

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

ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ ΤΡΟΦΙΜΑ ΔΙΑΤΡΟΦΗ ΚΑΙ ΥΓΕΙΑ

Μεταπτυχιακή Διπλωματική Εργασία

Φασματοσκοπική μελέτη μελιών κουμαριάς (*Arbutus unedo* L.) και βαμβακιού (*Gossypium hirsutum* L.) καθώς και χρωματογραφική μελέτη του πτητικού κλάσματος και των εκχυλισμάτων τους με ακετονιτρίλιο

Χριστίνα Χ. Σιαμαντούρα

<u>Επιβλέπων καθηγητής:</u> Χρήστος Παππάς, Καθηγητής ΓΠΑ

> AOHNA 2022

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

Μεταπτυχιακή Διπλωματική Εργασία

Φασματοσκοπική μελέτη μελιών κουμαριάς (*Arbutus unedo* L.) και βαμβακιού (*Gossypium hirsutum* L.) καθώς και χρωματογραφική μελέτη του πτητικού κλάσματος και των εκχυλισμάτων τους με ακετονιτρίλιο

"Spectroscopic study of arbutus (*Arbutus unedo* L.) and cotton (*Gossypium hirsutum* L.) honeys as well as chromatographic study of the volatile fraction and their extracts with acetonitrile"

Χριστίνα Χ. Σιαμαντούρα

<u>Εξεταστική επιτροπή:</u> Χρήστος Παππάς, Καθηγητής ΓΠΑ (Επιβλέπων) Πέτρος Α. Ταραντίλης, Καθηγητής ΓΠΑ Ελευθέριος Αλυσσανδράκης, Επίκουρος Καθηγητής ΕΛΜΕΠΑ Φασματοσκοπική μελέτη μελιών κουμαριάς (*Arbutus unedo* L.) και βαμβακιού (*Gossypium hirsutum* L.) καθώς και χρωματογραφική μελέτη του πτητικού κλάσματος και των εκχυλισμάτων τους με ακετονιτρίλιο

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

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Στη μεταπτυχιακή εργασία αυτή, μελετήθηκαν τα ελληνικά μέλια από κουμαριά (Arbutus unedo L.) και από βαμβάκι (Gossypium hirsutum L.). Σκοπός της εργασίας, ήταν η μελέτη των πτητικών συστατικών και συγκεκριμένα το προφίλ του αρώματος των μελιών αυτών, με τη τεχνική SPME/GC-MS, καθώς και τα φαινολικά τους συστατικά χρησιμοποιώντας τη τεχνική LC-QTOF-MS. Με τη φασματοσκοπική μελέτη (FT-IR, φθορισμομετρία) προσδιορίστηκαν τα κύρια συστατικά των μελιών αυτών. Αξίζει να σημειωθεί ότι, ανιχνεύτηκαν ενώσεις χαρακτηριστικές για το κάθε μέλι που μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως δείκτες της βοτανικής τους προέλευσης.

Με τη τεχνική SPME/GC-MS ταυτοποιήθηκαν 50 πτητικά συστατικά για το μέλι βαμβακιού και 43 πτητικά συστατικά για το μέλι κουμαριάς. Συγκεκριμένα, για το μέλι κουμαριάς, η α-ιζοφορόνη, η β-ιζοφορόνη και η 4-οξοϊζοφορόνη αποτελούν χημικούς δείκτες της βοτανικής προέλευσης του μελιού αυτού. Για το μέλι βαμβακιού η βιβλιογραφία δεν έχει καταλήξει σε συγκεκριμένες ενώσεις, ωστόσο ταυτοποιήθηκαν οι ενώσεις: κινναμωμαλδεΰδη, εννεανάλη και βενζαλδεΰδη. Στη παρούσα μελέτη στα μέλια βαμβακιού ανιχνεύτηκε σε μεγάλη συγκέντρωση η βενζαλδεΰδη, η φουρφουράλη και η 2-φαινυλαιθανόλη.

Όσον αφορά, τα φαινολικά συστατικά ταυτοποιήθηκαν 28 φαινολικά συστατικά για το μέλι βαμβακιού με τη ναριγενίνη και την καμφερόλη να εμφανίζουν την υψηλότερη συγκέντρωση, λόγω αυτού, θα μπορούσαν να χαρακτηριστούν ως δείκτες της βοτανικής του προέλευσης, ωστόσο χρειάζεται περαιτέρω μελέτη. Στο μέλι κουμαριάς ταυτοποιήθηκαν τουλάχιστον 23 φαινολικές ενώσεις με το ομογενιστικό οξύ και το αμπσισικό οξύ να είναι τα συστατικά με την υψηλότερη συγκέντρωση.

Η τεχνική FT-IR παρείχε δεδομένα για τις λειτουργικές ομάδες των κύριων συστατικών τους όπως τα σάκχαρα, τα αμινοξέα κ.ά. Η φασματοσκοπία φθορισμού παρείχε δεδομένα για τα φθορίζοντα συστατικά των μελιών αυτών.

Επιστημονική περιοχή: Ενόργανη χημεία τροφίμων

Λέξεις-κλειδιά: Μέλι, Βαμβάκι, Κουμαριά, FT-IR, Φθορισμός, Αέρια χρωματογραφία, Υγρή χρωματογραφία. Spectroscopic study of arbutus (Arbutus unedo L.) and cotton (Gossypium hirsutum L.) honeys as well as chromatographic study of the volatile fraction and their extracts with acetonitrile

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

ABSTRACT

In the present postgraduate thesis, Greek arbutus (*Arbutus unedo* L.) and cotton (*Gossypium hirsutum* L.) honeys were studied. The purpose of this study was to determine the volatile profile of these honeys, using the SPME/GC-MS technique, as well as their phenolic compounds by using the LC-QTOF-MS technique. The main components of these honeys were identified by spectroscopic study (FT-IR, fluorescence). It is noteworthy that characteristic compounds to each honey were indentified, which can be used as chemical markers of its botanical origin.

The SPME/GC-MS technique identified 50 volatile components for cotton honey and 43 volatile components for arbutus honey. Specifically, for arbutus honey, aisophorone,b-isophorone, 4-oxoisophorone are chemical indicators of the botanical origin of this honey. The literature has not come up with specific compounds as indicators in cotton honeys. But the following compounds have been identified: cinnamaldehyde, nonanal and benzaldehyde. In the present study, benzaldehyde, furfural and 2-phenylethanol were detected in high concentration in cotton honeys.

Regarding phenolic compounds, 28 phenolic compounds were identified for cotton honey with naringenin and kaempherol having the highest concentration, these two compounds could be considered as indicators of its botanical origin, however further study is needed. 23 phenolic compounds have been identified in arbutus honey, with homogenetisic and abscisic acid being the components with the highest concentration.

The FT-IR technique provided data for the skeleton and for the functional groups of the main molecules such as sugars, amino acids, etc. Fluorescence spectroscopy provided data on the number of fluorescent substances in these honeys.

Scientific area: Instrumental food chemistry

Keywords: Honey, *Gossypium hirsutum* L., *Arbutus unedo* L., FT-IR, Fluorescence, Gas chromatography, Liquid chromatography

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Η παρούσα μεταπτυχιακή διατριβή εκπονήθηκε στο εργαστήριο Γενικής Χημείας του τμήματος Επιστήμης Τροφίμων και Διατροφής του Ανθρώπου του Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών για το ακαδημαϊκό έτος 2020-2022.

Η παρούσα μελέτη πραγματοποιήθηκε υπό την επίβλεψη του Καθηγητή Γ.Π.Α. κ. Χρήστο Παππά, τον οποίο θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά για την εμπιστοσύνη που μου έδειξε αναθέτοντάς μου το συγκεκριμένο ερευνητικό θέμα, καθώς και για την ανεκτίμητη υποστήριξη και καθοδήγηση που μου προσέφερε αφειδώς.

Επίσης, θα ήθελα να εκφράσω την ευγνομωσύνη μου στον Καθηγητή κ. Πέτρο Α. Ταραντίλη για τη βοήθεια, και τις πολύτιμες συμβουλές του κατά τη διάρκεια εκπόνησης της παρούσας διατριβής και στον Επίκουρο Καθηγητή κ. Ελευθέριο Αλυσσανδράκη για την παροχή κάποιων από τα υπό μελέτη δείγματα, καθώς και για τις υποδείξεις του.

Ιδιαίτερα ευχαριστώ τον υποψήφιο διδάκτορα Ξαγοράρη Μαρίνο για την εκμάθηση του εργαστηριακού εξοπλισμού, καθώς και για την πίστη του σε εμένα και στην προσπάθεια μου, όπως και στη φοιτήτρια Τσιτιρίδου Νιόβη-Μαρία για τη βοήθεια της κατά τη διάρκεια της μελέτης.

«Με την άδειά μου, η παρούσα εργασία ελέγχθηκε από την Εξεταστική Επιτροπή μέσα από λογισμικό ανίχνευσης λογοκλοπής που διαθέτει το ΓΠΑ και διασταυρώθηκε η εγκυρότητα και η πρωτοτυπία της.»

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ
1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ
1.1.1. Ορισμός
1.1.2. Κατηγοριοποίηση Μελιών
1.2. ΧΗΜΙΚΗ ΣΥΣΤΑΣΗ
1.2.1. Γενικά
1.2.2. Σύσταση μελιού9
1.3. ΝΟΜΟΘΕΣΙΑ
1.3.1. Γενικά
1.3.2. Κριτήρια σύστασης για τα μέλια
1.4. ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΑ
1.4.1. Γενικά
1.4.2. Ελληνικά στατιστικά στοιχεία
2. MEAI BAMBAKIOY
2.1.1. Γενικά
2.1.2. Φυσικοχημικά χαρακτηριστικά μελιού βαμβακιού
2.1.3. Πτητικές ενώσεις στο μέλι βαμβακιού
2.1.4. Φαινολικά συστατικά στο μέλι βαμβακιού
3. ΜΕΛΙ ΚΟΥΜΑΡΙΑΣ
3.1.1. Γενικά
3.1.2 Φυσικοχημικά χαρακτηριστικά μελιού κουμαριάς
3.1.3 Πτητικές ενώσεις στο μέλι κουμαριάς
3.1.4 Φαινολικά συστατικά μελιού κουμαριάς
ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ
4.1. Σκοπός και αντικείμενο μελέτης
4.2. Δείγματα
4.2.1. Πειραματική μέθοδος
4.3. Φασματοσκοπική μελέτη μελιών βαμβακιού και κουμαριάς χρησιμοποιώντας
τη τεχνική FT-IR
4.3.1. Όργανα- Αντιδραστήρια
4.3.2. Πειραματική πορεία
4.3.3. Αποτελέσματα και συζήτηση

4.3.4. Φάσματα FT-IR μελιών βαμβακιού και κουμαριάς	
4.4. Φασματοσκοπική μελέτη μελιών κουμαριάς και β	βαμβακιού με
φασματοσκοπία φθορισμού	
4.4.1. Όργανα-Αντιδραστήρια	
4.4.2. Πειραματική πορεία	
4.4.3 Αποτελέσματα και συζήτηση	29
4.5. Παραλαβή πτητικών συστατικών μελιών κουμαριάς και βαμβα	ακιού με SPME
και ανάλυση με τη τεχνική GC-MS	
4.5.1. Όργανα-Αντιδραστήρια	
4.5.2. Πειραματική πορεία	
4.5.3. Αποτελέσματα και συζήτηση	
4.6. Χρωματογραφική μελέτη φαινολικών συστατικών μελιού	κουμαριάς και
4.6. Χρωματογραφική μελέτη φαινολικών συστατικών μελιού βαμβακιού με LC-QTOF-MS	κουμαριάς και
 4.6. Χρωματογραφική μελέτη φαινολικών συστατικών μελιού βαμβακιού με LC-QTOF-MS 4.6.1. Όργανα-Αντιδραστήρια 	κουμαριάς και 40
 4.6. Χρωματογραφική μελέτη φαινολικών συστατικών μελιού βαμβακιού με LC-QTOF-MS 4.6.1. Όργανα-Αντιδραστήρια 4.6.2. Πειραματική πορεία 	κουμαριάς και 40 40
 4.6. Χρωματογραφική μελέτη φαινολικών συστατικών μελιού βαμβακιού με LC-QTOF-MS 4.6.1. Όργανα-Αντιδραστήρια 4.6.2. Πειραματική πορεία 4.6.3. Αποτελέσματα και συζήτηση 	κουμαριάς και 40 40 42
 4.6. Χρωματογραφική μελέτη φαινολικών συστατικών μελιού βαμβακιού με LC-QTOF-MS 4.6.1. Όργανα-Αντιδραστήρια. 4.6.2. Πειραματική πορεία. 4.6.3. Αποτελέσματα και συζήτηση. 5. Συμπεράσματα. 	κουμαριάς και 40 40 42 46
 4.6. Χρωματογραφική μελέτη φαινολικών συστατικών μελιού βαμβακιού με LC-QTOF-MS 4.6.1. Όργανα-Αντιδραστήρια. 4.6.2. Πειραματική πορεία. 4.6.3. Αποτελέσματα και συζήτηση. 5. Συμπεράσματα. 6. Βιβλιογραφία. 	κουμαριάς και 40 40 42 42 46 48
 4.6. Χρωματογραφική μελέτη φαινολικών συστατικών μελιού βαμβακιού με LC-QTOF-MS 4.6.1. Όργανα-Αντιδραστήρια. 4.6.2. Πειραματική πορεία. 4.6.3. Αποτελέσματα και συζήτηση. 5. Συμπεράσματα. 6. Βιβλιογραφία. Παράρτημα Ι. 	κουμαριάς και 40 40 42 42 46 48 59
 4.6. Χρωματογραφική μελέτη φαινολικών συστατικών μελιού βαμβακιού με LC-QTOF-MS 4.6.1. Όργανα-Αντιδραστήρια. 4.6.2. Πειραματική πορεία. 4.6.3. Αποτελέσματα και συζήτηση. 5. Συμπεράσματα. 6. Βιβλιογραφία. Παράρτημα Ι. Παράρτημα Ι. 	κουμαριάς και 40 40 42 46 48 59
 4.6. Χρωματογραφική μελέτη φαινολικών συστατικών μελιού βαμβακιού με LC-QTOF-MS 4.6.1. Όργανα-Αντιδραστήρια. 4.6.2. Πειραματική πορεία. 4.6.3. Αποτελέσματα και συζήτηση. 5. Συμπεράσματα. 6. Βιβλιογραφία. Παράρτημα Ι. Παράρτημα ΙΙ. 	κουμαριάς και 40 40 42 46 48 59 68 78

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΕΙΚΟΝΩΝ

Εικόνα 1: Μέση σύσταση μελιού (% w/w)	. 10
Εικόνα 2: Αριθμός μελισσοκόμων στην Ευρωπαϊκή Ένωση	. 14
Εικόνα 3: Παραγωγή μελιού το 2017 και το 2018 στην Ε.Ε	. 15
Εικόνα 4: Βαμβάκι (Gossypium hirsutum L.)	. 16
Εικόνα 5: Επίδραση του χρόνου αποθήκευσης στις παραμέτρους ποιότητα	ς του
μελιού	18
Εικόνα 6: Κουμαριά (Arbutus unedo L.)	20
Εικόνα 7: Χημικές δομές των δεικτών βοτανικής προέλευσης του μ	ελιού
κουμαριάς	22

Εικόνα 8: Φάσμα FT-IR μελιού από βαμβάκι και φάσμα FT-IR	μελιού
κουμαριάς	27
Εικόνα 9: Εντάσεις των συστατικών που φθορίζουν στο μέλι σε 3D-ΕΕΝ	1 φάσμα
με λex= 240-400 και λem= 250-750	30
Εικόνα 10: Φάσμα 3D-ΕΕΜ μελιού κουμαριάς	31
Εικόνα 11: Φάσμα 3D-ΕΕΜ μελιού βαμβακιού	31
Εικόνα 12: Εκχύλιση με την τεχνική SPME	33
Εικόνα 13: Σύστημα GC/MS	34
Εικόνα 14: Χρωματογράφημα GC-MS μελιού βαμβακιού	37
Εικόνα 15: Χρωματογράφημα GC-MS μελιού κουμαριάς	39
Εικόνα 16: Σύστημα LC-QTOF-MS	41
Εικόνα 17: Χρωματογράφημα LC-QTOF-MS μελιού βαμβακιού	43
Εικόνα 18: Χρωματογράφημα LC-QTOF-MS μελιού κουμαριάς	45

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΠΙΝΑΚΩΝ

Πίνακας 1: Ελάχιστο ποσοστό γύρης που απαιτείται για τον χαρακ	τηρισμό
μονοανθών μελιών σε πέντε Ευρωπαϊκές χώρες σύμφωνα με την	εθνική
νομοθεσία	11
Πίνακας 2: Κριτήρια σύστασης των μελιών	12
Πίνακας 3: Παράμετροι για την ταυτοποίηση ελληνικών τύπων μελιών	13
Πίνακας 4: Χημική σύσταση ελληνικού μελιού βαμβακιού	17
Πίνακας 5: Φυσικοχημικά χαρακτηριστικά μελιού κουμαριάς	21
Πίνακας 6: Ποιοτικός και ποσοτικός προσδιορισμός του φαινολικού κλ	άσματος
μελιών κουμαριάς εκφρασμένο σε mg/100 g μελιού κουμαριάς ±	τυπική
απόκλιση	22
Πίνακας 7: Κορυφές του φάσματος FT-IR μελιού βαμβακιού	27
Πίνακας 8: Πτητικά συστατικά μελιών βαμβακιού	35
Πίνακας 9: Πτητικά συστατικά μελιών κουμαριάς	38
Πίνακας 10: Φαινολικά συστατικά μελιών βαμβακιού	43
Πίνακας 11: Φαινολικά συστατικά μελιών κουμαριάς	45

Ι. ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ 1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ 1.1.1. Ορισμός

Το μέλι ορίζεται ως: η φυσική γλυκιά ουσία που παράγουν οι μέλισσες του είδους Apis mellifera από το νέκταρ των φυτών ή από εκκρίσεις ζώντων μερών φυτών ή εκκρίματα εντόμων απομυζούντων, φυτά ευρισκόμενα πάνω στα ζώντα μέρη των φυτών, τα οποία οι μέλισσες συλλέγουν, μετατρέπουν, αναμειγνύοντας με ειδικές ύλες του σώματός τους, αποθέτουν, αφυδατώνουν, εναποθηκεύουν και φυλάσσουν τις κηρήθρες της κυψέλης, προκειμένου να ωριμάσουν. Με βάση την οδηγία (2001/110/EK) και τον Codex Alimentarious (1981) της Διεθνούς οργάνωσης Τροφίμων και Γεωργίας (Food and Agricultural Organization, FAO), (Κώδικας τροφίμων και ποτών, Άρθρο 67).

1.1.2. Κατηγοριοποίηση μελιών

Το μέλι διαχωρίζεται είτε ως μέλι ανθέων είτε ως μέλι μελιτώματος, εξαρτώμενο από τη προέλευσή του. Το μέλι μελιτωμάτων παράγεται από τα εκκρίματα εντόμων, τα οποία βρίσκονται πάνω στα ζώντα μέρη των φυτών ή από εκκρίσεις ζώντων μερών φυτών. Στη κατηγορία αυτή κατατάσσεται το μέλι πεύκου, βελανιδιάς, κωνοφόρων και ελάτου. Στα μέλια ανθέων κατατάσσονται το βαμβάκι, η κουμαριά , ο ηλίανθος, το θυμάρι, η καστανιά κ.ά. (Οδηγία 2001/110/ΕΚ).

Οι κύριοι τύποι αμιγών ελληνικού μελιού είναι: το βαμβάκι, το πεύκο, η ελάτη, η πορτοκαλιά, ο ηλίανθος, το ερείκη, η καστανιά και το θυμάρι βάσει του άρθρου 67^α του Κώδικα Τροφίμων και Ποτών. Το μέλι μελιτωμάτων κατηγοριοποιείται ανάλογα με το τρόπο παραγωγής του και μία ξεχωριστή κατηγορία αποτελεί το μέλι ζαχαροπλαστικής, το οποίο είναι κατάλληλο για βιομηχανική χρήση ή ως συστατικό σε τρόφιμα και στη πορεία επιδέχεται μεταποίηση (Οδηγία 2001/110/EK).

1.2. ΧΗΜΙΚΗ ΣΥΣΤΑΣΗ

1.2.1. Γενικά

Το μέλι αποτελείται κυρίως από νερό, βιταμίνες, πρωτεΐνες, σάκχαρα και εμπεριέχονται σε αυτό μεγάλη ποικιλία χημικών ενώσεων (Escuerdo et al.,2014). Οι κλιματικές συνθήκες, οι βιολογικές ιδιότητες και ο χημειότυπος των φυτών είναι άρρηκτα συνδεδεμένα με τον τρόπο σύνθεσης των χημικών ενώσεων στα φυτά (Alvarez-Suarez et al., 2009). Όταν το μέλι αποθηκεύεται για μεγάλη διάρκεια ή 5επιδέχεται θερμική επεξεργασία, σχηματίζεται σε αυτό η υδροξυμεθυλοφουρφουράλη (5-HMF) που αποτελεί προϊόν της αντίδρασης Maillard (Tornuk et. al., 2013). Η 5-ΗΜΕ ανάλογα με τη συγκέντρωσή της είναι δυνατόν να καταστεί τοξική (Tornuk et. al., 2013). Κατά την αποθήκευση του μελιού λαμβάνουν χώρα διάφορες χημικές αντιδράσεις που μεταβάλλουν τη σύσταση του (Moreira et al., 2010).

1.2.2. Σύσταση μελιού

Σάκχαρα: Βάσει της Εικόνας 1 η φρουκτόζη αποτελεί το 38,19% w/w και η γλυκόζη το 31,28% w/w της συνολικής σύστασης του μελιού. Η ενεργειακή αξία του μελιού οφείλεται στα σάκχαρα (Kamal et al., 2011).

<u>Πρωτεΐνες, ένζυμα, αμινοξέα</u>: Σε μελέτη που έγινε για την περιεκτικότητα μελιών διαφορετικής βοτανικής προέλευσης σε πρωτεΐνες, τιμή πάνω από 1000 μg/g θεωρήθηκε υψηλή (Alvarez-Suarez et al., 2009). Τα κυριότερα ένζυμα στο μέλι είναι η ιμβερτάση υδρολύει τη σακχαρόζη σε γλυκόζη και φρουκτόζη, η οξειδάση της γλυκόζης, οξειδώνει τη γλυκόζη σε γλυκονικό οξύ και υπεροξείδιο του υδρογόνου, η διαστάση (αμυλάση), υδρολύει το άμυλο (Bogdanov et al., 2008). Η συγκέντρωση των ελεύθερων αμινοξέων στο μέλι απαντάται μεταξύ 10-200 mg/100 g, περίπου το 50% του συνόλου των ελεύθερων αμινοξέων αποτελείται από την προλίνη (Iglesias et al., 2004).

Μέταλλα και ιχνοστοιχεία: Διαφορετικά ιχνοστοιχεία (Te, Tl, W, Sb, Al, Ba, Ni, Ti, Sr, Bi, Mo, Co, V, Cd, Pb, Hg, Sn,Cr) και μέταλλα (P, S, Ca, Mg, K, Na, Zn, Fe, Cu, Mn) έχουν βρεθεί σε μέλι. Χαρακτηριστικές είναι οι βιολογικές δράσεις των ιχνοστοιχείων, τα οποία εφαρμόζονται στη βιοϊατρική επιστήμη (Conti et al., 2000; Stocker et al., 2005).



Εικόνα 1: Μέση σύσταση μελιού (% w/w) (Alvarez-Suarez et al., 2009).

1.3. ΝΟΜΟΘΕΣΙΑ

1.3.1. Γενικά

Μέσω της γυρεοσκοπικής ανάλυσης του μελιού υποδεικνύεται η βοτανική του προέλευση. Ωστόσο, τα αποτελέσματα κρίνονται με μεγαλύτερη εγκυρότητα όταν η γυρεοσκοπική ανάλυση συνδιάζεται με τα οργανοληπτικά και φυσικοχημικά χαρακτηριστικά του μελιού (Molan, 1998; Persano Oddo et al., 2004).

Έχει παρατηρηθεί ότι τα κριτήρια σύστασης του νοθευμένου μελιού βρίσκονται εντός των καθορισμένων κριτηρίων, ενώ είναι συχνό φαινόμενο τα ανεπεξέργαστα μέλια να μη συμμορφώνονται με τα κριτήρια σύστασης της νομοθεσίας. (Thrasyvoulou et al., 2018).

Σύμφωνα με την οδηγία 2001/110/ΕΚ, το μέλι που προορίζεται προς πώληση ή χρησιμοποιείται σε οποιοδήποτε καταναλωτικό προϊόν, δε θα πρέπει να έχει προστεθεί κανένα πρόσθετο τροφίμων (Κώδικας τροφίμων και ποτών, Άρθρο 67α).

Το μέλι δεν πρέπει, όσο είναι δυνατό να περιέχει ξένες ύλες. Δεν πρέπει να εμφανίζει ασυνήθιστη οσμή ή γεύση, ούτε να έχει αρχίσει να υφίσταται ζύμωση (Κώδικας τροφίμων και ποτών, Άρθρο 67α). Η οξύτητά του δεν πρέπει να έχει μεταβληθεί τεχνητά, και να μην έχει θερμανθεί με τρόπο που οδηγεί στην

αδρανοποίηση ή τη καταστροφή των φυσικών ενζύμων (Κώδικας τροφίμων και ποτών, Άρθρο 67^α).

Στον Πίνακα 1 παρατηρούνται οι διαφορετικές διατάξεις που ακολουθεί το κάθε κράτος. Μεταξύ των κρατών υπάρχουν διαφοροποιήσεις ως προς την νομοθεσία, οδηγώντας στην εξαπάτηση των καταναλωτών όσον αφορά τη ποιότητα του μελιού (Thrasyvoulou et al., 2018).

Πίνακας 1: Ελάχιστο ποσοστό γύρης που απαιτείται για τον χαρακτηρισμό μονοανθών μελιών σε πέντε Ευρωπαϊκές χώρες σύμφωνα με την εθνική νομοθεσία.

Κόκκοι Γύρης	Ελλάδα (%)	Κροατία (%)	Σερβία (%)	Ιταλία (%)	Γερμανία (%)
Gossypium	3				
Arbutus unedo		10			
Helianthus	20	-	40		50
Erica spp.	45				45
Castanea Sativa	87	85	85		90
Thymus spp.	18	-		15	

(Croatia Ministry of Agriculture, 2009; Leitatze des Deutschen Lebensmittelbuches, 2011; AXS Decision, 2004; Serbia Ordinance, 2003).

1.3.2. Κριτήρια σύστασης για τα μέλια

Τα κριτήρια σύστασης των μελιών σε συμμόρφωση με τον κώδικα τροφίμων και ποτών και την οδηγία 2001/110/ΕΕ απεικονίζονται στον Πίνακα 2. Όσον αφορά τα απαραίτητα κριτήρια και πρότυπα, τα όρια της διαστάσης θα πρέπει να είναι (>8 DN, εκτός του μελιού πορτοκαλιάς που πρέπει να είναι >3DN) και της HMF θα πρέπει να είναι (<40 mg/kg) υποχρεωτικά για τις χώρες.

Οδηγία 2001/110/EU				
Κριτήρια Σύστασης	Γενικά	Μέλι Ανθέων Εξαιρέσεις	Μελιτώματα* Γενικά	Αναθεωρημένος κώδικας 2001
Υγρασία (%)	<20	Μέλι ερείκης (Calluna) και μέλι ζαχαροπλαστικής <23, μέλι ζαχαροπλαστικής από μέλι ερείκης (Calluna) <25	<20	Το ίδιο
Σακχαρόζη (%)	<5	Robinia, Medicago, Banksia, Hedysarum, Eucalyptus, Eucryphia spp., Citrus <10, Lavandula & Borago <15	<5	Το ίδιο
Ηλεκτρική Αγωγιμότητα (mS/cm)	<0,8	Chestnut, Arbutus, Erica, Eucalyptus, Tilia, Calluna, Manuka, Melaleuca	>0,8	Το ίδιο
Φρουκτόζη και Γλυκόζη (%)	>60	-	>45	Το ίδιο
Μη Υδατοδιαλυτά συστατικά (%)	<0,1		<0,1	Το ίδιο
HMF (mg/kg)**	<40	Μέλι ζαχαροπλαστικής, μέλια των τροπικών κλιμάτων και μίγματα αυτών <80	<40	Μέλια των τροπικών κλιμάτων και μίγματα: <80
Δείκτης Διαστάσης (DN)**	>8	Μέλι ζαχαροπλαστικής και μέλι με χαμηλό περιεχόμενο σε φυσικά ένζυμα >3, όταν HMF <15 mg/kg	>8	Μέλια με χαμηλό περιεχόμενο σε φυσικά ένζυμα: >3 DN
Ελεύθερη οξύτητα (meq/kg)	<50	Μέλι ζαχαροπλαστικής <80	<50	Το ίδιο

Πίνακας 2: Κριτήρια σύστασης των μελιών.

*Μέλι μελιτώματος και μείγματα μελιτωμάτων με μέλι ανθέων.

**Προσδιορίζεται μετά από επεξεργασία και ανάμειξη.

Στον Πίνακα 3 φαίνονται οι παράμετροι που χρησιμοποιούνται για την ταυτοποίηση οχτώ διαφορετικών αμιγών τύπων ελληνικού μελιού.

Παράμετορς	Τύποι Μελιού							
παραμετρος	Βαμβάκι	Πεύκο	Ελάτης	Πορτοκαλιά	Ηλίανθου	Ερείκης	Καστανιά	Θυμάρι
Υγρασία (%)			≤18,5					
Ηλεκτρική								
Αγωγιμότητα		$\geq 0,9$	\geq 1,0	≤0,45			≥1,1	≤0,6
(Ms/cm)								
Κύριος								
γυρεόκοκκος								
% των								
γυρεοκόκκων	≥3			≥3	≥20	≥45	≥87	≥18
των								
νεκταρογόνων								
φυτών								
HDE/P**		Ποικίλλει	Ποικίλλει					
		Ποικίλλει						
		Σημαντική	Ποικίλλει					
		παρουσία	Απλή παρουσία					
DIZ/10 ~***	<90.000 χαρακτηριστικών στοιχείων	χαρακτηριστικών	~70.000	<55.000		>100.000	<00.000	
1 K/10 g		στοιχείων	στοιχείων	0.000</td <td><55.000</td> <td></td> <td><u>~100.000</u></td> <td>~90.000</td>	<55.000		<u>~100.000</u>	~90.000
		μελιτωμάτων	μελιτωμάτων					
		(μύκητες-	(μύκητες)					
		καπνίες)						

Πίνακας 3: Παράμετροι για την ταυτοποίηση ελληνικών τύπων μελιών (ΚΤΠ, Άρθρο 67^α).

*Το ποσοστό των συνοδών των γυρεοκόκκων τις είδους φυτού δεν πρέπει να ξεπερνά το 45%.

** Honeydew elements/Pollen (στοιχεία μελιτωμάτων/γυρεόκοκκοι νεκταρογόνων φυτών).

***PK/10g: Συνολικός αριθμός γυρεοκόκκων/10 g.

1.4. ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΑ

1.4.1. Γενικά

Στη Νότια Ευρώπη συναντάται η μεγαλύτερη παραγωγή μελιού όπου το κλίμα διευκολύνει τη δραστηριότητα της μελισσοκομίας (Ευρωπαϊκή Επιτροπή, 2019). Η Κίνα αποτελεί τη πρώτη παγκοσμίως χώρα παραγωγό σε μέλι ακολουθούμενη από την Ευρώπη (218.000 τόνους), η οποία είναι αυτάρκης μόνο κατά 60% σε μέλι (Ευρωπαϊκή Επιτροπή, 2022). Οι χώρες με τη μεγαλύτερη παραγωγή μελιού είναι: η Γερμανία, η Ρουμανία, η Ουγγαρία, η Γαλλία η Ισπανία, η Ιταλία,η Πολωνία και η Ελλάδα (Ευρωπαϊκή Επιτροπή, 2019).

Με βάση τα στοιχεία της Διεθνούς οργάνωσης Τροφίμων και Γεωργίας το 2020, η Κεντροαφρικάνικη Δημοκρατία είναι η πρώτη χώρα παγκοσμίως σε κατανάλωση μελιού (g/κεφαλήν), ενώ η Ελλάδα βρίσκεται τέταρτη στη κατάταξη μετά τη Ν. Ζηλανδία και τη Σλοβενία.

Στην Εικόνα 2 φαίνεται ο αριθμός των μελισσοκόμων στη χρονική περίοδο 2008-2022, με σημαντική αύξηση του αριθμού αυτού, την περίοδο 2020-2022 (Εικόνα 2). Ωστόσο να σημειωθει ότι δεν υπάρχει συγκεκριμένη μέθοδος για τον τρόπο εκτίμησης του αριθμού αυτού (Ευρωπαϊκή Επιτροπή 2019).



Εικόνα 2: Αριθμός μελισσοκόμων στην Ευρωπαϊκή Ένωση (Ευρωπαϊκή Επιτροπή 2019).

1.4.2. Ελληνικά στατιστικά στοιχεία

Στην Ελλάδα υπάρχουν 1,5-1,7 εκατομμύρια κυψέλες περίπου. Η Ελλάδα αποτελεί τον όγδοο μεγαλύτερο παραγωγό μελιού στην Ευρώπη, με την Ρουμανία να κατέχει τη πρώτη θέση και να ακολουθούν η Ισπανία, η Γερμανία και η Ουγγαρία (Ευρωπαϊκή Επιτροπή 2019) (Εικόνα 3).



Εικόνα 3: Παραγωγή μελιού το 2017 και το 2018 στην Ε.Ε. (Ευρωπαϊκή Επιτροπή 2019).

Βάσει στατιστικών στοιχείων του 2009 που κοινοποιήθηκαν από το Υπουργείο Αγροτικής Ανάπτυξης και Τροφίμων, φαίνεται ότι τη μεγαλύτερη παραγωγή σε μέλι την είχε ο νομός Χαλκιδικής με 2072,44 τόνους ακολουθούμενη από το νόμο Ηρακλείου με 1328,18 τόνους και τη χαμηλότερη παραγωγή την είχε ο νομός Πρεβέζης με 72,35 τόνους παραγωγή μελιού. Το 20% της ετήσιας παραγωγής στην Ελλάδα αντιπροσωπεύεται από το μέλι βαμβακιού (Alissandrakis et al., 2005).

2. ΜΕΛΙ ΒΑΜΒΑΚΙΟΥ

2.1.1. Γενικά

Το βαμβάκι (*Gossypium hirsutum* L.), αποτελεί φυσικές φυτικές ίνες, η παγκόσμια παραγωγή υπολογίζεται περίπου στα 25 εκατομμύρια τόνους, αντιπροσωπεύοντας το 2,5 % της χρήσης της καλλιεργήσιμης γης παγκοσμίως (Usha Rani et al., 2013). Ως εκ τούτου, πρέπει να χρησιμοποιηθούν αποδοτικές πρακτικές για την κάλυψη της ζήτησης, διότι παρατηρούνται μεγάλες απώλειες λόγω παρασίτων της καλλιέργειας του βαμβακιού (Usha Rani et al., 2013).



Εικόνα 4: Βαμβάκι (Gossypium hirsutum L.).

2.1.2. Φυσικοχημικά Χαρακτηριστικά μελιού βαμβακιού

Οι διαφορές στο φαινολικό προφίλ των μελιών συνδέονται με τη σύσταση και σύνθεση των χημικών ενώσεων που υπάρχουν στα φυτά από όπου προέρχονται, οδηγώντας σε αλλαγές στη ποιότητα των διάφορων μελιών μεταξύ τους (Ciulu et al., 2016). Οι διαφορές αυτές δημιουργούν δύο ξεχωριστές εκδοχές σχετικά με τη μελέτη του φαινολικού περιεχομένου του μελιού (Ciulu et al., 2016).

Η πρώτη εκδοχή στοχεύει σε μέλια διαφορετικής βοτανικής προέλευσης αξιολογώντας τις βιοδραστικές τους ιδιότητες, ενώ η δεύτερη στηρίζεται στη συγκέντρωση των φαινολικών ενώσεων που προσδιορίζονται ως δείκτες της βοτανικής τους προέλευσης (Ciulu et al., 2016).

Ο χαρακτηρισμός ενός μελιού ως βαμβακόμελο προϋποθέτει να περιέχει περισσότερο από 3% κόκκους γύρης από βαμβάκι (Passias et al., 2022). Το συγκεκριμένο μέλι χαρακτηρίζεται για τις ήπιες νότες του αρώματός του, ξεχωρίζει από το μελίτωμα βαμβακιού, διότι είναι πιο ανοιχτόχρωμο και έχει γλυκιά γεύση (Alissandrakis et al., 2005). Λόγω της μεγάλης συγκέντρωσης σε υπεροξειδίου του υδρογόνου σε αυτό, εμφανίζει βακτηριοκτόνο δράση και έχει υψηλή ηλεκτρική αγωγιμότητα (Θρασυβούλου και συν., 2002). Η χημική του σύσταση παρουσιάζεται στον Πίνακα 4.

Χημικά Χαρακτηριστικά	Μέσος Όρος	Ελάχιστη-Μέγιστη τιμή	Τυπική απόκλιση
Τέφρα (%)	0,20	0,10-0,50	0,05
рН	3,90	3,70-4,30	0,16
Αγωγιμότητα (mS.cm)	0,60	0,45-0,76	0,98
Ιμβερτάση (DN)	22,10	12,80-29,20	-
Προλίνη (mg/kg)	432	305-650	103
Ποσοστά γυρεοκόκκων	13,30	10,20-20,30	4,50
Kάλιο (mg/kg)	3,37	2,90-3,80	0,30
Ασβέστιο (mg/kg)	5,08	2,40-7,20	1,50
Μαγνήσιο (mg/kg)	6,50	0,80-11,60	4,70
Μαγγάνιο (mg/kg)	0	0,001-0,005	0,54
Ψευδάργυρο (mg/kg)	-	-	-
Σίδηρος (mg/kg)	0	0-0,01	0,12
Χαλκός (mg/kg)	0,06	0,06-0,07	0,51
Νάτριο (mg/kg)	0,15	0,05-0,20	0,04

Πίνακας 4: Χημική σύσταση ελληνικού μελιού βαμβακιού (Θρασυβούλου και συν., 2002).

Στη μελέτη των Pasias et al. (2022) μελετήθηκε στο μέλι βαμβακιού, αλλά και σε άλλα μέλια διαφορετικής βοτανικής προέλευσης, το περιεχόμενο σε 5υδροξυμεθυλοφουρφουράλη, σε φαινολικές ενώσεις και ο δείκτης διαστάσης σε διαφορετικές συνθήκες αποθήκευσης, ως δείκτες ποιότητας. Στην Εικόνα 5 παρουσιάζονται οι παράμετροι ποιότητας συναρτήσει του χρόνου (σε μήνες). Διαπιστώνεται ότι στον ένα χρόνο αποθήκευσης, η συγκέντρωση HMF είναι υψηλότερη. Αυτό είναι αναμενόμενο, διότι όσο αυξάνεται ο χρόνος αποθήκευσης, τόσο αυξάνεται η συγκέντρωση της 5-υδροξυμεθυλοφουρφουράλης (Passias et al., 2022).

Η ευπεπτότητα του μελιού οφείλεται στη παρουσία του ενζύμου διαστάση (Korkmaz & Küplülü, 2017). Από την Εικόνα 5, παρατηρείται ότι όσο αυξάνεται ο χρόνος μειώνεται η ενζυμική δράση της διαστάσης, αυτό συμβαίνει διότι ο χρόνος

αποθήκευσης και η θερμική επεξεργασία επιδρούν στη δράση του ενζύμου (Passias et al., 2022).

Για την πρόβλεψη του ακριβή χρόνου κρυστάλλωσης, υπολογίστηκε η αναλογία γλυκόζης/νερό και φρουκτόζης/γλυκόζης. Γενικά, τα μέλια με υψηλή αναλογία γλυκόζης/νερό και χαμηλή αναλογία φρουκτόζης/γλυκόζης κρυσταλλώνονται γρήγορα (περίπου δύο μήνες). Η κρυστάλλωση του βαμβακόμελου έγινε μετά τους τρεις μήνες (Pasias et al., 2022).



Εικόνα 5 : Επίδραση του χρόνου αποθήκευσης στις παραμέτρους ποιότητας του μελιού (Pasias et al., 2022).

2.1.3. Πτητικές ενώσεις στο μέλι βαμβακιού

Η γεωγραφική και η βοτανική προέλευση των μελιών σχετίζεται με το είδος και το πλήθος των πτητικών ενώσεων που περιέχονται σε αυτά (Piansezotto et al., 2003; Karabagias et al., 2014). Η οργανοληπτική αποδοχή των μελιών από τους καταναλωτές στηρίζεται στις δύο προαναφερθείσες παραμέτρους (Baroni et al., 2006). Στο μέλι βαμβακιού έχουν εντοπιστεί η εννεανάλη, ο αιθυλεστέρας του εννεανοΐκού οξέος και η δεκανάλη (Karabagias et al., 2018). Ωστόσο, στη μελέτη των Alissandrakis et al. (2005) ανιχνεύτηκαν το παλμιτικό οξύ, το ολεϊκό οξύ, το φαινυλαιθανικό οξύ, η φαινυλοαιθυλική αλκοόλη, σημειώνοντας ότι η βενζυλοπροπανόλη και η (Ε)-κινναμωμαλδεΰδη μπορούν να αναφερθούν ως βοτανικοί δείκτες για το συγκεκριμένο είδος μελιού (Alissandrakis et al., 2013) ανιχνεύτηκε η εννεανάλη, η βενζυλακεταλδεϋδη, το εννεανοϊκό οξύ, το οκτανοϊκό οξύ και το 2-αιθυλο-εξανοϊκό οξύ. Η παρουσία της 2-

φουρανομεθανόλης, της 2-μέθυλοδεκανόλης και του εικοσανίου έχουν αναφερθεί ως δυνητικοί βοτανικοί δείκτες του βαμβακόμελου (Odeh et al., 2013).

2.1.4. Φαινολικά συστατικά στο μέλι βαμβακιού

Οι ενώσεις που έχουν βρεθεί το μέλι βαμβακιού αναφέρονται ως φαινυλοπροπανοεϊδή και είναι βιοσυνθετικά παράγωγα του κινναμωμικού οξέος, που σχηματίζονται μέσω απαμίνωσης της φαινυλαλανίνης (Alissandrakis et al., 2005). Ορισμένες από τις ενώσεις αυτές μπορούν να χρησιμεύσουν ως μέσο για την ταυτοποίηση της βοτανικής του προέλευσης (Alissandrakis et al., 2005). Στη συγκεκριμένη μελέτη, 10 από αυτές τις ενώσεις ανιχνεύτηκαν μόνο σε μέλια βαμβακιού και όχι σε άλλα διαφορετικής βοτανικής προέλευσης. Κάποιες από αυτές είναι η βενζυλοπροπανόλη, το (Ε)- και (Ζ)-π-μεθοξυ-κινναμωμικό οξύ, το πκουμαρικό οξύ και το φερουλικό οξύ.

Η συγκέντρωση τις κινναμυλικής αλκοόλης και της κινναμωμαλδεΰδης σε μέλι βαμβακιού βρέθηκε έως και πέντε φορές μεγαλύτερη σε σύγκριση με μέλι καστανιάς, ενώ η συγκέντρωση του κινναμωμικού οξέος ήταν πάνω από τέσσερις φορές μεγαλύτερη από αυτή σε μέλια πορτοκαλιάς και καστανιάς (Alissandrakis et al., 2005). Αυτές οι τρεις ενώσεις, θα μπορούσαν να χρησιμοποιηθούν ως βοτανικοί δείκτες για το ελληνικό μέλι βαμβακιού (Alissandrakis et al., 2005). Σε δείγματα βαμβακόμελου από τη Τουρκία ανιχνεύτηκαν σε μεγάλη συγκέντρωση το 4-υδροξυβενζοϊκό οξύ, το γεντισικό οξύ, το καφεϊκό οξύ, το φερουλικό οξύ και το συρριγγικό οξύ κ.ά (Kıvrak et al., 2016).

3. ΜΕΛΙ ΚΟΥΜΑΡΙΑΣ

3.1.1. Γενικά

Η κουμαριά (*Arbutus unedo* L.) είναι μέλος της οικογένειας Ericaceae και αποτελεί αειθαλή θάμνο. Έχει ύψος 9-12 m, αλλά συνήθως συναντάται μεταξύ 1,5 m και 3 m (Celikel et al., 2008). Στην Ευρώπη, αυτό το είδος φύεται στην Πορτογαλία, την Ισπανία, τη Γαλλία, την Ιταλία, την Αλβανία, την Ελλάδα, τη Βοσνία-Ερζεγοβίνη, την Κροατία, τη Βόρεια Μακεδονία, το Μαυροβούνιο, τη Σερβία και τη Σλοβενία. Επίσης, εξαπλώνεται στη δυτική, κεντρική και νότια Ευρώπη, τη βορειοανατολική Αφρική (εκτός από την Αίγυπτο και τη Λιβύη) και τα Κανάρια Νησιά και τη δυτική Ασία, όπου ο παγετός δεν είναι πολύ συνηθισμένος και η καλοκαιρινή ξηρασία δεν είναι πολύ έντονη. (Torres et al., 2002).



Εικόνα 6: Κουμαριά (Arbutus unedo L.).

3.1.2. Φυσικοχημικά χαρακτηριστικά μελιού κουμαριάς

Το μέλι κουμαριάς ανήκει στη κατηγορία μελιού ανθέων και παράγεται από το φυτό *Arbutus unedo* L. (Ericaceae). Το άρωμά του είναι ξεχωριστό και ομοιάζει με το άρωμα του καφέ. Το συγκεκριμένο μέλι είναι γνωστό για το κεχριμπαρένιο χρώμα και την υψηλή ρευστότητά του, ενώ παρατηρείται αλλαγή στο χρώμα του όταν κρυσταλλωθεί σε μπεζ-καφέ (Deiana et al., 2015). Είναι γνωστό για την υψηλή του διατροφική αξία και για τις αντιμικροβιακές, αντιοξειδωτικές του ιδιότητες (Rosa et al., 2011).

Για να χαρακτηριστεί ένα μέλι ως μέλι κουμαριάς θα πρέπει η τιμή της HMF να είναι μικρότερη από 15 mg/kg και του ενζύμου διαστάση μεγαλύτερη από 8 DN. Επίσης, δεν περιέχει μεγάλη συγκέντρωση ενζύμων, διότι τα επίπεδα δράσης του ενζύμου διαστάση είναι χαμηλά.

Το μέλι κουμαριάς εμφανίζει υψηλό ποσοστό υγρασίας και σε κάποιες περιπτώσεις ξεπερνά το 20% που είναι η νομοθετημένη τιμή υγρασίας (www.melissokomikiepitheorisi.gr/meli-koumarias-022015/).

Λόγω της υψηλής του συγκέντρωσης σε γλυκόζη, το μέλι κουμαριάς κρυσταλλώνεται σχετικά εύκολα. (Soro et al., 1999). Στον Πίνακα 5 παρουσιάζονται κάποια φυσικοχημικά χαρακτηριστικά μελιού κουμαριάς.

Παράμετροι	Μέλι κουμαριάς	Παρατηρήσεις
Ελεύθερη οξύτητα (meq/kg)	30-36	Σχετικά όξινο
Γλυκονικό οξύ (g/kg)	10	Υψηλή
Αναλογία Γλυκόζης/ Φρουκτόζης	0,82-0,87	Υψηλό, τείνει τις κρυστάλλωση
Χρώμα (ισοδύναμα Pfund)	83-118	Κεχρυμπαρένιο
Υγρασία (%w/w)	18-20	Σχετικά υψηλή
HMF (ppm)	≤15	-
Ένζυμο διαστάση (κλίμακα Schade)	6-9	Σχετικά χαμηλή

Πίνακας 5: Φυσικοχημικά χαρακτηριστικά μελιού κουμαριάς (Soro and Paxton 1999).

3.1.3. Πτητικές ενώσεις στο μέλι κουμαριάς

Με βάση τη μελέτη των Bianchi et al. (2005) ανιχνεύτηκαν 28 πτητικές ενώσεις σε δείγματα μελιών κουμαριάς από τη Σαρδηνία, με κύριες ενώσεις τα νορισοπρενοεϊδή όπως: η 4-οξοϊζοφορόνη, η α-ιζοφορόνη και η β-ιζοφορόνη με τις ενώσεις αυτές να μπορούν να θεωρηθούν βοτανικοί δείκτες του μελιού αυτού. Επιπλέον, ανιχνεύτηκαν η εννεανάλη, η 1-βουτανόλη, η βενζαλδεΰδη, η 2,4,4-τριμεθυλοκυκλοπεντανόνη κ.ά. (Bianchi et al., 2005). Βάσει της μελέτης των Graikou et al. (2021), ταυτοποιήθηκαν παράγωγα του βενζολίου (διμέθυλο-, τριμέθυλο-, τετραμέθυλο-), η β-ιζοφορόνη, η αιζοφορόνη, η διϋδροοξοϊζοφορόνη, η 4-οξοϊζοφορόνη, και η 2-υδροξυ-4οξοϊζοφορόνη. Σύμφωνα με τους Karabagias et al. (2018) σε μέλια κουμαριάς βρέθηκε υψηλή συγκέντρωση σε νορισοπρενοϊδή σε σύγκριση με άλλα πτητικά συστατικά που ταυτοποιήθηκαν. Αξίζει να σημειωθεί, ότι ταυτοποιήθηκε για πρώτη φορά ο πτητικός μεταβολίτης που συμβάλλει στο άρωμα του μελιού αυτού και είναι η 3,4,6,6-τετραμεθυλοδικυκλο[3.2.1.]οκτ-3-εν-2,8-διόνη.

3.1.4. Φαινολικά συστατικά μελιού κουμαριάς

Σήμα κατατεθέν για το μέλι κουμαριάς αποτελεί από τα φαινολικά οξέα το ομογενιστικό οξύ (Osés et al., 2020). Το μέλι κουμαριάς εμφανίζει πληθώρα φαινολικών συστατικών σε σύγκριση με άλλα μέλια διαφορετικής βοτανικής προέλευσης σύμφωνα με τη μελέτη των Pettreto et al. (2014).

Στον Πίνακα 6 παρουσιάζονται τα φαινολικά συστατικά που υπάρχουν στο μέλι κουμαριάς (σε mg/100 g μελιού κουμαριάς ± τυπική απόκλιση).

Πίνακας 6: Ποιοτικός και ποσοτικός προσδιορισμός του φαινολικού κλάσματος μελιών κουμαριάς εκφρασμένο σε mg/100 g μελιού κουμαριάς ± τυπική απόκλιση (Petretto et al., 2014).

Φαινολικά συστατικά	mg/100 g μελιού κουμαριάς ± τυπική
	απόκλιση
Απιγενίνη	$0,05 \pm 0,03$
Ρουτίνη	0,25 ± 0,11
Συρριγγικό οξύ	0,04 ± 0,02
Κατεχίνη	-
Χλωρογενικό οξύ	-
π-υδροξυκινναμωμικό οξύ	-
Φερουλικό οξύ	-
Λουτεονίνη	0,96 ± 0,12
trans-κινναμωμικό οξύ	0,02±0,01
Κερκετίνη	-
Πινομπαξίνη	$0,12 \pm 0,01$
Καμφερόλη	1,06 ± 0,23
Γαλαγκίνη	$0,14 \pm 0,02$
Πινοσεμπρίνη	0,6 ± 0,27



Εικόνα 7: Χημικές δομές των δεικτών βοτανικής προέλευσης του μελιού κουμαριάς (Miguel et al., 2014).

ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

4.1. Σκοπός και αντικείμενο μελέτης

Ο σκοπός της παρούσας μεταπτυχιακής μελέτης είναι η φασματοσκοπική μελέτη (FT-IR, φθορισμομετρία) δειγμάτων μελιού κουμαριάς (*Arbutus unedo* L.) και βαμβακιού (*Gossypium hirsutum* L.), με στόχο το γρήγορο προσδιορισμό των λειτουργικών ομάδων των συστατικών τους. Επιπλέον, μελετήθηκε το πτητικό κλάσμα και τα εκχυλίσματα των μελιών αυτών με ακετονιτρίλιο, χρησιμοποιώντας τις χρωματογράφικες τεχνικές SPME/GC-MS και LC-QTOF-MS αντίστοιχα.

Η πρωτοτυπία της μεταπτυχιακής εργασίας αυτής, έγκειται στο γεγονός ότι δεν έχει γίνει επαρκής μελέτη των δύο αυτών ποικιλιών μελιού και στην ενίσχυση της υπάρχουσας βιβλιογραφίας.

4.2. Δείγματα

Μελετήθηκαν συνολικά 40 δείγματα ελληνικών μονοποικιλιακών μελιών, τα 27 από αυτά ήταν της ποικιλίας *Gossypium hirsutum* L. και τα υπόλοιπά 13 της ποικιλίας *Arbutus unedo* L.. Τα μέλια παραδόθηκαν στο εργαστήριο και αποθηκεύτηκαν στο σκοτάδι στου 25 °C έως ότου αναλυθούν.

4.2.1. Πειραματική μέθοδος

- Καταγράφηκαν φάσματα υπερύθρου με μετασχηματισμό Fourier (Fourier Transform- Infrared, FT-IR).
- Χρησιμοποιήθηκε η τεχνική της φθορισμομετρίας για τον προσδιορισμό φθορίζουσων χημικών ενώσεων.
- Παρελήφθησαν και μελετήθηκαν τα πτητικά συστατικά χρησιμοποιώντας την τεχνική της μικροεκχύλισης στερεάς φάσης (Solid-Phase Microextraction, SPME) και αέριο χρωματογράφο συζευγμένο με φασματόμετρο μαζών (Gas Chromatography-Mass Spectrometry, GC-MS).
- Χρησιμοποιήθηκε η τεχνική της εκχύλισης στερεής φάσης (Solid-Phase Extraction, SPE) φαινολικών συστατικών με ακετονιτρίλιο, συνδυάζοντας με υγρή χρωματογραφία συζευγμένη με ανιχνευτές QTOF και MS (Liquid Chromatography-Quadrupole time-of- flight-Mass Spectrometry, LC-QTOF-MS).

4.3. Φασματοσκοπική μελέτη μελιών βαμβακιού και κουμαριάς χρησιμοποιώντας τη τεχνική FT-IR

4.3.1. Όργανα-Αντιδραστήρια

Ακετόνη

- Απιονισμένο νερό
- Διαμαντένιο πρίσμα

4.3.2. Πειραματική πορεία

Τα φάσματα καταγράφηκαν με την τεχνική της εξασθενημένης ολικής ανάκλασης (Attenuated Total Reflection, ATR) με το φασματοφωτόμετρο IROS-05 FTIR και ανιχνευτή MCT (Mercury-Cadmium-Telluride), με χρήση διαμαντένιου πρίσματος. Η ταχύτητα του κινούμενου κατόπτρου του συμβολόμετρου ήταν 0,316388 mm/s, η διαχωριστική ικανότητα ήταν 4 cm⁻¹ με 32 σαρώσεις.

Φάσμα φόντου συλλέχθηκε χρησιμοποιώντας μόνο τον κρύσταλλο ATR, πριν από την καταγραφή του φάσματος κάθε δείγματος. Κάθε φάσμα FTIR για κάθε δείγμα καταγράφηκε τρεις φορές, χρησιμοποιώντας διαφορετικό υπόδειγμα κάθε φορά. Τα φάσματα ATR εξομαλύνθηκαν και οι γραμμές βάσης τους διορθώθηκαν. Τέλος, υπολογίστηκε ο μέσος όρος των τριών φασμάτων για κάθε δείγμα και πραγματοποιήθηκε κανονικοποίηση κάθε μέσου όρου των φασμάτων (μέγιστη τιμή απορρόφησης= 1).

4.3.3. Αποτελέσματα και συζήτηση

Σήμερα, έχει παρατηρηθεί η τάση για την ταξινόμηση των μελιών βάσει της βοτανικής τους προέλευσης, χρησιμοποιώντας τεχνικές οπτικής φασματοσκοπίας σε συνδυασμό με πολυπαραγοντική στατιστική ανάλυση, διότι είναι πιο εύχρηστες και πιο προσιτές οικονομικά τεχνικές (Orfanakis et al., 2021). Ο συνδυασμός της φασματοσκοπίας FT-IR με χημειομετρικές μεθόδους έχει μελετηθεί ως τεχνική για το προσδιορισμό της γνησιότητας, της γεωγραφικής και της βοτανικής προέλευσης του μελιού (Ruoff et al., 2006; Gok et al., 2015; Svečnjak et al., 2015).

Παρακάτω παρουσιάζεται από ένα χαρακτηριστικό φάσμα FT-IR μελιού βαμβακιού και κουμαριάς (Εικόνα 8). Τα φάσματα βαμβακιού που καταγράφηκαν εμφάνιζαν παρόμοια υφή μεταξύ τους. Οι όποιες διαφορές παρατηρήθηκαν αφορούν στην ένταση και το εύρος των κορυφών, το ίδιο ισχύει και για τα φάσματα κουμαριάς.

4.3.4. Φάσματα FT-IR μελιών βαμβακιού και κουμαριάς

Αναλυτικότερα, η κορυφή στα 3283 cm⁻¹ αποδίδεται στη δόνηση τάσης των δεσμών O-H του δείγματος που υπάρχουν στα φαινολικά, στο νερό και στα σάκχαρα. Στο ίδιο είδος δεσμών αντιστοιχεί και η κορυφή στα 1641 cm⁻¹ λόγω της παραμόρφωσης του O-H του νερού (Anjos et al., 2015). Η κορυφή στα 2932 cm⁻¹ αντιστοιχεί στη τάση δόνησης του δεσμού N-H των ελεύθερων αμινοξέων, και στη δόνηση τάσης των δεσμών C-H των καρβοξυλικών οξέων (Anjos et al., 2015). Οι κορυφές στη περιοχή 1700-1600 cm⁻¹ έχουν αποδοθεί στις δονήσεις τάσης του C=O, στις δονήσεις τάσης/ κάμψης των δεσμών O-H του νερού, και λόγω δονήσεων κάμψης των δεσμών N-H (Cai et al., 2004; Stuart, 1997).

Στη περιοχή 1500-750 cm⁻¹ μπορούν να ποσοτικοποιηθούν τα οργανικά οξέα και τα σάκχαρα των μελιών και αποτελεί την περιοχή των δακτυλικών αποτυπωμάτων (η πιο ευαίσθητη περιοχή απορρόφησης) των κύριων συστατικών του μελιού (Anjos et al., 2015). Η κορυφή στα 1413 cm⁻¹ αντιστοιχεί στην ασύμμετρη δόνηση τάσης των δεσμών C-H των αλκενίων, στη δόνηση τάσης των δεσμών -CH₂- και στη συμμετρική δόνηση τάσης των δεσμών C-O-H της γλυκόζης, (Anjos et al., 2015; Svečnjak et al., 2017). Η κορυφή στα 1343 cm⁻¹ αντιστοιχεί στη δόνηση κάμψης του δεσμού C-O-H της φρουκτόζης (Svečnjak et al., 2017). Η κορυφή στα 1252 cm⁻¹ οφείλεται στη δόνηση τάσης C-C του σκελετού των σακχάρων και στη δόνηση κάμψης εκτός επιπέδου του δεσμού -C-H₂- της γλυκόζης και της φρουκτόζης (Svečnjak et al., 2017).

Η κορυφή στα 1145 cm⁻¹ οφείλεται στη σακχαρόζη (Pauliuc et al., 2021). Η χαρακτηριστική κορυφή στα 1026 cm⁻¹ αποδίδεται στη δόνηση τάσης των δεσμών C-C και C-O που υπάρχουν στα σάκχαρα και στη δόνηση του δακτυλίου των σακχάρων (Anjos et al., 2015). Η κορυφή στα 917 cm⁻¹ οφείλεται στη συμμετρική δόνηση κάμψης του δεσμού C-H των σακχάρων (Anjos et al., 2015). Η κορυφή στα 864 cm⁻¹ αποδόθηκε στη δόνηση τάσης των δεσμών C-C, λόγω της φρουκτόζης (Svečnjak et al., 2017). Η κορυφή στα 816 cm⁻¹ αποδόθηκε στη δόνηση τάσης του δεσμού C-C της φρουκτόζης (Svečnjak et al., 2017). Η κορυφή στα 774 cm⁻¹ οφείλεται στη παραμόρφωση του δακτυλίου της φρουκτόζης (Pauliuc et al., 2021).

Κυματάριθμος cm ⁻¹	Λειτουργική ομάδα	Απόδοση	Τρόπος δόνησης	
~3283	O-H	Φαινολικά, νερό,	Τάση	
5205	0-11	σάκχαρα	Tuon	
~2932	C-N C-H	Αμινοξέα,	Tágn	
-2752	0-14, 0-11	καρβοξυλικά οξέα	1401	
~1641	О-Н	Νερό	Παραμόρφωση	
~1413	С-О-Н	Γλυκόζη	Συμμετρική τάση	
~1413	С-Н -С-Н	Δλκένμα	Ασύμμετρη τάση,	
1415	0-11, -0-112	A MACVIU	Τάση	
~1343	С-О-Н	Φρουκτόζη	Κάμψη	
~1252	C-C	Σάκχαρα	Τάση	
~1252	-C-H ₂ .	Γλυκόζη, Φρουκτόζη	Κάμψη εκτός επιπέδου	
~1145	C-0	Σακχαρόζη	Τάση	
		Σάκχαρα (κυρίως		
~1026	CCCO	φρουκτόζη), δόνηση	Tám	
1020	0,00	δακτυλίου των	Tuon	
		σακχάρων		
~917	С-Н	Σάκχαρα (κυρίως	Συμμετοική κάμυσ	
,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,	C II	γλυκόζη)	Δομμοτρική καμφη	
~864	C-C	Φρουκτόζη	Τάση	
~816	С-С-Н	Φρουκτόζη	Τάση	
~774	С-С-Н	Δακτύλιο της	Παραμόρφοση	
F () F		φρουκτόζης	παραμορφωση	

Πίνακας 7: Κορυφές του φάσματος FT-IR μελιού βαμβακιού.



Εικόνα 8: Φάσμα FT-IR μελιού από βαμβάκι (αριστερά) και φάσμα FT-IR μελιού κουμαριάς (δεξιά).

Η φασματοσκοπία FTIR αποτελεί μία οικονομικά προσιτή τεχνική και εύχρηστη (Kerdzierska-Matysek et al., 2018; Sivakesava & Irudayaraj, 2001). Σε αρκετές ερευνητικές εργασίες που αφορούν διάφορα προϊόντα κυψέλης (Cebi et al., 2020) ή μέλια διαφορετικής βοτανικής προέλευσης (Anjos et al., 2015; Gok et al., 2015; Lichtenberg-Kraag et al., 2002; Tewari & Irudayaraj, 2005), έχουν προσδιοριστεί τα σάκχαρα τους. Η κατηγοριοποίηση δειγμάτων διαφορετικής σύνθεσης είναι εφικτή στη περιοχή της μεσο-υπέρυθρης ακτινοβολίας που βρίσκεται μεταξύ 4000 και 450 cm⁻¹, η οποία είναι ευαίσθητη στη φυσική και χημική κατάσταση του δείγματος, δίνοντας πληροφορίες για τις μοριακές δονήσεις (Anjos et al., 2015).

Η συγκέντρωση των καρβοξυλικών οξέων στα μέλια, αποτελεί αιτία για τις διαφορές που εντοπίζονται στα φάσματα FTIR. Η βοτανική προέλευση του μελιού, η περίοδος συλλογής του μελιού και η διατροφή των μελισσών είναι κάποιοι λόγοι για τις διαφορές αυτές (Kędzierska-Matysek et al., 2021). Τα παραπάνω ευρήματα επιβεβαιώνονται και στη παρούσα εργασία.

4.4. Φασματοσκοπική μελέτη μελιών κουμαριάς και βαμβακιού με φασματοσκοπία φθορισμού

4.4.1. Όργανα-Αντιδραστήρια

Υδατόλουτρο

- Κυψελίδες χαλαζία
- Φθορισμόμετρο FluoroMate FS-2 χρησιμοποιήθηκε για τη λήψη φασμάτων φθορισμού διέγερσης-εκπομπής, συνδεδεμένο με Η/Υ.

4.4.2. Πειραματική πορεία

Δείγματα μελιού αφού ομογενοποιήθηκαν σε υδατόλουτρο στους 50 °C για 30 min και τοποθετήθηκαν σε κυψελίδα χαλαζία. Λήφθηκαν τρισδιάστατα φάσματα διέγερσης εκπομπής (3D-EEMs) δύο φορές για κάθε δείγμα με το φασματόμετρο FluoroMate FS-2 (CE Mark. Scinco Nieuwegein, NLD). Το μήκος κύματος εκπομπής (λem) ρυθμίστηκε από 270 έως 740 nm σε διαστήματα 5 nm και το μήκος κύματος διέγερσης (λex) ρυθμίστηκε από 240 έως 500 nm σε διαστήματα 5 nm. Τα φάσματα φθορισμού επεξεργάστηκαν με το λογισμικό FluoroMasterPlus που συνοδεύει το όργανο (CE Mark. Scinco, Nieuwegein, Ολλανδία) (Xagoraris et al., 2021).

4.4.3. Αποτελέσματα και συζήτηση

Η φασματοσκοπία φθορισμού αποτελεί μία εύχρηστη τεχνική (μικρή προετοιμασία δείγματος, απλός εξοπλισμός, προσωπικό με όχι ιδιαίτερη εξειδίκευση), χρησιμοποιείται για την ανίχνευση νοθείας σε μέλια και για τη διαφοροποίηση μελιών βάσει της βοτανικής ή της γεωγραφικής τους προέλευσης (Dramićanin et al., 2018).

Τα φάσματα φθορισμού διέγερσης-εκπομπής (Emission-Excitation Matrix, EEM) εμφανίζονται οι σκεδάσεις Rayleigh και Raman, δημιουργώντας σύνθετες φασματικές περιοχές. Τα φάσματα αυτά, λαμβάνονται για ποικιλία εγγενών φθορίζουσων ενώσεων, όπως τα προϊόντα αντίδρασης Maillard, τα αρωματικά αμινοξέα, τις φλαβίνες και τις φαινολικές ενώσεις. Ωστόσο, τα φαινυλοκαρβοξυλικά οξέα του μελιού, τα οποία διαφέρουν ανάλογα τη βοτανική του προέλευση, δεν συμπίπτουν με τη σκέδαση (Ramanauskiene et al., 2012; Sergiel et al., 2014; Cheung et al., 2019).

Στα φάσματα ΕΕΜ μελιού, οι διάφορες ενώσεις που φθορίζουν παρουσιάζουν διαφορετικά μήκη κύματος διέγερσης λex (Εικόνα 9) ως εξής: Αρωματικά αμινοξέα, συμπεριλαμβανομένων των υπολειμμάτων φαινυλαλανίνης, τρυπτοφάνης και τυροσίνης (λex = 240–280 nm) (Ali et al., 2020; Lenhardt et al., 2015; Kivima et al., 2014), φαινολικές ενώσεις (λex = 280–330 nm και λex = 310–380 nm) (Ali et al., 2020; Ruoff et al., 2006; Dramićanin et al., 2018; Parri et al., 2020), ενώσεις της αντίδρασης Maillard όπως η υδροξυμεθυλοφουρφουράλη (λex = 380–440 nm) (Lenhardt et al. 2014; Dramićanin et al., 2018) και φλαβίνες (λex = 440–500 nm) (Parri et al., 2020; Lenhardt et al., 2015; Ghosh et al., 2005).



Εικόνα 9: Εντάσεις των συστατικών που φθορίζουν στο μέλι σε 3D-EEM φάσμα με λex= 240-400 και λem= 250-750 (Xagoraris et al., 2021).

Φάσματα εκπομπής λήφθηκαν σε διαφορετικά μήκη κύματος διέγερσης, δημιουργώντας ένα τρισδιάστατο γράφημα εκπομπών-διέγερσης (3D-Emission-Excitation Matrix, 3D-EEM), το οποίο αποτελεί το δακτυλικό αποτύπωμα του κάθε δείγματος. Τα δύο είδη μελιών που μελετήθηκαν περιέχουν φθορίζουσες ενώσεις, οπότε λήφθηκαν φάσματα σε παραπάνω από ένα μήκος κύματος.

Η συγκέντρωση και το είδος των φθοριζουσών ουσιών διέφεραν στα δύο μέλια, με αποτέλεσμα να μην υπάρχει εξολοκλήρου ομοιότητα στις διεγέρσεις και στις εκπομπές τους, στα φάσματα 3D-EEM και των δύο μελιών. Άλλα χαρακτηριστικά στα οποία πιθανώς οφείλονται αυτές οι διαφορές είναι το pH, το ιξώδες κ.ά.

Στην Εικόνα 10 φαίνεται ένα χαρακτηριστικό 3D-EEM φάσμα κουμαριάς έχουμε μία υψηλή κορυφή διέγερσης λex=450-490 nm και λem= 580-650 nm. Αρκεί ένα φάσμα 3D-EEM μελιού κουμαριάς, καθώς όλα τα φάσματα ήταν μεταξύ τους όμοια όπως και στα μέλια βαμβακιού. Στην Εικόνα 11 φαίνεται χαρακτηριστικό 3D-EEM φάσμα βαμβακιού με λex=430-487 nm και λem= 550-600 nm.





Εικόνα 11: Φάσμα 3D-ΕΕΜ μελιού βαμβακιού.

Με την φασματοσκοπία φθορισμού έχει αποδειχθεί ότι είναι δυνατή η ανίχνευση χαμηλού ποσοστού νοθείας σε μέλια βάσει στατιστικών μεθόδων (Dramićanin et al., 2018). Συγκεκριμένα, στη μελέτη των Dramićanin et al. (2018) τα φάσματα ΕΕΜ σε δείγματα νοθευμένων μελιών και μελιών διαφορετικής βοτανικής προέλευσης αποδείχθηκε με τη βοήθεια της δοκιμής t-test ότι υπάρχουν σημαντικές διαφορές μεταξύ των μη-νοθευμένων και των νοθευμένων δειγμάτων μελιού στις εξής φασματικές περιοχές: (1) διέγερση: 240–265 nm, εκπομπή: 370–495 nm. (2) διέγερση: 280–320 nm, εκπομπή: 390–470 nm, (3) διέγερση: 260–28 nm, εκπομπή: 320–370 nm, (4) διέγερση: 310–360 nm, εκπομπή: 370–470 nm και (5) διέγερση: 375–435 nm, εκπομπή: 440–520 nm, στην οποία το μεγαλύτερο μέρος του φθορισμού προέρχεται από τα προϊόντα αντίδρασης Maillard, τις φαινολικές ενώσεις και τα αρωματικά αμινοξέα.

4.5. Παραλαβή πτητικών συστατικών μελιών κουμαριάς και βαμβακιού με SPME και ανάλυση με τη τεχνική GC-MS

4.5.1. Όργανα-Αντιδραστήρια

- Αναλυτικός ζυγός ακριβείας
- Φιαλίδια falcon 50 mL
- Αυτόματη πιπέτα των 1000 μL και των 50 μL
- Σιφώνια των 10 mL
- Βενζοφαινόνη (300 μg/mL)
- Φιαλίδια (vial) των 15 mL
- ✤ Ίνα SPME

4.5.2. Πειραματική πορεία

Χρησιμοποιήθηκε η τεχνική SPME και συγκεκριμένα ίνα τριπλής φάσης (DVB/CAR/PDMS) (divinylbenzene/carboxen/polydimethylsiloxane) 50/30 μm (Supelco, Bellefonte, PA, ΗΠΑ) με μήκος 1 cm για την απομόνωση των πτητικών ενώσεων από τα δείγματα των μελιών και ακολούθησε προθέρμανση της ίνας στους 270 °C. Έπειτα, διαλύθηκαν 7 g μελιού σε 3,1 mL απεσταγμένου νερού και 6 mL του διαλύματος αυτού, μεταγγίστηκαν σε βιδωτά φιαλίδια των 15 mL με PTFE/διαφράγματα σιλικόνης και προστέθηκαν 20μL βενζοφαινόνης (300 μg/mL σε μεθανόλη) (Alfa Aesar, Kandel, Γερμανία). Η εκχύλιση πραγματοποιήθηκε σε λουτρό νερού στους 60 °C υπό ανάδευση και τα δείγματα μελιού εξισορροπήθηκαν για 30 min. Στη συνέχεια, η βελόνα της ίνας SPME εισήχθη μέσα το φιαλίδιο και αφέθηκε στον υπερκείμενο χώρο του δείγματος για 30 min (Alissandrakis et al., 2007).



Εικόνα 12: Εκχύλιση με την τεχνική SPME.

Χρησιμοποιήθηκε αέριος χρωματογράφος Trace Ultra (GC) (Thermo Scientific Inc., Waltham, MA, ΗΠΑ), συζευγμένος με φασματόμετρο μαζών (MS) (DSQII, Thermo Scientific Inc., Waltham, MA, ΗΠΑ). Οι συνθήκες εκρόφησης ήταν ως εξής: Θερμοκρασία εισόδου GC 260 °C σε λειτουργία μη διαμοιρασμού για 3 min, με 0,8 mm εγχυτήρα (SGE International Pty Ltd., Ringwood, Αυστραλία).

Χρησιμοποιήθηκε στήλη Restek Rtx-5MS (30 m × 0,25 mm i.d., 0,25 μm πάχος φιλμ) και το φέρον αέριο ήταν He καθαρότητας 99,999%, με ρυθμό ροής 1 mL/min. Ο φούρνος ρυθμίστηκε στους 40 °C για 6 min, στη συνέχεια αυξήθηκε στους 120 °C με ρυθμό 5 °C/min, ακολούθησε μία αύξηση κατά 3 °C/min έως 160 °C και έως 250 °C με ρυθμό 15 °C/min. Τέλος, η θερμοκρασία στους 250 °C διατηρήθηκε σταθερή για 1 min (Alissandrakis et al., 2007). Οι θερμοκρασίες της γραμμής μεταφοράς και του εγχυτήρα διατηρήθηκαν στους 290 και 220 °C, αντίστοιχα. Τα φάσματα μάζας καταγράφηκαν σε εύρος μάζας (m/z) 35–650. Η ταυτοποίηση των ενώσεων πραγματοποιήθηκε με τη βιβλιοθήκη φασμάτων μάζας Wiley 275. Οι συγκεντρώσεις

των πτητικών ενώσεων υπολογίστηκαν με τη χρήση του εσωτερικού προτύπου (βενζοφαινόνη) και εκφράστηκαν ως μg/g μελιού (Xagoraris et al., 2021).



Εικόνα 13: Σύστημα GC/MS.

4.5.3 Αποτελέσματα και συζήτηση

Πτητικά συστατικά μελιού βαμβακιού

Στον Πίνακα 8 παρουσιάζονται τα πτητικά συστατικά του μελιού από βαμβάκι που ανιχνεύτηκαν με τη τεχνική SPME/GC-MS. Τα δείγματα μελιών βαμβακιού μελετήθηκαν εις τριπλούν, και μεταξύ των δειγμάτων δεν παρατηρήθηκαν διαφορές ως προς το πτητικό τους περιεχόμενο. Με τη τεχνική SPME/GC-MS ταυτοποιήθηκαν 50 διαφορετικές χημικές ενώσεις.

Πραγματοποιήθηκε ημιποσοτικοποίηση των ενώσεων αυτών χρησιμοποιώντας ως εσωτερικό πρότυπο τη βενζοφαινόνη. Παρατηρώντας τον Πίνακα 8, οι τρεις ενώσεις με τη μεγαλύτερη συγκέντρωση ήταν η 2-φαινυλαιθανόλη (0,535 μg/g), η φουρφουράλη (0,444 μg/g) και η βενζαλδεΰδη (0,396 μg/g).

Στη μελέτη των Tananaki et al. (2021) σε μεγαλύτερη συγκέντρωση ανιχνεύτηκαν το τολουόλιο, το οκτάνιο, η φουρφουράλη και η βενζαλδεΰδη, οι δύο τελευταίες ενώσεις βρέθηκαν σε μεγάλη συγκέντρωση και στη παρούσα μελέτη.

Ωστόσο, η 2-φουρανομεθανόλη βρέθηκε σε μεγαλύτερη συγκέντρωση σε δείγματα μελιών βαμβακιού, σημειώνοντας ότι η παρουσία της συγκεκριμένης ένωσης μαζί με τη 2-μεθυλο-1-δεκανόλη και το εικοσάνιο, θα μπορούσαν να είναι ενδεχόμενοι δείκτες της βοτανικής προέλευσης του μελιού αυτού, καθώς δεν ανιχνεύτηκαν σε άλλα μέλια (Odeh et al., 2013). Στη μελέτη των Alissandrakis et al. (2005)

ανιχνεύτηκαν το κινναμωμικό οξύ, η κινναμωμαλδεΰδη, η κινναμυλική αλκοόλη, το (Ε)- και (Ζ)-π-μεθοξυ-κινναμωμικό οξύ, η βενζολοπροπανόλη, το π-κουμαρικό οξύ, το φερουλικό οξύ. Οι ενώσεις αυτές προτάθηκαν ως πιθανοί δείκτες της βοτανικής προέλευσης του μελιού αυτού. Σε χώρες όπως η Τουρκία και η Παλαιστίνη που πραγματοποιήθηκαν μελέτες σε μέλια βαμβακιού αναφέρθηκαν οι ενώσεις όπως η εννεανάλη και η βενζακεταλδεΰδη (Odeh et al., 2013; Senyuva et al., 2009).

Στη παρούσα μελέτη εκτός των ενώσεων που αναφέρθηκαν παραπάνω ανιχνεύτηκε και η κινναμωμαλδεΰδη, όχι όμως σε μεγάλη συγκέντρωση σε σύγκριση με τη μελέτη των Alissandrakis et al. (2005), ενώ το π-κουμαρικό οξύ και η κινναμυλική αλκοόλη δεν ανιχνεύτηκαν.

Ωστόσο, σε μέτρια έως χαμηλή συγκέντρωση ανιχνεύτηκε το trans-οξείδιο της λιναλοόλης, αλλά και η εννεανάλη όπως και στις μελέτες των Odeh et al. (2013) και των Senyuva et al. (2009), ενώ ταυτοποιήθηκαν το D-λιμονένιο, η καρβακρόλη, η αιζοφορόνη, το cis-οξείδιο της λιναλοόλης και το π-κυμένιο. Οι πληροφορίες για το αρωματικό προφίλ των μελιών βαμβακιού είναι ανεπαρκείς.

Πτητικά συστατικά	Χρόνος συγκράτησης	Ελάχιστη τιμή	Μέγιστη τιμή	Μέσος όρος (μg/g)	Τυπική απόκλιση
Οκτάνιο	5,9	0,02	0,32	0,12	0,06
φουραν-2-καρβαλδεΰδη (φουρφουράλη)	7,3	0,00	1,25	0,44	0,35
(Ε)-3-εξεν-1-όλη	8,3	0,00	0,21	0,01	0,03
φουραν-2-υλομεθανόλη	8,5	0,00	0,14	0,01	0,02
2,5-διαιθυλοτετραϋδροφουράνιο	10	0,00	0,07	0,01	0,01
εννεάνιο	10,2	0,02	0,13	0,04	0,02
1-(φουραν-2-υλο)-1-αιθανονη	10,5	0,00	0,11	0,04	0,03
1-(1Η-πυρρολ-1-υλο)-1-αιθανονη	12,3	0,00	0,11	0,01	0,02
βενζαλδεΰδη	12,5	0,06	1,57	0,37	0,30
1-οκτεν-3-ολη	13,3	0,00	0,13	0,02	0,03
οκτανάλη	14,1	0,02	0,09	0,05	0,01
1-ισοπροπυλο-4-μεθυλοβενζόλιο (π-κυμένιο)	14,8	0,00	0,07	0,01	0,01
(R)-1-μεθυλο-4-(1-προπεν-2-υλο)-1-κυκλοεξένιο (D- λιμονένιο)	15,0	0,00	1,18	0,05	0,21
2-αιθυλο-1-εξανόλη	15,1	0,00	0,09	0,01	0,02
2-φαινυλακεταλδεΰδη	15,5	0,03	1,01	0,20	0,21
2-((2S,5S)-5-μεθυλο-5-βινυλοτετραϋδροφουραν-2υλο)-2- προπανόλη (trans- οξείδιο τις λιναλοόλης)	16,5	0,05	0,99	0,31	0,26
2-((2S,5R)-5-μεθυλο-5-βινυλοτετραΰδροφουραν-2υλο)-2- προπανόλη (cis-οξείδιο τις λιναλοόλης)	17,0	0,02	0,29	0,09	0,06
π-κυμένιο	17,1	0,00	0,31	0,04	0,08
ενδεκάνιο	17,5	0,052	0,41	0,21	0,07
εννεανάλη	17,6	0,127	1,51	0,39	0,25

Πίνακας 8: Πτητικά συστατικά μελιών βαμβακιού
2-φαινυλαιθανόλη	17,8	0,025	1,31	0,54	0,33
3,5,5-τριμεθυλο-2-κυκλοεξεν-1-όνη (α-ιζοφορόνη)	18,1	0,00	0,09	0,01	0,02
μεθυλεστέρας του οκτανοϊκού οξέος	18,2	0,030	0,25	0,12	0,04
2-φαινυλακετονιτρίλιο	18,6	0,00	0,11	0,01	0,02
2,6,6-τριμεθυλο-2-κυκλοεξεν-1,4-διόνη	18,7	0,00	0,06	0,00	0,01
1-(1,4-διμεθυλο-3-κυκλοεξεν-1-υλο)-1-αιθανόνη	19,0	0,00	0,07	0,00	0,01
4-μεθυλο-2-(2-μεθυλο-1-προπεν-1-υλο)-3,6-διϋδρο-2Η- πυράνιο	19,1	0,00	0,13	0,01	0,02
3-φαινυλο-προπανάλη	19,4	0,00	0,05	0,01	0,01
1-εννεανόλη	19,7	0,00	0,44	0,09	0,12
2-φαινυλοξικός μεθυλεστέρας	19,8	0,00	0,82	0,10	0,19
οκτανοϊκό οξύ	19,9	0,00	0,08	0,01	0,02
μεθυλεστέρας του 2-υδροξυβενζοϊκού οξέος	20,3	0,00	0,11	0,00	0,01
2-(4-μεθυλο-φαινυλο)-2-προπανόλη	20,2	0,00	0,083	0,008	0,02
2-(4-μεθυλο-3-κυκλοεξεν-1-υλο)-2-προπανόλη (α- τερπινεόλη)	20,4	0,00	0,201	0,009	0,03
δωδεκάνιο	20,6	0,00	0,177	0,036	0,033
δεκανάλη	20,7	0,04	0,398	0,189	0,10
μεθυλεστέρας του εννεανοϊκού οξέος	21,2	0,05	0,622	0,179	0,10
4-μεθοξυβενζαλδεΰδη	22,1	0,00	0,061	0,005	0,01
(E)-3-φαινυλο-2-προπενάλη (κινναμωμαλδεΰδη)	22,7	0,02	0,603	0,18	0,126
εννεανοϊκό οξύ	22,8	0,00	0,148	0,022	0,04
5-ισοπροπυλο-2-μεθυλοφαινόλη (καρβακρόλη)	23,3	0,00	0,160	0,02	0,03
μεθυλεστέρας δεκανοϊκού οξέος	24,2	0,02	0,111	0,065	0,02
1,1,5-τριμεθυλο-1,2-διϋδροναφθαλίνιο	25,1	0,00	0,184	0,018	0,04
(Ε)-1-(2,6,6-τριμεθυλο-1,3-κυκλοεξαδιεν-1-υλο)-2- βουτεν-1-όνη (β-δαμασκινόνη)	25,9	0,00	0,118	0,019	0,03
τετραδεκάνιο	26,7	0,00	0,042	0,007	0,01
δωδεκανάλη	27,0	0,00	0,092	0,011	0,02
μεθυλεστέρας δωδεκανοϊκού οξέος	30,8	0,01	0,147	0,034	0,02
μεθυλεστέρας τετραδεκανοϊκού οξέος	37,0	0,00	0,053	0,014	0,01
φθαλικός διισοβουτυλεστέρας	38,9	0,00	0,063	0,017	0,02
μεθυλεστέρας του παλμιτικού οξέος	39,6	0,03	0,182	0,077	0,02



Εικόνα 14: Χρωματογράφημα GC-MS μελιού βαμβακιού.

Πτητικά συστατικά μελιού κουμαριάς

Στον Πίνακα 9 παρουσιάζονται τα πτητικά συστατικά του μελιού από κουμαριά που ανιχνεύτηκαν με τη τεχνική SPME-GC-MS. Τα δείγματα μελιών κουμαριάς μελετήθηκαν εις τριπλούν, και μεταξύ των δειγμάτων δεν παρατηρήθηκαν διαφορές ως προς το πτητικό τους περιεχόμενο, η πειραματική διαδικασία και η επεξεργασία των αποτελεσμάτων ήταν ίδια όπως και στα μέλια βαμβακιού.

Παρατηρώντας τον Πίνακα 9, οι τρεις ενώσεις με τη μεγαλύτερη συγκέντρωση ήταν η α-ιζοφορόνη (10,992 μg/g), η 3,4,5-τριμεθυλοφαινόλη (3,925 μg/g) και η 1- (δικυκλο[3.3.1]-6-νονεν-3-υλο)-2-μεθυλοπροπαν-1-όνη (1,634 μg/g).

Στη παρούσα μελέτη και στη μελέτη των Bianchi et al. (2005) η α-ιζοφορόνη βρέθηκε σε μεγαλύτερη συγκέντρωση σε δείγματα μελιού κουμαριάς. Οι Bianchi et al. (2005) ταυτοποίησαν επιπρόσθετα τη 4-οξοϊζοφορόνη και τη β-ιζοφορόνη. Οι ενώσεις αυτές μπορούν να θεωρηθούν χημικοί δείκτες για τη βοτανική προέλευση των μελιών κουμαριάς. Στη μελέτη αυτή, σε δείγματα μελιών κουμαριάς από τη Σαρδηνία, ανιχνεύτηκαν η βενζαλδεΰδη, η φουρφουράλη, η δεκανάλη, η εννεανάλη, η 2,3,4-τριμεθυλο-2-κυκλοπεντεν-1-όνη, καθώς και άλλες ενώσεις (Bianchi et al., 2005).

Κρίνεται απαραίτητη η άντληση περισσότερων πληροφοριών σχετικά με τα όρια συγκέντρωσης ιζοφορόνης στα μέλια κουμαριάς, διότι παράγωγα ιζοφορόνης έχουν ανιχνευτεί και σε διαφορετικής βοτανικής προέλευσης μέλια. Τα κύρια πτητικά συστατικά που ταυτοποιήθηκαν στη συγκεκριμένη μελέτη ήταν η 4-οξοϊζοφορόνη, η 2-φουρανομεθανόλη, η 2-υδροξυ-3,5,5-τριμεθυλο-2-κυκλοεξανόνη και το διμέθυλοσουλφίδιο (Delafuente et al., 2007).

Οι Machado et al. (2021) σε δείγματα μελιού κουμαριάς από την Πορτογαλία ταυτοποίησαν την παρουσία των ακόλουθων πτητικών συστατικών: α-ιζοφορόνη (5–39%), 3,4,5-τριμεθυλοφαινόλη (2–13%), 4-κετο-ιζοφορόνη (0,4-3%), 2,3,5-τριμεθυλοφαινόλη (0,4–4%), 2-υδροξυ-ιζοφορόνη (0,2-3%), 1,2-διϋδρο-1,1,6-τριμεθυλο-ναφθαλένιο (<0,05-1%), 5-μεθυλο-3-εξεν-2-όνη (<0,05–0,4%). Οι πτητικές ενώσεις: 4-οξοϊζοφορόνη, α-ιζοφορόνη, η β-ιζοφορόνη έχουν χαρακτηριστεί ως πιθανοί χημικοί δείκτες για το μέλι κουμαριάς και από άλλους ερευνητές (Graikou et al., 2021; Bianchi et al., 2005; Karabagias et al., 2019).

Τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτη συμφωνούν με τα αποτελέσματα άλλων ερευνητών. Ενώσεις όπως η α-ιζοφορόνη, η 4-οξοϊζοφορόνη και η β-ιζοφορόνη ανιχνεύτηκαν σε σχετικά μεγάλη συγκέντρωση και όπως έχει επισημανθεί θα μπορούσαν να είναι βοτανικοί δείκτες του μελιού αυτού. Επίσης, ανιχνεύτηκε και η 2-υδροξυϊζοφορόνη.

Πτητικά συστατικά	Χρόνος συγκράτησης	Ελάχιστη τιμή	Μέγιστη τιμή	Μέσος Όρος (μg/g)	Τυπική απόκλιση
2,5-διμεθυλοφουράνιο	3,2	0,02	0,61	0,35	0,19
φουραν-2-καρβαλδεΰδη	7,3	0,00	1,46	0,31	0,44
1-(φουραν-2-υλο)-1-αιθανόνη	10,7	0,00	0,10	0,02	0,03
2,4,4-τριμεθυλοκυκλοπενταν-1-όνη	11,2	0,00	0,10	0,03	0,03
βενζαλδεΰδη	12,6	0,00	0,20	0,05	0,06
3,5,5-τριμεθυλο-3-κυκλοεξεν-1-όνη (β-ιζοφορόνη)	15,5	0,02	0,09	0,04	0,02
2-φαινυλακεταλδεΰδη	15,6	0,02	0,13	0,05	0,03
1-μεθοζυ-3,5-διμεθυλοβενζόλιο	15,9	0,01	0,13	0,07	0,03
2-((2S,5R)-5-μεθυλο-5-βινυλοτετραϋδροφουραν-2-υλο)-2- προπανόλη (cis-οξείδιο τις λιναλοόλης)	16,5	0,00	0,85	0,17	0,28
2-((2S,5S)-5-μεθυλο-5-βινυλοτετραϋδροφουραν-2-υλο)- προπανόλη (trans-οξείδιο τις λιναλοόλης)	17,0	0,00	0,17	0,03	0,05
ενδεκάνιο	17,5	0,07	0,16	0,11	0,02
εννεανάλη	17,6	0,04	0,51	0,17	0,12
3,5,5-τριμεθυλο-2-κυκλοεξεν-1-όνη (α-ιζοφορόνη)	18,5	3,79	15,15	10,99	3,40
2,6,6-τριμεθυλο-2-κυκλοεξεν-1,4-διόνη (4-οξοϊζοφορόνη)	19,0	0,57	1,40	1,03	0,20
2-υδροξυ-3,5,5-τριμεθυλο-2-κυκλοεξεν-1-όνη (2- υδρόξυϊζοφορόνη)	19,1	0,28	0,92	0,58	0,20
1,3,4-τριμεθυλο-3-κυκλοεξεν-1-καρβαλδεΰδη	19,3	0,00	0,29	0,16	0,09
2,6,6-τριμεθυλο-1-κυκλοεξεν-1-καρβαλδεΰδη	19,5	0,00	0,08	0,04	0,01
2,2,6-τριμεθυλοκυκλοεξανο-1,4-διόνη	19,6	0,01	0,49	0,11	0,12
1-εννεανόλη	19,8	0,00	0,27	0,08	0,09

Πίνακας 9: Πτητικά συστατικά μελιών κουμαριάς

2-(προπαν-2-υλιδένιο)-1-κυκλοεξανόνη	19,9	0,00	0,39	0,18	0,09
2,6,6-τριμεθυλο-1,3-κυκλοεξαδιενιο-1-καρβαλδεΰδη	20,5	0,00	0,13	0,03	0,04
δωδεκάνιο	20,6	0,00	0,06	0,04	0,02
δεκανάλη	20,7	0,03	0,15	0,09	0,03
μεθυλεστέρας εννεανοϊκού οξέος	21,2	0,058	0,15	0,09	0,03
4-ισοπροπυλοβενζαλδεΰδη	21,5	0,06	0,19	0,12	0,04
3-ακετυλο-2,4,4-τριμεθυλο-2-κυκλοεξεν-1-όνη	22,4	0,00	0,12	0,06	0,03
2,4,6-τριμεθυλοφαινόλη	22,8	0,08	3,01	0,78	0,90
εννεανοϊκό οξύ	23,0	0,00	0,06	0,01	0,01
1-(2,4-διμεθυλοφουραν-3-υλο)-1-αιθανόνη	23,5	0,14	0,27	0,18	0,03
(3E,5E)-5,6,7,7-τετραμεθυλοκτα-3,5-διεν-2-όνη	23,6	0,00	0,20	0,07	0,04
3,4,5-τριμεθυλοφαινόλη	24,3	0,82	9,68	3,93	2,48
2,3,5,6-τετραμεθυλοκυκλοεξα-2,5-διεν-1,4-διόνη	24,9	0,12	1,77	0,51	0,43
1-(δικυκλο[3.3.1]-6-εννενο-3-υλο)-2-μεθυλοπροπαν-1-όνη	25,4	0,12	3,65	1,63	1,25
(Ε)-1-(2,6,6-τριμεθυλοκυκλοεξα-1,3-διεν-1-υλο)-2-βουτεν-1-όνη (β-δαμασκινόνη)	26,0	0,01	0,18	0,06	0,05
1-μεθοξυ-4,4a,5,6,7,8-εξαϋδροναφθαλεν-2(3Η)-όνη	26,2	0,01	0,80	0,37	0,20
αιθυλεστέρας του 4-μεθοξυβενζοϊκού οξέος	28,3	0,00	0,17	0,03	0,05
2,5,8-τριμεθυλο-1-ναφθαλενόλη	28,5	0,00	0,42	0,09	0,10
1-(2,6-διμεθυλο-4-προποξυφαινυλο)-1-αιθανόνη	29,3	0,00	0,17	0,05	0,04
3,4,7-τριμεθυλο-2,3-διϋδρο-1Η-ινδεν-1-όνη	29,5	0,05	0,55	0,23	0,13
(3E,5E)-7-ισοπροπυλο-7-μεθυλοεννεαν-3,5-διεν-2,8-διόνη	29,9	0,03	0,34	0,12	0,08
1-(4-οκτυλοφαινυλο)-1-αιθανόνη	30,0	0,01	0,19	0,10	0,06
6,6-διμεθυλο-5-μεθυλενδικυκλο[2.2.1]-επταν-2-όλη	30,4	0,05	0,31	0,15	0,07
1-(4-(tert-βουτυλο)-2,6-διμεθυλοφαινυλο)-1-αιθανόνη	33,3	0,03	0,09	0,05	0,01



Εικόνα 15: Χρωματογράφημα GC-MS μελιού κουμαριάς.

4.6. Χρωματογραφική μελέτη φαινολικών συστατικών μελιού κουμαριάς και βαμβακιού με LC-QTOF-MS

4.6.1. Όργανα- Αντιδραστήρια

Υπερκάθαρο νερό

- Οξινισμένο υπερκάθαρο νερό
- Υδροχλωρικό οξύ, HCl [0,1 M]
- Ακετονιτρίλιο
- Πιπέτα 1000 μL
- Πιπέτα 50 μL
- Πλαστικά vial
- Αναλυτικός ζυγός ακριβείας
- Ποτήρι ζέσεως
- Φίλτρο καθαρισμού πολυτετραφθοροαιθυλενίου (PTFE)

4.6.2. Πειραματική πορεία

Προετοιμασία δείγματος και εκχύλιση των φαινολικών:

30 g μελιού διαλύθηκαν σε 10 mL υπερκάθαρου νερού. Πραγματοποιήθηκε ομογενοποίησή του για 30 min σε λουτρό υπερήχων και διήθηση υπό κενό. Η ρύθμιση του pH του διαλύματος έγινε στο 2 με υδροχλωρικό οξύ 0,1 M.

Παραλαβή φαινολικών συστατικών:

Για την παραλαβή των φαινολικών συστατικών χρησιμοποιήθηκαν στήλες SPE που ενεργοποιήθηκαν με 3 mL ακετονιτρίλιο και 9 mL υπερκάθαρου νερού. Η στήλη ξεπλύθηκε με 12 mL οξινισμένου νερού αφού είχε τοποθετηθεί πρώτα σε αυτήν το δείγμα. Χρησιμοποιήθηκε 1,5 mL ακετονιτρίλιο και το διάλυμα καθαρίστηκε με φίλτρα Millex-LCR (PTFE) 0,45 μm. Η ανάλυση των φαινολικών ενώσεων πραγματοποιήθηκε με χρήση του LC-QTOF-MS της εταιρείας Agilent Series 1260 (Agilent Technologies, USA).

Χρησιμοποιήθηκε στήλη αντίστροφης φάσης Supelco Discovery HS C18, μήκους 100 mm, διαμέτρου 4,6 mm και πάχους επένδυσης 2,7 μm. Η κινητή φάση ήταν: Οξινισμένο νερό (με οξικό οξύ 0,1%) (A), μείγμα ακετονιτριλίου-οξικού οξέος (1%) (B). Ο ρυθμός ροής ήταν 1 mL/min και ο όγκος ένεσης 5μL. Τα χρωματογραφήματα καταγράφηκαν στα 280, 320, 330, 360 και 520 nm με ανιχνευτή συστοιχία διόδων (Diode Array Detector). Το πρόγραμμα έκλουσης ρυθμίστηκε ως εξής: 0-8 min, 10% διαλύτης B, 8-12 min, 30% διαλύτης B, 12-16 min, 40% διαλύτης B, 16-18 min, 50% διαλύτης B, 18-33 min, 10% διαλύτης B,33 min και μετά 10% διαλύτης B.

Για το φασματόμετρο μάζας χρησιμοποιήθηκε η τεχνική ηλεκτροψεκασμού ESI σε λειτουργία αρνητικού ιοντισμού, με τριχοειδή τάση 3000 V, πίεση εκνεφωτή 2 bar (N₂), αέριο ξήρανσης 8 L/min (N₂) και θερμοκρασία ξήρανσης 200 °C.



Εικόνα 16: Σύστημα LC-Qtof-MS.

4.6.3. Αποτελέσματα και συζήτηση

Φαινολικά συστατικά μελιού βαμβακιού

Στον Πίνακα 10 και 11 παρουσιάζονται τα φαινολικά συστατικά που απομονώθηκαν από ελληνικά μέλια βαμβακιού και κουμαριάς αντίστοιχα. Τα δείγματα μεταξύ τους δεν διέφεραν ως προς το φαινολικό περιεχόμενό τους.

Οι φαινολικές ενώσεις που περιέχονται στο μέλι βαμβακιού ενδεχομένως να μπορούσαν να αποτελέσουν δείκτη της βοτανικής του προέλευσης (Alissandrakis et al., 2005). Από την ανάλυση των μελιών βαμβακιού ανιχνεύτηκαν 28 φαινολικά συστατικά. Συγκεκριμένα, η ναριγενίνη και η καμφερόλη ανιχνεύτηκαν σε μεγαλύτερη αφθονία (με τιμή 1414708) και (1129589) αντίστοιχα. Ανιχνεύτηκαν και ενώσεις με πολύ μικρότερη αφθονία, με την ελάχιστη να είναι του ροσμαρινικού οξέος (382).

Σε δείγματα μελιών από την Σικελία βρέθηκε υψηλή συγκέντρωση αυτών σε καμφερόλη και κερκετίνη (Lo Dico et al., 2019), ενώ σε μελέτη των Tomás-Barberán et al. (2001) αναφέρεται ότι ο δείκτης βοτανικής προέλευσης στο μέλι δεντρολίβανου είναι η καμφερόλη. Οι Hamdy et al., (2009) ανίχνευσαν σε μέλια βαμβακιού το κιναμωμικό οξύ και το π-υδροξυ-βενζοϊκό οξύ.

Στη μελέτη των Kivrak et al. (2016), σε δείγματα μελιών βαμβακιού από την Τουρκία σε μεγαλύτερη συγκέντρωση ανιχνεύτηκε το φερουλικό οξύ (104,86 mg/kg). Ανιχνεύτηκαν 21 φαινολικά συστατικά με τη μέθοδο (Ultra Performance Liquid Chromatography-ElectroSpray Ionization tandem-Mass Spectrometry/Mass Spectrometry, UPLC-ESI-MS/MS). Το φερουλικό οξύ στη παρούσα διατριβή ανιχνεύτηκε σε μέτρια συγκέντρωση, ωστόσο η ναριγενίνη, η καμφερόλη, η χρυσίνη, το καφεϊκό οξύ, η απιγενίνη, η εσπεριτίνη, το συρριγγικό οξύ, το ομογενιστικό οξύ, η μυρικετίνη, το βανιλικό και το γεντισικό οξύ ταυτοποιήθηκαν και στις δύο μελέτες. Οι Kivrak et al. (2016) βρήκαν σε ίχνη επικατεχίνη όπως και στα υπό μελέτη δείγματα, ενώ ανιχνεύτηκαν επιπρόσθετα η ρουτίνη, η λουτεολίνη, η κερκετίνη και το trans-2-υδρξυ-κινναμωμικό οξύ, τα οποία δεν ταυτοποιήθηκαν στη μελέτη αυτή.

Ενδεχομένως, λόγω της μεγάλης αφθονίας της ναριγενίνης και της καμφερόλης στο μέλι βαμβακιού θα μπορούσαν να χαρακτηριστούν ως δείκτες της βοτανικής του προέλευσης, ωστόσο χρειάζεται περαιτέρω μελέτη. Τέλος, οι ενώσεις χρυσίνη και πινοσεμπρίνη που ταυτοποιήθηκαν δεν μπορούν να θεωρηθούν βοτανικοί δείκτες, διότι κυρίως βρίσκονται στην πρόπολη (Sabatier et al., 1992).

Φαινολικά συστατικά	Μοριακός τύπος	Χρόνος έκλουσης (min)	Θεωρητικό (M-H)-	Πειραματικό (M-H)-	Δ/ppm	Αφθονία (Abundance)
Γαλλικό οξύ	$C_7H_6O_5$	1,5	169,0142	169,0142	0,03	1789
Φλωρογλυκινόλη	C ₆ H ₆ O ₃	1,5	125,0244	125,0244	0,11	3371
Ομογεντισικό οξύ	$C_8H_8O_4$	1,8	167,0350	167,035	0,21	36499
Πρωτοκατεχικό οξύ	$C_7H_6O_4$	2,3	153,0187	153,0191	-2,67	115669
Γεντισικό οξύ	$C_7H_6O_4$	3,2	153,0193	153,0193	-0,08	27881
Χλωρογενικό οξύ	$C_{16}H_{18}O_9$	3,4	353,0878	353,0874	0,32	14798
4-Υδροξυβενζοϊκό οξύ	$C_7H_6O_3$	3,5	137,0244	137,0243	1,00	576724
Βανιλικό οξύ	$C_8H_8O_4$	4,0	167,0350	167,0348	1,09	36368
Καφεϊκό οξύ	$C_9H_8O_4$	4,1	179,0350	179,7849	0,90	415640
Συρριγγικό οξύ	C ₉ H ₁₀ O ₅	4,1	197,0455	197,0461	-0,32	71033
p-κουμαρικό οξύ	$C_9H_8O_3$	5,5	163,0400	163,0399	1,00	658243
Φερουλικό οξύ	$C_{10}H_{10}O_4$	6,1	193,0506	193,0504	1,09	147425
Ελαγικό οξύ	$C_{14}H_6O_8$	6,2	300,9990	300,9985	1,51	149172
Σιναπικό οξύ	$C_{11}H_{12}O_5$	6,3	223,0612	223,0614	-0,52	49427
Μυριτρίνη	$C_{21}H_{20}O_{12}$	6,3	463,0882	463,0888	-0,02	4009
Ροσμαρινικό οξύ	$C_{18}H_{16}O_8$	7,5	359,0772	359,0767	0,12	382
Μεθυλεστέρας του συρριγγικού οξέος	$C_{10}H_{12}O_5$	7,8	211,0612	211,0611	0,15	1978
Μυρικετίνη	$C_{15}H_{10}O_8$	8,1	317,0303	317,0304	-0,12	10530
Αμπσισικό οξύ	$C_{15}H_{20}O_4$	8,8	263,1289	263,1285	1,70	351537
trans-Κινναμωμικό οξύ	$C_9H_8O_2$	9,8	147,0451	147,045	0,72	225077
Ναριγενίνη	$C_{15}H_{12}O_5$	11,3	271,0612	271,0605	2,80	1414708
Απιγενίνη	$C_{15}H_{10}O_5$	11,6	269,0455	269,0457	-0,42	217986
Εσπερετίνη	$C_{16}H_{14}O_{6}$	11,8	301,0717	301,0711	0,69	169766
Καμφερόλη	$C_{15}H_{10}O_{6}$	12,0	285,0404	285,0399	1,91	1129589
Ι σ ορχαμνετίνη	$C_{16}H_{12}O_7$	12,3	315,0510	315,0505	1,70	287997
Χρυσίνη	$C_{15}H_{10}O_4$	15,2	253,0506	253,0502	1,59	715948
Πινοσεμπρίνη	C15H12O4	15,2	255,0663	255,0658	2,02	847781
Επικατεχίνη	C ₁₅ H ₁₄ O ₆		289,0717	289,0729	-0,31	572

Πίνακας 10: Φαινολικά συστατικά μελιών βαμβακιού



Εικόνα 17: Χρωματογράφημα LC-QTOF-MS μελιού βαμβακιού.

Φαινολικά συστατικά μελιού κουμαριάς

Με βάση τον Πίνακα 11 τα φαινολικά συστατικά που ανιχνεύτηκαν σε μεγάλη αφθονία είναι το ομογενιστικό οξύ (1904259) και το αμπσισικό οξύ (2269758), το οποίο επαληθεύεται και από τη βιβλιογραφία. Αυτά τα δύο φαινολικά οξέα αποτελούν δείκτες της βοτανικής προέλευσης του μελιού αυτού (Cabras et al., 2009; Scanu et al., 2005; Tuberoso et al., 2010). Ανιχνεύτηκαν και ενώσεις σε μικρότερη συγκέντρωση με τη λουτεολίνη να είναι η μικρότερη (3920).

Στη μελέτη των Cianciosi et al. (2018) ανιχνεύτηκαν τα φαινολικά οξέα ομογενιστικό, το 2-cis-4-trans-αμπσισικό οξύ, το συρριγγικό και το κιναμωμικό οξύ, ενώ ανιχνεύτηκαν τα φλαβονοειδή απιγενίνη, λουτεολίνη, καμφερόλη, πινομπανκσινη, η πινοσεμπρίνη και η κερκετίνη. Κάποιες από αυτές τις ενώσεις είναι κοινές με εκείνες που ταυτοποιήθηκαν στην παρούσα μελέτη. Το ομογενιστικό οξύ και το αμπσισικό οξύ φαίνεται να αποτελεί το βασικό δείκτη βοτανικής προέλευσης του μελιού αυτού.

Το ομογενιστικό οξύ είναι μία μικρή υδατοδιαλυτή ένωση και ενδιάμεσο προϊόν του μεταβολισμού της φαινυλαλανίνης και της τυροσίνης (Heoedus et al., 1994). Στο μέλι κουμαριάς (*Arbutus unedo* L.) είναι μία από τις κυρίαρχες φαινολικές ενώσεις και αποτελέι δείκτη της βοτανικής του προέλευσης (Tuberoso et al., 2010).

Βάσει της μελέτης των Tuberoso et al. (2010) χρησιμοποιώντας τη τεχνική HPLC-DAD-MS/MS σε μέλια κουμαριάς (*Arbutus unedo* L.) αποδείχθηκε ότι, εκτός από το ομογενιστικό οξύ, ανιχνεύτηκαν οι ενώσεις: (±)-2-trans,4-trans-αμπσισικό οξύ (t,t-ABA), (±)-2-cis,4-trans-αμπσισικό οξύ (c,t-ABA) και οι οποίες θα μπορούσαν να αναφερθούν ως δείκτες βοτανικής προέλευσης της κουμαριάς. Ωστόσο, στη μελέτη των Deiana et al. (2015) αναφέρεται ως αξιόπιστος δείκτης βοτανικής προέλευσης του μελιού κουμαριάς το ομογεντισικό οξύ. Είναι πολλές οι παράμετροι όμως για να χαρακτηριστεί ένας δείκτης αξιόπιστος όπως: οι συνθήκες αποθήκευσης, η περίοδος συλλογής του μελιού και η γεωγραφική προέλευσή του.

Τα παρόντα αποτελέσματα συμφωνούν με την υπάρχουσα βιβλιογραφία. Πράγματι το ομογενιστικό και το αμπισικό οξύ παρουσίασαν τη μεγαλύτερη αφθονία στα υπό μελέτη δείγματα σε σύγκριση με άλλα φαινολικά συστατικά που ανιχνεύτηκαν σε μέτρια έως και χαμηλή αφθονία όπως η ναριγενίνη, η χρυσίνη, η πινοσεμπρίνη, το 4-υδροξυβενζοϊκό οξύ, το καφεϊκό οξύ, με τη χαμηλότερη αφθονία να παρουσιάζουν η λουτεολίνη, το γαλλικό και το φερουλικό οξύ.

Φαινολικά συστατικά	Μοριακός τύπος	Χρόνος έκλουσης (min)	Θεωρητικό (Μ- Η)-	Πειραματικό (M-H)-	Δ/ppm	Αφθονία (Abundance)
Φλωρογλυκινόλη	C ₆ H ₆ O ₃	1,4	125,0244	125,0246	-1,11	20603
Γαλλικό οξύ	C ₇ H ₆ O ₅	1,4	169,0142	169,0143	-0,42	7527
Ομογεντισικό οξύ	C ₈ H ₈ O ₄	1,7	167,0350	167,0347	1,96	1904259
Πρωτοκατεχικό οξύ	C ₇ H ₆ O ₄	2,1	153,0187	153,019	-1,96	73019
Γεντισικό οξύ	C ₇ H ₆ O ₄	3,1	153,0193	153,0193	0,11	72950
4-Υδροξυβενζοϊκό οξύ	C ₇ H ₆ O ₃	3,2	137,0244	137,0243	0,56	154074
Καφεϊκό οξύ	C ₉ H ₈ O ₄	4,1	179,0350	179,0353	-1,06	74927
Επικατεχίνη	C ₁₅ H ₁₄ O ₆	4,2	289,0717	289,0723	-1,85	55061
Συρριγκικό οξύ	C ₉ H ₁₀ O ₅	4,9	197,0455	197,0456	-0,24	12448
p-κουμαρικό οξύ	C ₉ H ₈ O ₃	5,3	163,0400	163,0401	-0,35	78542
Ελαγικό οξύ	C14H6O8	6,2	300,9990	300,999	-0,004	20564
Φερουλικό οξύ	$C_{10}H_{10}O_4$	6,2	193,0506	193,0505	0,32	12019
Ροσμαρινικό οξύ	C ₁₈ H ₁₆ O ₈	7,3	359,0772	359,0779	-1,16	22537
Μεθυλεστέρας του συρριγγικού οξέος	C ₁₀ H ₁₂ O ₅	8,3	211,0612	211,0611	0,62	117252
Αμπσισικό οξύ	C ₁₅ H ₂₀ O ₄	8,7	263,1289	263,1283	2,35	2269758
trans-Κινναμωμικό οξύ	C ₉ H ₈ O ₂	9,4	147,0451	147,045	0,81	15433
Λουτεολίνη	C15H10O6	9,9	285,0404	285,0405	-0,03	3920
Ναριγενίνη	C ₁₅ H ₁₂ O ₅	11,2	271,0612	271,0611	0,45	562513
Απιγενίνη	C ₁₅ H ₁₀ O ₅	11,4	269,0455	269,0456	-0,36	28278
Ισορχαμνετίνη	C ₁₆ H ₁₂ O ₇	11,7	315,0510	315,051	0,19	66846
Καμφερόλη	C ₁₅ H ₁₀ O ₆	11,8	285,0404	285,0401	0,91	67035
Χρυσίνη	$C_{15}H_{10}O_4$	14,9	253,0506	253,0504	0,74	203798
Πινοσεμπρίνη	C ₁₅ H ₁₂ O ₄	15,0	255,0663	255,0663	0,16	231359

Πίνακας 11: Φαινολικά συστατικά μελιών κουμαριάς



Εικόνα 18: Χρωματογράφημα LC-QTOF-MS μελιού κουμαριάς.

5. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Στη παρούσα μεταπτυχιακή διατριβή μελετήθηκαν 40 δείγματα μελιών (13 μέλια κουμαριάς (*Arbutus unedo* L.), 27 μέλια βαμβακιού (*Gossypium hirsutum* L.)) ελληνικής προέλευσης ως προς τα φαινολικά και τα πτητικά τους συστατικά, χρησιμοποιώντας χρωματογραφικές τεχνικές, καθώς και τα δομικά χαρακτηριστικά των μορίων των μελιών αυτών, μέσω φασματοσκοπικών τεχνικών.

Αρχικά, η παραλαβή των πτητικών συστατικών έγινε με SPME και η ανάλυση του πτητικού κλάσματος με GC-MS. Όλα τα δείγματα μελετήθηκαν εις τριπλούν και οι διαφορές που παρατηρήθηκαν στα χρωματογραφήματα ως προς το εύρος και την ένταση των κορυφών ήταν αμελητέες. Στα μέλια βαμβακιού ανιχνεύτηκαν 50 διαφορετικά πτητικά συστατικά, εκείνα με τη μεγαλύτερη συγκέντρωση ήταν η 2φαινυλαιθαν-1-όλη (0,535 μg/g), η φουρφουράλη (0,444 μg/g) και η βενζαλδεΰδη (0,396 μg/g). Ωστόσο, οι ενώσεις κινναμωμαλδεΰδη, εννεανάλη, trans- οζείδιο της λιναλοόλης θα μπορούσαν να προταθούν ως βοτανικοί δείκτες του μελιού αυτού. Τα δεδομένα, όμως, για τις πτητικές ενώσεις που υπάρχουν στα μέλια βαμβακιού είναι ανεπαρκή. Στα μέλια κουμαριάς ανιχνεύτηκαν 43 διαφορετικές πτητικές ενώσεις με την α-ιζοφορόνη (10,992 μg/g), την 3,4,5-τριμεθυλοφαινόλη (3,925 μg/g) και την 1- (δικυκλο[3.3.1]-6-νονεν-3-υλο)-2-μεθυλοπροπαν-1-όνη (1,634 μg/g) να έχουν τη μεγαλύτερη συγκέντρωση.

Η α-ιζοφορόνη, η β-ιζοφορόνη και η 4-οξοιζοφορόνη βρίσκονται σε υψηλή συγκέντρωση στα μέλια κουμαριάς, για αυτό και προτείνονται ως χημικοί δείκτες της βοτανικής προέλευσης του μελιού αυτού. Οι τρεις παραπάνω ενώσεις ανιχνεύτηκαν στη παρούσα μελέτη όπως και η 2-υδροξυϊζοφορόνη. Οι χημικοί δείκτες για ένα συγκεκριμένο τύπο μελιού από διαφορετικές περιοχές μπορεί να είναι μάλλον διαφορετικοί λόγω της παρουσίας συγκεκριμένων ενώσεων στη χλωρίδα μιας χώρας και της απουσίας τους σε άλλη χώρα.

Στη συνέχεια μελετήθηκε το εκχύλισμα των μελιών αυτών με ακετονιτρίλιο, χρησιμοποιώντας την τεχνική SPE-LC-QTOF-MS και η εκχύλιση των συστατικών αυτών έγινε με SPE. Στα μέλια βαμβακιού ανιχνεύτηκαν 28 φαινολικά συστατικά και ήταν πλούσια σε ναριγενίνη και καμφερόλη, ίσως να μπορούν να χαρακτηριστούν ως δείκτες του. Παρόλα αυτά, χρειάζεται περισσότερη έρευνα, γιατί δεν υπάρχουν επαρκή δεδομένα στη βιβλιογραφία για το ελληνικό μέλι βαμβακιού. Όσον αφορά τα μέλια κουμαριάς, το ομογενιστικό και το αμπσισικό οξύ ήταν τα δυο φαινολικά συστατικά με τη μεγαλύτερη αφθονία, το οποίο επιβεβαιώνεται και από άλλους ερευνητές. Αυτά τα δύο συστατικά θα μπορούσαν να είναι χημικοί δείκτες για τη βοτανική του προέλευση.

Τα δείγματα μελετήθηκαν και φασματοσκοπικά με τις τεχνικές FT-IR και φθορισμομετρία. Συγκεκριμένα, στη τεχνική FT-IR τα φάσματα μελιού βαμβακιού και κουμαριάς δεν διέφεραν πολύ μεταξύ τους και εντοπίστηκαν τα σάκχαρα, οι φαινολικές ενώσεις σε διαφορετικούς κυματάριθμους στα δείγματα των μελιών.

Η φασματοσκοπία φθορισμού παρέχει πληροφορίες για τις φθορίζουσες ενώσεις, όπως τα αρωματικά αμινοξέα, τα φαινολικά συστατικά, τις φλαβίνες και τα προϊόντα αντίδρασης Maillard που είναι παρόντα στο μέλι. Παρατηρήθηκε στο 3D-EEM φάσμα φθορισμού του μελιού βαμβακιού μία κορυφή διέγερσης λex= 430-487 nm και λem= 550-600 nm, ενώ για το μέλι κουμαριάς παρατηρήθηκε μία υψηλή κορυφή με λex= 450-490 nm και λem= 580-650 nm.

Συμπερασματικά, τα μέλια βαμβακιού και κουμαριάς ελληνικής προέλευσης είναι πλούσια σε φαινολικά συστατικά και πτητικές ενώσεις. Η παρούσα μελέτη θα συνεισφέρει στην υπάρχουσα βιβλιογραφία, διότι τα δεδομένα δεν είναι επαρκή. Χρήζει περισσότερης μελέτης, προκειμένου να διαπιστωθούν οι χημικοί δείκτες της βοτανικής προέλευσης των δύο αυτών μελιών. Επιπλέον, θα μπορούσε να παραληφθούν οργανικά εκχυλίσματα από τα συγκεκριμένα δείγματα με τη χρήση διαφορετικής πολικότητας εκχυλιστών και να μελετηθούν με τις τεχνικές FT-IR και GC-MS.

6. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

Ξενόγλωσση βιβλιογραφία

- Ali, H., Khan, S., Ullah, R., & Khan, B. (2020). Fluorescence fingerprints of Sidr honey in comparison with uni/polyfloral honey samples. *European Food Research and Technology*. doi:10.1007/s00217-020-03536-6.
- Alissandrakis, E., Tarantilis, P. A., Harizanis, P. C., & Polissiou, M. (2007). Aroma investigation of unifloral Greek citrus honey using solid-phase microextraction coupled to gas chromatographic–mass spectrometric analysis. *Food Chemistry*, 100(1), 396–404. doi:10.1016/j.foodchem.2005.09.015.
- Alissandrakis, E., Kibaris, A. C., Tarantilis, P. A., Harizanis, P. C., & Polissiou, M. (2005). Flavour compounds of Greek cotton honey. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 85(9), 1444–1452. https://doi.org/10.1002/jsfa.2124.
- Alissandrakis, E., Tarantilis, P. A., Harizanis, P. C., & Polissiou, M. (2005). Evaluation of four isolation techniques for honey aroma compounds. *Journal of* the Science of Food and Agriculture, 85(1), 91–97. https://doi.org/10.1002/jsfa.1934
- Alvarez-Suarez, J. M., Tulipani, S., Romandini, S., Bertoli, E., & Battino, M. (2009). Contribution of honey in nutrition and human health: a review. *Mediterranean Journal of Nutrition and Metabolism*, 3(1), 15–23. doi:10.1007/s12349-009-0051-6.
- Anjos, O., Campos, M. G., Ruiz, P. C., & Antunes, P. (2015). Application of FTIR-ATR spectroscopy to the quantification of sugar in honey. *Food Chemistry*, 169, 218–223. doi:10.1016/j.foodchem.2014.07.138.
- Azeredo, L. d. C., Azeredo, M. A. ., de Souza, S. ., & Dutra, V. M. . (2003). Protein contents and physicochemical properties in honey samples of Apis mellifera of different floral origins. *Food Chemistry*, 80(2), 249–254. doi:10.1016/s0308-8146(02)00261-3.
- AXS Decision. (2004). Decision of the Greek Higher Chemical Commission regarding the characteristics of monofloral honey pine, fir, castanea, erica, thymus, citrus, cotton and helianthus. No. 127/2004 (FEK 239/B/23-2-2005).
- Baroni, M. V., Nores, M. L., Díaz, M. D. P., Chiabrando, G. A., Fassano, J. P., Costa,C., & Wunderlin, D. A. (2006). Determination of Volatile Organic CompoundPatterns Characteristic of Five Unifloral Honey by Solid-Phase

Microextraction–Gas Chromatography–Mass Spectrometry Coupled to Chemometrics. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 54(19), 7235–7241. doi:10.1021/jf061080e.

- Bianchi, F., Careri, M., & Musci, M. (2005). Volatile norisoprenoids as markers of botanical origin of Sardinian strawberry-tree (Arbutus unedo L.) honey: Characterisation of aroma compounds by dynamic headspace extraction and gas chromatography-mass spectrometry. *Food Chemistry*, *89*(4), 527–532. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2004.03.009.
- Bogdanov, S., Jurendic, T., Sieber, R., & Gallmann, P. (2008). Honey for Nutrition and Health: A Review. Journal of the American College of Nutrition, 27(6), 677–689. doi:10.1080/07315724.2008.1071974.
- Cabras, P., Angioni, A., Tuberoso, C., Floris, I., Reniero, F., Guillou, C., & Ghelli, S. (1999). Homogentisic Acid: A Phenolic Acid as a Marker of Strawberry-Tree (Arbutus unedo) Honey. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47(10), 4064–4067. doi:10.1021/jf9901410.
- Cai, S., & Singh, B. R. (2004). A Distinct Utility of the Amide III Infrared Band for Secondary Structure Estimation of Aqueous Protein Solutions Using Partial Least Squares Methods[†]. *Biochemistry*, 43(9), 2541–2549. doi:10.1021/bi030149y.
- Cebi, N., Bozkurt, F., Yilmaz, M. T., & Sagdic, O. (2020). An evaluation of FTIR spectroscopy for prediction of royal jelly content in hive products. Journal of Apicultural Research, 1–10. doi:10.1080/00218839.2019.1707009.
- Celikel, G., Demirsoy, L., & Demirsoy, H. (2008). The strawberry tree (Arbutus unedo L.) selection in Turkey. Scientia Horticulturae, 118(2), 115–119. doi:10.1016/j.scienta.2008.05.028.
- Cheung, Y., Meenu, M., Yu, X., & Xu, B. (2019). Phenolic acids and flavonoids profiles of commercial honey from different floral sources and geographic sources. International Journal of Food Properties, 22(1), 290–308. doi:10.1080/10942912.2019.1579835.
- Cianciosi, D., Forbes-Hernández, T. Y., Afrin, S., Gasparrini, M., Reboredo-Rodriguez, P., Manna, P. P., ... Battino, M. (2018). Phenolic compounds in honey and their associated health benefits: A review. *Molecules*, 23(9), 1–20. https://doi.org/10.3390/molecules23092322.
- Ciulu, M., Spano, N., Pilo, M., & Sanna, G. (2016). Recent Advances in the Analysis

of Phenolic Compounds in Unifloral Honeys. *Molecules*, 21(4), 451. doi:10.3390/molecules21040451.

- Conti, M. E. (2000). Lazio region (central Italy) honeys: a survey of mineral content and typical quality parameters. *Food Control*, 11(6), 459–463. doi:10.1016/s0956-7135(00)00011-6.
- Croatia Ministry of Agriculture. (2009). Ordinance on honey. Pursuant to Article 94, paragraph 2 of the Food Act (Official Gazette 46/07, 155/08).
- Deiana, V., Tuberoso, C., Satta, A., Pinna, C., Camarda, I., Spano, N., ... Floris, I. (2015). Relationship between markers of botanical origin in nectar and honey of the strawberry tree (Arbutus unedo) throughout flowering periods in different years and in different geographical areas. *Journal of Apicultural Research*, 54(4), 342–349. doi:10.1080/00218839.2016.1164540.
- DELAFUENTE, E., SANZ, M., MARTINEZCASTRO, I., SANZ, J., & RUIZMATUTE, A. (2007). Volatile and carbohydrate composition of rare unifloral honeys from Spain. *Food Chemistry*, 105(1), 84–93. doi:10.1016/j.foodchem.2007.03.039.
- Dramićanin, T., Lenhardt Acković, L., Zeković, I., & Dramićanin, M. D. (2018). Detection of Adulterated Honey by Fluorescence Excitation-Emission Matrices. *Journal of Spectroscopy*, 2018. https://doi.org/10.1155/2018/8395212.
- Escuredo, O., Dobre, I., Fernández-González, M., & Seijo, M. C. (2014). Contribution of botanical origin and sugar composition of honeys on the crystallization phenomenon. Food Chemistry, 149, 84–90. doi:10.1016/j.foodchem.2013.10.097.
- GHOSH, N., VERMA, Y., MAJUMDER, S. K., & GUPTA, P. K. (2005). A Fluorescence Spectroscopic Study of Honey and Cane Sugar Syrup. *Food Science and Technology Research*, 11(1), 59–62. doi:10.3136/fstr.11.59.
- Gok, S., Severcan, M., Goormaghtigh, E., Kandemir, I., & Severcan, F. (2015). Differentiation of Anatolian honey samples from different botanical origins by ATR-FTIR spectroscopy using multivariate analysis. *Food Chemistry*, 170, 234– 240. doi:10.1016/j.foodchem.2014.08.040.
- Graikou, K., Andreou, A., & Chinou, I. (2021). Chemical profile of Greek Arbutus unedo honey: biological properties. *Journal of Apicultural Research*, 61(1), 100–106. https://doi.org/10.1080/00218839.2021.1917860.

Hamdy, A.A., Ismail, H.M., Al-Ahwal, A-M., Gomma, N.F. Determination of

50

flavonoid and phenolic acid contents of clover, cotton and citrus floral honeys. *J. Egy. Public Health Assoc* .2009, 84, 245-259.

- Heoedus, Z. L., & Nayak, U. (1994). Homogentisic acid and structurally related compounds as intermediates in plasma soluble melanin formation and in tissue toxicities. Archives Internationales de Physiologie, de Biochimie et de Biophysique, 102(3), 175–181. doi:10.3109/13813459409007534.
- Iglesias, M. T., de Lorenzo, C., Polo, M. del C., Martín-Álvarez, P. J., & Pueyo, E. (2004). Usefulness of Amino Acid Composition To Discriminate between Honeydew and Floral Honeys. Application to Honeys from a Small Geographic Area. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(1), 84–89. doi:10.1021/jf030454q.
- Kamal, M. A., & Klein, P. (2011). Determination of sugars in honey by liquid chromatography. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 18(1), 17–21. doi:10.1016/j.sjbs.2010.09.003.
- Karabagias, I. K., Badeka, A. V., Kontakos, S., Karabournioti, S., & Kontominas, M. G. (2014). Botanical discrimination of Greek unifloral honeys with physicochemical and chemometric analyses. *Food Chemistry*, 165, 181–190. doi:10.1016/j.foodchem.2014.05.033.
- Karabagias, I. K., Nikolaou, C., & Karabagias, V. K. (2019). Volatile fingerprints of common and rare honeys produced in Greece: in search of PHVMs with implementation of the honey code. *European Food Research and Technology*. doi:10.1007/s00217-018-3137-x.
- Kaškonienė, V., Venskutonis, P. R., & Čeksterytė, V. (2010). Carbohydrate composition and electrical conductivity of different origin honeys from Lithuania. LWT - *Food Science and Technology*, 43(5), 801–807. doi:10.1016/j.lwt.2010.01.007.
- Kerdzierska-Matysek, M., Matwijczuk, A., Florek, M., Kornarzynski, K., Wolanciuk, A., Barłowska, J., & Gładyszewska, B. (2018). Effect of magnetic field on 5hydroxymethylfurfural content, diastase activity and changes in the ATR-FTIR spectra in raw buckwheat honey. Przemysł Chemiczny, 97, 381–386. https://doi.org/10.15199%2F62. 2018.3.8.
- Kędzierska-Matysek, M., Teter, A., Florek, M., Matwijczuk, A., Niemczynowicz, A., Matwijczuk, A., ... Gładyszewska, B. (2021). Use of physicochemical, FTIR and chemometric analysis for quality assessment of selected monofloral honeys.

Journal of Apicultural Research, 1–10. doi:10.1080/00218839.2021.1900637

- Kivima, E., Seiman, A., Pall, R., Sarapuu, E., Martverk, K., & Laos, K. (2014). Characterization of Estonian honeys by botanical origin. *Proceedings of the Estonian Academy of Sciences*, 63(2), 183. doi:10.3176/proc.2014.2.08.
- Kıvrak, Ş., & Kıvrak, İ. (2016). Assessment of phenolic profile of Turkish honeys. *International Journal of Food Properties*, 20(4), 864–876. doi:10.1080/10942912.2016.1188307.
- Korkmaz, S. D., & Küplülü, Ö. (2017). Effects of storage temperature on HMF and diastase activity of strained honeys. *Ankara Universitesi Veteriner Fakultesi Dergisi*, 64(4), 281–287. https://doi.org/10.1501/vetfak_0000002811.
- Leitatze des Deutschen Lebensmittelbuches. (2011). Bekanntmachung von Neufassungen bzw (Guiding principles of the German foodbook). Anderungen bestimmter Leitsatze des Deutschen Lebensmittelbuches, 30. ISSN 07206100.
- Lenhardt, L., Bro, R., Zeković, I., Dramićanin, T., & Dramićanin, M. D. (2015). Fluorescence spectroscopy coupled with PARAFAC and PLS DA for characterization and classification of honey. *Food Chemistry*, 175, 284–291. doi:10.1016/j.foodchem.2014.11.162.
- Lenhardt, L., Zeković, I., Dramićanin, T., Dramićanin, M. D., & Bro, R. (2014). Determination of the Botanical Origin of Honey by Front-Face Synchronous Fluorescence Spectroscopy. *Applied Spectroscopy*, 68(5), 557–563. doi:10.1366/13-07325.
- Lichtenberg-Kraag, B., Hedtke, C., & Bienefeld, K. (2002). Infrared spectroscopy in routine quality analysis of honey. Apidologie, 33(3), 327–337. doi:10.1051/apido:2002010.
- Lo Dico, G. M., Ulrici, A., Pulvirenti, A., Cammilleri, G., Macaluso, A., Vella, A., ...
 Ferrantelli, V. (2019). Multivariate statistical analysis of the polyphenols content for the discrimination of honey produced in Sicily (Southern Italy). *Journal of Food Composition and Analysis*, 82(April), 103225. https://doi.org/10.1016/j.jfca.2019.05.008.
- Machado, A., Antunes, M., Miguel, M., Vilas-Boas, M., Figueiredo, A. (2021).
 Volatile profile of Portuguese monofloral honeys: Significance in botanical origin determination. *Molecules*, 26(16), 4970. https://doi.org/10.3390/molecules26164970.

María OSÉS, S., NIETO, S., RODRIGO, S., PÉREZ, S., ROJO, S., Teresa

SANCHO, M., & Ángel FERNÁNDEZ-MUIÑO, M. (2020). Authentication of strawberry tree (Arbutus unedo L.) honeys from southern Europe based on compositional parameters and biological activities. Food Bioscience, 100768. doi:10.1016/j.fbio.2020.100768.

- Miguel, M., Faleiro, M., Guerreiro, A., & Antunes, M. (2014). Arbutus unedo L.: Chemical and Biological Properties. *Molecules*, 19(10), 15799–15823. doi:10.3390/molecules191015799.
- Molan, P. C. (1998). The limitations of the methods of identifying the floral source of honeys. *Bee World*, 79(2), 59–68. doi:10.1080/0005772x.1998.11099381.
- Moreira, R. F. A., De Maria, C. A. B., Pietroluongo, M., & Trugo, L. C. (2010). Chemical changes in the volatile fractions of Brazilian honeys during storage under tropical conditions. *Food Chemistry*, 121(3), 697–704. doi:10.1016/j.foodchem.2010.01.006.
- Odeh, I., Abu-Lafi, S., & Al-Najjar, I. (2013). Determination of potential volatiles markers from citrus, eucalyptus, cotton and wildflower palestinian honeys using SPME followed by GCMS analysis. *International Food Research Journal*, 20(3), 1243–1247.
- Orfanakis, E., Markoulidakis, M., Philippidis, A., Zoumi, A., & Velegrakis, M. (2021). Optical spectroscopy methods combined with multivariate statistical analysis for the classification of Cretan thyme, multi- floral and honeydew honey. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 101(13), 5337–5347. doi:10.1002/jsfa.11182.
- Parri, E., Santinami, G., & Domenici, V. (2020). Front-Face Fluorescence of Honey of Different Botanic Origin: A Case Study from Tuscany (Italy). *Applied Sciences*, 10(5), 1776. doi:10.3390/app10051776.
- Pauliuc, D., Ciursă, P., Ropciuc, S., Dranca, F., & Oroian, M. (2021). Physicochemical parameters prediction and authentication of different monofloral honeys based on FTIR spectra. *Journal of Food Composition and Analysis*, 102, 104021. doi:10.1016/j.jfca.2021.104021.
- Pasias, I. N., Raptopoulou, K. G., Makrigennis, G., Ntakoulas, D. D., Lembessis, D., Dimakis, V., ... Proestos, C. (2022). Finding the optimum treatment procedure to delay honey crystallization without reducing its quality. *Food Chemistry*, *381*(October 2021), 132301. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2022.132301.

Pérez, R. A., Sánchez-Brunete, C., Calvo, R. M., & Tadeo, J. L. (2002). Analysis of

Volatiles from Spanish Honeys by Solid-Phase Microextraction and Gas Chromatography–Mass Spectrometry. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 50(9), 2633–2637. doi:10.1021/jf011551r.

- Persano Oddo, L., & Bogdanov, S. (2004). Determination of honey botanical origin: problems and issues. Apidologie, 35(Suppl. 1), S2–S3. doi:10.1051/apido:2004044.
- Petretto, G. L., Cossu, M., & Alamanni, M. C. (2014). Phenolic content, antioxidant and physico-chemical properties of Sardinian monofloral honeys. *International Journal of Food Science & Technology*, 50(2), 482–491. doi:10.1111/ijfs.12652.
- Soro, A., & Paxton, R. J. (1999). The strawberry tree: A significant source of nectar around the Mediterranean basin. *Bee World*, 80(3), 140–144. https://doi.org/10.1080/0005772X.1999.11099443.
- Piasenzotto, L., Gracco, L., & Conte, L. (2003). Solid phase microextraction (SPME) applied to honey quality control. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 83(10), 1037–1044. doi:10.1002/jsfa.1502.
- Ramanauskiene, K., Stelmakiene, A., Briedis, V., Ivanauskas, L., & Jakštas, V. (2012). The quantitative analysis of biologically active compounds in Lithuanian honey. *Food Chemistry*, 132(3), 1544–1548. doi:10.1016/j.foodchem.2011.12.007.
- Rosa, A., Tuberoso, C. I. G., Atzeri, A., Melis, M. P., Bifulco, E., & Dessi, M. A. (2011). Anti-oxidant profile of strawberry tree honey and its marker homogentistic acid in several models of oxidative stress. *Food Chemistry*, 129, 1045–1053. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.05.07283(10).
- Ruoff, K., Luginbühl, W., Künzli, R., Iglesias, M. T., Bogdanov, S., Bosset, J. O., ... Amadò, R. (2006). Authentication of the Botanical and Geographical Origin of Honey by Mid-Infrared Spectroscopy. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54(18), 6873–6880. doi:10.1021/jf060838r.
- SABATIER, S., AMIOT, M. J., TACCHINI, M., & AUBERT, S. (1992). Identification of Flavonoids in Sunflower Honey. *Journal of Food Science*, 57(3), 773–774. doi:10.1111/j.1365-2621.1992.tb08094.x.
- Senyuva, H. Z., Gilbert, J., Silici, S., Charlton, A., Dal, C., Gürel, N., & Cimen, D. (2009). Profiling Turkish Honeys to Determine Authenticity Using Physical and Chemical Characteristics. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57(9), 3911–3919. doi:10.1021/jf900039s.

- Serbia Ordinance. (2003). Official Gazette of Serbia and Montenegro, No. 45/2003 17.10.2003.
- Sergiel, I., Pohl, P., Biesaga, M., & Mironczyk, A. (2014). Suitability of threedimensional synchronous fluorescence spectroscopy for fingerprint analysis of honey samples with reference to their phenolic profiles. *Food Chemistry*, 145, 319–326. doi:10.1016/j.foodchem.2013.08.069.
- Sivakesava, S., & Irudayaraj, J. (2001). Detection of inverted beet sugar adulteration of honey by FTIR spectroscopy. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 81(8), 683–690. doi:10.1002/jsfa.858.
- Stocker, A., Schramel, P., Kettrup, A., & Bengsch, E. (2005). Trace and mineral elements in royal jelly and homeostatic effects. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 19(2-3), 183–189. doi:10.1016/j.jtemb.2005.08.004.
- Stuart, B. (1997). Biological applications of infrared spectroscopy. Chichester, UK: ACOL Series, Wiley.
- Svečnjak, L., Prđun, S., Rogina, J., Bubalo, D., & Jerković, I. (2017). Characterization of Satsuma mandarin (Citrus unshiu Marc.) nectar-to-honey transformation pathway using FTIR-ATR spectroscopy. *Food Chemistry*, 232, 286–294. doi:10.1016/j.foodchem.2017.03.159.
- Svečnjak, L., Bubalo, D., Baranović, G., & Novosel, H. (2015). Optimization of FTIR-ATR spectroscopy for botanical authentication of unifloral honey types and melissopalynological data prediction. *European Food Research and Technology*, 240(6), 1101–1115. https://doi.org/10.1007/s00217-015-2414-1.
- Tananaki, C., Liolios, V., Kanelis, D., Rodopoulou, A. (2021). Investigation of volatile compounds in combination with multivariate analysis for the characterization of monofloral honeys. *Applied Sciences*, 12,164. 4. https://doi.org/10.3390/app12010264.
- Tewari, J. C., & Irudayaraj, J. M. K. (2005). Floral Classification of Honey Using Mid-Infrared Spectroscopy and Surface Acoustic Wave Based z-Nose Sensor. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(18), 6955–6966. doi:10.1021/jf050139z.
- Thrasyvoulou, A., Tananaki, C., Goras, G., Karazafiris, E., Dimou, M., Liolios, V.,
 ... Gounari, S. (2018). Legislación de criterios y normas de miel. *Journal of Apicultural Research*, 57(1), 88–96. https://doi.org/10.1080/00218839.2017.1411181.

55

- Terrab, A., Gonzalez, A. G., Diez, M. J., & Heredia, F. J. (2003). Characterisation of Moroccan unifloral honeys using multivariate analysis. European Food Research and Technology, 218(1), 88–95. doi:10.1007/s00217-003-0797-x
- Tomás-Barberán, F. A., Martos, I., Ferreres, F., Radovic, B. S., & Anklam, E. (2001). HPLC flavonoid profiles as markers for the botanical origin of European unifloral honeys. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 81(5), 485– 496. doi:10.1002/jsfa.836.
- Tornuk, F., Karaman, S., Ozturk, I., Toker, O. S., Tastemur, B., Sagdic, O., ... Kayacier, A. (2013). Quality characterization of artisanal and retail Turkish blossom honeys: Determination of physicochemical, microbiological, bioactive properties and aroma profile. *Industrial Crops and Products*, 46, 124–131. doi:10.1016/j.indcrop.2012.12.042.
- Torres, J. A., Valle, F., Pinto, C., García-Fuentes, A., Salazar, C., & Cano, E. (2002). *Plant Ecology*, 160(2), 207–223. doi:10.1023/a:1015864821706.
- Tuberoso, C. I. G., Bifulco, E., Caboni, P., Cottiglia, F., Cabras, P., & Floris, I. (2010). Floral Markers of Strawberry Tree (*Arbutus unedo* L.) Honey. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58(1), 384–389. doi:10.1021/jf9024147.
- Usha Rani, P., & Pratyusha, S. (2013). Defensive role of Gossypium hirsutum L. antioxidative enzymes and phenolic acids in response to Spodoptera litura F. feeding. *Journal of Asia-Pacific Entomology*, 16(2), 131–136. doi:10.1016/j.aspen.2013.01.001.
- Xagoraris, M., Revelou, P. K., Alissandrakis, E., Tarantilis, P. A., & Pappas, C. S. (2021). The use of right angle fluorescence spectroscopy to distinguish the botanical origin of greek common honey varieties. *Applied Sciences* (*Switzerland*), 11(9). https://doi.org/10.3390/app11094047.
- Xagoraris, M., Revelou, P.-K., Dedegkika, S., Kanakis, C. D., Papadopoulos, G. K., Pappas, C. S., & Tarantilis, P. A. (2021). SPME-GC-MS and FTIR-ATR Spectroscopic Study as a Tool for Unifloral Common Greek Honeys' Botanical Origin Identification. *Applied Sciences*, 11(7), 3159. doi:10.3390/app11073159.

Ελληνική βιβλιογραφία

- Αρβανίτης, Ν. 2021. Φασματοσκοπική μελέτη, αεριοχρωματογραφική μελέτη των πτητικών συστατικών και φαινολικών συστατικών μελιού Ηλίανθου του Ετήσιου (*Helianthus annuus* L.). Πτυχιακή μελέτη. Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών.
- Θρασυβούλου, Α., Μανίκης, Ι., Τανανάκη, Χ., Τσέλλιος, Δ., Καραμπουρνιώτη, Σ. & Δήμου, Μ., 2002. Η ταυτότητα του ελληνικού μελιού Α. Φυσικοχημικά χαρακτηριστικά που στηρίζουν την ποιότητα του προϊόντος. 1° Επιστημονικό Συνέδριο Μελισσοκομίας- Σηροτροφίας, Αθήνα 29 Νοεμβρίου- 1 Δεκεμβρίου 2002, σελ., 232-253.
- Κώδικας Τροφίμων και Ποτών. 2016. «Μέλι». Γλυκαντικές Ύλες. Άρθρο 67-1. Έκδοση 4. Νοέμβριος 2016, 67-1.
- Κώδικας Τροφίμων και Ποτών. 2012. «Ταυτοποίηση αμιγών ελληνικών μελιών πεύκου, θυμαριού, ελάτης, βαμβακιού, πορτοκαλιάς, ερείκης, καστανιάς και ηλίανθου. » Γλυκαντικές Ύλες. Άρθρο 67α. Έκδοση 2. 67α, 1-4.
- Λαζάρου, Ε. 2020. Χρωματογραφική και φασματοσκοπική μελέτη του χημειότυπου μελιού κουμαριάς. Μεταπτυχιακή διατριβή. Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών.
- Οδηγία 2014/63/ΕΕ του Ευρωπαϊκού Κοινοβουλίου και Συμβουλίου της 15ης Μαΐου 2014 για την τροποποίηση της οδηγίας 2001/110/ΕΚ του Συμβουλίου για το μέλι.
- Οδηγία 2001/110/ΕΚ του Συμβουλίου της 20ης Δεκεμβρίου 2001, για το μέλι.
- Τανανάκη, Χ.,. Μέλι κουμαριάς.. Εργαστήριο Μελισσοκομίας-Σηροτροφίας Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης. Μελισσοκομική Επιθεώρηση. <u>https://www.melissokomikiepitheorisi.gr/meli-koumarias-022015/</u>.
- Υπουεγείο Αγροτικής Ανάπτυξης και Τροφίμων. Στοιχεία παραγωγής μελιού για το σύνολο της χώρας. <u>http://minagric.gr/index.php/el/for-farmer-2/animal-</u> production/bees-honey/586-statistika-meliou.

<u>Ιστοσελίδες</u>

https://www.fao.org/3/ca4657en/CA4657EN.pdf

- https://ec.europa.eu/info/food-farming-fisheries/animals-and-animal-products/animalproducts/honey_en
- https://www.wikiwand.com/el/%CE%92%CE%B1%CE%BC%CE%B2%CE%AC% CE%BA%CE%B9_(%CE%AF%CE%BD%CE%B1)

https://eur-lex.europa.eu/legal-

content/EL/TXT/PDF/?uri=CELEX:52019DC0635&from=EN

https://www.iama.gr/ethno/arta/HoneyIdentity.pdf

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ Ι

GC-MS

Βαμβάκι_Κωπαΐδα_2019_001







Βαμβάκι Καρδίτσα 2019 25









Βαμβάκι_Καρδίτσα_2019_29



Βαμβάκι_Λάρισσα_2019_41



Βαμβάκι_Θεσσαλονίκη_2019_66







Βαμβάκι_Αξιός_2019_84



Βαμβάκι_Βοιωτίας_2019_86



Βαμβάκι_Θεσσαλονίκη_2019_92



Βαμβάκι_Θεσσαλονίκη_2019_92b



Βαμβάκι_Βοιωτία_2019_95



Βαμβάκι_Κομοτηνή_2019_97



Βαμβάκι_Θεσσαλονίκη_2019_148



Βαμβάκι_Λάρισσα_2020_159



Βαμβάκι_Καρδίτσα_2020_166



Βαμβάκι_Λάρισσα_2019_205



Βαμβάκι_Ημαθεία_2020_208



Βαμβάκι_Καρδίτσα_2020_227



Βαμβάκι_Καρδίτσα_2019_236



Βαμβάκι_Τρίπολη_2019_270



Βαμβάκι_Τρίπολη_2019_271







Κουμαριά_Σέτα_2019_002



Κουμαριά_Λεωνίδιο_2019_003



Κουμαριά_Πρέσπες_2021_004



Κουμαριά_Ιωάννινα_2021_005



Κουμαριά_Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών_2021_006



Κουμαριά_Ιωάννινα_2021_007



Κουμαριά_2021_008



Κουμαριά_2021_009



Κουμαρια_Σπάρτη_2021_010



Κουμαριά_Σπάρτη_2021_011



Κουμαριά_Αγρίνιο_2021_012



Κουμαριά_Ερμιόνη_2021_013



ПАРАРТНМА ІІ

LC-Qtof-MS

Βαμβάκι_Κωπαΐδα_2019_001



Βαμβάκι_Θεσσαλονίκη_2018_02



Βαμβάκι_Καρδίτσα_2019_25



Βαμβάκι_Καρδίτσα_2019_28



Βαμβάκι_Καρδίτσα_2019_29



Βαμβάκι_Λάρισσα_2019_41





















Βαμβάκι_Θεσσαλονίκη_2019_92b


















Βαμβάκι_Θεσσαλονίκη_2019_148











Βαμβάκι_Καρδίτσα_2020_166



Βαμβάκι_Βοιωτία_2019_193



Βαμβάκι_Λάρισσα_2019_205























Κουμαριά_Σέτα_2019_002



Κουμαριά_Λεωνίδιο_2019_003



Κουμαριά_Πρέσπες_2021_004









Κουμαριά_Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών_2021_006

Κουμαριά_Ιωάννινα_2021_007











Κουμαριά_Σπάρτη_2021_010



Κουμαριά_Σπάρτη_2021_011



Κουμαριά_Αγρίνιο_2021_012







ПАРАРТНМА III

FT-IR

Βαμβάκι _Κωπαΐδα_2019_001







Βαμβάκι _Καρδίτσα_2019_25



Βαμβάκι _Καρδίτσα_2019_28







Βαμβάκι _Λάρισσα_2019_41



Βαμβάκι_Θεσσαλονίκη_2019_66







Βαμβάκι_Βοιωτία_2019_86















Βαμβάκι_Βοιωτία_2019_95







Βαμβάκι_Εύβοια_2018_102



Βαμβάκι _Βοιωτία_2019_112











Βαμβάκι_Λάρισσα_2020_159







Βαμβάκι _Βοιωτία_2019_193



Βαμβάκι_Λάρισσα_2019_205











Βαμβάκι _Καρδίτσα_2018_236







Βαμβάκι _Τρίπολη_2019_271







Κουμαριά Σέτα 2019 002



Κουμαριά_Λεωνίδιο_2019_003



Κουμαριά_Πρέσπες_2021_004







Κουμαριά _Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών_2021_006



Κουμαριά Ιωάννινα 2021 007



Κουμαριά Σπάρτη 2021 0010



Κουμαριά _Σπάρτη_2021_0011







Κουμαριά Ερμιόνη 2021_013



ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ ΙV

Βαμβάκι _Κωπαΐδα_2019_001



Βαμβάκι _Θεσσαλονίκη_2018_02



Βαμβάκι Καρδίτσα 2019 25



Βαμβάκι _Καρδίτσα_2019_28



Βαμβάκι_Καρδίτσα_2019_29



Βαμβάκι _Λάρισσα_2019_41



Βαμβάκι_Θεσσαλονίκη_2019_66







Βαμβάκι_Βοιωτία_2019_86



Βαμβάκι_Θάσσος_2019_90



Βαμβάκι _Θεσσαλονίκη_2019_92



Βαμβάκι _Θεσσαλονίκη_2019_92b



Βαμβάκι _Βοιωτία_2019_95



Βαμβάκι _Κομοτηνή_2019_97



Βαμβάκι Εύβοια 2018 102



Βαμβάκι _Βοιωτία_2019_112



Βαμβάκι_Θεσσαλονίκη_2019_148



Βαμβάκι _Λάρισσα_2019_154



Βαμβάκι _Λάρισσα_2020_159



Βαμβάκι _Καρδίτσα_2020_166



Βαμβάκι _Βοιωτία_2019_193



Βαμβάκι _Λάρισσα_2019_205



Βαμβάκι _Ημαθεία_2020_208



Βαμβάκι _Καρδίτσα_2020_227



Βαμβάκι_Καρδίτσα_2018_236



Βαμβάκι_Τρίπολη_2019_270



Βαμβάκι_Τρίπολη_2019_271



Κουμαριά_001



Κουμαριά Σέτα 2019 002



Κουμαριά _Λεωνίδιο_2019_003



Κουμαριά _Πρέσπες_2021_004



Κουμαριά Ιωάννινα 2021 005



Κουμαριά Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών 2021_006



Κουμαριά Ιωάννινα 2021_007







Κουμαριά _2021_009



Κουμαριά _Σπάρτη_2021_0010



Κουμαριά _ Σπάρτη_2021_0011



Κουμαριά _Αγρίνιο_2021_012



Κουμαριά Ερμιόνη 2021_013

