική σήμανση με διακεκομμένη γραμμή χρησιμοποιήθηκε για την γεωγραφική διαφοροποίηση δειγμάτων ελαιολάδου



Εικόνα 34. Γεωγραφική διαφοροποίηση των δειγμάτων από την Αττική, την Πελοπόννησο και την Στερεά Ελλάδα με βάση τα δεδομένα FTIR-ATR χρησιμοποιώντας την βηματική διάκριση και την LDA.



Εικόνα 35. Γεωγραφική διαφοροποίηση των δειγμάτων από την Αττική, την Πελοπόννησο και την Στερεά Ελλάδα με βάση τα δεδομένα FTIR-ATR χρησιμοποιώντας την βηματική διάκριση και την QDA

➤ ΣΥΣΧΕΤΙΣΕΙΣ Spearman's rho

Οι συσχετίσεις των συγκεντρώσεων των λιπαρών οξέων και των πτητικών συστατικών μελετήθηκαν χρησιμοποιώντας τους συντελεστές συσχέτισης του Spearman's rho , όπως φαίνεται στην Εικόνα 34. Έτσι λοιπόν, η στατιστική ανάλυση έδειξε θετική συσχέτιση (p -value < 0,001) ανάμεσα στην νονανάλη και την 2-επτανάλη με $\rho=0,7520$, το οποίο είναι λογικό καθώς και οι δύο αυτές ενώσεις παράγονται μέσω αυτοοξειδωσης κατά την εκχύλιση του ελαιολάδου. Επίσης, έχει βρεθεί ότι αυτές οι ενώσεις, μαζί με κάποιες άλλες, σχετίζονται με την οξείδωση του ελαιολάδου, επομένως είναι λογικό όταν αυξάνεται η μία να αυξάνεται και η άλλη. Το ίδιο φαίνεται να ισχύει και για τις ενώσεις 2,4-εξαδιενάλη, (*E,E*)- 2-πεντενάλη, με $\rho= 0,7700$, νονανάλη – επτανάλη με $\rho= 0,8954$ και νονανάλη-εξανάλη με $\rho=0,7481$ (Kotsiou and Tasioula-Margari, 2015; Morales et al., 1997; Morales and Aparicio, 1999; Squeo et al., 2019)

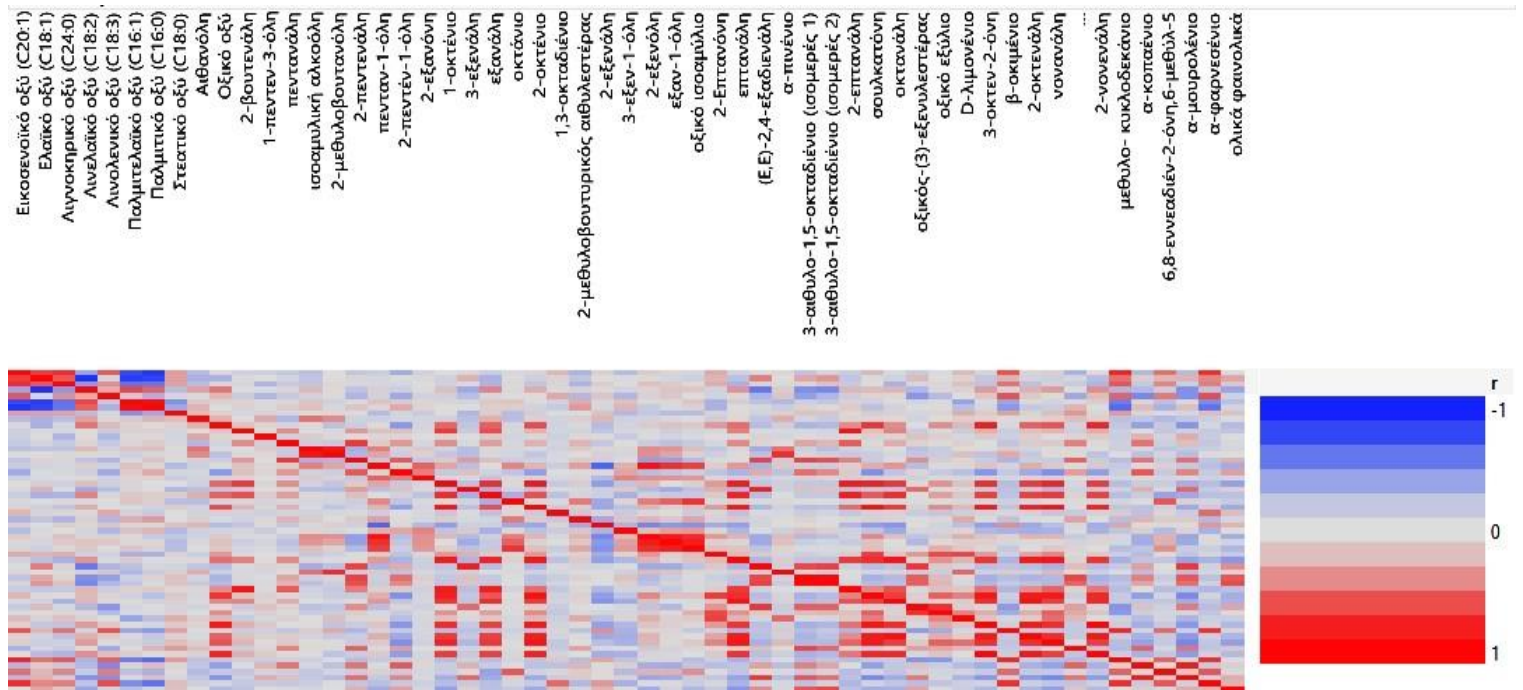
Επίσης, η στατιστική ανάλυση έδειξε αρκετά μεγάλη θετική συσχέτιση (p -value < 0,001) ανάμεσα στον οξικό εξυλεστέρα και την 3-εξεν-1-όλη με $\rho=0,8750$, το οποίο φαίνεται λογικό καθώς και οι δύο αυτές ενώσεις παράγονται μέσω του LOX και έχει παρατηρηθεί ταυτόχρονη αύξηση και μείωση τους με βάση τον βαθμό ωρίμανσης του καρπού από τον οποίο προέρχεται το ελαιόλαδο αλλά και τον χρόνο αποθήκευσης του ελαιολάδου(Aparicio and Morales, 1998).

Επιπροσθέτως , η στατιστική ανάλυση έδειξε πολύ μεγάλη θετική συσχέτιση (p -value < 0,001) ανάμεσα στο 3-αιθυλο-1,5-οκταδιένιο (ισομερές 1) και στο 3-αιθυλο-1,5-οκταδιένιο (ισομερές 2) με $\rho = 0,9115$, το οποίο φαίνεται λογικό καθώς η μία είναι η ισομερής ένωση της άλλης.

Επιπλέον, η στατιστική ανάλυση έδειξε μεγάλη θετική συσχέτιση (p -value < 0,001) ανάμεσα στο παλμιτικό οξύ και στο παλμιτελαϊκό οξύ με $\rho= 0,8554$, το οποίο συμβαδίζει και με άλλες μελέτες που έχουν γίνει (Kritioti et al., 2018).

Ακόμα, αξίζει να σημειωθεί ότι η στατιστική ανάλυση έδειξε μεγάλη αρνητική συσχέτιση (p -value < 0,001) ανάμεσα στο λινελαϊκό οξύ και στο ελαϊκό οξύ σε αυτές τις δύο ενώσεις με $\rho=-0,8842$, το οποίο φαίνεται λογικό καθώς οι ενώσεις αυτές έχουν ανταγωνιστική σχέση και σύμφωνα με την βιβλιογραφία όταν η μία είναι σε αυξημένη ποσότητα η άλλη είναι μειωμένη. Το ίδιο ισχύει και για τις ενώσεις παλμιτικό οξύ – ελαϊκό οξύ με $\rho = -0,7971$ (Boskou et al., 2006; Kritioti et al., 2018).

Τέλος, είναι σημαντικό να σημειωθεί ότι οι ενώσεις που βρέθηκαν να συσχετίζονται μεταξύ τους είτε θετικά είτε αρνητικά, βρέθηκαν να είναι σημαντικές για τον γεωγραφικό διαχωρισμό των δειγμάτων σε στατιστική ανάλυση που αναφέρεται προηγουμένως.



Εικόνα 36. Χρωματικό διάγραμμα σχετικά με τις συσχετίσεις μεταξύ λιπαρών οξέων και πτητικών ενώσεων των δειγμάτων από τις τρεις γεωγραφικές περιοχές.

4. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Στην παρούσα εργασία, η ανάλυση της σύνθεσης λιπαρών οξέων, του προφίλ πτητικών και φαινολικών ενώσεων των δειγμάτων ελαιολάδου της Μεγαρείτικης ποικιλίας που προέρχονται από τις περιοχές της Πελοποννήσου, της Αττικής και της Στερεάς Ελλάδας πραγματοποιήθηκε και μελετήθηκε χρησιμοποιώντας χημειομετρικά στοιχεία. Επίσης, πραγματοποιήθηκε ο ποσοτικός προσδιορισμός των ολικών φαινολικών συστατικών των δειγμάτων και η λήψη των φασμάτων FTIR-ATR.

Το προφίλ των πτητικών ενώσεων και στις τρεις περιοχές χαρακτηρίστηκε από την υψηλή συγκέντρωση αλδεϋδών, ειδικά της C₆ αλδεϋδης 2-εξενάλη, η οποία σχηματίζεται από το LOX και προσθέτει την τυπική «πράσινη νότα» που υπάρχει στο ελαιόλαδο. Επίσης, σε ότι αφορά τα λιπαρά οξέα, το ελαϊκό οξύ ήταν πάντα η πιο άφθονη ένωση, φτάνοντας τουλάχιστον το 68,13% των συνολικών λιπαρών οξέων. Η περιεκτικότητα σε παλμιτικό οξύ κυμαινόταν μεταξύ 13,65% και 15,84%, ανάλογα με τη γεωγραφική περιοχή. Επίσης, η περιεκτικότητα σε λινελαϊκό οξύ κυμαινόταν μεταξύ 12,13% και 12,45%, σύμφωνα με την γεωγραφική περιοχή.

Σε ότι αφορά το φαινολικό προφίλ των δειγμάτων αξίζει να αναφερθεί ότι η ελαιασίνη, η ελαιοκανθάλη και το άγλυκο της ελευρωπαΐνης, που ανήκουν στην κατηγορία των σεκοϊριδοειδών, ανιχνεύθηκαν μόνο στο δείγμα της Αττικής. Επίσης, η υδροξυτυροσόλη που είναι μία από τις κύριες φαινολικές ενώσεις στις ελιές, στο παρθένο λάδι και στα λύματα που λαμβάνονται κατά τη διάρκεια παραγωγής του ελαιολάδου, ταυτοποιήθηκε μόνο στο δείγμα από την Αττική.

Αξίζει να αναφερθεί ότι, στην παρούσα εργασία η γεωγραφική διαφοροποίηση με βάση τα πτητικά συστατικά και τα λιπαρά οξέα ήταν επιτυχής με ποσοστό σωστής ταξινόμησης 96,67% για την LDA και 100,00% για την QDA. Τα συστατικά που φάνηκαν σημαντικά για αυτή την διαφοροποίηση είναι το λινολενικό οξύ, το παλμιτικό οξύ, το ελαϊκό οξύ, ο οξικός εξυλεστεράς και η 2,4-εξαδιενάλη. Επίσης, στην γεωγραφική διαφοροποίηση, φάνηκε να μην έχουν σημαντικό ρόλο τα ολικά φαινολικά συστατικά. Επιπλέον, είναι σημαντικό να σημειωθεί ότι η γεωγραφική διαφοροποίηση με βάση τα φάσματα FTIR-ATR ήταν επιτυχής μόνο με την LDA, με ποσοστό σωστής ταξινόμησης 93,33%.

Τέλος, η παρούσα μελέτη αναδεικνύει τα πολύτιμα χαρακτηριστικά του ελληνικού ελαιολάδου και ιδιαίτερα της Μεγαρείτικης ποικιλίας, η οποία δεν έχει μελετηθεί εκτενώς και προωθεί την περαιτέρω έρευνα που μπορεί να γίνει για την γνησιότητά του.

5. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

5.1. ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Κυριτσάκης, Α. Κ. (2007). *Ελαιόλαδο Συμβατικό και Βιολογικό*. Θεσσαλονίκη: Copy City digital.
2. Κώδικας Τροφίμων, Ποτών και Αντικειμένων Κοινής Χρήσης, Άρθρο 71, παράγραφος 1. (2009).
3. *Υπουργείο Αγροτικής Ανάπτυξης και Τροφίμων*. (2016). Ανάκτηση από Υπουργείο Αγροτικής Ανάπτυξης και Τροφίμων: <http://www.minagric.gr/index.php/el/xrisimewplirofories-2/statistika-politi>

5.2. ΞΕΝΗ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Amaral, J.S., Mafra, I., Oliveira, B., 2010. Characterization of Three Portuguese Varietal Olive Oils Based on Fatty Acids, Triacylglycerols, Phytosterols and Vitamin E Profiles: Application of Chemometrics. *Olives Olive Oil Health Dis. Prev.* 581–589.
2. Angerosa, F., Basti, C., Vito, R., 1999. Virgin olive oil volatile compounds from lipoxygenase pathway and characterization of some italian cultivars. *J. Agric. Food Chem.* 47, 836–839. <https://doi.org/10.1021/jf980911g>
3. Angerosa, F., Servili, M., Selvaggini, R., Taticchi, A., Esposito, S., Montedoro, G., 2004. Volatile compounds in virgin olive oil: occurrence and their relationship with the quality. *J. Chromatogr. A* 1054, 17–31.
4. Aparicio, R., Morales, M.T., 1998. Characterization of Olive Ripeness by Green Aroma Compounds of Virgin Olive Oil. *J. Agric. Food Chem.* 46, 1116–1122. <https://doi.org/10.1021/jf970540o>

5. Baiano, A., Gambacorta, G., Terracone, C., Previtali, M.A., Lamacchia, C., La Notte, E., 2009. Changes in phenolic content and antioxidant activity of Italian extra-virgin olive oils during storage. *J. Food Sci.* 74, C177-183. <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2009.01072.x>
6. Bakhouché, A., Lozano-Sánchez, J., Ballus, C.A., Martínez-García, M., Velasco, M.G., Govantes, Á.O., Gallina-Toschi, T., Fernández-Gutiérrez, A., Segura-Carretero, A., 2014. Monitoring the moisture reduction and status of bioactive compounds in extra-virgin olive oil over the industrial filtration process. *Food Control* 40, 292–299. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2013.12.012>
7. Bakhouché, A., Lozano-Sánchez, J., Beltrán-Debón, R., Joven, J., Segura-Carretero, A., Fernández-Gutiérrez, A., 2013. Phenolic characterization and geographical classification of commercial Arbequina extra-virgin olive oils produced in southern Catalonia. *Food Res. Int.* 1, 401–408. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2012.11.001>
8. Bendini, A., Cerretani, L., Carrasco-Pancorbo, A., Gómez-Caravaca, A.M., Segura-Carretero, A., Fernández-Gutiérrez, A., Lercker, G., 2007. Phenolic molecules in virgin olive oils: a survey of their sensory properties, health effects, antioxidant activity and analytical methods. An overview of the last decade. *Mol. Basel Switz.* 12, 1679–1719. <https://doi.org/10.3390/12081679>
9. Boskou, D., Blekas, G., Tsimidou, M., 2006. 4 - Olive Oil Composition, in: Boskou, D. (Ed.), *Olive Oil (Second Edition)*. AOCS Press, pp. 41–72. <https://doi.org/10.1016/B978-1-893997-88-2.50008-0>
10. Brkić Bubola, K., Krapac, M., Lukić, I., Sladonja, B., Autino, A., Cantini, C., Poljuha, D., 2014. Morphological and Molecular Characterization of Bova Olive Cultivar and Aroma Fingerprint of Its Oil. *Food Technol. Biotechnol.* 52, 342–350.
11. Carrasco-Pancorbo, A., Cerretani, L., Bendini, A., Segura-Carretero, A., Gallina-Toschi, T., Fernández-Gutiérrez, A., 2005. Analytical determination of polyphenols in olive oils. *J. Sep. Sci.* 28, 837–858. <https://doi.org/10.1002/jssc.200500032>
12. Esti, M., Contini, M., Moneta, E., Sinesio, F., 2009. Phenolics compounds and temporal perception of bitterness and pungency in extra-virgin olive oils: Changes occurring throughout storage. *Food Chem.* 113, 1095–1100. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.08.076>
13. Hassine, K.B., Riachy, M.E., Taamalli, A., Malouche, D., Ayadi, M., Talmoudi, K., Aouini, M., Jlassi, Y., Benincasa, C., Romano, E., Perri, E., Kiristakis, A., Hamdi, M., Grati-Kammoun, N., Hammami, M., 2014. Consumer discrimination of Chemlali and Arbequina olive oil cultivars according to their cultivar, geographical origin, and

processing system. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* 116, 812–824. <https://doi.org/10.1002/ejlt.201300254>

14. Hlima, H.B., Ayed, R.B., Ennouri, K., Smaoui, S., 2017. Geographical Discrimination of Virgin Olive Oils from the Tunisian Coasts by Combining Fatty Acids and Phenolic Acids Profiles within a Multivariate Analysis. *J. Oleo Sci.* 66, 963–971. <https://doi.org/10.5650/jos.ess17080>

15. Kalua, C., Allen, M.S., Bedgood Jr, D., Bishop, A., Prenzler, P., Robards, K., 2007. Olive oil volatile compounds, flavour development and quality: A critical review. *Food Chem.* 100, 273–286. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.09.059>

16. Katsoyannos, E., Batrinou, A., Chatzilazarou, A., Bratakos, S.M., Stamatopoulos, K., Sinanoglou, V.J., 2015. Quality parameters of olive oil from stoned and nonstoned Koroneiki and Megaritiki Greek olive varieties at different maturity levels. *Grasas Aceites* 66, e067–e067. <https://doi.org/10.3989/gya.0711142>

17. Kosma, I., Vatavali, K., Kontakos, S., Kontominas, M., Kiritsakis, A., Badeka, A., 2017. Geographical Differentiation of Greek Extra Virgin Olive Oil from Late-Harvested Koroneiki Cultivar Fruits. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 94, 1373–1384. <https://doi.org/10.1007/s11746-017-3036-5>

18. Kotsiou, K., Tasioula-Margari, M., 2015. Changes occurring in the volatile composition of Greek virgin olive oils during storage: Oil variety influences stability. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* 117, 514–522. <https://doi.org/10.1002/ejlt.201400231>

19. Kritioti, A., Menexes, G., Drouza, C., 2018. Chemometric characterization of virgin olive oils of the two major Cypriot cultivars based on their fatty acid composition. *Food Res. Int. Ott. Ont* 103, 426–437. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2017.10.064>

20. Malta, L.G., Liu, R.H., 2014. Analyses of Total Phenolics, Total Flavonoids, and Total Antioxidant Activities in Foods and Dietary Supplements, in: *Encyclopedia of Agriculture and Food Systems*. pp. 305–314. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-52512-3.00058-9>

21. Morales, M.T., Aparicio, R., 1999. Effect of extraction conditions on sensory quality of virgin olive oil. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 76, 295–300. <https://doi.org/10.1007/s11746-999-0234-9>

22. Morales, M.T., Rios, J.J., Aparicio, R., 1997. Changes in the Volatile Composition of Virgin Olive Oil during Oxidation: Flavors and Off-Flavors. *J. Agric. Food Chem.* 45, 2666–2673. <https://doi.org/10.1021/jf960585+>

23. Morales, M.T., Tsimidou, M., 2000. The Role of Volatile Compounds and Polyphenols in Olive Oil Sensory Quality, in: Harwood, J., Aparicio, R. (Eds.), *Handbook*

of Olive Oil: Analysis and Properties. Springer US, Boston, MA, pp. 393–458. https://doi.org/10.1007/978-1-4757-5371-4_12

24. Nc, S., Ge, N., 1992. Gas chromatography of fatty acids. *J. Chromatogr.* 624. [https://doi.org/10.1016/0021-9673\(92\)85673-h](https://doi.org/10.1016/0021-9673(92)85673-h)

25. Pizarro, C., Rodríguez-Tecedor, S., Pérez-del-Notario, N., González-Sáiz, J.M., 2011. Recognition of volatile compounds as markers in geographical discrimination of Spanish extra virgin olive oils by chemometric analysis of non-specific chromatography volatile profiles. *J. Chromatogr. A* 1218, 518–523. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2010.11.045>

26. Poiana, M.-A., Alexa, E., Munteanu, M.-F., Gligor, R., Moigradean, D., Mateescu, C., 2015. Use of ATR-FTIR spectroscopy to detect the changes in extra virgin olive oil by adulteration with soybean oil and high temperature heat treatment. *Open Chem.* 13. <https://doi.org/10.1515/chem-2015-0110>

27. Quirantes-Piné, R., Lozano-Sánchez, J., Herrero, M., Ibáñez, E., Segura-Carretero, A., Fernández-Gutiérrez, A., 2013. HPLC-ESI-QTOF-MS as a powerful analytical tool for characterising phenolic compounds in olive-leaf extracts. *Phytochem. Anal. PCA* 24, 213–223. <https://doi.org/10.1002/pca.2401>

28. Revelou, P.-K., Pappa, C., Kakouri, E., Kanakis, C.D., Papadopoulos, G.K., Pappas, C.S., Tarantilis, P.A., 2021. Discrimination of botanical origin of olive oil from selected Greek cultivars by SPME-GC-MS and ATR-FTIR spectroscopy combined with chemometrics. *J. Sci. Food Agric.* 101, 2994–3002. <https://doi.org/10.1002/jsfa.10932>

29. Rohman, A., Man, Y.B.C., 2010. Fourier transform infrared (FTIR) spectroscopy for analysis of extra virgin olive oil adulterated with palm oil. *Food Res. Int.* 43, 886–892. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2009.12.006>

30. Servili, M., Esposito, S., Fabiani, R., Urbani, S., Taticchi, A., Mariucci, F., Selvaggini, R., Montedoro, G.F., 2009. Phenolic compounds in olive oil: antioxidant, health and organoleptic activities according to their chemical structure. *Inflammopharmacology* 17, 76–84. <https://doi.org/10.1007/s10787-008-8014-y>

31. Squeo, G., Difonzo, G., Paradiso, V.M., Summo, C., Pasqualone, A., Caponio, F., 2019. Fatty acid ethyl esters in virgin olive oils: a correlation study with the volatile profile. *Emir. J. Food Agric.* 735–740. <https://doi.org/10.9755/ejfa.2019.v31.i9.2012>

32. Tapp, H.S., Defernez, M., Kemsley, E.K., 2003. FTIR spectroscopy and multivariate analysis can distinguish the geographic origin of extra virgin olive oils. *J. Agric. Food Chem.* 51, 6110–6115. <https://doi.org/10.1021/jf030232s>

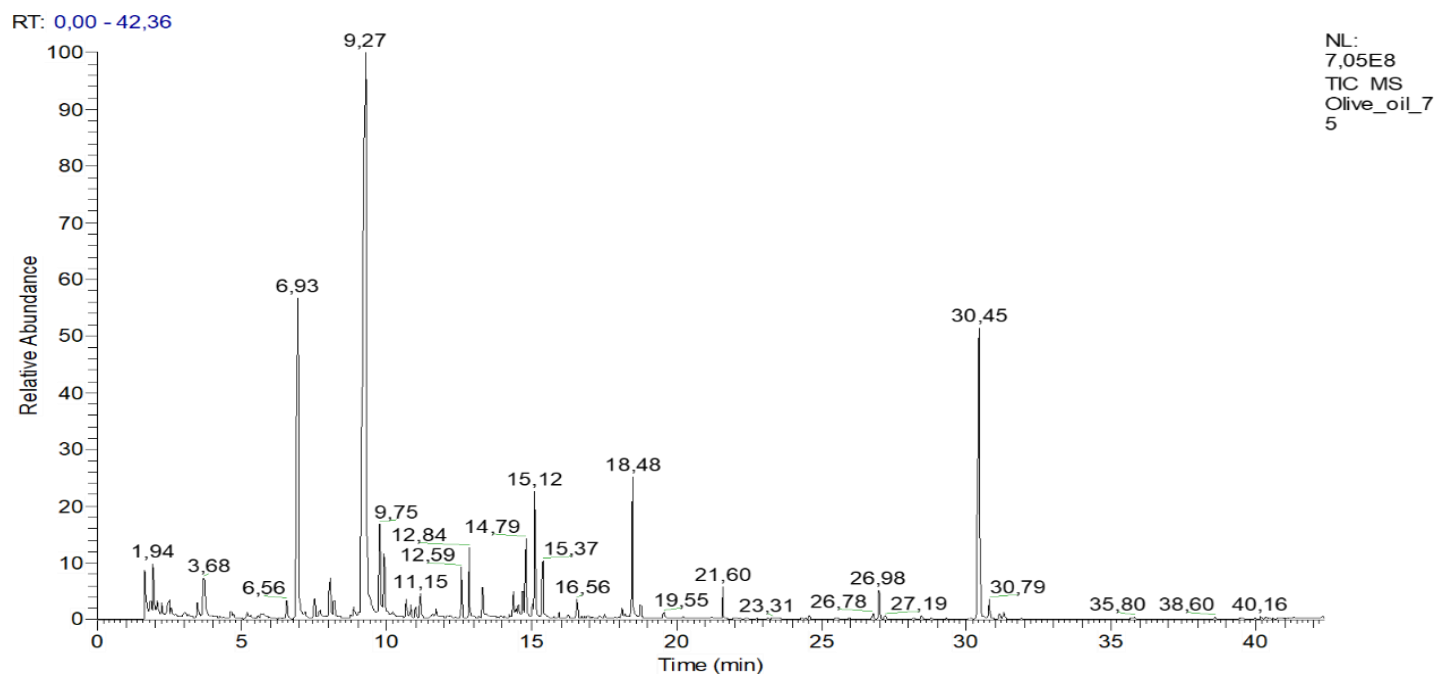
33. Therios, I.N., 2009. *Olives*. CABI.

34. Tripoli, E., Giammanco, M., Tabacchi, G., Di Majo, D., Giammanco, S., La Guardia, M., 2005. The phenolic compounds of olive oil: structure, biological activity and beneficial effects on human health. *Nutr. Res. Rev.* 18, 98–112. <https://doi.org/10.1079/NRR200495>
35. Vichi, S., Pizzale, L., Conte, L.S., Buxaderas, S., López-Tamames, E., 2003. Solid-Phase Microextraction in the Analysis of Virgin Olive Oil Volatile Fraction: Characterization of Virgin Olive Oils from Two Distinct Geographical Areas of Northern Italy. *J. Agric. Food Chem.* 51, 6572–6577. <https://doi.org/10.1021/jf030269c>
36. Youssef, O., Guido, F., Manel, I., Youssef, N.B., Luigi, C.P., Mohamed, H., Daoud, D., Mokhtar, Z., 2011. Volatile compounds and compositional quality of virgin olive oil from Oueslati variety: Influence of geographical origin. *Food Chem.* 4, 1770–1776. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.08.023>

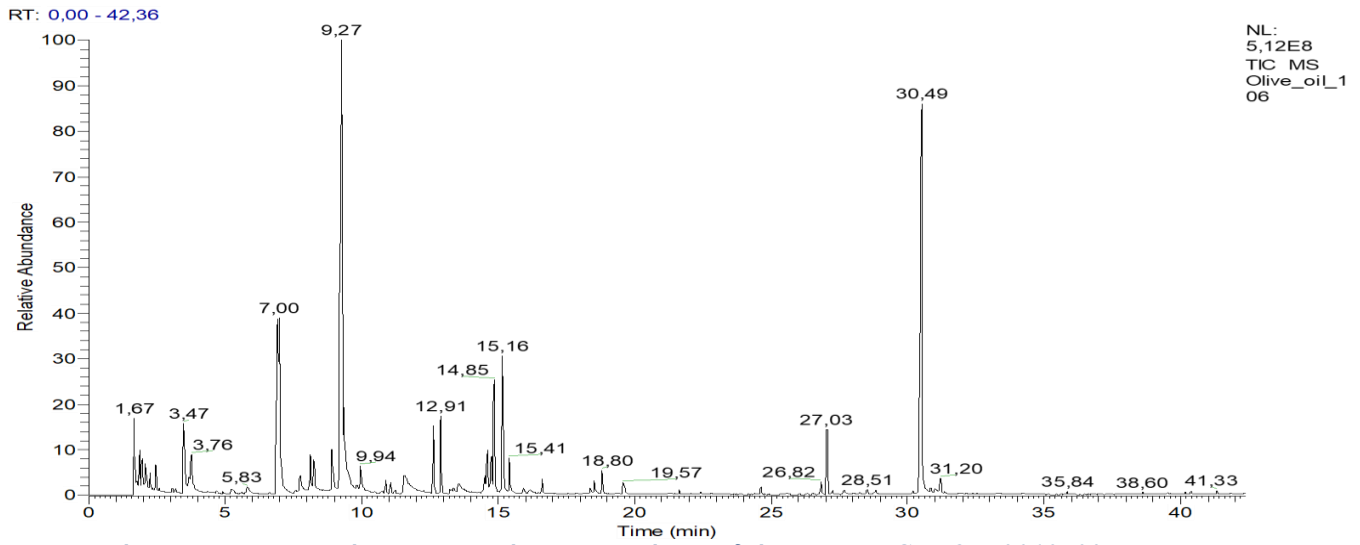
6. ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ

6.1. SPME- GC/MS

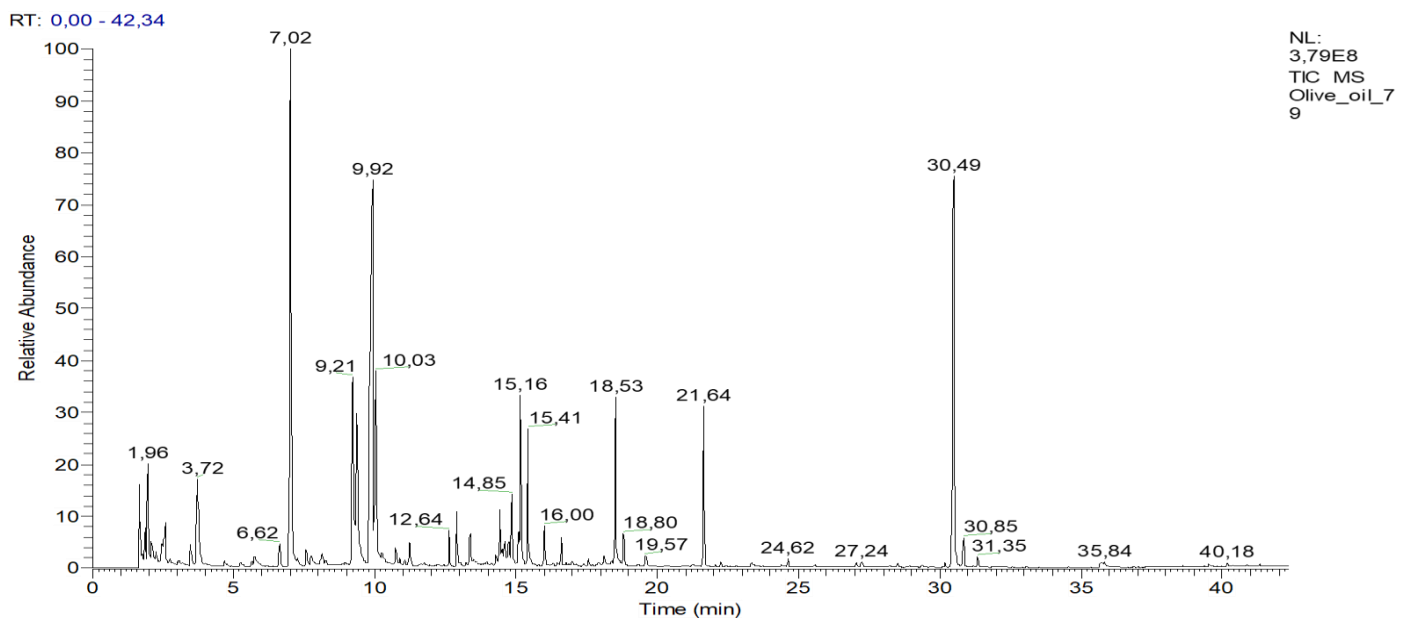
6.1.1. ΠΕΛΟΠΟΝΝΗΣΟΣ



Εικόνα 37. Χρωματογράφημα πτητικών συστατικών του δείγματος MEG_KOR_2018_01

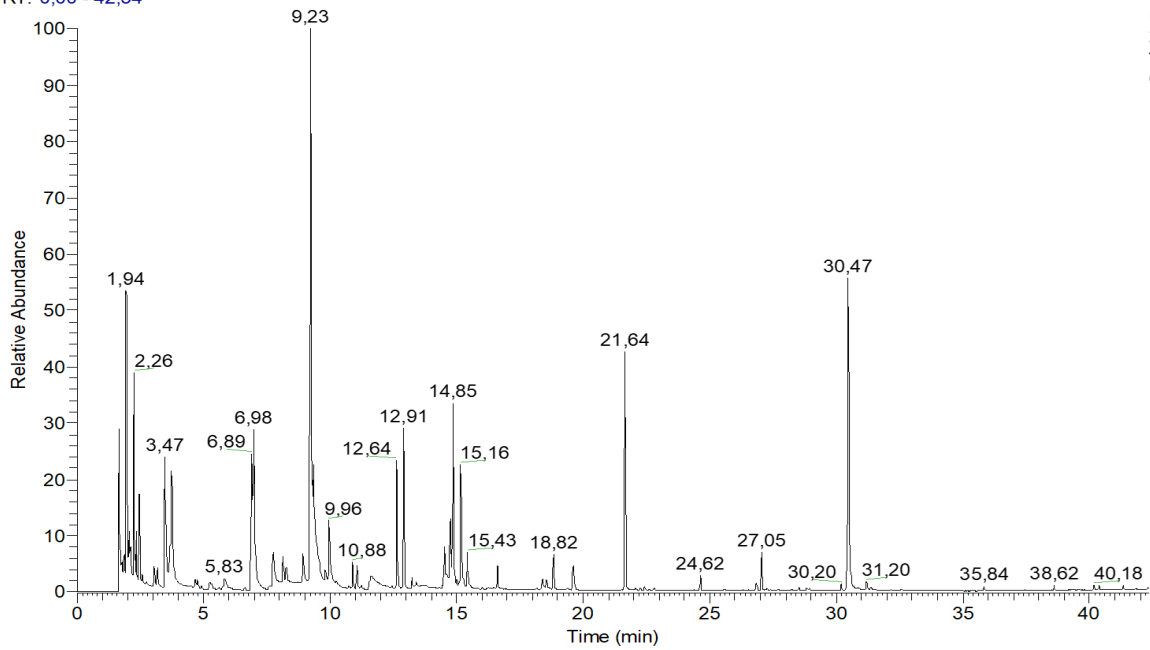


Εικόνα 38. Χρωματογράφημα πτητικών συστατικών του δείγματος MEG_KOR_2019_92



Εικόνα 39. Χρωματογράφημα πτητικών συστατικών του δείγματος MEG_ARG_2018_72

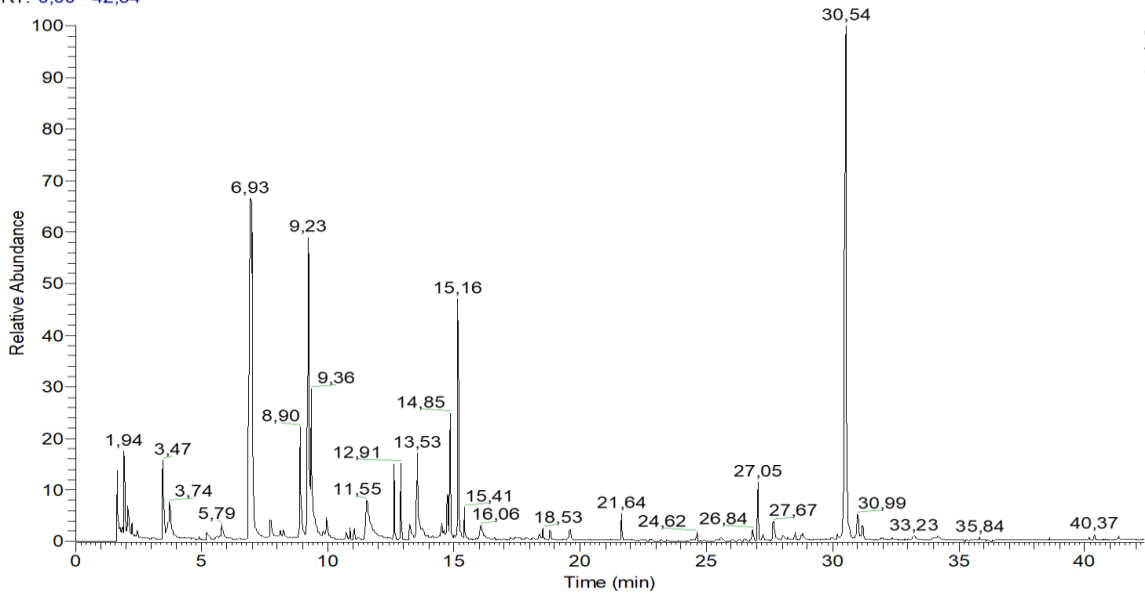
RT: 0,00 - 42,34



NL:
2,97E8
TIC MS
Olive_oil_1
15

Εικόνα 40. Χρωματογράφημα πτητικών συστατικών του δείγματος MEG_ARK_2019_103

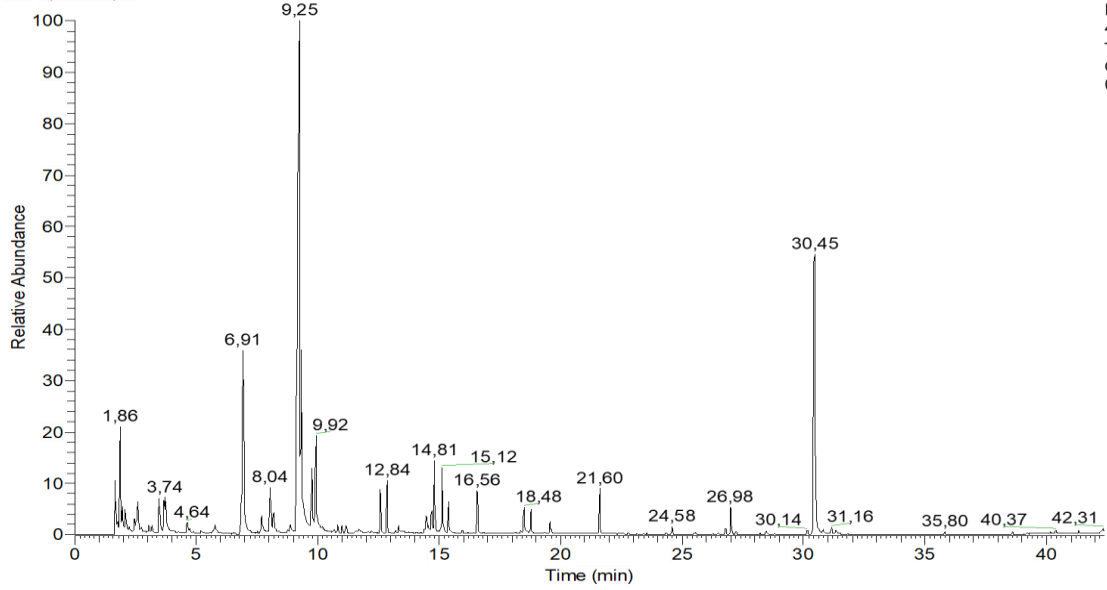
RT: 0,00 - 42,34



NL:
6,61E8
TIC MS
Olive_oil_1
14

Εικόνα 41. Χρωματογράφημα πτητικών συστατικών του δείγματος MEG_HLE_2019_102

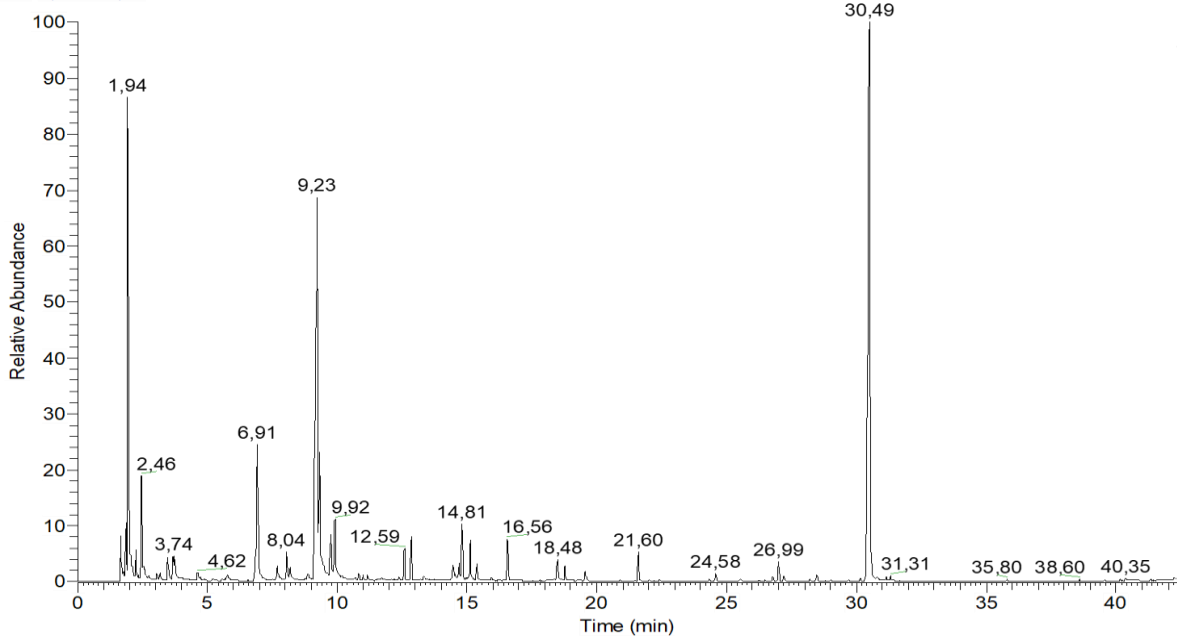
RT: 0,00 - 42,36



NL:
4,06E8
TIC MS
Olive_oil_2
03

Εικόνα 42. Χρωματογράφημα πτητικών συστατικών του δείγματος MEG_ARK_2019_187

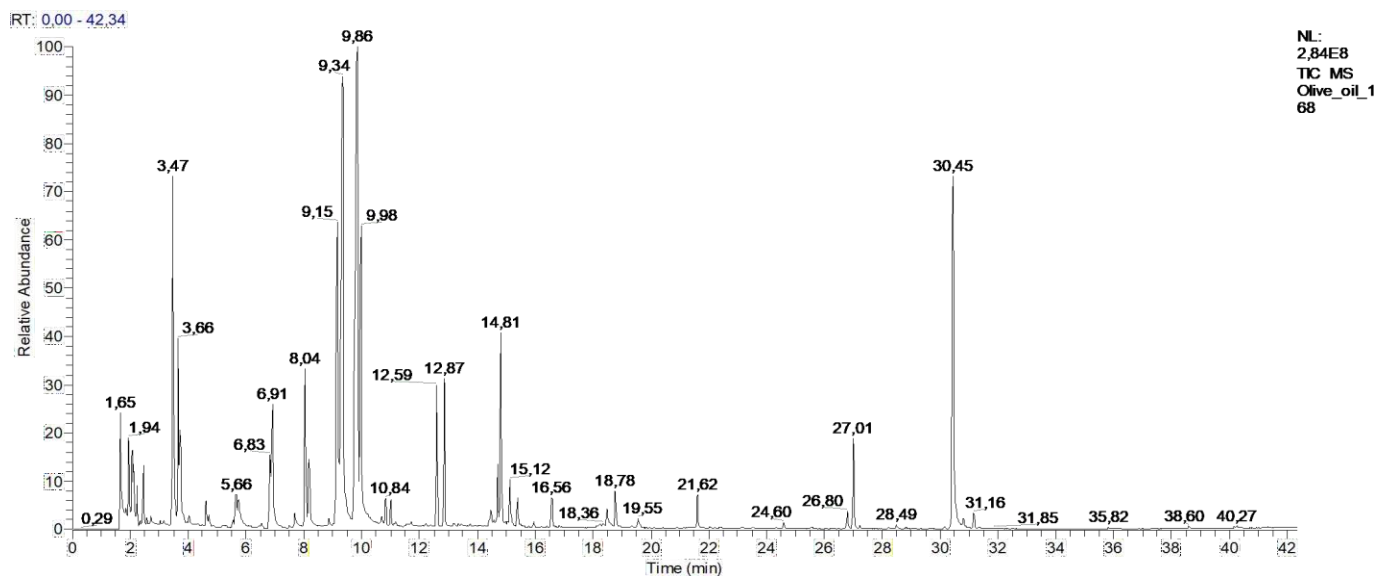
RT: 0,00 - 42,34



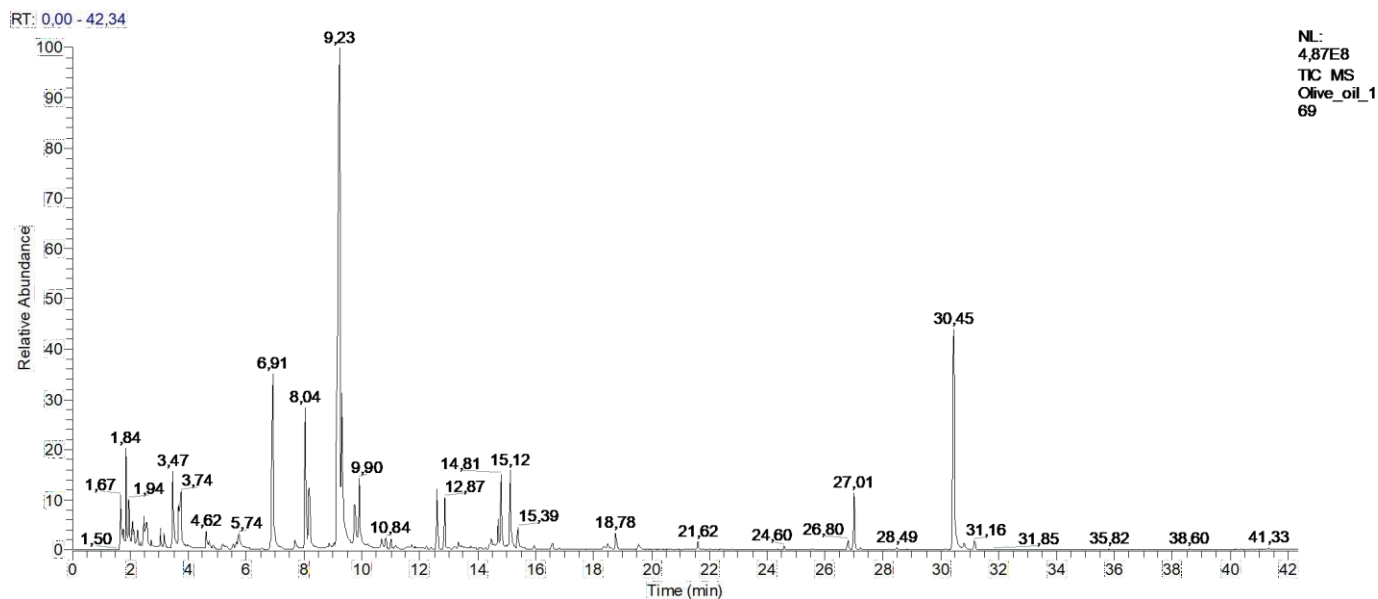
NL:
5,51E8
TIC MS
Olive_oil_2
04

Εικόνα 43. Χρωματογράφημα πτητικών συστατικών του δείγματος MEG_ARK_2019_188

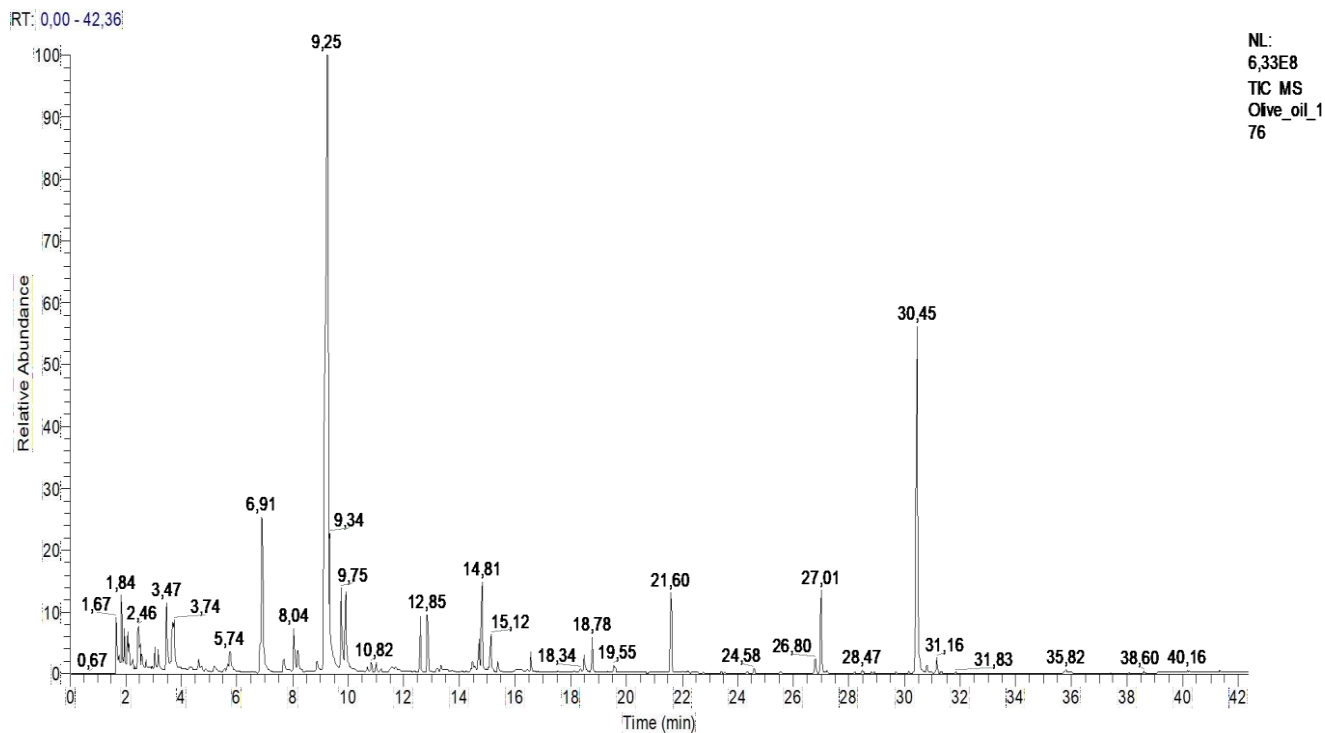
6.1.2. ΑΤΤΙΚΗ



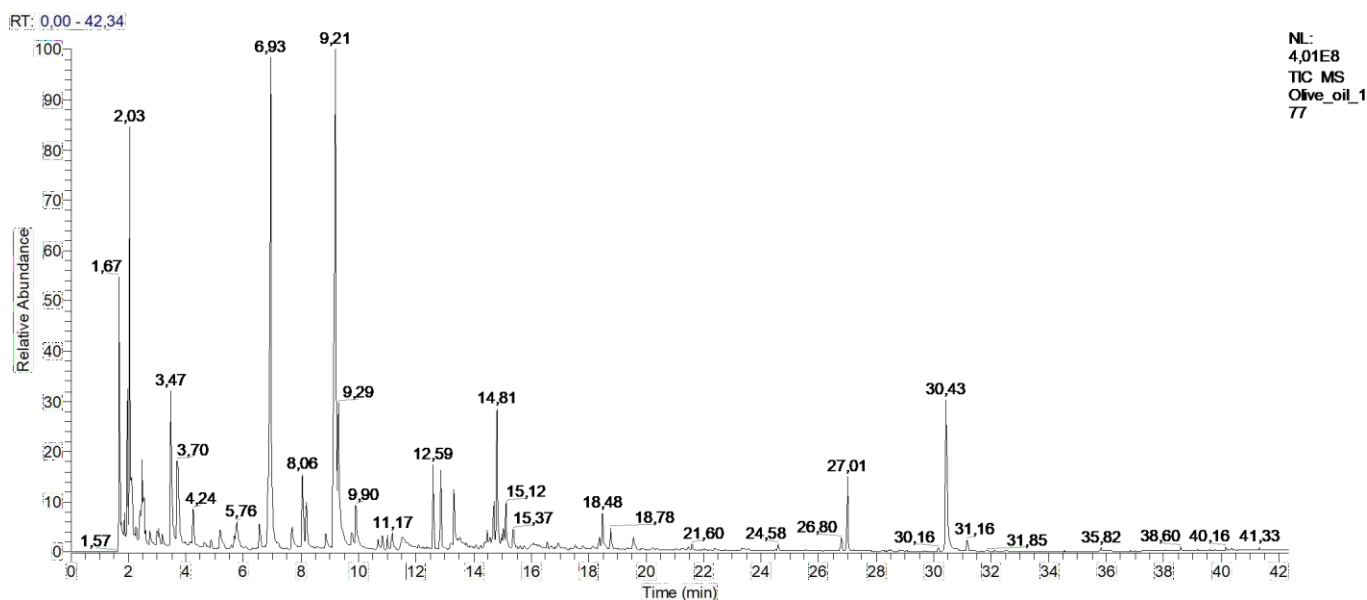
Εικόνα 44. Χρωματογράφημα πηθικών συστατικών του δείγματος MEG_ATT_2019_156



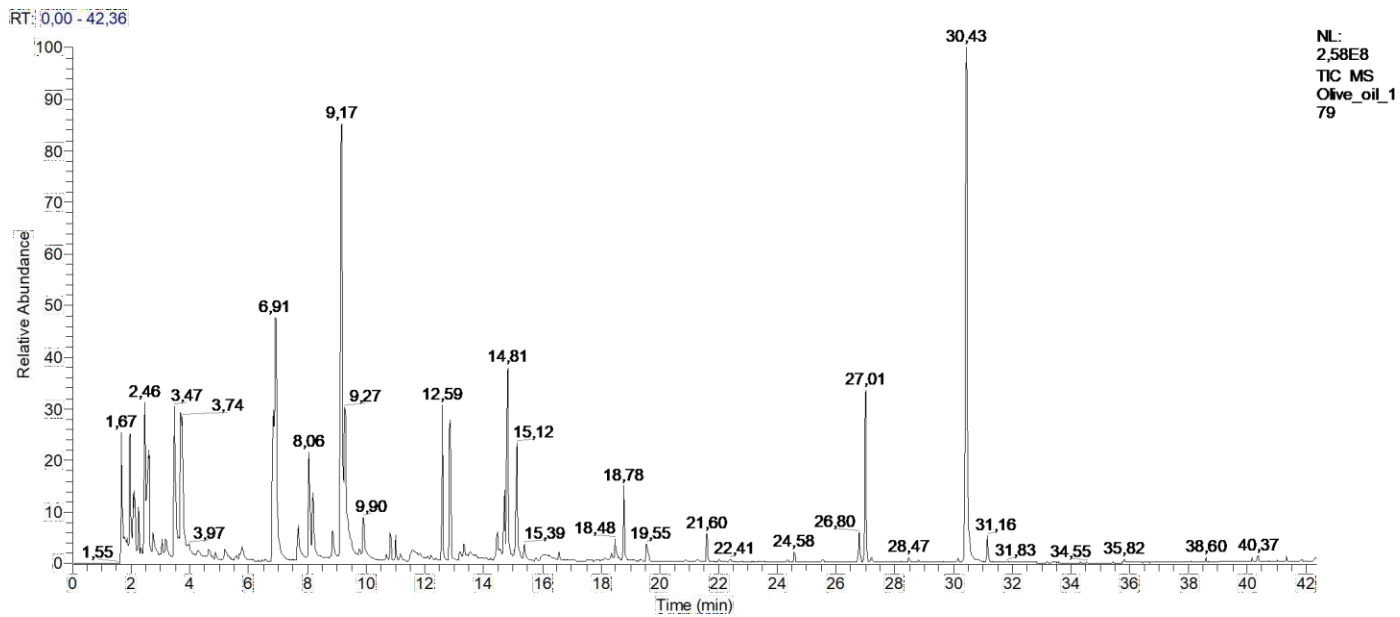
Εικόνα 45. Χρωματογράφημα πηθικών συστατικών του δείγματος MEG_ATT_2019_157



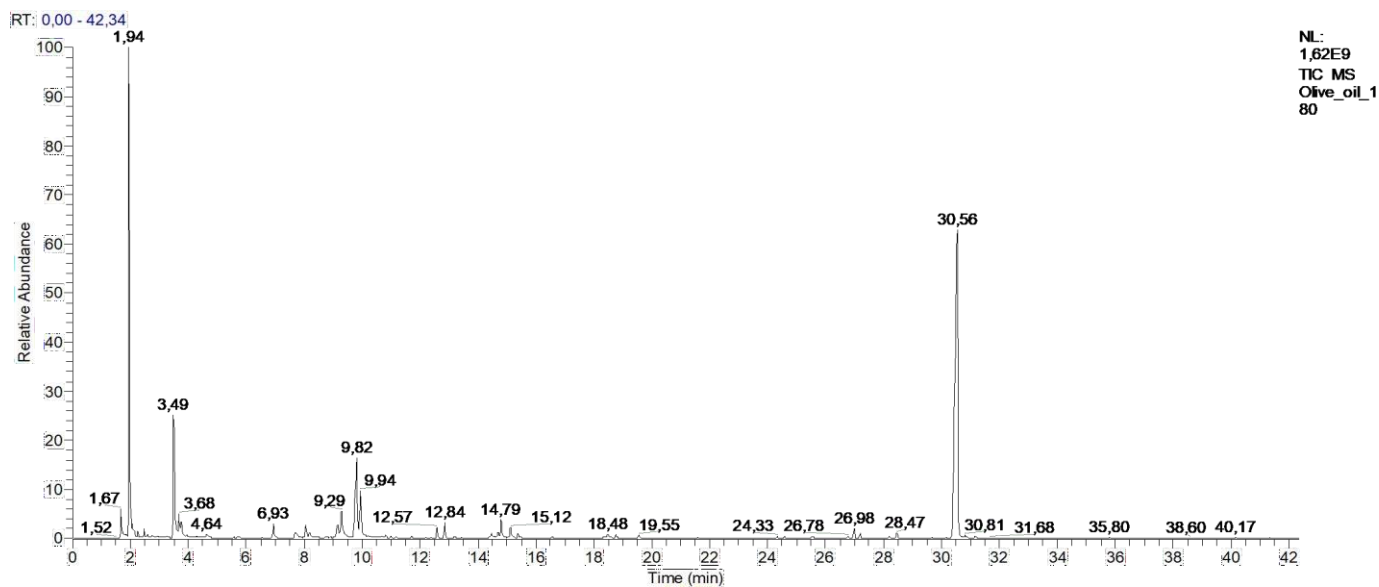
Εικόνα 46. Χρωματογράφημα πητικών συστατικών του δείγματος MEG_ATT_2019_160



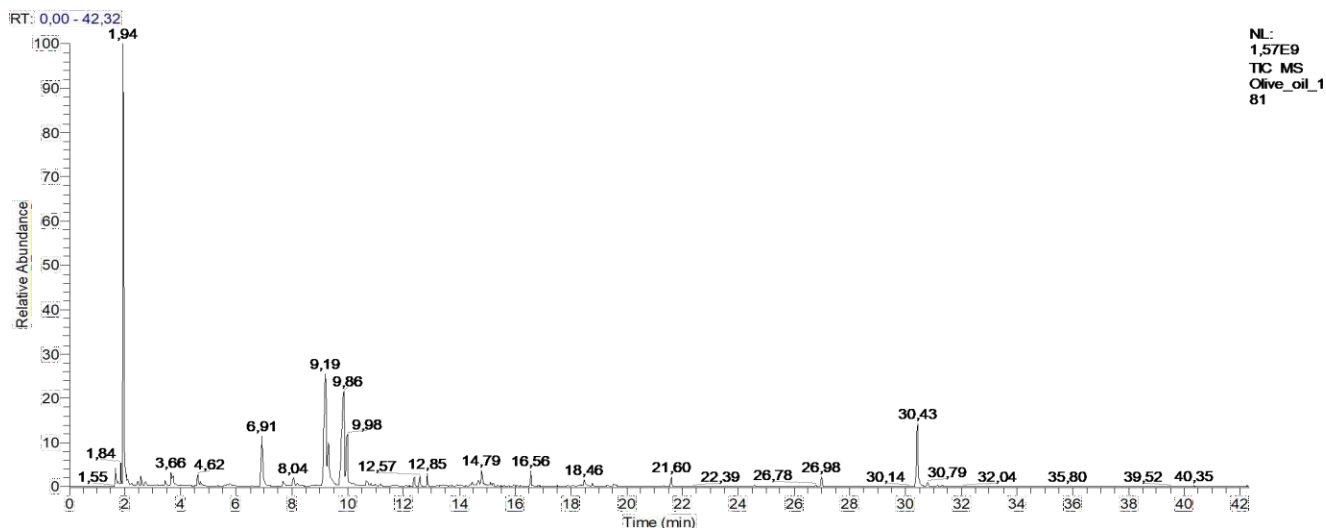
Εικόνα 47. Χρωματογράφημα πητικών συστατικών του δείγματος MEG_ATT_2019_161



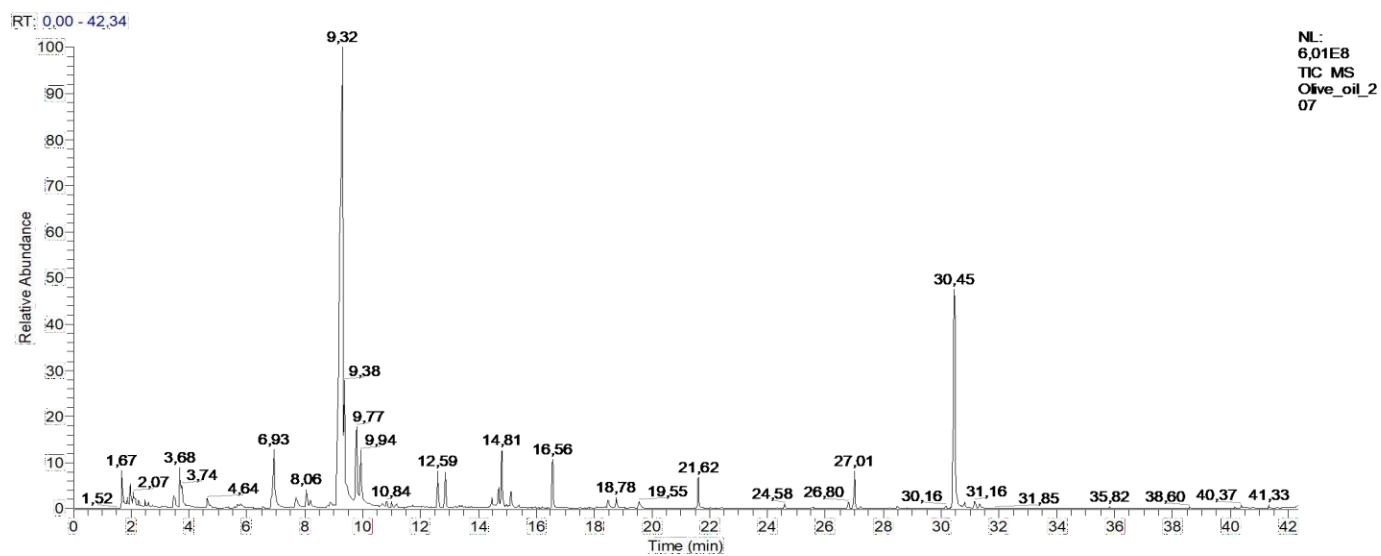
Εικόνα 48. Χρωματογράφημα πτητικών συστατικών του δείγματος MEG_ATT_2019_163



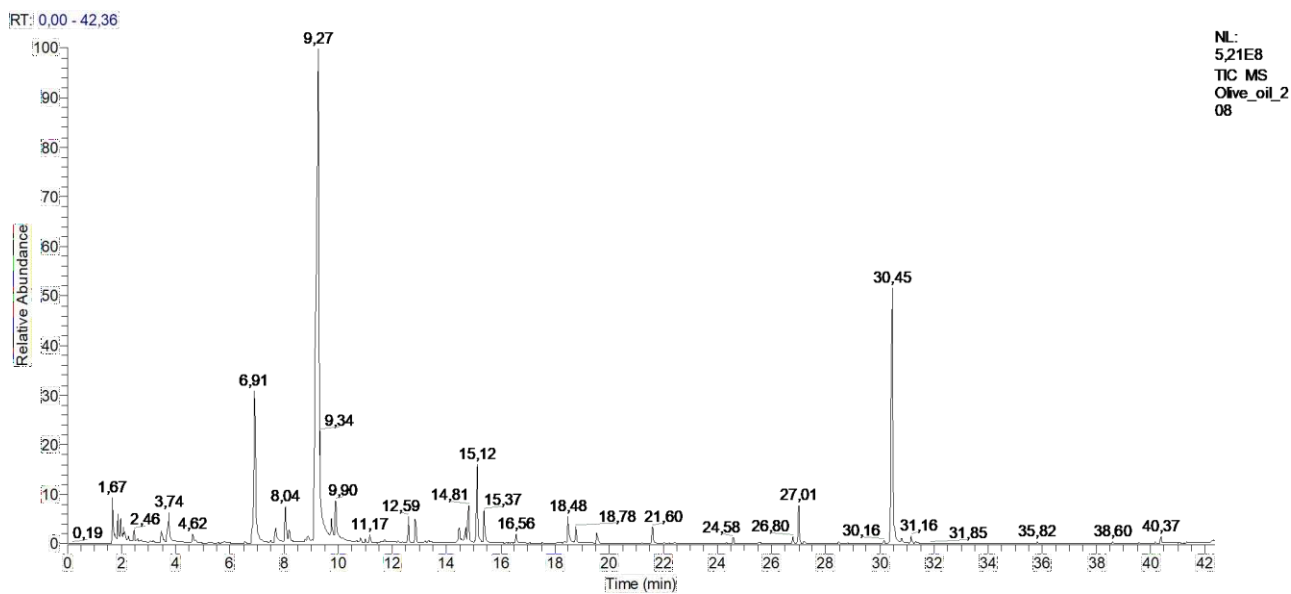
Εικόνα 49. Χρωματογράφημα πτητικών συστατικών του δείγματος MEG_ATT_2019_164



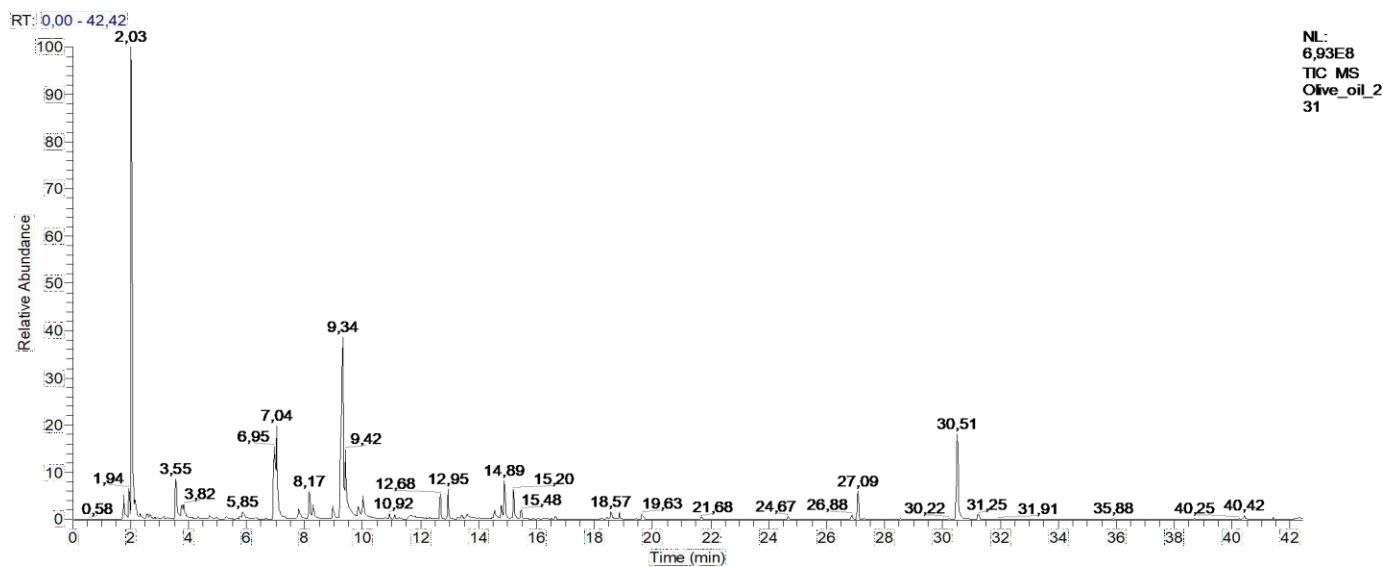
Εικόνα 50. Χρωματογράφημα πτητικών συστατικών του δείγματος MEΓ_ATT_2019_165



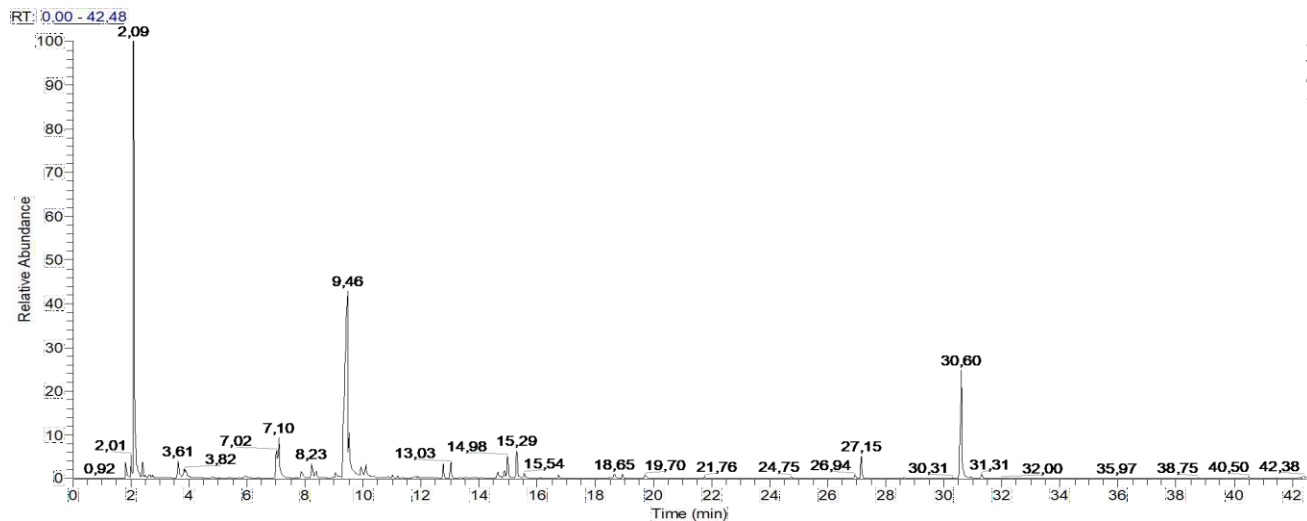
Εικόνα 51. Χρωματογράφημα πτητικών συστατικών του δείγματος MEΓ_ATT_2019_191



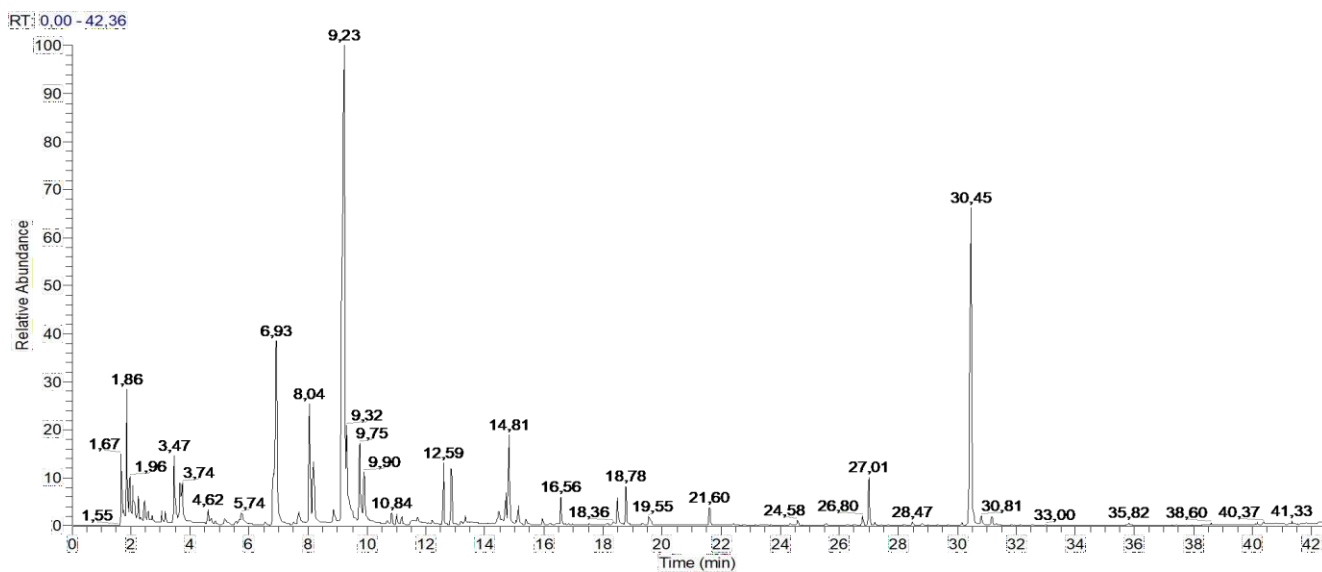
Εικόνα 52. Χρωματογράφημα πτητικών συστατικών του δείγματος MEI_ATT_2019_192



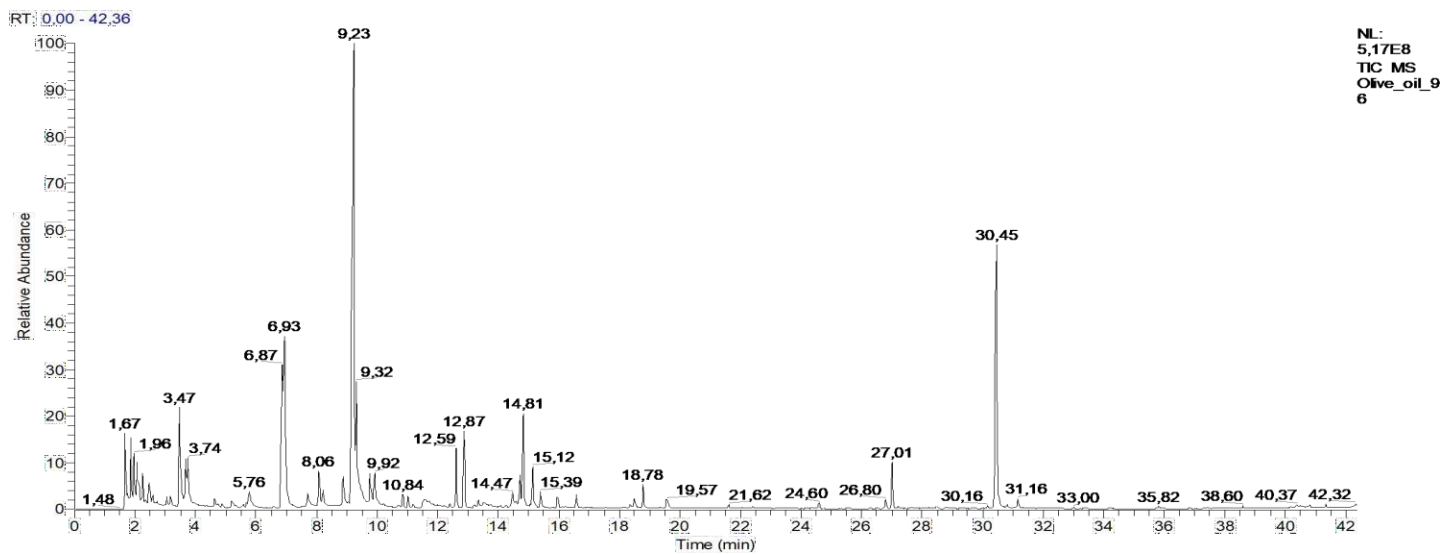
Εικόνα 53. Χρωματογράφημα πτητικών συστατικών του δείγματος MEI_ATT_2019_216



Εικόνα 54. Χρωματογράφημα πτητικών συστατικών του δείγματος MEG_ATT_2019_217

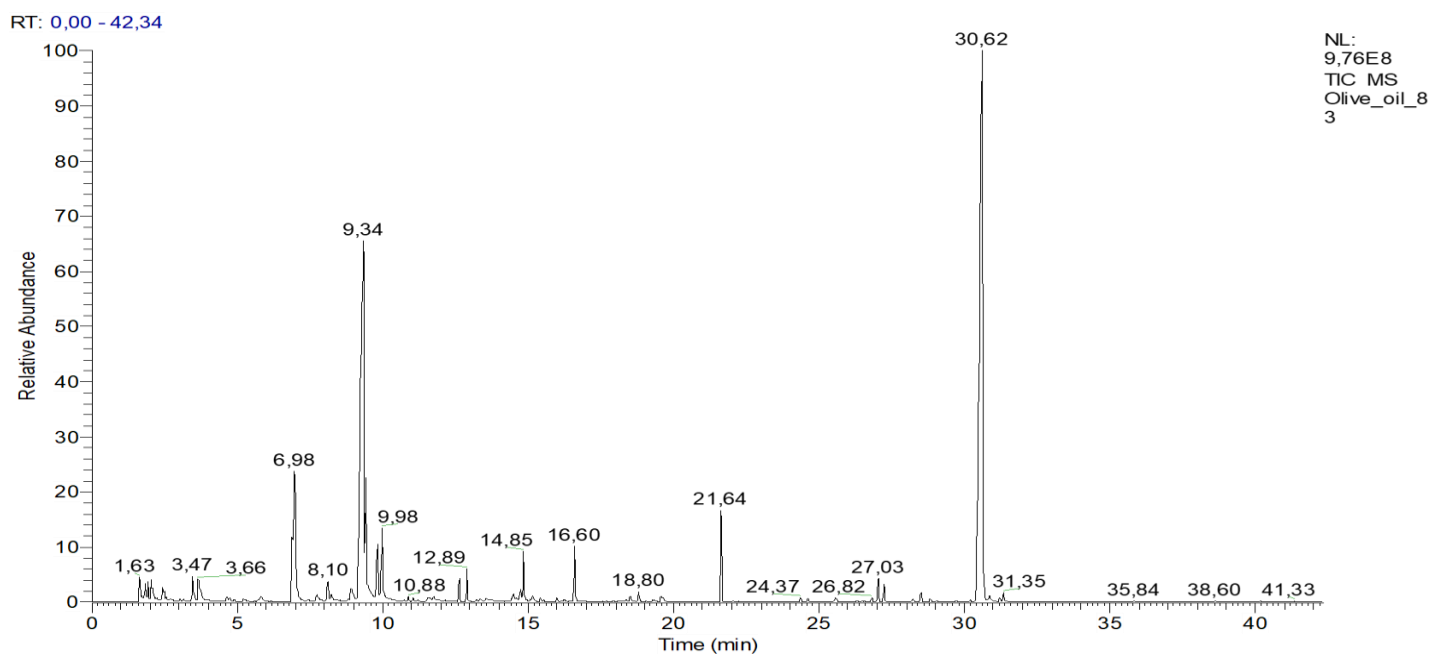


Εικόνα 55. Χρωματογράφημα πτητικών συστατικών του δείγματος MEG_ATT_2019_78



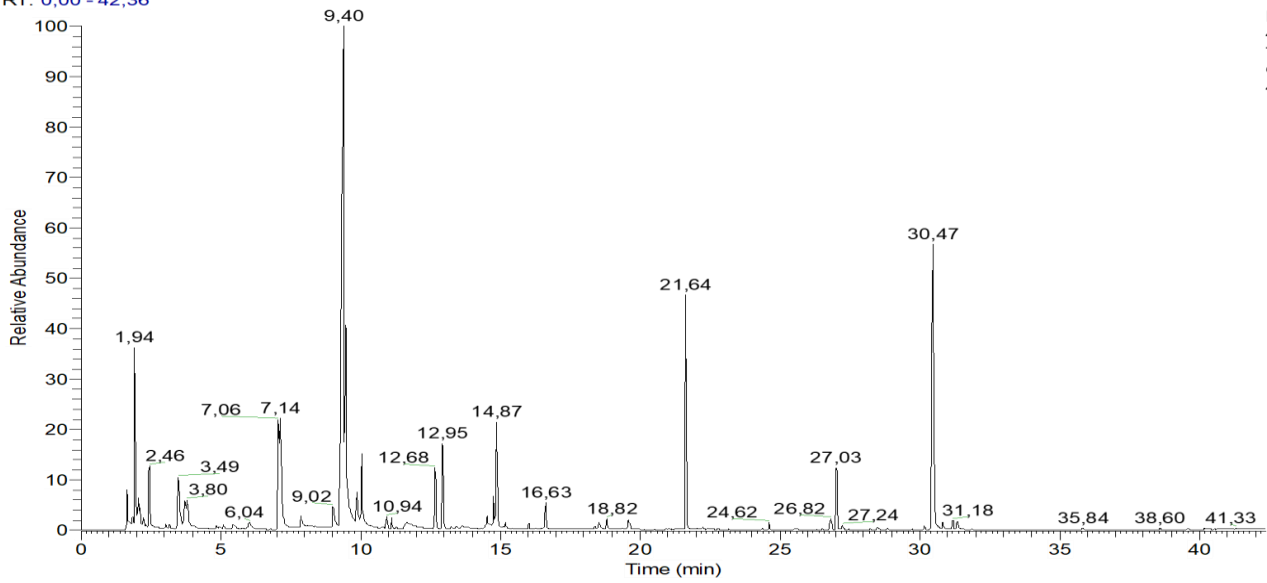
Εικόνα 56. Χρωματογράφημα πητικών συστατικών του δείγματος MEG_ATT_2019_82

6.1.3. ΣΤΕΡΕΑ ΕΛΛΑΔΑ



Εικόνα 57. Χρωματογράφημα πητικών συστατικών του δείγματος MEG_FTH_2019_94

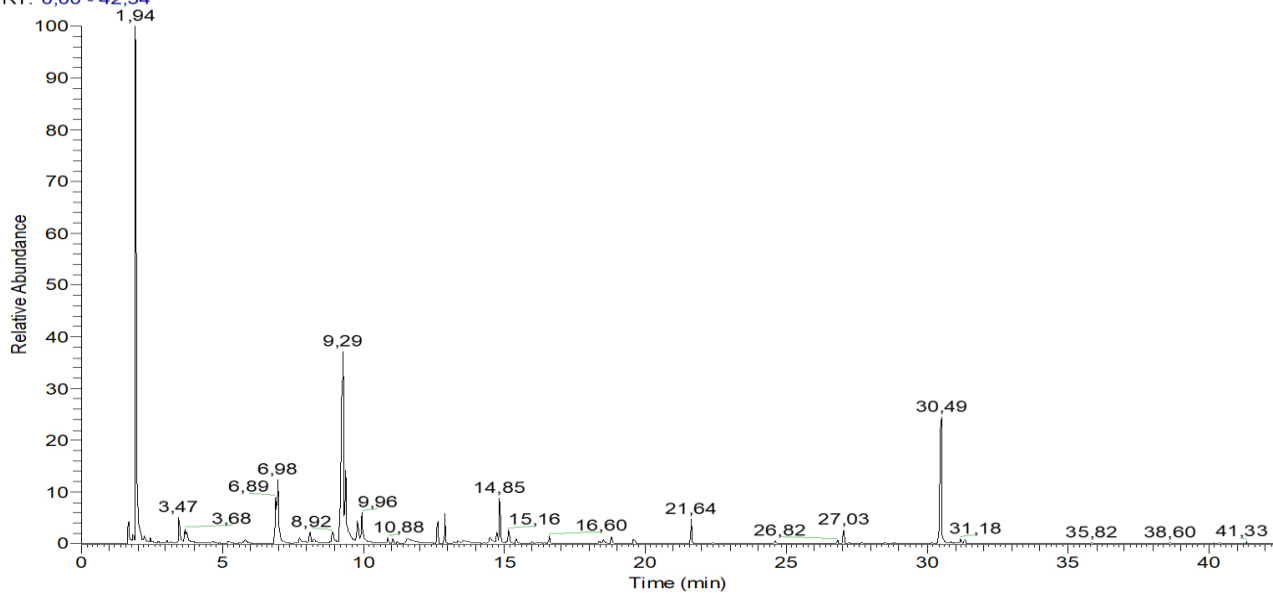
RT: 0,00 - 42,36



NL:
4,88E8
TIC_MS
Olive_oil_8
4

Εικόνα 58. Χρωματογράφημα πτητικών συστατικών του δείγματος MEG_FTH_2019_97

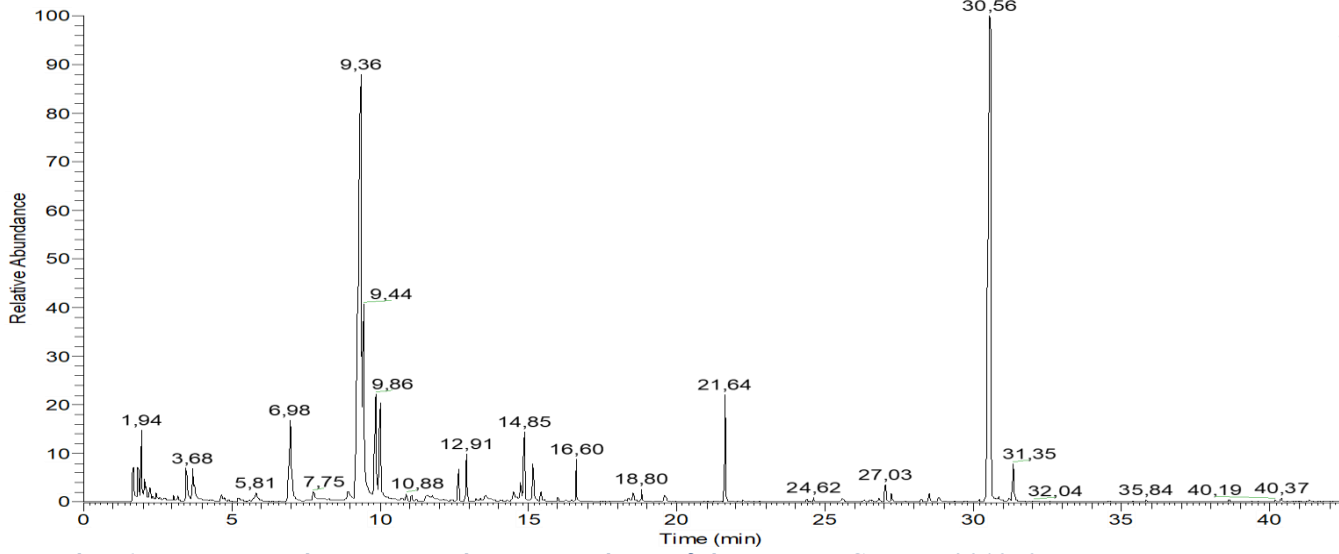
RT: 0,00 - 42,34



NL:
1,62E9
TIC_MS
Olive_oil_1
07

Εικόνα 59. Χρωματογράφημα πτητικών συστατικών του δείγματος MEG_FTH_2019_93

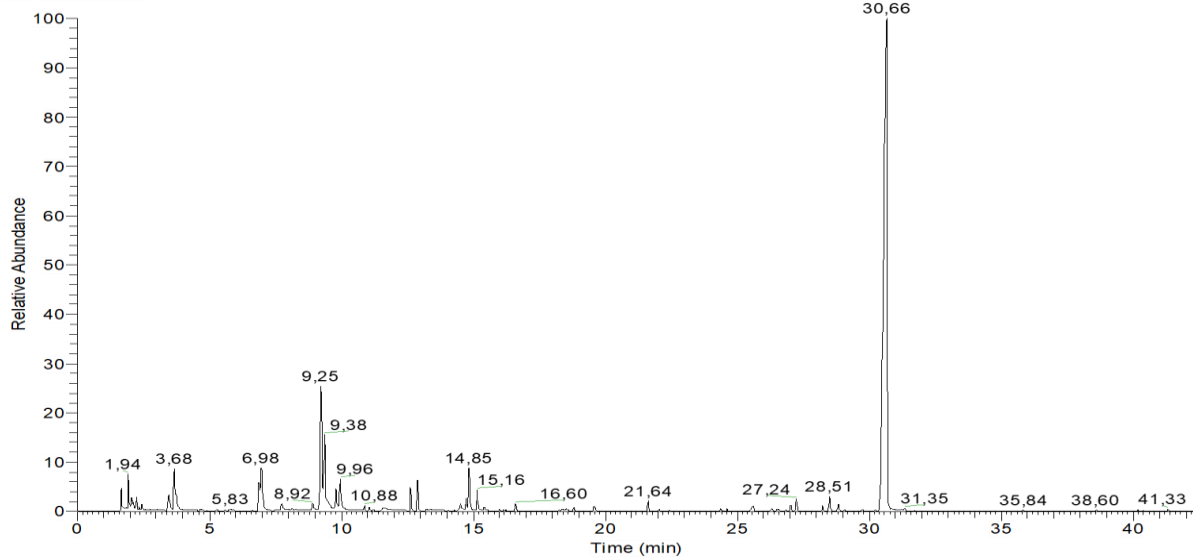
RT: 0,00 - 42,32



NL:
9,30E8
TIC MS
Olive_oil_1
08

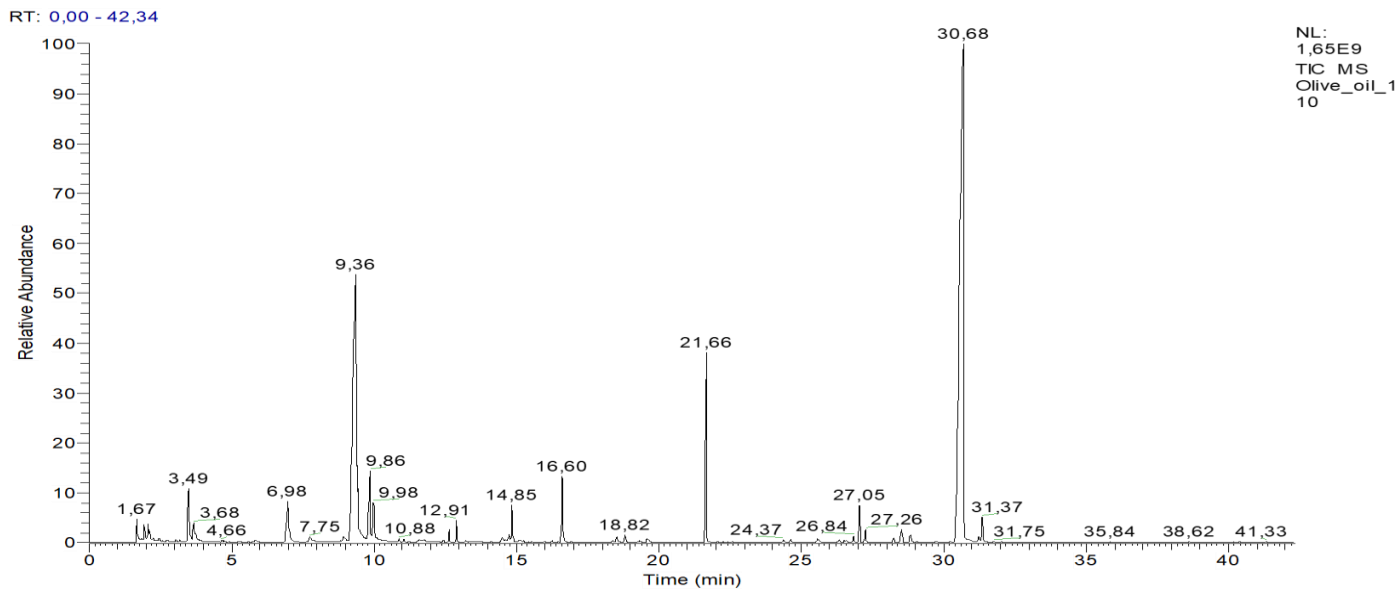
Εικόνα 60. Χρωματογράφημα πτητικών συστατικών του δείγματος MEG_FTH_2019_95

RT: 0,00 - 42,36

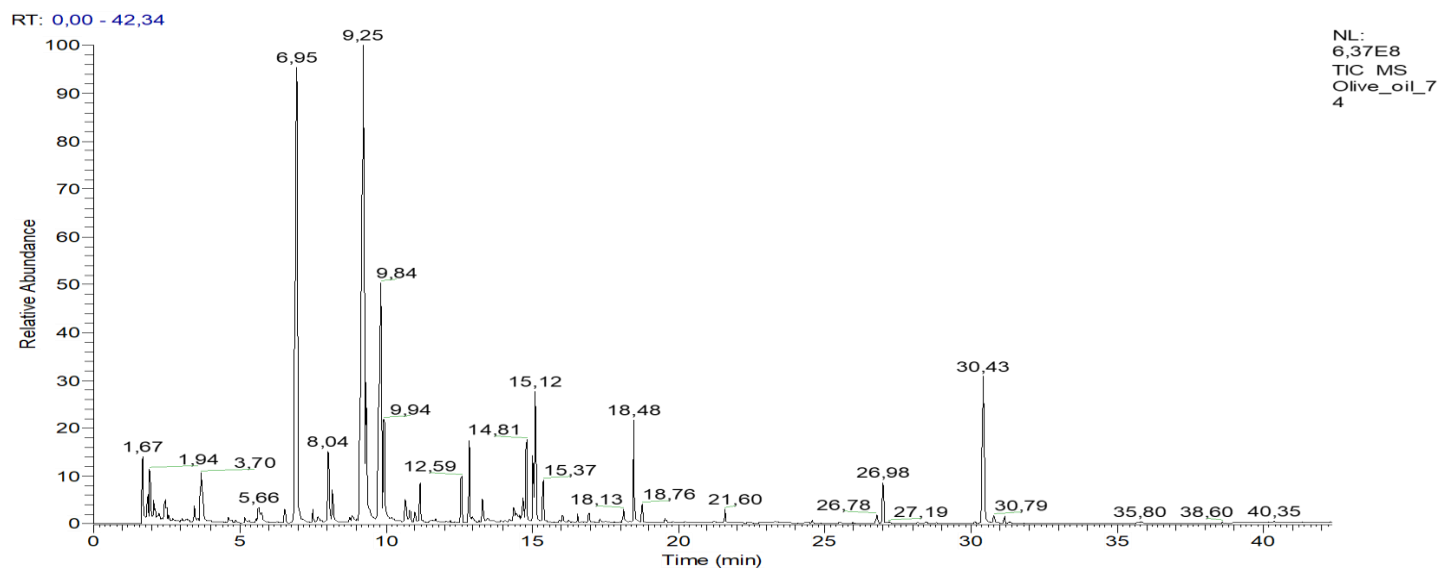


NL:
1,57E9
TIC MS
Olive_oil_1
09

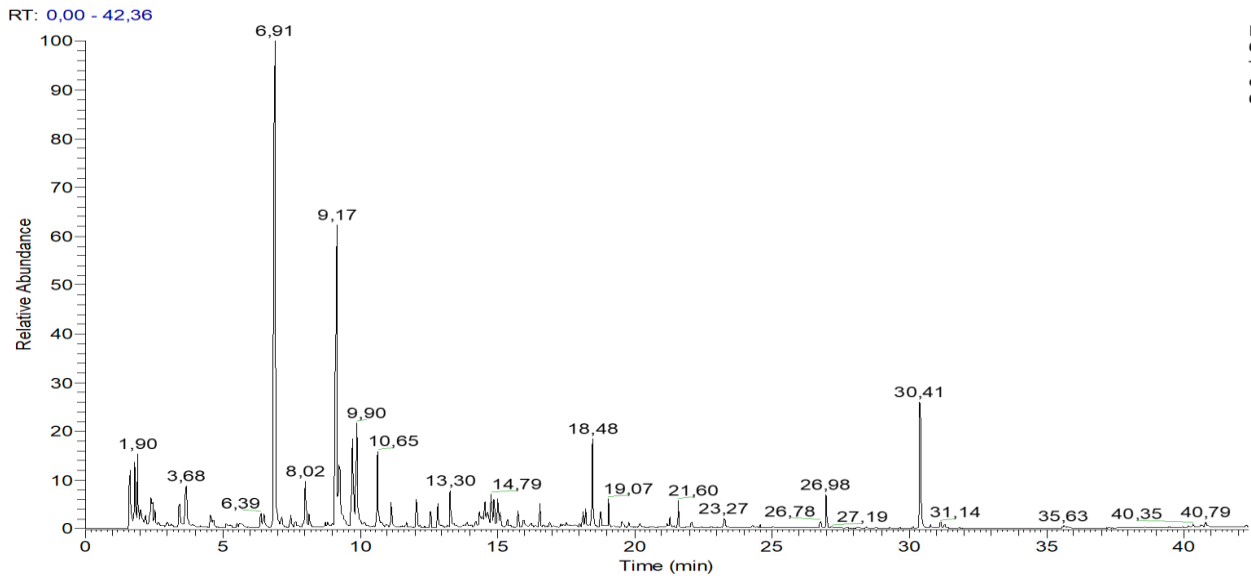
Εικόνα 61. Χρωματογράφημα πτητικών συστατικών του δείγματος MEG_FTH_2019_96



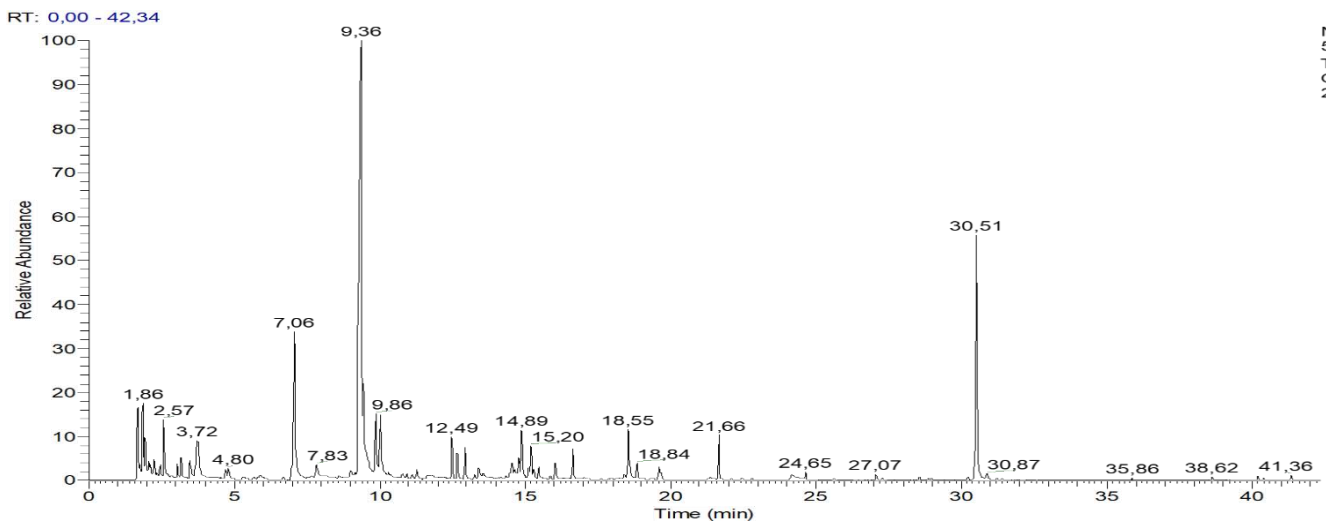
Εικόνα 62. Χρωματογράφημα πητικών συστατικών του δείγματος MEG_FTH_2019_98



Εικόνα 63. Χρωματογράφημα πητικών συστατικών του δείγματος MEG_BOI_2018_46



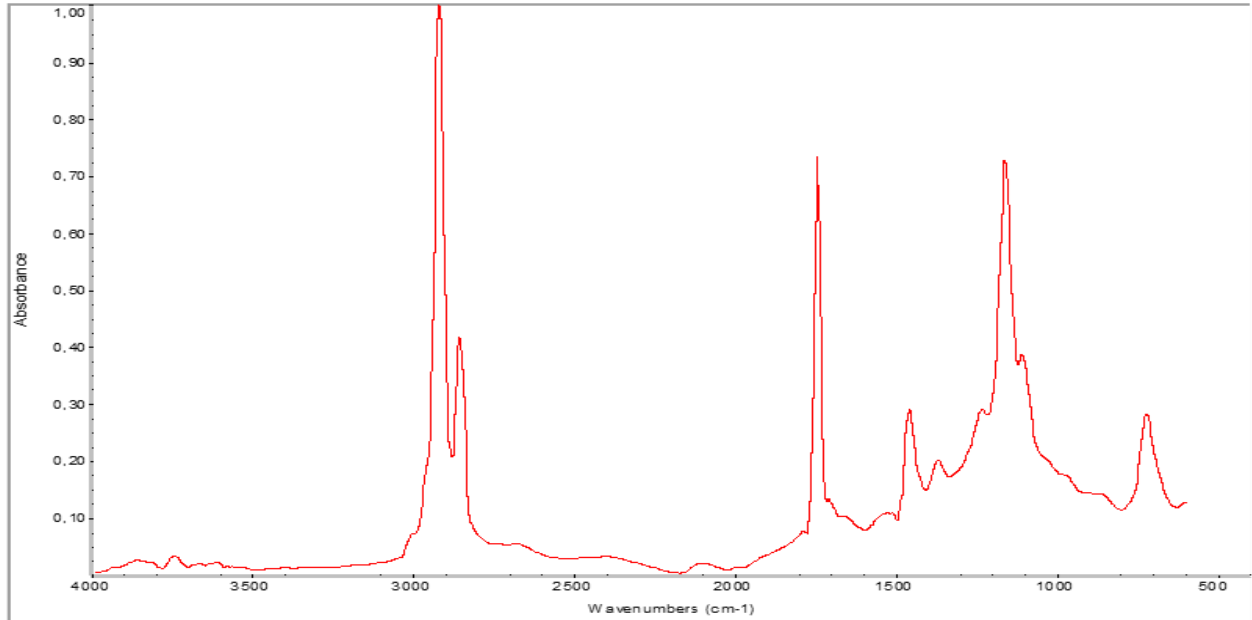
Εικόνα 64. Χρωματογράφημα πτητικών συστατικών του δείγματος MEG_STE_2018_45



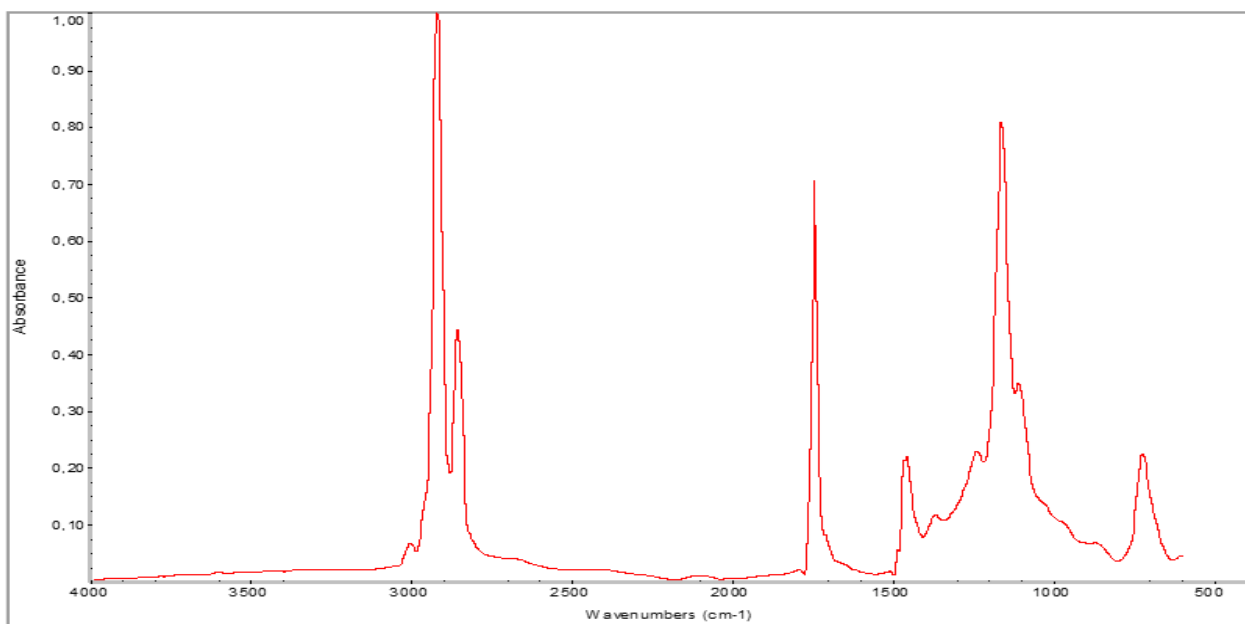
Εικόνα 65. Χρωματογράφημα πτητικών συστατικών του δείγματος MEG_EYB_2019_113

6.2. FTIR-ATR

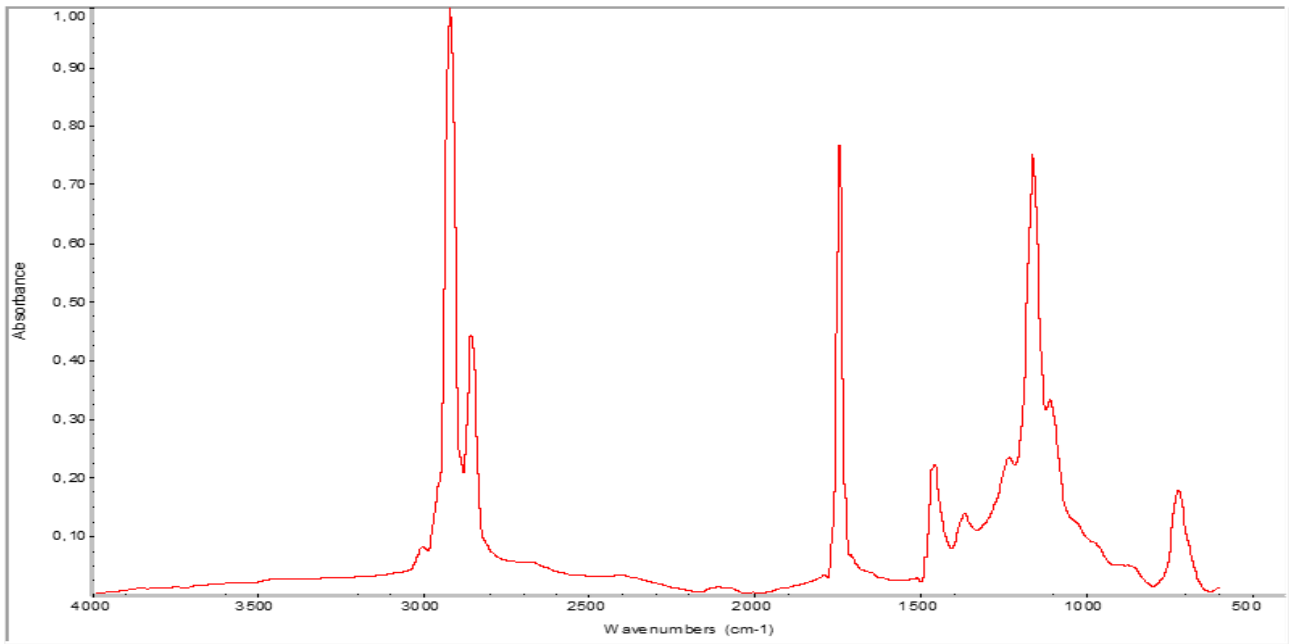
6.2.1. ΠΕΛΟΠΟΝΝΗΣΟΣ



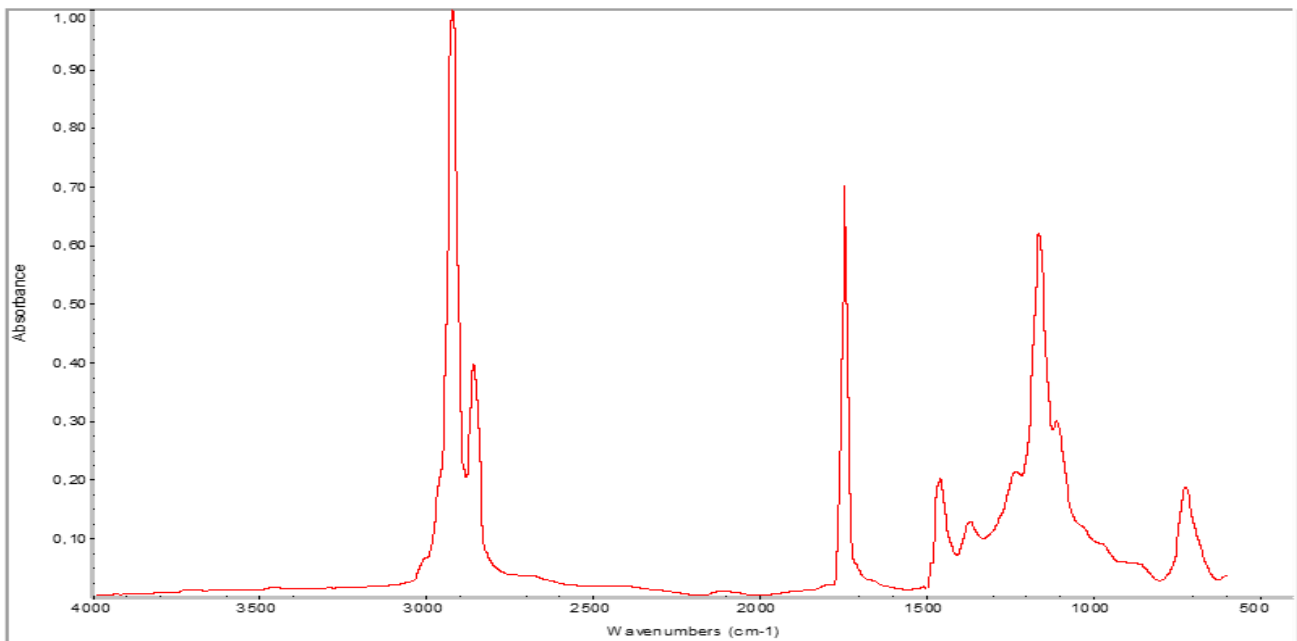
Εικόνα 66. Φάσμα FTIR-ATR του δείγματος MEG_ARG_2018_01



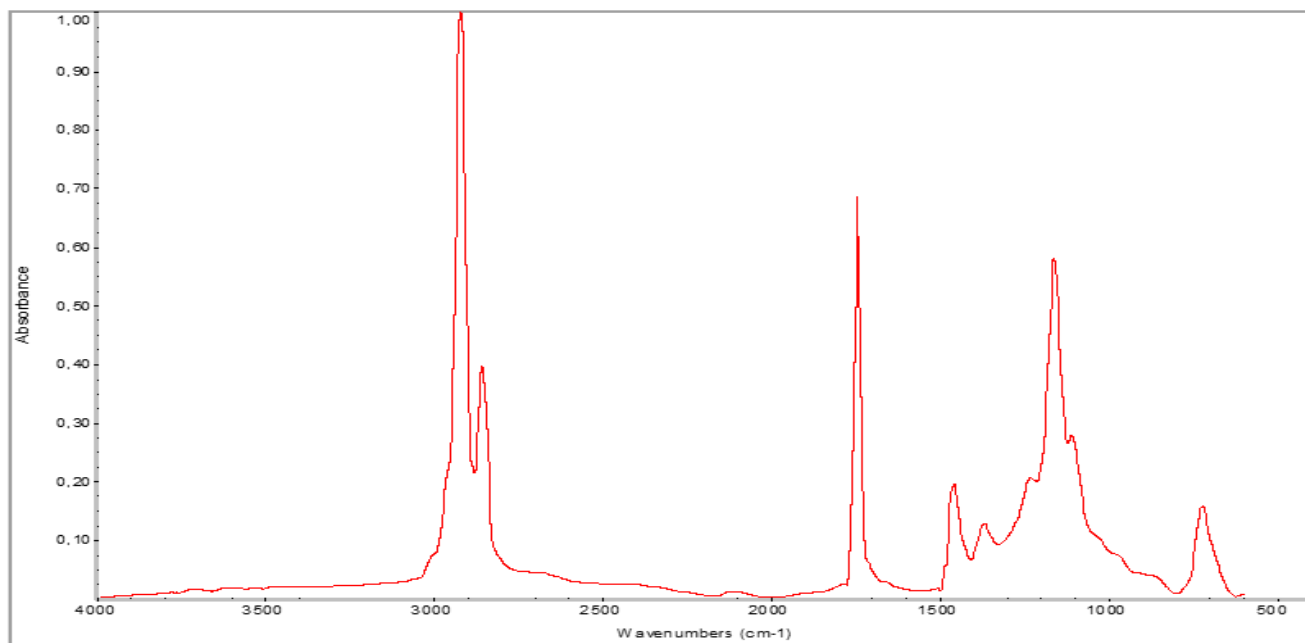
Εικόνα 67. Φάσμα FTIR-ATR του δείγματος MEG_ARG_2018_72



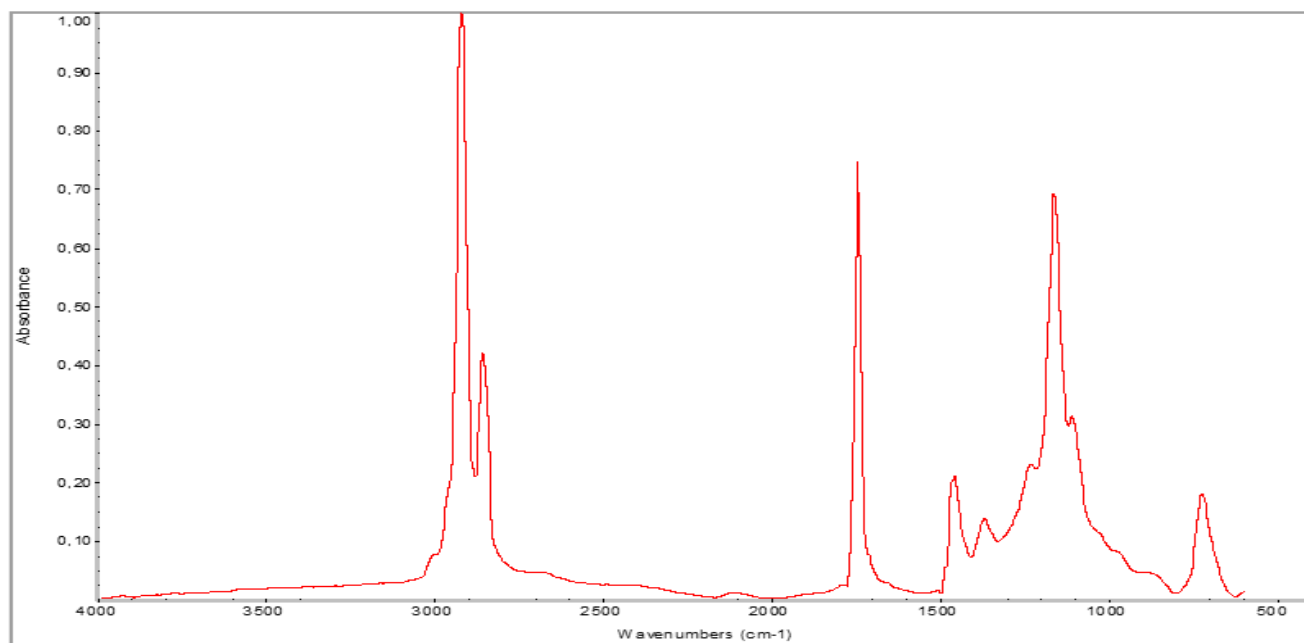
Εικόνα 68. Φάσμα FTIR-ATR του δείγματος MEG_ARK_2019_103



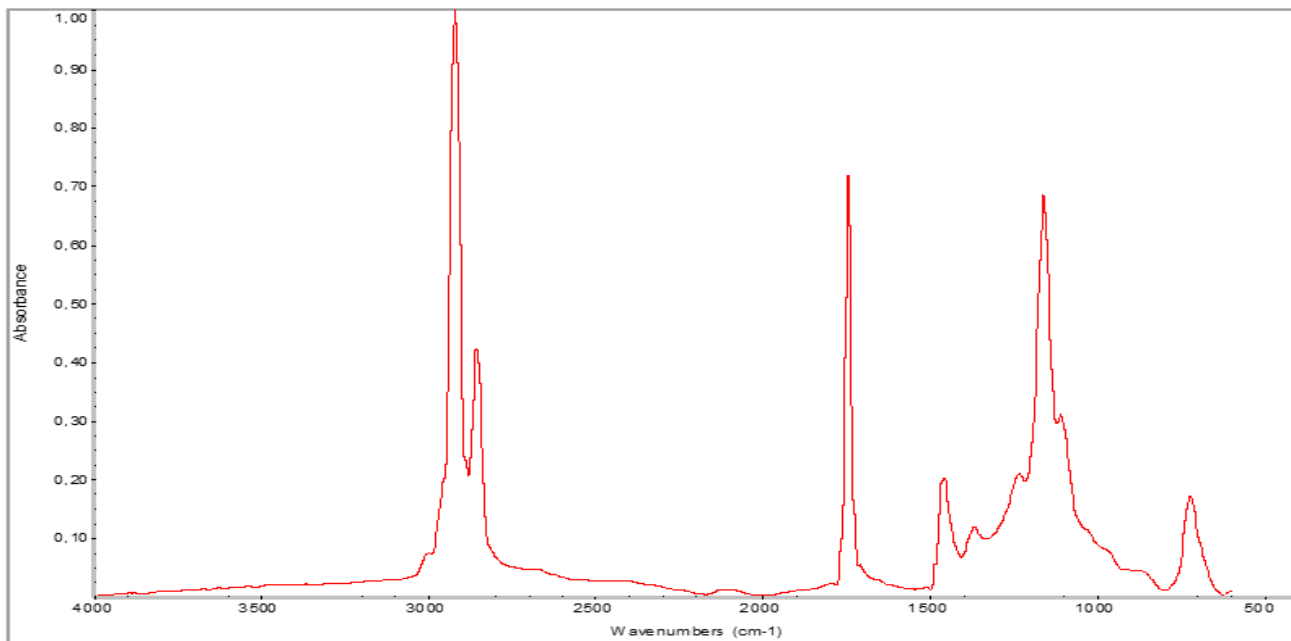
Εικόνα 69. Φάσμα FTIR-ATR του δείγματος MEG_ARK_2019_187



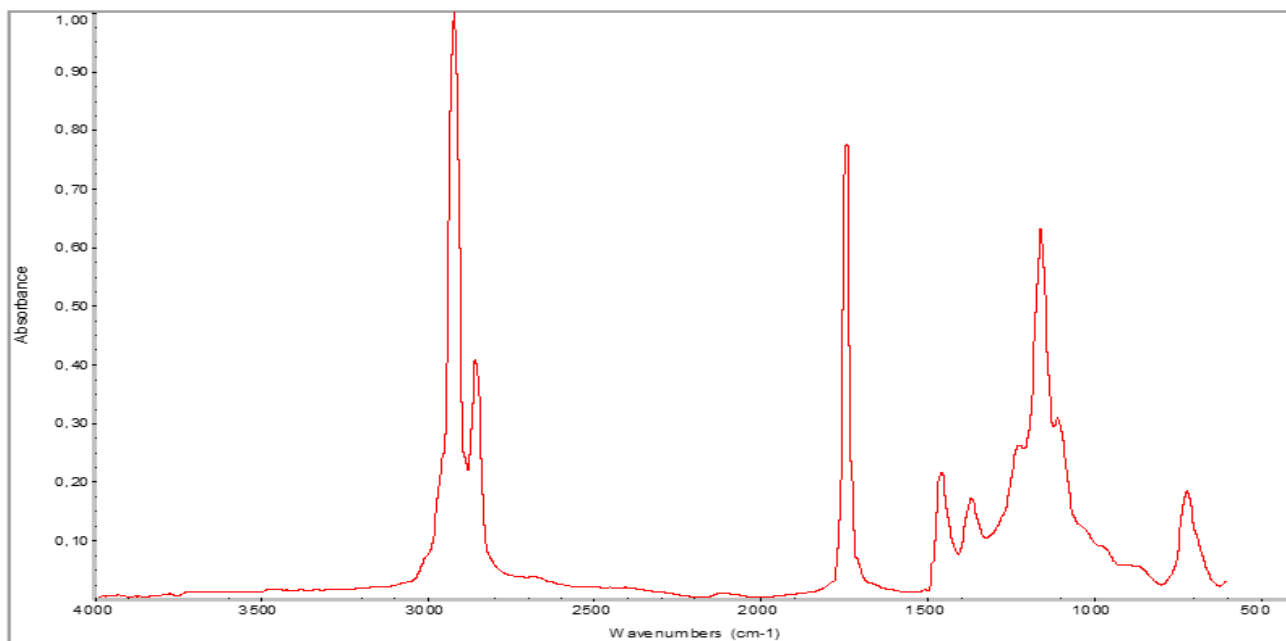
Εικόνα 70. Φάσμα FTIR-ATR του δείγματος MEG_ARK_2019_188



Εικόνα 71. Φάσμα FTIR-ATR του δείγματος MEG_KOR_2018_01

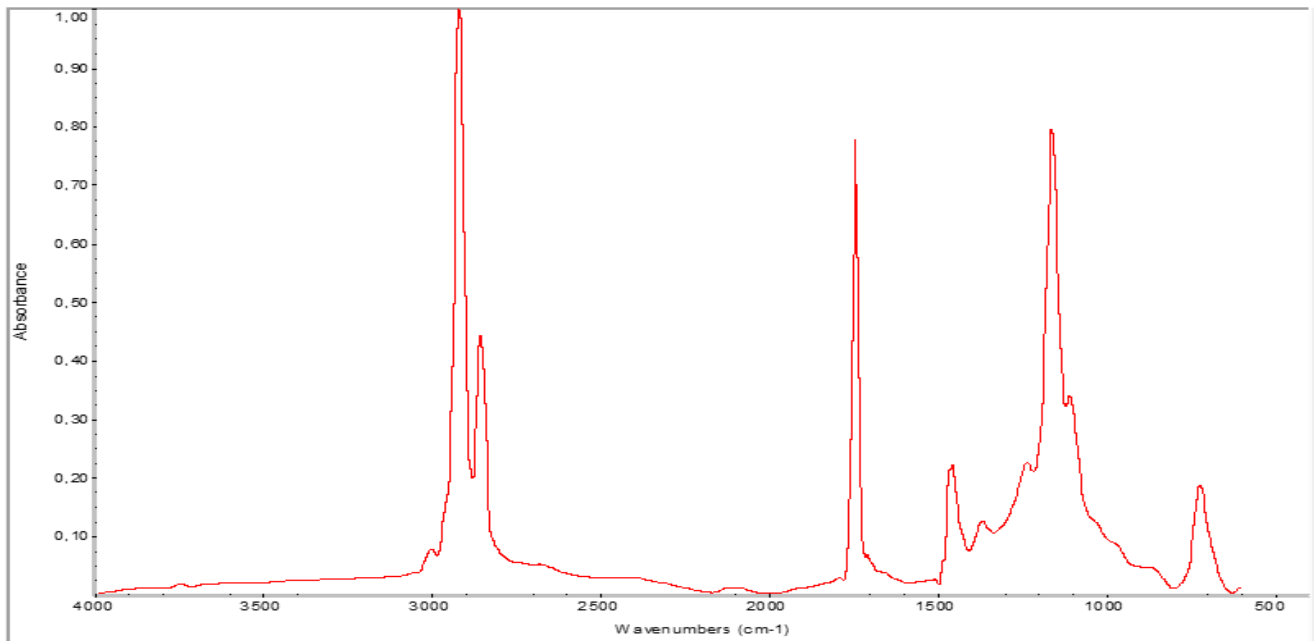


Εικόνα 72. Φάσμα FTIR-ATR του δείγματος MEG_KOR_2019_92

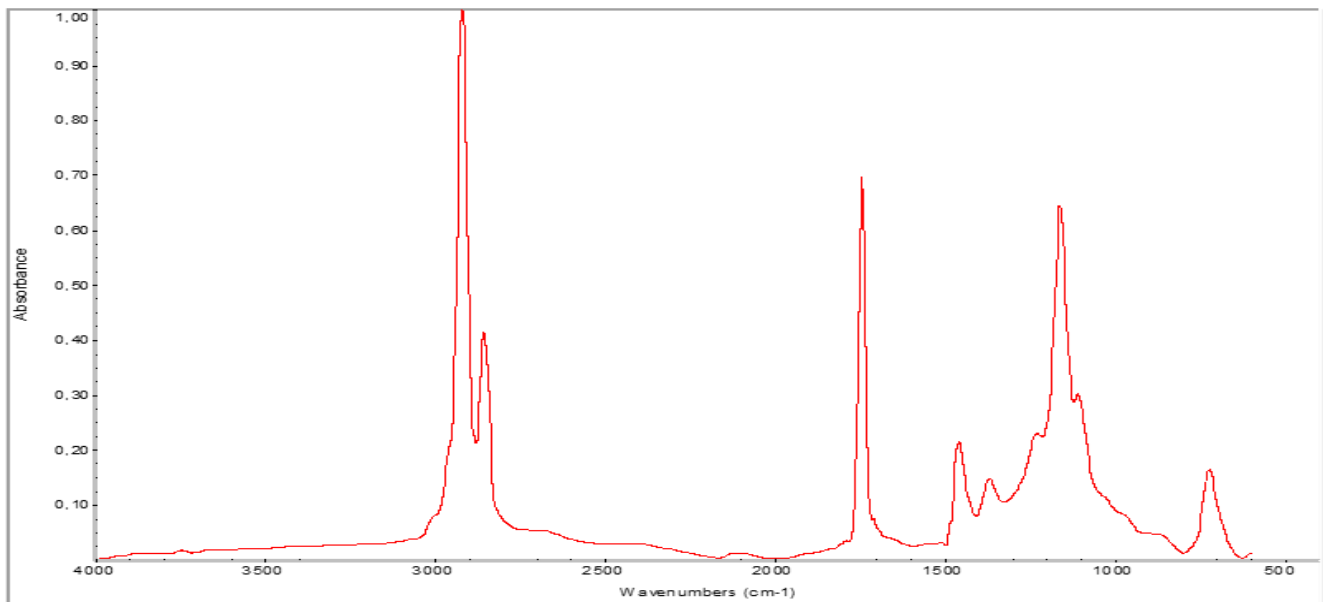


Εικόνα 73. Φάσμα FTIR-ATR του δείγματος MEG_HLE_2019_102

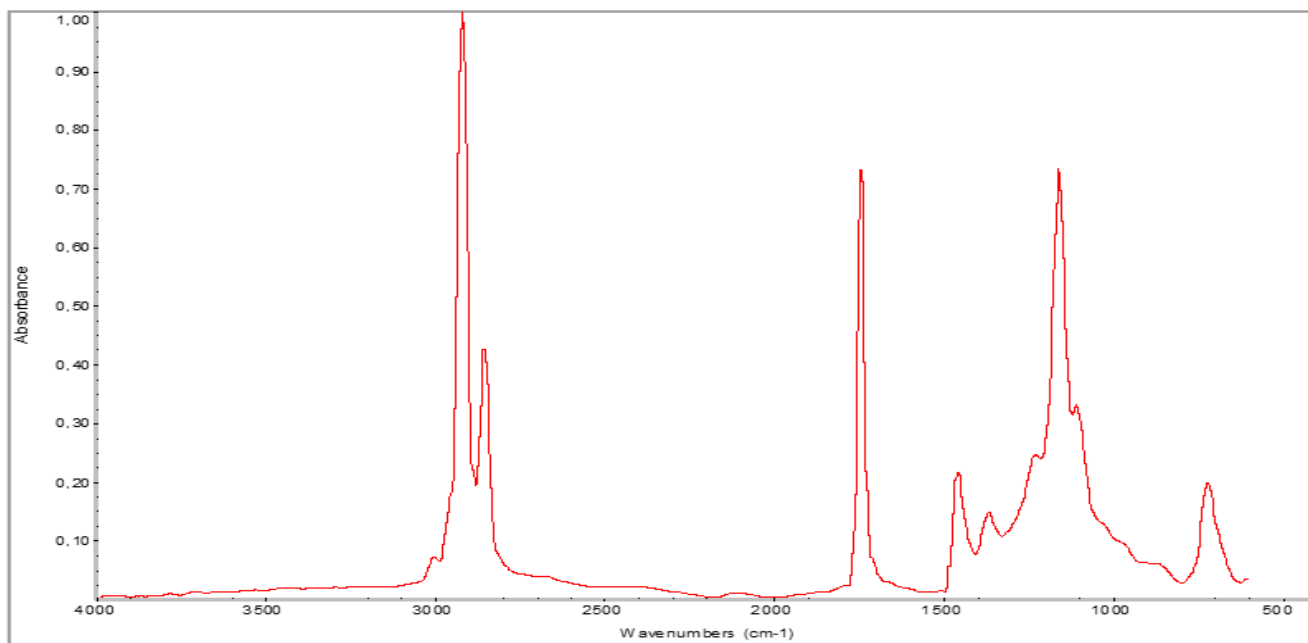
6.2.2. ΑΤΤΙΚΗ



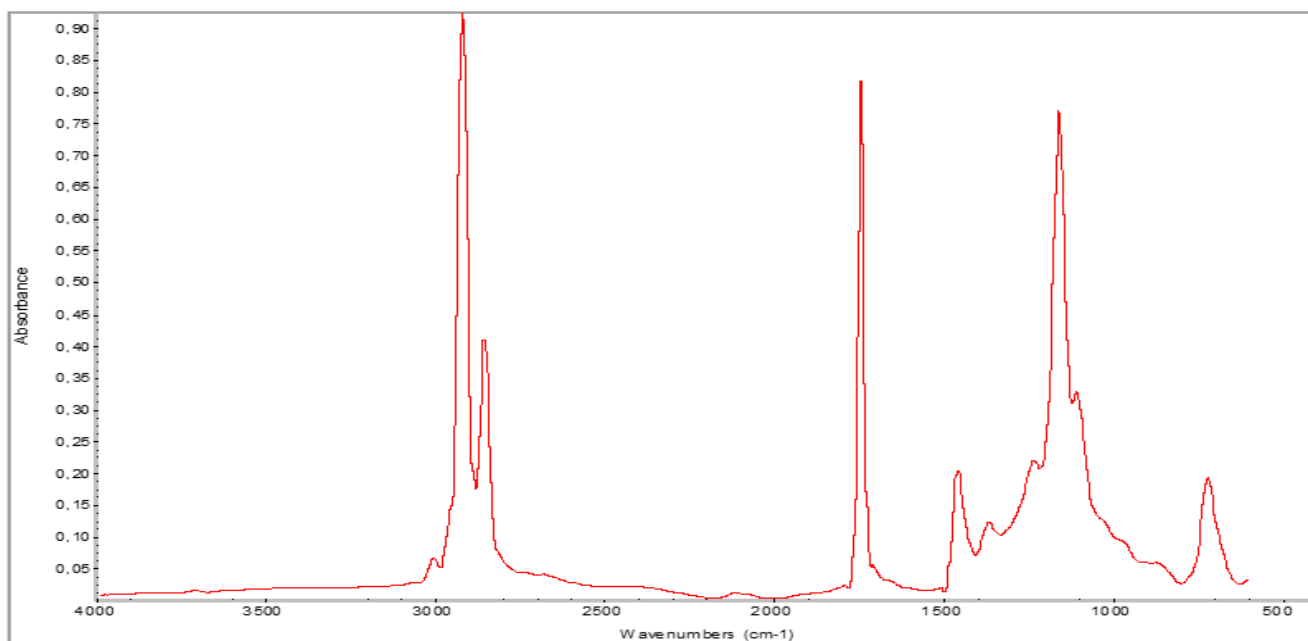
Εικόνα 74. Φάσμα FTIR-ATR του δείγματος MEG_ATT_2019_78



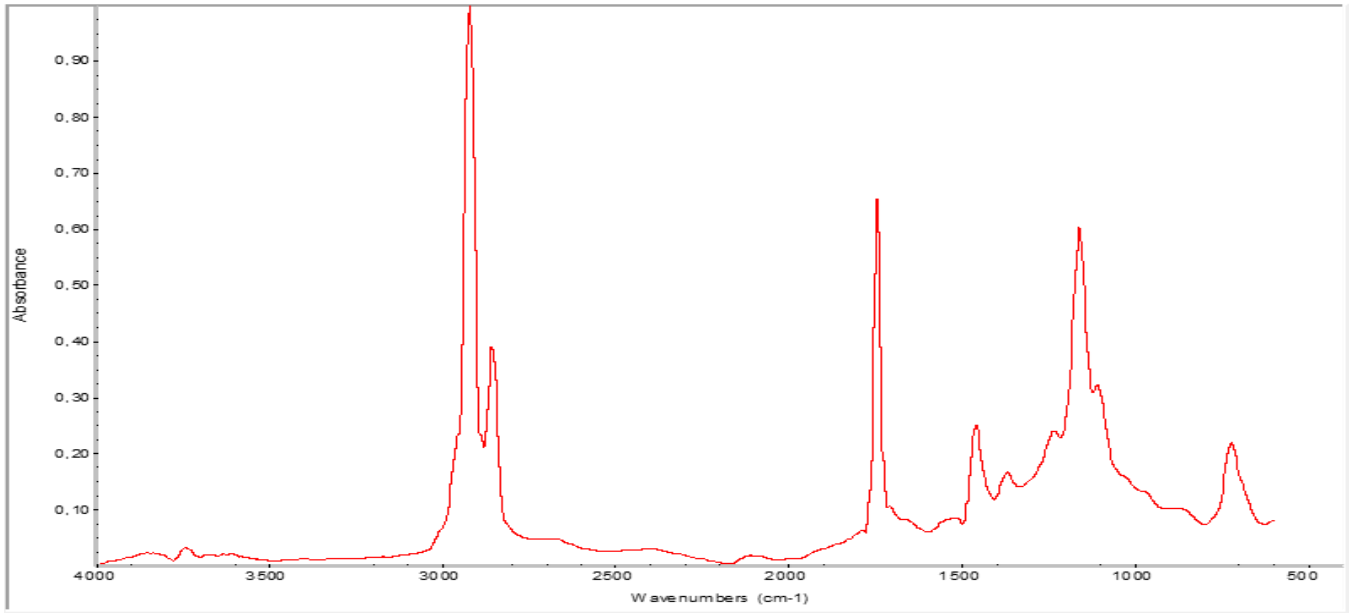
Εικόνα 75. Φάσμα FTIR-ATR του δείγματος MEG_ATT_2019_82



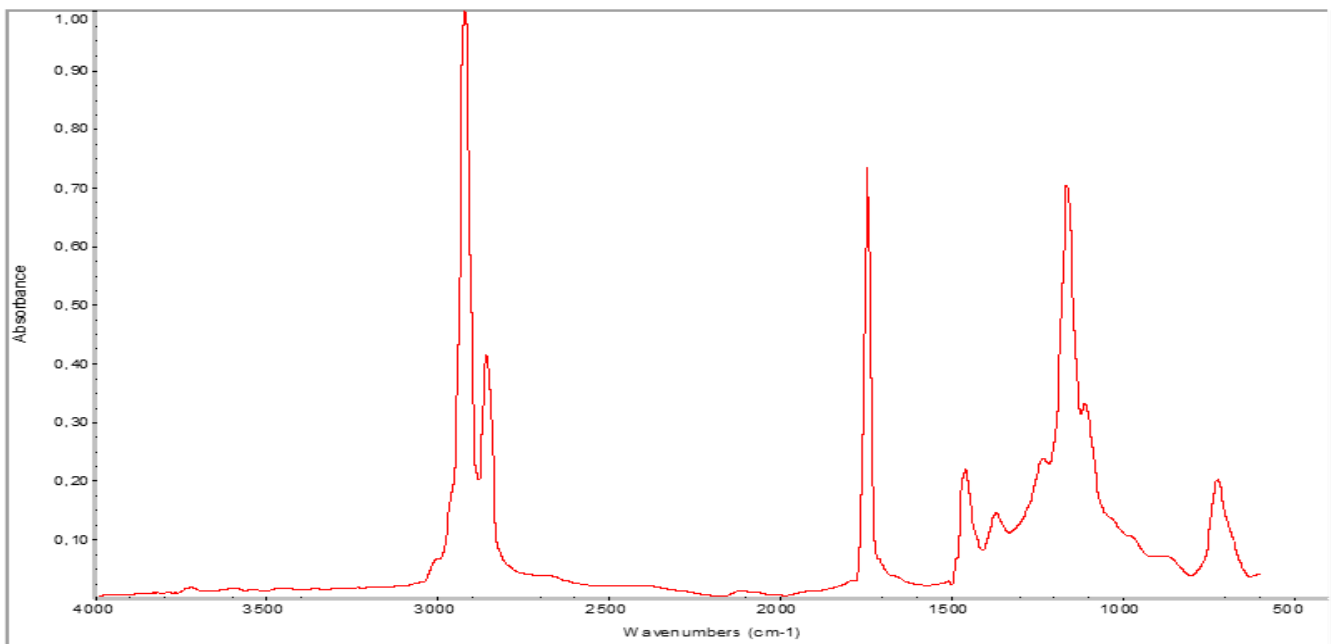
Εικόνα 76. Φάσμα FTIR-ATR του δείγματος MEG_ATT_2019_156



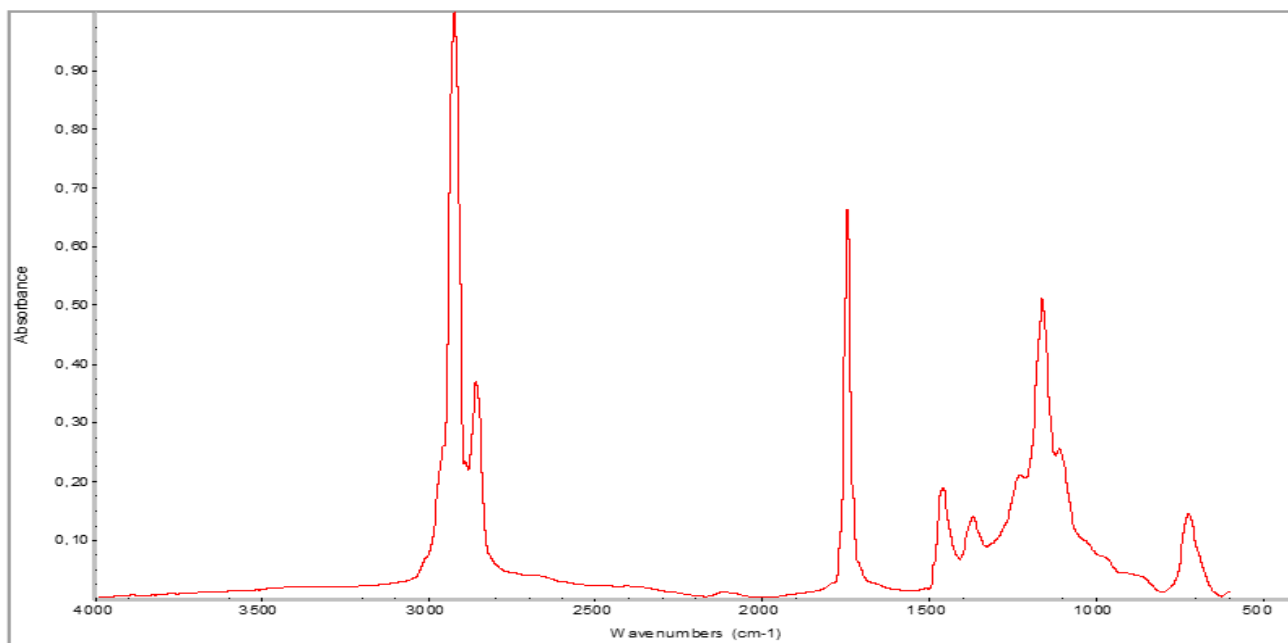
Εικόνα 77. Φάσμα FTIR-ATR του δείγματος MEG_ATT_2019_157



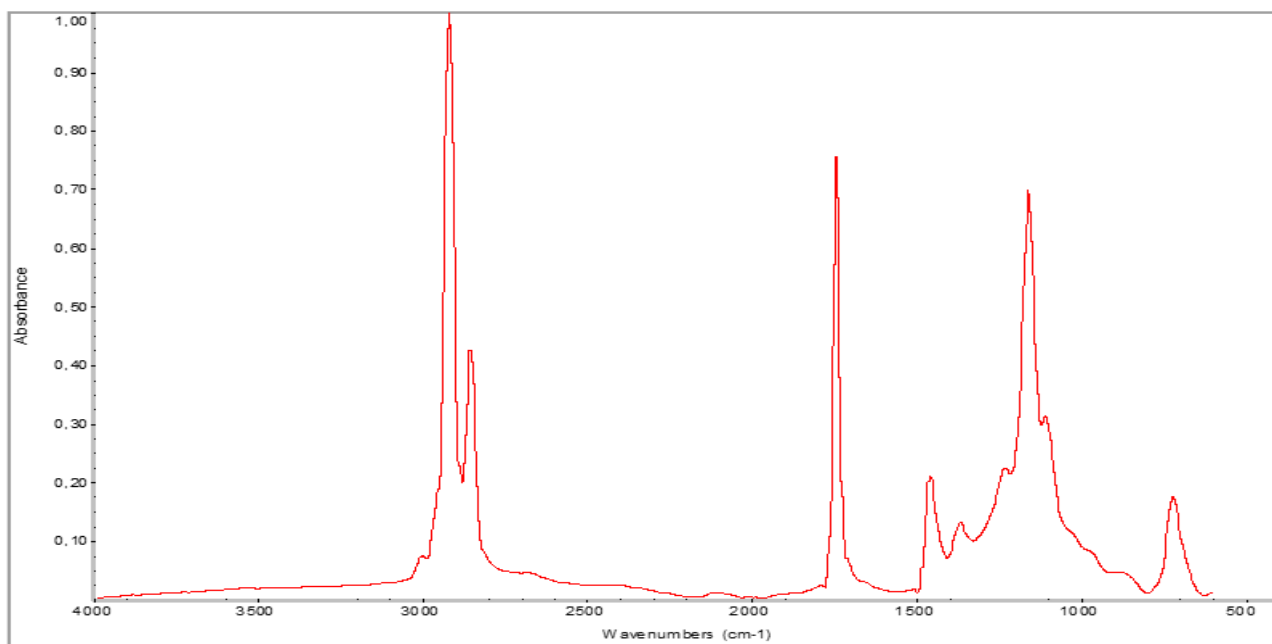
Εικόνα 78. Φάσμα FTIR-ATR του δείγματος MEG_ATT_2019_160



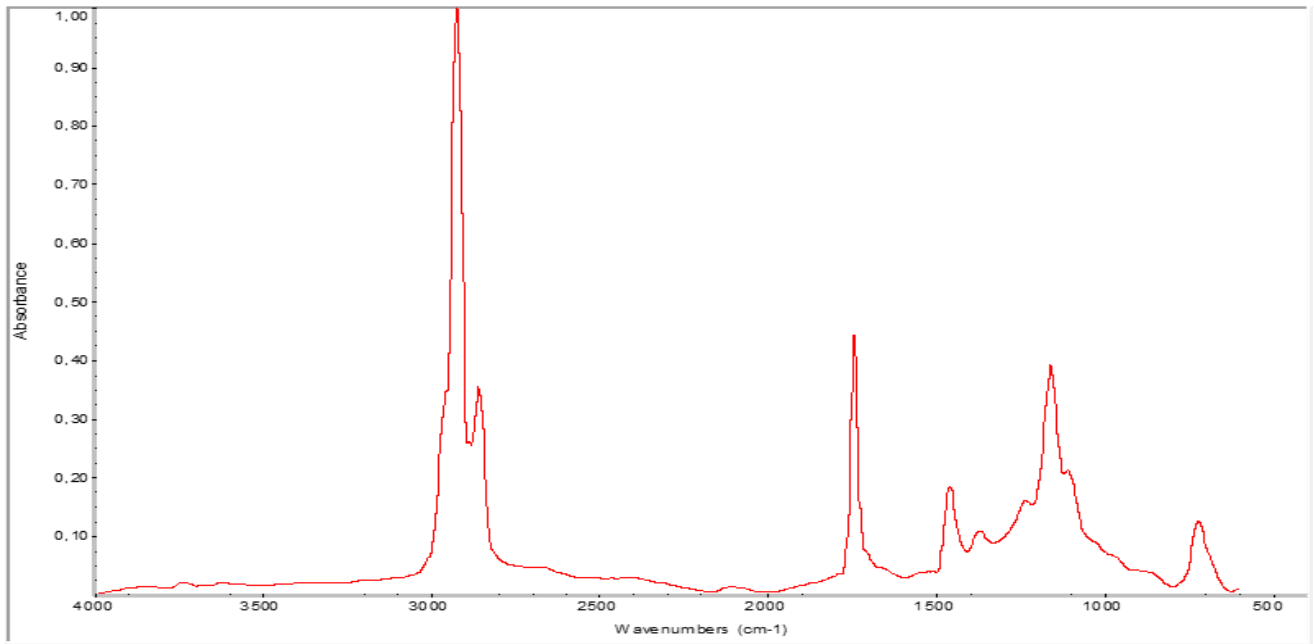
Εικόνα 79. Φάσμα FTIR-ATR του δείγματος MEG_ATT_2019_161



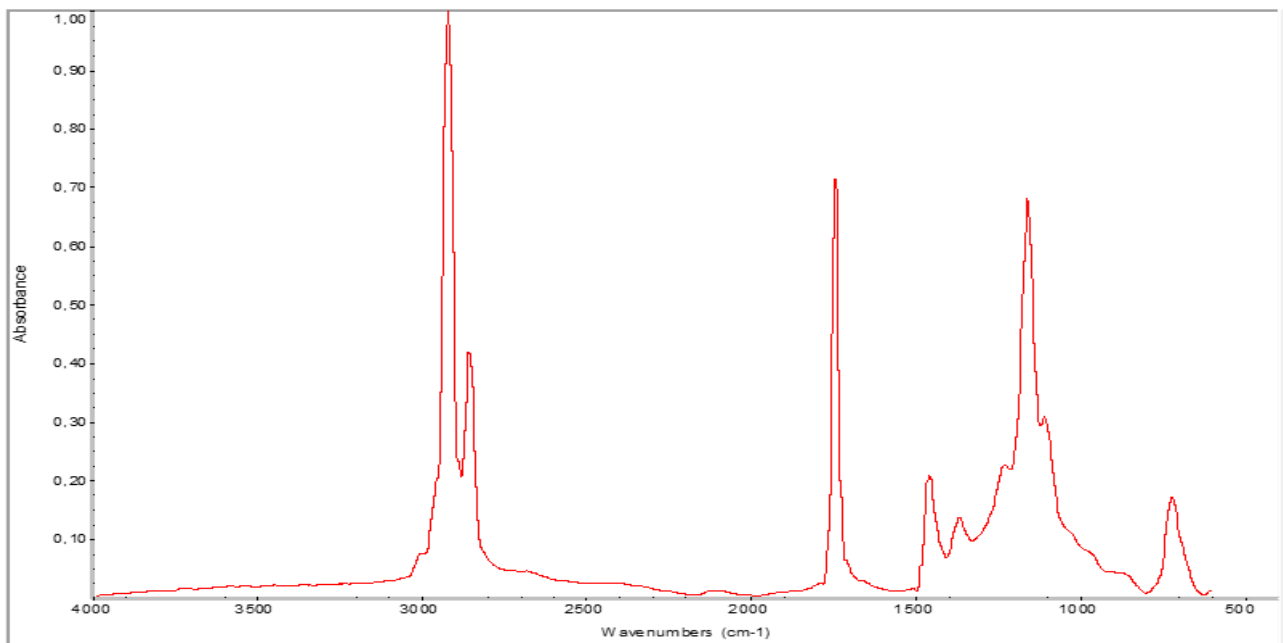
Εικόνα 80. Φάσμα FTIR-ATR του δείγματος MEG_ATT_2019_163



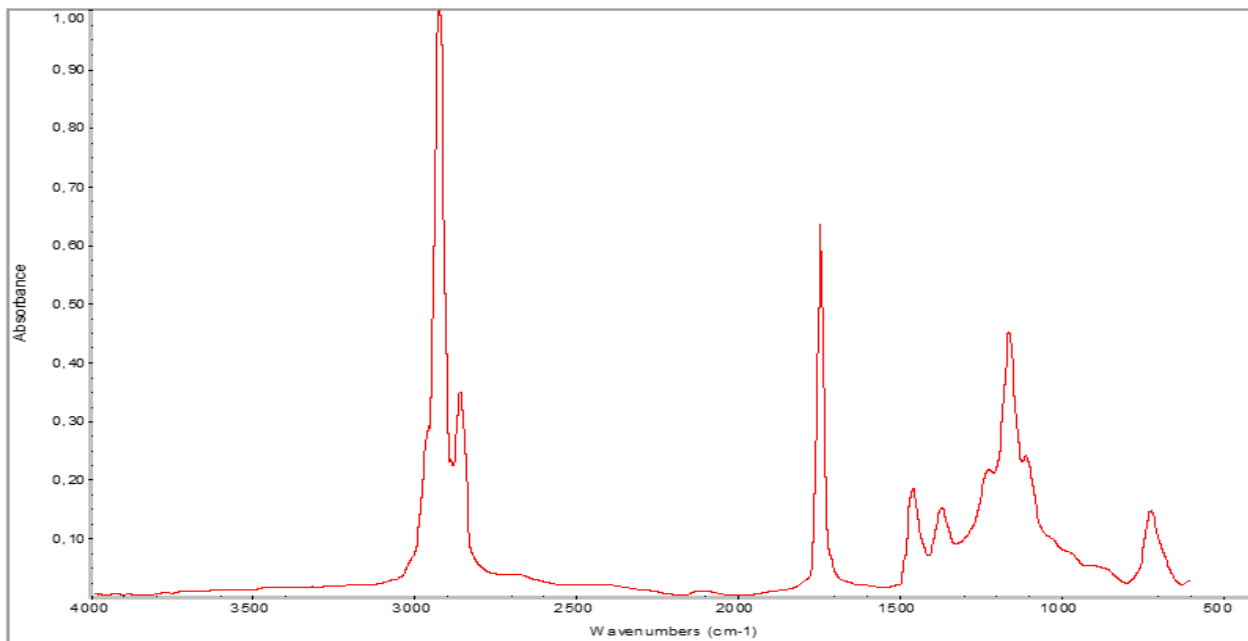
Εικόνα 81. Φάσμα FTIR-ATR του δείγματος ME_ATT_2019_164



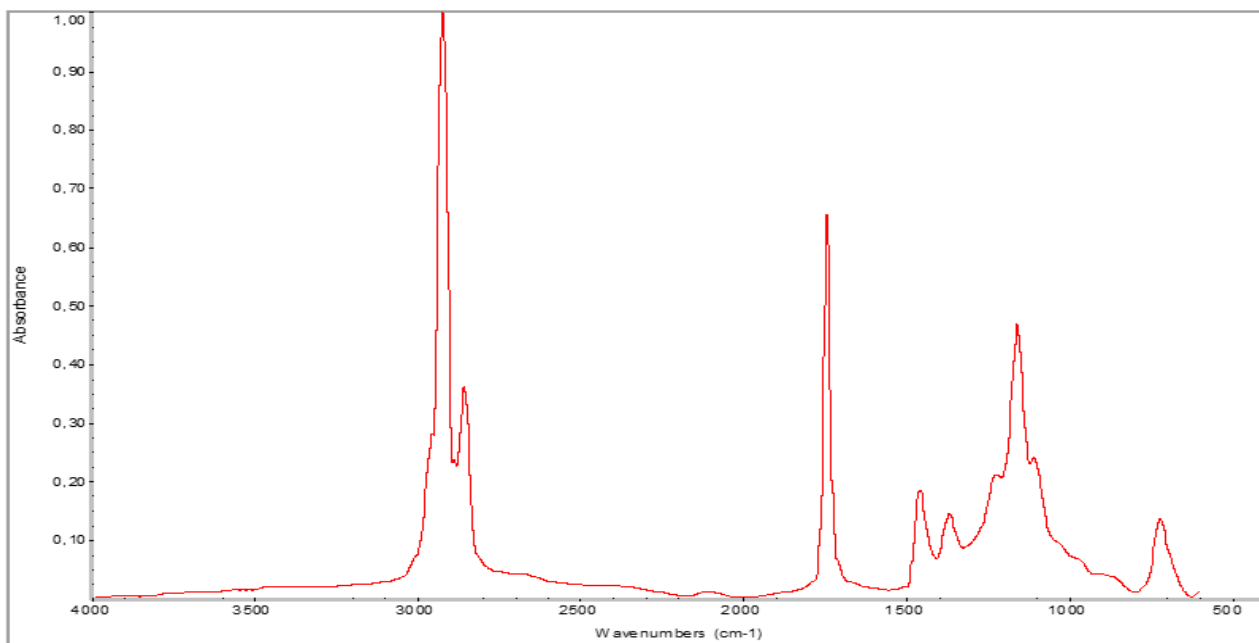
Εικόνα 82. Φάσμα FTIR-ATR του δείγματος MEG_ATT_2019_165



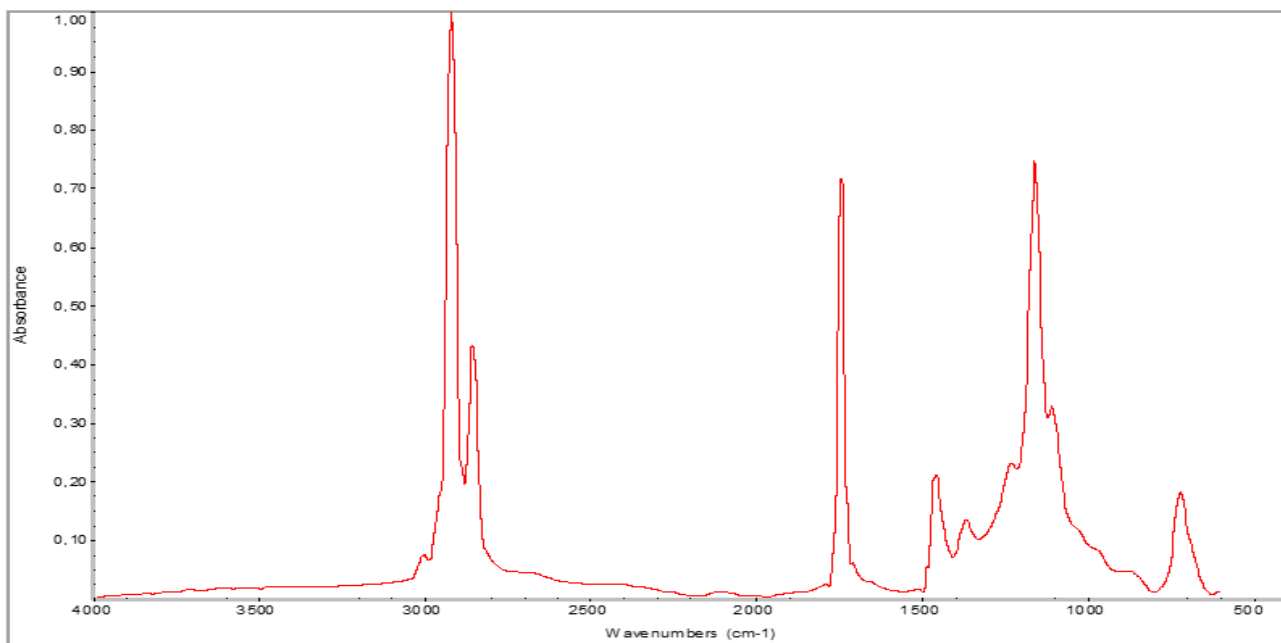
Εικόνα 83. Φάσμα FTIR-ATR του δείγματος MEG_ATT_2019_191



Εικόνα 84. Φάσμα FTIR-ATR του δείγματος MEG_ATT_2019_192

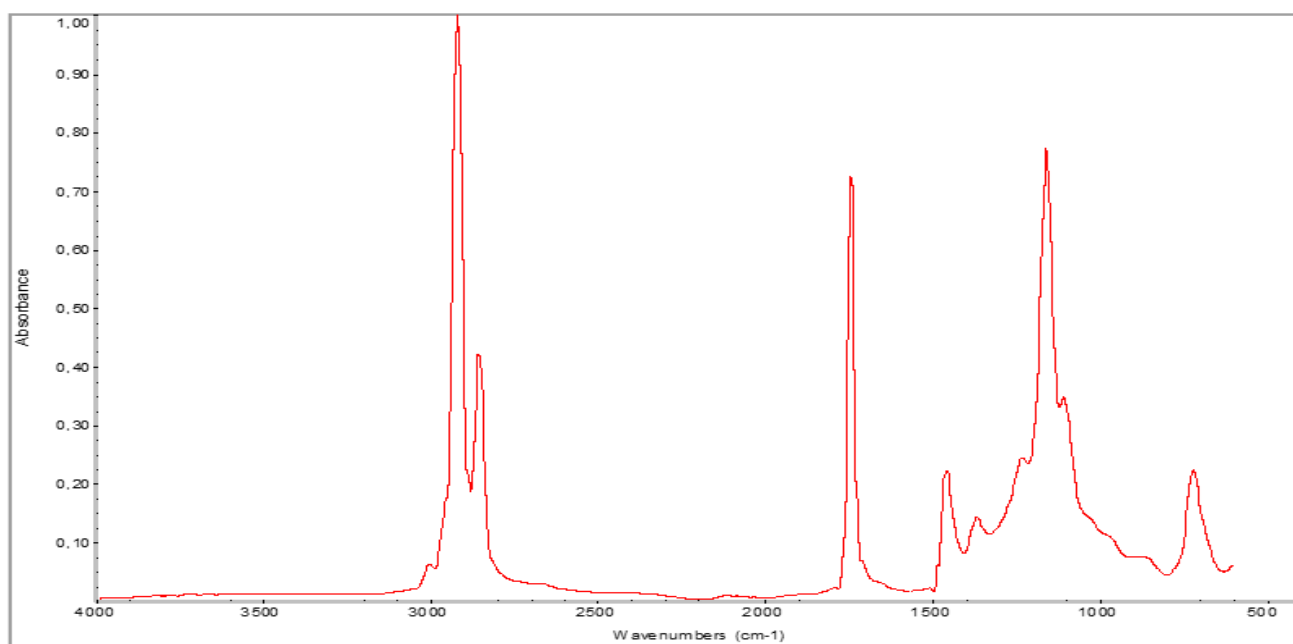


Εικόνα 85. Φάσμα FTIR-ATR του δείγματος MEG_ATT_2019_216

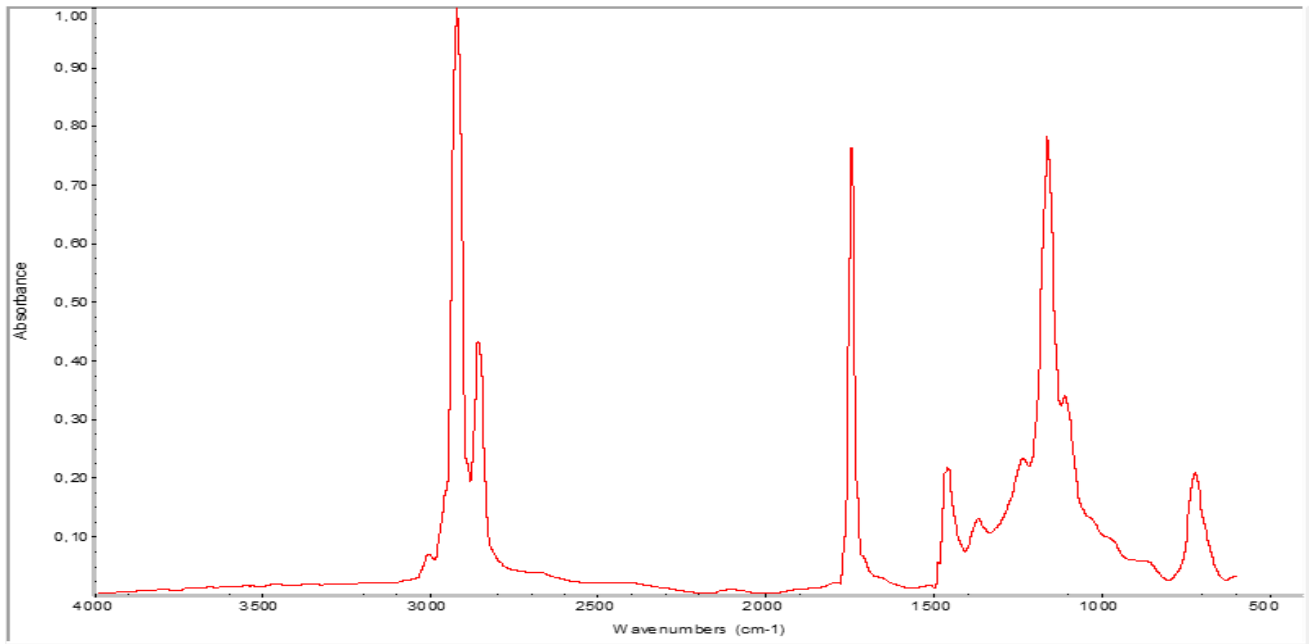


Εικόνα 86. Φάσμα FTIR-ATR του δείγματος MEG_ATT_2019_217

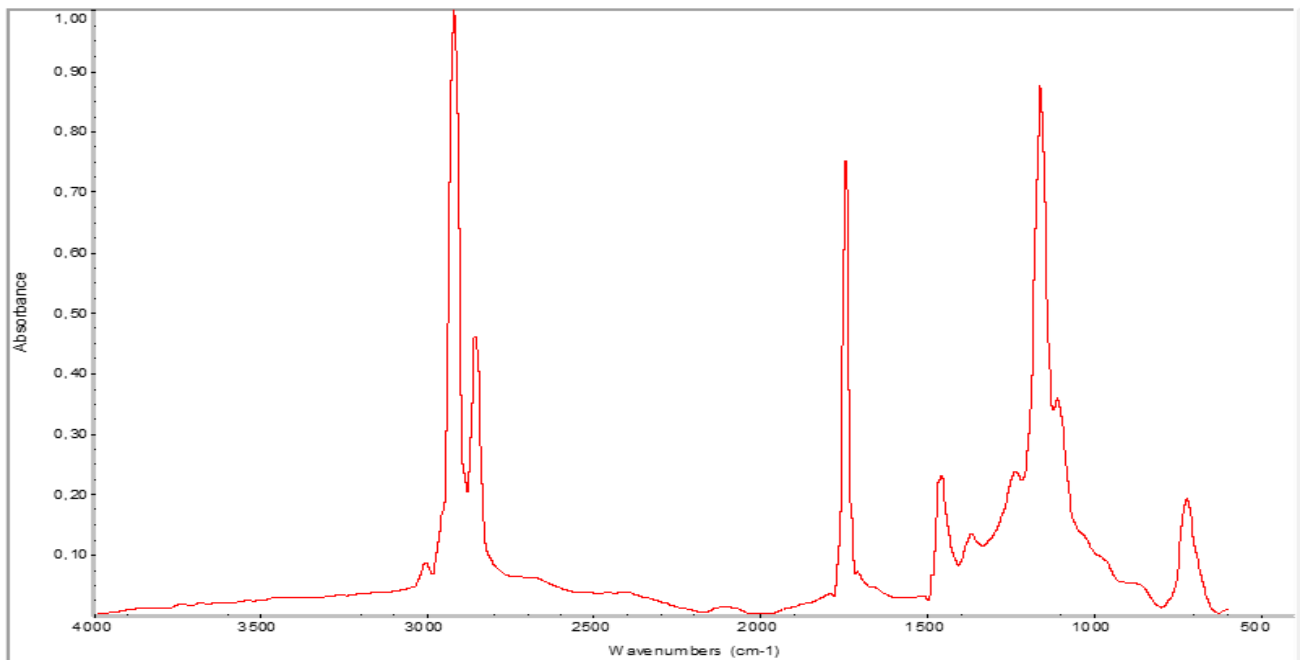
6.2.3. ΣΤΕΡΕΑ ΕΛΛΑΔΑ



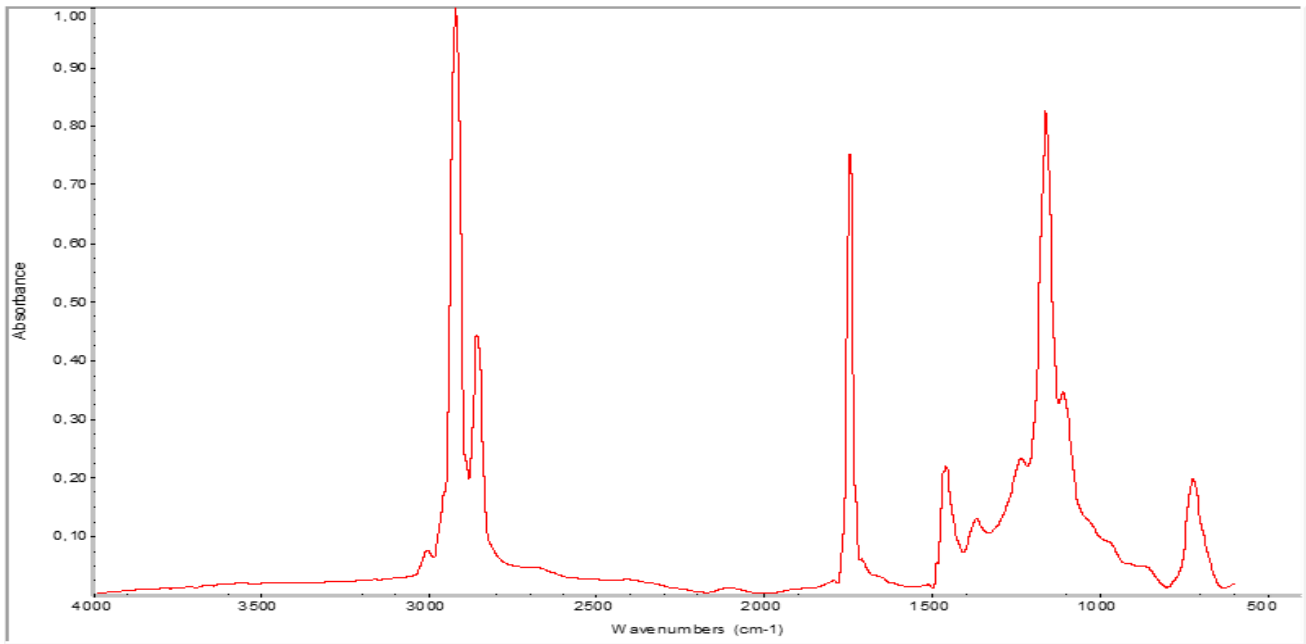
Εικόνα 87. Φάσμα FTIR-ATR του δείγματος MEG_BOI_2018_46



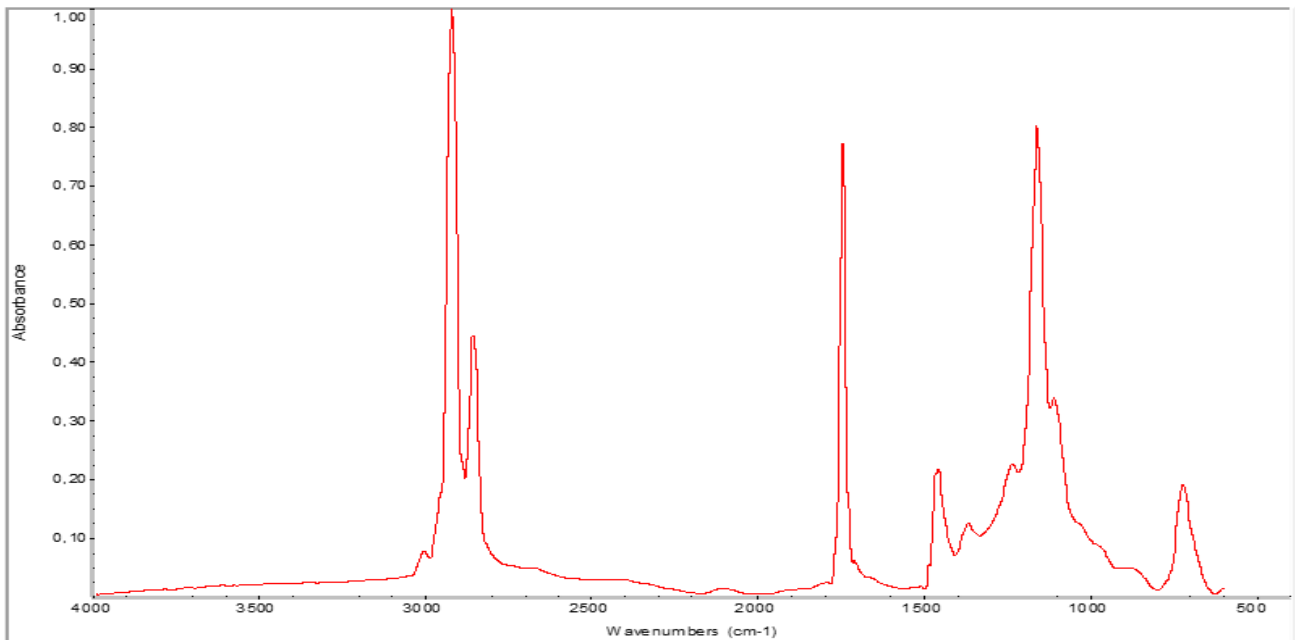
Εικόνα 88. Φάσμα FTIR-ATR του δείγματος MEG_EVOIA_2019_113



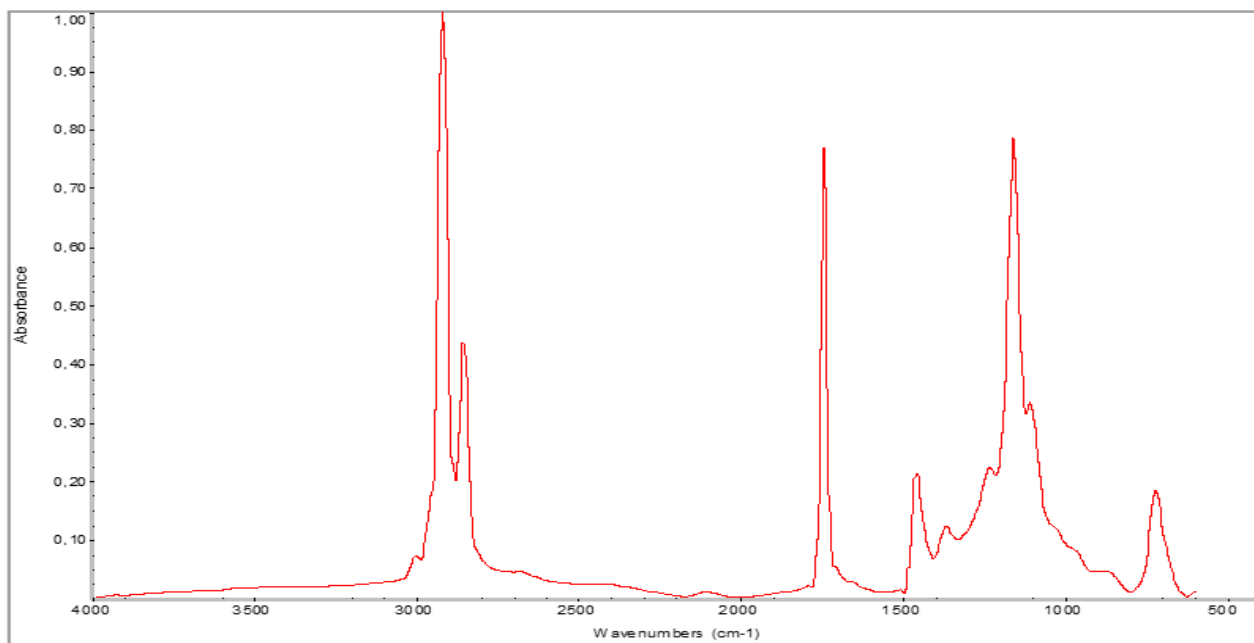
Εικόνα 89. Φάσμα FTIR-ATR του δείγματος MEG_FTH_2019_93



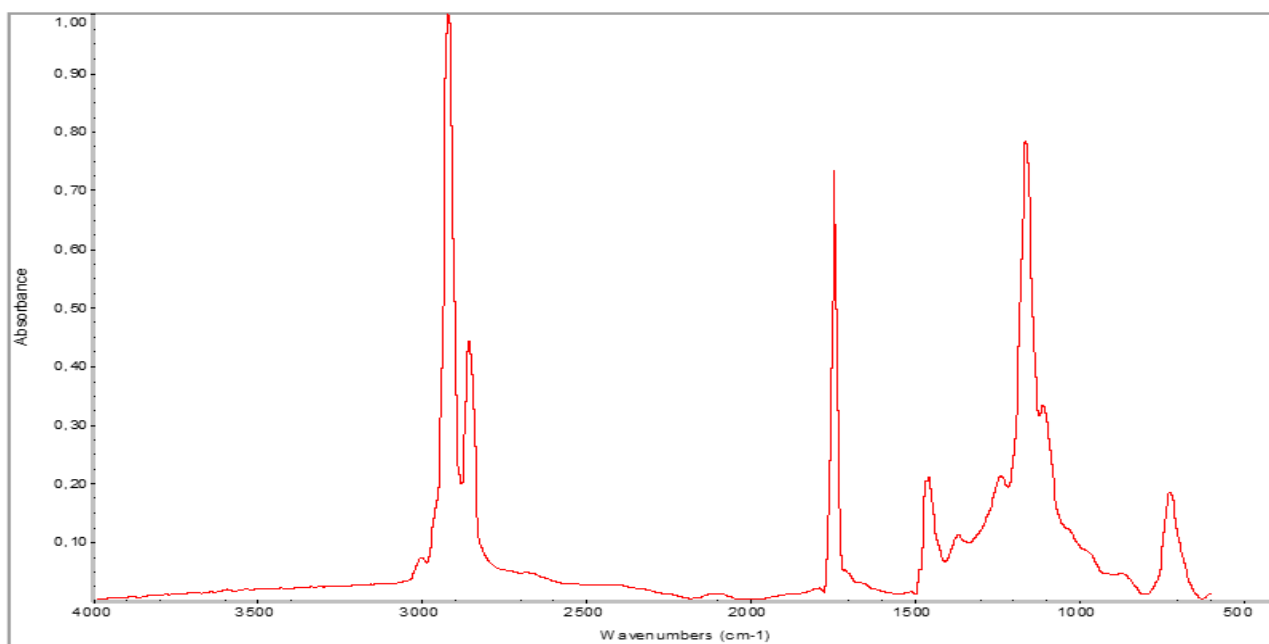
Εικόνα 90. Φάσμα FTIR-ATR του δείγματος MEG_FTH_2019_94



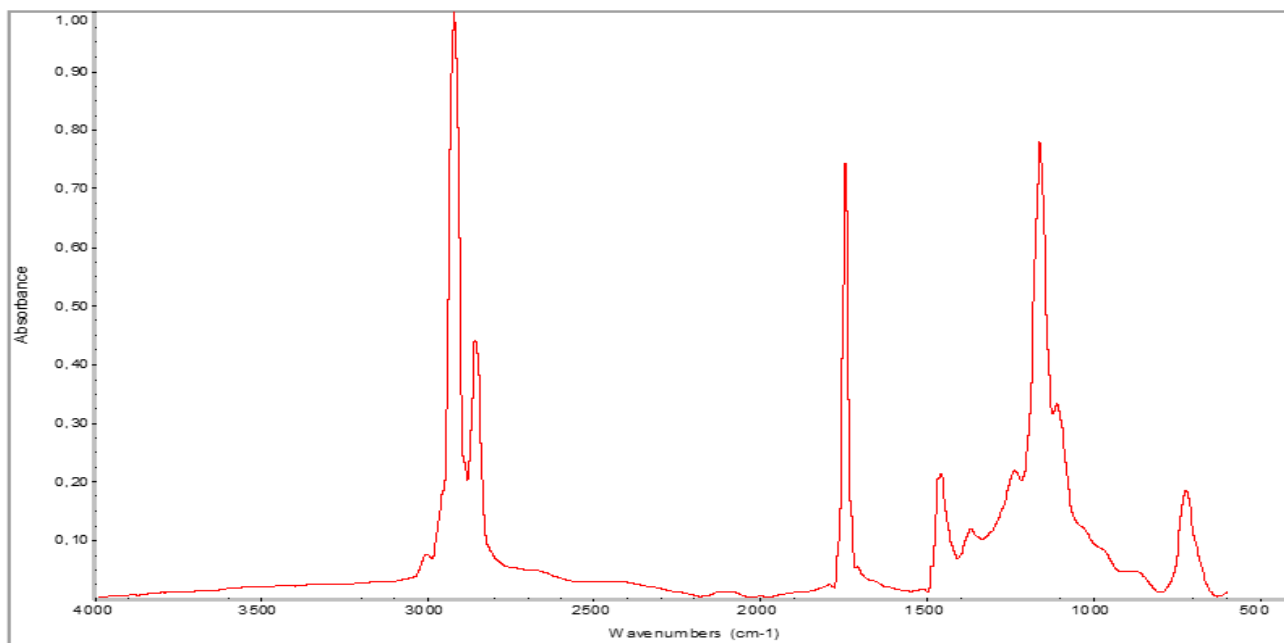
Εικόνα 91. Φάσμα FTIR-ATR του δείγματος MEG_FTH_2019_95



Εικόνα 92. Φάσμα FTIR-ATR του δείγματος MEG_FTH_2019_96

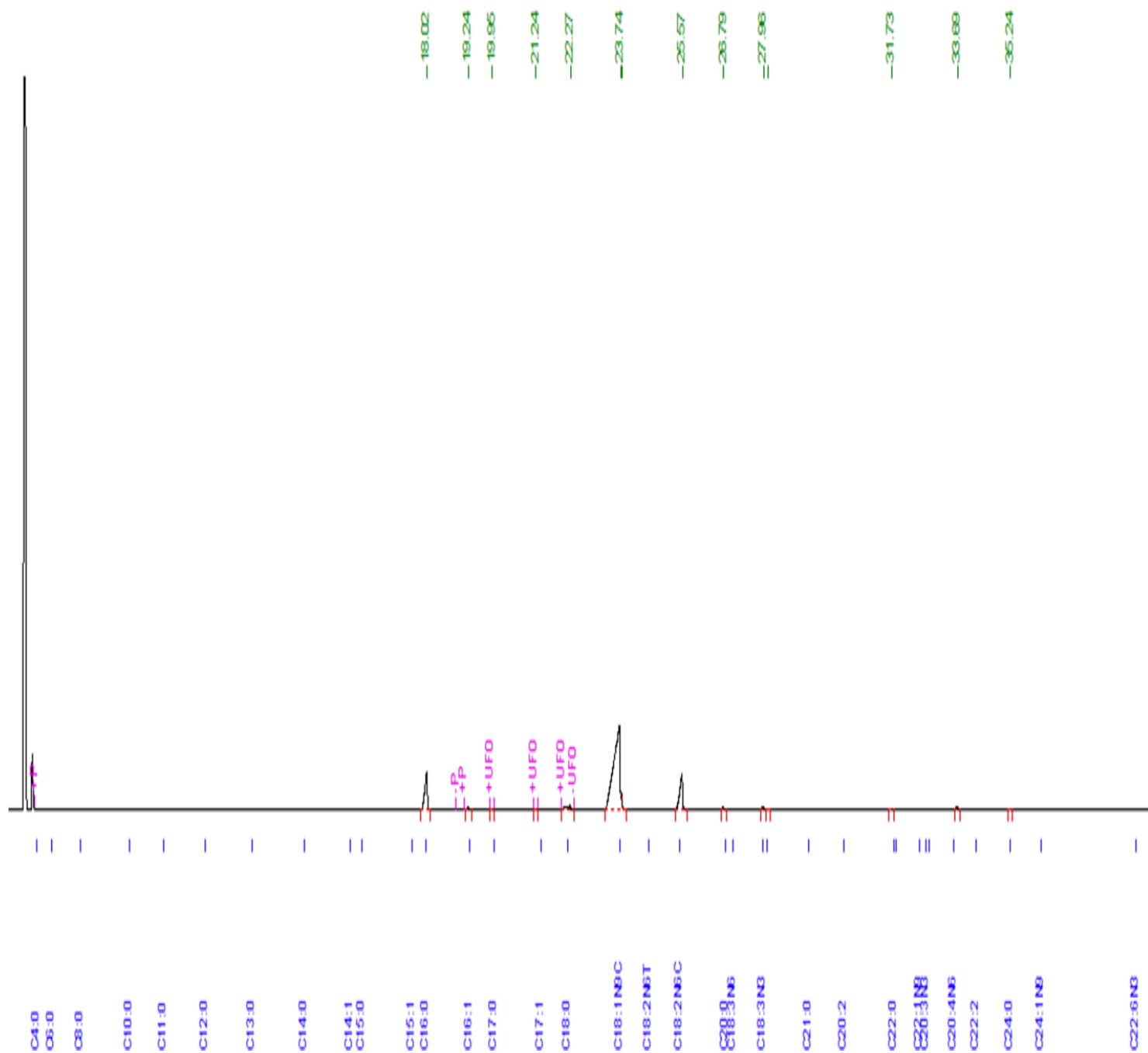


Εικόνα 93. Φάσμα FTIR-ATR του δείγματος MEG_FTH_2019_97

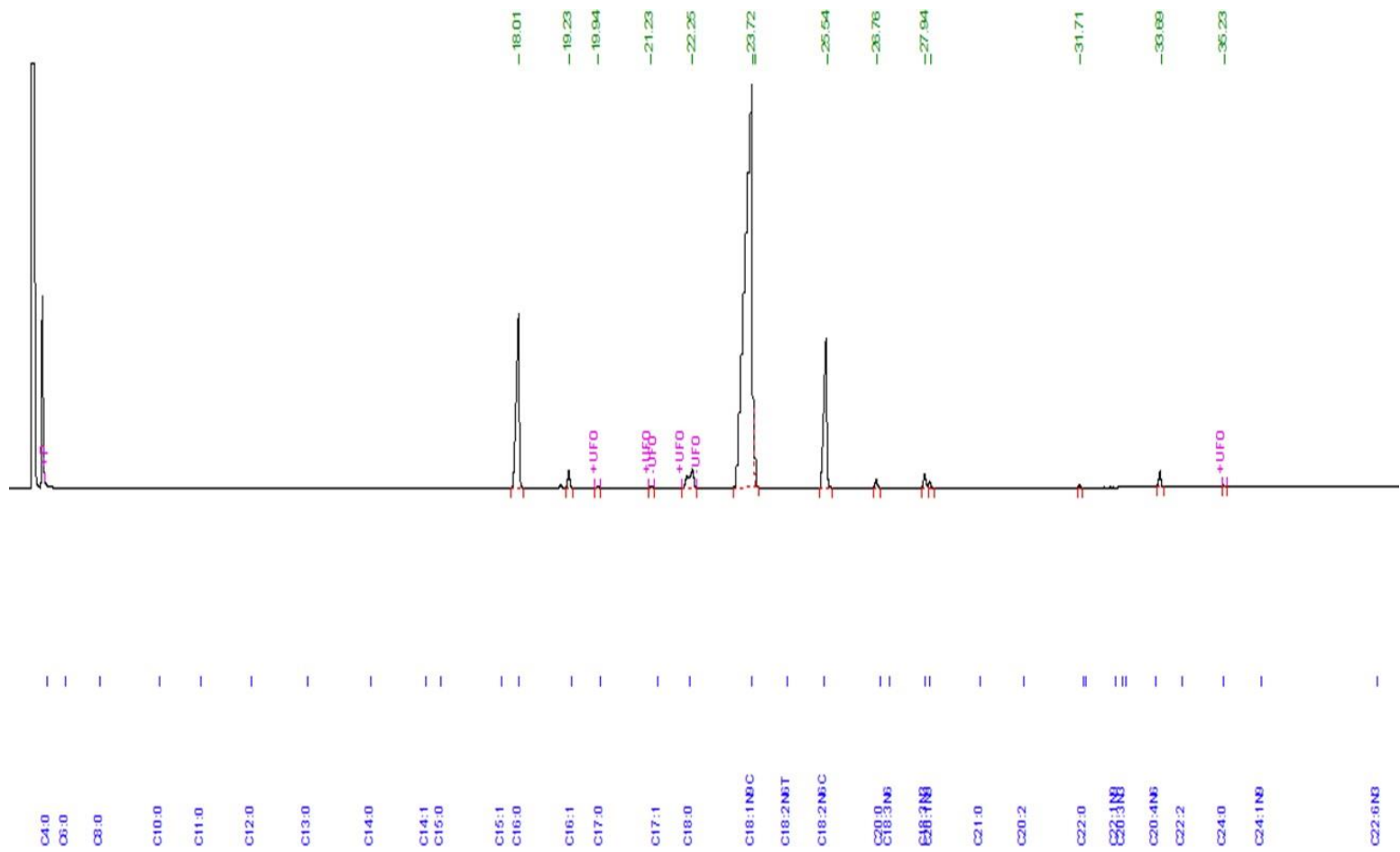


Εικόνα 94. Φάσμα FTIR-ATR του δείγματος MEG_FTH_2019_98

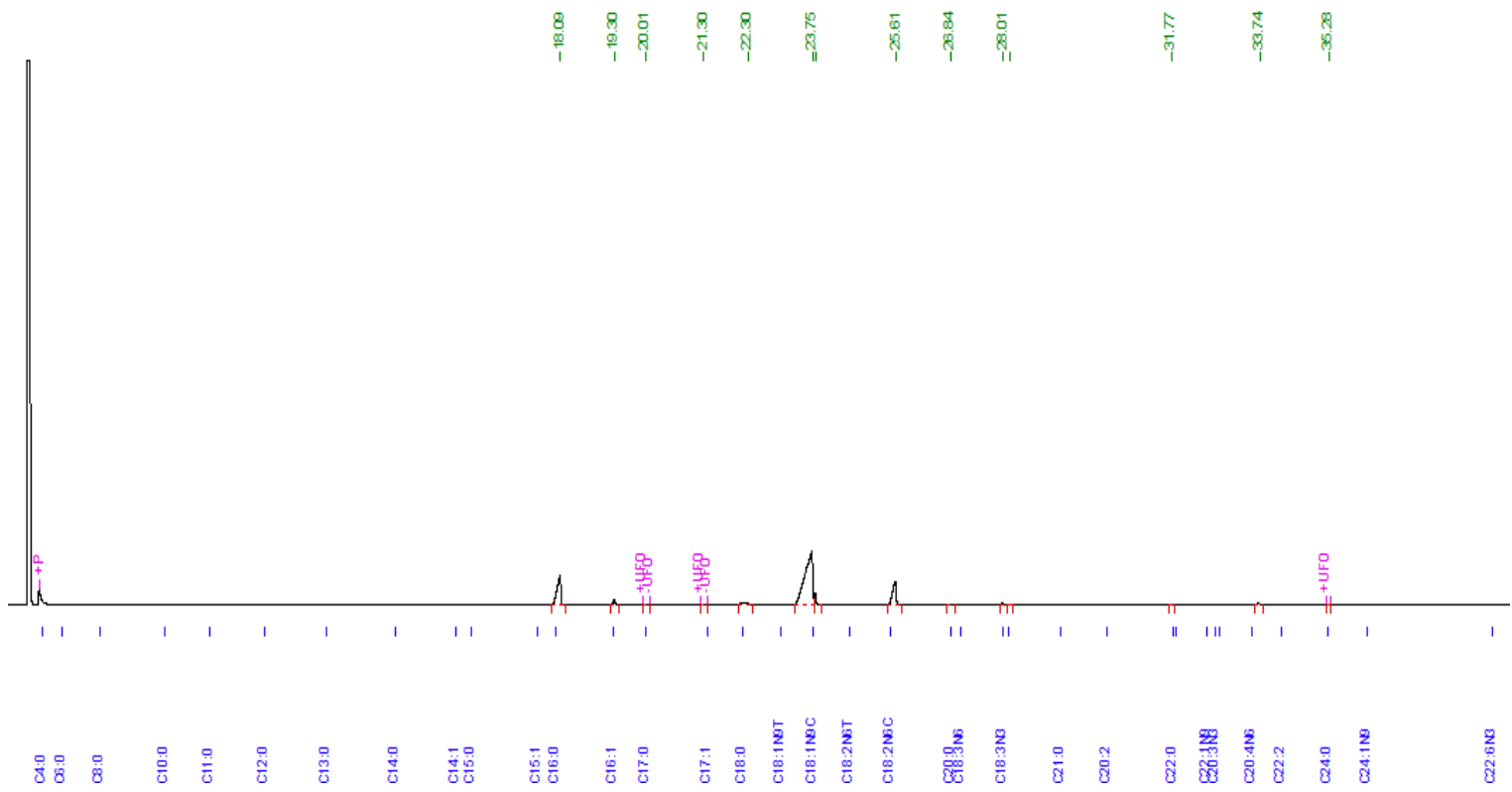
6.3. GC-FID



Εικόνα 95. Χρωματογράφημα λιπαρών οξέων του δείγματος MEG_APT_2018_72



Εικόνα 96. Χρωματογράφημα λιπαρών οξέων του δείγματος ΜΕΓ_ΦΘΙ_2019_95



Εικόνα 97. Χρωματογράφημα λιπαρών οξέων του δείγματος ΜΕΓ_ΑΤΤ_2019_216