Εθνικό Μετσόβιο Πολυτεχνείο

Σχολή Χημικών Μηχανικών

Τομέας Ι - Χημικών Επιστημών

# Ανάπτυξη πράσινης αναλυτικής τεχνικής για ανίχνευση νοθείας παρθένου ελαιόλαδου με ηλεκτροαναλυτικές τεχνικές

**Διπλωματική Εργασία**

Μπιτάκος Στυλιανός

**Επιβλέπων Καθηγητής**

Τσόπελας Φώτιος

Αθήνα

Φεβρουάριος 2021

# Πρόλογος

Η παρούσα διπλωματική εργασία εκπονήθηκε στα πλαίσια της εκπαιδευτικής διαδικασίας της Σχολής Χημικών Μηχανικών του Εθνικού Μετσόβιου Πολυτεχνείου. Η υλοποίησή της έγινε από τον Νοέμβριο του 2020 έως και τον Φεβρουάριο του 2021, στον Τομέα (Ι) Χημικών Επιστημών της Σχολής και συγκεκριμένα στο Εργαστήριο Ανόργανης και Αναλυτικής Χημείας. Ως σκοπό είχε την μετατροπή μιας βολταμμετρικής μεθόδου ταυτοποίησης και ποσοτικοποίησης της νοθείας εξαιρετικά παρθένου ελαιόλαδου σε περιβαλλοντικά φιλικότερη με χρήση μόνο νερού για την προετοιμασία του δείγματος πριν την βολταμμετρική ανάλυση. Με αυτό τον τρόπο εξετάστηκε η δυνατότητα αυτών των μεθόδων για ποσοτικό υπολογισμό νοθείας στο ελαιόλαδο ενώ υπολογίστηκαν και τα όρια ανίχνευσης και ποσοτικοποίησης. Παράλληλα, η συγκεκριμένη διπλωματική εργασία σηματοδοτεί την ολοκλήρωση των προπτυχιακών σπουδών μου. Συνεπώς, θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά όλους τους ανθρώπους που με υποστήριξαν στην εκπόνηση αυτής της διπλωματικής, αλλά και συνολικά με τις σπουδές μου. Αρχικά, θα ήθελα να ευχαριστήσω ιδιαίτερα τον υπεύθυνο της διπλωματικής μου, επίκουρο καθηγητή του Ε.Μ.Π., κύριο Φώτιο Τσόπελα για την ανάθεση του θέματος και τη δυνατότητα που μου έδωσε να ασχοληθώ με αυτό το πολύ ενδιαφέρον θέμα. Η επιτυχής ολοκλήρωση αυτής της διπλωματικής εργασίας δεν θα ήταν δυνατή χωρίς την συνεισφορά και ουσιαστική υποστήριξη από την Δρ. Χημικό Μηχανικό του ΕΜΠ Λαμπρινή-Αρετή Τσακανίκα καθώς και τον Δρ. Λεωνίδα Μενδρινό για την γενικότερη βοήθεια και γνώσεις που παρείχε.

Τέλος, ένα μεγάλο ευχαριστώ οφείλω στην οικογένεια μου και τους φίλους μου, εντός και εκτός Σχολής για την υποστήριξη τους σε όλα τα χρόνια των προπτυχιακών μου σπουδών.

# Περιεχόμενα


Πρόλογος ........ 1

Ευρετήριο Σχημάτων ........ 5

Ευρετήριο Πινάκων ........ 7

Περίληψη ........ 8

Abstract ........ 10

Κεφάλαιο 1 «Το ελαιόλαδο» ........ 13

1.1 Εισαγωγή ........ 13

1.2 Ελαιόλαδο ........ 13

1.2.1 Το δέντρο Ελιάς ........ 13

1.2.2 Παραγωγή Ελαιόλαδου ........ 14

1.2.3 Κατανάλωση Ελαιολάδου ........ 14

1.2.4 Το Ελαιόλαδο στην Ελληνική Οικονομία ........ 15

1.2.5 Το Ελαιόλαδο και η προληπτική Ιατρική ........ 16

1.2.6 Κατηγορίες Ελαιόλαδου ........ 17

1.2.7 Ιδιότητες Ελαιόλαδου ........ 18

1.3 Πυρηνέλαιο ........ 19

1.4 Σπορέλαια (Αραβοσιτέλαιο-Σογιέλαιο-Ηλιέλαιο) ........ 19

1.5 Πιστοποίηση του Ελαιόλαδου ........ 20

1.5.1 Προϊόντα Ονομασίας Προέλευσης – Προϊόντα Γεωγραφικής Ένδειξης – Οργανικής Καλλιέργειας ........ 21

1.5.2 Εμπόριο ........ 22

1.5.3 Έλεγχοι ........ 22

1.5.4 Θεσμικό Πλαίσιο ........ 22

1.5.6 Φορείς Πιστοποίησης ........ 23

1.5.7 ΠΟΠ/ΠΓΕ Ελαιόλαδα στην Ελλάδα ........ 24

1.6 Νοθεία Ελαιόλαδου ........ 24

1.6.1 Έλαια εμπλεκόμενα στη νοθεία του Ελαιόλαδου ........ 24

1.6.2 Έλεγχος του Ελαιόλαδου σε Διεθνές και Ελληνικό Επίπεδο ........ 25

1.6.3 Σημασία της δυνατότητας ανίχνευσης νοθείας στο Ελαιόλαδο για την

Ευρωπαϊκή Ένωση ........................................................ 26
Κεφάλαιο 2 «Δοκιμασίες-Τεχνικές ανίχνευσης νοθείας στο Ελαιόλαδο» ........................ 27
2.1 Επίσημες τεχνικές ανίχνευσης νοθείας ελαιόλαδου ........................ 27
2.2 Φασματομετρία IR και Raman ........................ 27
2.3 Φασματομετρία IR ........................ 28
2.4 Φασματομετρία Raman ........................ 29
2.4.1 Μελέτες ανάλυσης Ελαιόλαδου με φασματομετρία IR και Raman ........................ 29
2.5 DSC (Διαφορική θερμιδομετρία σάρωσης) ........................ 30
2.5.1 Μελέτες Ανάλυσης Ελαιόλαδου με DSC ........................ 30
2.6 Φασματομετρία Υπεριώδους-Ορατού (UV-Vis) ........................ 31
2.6.1 Μελέτες Ανάλυσης Ελαιόλαδου με Φασματομετρία UV-Vis ........................ 31
2.7 Φασματομετρία Πυρηνικού Μαγνητικού Συντονισμού (NMR) ........................ 31
2.7.1 Μελέτες Ανάλυσης Ελαιόλαδου με Φασματομετρία NMR ........................ 31
2.8 Χρωματογραφικές Τεχνικές Ανάλυσης ........................ 32
2.8.1 Υγροχρωματογραφία-HPLC ........................ 32
2.8.2 Αεριοχρωματογραφία-GC ........................ 33
2.9 Ηλεκτροαναλυτικές Τεχνικές ........................ 33
2.9.1 Κυκλική Βολταμμετρία ........................ 34
2.10 Ηλεκτρόδια Εργασίας ........................ 35
2.10.1 Ηλεκτρόδιο Υαλώδους Άνθρακα ........................ 36
2.10.2 Ηλεκτρόδιο Λευκόχρυσου ........................ 36
2.10.3 Ηλεκτρόδιο Χρυσού ........................ 37
Κεφάλαιο 3 «Μελέτες Ανάλυσης Ελαιόλαδου με βάση τις ηλεκτροαναλυτικές τεχνικές» 39
3.1 Χημειομετρία ........................ 39
3.2 Ανάλυση κύριων συνιστωσών (Principal Component Analysis, PCA) ........................ 40
3.3 Διακριτή (διακριτική) ανάλυση μερικών τετραγώνων (Partial Least Squares Discriminant Analysis, PLS-DA) ........................ 41
3.4 Ανάλυση μιας κλάσης (class-modelling) ........................ 42
3.5 Ανάλυση παλινδρόμησης μερικών ελαχίστων τετραγώνων (Partial Least Squares)43
Κεφάλαιο 4 «Πειραματική Διαδικασία» ........................ 46

4.1 Σκοπός ........ 46
4.2 Αντιδραστήρια, Υλικά που χρησιμοποίηθηκαν ........ 46
4.2.1 Έλαια που χρησιμοποιήθηκαν ........ 46
4.2.2 Σύστημα Βολταμετρικών Αναλύσεων ........ 50
4.3 Ανάλυση ελαίων με κυκλική βολταμετρία ........ 52
4.4 Παρασκευή Μειγμάτων Ελαίων ........ 53
Κεφάλαιο 5 «Αποτελέσματα» ........ 56
5.1 Προκαταρκτικά Πειράματα ........ 56
5.2 Μελέτη ελαιόλαδων και σπορέλαιων με κυκλική βολταμμετρία σεηλεκτρόδιο εργασίας Υαλώδους Άνθρακα ........ 57
5.2.1 Ανάλυση PCA ........ 61
5.2.2 Class Modeling (Μοντελοποίηση Ταξινόμησης) ........ 61
5.2.3 Ανάλυση PLS-DA ........ 62
5.3 Μελέτη ελαιόλαδων και σπορέλαιων με κυκλική βολταμμετρία σε ηλεκτρόδιο εργασίας Λευκόχρυσου ........ 67
5.3.1 Ανάλυση PCA ........ 71
5.3.2 Class Modeling (Μοντελοποίηση Ταξινόμησης) ........ 71
5.3.3 Ανάλυση PLS-DA ........ 73
5.3.4 PLS ........ 76
5.4 Μελέτη ελαιόλαδων και σπορέλαιων με κυκλική βολταμμετρία σεηλεκτρόδιο εργασίας Χρυσού ........ 77
5.4.1 Ανάλυση PCA ........ 82
5.4.2 Class Modeling (Μοντελοποίηση Ταξινόμησης) ........ 83
5.4.3 Ανάλυση PLS-DA ........ 84
5.4.4 PLS ........ 88
Κεφάλαιο 6 «Σύγκριση Κυκλικής Βολταμμετρίας με υπάρχουσες μεθόδους» ........ 90
Συμπεράσματα ........ 91
Προτάσεις ........ 93
Βιβλιογραφία ........ 94

# Ευρετήριο Σχημάτων


Σχήμα 1: Τριγωνική κυματομορφή δυναμικού ........ 35

Σχήμα 2: Το σύστημα βολταμετρικών αναλύσεων 797 VA Computance ........ 50

Σχήμα 3: Θερμαντική Πλάκα Ανάδευσης ........ 52

Σχήμα 4: Μείγμα Ηλιέλαιο-Νερού στην Διαχωριστική Χωάνη ........ 53

Σχήμα 5: Βολταμμογράφημα Εξαιρετικά Παρθένου Ελαιόλαδου με ηλεκτρόδιο υαλώδους άνθρακα........ 57

Σχήμα 6: Βολταμμογράφημα Απλού Ελαιόλαδου με ηλεκτρόδιο υαλώδους άνθρακα ........ 58

Σχήμα 7: Βολταμμογράφημα Πυρηνέλαιου με ηλεκτρόδιο υαλώδους άνθρακα ........ 59

Σχήμα 8: Βολταμμογράφημα Σογιέλαιου με ηλεκτρόδιο υαλώδους άνθρακα ........ 59

Σχήμα 9: Βολταμμογράφημα Αραβοσιτέλαιου με ηλεκτρόδιο υαλώδους άνθρακα ........ 60

Σχήμα 10: Βολταμμογράφημα Ηλιέλαιου με ηλεκτρόδιο υαλώδους άνθρακα ........ 60

Σχήμα 11: Διάγραμμα συντεταγμένων της μεθόδου PCA για την ανάλυση των δειγμάτων και τον διαχωρισμό τους ........ 61

Σχήμα 12: Διάγραμμα ταξινόμης με την μέθοδο ClassModeling για την ανάλυση των δειγμάτων ........ 62

Σχήμα 13: Διάγραμμα συντεταγμένων της μεθόδου PLS-DA (3 ομάδων) για την ανάλυση υδατικών εκχυλισμάτων με ηλεκτρόδιο υαλώδους άνθρακα........ 63

Σχήμα 14: Διάγραμμα συντεταγμένων της μεθόδου PLS-DA (3 ομάδων) για την ανάλυση υδατικών εκχυλισμάτων αγνώστων ιδιοτήτων με ηλεκτρόδιο υαλώδους άνθρακα ........ 65

Σχήμα 15: Διάγραμμα συντεταγμένων της μεθόδου PLS-DA (2 ομάδων) για την ανάλυση υδατικών εκχυλισμάτων με ηλεκτρόδιο υαλώδους άνθρακα........ 66

Σχήμα 16: Διάγραμμα συντεταγμένων της μεθόδου PLS-DA (2 ομάδων) για την ανάλυση υδατικών εκχυλισμάτων αγνώστων ιδιοτήτων με ηλεκτρόδιο υαλώδους άνθρακα ........ 66

Σχήμα 17: Βολταμμογράφημα Εξαιρετικά παρθένου Ελαιόλαδου με ηλεκτρόδιο πλατίνας ..... 67

Σχήμα 18: Βολταμμογράφημα Απλού Ελαιόλαδου με ηλεκτρόδιο πλατίνας ........ 68

Σχήμα 19: Βολταμμογράφημα Πυρηνέλαιου με ηλεκτρόδιο πλατίνας........ 69

Σχήμα 20: Βολταμμογράφημα Ηλιέλαιου  με ηλεκτρόδιο πλατίνας ........ 69

Σχήμα 21: Βολταμμογράφημα Αραβοσιτέλαιου με ηλεκτρόδιο πλατίνας........ 70

Σχήμα 22: Βολταμμογράφημα Σογιέλαιου με ηλεκτρόδιο πλατίνας........................................ 70
Σχήμα 23: Διάγραμμα συντεταγμένων της μεθόδου PCA για την ανάλυση των δειγμάτων και τον διαχωρισμό τους ........................................................................................ 71
Σχήμα 24: Διάγραμμα ταξινόμης με την μέθοδο Class Modeling για την ανάλυση των δειγμάτων ........................................................................................ 72
Σχήμα 25: Διάγραμμα συντεταγμένων της μεθόδου PLS-DA (3 ομάδων) για την ανάλυση υδατικών εκχυλισμάτων με ηλεκτρόδιο λευκόχρυσου ........................................ 73
Σχήμα 26: Διάγραμμα συντεταγμένων της μεθόδου PLS-DA (3 ομάδων) για την ανάλυση υδατικών εκχυλισμάτων αγνώστων ιδιοτήτων με ηλεκτρόδιο λευκόχρυσου .................... 74
Σχήμα 27: Διάγραμμα συντεταγμένων της μεθόδου PLS-DA (2 ομάδων) για την ανάλυση υδατικών εκχυλισμάτων με ηλεκτρόδιο λευκόχρυσου ........................................ 75
Σχήμα 28: Διάγραμμα συντεταγμένων της μεθόδου PLS-DA (2 ομάδων) για την ανάλυση υδατικών εκχυλισμάτωνα αγνώστων ιδιοτήτων με ηλεκτρόδιο λευκόχρυσου .................. 75
Σχήμα 29: Δίαγραμμα Predicted/Observed ........................................ 76
Σχήμα 30: Βολταμμογράφημα Εξαιρετικά παρθένου Ελαιόλαδου με ηλεκτρόδιο χρυσού........ 78
Σχήμα 31: Βολταμμογράφημα Εξαιρετικά παρθένου Ελαιόλαδου με ηλεκτρόδιο χρυσού........ 79
Σχήμα 32: Βολταμμογράφημα Πυρηνέλαιου με ηλεκτρόδιο χρυσού ........................................ 80
Σχήμα 33: Βολταμμογράφημα Ηλιέλαιου με ηλεκτρόδιο χρυσού ........................................ 80
Σχήμα 34: Σογιέλαιου με ηλεκτρόδιο χρυσού........................................ 81
Σχήμα 35: Αραβοσιτέλαιου με ηλεκτρόδιο χρυσού ........................................ 81
Σχήμα 36: Διάγραμμα συντεταγμένων της μεθόδου PCA για την ανάλυση των δειγμάτων και τον διαχωρισμό τους ........................................................................................ 83
Σχήμα 37: Διάγραμμα ταξινόμης με την μέθοδο Class Modeling για την ανάλυση των δειγμάτων ........................................................................................ 84
Σχήμα 38: Διάγραμμα συντεταγμένων της μεθόδου PLS-DA (3 ομάδων) για την ανάλυση υδατικών εκχυλισμάτων με ηλεκτρόδιο χρυσού ........................................ 85
Σχήμα 39: Διάγραμμα συντεταγμένων της μεθόδου PLS-DA (3 ομάδων) για την ανάλυση υδατικών εκχυλισμάτων αγνώστων ιδιοτήτων με ηλεκτρόδιο χρυσού .............................. 86
Σχήμα 40: Διάγραμμα συντεταγμένων της μεθόδου PLS-DA (2 ομάδων) για την ανάλυση

υδατικών εκχυλισμάτων με ηλεκτρόδιο χρυσού ... 87
Σχήμα 41: Διάγραμμα συντεταγμένων της μεθόδου PLS-DA (2 ομάδων) για την ανάλυση υδατικών εκχυλισμάτων αγνώστων ιδιοτήτων με ηλεκτρόδιο χρυσού ... 88
Σχήμα 42: Διάγραμμα Predicted/Observed ... 89

## Ευρετήριο Πινάκων

Πίνακας 1: Φυσικές και Χημικές Ιδιότητες ελαιόλαδων ... 18
Πίνακας 2: Αριθμός Ιωδίου για διάφορα σπορέλαια ... 20
Πίνακας 3: Εξαιρετικά Παρθέα Ελαιόλαδα που συλλέχθηκαν και χρησιμοποιήθηκαν στην πειραματική διαδικασία ... 47
Πίνακας 4: Εξευγενισμένα Ελαιόλαδα που συλλέχθηκαν και χρησιμοποιήθηκαν στην πειραματική διαδικασία ... 48
Πίνακας 5: Πυρηνέλαια που συλλέχθηκαν και χρησιμοποιήθηκαν στην πειραματική διαδικασία ... 49
Πίνακας 6: Αραβοσιτέλαια που συλλέχθηκαν και χρησιμοποιήθηκαν στην πειραματική διαδικασία ... 49
Πίνακας 7: Ηλιέλαια που συλλέχθηκαν και χρησιμοποιήθηκαν στην πειραματική διαδικασία 49
Πίνακας 8: Σογιέλαια που συλλέχθηκαν και χρησιμοποιήθηκαν στην πειραματική διαδικασία 49
Πίνακας 9: Τεχνικά Χαρακτηριστικά του Συστήματος Βολταμμετρικών Αναλύσεων 797 VA Computrace ... 51
Πίνακας 10: Εξαιρετικά Παρθένα Ελαιόλαδα που αναμίχθηκαν για την δημιουργία αντιπροσωπευτικού μείγματος Ελαιόλαδου ... 54
Πίνακας 11: Ηλιέλαια, Σογιέλαια και Πυρηνέλαια που αναμίχθηκαν για την δημιουργία αντιπροσωπευτικού μείγματος Σπορέλαιου ... 55
Πίνακας 12: Δεδομένα της μεθόδου ... 77
Πίνακας 13: Δεδομένα της μεθόδου για ποσοστά νοθείας σε εξαιρετικά παρθένο ελαιόλαδο 89

## Περίληψη

Κατά την παρούσα διπλωματική εργασία πραγματοποιήθηκε μελέτη με σκοπό την μετατροπή μιας βολταμμετρικής μεθόδου ταυτοποίησης και ποσοτικοποίησης της νοθείας του εξαιρετικά παρθένου ελαιόλαδου σε μια περιβαλλοντικά φιλικότερη μέθοδο, με χρήση μόνο νερού για την προετοιμασία του δείγματος πριν την βολταμμετρική ανάλυση. Η νοθεία του παρθένου ελαιόλαδου έγινε με έλαια χαμηλότερης ποιότητας και αξίας, όπως το ηλιέλαιο, το πυρηνέλαιο, το σογιέλαιο και το αραβοσιτέλαιο. Για τον σκοπό αυτό έγινε συλλογή ενός μεγάλου αριθμού από τα έλαια που αναφέρθηκαν και κυκλοφορούν στην ελληνική αγορά. Έγινε ειδική επεξεργασία των ελαίων αυτών με καθαρό νερό, με σκοπό την συλλογή του εκχυλίσματός τους. Ακολούθως, έγινε μελέτη της βολταμμετρικής συμπεριφοράς των υδατικών εκχυλισμάτων σε ηλεκτρόδια εργασίας υαλώδους άνθρακα, χρυσού και λευκόχρυσου. Για την κατηγοριοποίηση των ελαίων, έγινε εξαγωγή των δεδομένων (datapoints) της κυκλικής βολταμμετρίας του κάθε δείγματος, καθώς και των βολταμμογραφημάτων, τα οποία υποβλήθηκαν σε χημειομετρική ανάλυση με τη μέθοδο της ανάλυσης κύριων συνιστωσών (Principal Component Analysis, PCA), της διακριτικής ανάλυσης μερικών ελαχίστων τετραγώνων  (Partial Least Squares-Discriminat Analysis, PLS-DA) και της ανάλυσης της Μοντελοποίησης Ταξινόμησης (Class Modeling), με τη βοήθεια του προγράμματος SIMCA (Soft Independent Modeling of Class Analogy). Στη συνέχεια, πραγματοποίηθηκε ποσοτικοποίηση της νοθείας εξαιρετικά παρθένων ελαιόλαδων με σπορέλαια και πυρηνέλαια, μέσω κυκλικής βολταμμετρίας με μέσο εκχύλισης το νερό. Για τον σκοπό αυτό χρησιμοποίθηκαν μείγματα εξαιρετικά παρθένου ελαιόλαδου και διαφόρων σπορέλαιων και πυρηνέλαιων. Η πειραματική διαδικασία που ακολουθήθηκε είναι ίδια όπως και στην προηγούμενη περίπτωση, κυκλική βολταμμετρία με χρήση τριών ηλεκτροδίων εργασίας, υαλώδους άνθρακα, χρυσού και λευκόχρυσου. Τα λαμβανόμενα βολταμμογραφήματα επεξεργάστηκαν με την μέθοδο των μερικών ελαχίστων τετραγώνων (Partial Least Squares). Η προτεινόμενη μέθοδος της κυκλικής βολταμμετρίας ανάλυσης υδατικών εκχυλισμάτων των ελαίων εμφανίζει όριο ανίχνευσης (LOD) 2,1% (v/v) και όριο

ποσοτικοποίησης (LOQ) 6,3% (v/v), στην περίπτωση που χρησιμοποιείται ηλεκτρόδιο λευκόχρυσου. Στην περίπτωση χρήσης ηλεκτροδίου χρυσού, οι αντίστοιχες τιμές είναι 2,2% (v/v) (LOD) και 6,7% (v/v) (LOQ). Παρατηρείται ότι οι τιμές στα όρια ανίχνευσης και ποσοτικοποίησης στα δύο ηλεκτρόδια δεν παρουσιάζουν μεγάλες αποκλίσεις. Το ηλεκτρόδιο εργασίας το οποίο έδωσε καλύτερη διαφοροποίηση μεταξύ των ελαίων είναι του υαλώδους άνθρακα, καθώς κατά την χημειομετρική επεξεργασία τόσο του χρυσού όσο και του λευκόχρυσου, δεν παρατηρήθηκε ανάλογη διαφοροποίηση.

**Λέξεις- κλειδιά**: Νοθεία ελαιόλαδου, εξαιρετικά παρθένο/ παρθένο ελαιόλαδο, νερό, πυρηνέλαιο, σπορέλαια, κυκλική βολταμμετρία, ανάλυση κύριων συνιστωσών, μοντελοποίηση κλάσης, διακριτή ανάλυση μερικών ελαχίστων τετραγώνων, ανάλυση μερικών ελαχίστων τετραγώνων.

## Abstract

In this Diploma thesis, an investigation was carried out in order to convert a voltammetric method for identification and quantification of the extra virgin olive oil adulteration, previously developed by the laboratory of Inorganic and Analytical Chemistry, into a more environmentally friendly method, using only water to prepare the sample before the voltammetric analysis. Adulterated extra virgin olive oil samples were prepared by mixing extra virgin olive oil samples with certain amounts of oils of lower quality, such as sunflower oil, kernel oil, soybean oil and corn oil. For this purpose, a large number of commercially available oils were collected from the Greek market. These oils were specially treated with clean water and their aqueous extract was collected. Next, the voltammetric behavior of these aqueous extracts was studied on glassy carbon, gold and platinum working electrodes. For the classification of oils, the data (datapoints) of the cyclic voltammetry of each sample were extracted and submitted to chemometric analysis using Principal Component Analysis (PCA), Partial Least Squares-Discriminant Analysis (PLS-DA) and Class Modeling using Soft Independent Modeling of Class Analogy (SIMCA). Subsequently, the adulteration of extra virgin olive oils with seed and kernel oils was quantified by cyclic voltammetry with water extraction. For this purpose, mixtures of extra virgin olive oil and various seed oils and kernel oils were used. The experimental procedure followed is the same as in the previous case, cyclic voltammetry was carried out using three working electrodes, namely glassy carbon, gold and platinum. The obtained voltammograms were processed by the Partial Least Squares method. The proposed method of cyclic voltammetry analysis of aqueous extracts of oils shows a detection limit (LOD) of 2.1% (v/v) and a quantification limit (LOQ) of 6.3% (v/v), in case a platinum electrode is used. In the case of gold electrode use, the corresponding values are 2.2% (v/v) (LOD) and 6.7% (v/v) (LOQ). These limits of detection and quantification obtained using the two electrodes are very close. The working electrode that gave the best differentiation between the oils is the glassy carbon, as during the chemical treatment of both gold and platinum, no similar differentiation was

observed.

**Keywords**: Olive oil adulteration, extra virgin / virgin olive oil, water, kernel oil, seed oils, circular voltammetry, principal component analysis, class modeling, discrete analysis of some least squares, analysis of some least squares.

# *ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ*

# Κεφάλαιο 1 «Το ελαιόλαδο»

## 1.1 Εισαγωγή

Στην παρούσα διπλωματική εργασία μελετήθηκε η διαφορά στην βολταμμετρική συμπεριφορά μεταξύ ελαιόλαδων και διαφόρων πυρηνέλαιων και σπορέλαιων, με σκοπό την ανάπτυξη κατάλληλης αναλυτικής μεθόδου περιβαλλοντικά πιο φιλική σε σχέση με τις σύνηθεις μεθόδους, η οποία προορίζεται για την ανίχνευση νοθείας στο ελαιόλαδο. Η νοθεία με την οποία ασχολείται κυρίως η συγκεκριμένη διπλωματική αφορά στην προσθήκη σπορέλαιων, πυρηνέλαιων ή γενικότερα ελαιόλαδων κατώτερης ποίοτητας σε παρθένα και εξαιρετικά παρθένα ελαιόλαδα. Η αναλυτική μέθοδος που χρησιμοποιήθηκε ήταν η κυκλική βολταμμετρία, ενώ οι μέθοδοι φασματομετρία IR, Raman, NMR και άλλες μελετήθηκαν θεωρητικά. Αρχικά, τα βολταμμογραφήματα που προέκυψαν από την κυκλική βολταμμετρία ελέγχθηκαν μεταξύ τους για τυχούσες διαφορές ανάλογα με το είδος ελαίου που αναλυόταν. Ύστερα, πραγματοποιήθηκε χημειομετρική επεξεργασία , και στη συνέχεια έγινε εξαγωγή των δεδομένων για τα κυκλικά βολταμμογραφήματα. Κατά τη χημειομετρική επεξεργασία, τα δεδομένα που προέκυψαν υποβλήθηκαν σε ανάλυση Κύριων Συνιστωσών (PCA), σε ανάλυση Class Modeling (Μοντελοποίηση Ταξινόμησης) καθώς και σε διακριτική ανάλυση μερικών ελαχίστων τετραγώνων (PLS-DA). Τέλος, έγινε διεύρυνση ποσοτικοποίησης της νοθείας του ελαιόλαδου με διάφορα πυρηνέλαια και σπορέλαια. Η διεύρυνση αυτή έγινε μέσω της ανάλυσης μερικών ελαχίστων τετραγώνων (PLS).

## 1.2 Ελαιόλαδο

### 1.2.1 Το δέντρο Ελιάς

Το ελαιόλαδο παράγεται από το δέντρο της ελιάς, ή αλλιώς δέντρο olea (στις Μεσογειακές χώρες γνωστό ως olea europa) το οποίο ανήκει στο γένος oleaceae [1]. Το δέντρο αυτό θεωρείται χρονικά ως το παλαιότερο [2]. Πρόκειται για ένα δέντρο το οποίο καρποφορεί περίπου στην ηλικία των 8 ετών ενώ θεωρείται και ιδιαίτερα μακρόβιο, καθώς υπολογίζεται ότι μπορεί να ζήσει για πάνω από χίλια χρόνια [1]. Επίσης παρουσιάζει μεγάλη αντοχή σε κλιματικές αλλαγές, σε ξηρασία, σε μη λιπασμένο έδαφος και είναι ικανό να βλαστήσει ακόμη και αν έχει πληγωθεί σε σημεία του κάτω από το έδαφος, όπως οι ρίζες του [1].

Το ελαιόδεντρο ευδοκιμεί στις χώρες της Μεσογείου, καθώς πρόκειται για δέντρο που προτιμά τις συχνές βροχοπτώσεις που λαμβάνουν χώρα από το φθινόπωρο μέχρι τις πρώτες μέρες της άνοιξης. Το δέντρο της ελιάς απαιτεί πότισμα, μόνο στις χρονιές με ξηρασία, εκείνη την περίοδο. Επίσης είναι δέντρο που παρουσιάζει υψηλή αντοχή στο αλμυρό νερό και παρόλο που έχει υψηλές αντοχές, απαιτείται ιδιαίτερη φροντίδα για να παραχθεί καρπός υψηλής ποιότητας [1].

### 1.2.2 Παραγωγή Ελαιόλαδου

Το ελαιόλαδο παράγεται εδώ και χιλιάδες χρόνια στην περιοχή της Μεσογείου, με σημαντικό διατροφικό καθώς και οικονομικό ρόλο. Πρόκειται για ένα προϊόν που χαρακτηρίζει το σύνολο των Μεσογειακών χωρών [1]. Παγκοσμίως τα ελαιόδεντρα που καλλιεργούνται ανέρχονται περίπου στα 750 εκατομμύρια και το 95% αυτών βρίσκονται στην Μεσόγειο, σε χώρες όπως η Ισπανία, η Ιταλία και η Ελλάδα [2]. Αυτές οι τρεις μεσογειακές χώρες είναι οι μεγαλύτεροι παραγωγοί ελαιόλαδου παγκοσμίως, ακολουθούμενοι από την Τυνησία, την Τουρκία και άλλες. Εκτός από τις χώρες της Μεσογείου, άλλες χώρες που παράγουν ελαιόλαδο είναι κυρίως η Αργεντινή, οι Η.Π.Α. και το Μεξικό. Αξίζει να σημειωθεί πως κατά το χρονικό διάστημα 1987-1992 η μέση ετήσια παραγωγή ελαιόλαδου ανερχόταν στα 1700 χιλιάδες τόνους, εκ των οποίων η Ισπανία συμμετείχε σε ποσοστό 32,6%, η Ιταλία σε ποσοστό 27,6%, η Ελλάδα σε ποσοστό 16% και η Τυνησία σε 8,1%. Το ποσοστό συμμετοχής όλων των υπόλοιπων χωρών επί της ετήσιας παραγωγής ελαιόλαδου δεν ξεπερνούσε το 4% για την κάθε χώρα [1].

### 1.2.3 Κατανάλωση Ελαιολάδου

Η συνολική παγκόσμια κατανάλωση ελαιόλαδου την τετραετία 1990-1994 ήταν κατά μέσο όρο 1.829.000 τόνους ανά έτος, κάτι που αποδεικνύει τη μεγάλη ζήτηση του [1], καθώς πρόκειται για προϊόν που εμφανίζει μεγαλύτερη κατανάλωση σε σχέση με την παραγωγή του. Βιβλιογραφικές πηγές παρουσιάζουν ενδιαφέροντα στοιχεία σχετικά με την κατανάλωση του ελαιόλαδου [1]:

- Το 90% του παραγόμενου ελαιόλαδου καταναλώνεται από τις χώρες που το παράγουν, γεγονός που αποδίδεται τόσο σε οικονομικά ζητήματα όσο και σε θέματα διατροφής και παράδοσης.

- Οι χώρες οι οποίες αποτελούν τους κύριους παραγωγούς/εξαγωγείς εμφανίζουν μία αρκετά σταθερή κατανάλωση σε ελαιόλαδο .
- Οι χώρες που έχουν μικρή παραγωγή αλλά κυρίως εισάγουν ελαιόλαδο, εμφάνιζαν τάσεις αύξησης της κατανάλωσης τους (σύμφωνα με στοιχεία της δεκαετίας του 1990).
- Οι χώρες οι οποίες καλύπτουν τις ανάγκες τους μόνο με εισαγωγή ελαιόλαδου παρουσίαζαν πολύ μικρή αύξηση στην κατανάλωση (σύμφωνα με στοιχεία της δεκαετίας του 1990).
- Η Ελλάδα έχει τη μεγαλύτερη κατά κεφαλή κατανάλωση ελαιόλαδου.

### 1.2.4 Το Ελαιόλαδο στην Ελληνική Οικονομία

Για την ελληνική κοινωνία και κουλτούρα το ελαιόλαδο αποτελεί αναπόσπαστο στοιχείο της μεσογειακής διατροφής και σημαντικό κομμάτι της αγροτικής οικονομίας, τόσο της εγχώριας όσο και σε επίπεδο εξαγωγών. Εκτός από πηγή εισοδήματος για την ελληνική οικονομία, πρόκειται για πολιτιστική αξία και κληρονομιά αιώνων, η οποία συνδέεται με την ιστορία, το περιβάλλον καθώς και την τοπική οικονομία [3]. Το ελαιόλαδο αντιστοιχεί στο 9% της αξίας της αγροτικής παραγωγής στην Ελλάδα [3]. Σήμερα εκτιμάται ότι από την ελαιοκομία και γενικότερα την ενασχόληση με την παραγωγή του ελαιόλαδου, έχουν εισόδημα και εξαρτώνται περίπου 600.000 οικογένειες, ενώ στην χώρας μας καλλιεργούνται ετησίως περίπου 10 εκατομμύρια στρέμματα [3]. Σήμερα η παραγωγή ελαιόλαδου στην Ελλάδα βασίζεται σε πολλές μικρές εκμεταλλεύσεις διάσπαρτες σε όλη τη χώρα. Οι εκτεταμένες ακτές των 15.021 χλμ ευνοούν την καλλιέργεια της ελιάς. Λόγω της αυξανόμενης δημοτικότητας των ελαίων ΠΟΠ (Προστατευόμενη Ονομασία Προέλευσης), υπάρχουν τώρα 17 τέτοιες περιοχές στην Ελλάδα. Κάθε ένα παράγει ελαιόλαδο με ξεχωριστά χαρακτηριστικά [4].

Η ελληνική παραγωγή ελαιόλαδου υπερβαίνει τους 300.000 τόνους ετησίως. Η Ελλάδα, αν και αρκετά μικρή, κατέχει την 3η θέση μεταξύ των εταιρειών παραγωγής ελαιόλαδου. Το 70% του συνόλου της παραγωγής είναι Extra VirginOlive Oil. Η κατά κεφαλήν κατανάλωση από την άλλη πλευρά είναι επίσης η υψηλότερη στον κόσμο, υπολογίζεται στα 16 κιλά ανά έτος. Ακόμα, απομένουν αρκετά για να εξαχθεί πάνω από το 1/3 της ετήσιας παραγωγής (135.000 τόνοι). Στην πραγματικότητα, η Ελλάδα είναι ο μεγαλύτερος εξαγωγέας στον κόσμο του Παρθένου

Ελαιόλαδου [4].

Όλοι όσοι ασχολούνται με την παραγωγή και εμπορία ελαιόλαδου γνωρίζουν την ανώτερη ποιότητα και τις εξαιρετικές οργανοληπτικές ιδιότητες του ελληνικού ελαιόλαδου, το οποίο εξάγεται χύμα, γλιστρά ήσυχα σε φιάλες και δοχεία για να δώσει σιωπηλά την απαράμιλλη γεύση και άρωμά του στο ελαιόλαδο που συσκευάζεται και πωλείται σε ολόκληρο τον κόσμο. Έτσι, ένας τακτικός καταναλωτής ελαιόλαδου έχει δοκιμάσει το ελληνικό ελαιόλαδο τουλάχιστον μία φορά. Το ελληνικό ελαιόλαδο εξάγεται κυρίως στην Ε.Ε. και ανέρχεται στο 90% των συνολικών εξαγωγών ελαιόλαδου (80% χύμα συν 10% ελληνικό εμπορικό σήμα ελαιόλαδο). Υπάρχει όμως άνοδος και σε άλλες χώρες, όπως ο Καναδάς, η Αυστραλία, η Ιαπωνία και οι ΗΠΑ [4].

Η παρουσία του ελληνικού εμπορικού σήματος ελαιόλαδου στη διεθνή αγορά ήταν εδώ και πολλά χρόνια ελάχιστη. Δεν ήταν εύκολο για τον μέσο καταναλωτή να φτάσει στο ελληνικό ελαιόλαδο. Τα τελευταία χρόνια ωστόσο, υπήρξε μια σταθερή αλλαγή καθώς οι ελληνικές εξαγωγές έχουν αυξηθεί σημαντικά. Αυτή η αύξηση σε κάποιο βαθμό αντανακλά την ανοδική τάση της συνολικής κατανάλωσης ελαιόλαδου λόγω της στροφής προς την υγιεινή διατροφή και τον επακόλουθο πολλαπλασιασμό της μεσογειακής κουζίνας. Και καθώς ο διεθνής καταναλωτής μαθαίνει να αναγνωρίζει την αξία του ελαιόλαδου, θα γνωρίσει αυτό που ήδη γνωρίζουν οι ειδικοί: τις ασύγκριτες αρετές και προσωπικότητα του ελληνικού ελαιόλαδου [4].

### 1.2.5 Το Ελαιόλαδο και η προληπτική Ιατρική

Από την αρχαιότητα το ελαιόλαδο θεωρούταν και ένα είδος φαρμάκου, εκτός από τρόφιμο εξαιρετικής ποιότητας. Έχει παρατηρηθεί πως από την αρχαία Ελλάδα χρησιμοποιούταν για τον καθαρισμό πληγών, για την ανακούφιση του πόνου, για την θεραπεία τραυματισμένων μυών, για μαλάξεις, εγκαύματα, προστασία από τον ήλιο, καθώς και άλλες διάφορες χρήσεις [5]. Στη σημερινή εποχή υπάρχει ιδιαίτερα μεγάλο ενδιαφέρον από επιστημονικής πλευράς για τις ευεργετικές ιδιότητες του ελαιόλαδου και συγκεκριμένα για το ποια από τα συστατικά του προσφέρουν αυτές τις ιδιότητες [5]. Πολλές μελέτες έχουν δείξει ότι συστατικά του ελαιόλαδου όπως το λινολεϊκό οξύ (linoleicacid), το ολεϊκό οξύ (oleicacid), η τοκοφερόλη (tocopherol), η βήτα καροτίνη (beta carotene), κ.α., δρώντας μαζί ενεργοποιούν την άμυνα του οργανισμού, προστατεύουν και επιδιορθώνουν τους επιγενετικούς μηχανισμούς (epigenetic mechanisms), μειώνουν το ρίσκο της αθηροσκλήρωσης, των καρδιοαγγειακών ασθενειών (cardiovascular disease) και πολλές άλλες ερεθιστικές ασθένειες (inflammatory diseases) [5]. Λόγω αυτού υπάρχει αρκετά μεγάλη ερευνητική δραστηριότητα στην ανάλυση των φαρμακευτικών ιδιοτήτων που φέρουν τα συστατικά του ελαιόλαδου.

### 1.2.6 Κατηγορίες Ελαιόλαδου

Στο ελληνικό εμπόριο ο καταναλωτής μπορεί να συναντήσει πολλές κατηγορίες ελαιόλαδου από διάφορες εταιρίες ή συνεταιρισμούς. Ο κάθε παραγωγός αν και μπορεί να ονομάσει όπως επιθυμεί το ελαιόλαδο του, είναι υποχρεωμένος να συμπεριλαμβάνει στην ετικέτα της συσκευασίας το είδος του ελαιόλαδου ανάλογα με την μέθοδο που χρησιμοποιήθηκε για την παραγωγή του. Το ελαιόλαδο ανάλογα με τις μεθόδους επεξεργασίας που χρησιμοποιήθηκαν για την παραγωγή του διακρίνεται στις εξής κατηγορίες:

**1. Παρθένο Ελαιόλαδο:** Είναι το έλαιο που λαμβάνεται από τον ελαιόκαρπο μόνο με μηχανικές μεθόδους ή άλλες φυσικές επεξεργασίες με συνθήκες που δεν προκαλούν αλλοίωση του ελαίου, και το οποίο δεν έχει υποστεί καμία άλλη επεξεργασία πλην της πλύσης, της μετάγγισης, της φυγοκέντρισης και της διήθησης. Εξαιρούνται τα έλαια που λαμβάνονται με διαλύτες, με βοηθητικές ύλες παραλαβής που έχουν χημική ή βιοχημική δράση, ή με μεθόδους επαναστεροποίησης ή πρόσμειξης με έλαια άλλης φύσης [6].

**2. Εξευγενισμένο ή ραφινέ ελαιόλαδο**: Το εξευγενισμένο ελαιόλαδο είναι το ελαιόλαδο που λαμβάνεται από μεθόδους ραφιναρίσματος σε παρθένα ελαιόλαδα, οι οποίες δεν προκαλούν αλλοιώσεις στην αρχική δομή των γλυκεριδίων. Έχει μια ελεύθερη οξύτητα, η οποία εκφράζεται ως ελαϊκό οξύ και δεν ξεπερνάει τα 0,3 g στα 100 g (0,3% w/w), καθώς και τα άλλα χαρακτηριστικά που αντιστοιχούν σε ό,τι καθορίζεται για αυτήν την κατηγορία και στα συγκεκριμένα πρότυπα. Λαμβάνεται από εξευγενισμό (ραφινάρισμα) παρθένων ελαιόλαδων με μεγάλο βαθμό οξύτητας ή οργανοληπτικών ελαττωμάτων, τα οποία περιορίζονται μετά το ραφινάρισμα [7].

**3. Υδρογονωμένο ελαιόλαδο**: Το υδρογονωμένο ελαιόλαδο είναι ελαιόλαδο με άτομο υδρογόνου που προστίθεται στη δομή των μονοακόρεστων λιπαρών οξέων (που περιέχονται στο ελαιόλαδο) με ελεγχόμενο τρόπο. Η υδρογόνωση γίνεται για να παρέχει περισσότερη σταθερότητα στο ελαιόλαδο. Το ελαιόλαδο προέρχεται από τους ώριμους καρπούς της Olea europaea. Το ελαιόλαδο θεωρείται ένα υγιές ελαφρύ λάδι και ως εκ τούτου χρησιμοποιείται ευρέως σε όλο τον κόσμο [8].

**4. Ελαιόλαδο-Αποτελούμενο από εξευγενισμένα ελαιόλαδα και παρθένα ελαιόλαδα**: Έλαιο που λαμβάνεται από ανάμειξη εξευγενισμένου ελαιόλαδου και παρθένων ελαιόλαδων εκτός από το ελαιόλαδο λαμπάντε του οποίου η περιεκτικότητα σε ελεύθερα λιπαρά οξέα, εκφραζόμενη σε ελαϊκό οξύ δεν υπερβαίνει το 1 g ανά 100 g [6].

## 1.2.7 Ιδιότητες Ελαιόλαδου

Κάθε ελαιόλαδο οφείλει να πληρεί κάποιες φυσικές και χημικές ιδιότητες. Οι ιδιότητες αυτές, με βάση τον κανονισμό της Ευρωπαϊκής Ένωσης [9], παρουσιάζονται στον πίνακα 1.

***Πίνακας 1: Φυσικές και Χημικές Ιδιότητες ελαιόλαδων***

| **Κατηγορία** | **Οξύτητα (%)** | **Δείκτης υπεροξειδίων mEq O2/kg** | **Κηροί (mg/kg)** | **Κορεσμένα λιπαρά οξέα στη θέση 2 του τριγλυκεριδίου (%)** | **Διαφορά ECN42 HPLC και ECN42 θεωρητικός υπολογισμός** | **K_232** | **K_270** | **Δέλτα-K** | **Οργανοληπτική αξιολόγηση Διάμεση τιμή του ελαττώματος (Md)** | **Οργανοληπτική αξιολόγηση Διάμεση τιμή του φρουτώδους (Mf)** |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **Εξαιρετικά Παρθένο Ελαιόλαδο** | ≤ 0,8 | ≤ 20 | ≤ 250 | ≤ 1,5 | ≤ 0,2 | ≤ 2,5 | ≤ 0,22 | ≤ 0,01 | Md = 0 | Mf > 0 |
| **Παρθένο Ελαιόλαδο** | ≤ 2,0 | ≤ 20 | ≤ 250 | ≤ 1,5 | ≤ 0,2 | ≤ 2,6 | ≤ 0,25 | ≤ 0,01 | Md ≤ 2,5 | Mf > 0 |
| **Εξευγενισμένο Ελαιόλαδο** | ≤ 0,3 | ≤ 5 | ≤ 350 | ≤ 1,8 | ≤ 0,3 | - | ≤ 1,10 | ≤ 0,16 | - | |
| **Σύνθετο ελαιόλαδο αποτελούμενο από εξευγενισμένα ελαιόλαδα και παρθένα ελαιόλαδα** | ≤ 1,0 | ≤ 15 | ≤ 350 | ≤ 1,8 | ≤ 0,3 | - | ≤ 0,90 | ≤ 0,15 | - | |

## 1.3 Πυρηνέλαιο

Ως πυρηνέλαιο ορίζεται το έλαιο που λαμβάνεται από τους πυρήνες της ελιάς κατόπιν επεξεργασίας με κατάλληλους διαλύτες ή με φυσικά μέσα ή έλαιο που αντιστοιχεί, με εξαίρεση ορισμένα ιδιαίτερα χαρακτηριστικά, σε ελαιόλαδο λαμπάντε. Εξαιρούνται τα έλαια που λαμβάνονται με διεργασίες επανεστεροποίησης και πρόσμειξης με έλαια άλλης φύσης και των οποίων τα άλλα ιδιαίτερα χαρακτηριστικά είναι σύμφωνα με τα προβλεπόμενα για την κατηγορία αυτή [6]. Κατά την εκχύλιση χρησιμοποιούνται κατάλληλοι διαλύτες και μετά από την επεξεργασία που ακολουθεί, μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως τρόφιμο.
Για το πυρηνέλαιο ισχύουν οι εξής προϋποθέσεις [9, 10] :

- Κατά την διάθεσή του στο εμπόριο, δεν πρέπει να έχει αναμιχτεί με καμία λιπαρή ύλη, φυτικής ή ζωικής προέλευσης.
- Δεν πρέπει να έχει οξύτητα μεγαλύτερη από 0,5 %.
- Δεν πρέπει να έχει αριθμό βουτυροδιαθλασιμέτρου μεγαλύτερο από 55 στους 40 βαθμούς κελσίου και όχι μεγαλύτερο από 3,5% ποσοστό κηρωδών υλών.

Το πυρηνέλαιο μπορεί να χρησιμοποιηθεί πιο εύκολα από οποιοδήποτε άλλο έλαιο για την νοθεία του ελαιόλαδου, καθώς έχει ουσιαστικά όμοια όψη με το ελαιόλαδο. Παράλληλα, επειδή παράγεται από τον πυρήνα της ελιάς και σε χώρους κοντά στους χώρους παραγωγής των ελαιόλαδων υπάρχει έντονος ο φόβος τόσο για εσκεμμένη νοθεία (για την αύξηση των κερδών) όσο και για ακούσια νοθεία κατά την μεταφορά ή την φύλαξή του.

## 1.4 Σπορέλαια (Αραβοσιτέλαιο-Σογιέλαιο-Ηλιέλαιο)

Πρόκειται για έλαια τα οποία έχουν προέλθει από καρπούς ή σπέρματα φυτών. Η παραγωγή λαδιού από τέτοιες πηγές πραγματοποιείται με υποβολή σε πίεση ή με εκχύλιση (με κατάλληλους διαλύτες) και είναι κατάλληλα για κατανάλωση αφού υποστούν κατάλληλες επεξεργασίες [10].

Τα σπορέλαια πρέπει να ακολουθούν τις παρακάτω προϋποθέσεις [10]:

- Η οξύτητά τους σε ελαϊκό οξύ δεν πρέπει να υπερβαίνει το 0,3% και η υγρασία στους 105 βαθμούς κελσίου δεν πρέπει να είναι μεγαλύτερη από 0,05%.

- Το ποσοστό του υπολείμματος σε πετρελαϊκό αιθέρα δεν πρέπει να υπερβαίνει το 0,05% ( σε άνυδρο σπορέλαιο).
- Η αντίδραση σπορέλαιων (Bellier) πρέπει να είναι θετική, με εξαίρεση το αραβοσιτέλαιο.
- Δεν πρέπει να έχουν μεγαλύτερο από 0,05% ποσοστό σε σάπωνες.

Στον παρακάτω πίνακα(2), καθορίζονται όρια στους αριθμούς Ιωδίου για τα διάφορα σπορέλαια [10]:

***Πίνακας 2: Αριθμός Ιωδίου για διάφορα σπορέλαια***

| **Είδος** | **Αριθμός Ιξώδους** |
|---|---|
| Αραβοσιτέλαιο | 103-130 |
| Σογιέλαιο | 60,8-63,0 |
| Ηλιέλαιο | 62,1-64,2 |

## 1.5 Πιστοποίηση του Ελαιόλαδου

Τα τελευταία χρόνια έχει παρατηρηθεί αρκετά έντονη ανάπτυξη της αγοράς αγροδιατροφικών προϊόντων, ειδικότερα αυτών που θεωρούνται ευεργετικά για την υγεία. Αυτό έχει οδηγήσει στην ανάπτυξη σημάτων πιστοποίησης, με σκοπό να προστατεύεται τόσο ο παραγωγός όσο και ο καταναλωτής από τις απομιμήσεις [2]. Παράλληλα, προϊόντα τα οποία φέρουν τέτοιες πιστοποιήσεις είναι δυνατόν να πωληθούν σε υψηλότερη τιμή, καθώς έτσι διασφαλίζεται η ποιότητά τους και εγγυώνται για τις τεχνικές παραγωγής και επεξεργασίας τους. Επίσης, διάφορες μελέτες αντικατοπτρίζουν την ιδιαίτερα αυξημένη τάση των καταναλωτών προς την αγορά τέτοιων προϊόντων. Η τάση αυτή επηρεάζεται έντονα από παράγοντες όπως είναι το φύλο, η ηλικία, το εισόδημα, το επίπεδο εκπαίδευσης, η ύπαρξη παιδιών στην οικογένεια, ο τόπος παραγωγής του προϊόντος, ο τρόπος παρασκευής του, τα συστατικά του, η θετική του επίδραση στην υγεία, ο σεβασμός του προς το περιβάλλον και η πιστοποίηση που φέρει το συγκεκριμένο προϊόν [12]. Το ελαιόλαδο είναι το πλέον χαρακτηριστικό προϊόν το οποίο υπάγεται στο σύστημα πιστοποιήσεων των αγροδιατροφικών προϊόντων.

### 1.5.1 Προϊόντα Ονομασίας Προέλευσης – Προϊόντα Γεωγραφικής Ένδειξης – Οργανικής Καλλιέργειας

Η Ε.Ε με το απαραίτητο νομικό πλαίσιο, έχει δημιουργήσει ενδείξεις αναγνωρισιμότητας για ορισμένες κατηγορίες προϊόντων εκ των οποίων και το ελαιόλαδο. Οι ενδείξεις αυτές είναι:

- Π.Ο.Π= Προστατευόμενη Ονομασία Προέλευσης
- Π.Γ.Ε= Προστατευόμενη Γεωγραφική Ένδειξη
- Προϊόν Βιολογικής Γεωργίας

Η αναγνώριση ΠΟΠ, ΠΓΕ δίνει τη δυνατότητα αφενός στους παραγωγούς, ιδίως των μειονεκτικών και απομακρυσμένων περιοχών, να προωθήσουν ευκολότερα προϊόντα που παρουσιάζουν εξειδικευμένα χαρακτηριστικά, βελτιώνοντας το εισόδημά τους με τις καλύτερες τιμές που επιτυχαίνουν στην αγορά και αφετέρου στους καταναλωτές να αγοράζουν προϊόντα ποιοτικά, με εγγυήσεις για την παραγωγή, επεξεργασία και τη γεωγραφική καταγωγή τους. Επίσης η απαίτηση των καταναλωτών της Ε.Ε. για τα βιολογικά προϊόντα και η συνεχώς αυξανόμενη δημοτικότητα της βιολογικής γεωργίας στην Ε.Ε. έχει εξασφαλίσει επίσημους κανόνες, πρότυπα πιστοποιήσεις και σήμανση προκειμένου να διασφαλίσει τη γνησιότητα των βιολογικών προϊόντων όπως και αυτήν του ελαιόλαδου [6].

- **Ελαιόλαδο Π.Ο.Π.** (Προστατευόμενης Ονομασίας Προέλευσης): Πρόκειται για Εξαιρετικά Παρθένο Ελαιόλαδο, το οποίο κατάγεται από τη συγκεκριμένη περιοχή το συγκεκριμένο τόπο ή τη συγκεκριμένη χώρα και τα χαρακτηριστικά του οφείλονται κυρίως ή αποκλειστικά στο γεωγραφικό αυτό περιβάλλον. Το περιβάλλον αυτό περιλαμβάνει τους εγγενείς φυσικούς και ανθρώπινους παράγοντες και η παραγωγή, η μεταποίηση και η επεξεργασία του προϊόντος λαμβάνουν χώρα στην οριοθετημένη γεωγραφική περιοχή. Η τυποποίησή τους γίνεται σε αριθμημένες φιάλες [6].
- **Ελαιόλαδο Π.Γ.Ε.** (Προστατευόμενης Γεωγραφικής Ένδειξης): Πρόκειται για Εξαιρετικά Παρθένο Ελαιόλαδο, το οποίο κατάγεται από τη συγκεκριμένη περιοχή, τον συγκεκριμένο τόπο ή τη συγκεκριμένη χώρα και του οποίου μια συγκεκριμένη

ποιότητα ή φήμη ή άλλο χαρακτηριστικό μπορούν να αποδοθούν στη γεωγραφική του προέλευση. Η παραγωγή ή και η μεταποίηση ή και η επεξεργασία πραγματοποιούνται στην οριοθετημένη γεωγραφική περιοχή [6].

- **Ελαιόλαδο Προϊόν Οργανικής Καλλιέργειας**: Πρόκειται για Εξαιρετικά Παρθένο ή Παρθένο Ελαιόλαδο, το οποίο προέρχεται από ελαιώνες στους οποίους εφαρμόζονται οι κανόνες της βιολογικής καλλιέργειας [6].

### 1.5.2 Εμπόριο

Όλοι οι παραγωγοί προϊόντων ΠΟΠ είναι υποχρεωμένοι να πάρουν έγκριση για τη συγκεκριμένη δραστηριότητα από την οικεία Διεύθυνση Αγροτικής Ανάπτυξης της Περιφερειακής Αυτοδιοίκησης, η οποία ελέγχει την τήρηση των ειδικών προδιαγραφών για κάθε προϊόν. Η παραγωγή και η κυκλοφορία στο εμπόριο προϊόντων ΠΟΠ και ΠΓΕ, χωρίς να υπάρχει η έγκριση από την οικία Διεύθυνση Αγροτικής Ανάπτυξης, απαγορεύεται [12].

### 1.5.3 Έλεγχοι

Σύμφωνα με τους κανονισμούς της Ευρωπαϊκής Ένωσης 2081/92 και 2082/92 προβλέπεται σύστημα ελέγχου και πιστοποίησης. Έτσι, οι καταναλωτές είναι σίγουροι ότι τα προϊόντα παράγονται με συγκεκριμένες προδιαγραφές και κυκλοφορούν με ενδείξεις που δεν τους παραπλανούν ενώ οι παραγωγοί να προστατεύουν το προϊόν τους από απομιμήσεις και αθέμιτο ανταγωνισμό [12].

### 1.5.4 Θεσμικό Πλαίσιο

Η παραγωγή και εμπορία ελαιόλαδου αποτελεί μία από τις πλέον αυστηρά ρυθμιζόμενες δραστηριότητες της ελληνικής οικονομίας, λόγω ενός θεσμικού πλαισίου που καθορίζει ασφυκτικά τις προδιαγραφές, την παραγωγή, τη διακίνηση, την αποθήκευση, την διασφάλιση της ποιότητας, τον ανταγωνισμό, την τιμολογιακή πολιτική, τις εξαγωγές σε τρίτες χώρες, τις εισαγωγές από αυτές και τις συνθήκες αγοράς γενικότερα. Καθοριστικό ρόλο στην διαμόρφωση του θεσμικού πλαισίου της αγοράς ελαιόλαδου έχουν οι κανονισμοί και οι αποφάσεις της Ε.Ε. για την Κοινή Αγροτική Πολιτική (Κ.Α.Π.), την προστασία των καταναλωτών, την προστασία της υγείας του πληθυσμού και την ενίσχυση της ανταγωνιστικότητας της Ευρωπαϊκής γεωργίας (η ελληνική νομοθεσία εναρμονίζεται σχεδόν άμεσα με τις οδηγίες της Ε.Ε.) [6].

### 1.5.5 Προστασία

Οι καταχωρημένες ονομασίες για τα προϊόντα ΠΟΠ και ΠΓΕ προστατεύονται από οποιαδήποτε άμεση ή έμμεση εμπορική χρήση για αυτά τα οποία δεν παράγονται σύμφωνα με τις ειδικές προδιαγραφές που έχει ένα τέτοιο προϊόν, καθώς επίσης και από κάθε αντιποίηση, απομίμηση, υπαινιγμό, ψευδή ή απατηλή ένδειξη όσον αφορά την προέλευση, καταγωγή ή φύση του προϊόντος και από κάθε άλλη πρακτική ικανή να παραπληροφορήσει το κοινό σχετικά με την πραγματική καταγωγή του προϊόντος. Οπότε, τα προϊόντα αυτά θα πρέπει να φέρουν τη σωστή επισήμανση ώστε να είναι εύκολα αναγνωρίσιμα. Απαγορεύεται να κυκλοφορούν στο εμπόριο προϊόντα τα οποία κάνουν χρήση ονομασιών προέλευσης ή γεωγραφικών ενδείξεων χωρίς να συνοδεύονται από τον χαρακτηρισμό ΠΟΠ ή ΠΓΕ, αντιστοίχως. Η Ευρωπαϊκή Ένωση μέσω του νομικού της πλαισίου παρέχει τη δυνατότητα στις ομάδες παραγωγών που κατέχουν το δικαίωμα χρήσης των προστατευόμενων ονομασιών να προσφύγουν, με κάθε έννομο τρόπο, εναντίον αυτών που χρησιμοποιούν παρανόμως την ονομασία, προκαλώντας τους οικονομική βλάβη [12].

### 1.5.6 Φορείς Πιστοποίησης

Από 20/3/2012 για τη χώρα μας ο Οργανισμός Πιστοποίησης και Επίβλεψης Γεωργικών Προϊόντων, που φέρει το διακριτικό τίτλο Ελληνικός Γεωργικός Οργανισμός, ΕΛΓΟ «ΔΗΜΗΤΡΑ», είναι αρμόδιος για την έγκριση των υποβαλλόμενων από τις ενδιαφερόμενες επιχειρήσεις αιτημάτων ένταξης στο σύστημα ελέγχου, την πραγματοποίηση ελέγχων σε συνεργασία με τις Διευθύνσεις Αγροτικής Ανάπτυξης των Περιφερειακών Αυτοδιοικήσεων, τη διασφάλιση της τήρησης των προδιαγραφών, την πιστοποίηση των εν λόγω προϊόντων και την τήρηση Μητρώου Εγκεκριμένων επιχειρήσεων και Μητρώου δικαιούχων χρήσης των ενδείξεων ΠΟΠ και ΠΓΕ [12].

### 1.5.7 ΠΟΠ/ΠΓΕ Ελαιόλαδα στην Ελλάδα

Σύμφωνα με την ΕΛΓΟ «ΔΗΜΗΤΡΑ», στην Ελληνική αγορά απαντώνται μέχρι σήμερα συνολικά 32 ΠΟΠ και ΠΓΕ ελαιόλαδα από τα συνολικά 113 ΠΟΠ/ ΠΓΕ προϊόντα (78 ονομασίες ΠΟΠ και 35 ονομασίες ΠΓΕ) που κυκλοφορούν στην ελληνική αγορά. Άλλα ΠΟΠ/ ΠΓΕ προϊόντα περιλαμβάνουν επιτραπέζιες ελιές(11), τυριά(23), φρούτα/ λαχανικά/ ξηρούς καρπούς/όσπρια(36), κρεατικά(4), προϊόντα αρτοποιίας και ζαχαροπλαστικής(2) και διάφορα άλλα προϊόντα [13].

## 1.6 Νοθεία Ελαιόλαδου

Η νοθεία του ελαιόλαδου κατατάσσεται στην κατηγορία της «απάτης στον τομέα των τροφίμων». Γενικά σύμφωνα με το ευρωπαϊκό πληροφοριακό συνέδριο τροφίμων (European Food Information Council) απάτη στον τομέα των τροφίμων θεωρείται η σκόπιμη προώθηση ενός τροφίμου στην αγορά με πρόθεση το οικονομικό κέρδος μέσω της εξαπάτησης των καταναλωτών [14].

### 1.6.1 Έλαια εμπλεκόμενα στη νοθεία του Ελαιόλαδου

Στο εμπόριο διατίθεται ένας μεγάλος αριθμός βρώσιμων ελαίων, κάποια εκ των οποίων προέρχονται από την ελιά (εκτός του ελαιόλαδου) και κάποια άλλα τα οποία προέρχονται από άλλα φυτά. Τα έλαια αυτά είναι:

- Πυρηνέλαιο
- Μείγματα εξευγενισμένων ελαιόλαδων με παρθένα ελαιόλαδα.
- Ηλιέλαιο
- Αραβοσιτέλαιο
- Σογιέλαιο

Τα έλαια αυτά θεωρούνται κατώτερης ποιότητας συγκριτικά με το ελαιόλαδο, παράγονται από πιο εύκολα καλλιεργήσιμα φυτά ή από παραπροϊόντα της ελιάς, όπως το πυρηνέλαιο, και ως εκ τούτου είναι σαφώςφθηνότερα. Επίσης, σε αντίθεση με το ελαιόλαδο, δεν προτιμούνται για απευθείας κατανάλωση (π.χ. σε σαλάτες) αλλά χρησιμοποιούνται κυρίως για μαγείρεμα ή τηγάνισμα. Για τα έλαια αυτά δεν χρησιμοποιούνται τα σήματα πιστοποίησης που προαναφέρθηκαν και η ποιότητα τους αρκετές φορές μπορεί να είναι αμφίβολη [2].

### 1.6.2 Έλεγχος του Ελαιόλαδου σε Διεθνές και Ελληνικό Επίπεδο

Το 1959 στην πρωτεύουσα της Ισπανίας, Μαδρίτη, έγινε η ίδρυση του διεθνούς συνεδρίου ελιάς (International Olive Council, IOC). Το IOC αποτελεί αποφασιστικό παράγοντα στην βιώσιμη και ορθολογική ανάπτυξη της ελαιοκαλλιέργειας. Πιο συγκεκριμένα:

- Ενθαρρύνει διεθνείς συνεργασίες έρευνας και ανάπτυξης ενώ εκπαιδεύει και διαδίδει νέες τεχνολογίες.
- Ενθαρρύνει την επέκταση του διεθνούς εμπορίου ελαιόλαδου και βρώσιμων ελιών, αναπτύσσοντας το εμπόριο και αναβαθμίζοντας την ποιότητα αυτών.
- Συμμετέχει ενεργά στην προσπάθεια μείωσης των περιβαλλοντικών επιπτώσεων τόσο λόγω της καλλιέργειας της ελιάς, όσο και από την βιομηχανία της.
- Προωθεί την παγκόσμια κατανάλωση ελαιόλαδου και επιτραπέζιων ελιών μέσω καινοτόμων εκστρατειών και σχεδίων δράσης.
- Προσφέρει αξιόπιστα στατιστικά για την αγορά ελιάς και ελαιόλαδου.
- Συνεργάζεται τόσο με τις διάφορες κυβερνήσεις όσο και με τον ιδιωτικό τομέα.

Τέλος, τα ενεργά μέλη του IOC αποτελούν επίσης μέλη των κορυφαίων διεθνών παραγωγών και εξαγωγέωνελαιόλαδου και επιτραπέζιων ελιών, ενώ αντιπροσωπεύουν το 98% της παγκόσμιας παραγωγής ελιάς, η οποία κυριώς απαρτίζεται από τις Μεσογειακές χώρες (Ελλάδα, Γαλλία, Ιταλία, Ισπανία) [15].

Στην Ελλάδα ο αρμόδιος οργανισμός ελέγχου τροφίμων, άρα και του ελαιόλαδου, είναι ο ΕΛΓΟ «ΔΗΜΗΤΡΑ» ο οποίος είναι υπεύθυνος για τους ελέγχους ποιότητας του, καθώς και για τις πιστοποιήσεις ΠΟΠ και ΠΓΕ. Πιο συγκεκριμένα, εκτελεί ελέγχους στο σε τρία εργαστήρια τεχνολογίας τροφίμων, στην Κρήτη(Χανιά), στην Πελοπόννησο(Καλαμάτα) και στη Μυτιλήνη, περιοχές με την μεγαλύτερη παραγωγή ελαιολάδου στην Ελλάδα. Σε αυτά τα εργαστήρια γίνονται αναλύσεις ποιότητας, γνησιότητας και ασφάλειας ελαιόλαδου [13].

### 1.6.3 Σημασία της δυνατότητας ανίχνευσης νοθείας στο Ελαιόλαδο για την Ευρωπαϊκή Ένωση

Η ανάπτυξη μεθόδων με σκοπό την ανίχνευση νοθείας στο ελαιόλαδο αποτελεί θέμα υψηλής σημασίας για την Ευρωπαϊκή Ένωση. Το γεγονός αυτό προκύπτει από την ανάγκη διατήρησης της καλής φήμης του ελαιόλαδου, καθώς και από την ανάγκη για αύξηση της εμπιστοσύνης των καταναλωτών. Χαρακτηριστικό της σημασίας που δίνει η Ευρωπαϊκή Ένωση στο θέμα της ανάπτυξης τέτοιων μεθόδων, είναι το πρόγραμμα Horizon 2020. Το πρόγραμμα αυτό που αποσκοπεί στη διασφάλιση της παγκόσμιας ανταγωνιστικότητας της Ευρώπης. Ο στόχος είναι να διασφαλιστεί ότι η Ευρώπη παράγει προϊόντα παγκόσμιας κλάσης, εξαλείφει τα εμπόδια στην καινοτομία και διευκολύνει το δημόσιο και τον ιδιωτικό τομέα να συνεργαστούν για την παροχή καινοτομίας. Ένα τέτοιο προϊόν που απαιτεί διασφάλιση ποιότητας είναι το ελαιόλαδο. Με αυτό τοπρόγραμμα η Ευρωπαϊκή Ένωση χρηματοδοτεί έρευνες και επιστημονικές ομάδες με σκοπό την έυρεση της βέλτιστης μεθόδου ανίχνευσης νοθείας, έτσι ώστε να παράγεται το ποιοτικότερο προϊόν (ελαιόλαδο) το οποίο να φέρει την υπογραφή της Ευρωπαϊκής Ένωσης [16].

# Κεφάλαιο 2 «Δοκιμασίες-Τεχνικές ανίχνευσης νοθείας στο Ελαιόλαδο»

Σύμφωνα με βιβλιογραφικές πηγές έχουν γίνει αρκετές προσπάθειες για την ανάπτυξη μεθόδου ανίχνευσης νοθείας στο ελαιόλαδο. Στις συγκεκριμένες προσπάθειες δεν υπάρχουν αναγνωρισμένες διαδικασίες ούτε από την Ευρωπαϊκή Ένωση, το IOC και τις Η.Π.Α. [17], γεγονός που αφήνει πολλά περιθώρια για έρευνα τα επόμενα χρόνια. Από αυτές τις μεθόδους, αυτές που χαρακτηρίζονται ως «επίσημες» ή αυτές που είναι κοινώς αποδεκτές είναι διαδικασίες αρκετά πολυδάπανες και χρονοβόρες [17]. Έτσι πραγματοποιείται μια μαζική προσπάθειά να ενταχθούν χημειομετρικές μέθοδοι σε πιο απλές τεχνικές ανάλυσης με σκοπό την μείωση του απαιτούμενου κόστους του εξοπλισμού, άρα και του λειτουργικού κόστους, καθώς και του χρόνου ανάλυσης [17].

## 2.1 Επίσημες τεχνικές ανίχνευσης νοθείας ελαιόλαδου

Στις 25 Νοεμβρίου 2013, το Διεθνές Συμβούλιο Ελιάς (IOC) θέσπισε μια οδηγία-απόφαση, η οποία παρέχει μέθοδο για τον εντοπισμό ξένου ελαίου σε ελαιόλαδο [18]. Η μέθοδος χρησιμοποιείται για την ανίχνευση ελαίων όπως το σογιέλαιο, το ηλιέλαιο, το φουντουκέλαιο, κ.α. στο ελαιόλαδο [18]. Τα όρια ανιχνευσιμότητας ποικίλουν ανάλογα με τον τύπο του ελαίου, αλλά κατά μέσο όρο κυμαίνονται από 5% έως 15%, ενώ η μέθοδος αδυνατεί να εντοπίσει το είδος του ελαίου που έχει προστεθεί [18]. Η μέθοδος χρησιμοποιεί κυρίως υγροχρωματογραφία (HPLC) αντιστρόφου φάσεως με διαθλασίμετρο (refractive index detector) για τον εντοπισμό τριακυλογλυκερολών (triacylglycerol, TAG) και την αεριοχρωματογραφία (GC) με ανιχνευτή φλόγας ιονισμού (flame ionization detector, FID) για τον προσδιορισμό μεθυλεστέρων των λιπαρών οξέων (fatty acid methyl esters, FAME) [18]. Πρόκειται για μια διαδικασία ιδιαίτερα περίπλοκη και χρονοβόρα λόγω των πολλών σταδίων της, με αποτέλεσμα να απαιτείται αρκετός χρόνος και ένα αρκετά σημαντικό κόστος για την ολοκλήρωση της.

## 2.2 Φασματομετρία IR και Raman

Η υπέρυθρη περιοχή του φάσματος κυμαίνεται από την ορατή περιοχή (0,8 μm) μέχρι την περιοχή των μικροκυμάτων (1000 μm). Χωρίζεται σε τρείς περιοχές, το εγγύς IR (near InfRared, NIR) (0,8 nm έως 2,5 μm), το κύριο IR (middle InfRared, MIR) (από 2,5μm έως 50 μm) και το άπω IR (farIR, F.I.R.) (50μm έως 1000 μm) [19]. Σύμφωνα με την βιβλιογραφία, η φασματομετρία υπερύθρου βασίζεται στην απορρόφηση υπέρυθρης ακρινοβολίας από τα μόρια μιας ένωσης, τα οποία προσλαμβάνοντάς την, αυξάνουν τις ενδομοριακές δονήσεις. Έτσι, ανάλογα με το πόση ακτινοβολία απορροφήθηκε, μπορούν να προκύψουν συμπεράσματα για το είδος των μορίων που περιέχονται σε κάθε δείγμα [19]. Η φασματομετρία Raman προκύπτει από την πρόσπτωση ακτινοβολίας IR και σκέδαση μέρους αυτής στα μόρια του δείγματος προς ανάλυση, καθώς και μετατόπιση μικρού μέρους της σκεδαζόμενης ακτινοβολίας σε μεγαλύτερα μήκη κύματος [19]. Η μετατόπιση αυτή βασίζεται στην αλληλεπίδραση των μορίων με την ακτινοβολία καθώς και στη διέγερση των ενεργειακών τους πεδίων [19].

## 2.3 Φασματομετρία IR

Η υπέρυθρη φασματομετρία (IR) κατατάσσεται στις μοριακές μεθόδους φασματοσκοπίας μιας και χρησιμοποιείται για τον ποιοτικό ή ποσοτικό προσδιορισμό μορίων. Η βασική θεωρία της είναι η διέγερση των μορίων σε υψηλότερες στάθμες δόνησης και περιστροφής, όταν αυτά απορροφούν υπέρυθρη ακτινοβολία [19]. Στις αρχές της δεκαετίας του 1900 (1903), ο W. Colbentz ασχολήθηκε με την πειραματική μέτρηση των φασμάτων απορρόφησης καθαρών ουσιών [19]. Έτσι, από το 1930 η φασματομετρία IR θεωρείται μια από τις βασικότερες μεθόδους ταυτοποίησης οργανικών ιδίως ενώσεων. Παράλληλα, η μέθοδος αυτή χρησιμοποιείται και στο περιβάλλον της βιομηχανίας, ειδικότερα σε περιπτώσεις οργανικής ποσοτικής ανάλυσης. Τα μόρια τα οποία απορροφούν υπέρυθρη ακτινοβολία είναι αυτά που περιέχουν ομάδες CO, HCl και NO, οι οποίες αποτελούνται από δύο ετεροάτομα και άρα οι περιστροφές των ατόμων τους έχουν μία συνεχόμενη διπολική ροπή [19]. Αντίθετα τα διατομικά άτομα τα οποία δεν έχουν διπολική ροπή (όπως H2, Cl2, N2) δεν διεγείρονται με απορρόφηση ακτινοβολίας, οπότε δεν απορροφούν υπέρυθρη ακτινοβολία [19]. Επομένως το φάσμα απορρόφησης του υπερύθρου μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την μελέτη της δομής μία ένωσης, καθώς αποτελεί χαρακτηριστική ιδιότητα κάθε ένωσης και γι' αυτό το λόγο χαρακτηρίζεται και ως «δακτυλικό αποτύπωμα της ένωσης» [19].
Η φασματομετρία υπερύθρου σήμερα αποτελεί ένα πολύ αποτελεσματικό εργαλείο για

ποιοτικούς και ποσοτικούς προσδιορισμούς ουσιών. Στη χημεία χρησιμοποιείται κυρίως το υπέρυθρο. Το εγγύς υπέρυθρο δεν χρησιμεύει ιδιαίτερα για την ταυτοποίηση ενώσεων, παρά μόνο για τον ποσοτικό προσδιορισμό ενώσεων που περιέχουν ομάδες αποτελούμενες από δεσμούς υδρογόνου [19]. Επίσης τα φασματόμετρα εγγύς υπερύθρου μοιάζουν οργανολογικά με τα φασματόμετρα ορατού-υπεριώδους και, ως εκ τούτου, μπορεί να θεωρηθεί πως οι αναλύσεις του εγγύς υπερύθρου αποτελούν μια προέκταση της φασματομετρίας ορατού-υπεριώδους.

## 2.4 Φασματομετρία Raman

Το φάσμα Raman ανακαλύφθηκε από τον Ινδό φυσικό C.V. Raman στον οποίο απενεμήθη το βραβείο Nobel Φυσικής το 1931 για αυτή την ανακάλυψη [19].
Η φασματομετρία Raman βασίζεται στην σκέδαση ενός μέρους της υπέρυθρης ακτινοβολίας η οποία προσπίπτει σε κάποια επιφάνεια και ταυτόχρονα στη μετατόπιση ενός μικρού μέρους της σκεδαζόμενης ακτινοβολίας σε μεγαλύτερα μήκη κύματος [19]. Η φασματομετρία Raman συνδέεται με την υπέρυθρη φασματομετρία καθώς και οι δύο μέθοδοι βασίζονται στο ίδιο είδος δονητικών μεταβολών, στην οργανολογία και στις πληροφορίες που προκύπτουν για την χημική δομή [19]. Ένα ιδιαίτερα σημαντικό πλεονέκτημα που έχει η φασματομετρία Raman σε σχέση με την φασματομετρία υπερύθρου είναι ότι στην περίπτωση των φασμάτων Raman είναι δυνατή η λήψη τους σε υδατικά διαλύματα [19]. Έτσι μπορούν να χρησιμοποιηθούν γυάλινες κυψελίδες ή κυψελίδες από χαλαζία και να αποφευχθούν αυτές που φτιάχνονται από χλωριούχο νάτριο [19]. Παράλληλα η φασματομετρία Raman έχει διαδεδομένη χρήση σε βιολογικά συστήματα, ενώ μπορεί να γίνει παρακολούθηση insitu (επί τόπου) μεταβολών δομής σε πρωτεϊνικά μόρια, νουκλεϊκά οξέα, πεπτίδια και λιπίδια [19]. Επίσης, η φασμοτομετρία Raman χρησιμοποιείται για την διερεύνηση ανόργανων ενώσεων, όπως είναι τα χηλικά σύμπλοκα μετάλλων και ιόντων σε υδατικά διαλύματα. Αυτό γίνεται καθώς μπορεί να χρησιμοποιηθεί σε μήκη κύματος με τιμή μικρότερη των 500 $cm^{-1}$ [19].

### 2.4.1 Μελέτες ανάλυσης Ελαιόλαδου με φασματομετρία IR και Raman

Η φασματοσκοπία υπερύθρου , τόσο η εγγύς όσο και η μέσου υπεριώδους εφαρμόζεται πολύ συχνά στην μελέτη τροφίμων για θέματα δομής τροφίμων και ελέγχου ποιότητας [17]. Αυτή η μέθοδος δίνει ένα αρκετά περίπλοκο φάσμα το οποίο διαφέρει λίγο από το ελαιόλαδο σε σπορέλαια [17, 20]. Λόγω αυτού καθίσταται επιτακτική η ανάγκη της χρήσης κάποιας χημειομετρικής μεθόδου. Βιβλιογραφικά βρέθηκε μια συγκριτική μελέτη για την πρόβλεψη του ποσοστού σογιέλαιου έχει προστεθεί σε εξαιρετικά παρθένο ελαιόλαδο με χρήση φασματομετρίας NIR, MIR και Raman [20]. Το πλήθος των ελαίων που χρησιμοποιήθηκαν στην εν λόγω μελέτη προέρχονταν από την αγορά της Βραζιλίας. Έγινε εξαγωγή δεδομένων των ληφθέντων φασμάτων και επεξεργασία με την μέθοδο των μερικών ελαχίστων τετραγώνων (PLS) και στη συνέχεια το μοντέλο που αναπτύχθηκε χρησιμοποιήθηκε για την πρόβλεψη του ποσοστού ανάμειξης [20]. Από τα διαγράμματα αληθινών τιμών/προβλεπόμενων τιμών (true values/predicted values) προέκυψαν γραμμές τάσης και η τιμή $R^2$ η οποία δείχνει το ποσοστό διακύμανσης των τιμών από την γραμμή τάσης [20]. Βάσει αυτών των τιμών προέκυψαν υψηλές τιμές του $R^2$ για τις μεθόδους NIR και Raman , ενώ τα αποτελέσματα για το MIR ήταν συγκριτικά χειρότερα [20].

## 2.5 DSC (Διαφορική θερμιδομετρία σάρωσης)

Η θερμική θερμιδομετρία σάρωσης ανήκει στις θερμικές τεχνικές και καταγράφει την διαφορά της ροής θερμότητας μεταξύ δύο ουσιών: την ουσία προς ανάλυση και μια ουσία αναφοράς, ως συνάρτηση της θερμοκρασίας του προς ανάλυση δείγματος. Οι δυο ουσίες υποβάλλονται σε ελεγχόμενο πρόγραμμα θερμοκρασίας και προκύπτει διάγραμμα ροής θερμότητας συναρτήσει και των δύο ουσιών.

### 2.5.1 Μελέτες Ανάλυσης Ελαιόλαδου με DSC

Η διαφορική θερμιδομετρία έχει δοκιμαστεί επίσης για τον ανίχνευση σπορέλαιων σε ελαιόλαδα, κυρίως σε συνδυασμό με την μέθοδο PLS. Στη βιβλιογραφία τα αποτελέσματα που έχουν προκύψει δίνουν συντελεστή συσχέτισης $R^2$ από 0,78 έως 0,98 [17]. Επίσης σε συνδυασμό με την ανάλυση κύριων συνιστωσών (PrincipalComponent Analysis, PCA) η διαφορική θερμιδομετρία μπορεί να χρησιμοποιηθεί και για την μελέτη της επίπτωσης που έχει η θερμική καταπόνηση στα εξαιρετικά παρθένα ελαιόλαδα [17]. Σε πρόσφατη μελέτη [21], η DSC χρησιμοποιήθηκε για τον εντοπισμό ηλιέλαιου σε διάφορα δείγματα εξαιρετικά παρθένου ελαιόλαδου. Ανάλογα με το ελαιόλαδο και την μεταβλητή που επιλέγεται προς εξέταση, το όριο ανίχνευσης ποικίλει από 2% έως 10% σε επίπεδο εμπιστοσύνης 95% [21].

## 2.6 Φασματομετρία Υπεριώδους-Ορατού (UV-Vis)

Η φασματομετρία υπεριώδους-ορατού αναφέρεται σε απορροφήσεις ακτινοβολίας σε μήκη κύματος από 190-800 nm, οι οποίες οφείλονται σε ηλεκτρονιακές μεταπτώσεις [19]. Η υπεριώδης περιοχή του ηλεκτρομαγνητικού φάσματος διακρίνεται στο εγγύς υπεριώδες (400-190 nm) και στο άπω υπεριώδες (190-100 nm) [19]. Στις περισσότερες περιπτώσεις μελετάται το εγγύς υπεριώδες, καθώς στο άπω υπεριώδες απορροφά ο αέρας (άρα απαιτείται κενό) και ο χαλαζίας από τον οποίο αποτελούνται οι κυψελίδες και άλλα εξαρτήματα του οργάνου [19].

### 2.6.1 Μελέτες Ανάλυσης Ελαιόλαδου με Φασματομετρία UV-Vis

Η φασματομετρία υπεριώδους έχει χρησιμοποιηθεί ως μέθοδος ανίχνευσης νοθείας στο ελαιόλαδο χάρη στα ποικίλα πλεονεκτήματα της. Πρόκειται για μια γρήγορη μέθοδο, εύκολη στη χρήση και με δυνατότητες αυτοματοποίησης [17]. Ωστόσο, έχει μικρή εκλεκτικότητα, οπότε είναι αναγκαία η προκατεργασία του δείγματος και η χρήση χημειομετρικών μεθόδων [17]. Από την βιβλιογραφία βρέθηκε να χρησιμοποιείται ως μέθοδος για την κατάταξη με βάση την περιοχή προέλευσης (classification) Ισπανικού ελαιόλαδου και σε συνδυασμό με τις μεθόδους γραμμικής διακριτής ανάλυσης (Linear discriminant analysis ,LDA) και διακριτής ανάλυση μερικών ελαχίστων τετραγώνων (Partial Least Squares Discriminant Analysis PLS-DA) έδωσαν βαθμό πρόβλεψης 92,5% [17, 22].

## 2.7 Φασματομετρία Πυρηνικού Μαγνητικού Συντονισμού (NMR)

Στην φασματομετρία Πυρηνικού Μαγνητικού Συντονισμού μετράται η απορρόφηση ακτινοβολίας στην περιοχή των ραδιοσυχνοτήτων, δηλαδή από 4 έως 900 MHz. Κατά την ανάλυση με NMR το δείγμα τοποθετείται σε ισχυρό μαγνητικό πεδίο. Η φασματομετρία NMR αποτελεί ένα πολύ καλό εργαλείο για τον προσδιορισμό της δομής χημικών ουσιών και χρησιμοποιείται ευρύτατα στην Οργανική Χημεία [23].

### 2.7.1 Μελέτες Ανάλυσης Ελαιόλαδου με Φασματομετρία NMR

Η συγκεκριμένη μέθοδος χρησιμοποιείται συχνά για την μελέτη ελαιόλαδου, αν και θεωρείται ιδιαίτερα δαπανηρή, σε συνδυασμό με χημειομετρικές μεθόδους. Πιο συγκεκριμένα στη βιβλιογραφία απαντάται χρήση φασματομετρίας NMR σε συνδυασμό με τις χημειομετρικές τεχνικές PCA και LDA για τον εντοπισμό φουντουκέλαιου σε ελαιόλαδο με όριο ανίχνευσης 10% και 5% για βιομηχανικό ελαιόλαδο (ραφινέ). Σε αντίστοιχες έρευνες με την χρήση LDA έχουν υπολογιστεί όρια ανίχνευσης 10% ηλιέλαιου και σογιέλαιου σε ελαιόλαδο και 30% φουντουκέλαιου σε ελαιόλαδο. Η φασματομετρία NMR χρησιμοποιείται επιπροσθέτως για την διερεύνηση της γεωγραφικής προέλευσης ελαιόλαδου, την διαφοροποίηση Ιταλικού ελαιόλαδου από ελαιόλαδα άλλων χωρών, καθώς και μελέτες για την χρονιά συγκομιδής του [17].

## 2.8 Χρωματογραφικές Τεχνικές Ανάλυσης

Οι χρωματογραφικές τεχνικές ανάλυσης αποτελούν τεχνικές διαχωρισμού με τις οποίες διαχωρίζονται ουσίες με παραπλήσιες χημικές ιδιότητες από περίπλοκα (σύνθετα) μείγματα. Σε πολλές περιπτώσεις οι ουσίες αυτές δεν μπορούν να διαχωριστούν με άλλο τρόπο. Γενικά σε όλες τις χρωματογραφίες υπάρχει μία κινητή φάση (αέριο ή υγρό), η οποία διέρχεται από μία, συνήθως καθηλωμένη σε στήλη, στατική φάση [23] ή σπανιότερα σε επίπεδη επιφάνεια (χρωματογραφία λεπτής στοιβάδας). Η επιλογή των δύο φάσεων εξαρτάται από το είδος των συστατικών των οποίων επιθυμείται ο διαχωρισμός και γενικά υπάρχει πληθώρα επιλογών. Τα χρωματογραφικά συστήματα συνοδεύονται και από κατάλληλους ανιχνευτές, οι οποίοι τοποθετούνται στην έξοδο της στήλης, έτσι ώστε να υπολογίζεται ο χρόνος έκλουσης του κάθε συστατικού με ταυτόχρονη δυνατότητα για ποσοτική ή και ποιοτική ανάλυση (ταυτοποίηση), ειδικά στην περίπτωση που ως ανιχνευτής επιλέγεται η φασματομετρία μαζών. Η δυνατότητα επιλογής συστημάτων ανίχνευσης είναι γενικά ευρεία για κάθε χρωματογραφική τεχνική και περιλαμβάνει φασματομετρικές, ηλεκτροχημικές και άλλες τεχνικές ανάλυσης [23].

### 2.8.1 Υγροχρωματογραφία-HPLC

Η μέθοδος HPLC σε συνδυασμό με τον κατάλληλο ανιχνευτή παρέχει σημαντικές πληροφορίες για την χημική σύσταση των ελαίων, ωστόσο απαιτεί και αυτή τον συνδυασμό της με χημειομετρικές μεθόδους. Με υγροχρωματογραφία προσδιορίζονται κυρίως τα πολικά συστατικά των ελαίων όπως οι φαινόλες, διακυλογλυκερόλες (diacylglycerols), τριακυλογλυκερόλες (triacylglycerols) και στερόλες [17]. Ως αναλυτική τεχνική σε συνδυασμό με την κατάλληλη χημειομετρική μέθοδο έχει χρησιμοποιηθεί, εκτός από τον έλεγχο νοθείας του ελαιόλαδου (διαφοροποίηση από άλλα έλαια), για την ταυτοποίηση της γεωγραφικής προέλευσης ελαιόλαδων και τον έλεγχο διαφοροποίησης μεταξύ ποικιλιών ελαιόλαδου [17]. Στη βιβλιογραφία απαντάται υγροχρωματογραφική μελέτη του μη σαπωνοποιημένου κλάσματος διάφορων ελαίων, η οποία σε συνδυασμό με χημειομετρική επεξεργασία με PCA, ιεραρχική ανάλυση ομάδων (hi-erarchical cluster analysis, HCA) και PLS-DA των λαμβανόμενων χρωματογραφημάτων οδήγησε σε διαφοροποίηση του ελαιόλαδου από διάφορα σπορέλαια [24].

### 2.8.2 Αεριοχρωματογραφία-GC

Η αεριοχρωματογραφία σε αντίθεση με την HPLC χρησιμοποιείται για τον διαχωρισμό του μη πολικού τμήματος του ελαίου και χρησιμοποιείται επίσης σε συνδυασμό με χημειομετρικές μεθόδους [17]. Η αεριοχρωματογραφία έχει εφαρμοστεί για τον εντοπισμό της ποικιλίας, της γεωγραφικής προέλευσης και της νοθείας ελαιόλαδου [17]. Κατά τις μελέτες νοθείας ελαιόλαδου με GC προσδιορίζονται συστατικά όπως στερόλες (cholesterol, brassicasterol, ergosterol, κ.α.) και λιπαρά οξέα, και, ανάλογα με την συγκέντρωση αυτών, υπολογίζεται το ποσοστό νοθείας σε σπορέλαια [17, 25]. Το όριο ανίχνευσης που αναφέρεται στην βιβλιογραφία ανέρχεται έως 10% σπορέλαιων σε ελαιόλαδα [25].

## 2.9 Ηλεκτροαναλυτικές Τεχνικές

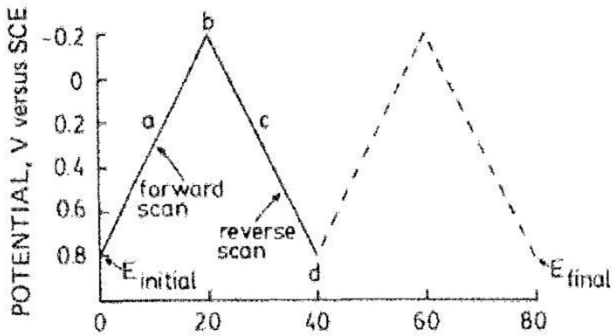
Η Ηλεκτροαναλυτική Χημεία περιλαμβάνει ποικιλία τεχνικών ανάλυσης που πραγματοποιούνται σε ένα ηλεκτροχημικό στοιχείο. Το τελευταίο αποτελείται από τα ηλεκτρόδια, το διάλυμα του ηλεκτρολύτη που άγει το ρεύμα και ένα εξωτερικό κύκλωμα που επιτελεί την εφαρμογή ήτην μέτρηση των ηλεκτρικών σημάτων. Τα ηλεκτρικά μεγέθη που μετρούνται περιλαμβάνουν το δυναμικό, την ένταση ρεύματος, την ηλεκτρική αντίσταση και μέσω αυτών επιτελείται ποιοτική ή ποσοτική ανάλυση [23]. Οι ηλεκτροαναλυτικές τεχνικές γενικά επιτυγχάνουν χαμηλά όρια ανίχνευσης και παρέχουν σημαντικές πληροφορίες όπως η στοιχειομετρία μιας αντίδρασης, ο βαθμός προσρόφησης, η σταθερά ισορροπίας μιας χημικής αντίδρασης [23].

### 2.9.1 Κυκλική Βολταμμετρία

Ως βολταμμετρία ορίζεται μία ομάδα από ηλεκτροαναλυτικές τεχνικές στις οποίες μετράται το ηλεκτρικό ρεύμα ως συνάρτηση του εφαρμοζόμενου δυναμικού σε συνθήκες πόλωσης ενός ηλεκτροδίου (του ηλεκτροδίου εργασίας) [23]. Η βολταμμετρία χρησιμοποιείται ευρέως για μελέτες αναλυτικής χημείας, για μελέτες οξειδοαναγωγικών διεργασιών και φαινομένων προσρόφησης [23].

Η βολταμμετρία, αν και πριν την δεκαετία του 1950 είχε κυρίαρχο ρόλο στον προσδιορισμό ιχνοστοιχείων σε υδατικά διαλύματα, αντικαταστάθηκε σταδιακά σε πολλές εφαρμογές της από φασματομετρικές μεθόδους. Όμως μετά την δεκαετία του 1960 αυξήθηκε η χρήση βολταμμετρικών τεχνικών, λόγω της ανάπτυξης των ηλεκτροαναλυτικών συστημάτων και της εμπορικής διαθεσιμότητας τους σε χαμηλότερη τιμή σε σχέση με τα φασματόμετρα. Έτσι ανανεώθηκε το ενδιαφέρον των χημικών για τη χρήση βολταμμετρικών τεχνικών για την ανίχνευση πλήθους ουσιών και ειδικότερα για ουσίες φαρμακευτικού, περιβαλλοντικού και βιολογικού ενδιαφέροντος [23].

Μία από τις πιο περίπλοκες αλλά ταυτόχρονα και μία από τις πιο συχνά προτιμώμενες ηλεκτροαναλυτικές μεθόδους αποτελεί η κυκλική βολταμμετρία, στην οποία καταγράφεται το ρεύμα που διαρρέει το ηλεκτρόδιο (σε ακίνητο διάλυμα) όταν επιβάλλεται σε αυτό τριγωνική κυματομορφή δυναμικού (σχήμα 1) [23, 26]. Η κυκλική βολταμμετρία παρέχει σημαντικές πληροφορίες, όπως το δυναμικό οξείδωσης ή αναγωγής, ο αριθμός των ανταλλασσόμενων ηλεκτρονίων, η κινητική της μεταφοράς φορτίου, η αντιστρεπτότητα της ηλεκτροχημικής δράσης και η σταθερότητα των προϊόντων της, η παρουσία τυχόν ενδιάμεσων προϊόντων και ο συντελεστής διάχυσης των υπό μελέτη χημικών ειδών [27].




*Σχήμα 1:Τριγωνική κυματομορφή δυναμικού*

Η διάταξη κάθε βολταμογράφου αποτελείται από τρία ηλεκτρόδια, το ηλεκτρόδιο εργασίας (working electrode), το ηλεκτρόδιο αναφοράς (reference electrode) και το βοηθητικό ηλεκτρόδιο (auxiliary electrode), όλα εκ των οποίων είναι συνδεδεμένα σε ποτενσιοστάτη και βυθίζονται στο διάλυμα του αναλύτη που περιέχει τον κατάλληλο ηλεκτρολύτη. Ο ποτενσιοστάτης επιτρέπει τον έλεγχο πιθανής διαφοράς ανάμεσα στο ηλεκτρόδιο αναφοράς και στο ηλεκτρόδιο εργασίας με μηδενικές παρεμβολές. Επίσης με αυτό τον τρόπο επιτρέπεται και η ελαχιστοποίηση του ρεύματος που περνάει μέσα από το ηλεκτρόδιο αναφοράς, αποφεύγοντας πόλωση (polarization) του ηλεκτροδίου και κρατώντας σταθερή την διαφορά από το ηλεκτρόδιο εργασίας [27].

Στην κυκλική βολταμμετρία ως ηλεκτρόδιο εργασίας μπορεί να χρησιμοποιηθεί το ηλεκτρόδιο αιωρούμενης σταγόνας υδραργύρου, το οποίο όμως δεν προτιμάται συχνά εξαιτίας του μικρού χρήσιμου ανοδικού εύρους του, αλλά και λόγω της τοξικότητας του [27]. Συχνά χρησιμοποιούμενα ηλεκτρόδια εργασίας αποτελούν τα ηλεκτρόδια λευκόχρυσου (πλατίνας), χρυσού και υαλώδους άνθρακα (glassy carbon) που είναι εμπορικά διαθέσιμα, καθώς και το ηλεκτρόδιο πάστας γραφίτη (carbon paste) που παρασκευάζεται εύκολα εργαστηριακά. Ως ηλεκτρόδια αναφοράς χρησιμοποιούνται ηλεκτρόδια Ag/AgCl και καλομέλανα, τα οποία είναι εμπορικά διαθέσιμα. Εναλλακτικά χρησιμοποιούνται και ψευδοηλεκτρόδια αναφοράς όπως σύρματα αργύρου ή λευκόχρυσου [27]. Ως βοηθητικά ηλεκτρόδια χρησιμοποιούνται αγώγιμα και χημικά υλικά με μεγάλη επιφάνεια, όπως σύρματα λευκόχρυσου, υαλώδους άνθρακα ή τιτανίου [27].

## 2.10 Ηλεκτρόδια Εργασίας

Στην παρούσα διπλωματική εργασία με σκοπό την ανάλυση των δειγμάτων, χρησιμοποιήθηκαν τρία διαφορετικά ηλεκτρόδια εργασίας. Τα πιο διαδεδομένα ηλεκτρόδια εργασίας είναι τα ηλεκτρόδια λευκόχρυσου (πλατίνας), ηλεκτρόδιο χρυσού και ηλεκτρόδιο υαλώδους άνθρακα καθώς είναι εύκολο να βρεθούν στο εμπόριο, ενώ χρησιμοποιούνται και στις περισσότερες εργαστηριακές ασκήσεις [28].

### 2.10.1 Ηλεκτρόδιο Υαλώδους Άνθρακα

Ο υαλώδης άνθρακας (GC), που αναφέρεται επίσης ως υαλώδης ή πολυμερικός άνθρακας, είναι μια κατηγορία άνθρακα που χρησιμοποιείται ευρέως ως υλικό ηλεκτροδίου εργασίας σε ηλεκτροχημικές μελέτες. Χρησιμοποιείται σε ηλεκτροαναλυτικές μελέτες από τη δεκαετία του 1960. Ένα ηλεκτρόδιο GC αποτελείται από άνθρακες τύπου sp2. Το ηλεκτρόδιο GC έχει μια δομή που σχετίζεται αρκετά με την δομή ενός υαλώδους υλικού, με χαρακτηριστικό θραύσης όπως το γυαλί, αλλά καταφέρνει και διατηρεί πολλές από τις φυσικές ιδιότητες του γραφίτη.

Το Glassy Carbon είναι το πιο συχνά χρησιμοποιούμενο ηλεκτρόδιο με βάση τον άνθρακα για ηλεκτροανάλυση. Έχει υψηλή μηχανική αντοχή, μεγάλη ανθεκτικότητα στη χημική προσβολή και είναι εξαιρετικά αδιαπέραστο από αέρια και υγρά. Το GC δείχνει αύξηση της ηλεκτρικής αγωγιμότητας με την αύξηση της θερμοκρασίας.

Ο ρυθμός οξείδωσης του GC από οξυγόνο, διοξείδιο του άνθρακα ή υδρατμούς είναι χαμηλότερος από ότι για οποιοδήποτε άλλο υλικό με βάση τον άνθρακα. Το GC είναι παρόμοιο με τον πολυκρυσταλλικό γραφίτη στη σύνθεση, τη συγκόλληση και την αντίσταση, αλλά διαφέρει πολύ σε σχέση με το πορώδες του, τη χαμηλή πυκνότητα, την υψηλή σκληρότητα, την υψηλή αντοχή, την καλή ηλεκτρική αγωγιμότητα και τις μηχανικές ιδιότητες. Ισχυροί οξειδωτικοί παράγοντες όπως οξυγόνο σε αυξημένη θερμοκρασία, ή θερμά τήγματα, ή ισχυρά οξέα μπορούν να προσβάλλουν υαλώδη άνθρακα, αλλά εξακολουθεί να είναι πιθανώς το πιο αδρανές υλικό με βάση τον άνθρακα [28].

### 2.10.2 Ηλεκτρόδιο Λευκόχρυσου

Η πλατίνα είναι ένα από τα πιο συχνά χρησιμοποιούμενα υλικά ηλεκτροδίων ευγενών μετάλλων. Τα κύρια πλεονεκτήματα των ηλεκτροδίων λευκόχρυσου είναι ο σαφής διαχωρισμός των δυναμικών περιοχών για προσρόφηση υδρογόνου και οξυγόνου και η

εξαιρετική αντοχή στη διάβρωση σε συνδυασμό με υψηλή καταλυτική δράση για μεγάλη ποικιλία αντιδράσεων. Τα πρακτικά ανοδικά όρια των ηλεκτροδίων λευκόχρυσου μπορούν να υπερβούν τις θεωρητικές τιμές λόγω της γνωστής υπερευαισθησίας ενεργοποίησης του οξυγόνου στην πλατίνα. Αυτά τα πιθανά όρια μπορούν να αλλάξουν σε διαφορετικά ρυθμιστικά συστήματα, ακόμη και αν έχουν τις ίδιες τιμές pH. Αυτό μπορεί να εξηγηθεί εν μέρει από την επίδραση ανιόντων στο υπερβολικό δυναμικό. Η υπέρταση υδρογόνου σε ηλεκτρόδιο πλατίνας είναι αμελητέα, πράγμα που αποτελεί σοβαρό μειονέκτημα της χρήσης ηλεκτροδίων λευκόχρυσου σε καθοδικές περιοχές. Για πρακτικές εφαρμογές, τα ηλεκτρόδια πλατίνας χρησιμοποιούνται κυρίως σε ανοδικά δυναμικά για προσδιορισμούς δύσκολων προς οξείδωση οργανικών ειδών όπως φαρμακευτικώς δραστικών ενώσεων.
Είναι δύσκολο να διατηρηθούν οι επιφάνειες των ηλεκτροδίων λευκόχρυσου απαλλαγμένες από σχηματισμό στρώματος οξειδίου. Οι μεμβράνες οξειδίου μπορούν επίσης να αλλοιώσουν έντονα την κινητική της αντίδρασης ηλεκτροδίων ευγενών μετάλλων σε υδατικούς υποστηρικτικούς ηλεκτρολύτες, καθιστώντας δύσκολη την επίτευξη αναπαραγωγών αποτελεσμάτων. Επειδή αυτά τα προβλήματα επιφανειακής στιβάδας εμφανίζονται σε υδατικά μέσα, οι μη υδατικοί ηλεκτρολύτες στήριξης είναι συχνά μια ιδανική επιλογή για ηλεκτρόδια ευγενών μετάλλων [28].

### 2.10.3 Ηλεκτρόδιο Χρυσού

Όπως ο λευκόχρυσος έτσι και ο χρυσός αποτελεί ένα από τα πιο συχνά χρησιμοποιούμενα υλικά ηλεκτροδίων από ευγενή μέταλλα. Τα ηλεκτρόδια χρυσού είναι πιο αδρανή και ως εκ τούτου λιγότερο επιρρεπή στον σχηματισμό σταθερών φιλμ οξειδίου ή επιφανειακής μόλυνσης. Ειδικότερα, τα ηλεκτρόδια χρυσού χρησιμοποιούνται για τον προσδιορισμό ορισμένων ιχνοστοιχείων και προτιμώνται από τα ηλεκτρόδια πλατίνας για μελέτες ηλεκτροπαραγωγής. Μπορούν να χρησιμοποιηθούν για ανοδικές μετρήσεις όπως τα ηλεκτρόδια πλατίνας, έως το θεωρητικό δυναμικό εξέλιξης οξυγόνου. Ωστόσο, τα ηλεκτρόδια χρυσού δεν πρέπει να χρησιμοποιούνται ανοδικά σε υποστηρικτικούς ηλεκτρολύτες που περιέχουν χλωρίδιο, λόγω της οξείδωσης του μετάλλου σε σύνθετα χλωρίδια. Το θετικό εύρος των μέσων που περιέχουν ιόντα χλωρίου όπως το υδροχλωρικό οξύ είναι περίπου +0,6 V. Για γενική χρησιμότητα, ο χρυσός είναι πιθανώς ένα καλύτερο ηλεκτρόδιο από το λευκόχρυσο. Τα ηλεκτρόδια χρυσού χρησιμοποιούνται επίσης ευρέως ως υποστρώματα για αυτοσυναρμολογημένημονοστιβάδαοργανοσουλφώματος και για τον προσδιορισμό ιχνοστοιχείων με τεχνικές απογύμνωσης [28].

Τόσο τα ηλεκτρόδια χρυσού όσο και πλατίνας υφίστανται σχηματισμό στρώματος οξειδίου στην ανοδική κατεύθυνση. Αυτό το είδος συμπεριφοράς μπορεί να προκαλέσει επιπλοκές στην εφαρμογή και ανάπτυξη ηλεκτροαναλυτικών τεχνικών. Οι στιβάδες οξειδίου μπορούν να επιβραδύνουν την αντίδραση μεταφοράς ηλεκτρονίων ή να δώσουν μια απροσδόκητη αντίδραση με τον αναλύτη. Ως προληπτικό μέτρο, διάφορες προεπεξεργασίες μπορούν να χρησιμοποιηθούν για τον καθαρισμό ή την προετοιμασία της επιφάνειας του ηλεκτροδίου προκειμένου να τροποποιηθούν οι χημικές ιδιότητες [28].

# Κεφάλαιο 3 «Μελέτες Ανάλυσης Ελαιόλαδου με βάση τις ηλεκτροαναλυτικές τεχνικές»

Μια από τις κυριότερες εφαρμογές των ηλεκτροαναλυτικών τεχνικών αποτελεί η ανάλυση τροφίμων, παρόλο που η χρήση τους στον έλεγχο νοθείας ελαιόλαδου είναι περιορισμένη [17, 29]. Τα κυριότερα πλεονεκτήματα τους είναι η ευκολία χρήσης τους και το χαμηλό τους κόστος. Στην βιβλιογραφία, ο ηλεκτροαναλυτικός έλεγχος νοθείας του ελαιόλαδου επιτυγχάνεται μέσω ενός αισθητήρα χρησιμοποιώντας εκτυπωμένα ηλεκτρόδια πλέγματος (screenprintedelectrodes) [17] «ηλεκτρονικής γλώσσας» (e-tongue) καθώς και ηλεκτρόδια πάστας άνθρακα (carbonpaste) [29]. Τα αποτελέσματα των μετρήσεων συνδυάζονται πάντα με χημειομετρικές τεχνικές, όπως PCA και PLS-DA [17]. Σε μια εκ των πλέον πρόσφατων σχετικών ηλεκτροαναλυτικών τεχνικών (2014), διερευνήθηκε η δυνατότητα ανίχνευσης ελαιόλαδων με ηλιέλαιο, σογιέλαιο και αραβοσιτέλαιο [29]. Τα αποτελέσματα ήταν ενθαρρυντικά, καθώς επιτεύχθηκαν όρια ανίχνευσης μεταξύ 5% και 10% [29].

## 3.1 Χημειομετρία

Η ανάπτυξη σύγχρονων Ενόργανων Μεθόδων Χημικής Ανάλυσης παρέχει την δυνατότητα άντλησης μεγάλου όγκου πληροφοριών, η πληρέστερη και ορθολογική αξιοποίηση των οποίων πολλές φορές απαιτεί την εφαρμογή κατάλληλων στατιστικών μεθόδων. Οι χημειομετρικές μέθοδοι επιτρέπουν την καλύτερη αξιοποίηση των αναλυτικών τεχνικών, ελαχιστοποιούν τον αριθμό των δειγμάτων που αναλύονται και μεγιστοποιούν την ποσότητα των πληροφοριών που εξάγονται. Οι πληροφορίες αυτές μπορούν να αφορούν κρίσιμες αποφάσεις, όπως την επιλογή του κατάλληλου θεραπευτικού σχήματος ενός ασθενούς, την βιομηχανική ασφάλεια και υγιεινή στους χώρους εργασίας, τις ενώσεις που θα αξιολογηθούν κλινικά για την ανάπτυξη ενός νέου φαρμάκου.

Ο όρος Χημειομετρία χρησιμοποιήθηκε για πρώτη φορά το 1971 για να περιγράψει την αυξανόμενη χρήση μαθηματικών μοντέλων και στατιστικών αρχών στον κλάδο την χημείας και ιδιαίτερα στην αναλυτική χημεία [30]. Οι χημειομετρικές τεχνικές είναι συνήθως πολυπαραμετρικές, επεξεργάζονται δηλαδή πολλές παραμέτρους για κάθε αντικείμενο (δείγμα ή ένωση) και διακρίνονται σε μεθόδους ταξινόμησης δεδομένων και σε μεθόδους εξαγωγής μοντέλου. Στην πρώτη περίπτωση αναζητούνται κανόνες για την ταξινόμηση διαφόρων δειγμάτων ή ενώσεων σε συγκεκριμένες ομάδες με δεδομένη συμπεριφορά. Οι μέθοδοι εξαγωγής μοντέλου αναζητούν μια ποσοτική σχέση ανάμεσα στα χαρακτηριστικά μιας σειράς συγγενών δειγμάτων (ή μορίων) και μιας συγκεκριμένης ιδιότητας (π.χ. χημική ή βιολογική) [30].

## 3.2 Ανάλυση κύριων συνιστωσών (Principal Component Analysis, PCA)

Η ανάλυση PCA περιγράφηκε για πρώτη φορά το 1901 από τον Karl Pearson, για την επίλυση βιομετρικών προβλημάτων [31]. Η μέθοδος εξελίχτηκε αρκετά τα επόμενα χρόνια, ειδικά από την δεκαετία του 1980 [32] και μετά, όπου επικράτησαν οι Ηλεκτρονικοί Υπολογιστές. Γενικά αποτελεί μία από τις πιο απλές πολυμεταβλητές μεθόδους (multivariate methods) [31] και συγκαταλέγεται στις χημειομετρικές μεθόδους. Ο στόχος της μεθόδου είναι, λαμβάνοντας p-μεταβλητές και βρίσκοντας συνδυασμούς αυτών, να παράγει δείκτες οι οποίοι δεν συσχετίζονται μεταξύ τους. Για καλύτερη κατανόηση της μεθόδου αρκεί να την αναλογιστούμε σαν φιλτράρισμα δεδομένων.

Πιο συγκεκριμένα η ανάλυση κύριων συνιστωσών κατατάσσεται στις μεθόδους ταξινόμησης και εφαρμόζεται σε ένα ενιαίο πίνακα περιγραφικών μεταβλητών X (descriptions). Ο πίνακας αυτός αποτελείται από σειρές οι οποίες αντιπροσωπεύουν τα αντικείμενα/παρατηρήσεις και από στήλες οι οποίες αντιπροσωπεύουν τις μεταβλητές. Γεωμετρικά οι παρατηρήσεις μπορούν να απεικονιστούν ως σημεία σε ένα πολυδιάστατο χώρο, στον οποίο οι μεταβλητές προσδιορίζουν τους άξονες. Να σημειωθεί ότι επειδή η κλίμακα των μεταβλητών επηρεάζει το μήκος των αξόνων, απαιτείται κοινωνικοποίηση των μεταβλητών (scaling). Η μέθοδος PCA από ένα σύνολο μεταβλητών X εξάγει ένα νέο σύνολο μεταβλητών t οι οποίες καλούνται «κύριες συνιστώσες» και περιέχουν την πληροφορία που φέρουν οι αρχικές μεταβλητές. Έτσι με την μέθοδο αυτή προσαρμόζεται μία ευθεία, ένα επίπεδο ή ένα υπέρ-επίπεδο στα δεδομένα σε ένα πολυδιάστατο χώρο με άξονες τις μεταβλητές. Η γραφική αυτή απεικόνιση ονομάζεται διάγραμμα των συντεταγμένων (scores), δίνει την σχετική θέση των αντικειμένων στο χώρο και παρέχει πληροφορίες για την μεταξύ τους σχέση. Με αυτό τον τρόπο διαπιστώνεται η ύπαρξη ομάδων, τάσεων, outliers, κλπ. [33]. Για την αξιολόγηση των αποτελεσμάτων χρησιμοποιούνται κυρίως δύο στατιστικά μεγέθη:

- ο συνολικός συντελεστής συσχετίσεως $R^2$(cum) ,ο οποίος εκφράζει το ποσοστό των αθροισμάτων των τετραγώνων όλων των μεταβλητών X που ερμηνεύεται από όλες τις εξαχθείσες Κύριες συνιστώσες [33].
- ο διασταυρωμένος συντελεστής συσχετίσεως $Q^2$, ο οποίος εκφράζει το ποσοστό της συνολικής διακύμανσης των X που προβλέπεται από την κύρια συνιστώσα [33].

## 3.3 Διακριτή (διακριτική) ανάλυση μερικών τετραγώνων (Partial Least Squares Discriminant Analysis, PLS-DA)

Κατά την ανάλυση με τη μέθοδο PCA, η οποία αναφέρθηκε προηγουμένως, προκύπτει μία τοποθέτηση των παρατηρήσεων στο χώρο η οποία γίνεται κατά το βέλτιστο δυνατόν, κάτι που όμως δεν εγγυάται τον βέλτιστο διαχωρισμό των παρατηρήσεων σε ομάδες. Γι' αυτό το σκοπό χρησιμοποιείται εκτενέστερα η μέθοδος της διακριτής ανάλυσης ελαχίστων τετραγώνων (Partial Least Squares Discriminant Analysis, PLS-DA). Στη διακριτή ανάλυση (discriminant analysis) σκοπός είναι η ομαδοποίηση των εισερχόμενων δεδομένων έτσι ώστε να φανεί η σχέση μεταξύ των ομάδων. Το πρόβλημα με αυτή τη μέθοδο είναι το πόσο καλά μπορούν να διαχωριστούν τα δεδομένα σε δύο ή περισσότερες ομάδες [31]. Επίσης επιτρέπει την τοποθέτηση νέων μετρήσεων σε κάποια από τις ήδη υπάρχουσες ομάδες [30]. Αυτή η μέθοδος επιτρέπει στα δείγματα προς εξέταση να μην είναι κανονικοποιημένα, καθώς δεν επηρεάζεται από την τάξη μεγέθους των δειγμάτων, σε αντίθεση με την μέθοδο PCA [31]. Πρόκειται για μια εποπτευόμενη (supervised) μέθοδο, στην οποία οι ομάδες δεδομένων (δειγμάτων) είναι ήδη γνωστές (πειραματικές ομάδες) και ο σκοπός της ανάλυσης είναι η επιβεβαίωση (ή μη) της διαφοράς μεταξύ των ομάδων που είχαν καθοριστεί από την αρχή και η ταυτοποίηση των χαρακτηριστικών εκείνων που περιγράφουν καλύτερα τις διαφορές μεταξύ τους [31]. Για την αξιολόγηση των αποτελεσμάτων χρησιμοποιούνται τα ίδια στατιστικά στοιχεία με τη μέθοδο PCA, δηλαδή ο συνολικός συντελεστής συσχετίσεως $R^2$(cum) και ο διασταυρωμένος συντελεστής συσχετίσεως $Q^2$. Σε αντίθεση όμως με την μεθοδο PCA υπολογίζονται δύο συντελεστές $R^2$(cum), ο $R^2X$(cum), ο οποίος εκφράζει το ποσοστό των αθροισμάτων των τετραγώνων όλων των μεταβλητών Χ που ερμηνεύεται από όλες τις εξαχθείσες Κύριες συνιστώσες και ο $R^2Y(cum)$, ο οποίος εκφράζει το ποσοστό των αθροισμάτων των τετραγώνων όλων των εξαρτημένων μεταβλητών Υ που ερμηνεύεται από όλες τις εξαχθείσες κύριες συνιστώσες.

## 3.4 Ανάλυση μιας κλάσης (Class Modelling)

Σε αντίθεση με τις μεθόδους κατηγοριοποίησης/κατάταξης οι οποίες αποσκοπούν στην κατάταξη ενός δείγματος σε μια συγκεκριμένη ομάδα (μεταξύ τουλάχιστον 2 ομάδων), οι μέθοδοι μοντελοποίησης μιας κλάσης εστιάζουν σε μια συγκεκριμένη ομάδα που ενδιαφέρει την μελέτη, όπως είναι για παράδειγμα δείγματα που προέρχονται από μια συγκεκριμένη γεωγραφική περιοχή ή γνήσια (μη νοθευμένα) δείγματα από μια συγκεκριμένη κατηγορία (π.χ. εξαιρετικά παρθένα ελαιόλαδα, θυμαρίσιο μέλι). Πρόκειται για μια ομάδα χημειομετρικών τεχνικών που ενδιαφέρει ιδιαίτερα τον κλάδο της αναλυτικής χημείας που ασχολείται με την ανάπτυξη μοντέλων για την επιβεβαίωση της γνησιότητας ενός αριθμού δειγμάτων. Ένας σημαντικός λόγος για τον οποίο οι μέθοδοι μιας κλάσης τυγχάνουν ευρείας εφαρμογής στην επιβεβαίωση γνησιότητας δειγμάτων είναι πως αυτά είναι σαφώς ευκολότερο να μοντελοποιηθούν μέσω μιας συστηματικής δειγματοληψίας σε αντίθεση με τα νοθευμένα δείγματα, στα οποία η νοθεία δεν είναι καθορισμένη [34].

Μια μέθοδος μοντελοποίησης μιας κλάσης είναι η ήπια ανεξάρτητη μοντελοποίηση αναλογίας κλάσεων (Soft Independent Modelling by Class Analogy, SIMCA) είναι μια μη προτυποποιητική μέθοδος αποτύπωσης με βάση την απόσταση που εισήγαγε ο SvanteWold (1977). Τα μοντέλα SIMCA βασίζονται στις κατευθύνσεις της μέγιστης διακύμανσης (και συνεπώς της μέγιστης πληροφορίας) σε έναν χώρο πολλαπλών δεδομένων. Για το σκοπό αυτό, τα δεδομένα αρχικά μετασχηματίζονται με βάση την ταξινόμηση της στήλης ή με τη μέση τιμή της στήλης, η μία από τις οποίες μετατοπίζει την προέλευση των αξόνων αναφοράς ώστε να συμπίπτει με την κεντροειδή τάξη. Στη συνέχεια, εκτελείται ανάλυση κυριων συνιστωσών (PCA), με περιστροφή γύρω από το κέντρο της κατηγορίας, και ο αριθμός των σημαντικών κατευθύνσεων της μέγιστης διακύμανσης αξιολογείται, συνήθως μέσω μιας διπλής διαδικασίας διασταυρούμενης επικύρωσης. Οι κατευθύνσεις αυτές ορίζουν τον λεγόμενο εσωτερικό χώρο της SIMCA [34].

Ένα τέτοιο μοντέλο έχει σχήμα ενός τμήματος (μονοδιάστατος εσωτερικός χώρος), ενός ορθογωνίου (διδιάστατος εσωτερικός χώρος), ενός παραλληλεπίπεδου ή υπερπαραλληλεπιπέδου (τριών ή πολυδιάστατων εσωτερικών. Οι υπολογισμοί (δηλαδή οι αποστάσεις μεταξύ κάθε δείγματος και του μοντέλου ο χώρος που ορίζονται από τις μη συμαντικές κατευθύνσεις, που ονομάζεται εξωτερικός χώρος SIMCA) υπολογίζονται τότε και χρησιμοποιούνται για τον καθορισμό μιας απόστασης από το μοντέλο κλάσης (OD), σε συνδυασμό με την απόσταση στο εσωτερικό διάστημα βαθμολογίας (ID), για να ορίσουμε την αποκαλούμενη αυξημένη απόσταση SIMCA από τα δείγματα s στην κλάση C (ds, C).

Η κρίσιμη τιμή αυτής της απόστασης, που καθορίζει την αποδοχή/απόρριψη ενός νέου δείγματος από το μοντέλο, καθορίζεται από την κρίσιμη τιμή των στατιστικών Fisher σε ένα προκαθορισμένο επίπεδο εμπιστοσύνης, δεδομένου ότι τα υπόλοιπα υποτίθεται ότι ακολουθούν μια πολυμεταβλητή κανονική κατανομή [34].

## 3.5 Ανάλυση παλινδρόμησης μερικών ελαχίστων τετραγώνων (Partial Least Squares)

Η ανάλυση παλινδρόμησης μερικών ελαχίστων τετραγώνων (Partial Least Squares, PLS) είναι επίσης μια μέθοδος που αποσκοπεί στην συσχέτιση μεταξύ δύο μεταβλητών Χ και Υ. Η ανάλυση PLS έχει την ικανότητα να ανιχνεύει ένα κατάλληλο μοντέλο γραμμικής παλινδρόμησης το οποίο προβάλει τις μεταβλητές σε ένα καινούργιο διάστημα [35].

Η μέθοδος PLS προβάλει τις μεταβλητές Χ, Υ στον ίδιο υποχώρο , έτσι ώστε να υπάρχει καλή σχέση της θέσης ενός αντικειμένου παρατήρησης Χ και της αντίστοιχης θέσης του στο επίπεδο Υ. Η PLS ανάλυση χρησιμοποιείται για να βρει τη συσχέτιση μεταξύ των δυο μεταβλητών Χ και Υ, δηλαδή μια λανθάνουσα μεταβλητή προσέγγιση για τη μοντελοποίηση των μεταβλητών συνδιακύμανσης σε αυτούς τους δύο υποχώρους. Ένα μοντέλο PLS θα προσπαθήσει να βρει την πολυδιάστατη κατεύθυνση στον χώρο Χ που εξηγεί τη μέγιστη κατεύθυνση πολυδιάστατης διακύμανσης στον χώρο Υ. Η παλινδρόμηση PLS είναι ιδιαίτερα κατάλληλη όταν οι προβλέψεις έχουν περισσότερες μεταβλητές από τις παρατηρήσεις και όταν υπάρχει πολυγραμμικότητα μεταξύ των τιμών Χ. Αντίθετα, η τυπική παλινδρόμηση θα αποτύχει σε αυτές τις περιπτώσεις, εκτός εάν έχει γίνει κανονικοποίηση [35]. Ιδιαίτερη σημασία στην ανάλυση PLS έχουν τα στατιστικά στοιχεία που χαρακτηρίζουν το μοντέλο, $R^2$ και $Q^2$. Ο συντελεστής συσχετίσεως $Q^2$ αποτελεί βασικό στατιστικό στοιχείο καθώς καθορίζει σε μεγάλο ποσοστό την βέλτιστη πολυπλοκότητα του μοντέλου. Αντίθετα με τον συντελεστή $Q^2$, ο συμβατικός συντελεστής $R^2$ θα αυξάνεται πάντα με την αύξηση των διαστάσεων (συνιστωσών) του μοντέλου. Η τιμή θα τείνει να πλησιάζει το 1 (δηλαδή, 100%) καθώς οι περισσότερες συνιστώσες PLS ενσωματώνονται στο μοντέλο [36].

Με την ανάπτυξη ενός μοντέλου μερικών ελαχίστων τετραγώνων, είναι δυνατός ο υπολογισμός μεγεθών, όπως το όριο ανίχνευσης και το όριο ποσοτικοποίησης. Το όριο ανίχνευσης μιας μεθόδου είναι η ελάχιστη συγκέντρωση μιας ουσίας που μπορεί να μετρηθεί με την μέθοδο αυτή. Για τον προσδιορισμό του ορίου ανίχνευσης (LOD) απαιτείται ο υπολογισμός της τυπικής απόκλισης SD της μεθόδου σε μηδενική συγκέντρωση. Αυτός ο υπολογισμός της τυπικής απόκλισης γίνεται με δύο διαφορετικούς τρόπους ανάλογα με τη μορφή της καμπύλης αναφοράς. Το όριο ποσοτικοποίησης (LOQ) ή λειτουργική ευαισθησία είναι η ελάχιστη συγκέντρωση της μετρούμενης παραμέτρου που μπορεί να προσδιοριστεί ποσοτικά με αποδεκτή ακρίβεια και επαναληψιμότητα. Το όριο ποσοτικοποίησης (LOQ) δίνεται από τον τύπο: LOQ = 10 * SD [37].

# *ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ*

# Κεφάλαιο 4 «Πειραματική Διαδικασία»

## 4.1 Σκοπός

Σκόπος του πειράματος ήταν η ανάπτυξη νέας και φιλικής προς το περιβάλλον μεθόδου, η οποία βασίζεται στην κυκλική βολταμμετρία για την ανίχνευση και ποσοτικοποίηση της νοθείας εξαιρετικά παρθένου ελαιόλαδου με πυρηνέλαια και σπορέλαια. Για την εύρεση νέας αναλυτικής μεθόδου, ώστε να γίνει η ανίχνευση αυτή, χρησιμοποιήθηκε ένας ιδιαίτερα μεγάλος αριθμός εξαιρετικά παρθένων και παρθένων ελαιόλαδων, απλών ελαιόλαδων, πυρηνέλαιων και διαφόρων σπορέλαιων όπως αραβοσιτέλαια, σογιέλαια και ηλιέλαια. Στη συνέχεια θα υπάρξει μελέτη όλων των ελαίων με τη μέθοδο της κυκλικής βολταμμετρίας, με χρήση τριών διαφορετικών ηλεκτροδίων εργασίας. Κατά την πειραματική διαδικασία χρησιμοποιούνται τρία διαφορετικά ηλεκτρόδια εργασίας ώστε να υπάρχει μεγαλύτερη ακρίβεια αποτελεσμάτων. Ακολούθως, τα φάσματα και βολταμμογραφήματα που λαμβάνονται θα επεξεργασθούν με χημειομετρικές τεχνικές, όπως η μη εποπτευόμενη μέθοδος της ανάλυσης κύριων συνιστωσών (PCA) και οι εποπτευόμενες τεχνικές της μοντελοποίησης ταξινόμησης (Class Modeling) και η εποπτευόμενη μέθοδος της διακριτής ανάλυσης μερικών ελαχίστων τετραγώνων (PLS-DA). Οι μέθοδοι που θα εμφανίσουν τις σημαντικότερες διαφορές μεταξύ ελαιόλαδων διαφορετικής ποιότητας και σπορέλαιων θα εξετασθούν ως προς την δυνατότητα τους να επιτύχουν ποσοτική αξιολόγηση της νοθείας μέσω ανάλυσης δειγμάτων ελαιόλαδου που έχει νοθευτεί με γνωστές ποσότητες πυρηνέλαιων και σπορέλαιων.

## 4.2 Αντιδραστήρια, Υλικά που χρησιμοποίηθηκαν

### 4.2.1 Έλαια που χρησιμοποιήθηκαν

Κατά την διεκπεραιώση της παρούσας διπλωματικής εργασίας συλλέχθηκε ένας μεγάλος αριθμός τυποποιημένων ελαίων από την Ελληνική αγορά. Στο πείραμα αυτό έγινε χρήση ελαίων νεότερης παραγωγής (2019-2020), αλλά και έλαια παλαιότερης παραγωγής (2016-2019) με απώτερο σκοπό την ανίχνευση διαφορών στη νοθεία, ανάλογα με τη χρονιά παραγωγής τους. Συνολικά έγινε συλλογή 66 ελαίων. Η προέλευση των ελαίων που χρησιμοποιήθηκαν είναι 100% Ελληνική, καθώς όλα τα έλαια προέρχονται από την ελληνική επαρχία και καλύπτουν γεωγραφικά σχεδόν το σύνολο των ελαιοπαραγωγικών περιοχών (Χανιά Κρήτης, Καλαμάτα, Αρκαδία, Ζάκυνθο, Λευκάδα). Πιο συγκεκριμένα, στο πέρας των πειραμάτων χρησιμοποιήθηκαν συνολικά 35 εξαιρετικά παρθένα ελαιόλαδα (20 παλιά/15 καινούργια) και 5 μείγματαελαιόλαδων με εξευγενισμένα ελαιόλαδα. Παράλληλα, χρησιμοποιήθηκαν 10 πυρηνέλαια (5 παλιά/5 καινούργια), 7 σογιέλαια (5 παλιά/2 νέα), 8 ηλιέλαια (6 παλιά/2 νέα) καθώς και 4 αραβοσιτέλαια. Μετά την συλλογή τους, τα έλαια αποθηκεύτηκαν σε ψυγείο ($4^{O}C$) του Εργαστηρίου. Αυτό έγινε καθώς βιβλιογραφικά βρέθηκε πως η φύλαξη του ελαιόλαδου σε θερμοκρασία $4^{O}C$ είναι αποτελεσματικότερη όσον αφορά στη διατήρηση των φαινολικών συστατικών του σε σχέση με τη φύλαξη σε θερμοκρασία 25 $^{O}C$. Παρακάτω δίνονται οι πίνακες στους οποίους παρουσιάζονται αντίστοιχα τα εξαιρετικά παρθένα ελαιόλαδα, τα μείγματα εξευγενισμένων ελαιόλαδων, τα πυρηνέλαια, τα αραβοσιτέλαια, τα σογιέλαια και τα ηλιέλαια που χρησιμοποιήθηκαν, η χρονιά παραγωγής τους σε συγκεκριμένες περιπτώσεις ελαίων καθώς και ο τόπος προέλευσης τους όπως αναγράφεται στην ετικέτα. Σημειώνεται πως η συσκευασία ορισμένων ελαίων δεν αναφέρει τόπο προέλευσης.

***Πίνακας 3: Εξαιρετικά Παρθέα Ελαιόλαδα που συλλέχθηκαν και χρησιμοποιήθηκαν στην πειραματική διαδικασία***

| **α/α** | **Ονομασία** | **Χρονιά Παραγωγής** | **Γεωγραφική Προέλευση** |
|---|---|---|---|
| **1** | Ξενία (Ολυμπία- XENIA A.B.A.E.) | **2017** | Ηλεία |
| **2** | Terra Creta (Π.Ο.Π. Κολυμβάρι Χανίων) | **2017** | Κολυμβάρι Χανίων, Κρήτη |
| **3** | ΕΛΑΙΩΝ ΣΚΟΥΡΤΗ (Βιολογικό) | **2017** | Χιλιομόδι Κορινθίας |
| **4** | Π.Ο.Π. Σητεία Λασιθίου (Α.Β.) | **2017** | Σητεία Λασιθίου, Κρήτη |
| **5** | Βόρειος Μυλοπόταμος (Λατζιμάς Α.Ε.), Π.Ο.Π. Ρεθύμνου | **2017** | Ρέθυμνο, Κρήτη |
| **6** | Π.Ο.Π. Κολυμβάρι Χανίων (Μαράτα) | **2017** | Κολυμβάρι Χανίων |
| **7** | Λίθος | **2017** | Λακωνία |
| **8** | Λατζιμάς | **2017** | Πάνορμο, Ρέθυμνο, Κρήτη |
| **9** | Λαδόμυλος (Γ. Δημέλης) | **2017** | Ρόδος |

| | | | |
|---|---|---|---|
| **10** | GAEA Βιολογικό | **2017** | Ελληνικής Προέλευσης* |
| **11** | Εξαιρετικά Παρθένο Ελαιόλαδο Ευγενές Π.Ο.Π. | **2017** | Κρανίδι Αργολίδας |
| **12** | Ερμής (Κορωνέικη ποικιλία) | **2017** | Ερμιόνη Αργολίδας |
| **13** | Equilibrato olio vergine | **2017** | Σικελία Νότια Ιταλία |
| **14** | Δωρικό (Ε.Α.Σ. Λακωνίας) | **2017** | Λακωνία |
| **15** | Δολιανίτικο- Βιολογικό | **2017** | Δολιανά Αρκαδίας |
| **16** | Μονή Χρυσοπηγής Βιολογικό | **2017** | Χανιά, Κρήτη |
| **17** | Χωριό ορεινές περιοχές (Μινέρβα) | **2017** | Ελληνικής Προέλευσης* |
| **18** | Ανανίας | **2017** | Ελληνικής Προέλευσης* |
| **19** | O-liveAmphoreus | **2017** | Ελληνικής Προέλευσης* |
| **20** | Αγουρέλαιο «Αλτις» (Ελαίς) | **2017** | Ελληνικής Προέλευσης* |
| **21** | Terra Creta (Π.Ο.Π. Κολυμβάρι Χανίων) | **2019** | Κολυμβάρι Χανίων, Κρήτη |
| **22** | ΕΛΑΙΩΝ ΣΚΟΥΡΤΗ (Βιολογικό) | **2019** | Χιλιομόδι Κορινθίας |
| **23** | Π.Ο.Π. Σητεία Λασιθίου (Α.Β.) | **2019** | Σητεία Λασιθίου, Κρήτη |
| **24** | Ελαιόλαδο Μινέρβα | **2019** | Καλαμάτα, Μεσσηνία |
| **25** | Λατζιμάς | **2019** | Πάνορμο, Ρέθυμνο, Κρήτη |
| **26** | GAEA Βιολογικό | **2019** | Ελληνικής Προέλευσης* |
| **27** | Χωριό ορεινές περιοχές (Μινέρβα) | **2019** | Ελληνικής Προέλευσης* |
| **28** | Αγουρέλαιο «Αλτις» (Ελαίς) | **2019** | Ελληνικής Προέλευσης* |
| **29** | Εξαιρετικά Παρθένο Ελαιόλαδο ACAIA | **2019** | Μυτιλήνη |
| **30** | Ξενία (Ολυμπία- XENIA A.B.A.E.) | **2019** | Ηλεία |
| **31** | Εξαιρετικά Παρθένο Ελαιόλαδο Ευγενές Π.Ο.Π. | **2019** | Κρανίδι Αργολίδας |
| **32** | Δωρικό (Ε.Α.Σ. Λακωνίας) | **2019** | Λακωνία |

***Δεν αναγράφεται η γεωγραφική προέλευση του δείγματος***

***Πίνακας 4:Εξευγενισμένα Ελαιόλαδα που συλλέχθηκαν και χρησιμοποιήθηκαν στην πειραματική διαδικασία***

| **α/α** | **Ονομασία** | **Χρονιά Παραγωγής** | **Γεωγραφική Προέλευση** |
|---|---|---|---|
| **1** | Άλτις Κλασσικό (Ελαϊς) | **2019** | Άγνωστης Προέλευσης* |
| **2** | ΑΒ, Βασιλόπουλος | **2019** | Άγνωστης Προέλευσης* |

| | | | |
|---|---|---|---|
| **3** | Χρυσελιά | **2019** | Άγνωστης Προέλευσης* |
| **4** | Economy Εξευγενισμένο Ελαιόλαδο | **2019** | Άγνωστης Προέλευσης* |
| **5** | Μινέρβα Ελαιόλαδο Κλασσικό | **2019** | Άγνωστης Προέλευσης* |

***Πίνακας 5:Πυρηνέλαια που συλλέχθηκαν και χρησιμοποιήθηκαν στην πειραματική διαδικασία***

| **α/α** | **Ονομασία** | **Χρονιά Παραγωγής** | **Γεωγραφική Προέλευση** |
|---|---|---|---|
| **1** | Πυρηνέλαιο ΟΚ, anytime markets | **2017** | Άγνωστης Προέλευσης* |
| **2** | Πυρηνέλαιο Κόρη (ΚΟΡΕ) | **2017** | Άγνωστης Προέλευσης* |
| **3** | Πυρηνέλαιο Γαλαξίας | **2017** | Ε.Ε. |
| **4** | Πυρηνέλαιο Farmer | **2017** | Ε.Ε. |
| **5** | Πυρηνέλαιο ΑΒ, Βασιλόπουλος | **2017** | Άγνωστης Προέλευσης* |
| **6** | Πυρηνέλαιο «Νίκη» (Μινέρβα) | **2019** | Άγνωστης Προέλευσης* |
| **7** | Πυρηνέλαιο Μικρές Φάρμες | **2019** | Ελληνικής Προέλευσης* |
| **8** | Πυρηνέλαιο Economy | **2019** | Άγνωστης Προέλευσης* |
| **9** | Πυρηνέλαιο ΑΒ, Βασιλόπουλος | **2019** | Άγνωστης Προέλευσης* |
| **10** | Πυρηνέλαιο 365 | **2019** | Ε.Ε. |

***Πίνακας 6:Αραβοσιτέλαια που συλλέχθηκαν και χρησιμοποιήθηκαν στην πειραματική διαδικασία***

| **α/α** | **Ονομασία** | **Χρονιά Παραγωγής** | **Γεωγραφική Προέλευση** |
|---|---|---|---|
| **1** | Αραβοσιτέλαιο Μινέρβα | **2019** | Άγνωστης Προέλευσης* |
| **2** | Αραβοσιτέλαιο COROΛΑ (ΚΟΡΕ) | **2019** | Άγνωστης Προέλευσης* |
| **3** | Αραβοσιτέλαιο ΑΒ, Βασιλόπουλος | **2019** | Άγνωστης Προέλευσης* |
| **4** | Αραβοσιτέλαιο ΓΑΛΑΞΙΑΣ | **2019** | Άγνωστης Προέλευσης* |

***Πίνακας 7:Ηλιέλαια που συλλέχθηκαν και χρησιμοποιήθηκαν στην πειραματική διαδικασία***

| **α/α** | **Ονομασία** | **Χρονιά Παραγωγής** | **Γεωγραφική Προέλευση** |
|---|---|---|---|
| **1** | Ηλιέλαιο Altakouzina, Metro A.E.B.E. | **2017** | Άγνωστης Προέλευσης* |
| **2** | Ηλιέλαιο First Class (F.C.), Μασούτης Α.Ε. | **2017** | Άγνωστης Προέλευσης* |
| **3** | Ηλιέλαιο ΟΚ, anytimemarkets | **2017** | Ε.Ε. |
| **4** | Ηλιέλαιο Proμη | **2017** | Άγνωστης Προέλευσης* |
| **5** | Ηλιέλαιο SANOΛΑ (ΚΟΡΕ) | **2017** | Άγνωστης Προέλευσης* |
| **6** | Ηλιέλαιο SOL (Ελαϊς) | **2017** | Άγνωστης Προέλευσης* |
| **7** | Ηλιέλαιο 365 | **2019** | Ε.Ε. |
| **8** | Ηλιέλαιο Ομοσπονδία | **2019** | Άγνωστης Προέλευσης* |

***Πίνακας 8: Σογιέλαια που συλλέχθηκαν και χρησιμοποιήθηκαν στην πειραματική διαδικασία***

| **α/α** | **Ονομασία** | **Χρονιά Παραγωγής** | **Γεωγραφική Προέλευση** |
|---|---|---|---|

| | | | |
|---|---|---|---|
| **1** | Σογιέλαιο ΣΟΓΙΟΛΑ, ΚΟΡΕ | **2017** | Άγνωστης Προέλευσης* |
| **2** | ΣογιέλαιοΜαράτα, Σκλαβενίτης | **2017** | Άγνωστης Προέλευσης* |
| **3** | Σογιέλαιο ΕΛΟΜΑΣ | **2017** | Άγνωστης Προέλευσης* |
| **4** | Σογιέλαιο ΑΒ, Βασιλόπουλος | **2017** | Ε.Ε. |
| **5** | Σογιέλαιο 365 | **2017** | Ε.Ε. |
| **6** | Σογιέλαιο ΤΟ ΛΑΜΠΕΡΟ | **2019** | Άγνωστης Προέλευσης* |
| **7** | Σογιέλαιο ΑΒ, Βασιλόπουλος | **2019** | Ε.Ε. |

### 4.2.2 Σύστημα Βολταμετρικών Αναλύσεων

Το σύνολο των ηλεκτροαναλυτικών αναλύσεων της παρούσας διπλωματικής εργασίας πραγματοποιήθηκε με χρήση συστήματος βολταμμετρικών αναλύσεων 797 Computrace του οίκου Metrohm της Ελβετίας, το οποίο ήταν συνδεδεμένο με Η/Υ μέσω θύρας USB. Το εν λόγω σύστημα βολταμμετρικών αναλύσεων απεικονίζεται στο σχήμα 2.

***Σχήμα 2: Το σύστημα βολταμετρικών αναλύσεων 797 VA Computance***

Το εν λόγω όργανο έχει ενσωματωμένο έναν ποτενσιοστάτη νέας τεχνολογίας μαζί με γαλβανοστάτη, που επιτυγχάνει πολύ καλή αξιοπιστία με μειωμένο θόρυβο μετρήσεων. Ως ηλεκτρόδιο εργασίας μπορούν να χρησιμοποιηθούν το ηλεκτρόδιο υδραργύρου πολλαπλών χρήσεων (multimode electrode), στερεά ηλεκτρόδια (υαλώδους άνθρακα, λευκόχρυσου, χρυσού, αργύρου) ή εκτυπωμένα ηλεκτρόδια πλέγματος (screen printed electrodes). Το ηλεκτρόδιο υδραργύρου πολλαπλών χρήσεων μπορεί να λειτουργήσει με επιλογή της κατάλληλης υποδοχής που σημειώνεται, είτε ως σταγονικό ηλεκτρόδιο υδραργύρου (dropping mercury electrode, DME), είτε ηλεκτρόδιο αιωρούμενης σταγόνας υδραργύρου (hanging mercury drop electrode, HMDE), είτε ως ηλεκτρόδιο στατικής σταγόνας υδραργύρου (static mercury drop electrode SMDE). Σε κάθε περίπτωση, η λειτουργία του ηλεκτροδίου υδραργύρου πολλαπλών χρήσεων επιτυγχάνεται με την πίεση φιάλης αζώτου με την οποία συνδέεται το σύστημα βολταμμετρικών αναλύσεων για την απαερίωση των διαλυμάτων πριν την ανάλυση. Με τον τρόπο αυτό παρέχεται στον αναλυτή η δυνατότητα να εκτελέσει διάφορες βολταμμετρικές τεχνικές, όπως Πολαρογραφία, Ανοδική και Καθοδική Αναδιαλυτική Βολταμμετρία, Κυκλική Βολταμμετρία, Χρονοαμπερομετρία και Χρονοποτενσιομετρία. Στα πλαίσια της παρούσας διπλωματικής εργασίας χρησιμοποιήθηκαν ηλεκτρόδιο υαλώδους άνθρακα, ηλεκτρόδιο χρυσού και ηλεκτρόδιο λευκόχρυσου. Ως ηλεκτρόδιο αναφοράς, χρησιμοποιείται ηλεκτρόδιο Ag/AgCl πληρωμένο με διάλυμα 3 M KCl και ως βοηθητικό ηλεκτρόδιο σύρμα λευκόχρυσου Pt. Ταυτόχρονα έχει την δυνατότητα σύνδεσης με αυτόματο συλλέκτη δειγμάτων (π.χ. 863 Compact Autosampler) που διατίθεται από τον οίκο Metrohm για την αυτοματοποίηση των προσδιορισμών. Τα τεχνικά χαρακτηριστικά του συστήματος βολταμμετρικών αναλύσεων 797 VA Computrace απεικονίζονται στον πίνακα 9.

***Πίνακας 9: Τεχνικά Χαρακτηριστικά του Συστήματος Βολταμμετρικών Αναλύσεων 797 VA Computrace***

| | |
|---|---|
| Σύστημα Ανάδευσης | Από 200 έως 3000 στροφές/min (ο αναδευτήρας είναι κατασκευασμένος από PET) |
| Όγκος Κυψελίδας | 10-17 mL και 50-150mL (δυνατότητα θερμοστάτησης) |
| Μετρούμενη ένταση ρεύματος | 7 τάξεις μεγέθους (από 10 nA έως 10 mA) |
| Ρυθμός Σάρωσης | <1 mV/s έως 3V/s (διαχωριστότητα 1mV)<br><1 mV/s έως 35 V/s (διαχωριστότητα 10mV) |
| Θερμοκρασία Λειτουργίας Οργάνου | 0-45 $^oC$ (20-80% σχετική υγρασία) |

Το σύστημα βολταμμετρικών αναλύσεων συνδέεται με ηλεκτρονικό υπολογιστή μέσω του λογισμικού που το συνοδεύει για τον προγραμματισμό των λειτουργιών του συστήματος (π.χ. χρόνος απαερίωσης, ρυθμός σάρωσης του δυναμικού, ταχύτητα ανάδευσης περιστρεφόμενου ηλεκτροδίου), την καταγραφή και την αξιολόγηση των ηλεκτροχημικών δεδομένων. Παράλληλα, το πρόγραμμα διαθέτει και ειδική «σελίδα» ελέγχου καλής λειτουργίας βασικών τμημάτων του πολαρογράφου, όπως των ηλεκτροδίων, του αναδευτήρα (stirrer) και του συστήματος απαερίωσης (purging).

## 4.3 Ανάλυση ελαίων με κυκλική βολταμετρία

Για την ανάλυση των ελαίων με κυκλική βολταμετρία, χρησιμοποιούνται 50 mL του κάθε δείγματος τα οποία αναμειγνύονται με 15 mL νερού μέσα σε ένα ποτήρι ζέσεως. Μέσα στο ποτήρι ζέσεως τοποθετείται ένας ειδικός μαγνήτης ανάδευσης. Στη συνέχεια, το ετερογενές μείγμα που δημιουργήθηκε τοποθετείται πάνω σε μία ειδική θερμαντική πλάκα και αναμειγνύεται.

Προτού ξεκινήσει η ανάδευση του μείγματος, η θερμαντική πλάκα απαιτεί κάποιες ρυθμίσεις. Οι ρυθμίσεις αυτές αφορούν την θερμοκρασία με την οποία θα δουλεύει η πλάκα ώστε να θερμαίνεται το μείγμα, τον αριθμό των στροφών με τις οποίες θα αναδεύεται το νερό με το έλαιο καθώς επίσης και τον χρόνο ανάδευσης-θέρμανσης. Η θερμοκρασία της πλάκας καθορίστηκε στους 100 $^{O}C$ και η πλάκα ρυθμίστηκε να λειτουργεί στις 850 rpm (στροφές ανά λεπτό). Πρωτού ξεκινήσει η διαδικασία της ανάδευσης, η πλάκα απαιτεί μια προθέρμανση ώστε το μείγμα να αναδεύεται εξ αρχής στους 100 $^{O}C$. Η συνολική ανάδευση του μείγματος απαιτεί χρόνο 10 min, ενώ η προθέρμανση γίνεται για 3 min.


*Σχήμα 3: Θερμαντική Πλάκα Ανάδευσης*

Μετά το πέρας των 10 min όπου τελειώνει η ανάδευση, το μείγμα έχει ομογενοποιηθεί. Το μείγμα αυτό θα τοποθετηθεί σε ειδική διαχωριστική χωάνη, ώστε να διαχωριστεί και να ληφθεί το εκχύλισμα. Προτού όμως το μείγμα εισέλθει στην διαχωριστική χωάνη και διαχωριστεί, το ποτήρι ζέσεως αφήνεται να ηρεμήσει με σκοπό να μειωθεί η θερμοκρασία του και να διαχωριστούν μερικώς το έλαιο με το νερό.

Αφού λοιπόν το μείγμα τοποθετηθεί στην διαχωριστική χωάνη, γίνεται ο διαχωρισμός του νερού από το έλαιο. Το κάτω μέρος του διαχωρισμένου μείγματος αποτελεί το νερό το οποίο έχει δεσμεύσει πολικά συστατικά του ελαίου. Αυτό το μέρος του μείγματος συλλέγεται σε μια μικρή ογκομετρική φιάλη. Ύστερα, το υγρό αυτό τοποθετείται στην κυψελίδα του συστήματος βολταμετρικών αναλύσεων 797 VA Computance και αναλύεται. Υπολογίζεται ότι το υγρό που λαμβάνεται από την διαχωριστική χωάνη είναι περίπου στα 15 mL, όσο δηλαδή ο όγος του νερού που χρησιμοποιήθηκε στο αρχικό μείγμα και πάντα στα επιτρεπτά όρια του όγκου της κυψελίδας (10-17 mL).

*Σχήμα 4: Μείγμα Ηλιέλαιου-Νερού στην Διαχωριστική Χωάνη*

## 4.4 Παρασκευή Μειγμάτων Ελαίων

Για την ανάλυση των ελαίων με την μέθοδο ελαχίστων τετραγώνων, παράχθηκαν δυο μείγματα ελαίων. Το πρώτο μείγμα θεωρείτο αντιπροσωπευτικό των ελαιόλαδων που μελετήθηκαν, καθώς αποτελείται μόνο από παρθένα ελαιόλαδα και παράχθηκε από την ανάμειξη ίσων όγκων από 20 ελαιόλαδα (βλέπε πίνακα 10). Το δεύτερο θεωρείτο αντιπροσωπευτικό των σπορέλαιων, αποτελούμενο από 8 ηλιέλαια, 6 ηλιέλαια και 6 πυρηνέλαια (βλέπε πίνακα 11) και παράχθηκε από ανάμειξη ίσων όγκων. Το κάθε μείγμα των ελαίων (εξαιρετικά παρθένα-σπορέλαια) είναι όγκου 1L, καθώς χρησιμοποιήθηκε ίσος όγκος από κάθε έλαιο (50 mL).

*Πίνακας 10: Εξαιρετικά Παρθένα Ελαιόλαδα που αναμίχθηκαν για την δημιουργία αντιπροσωπευτικού μείγματος Ελαιόλαδου*

| α/α | Ονομασία |
|---|---|
| 1 | Ξενία (Ολυμπία- XENIA A.B.A.E.) |
| 2 | Terra Creta (Π.Ο.Π. Κολυμβάρι Χανίων) |
| 3 | ΕΛΑΙΩΝ ΣΚΟΥΡΤΗ (Βιολογικό) |
| 4 | Π.Ο.Π. Σητεία Λασιθίου (Α.Β.) |
| 5 | Βόρειος Μυλοπόταμος (Λατζιμάς Α.Ε.), Π.Ο.Π. Ρεθύμνου |
| 6 | Π.Ο.Π. Κολυμβάρι Χανίων (Μαράτα) |
| 7 | Λίθος |
| 8 | Λατζιμάς |
| 9 | Λαδόμυλος (Γ. Δημέλης) |
| 10 | GAEA Βιολογικό |
| 11 | Εξαιρετικά Παρθένο Ελαιόλαδο Ευγενές Π.Ο.Π. |
| 12 | Ερμής (Κορωνέικη ποικιλία) |
| 13 | Equilibrato olio vergine |
| 14 | Δωρικό (Ε.Α.Σ. Λακωνίας) |
| 15 | Δολιανίτικο- Βιολογικό |
| 16 | Μονή Χρυσοπηγής Βιολογικό |
| 17 | Χωριό ορεινές περιοχές (Μινέρβα) |
| 18 | Ανανίας |
| 19 | O-liveAmphoreus |
| 20 | Αγουρέλαιο «Αλτις» (Ελαίς) |

*Πίνακας 11: Ηλιέλαια, Σογιέλαια και Πυρηνέλαια που αναμίχθηκαν για την δημιουργία αντιπροσωπευτικού μείγματος Σπορέλαιου*

| **Ηλιέλαια** | | **Σογιέλαια** | | **Πυρηνέλαια** | |
|---|---|---|---|---|---|
| **α/α** | **Ονομασία** | **α/α** | **Ονομασία** | **α/α** | **Ονομασία** |
| **1** | Ηλιέλαιο Altakouzina, Metro Α.Ε.Β.Ε. | **1** | Σογιέλαιο ΣΟΓΙΟΛΑ, ΚΟΡΕ | **1** | Πυρηνέλαιο ΟΚ, anytime markets |
| **2** | Ηλιέλαιο First Class (F.C.), Μασούτης Α.Ε. | **2** | Σογιέλαιο Μαράτα, Σκλαβενίτης | **2** | Πυρηνέλαιο Κόρη (ΚΟΡΕ) |
| **3** | Ηλιέλαιο ΟΚ, anytimemarkets | **3** | Σογιέλαιο ΕΛΟΜΑΣ | **3** | Πυρηνέλαιο Γαλαξίας |
| **4** | Ηλιέλαιο Ρroμη | **4** | Σογιέλαιο ΑΒ, Βασιλόπουλος | **4** | Πυρηνέλαιο Farmer |
| **5** | Ηλιέλαιο SANOΛΑ (ΚΟΡΕ) | **5** | Σογιέλαιο 365 | **5** | Πυρηνέλαιο ΑΒ, Βασιλόπουλος |
| **6** | Ηλιέλαιο SOL (Ελαϊς) | **6** | Σογιέλαιο ΤΟ ΛΑΜΠΕΡΟ | **6** | Πυρηνέλαιο «Νίκη» (Μινέρβα) |
| **7** | Ηλιέλαιο 365 | | | | |
| **8** | Ηλιέλαιο Ομοσπονδία | | | | |

Στη συνέχεια ακολούθησε η ανάμιξη αυτών των μειγμάτων σε ποσοστά 0 (καθαρό μείγμα εξαιρετικά παρθένων ελαιόλαδων), 2, 3, 4, 6, 8, 10, 11, 13, 15, 17, 20, 23, 25, 27, 30, 33, 35, 40, 45, 50, 60, 70, 80 και 100% (κατά όγκο) του ξένου ελαίου (σπορέλαιου) σε ελαιόλαδο για το διάλυμα και για τα τρία ηλεκτρόδια: υαλώδους άνθρακα, χρυσού και λευκόχρυσου.

# Κεφάλαιο 5 «Αποτελέσματα»

## 5.1 Προκαταρκτικά Πειράματα

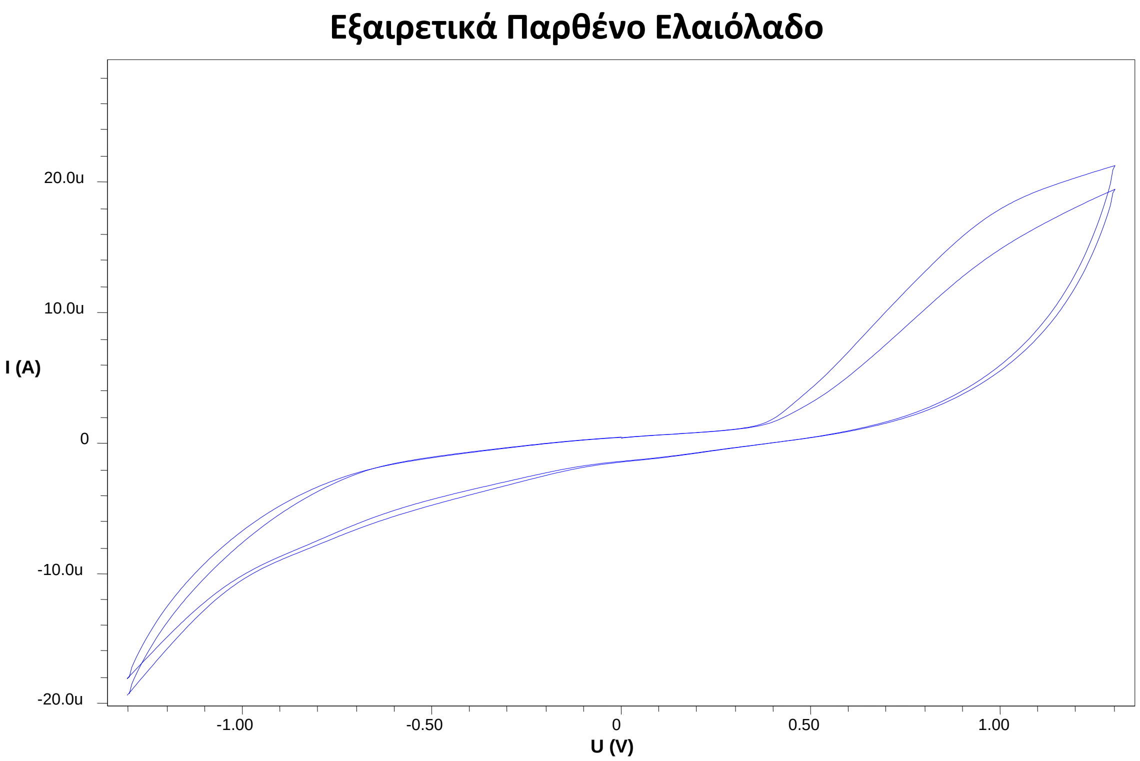
Προτού αποφασιστεί η τελική πειραματική διαδικασία καθώς και η μέθοδος που θα εφαρμοστεί, έλαβαν χώρα κάποια προκαταρκτικά πειράματα. Πιο συγκεκριμένα πριν αποφασιστεί η χρήση της συγκεκριμένης μεθόδου, δηλαδή μεθόδου περιβαλλοντικά φιλικής με χρήση μόνο νερού για την προετοιμασία του δείγματος πριν την βολταμμετρική ανάλυση, είχαν δοκιμαστεί πειράματα με την χρήση μεθανόλης ως διαλύτη αντί του νερού. Τα προκαταρκτικά αυτά πειράματα επικεντρώθηκαν στο ελαιόλαδο καθώς αποτελεί το έλαιο του ενδιαφέροντος της παρούσας διπλωματικής εργασίας. Η κυκλική βολταμμετρία αυτή πραγματοποιήθηκε σε ηλεκτρόδια υαλώδους άνθρακα, λευκόχρυσου και χρυσού, όπως δηλαδή και οι κυκλικές βολταμμετρίες που πραγματοποιήθηκαν και στην υπόλοιπη πειραματική διαδικασία, προκειμένου να εξάγει το «ηλεκτροχημικό αποτύπωμα» κάθε ελαίου, σε σχέση με την οξείδωση και την αναγωγή που υφίστανται οι ενώσεις που περιέχονται στα έλαια αυτά, καθώς και την αντιστρεπτότητα των ηλεκτροχημικών διεργασιών. Με δεδομένο πως τα έλαια και ιδιαίτερα το ελαιόλαδο περιέχουν σημαντική ποσότητα αντιοξειδωτικών τα οποία μπορούν να υποστούν ηλεκτροχημική οξείδωση, επιλέχθηκε μια αρχική σάρωση από -1,3 V έως τα 1,3 V.

Ένα δεύτερο προκαταρκτικό πείραμα που δοκιμάστηκε ήταν η ανάμειξη του ελαίου με αιθανόλη και διχλωρομεθάνιο. Στο μείγμα αυτό έπρεπε επίσης να προσεγγιστεί και η βέλτιση συγκέντρωση του $LiClO_4$ που θα χρησιμοποιούταν. Βρέθηκε πως η βολταμμετρική ανάλυση βελτιστοποιείται σε σχέση με το λαμβανόμενο σήμα χωρίς παράλληλα να καταβυθίζεται ίζημα όταν πραγματοποιείται σε μείγμα με ίση αναλογία όγκων (1:1:1) ελαίου, διχλωρομεθανίου και διαλύματος 0,1 M $LiClO_4$ σε απόλυτη αιθανόλη. Η ανάπτυξη του παραπάνω μείγματος είναι σημαντική με δεδομένο πως έχουν αποτύχει στο παρελθόν προηγούμενες προσπάθειες ερευνητών να διαλύσουν ακόμα και μικρές ποσότητες $LiClO_4$ σε έλαια, χωρίς φυσικά την προσθήκη του $CH_2Cl_2$ [38].

Και οι δύο αυτές μέθοδοι έχουν χρησιμοποιηθεί σε άλλες εργασίες στο παρελθόν. Σκοπός της παρούσας διπλωματικής εργασίας είναι η χρήση μιας μεθόδου η οποία να είναι φιλική προς το περιβάλλον και να χρησιμοποιεί ουσίες και μέσα τα οποία δεν μπορούν να βλάψουν την οικολογία. Για αυτό τον λόγο απορρίφθηκαν οι επιλογές τόσο της μεθανόλης όσο και της αιθανόλης για διαλύτη και οριστικοποιήθηκε η επιλογή μιας ''πράσινης'' λύσης, όπως είναι το νερό ως διαλύτης.

## 5.2 Μελέτη ελαιόλαδων και σπορέλαιων με κυκλική βολταμμετρία σε ηλεκτρόδιο εργασίας Υαλώδους Άνθρακα

Στην αρχή κάθε μελέτης όλων των ελαιόλαδων και των σπορέλαιων, η κυκλική βολταμμετρία πραγματοποιούταν με ηλεκτρόδιο εγρασίας υαλώδους άνθρακα. Όπως αναφέρθηκε και προηγουμένως, επειδή τα έλαια περιέχουν μια ιδιαίτερα σημαντική ποσότηρα αντιοξειδωτικών τα οποία είναι ικανά να υποσούν ηλεκτροχημική οξείδωση, επιλέγεται και σε αυτό το πείραμα μια αρχική σάρωση, με εύρος τάσης από -1,3 V έως τα 1,3V . Ένα χαρακτηριστικό κυκλικό βολταμμογράφημα που καταγράφηκε για το εξαιρετικά παρθένο ελαιόλαδο παρουσιάζεται στο σχήμα 5.



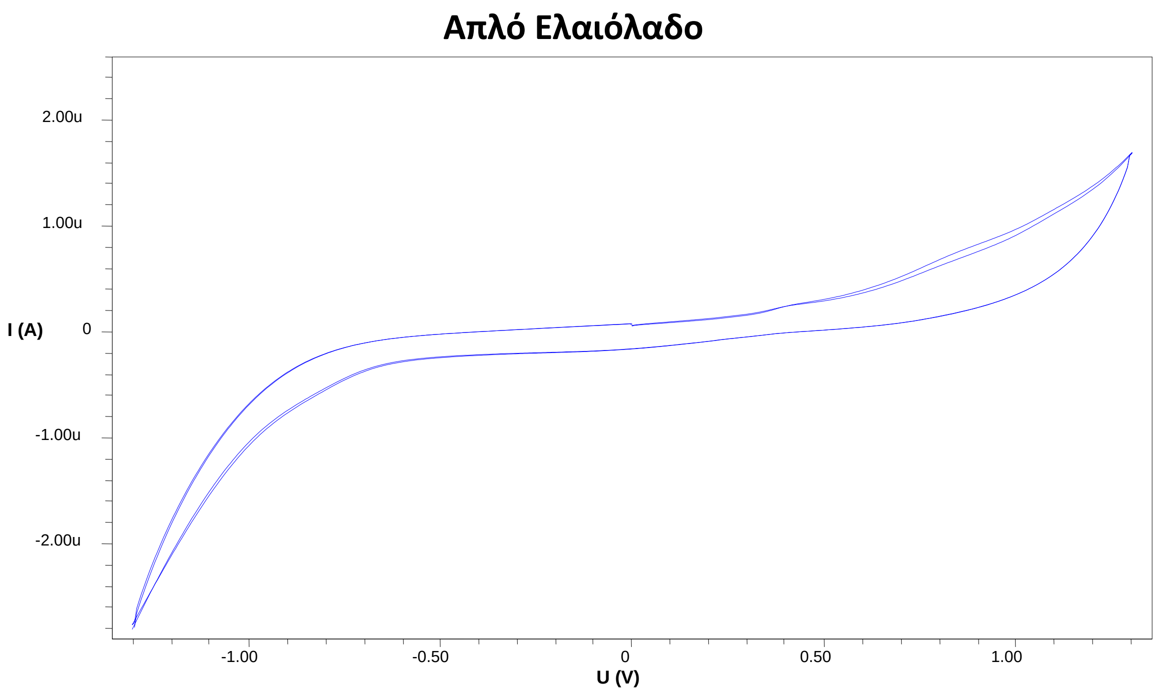

***Σχήμα 5: Βολταμμογράφημα Εξαιρετικά Παρθένου Ελαιόλαδου με ηλεκτρόδιο υαλώδους άνθρακα***

Όπως φαίνεται από το διάγραμμα, με εξαίρεση τις κορυφές στην αρχή και στο τέλος του διαγράμματος, εμφανίζεται άλλη μια κορυφή στο εύρος δυναμικού 0,4-0,5 V. Η ακριβής θέση της κάθε κορυφής είναι μάλλον αμφισβητήσιμη, γεγονός το οποίο ίσως να υποδηλώνει επικαλυπτόμενα στάδια οξείδωσης. Στις περιπτώσεις αυτές θα ήταν πιο δόκιμο να οριστεί μια περιοχή εύρους δυναμικών της κορυφής. Είναι γνωστή η περιεκτικότητα του ελαιόλαδου σε αντιοξειδωτικές ενώσεις, όπως πολυφαινόλες, καροτενοειδή και τοκοφερόλες, οι οποίες μπορούν να οξειδωθούν σε ηλεκτρόδιο υαλώδους άνθρακα [29].

Εκτός από το εξαιρετικά παρθένο ελαιόλαδο, έγινε μελέτη και του απλού ελαιόλαδου. Στην συγκεκριμένη περίπτωση δεν παρατηρήθηκε κάποια κορυφή ή εύρος δυναμικού, όπως φαίνεται και στο σχήμα 6.

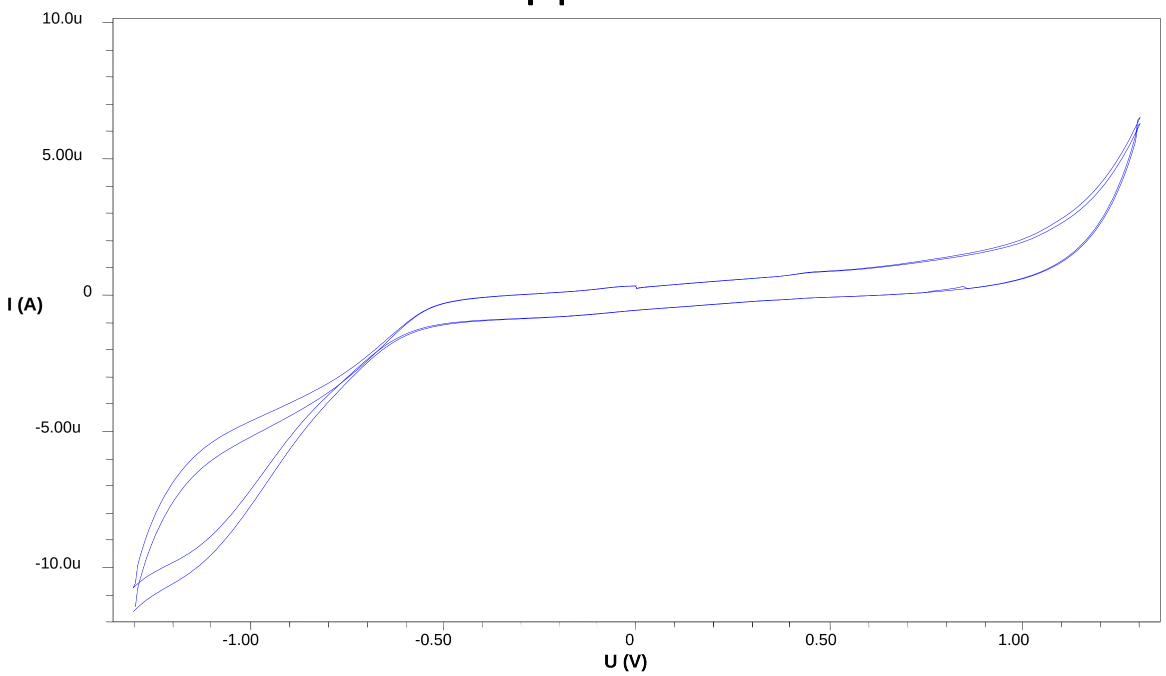
Από την άλλη πλευρά, στο πυρηνέλαιο, του οποίου ένα αντιπροσωπευτικό κυκλικό βολταμμογράφημα παρουσιάζεται στο σχήμα 7, εντοπίζονται ξανά τρία εύρη δυναμικών στα οποία υπάρχουν οι κορυφές. Πιο συγκεκριμένα, από το διάγραμμα διακρίνονται τα εύρη -1,3 έως -1,2 V, -0,4 έως -0,5 V και 1,2-1,3 V.

Όσον αφορά τα σπορέλαια, στο σχήμα 8, σχήμα 9 και σχήμα 10 παρουσιάζονται τα χαρακτηριστικά βολταμμογραφήματα του σογιέλαιου, του αραβοσιτέλαιου και του ηλιέλαιου αντίστοιχα. Παρατηρείται πως οι μόνες κορυφές που εμφανίζονται είναι στα δυναμικά -1,3 V και 1,3 V.



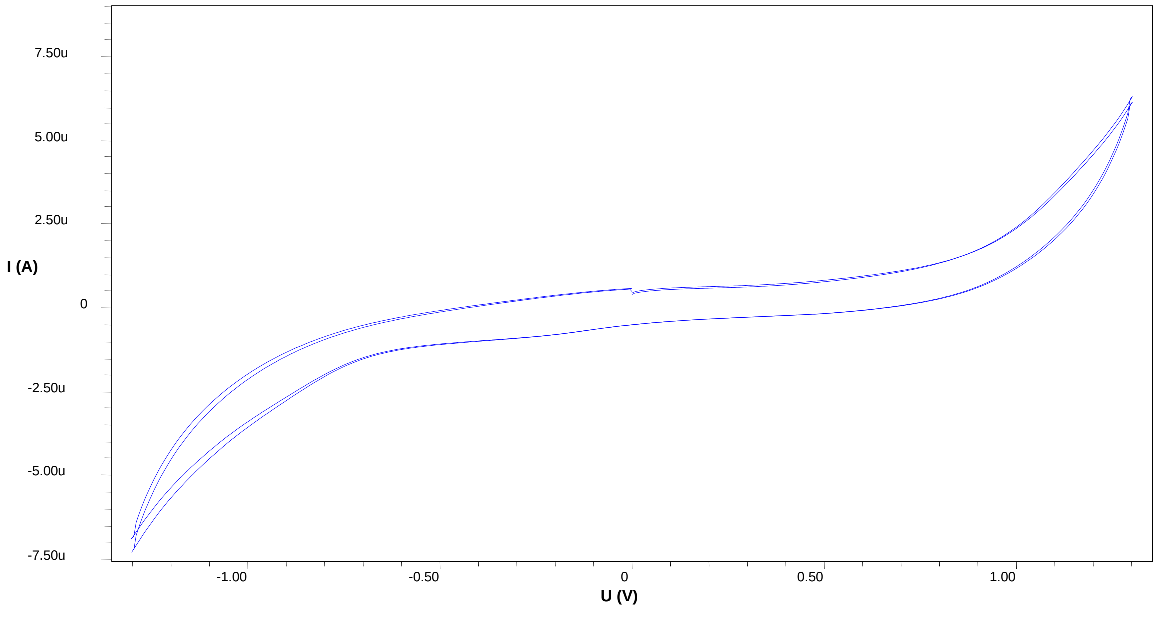

***Σχήμα 6: Βολταμμογράφημα Απλού Ελαιόλαδου με ηλεκτρόδιο υαλώδους άνθρακα***

## Πυρηνέλαιο

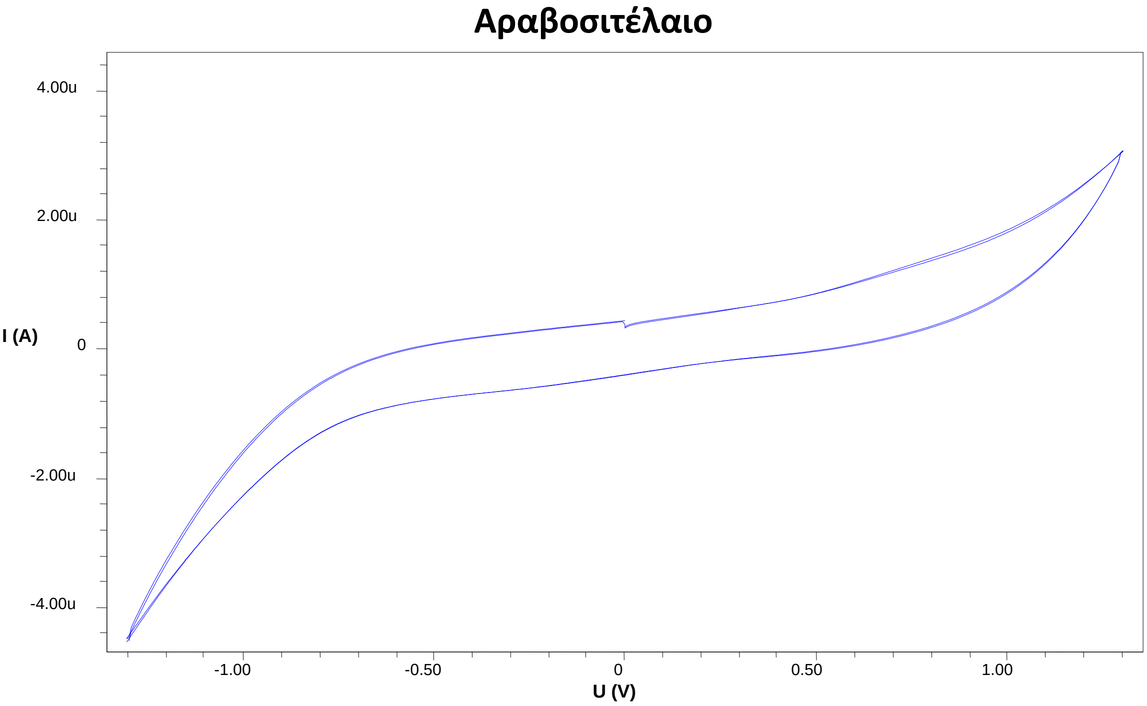



*Σχήμα 7: Βολταμμογράφημα Πυρηνέλαιου με ηλεκτρόδιο υαλώδους άνθρακα*

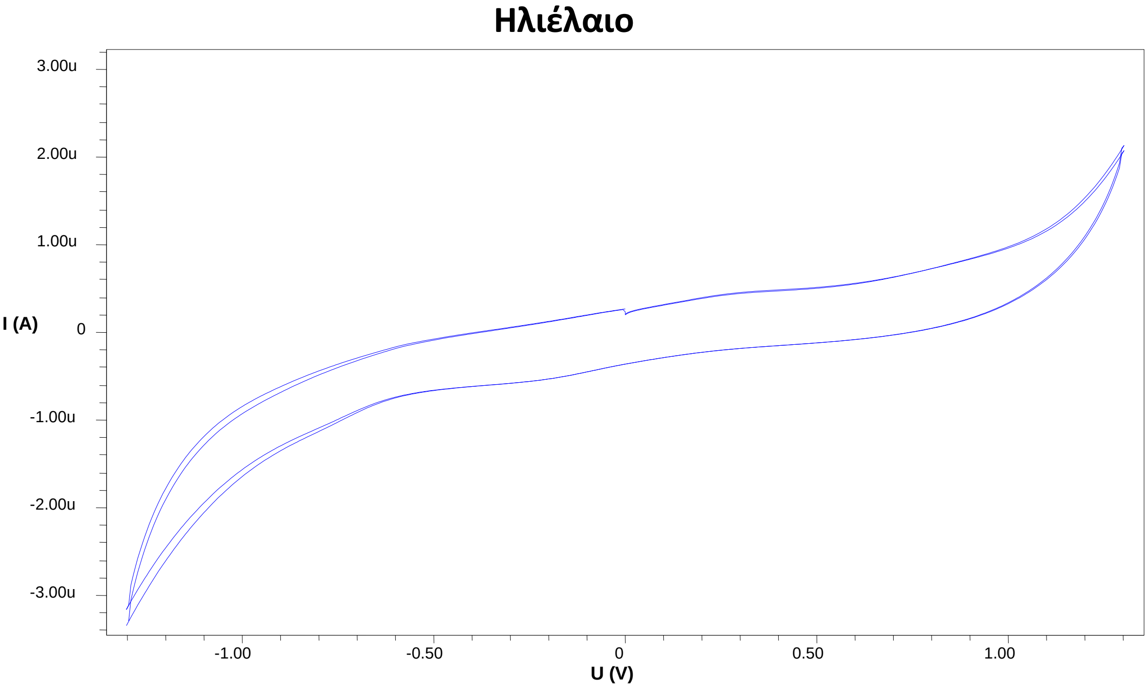
## Σογιέλαιο




*Σχήμα 8: Βολταμμογράφημα Σογιέλαιου με ηλεκτρόδιο υαλώδους άνθρακα*




*Σχήμα 9: Βολταμμογράφημα Αραβοσιτέλαιου με ηλεκτρόδιο υαλώδους άνθρακα*

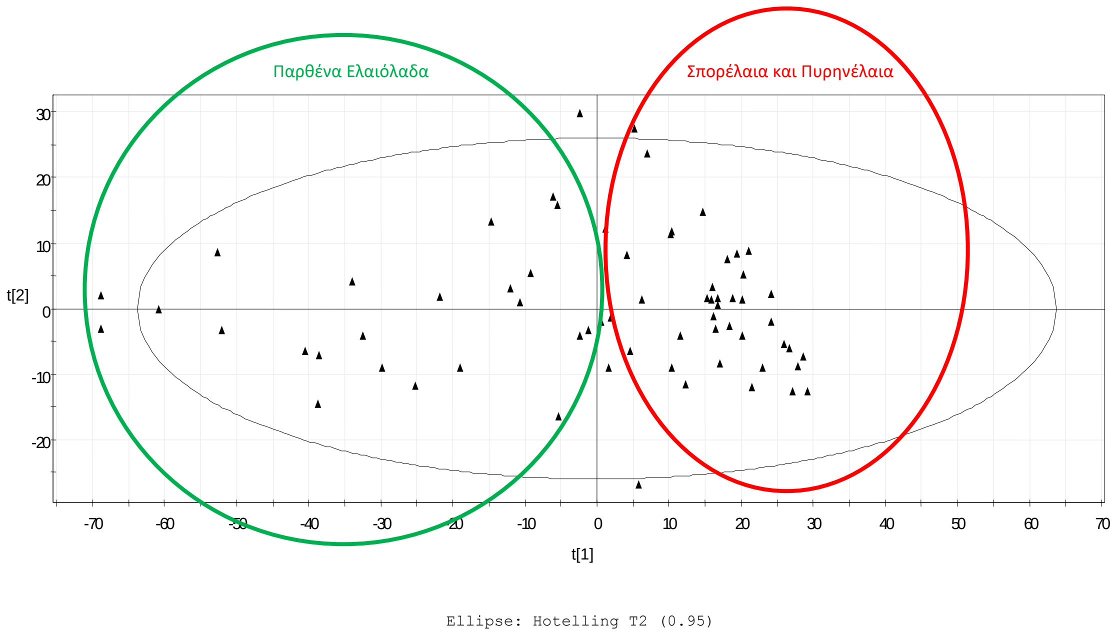



*Σχήμα 10: Βολταμμογράφημα Ηλιέλαιου με ηλεκτρόδιο υαλώδους άνθρακα*

Τα σημεία των κυκλικών βολταμμογραφημάτων από τις παραπάνω αναλύσεις των ελαίων υποβλήθηκαν σε πολυμεταβλητή ανάλυση, έτσι ώστε να γίνει η κατάταξη τους ανάλογα με την φυτική τους προέλευση. Ο πίνακας των δεδομένων (data matrix) αποτελούταν από 66 γραμμές (δείγματα προς εξέταση) και 877 στήλες (μέτρηση ρεύματος στην εκάστοτε τιμή τάσης).

### 5.2.1 Ανάλυση PCA

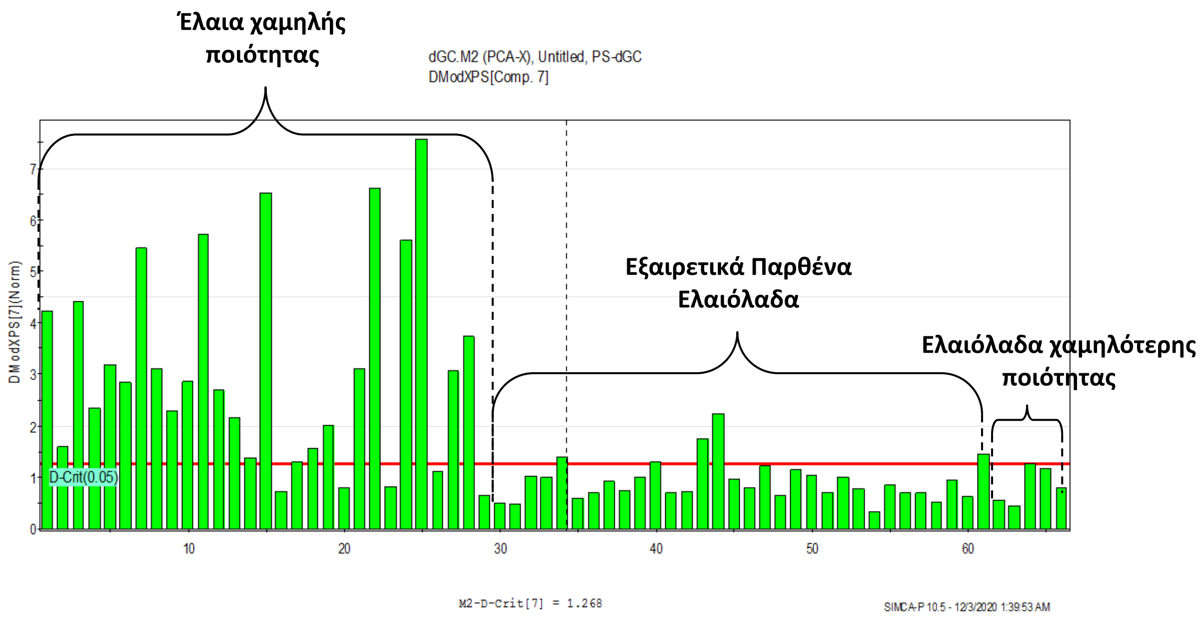
Στη συνέχεια πραγματοποιήθηκε ανάλυση PCA, η οποία οδήγησε σε μοντέλο με 10 κύριες συνιστώσες, με συνολικό συντελεστή συσχετίσεως $R^2$(cum)=0,997 και διασταυρωμένο συντελεστή συσχέτισης $Q^2$(cum)=0,992. Το διάγραμμα συντεταγμένων (score splot) που προκύπτει παρουσιάζεται στο σχήμα 11. Παρατηρείται ότι υπάρχει μιας σαφής διαφοροποίηση των ελαιόλαδων από τα υπόλοιπα έλαια όμως, θα ήταν προτιμότερο και πολύ καλύτερο τα παρθένα ελαιόλαδα να είναι πιο κοντά μεταξύ τους. Επίσης φαίνεται ότι δεν διαχωρίζονται τα σπορέλαια από τα πυρηνέλαια, στο μεγαλύτερο ποσοστό τους ενώ ταυτόχρονα υπάρχει μερικος διαχωρισμός των μειγμάτωνελαιόλαδων με εξευγενισμένα ελαιόλαδα από τα παρθένα/εξαιρετικά παρθένα ελαιόλαδα.




*Σχήμα 11: Διάγραμμα συντεταγμένων της μεθόδου PCA για την ανάλυση των δειγμάτων και τον διαχωρισμό τους*

### 5.2.2 Class Modeling (Μοντελοποίηση Ταξινόμησης)

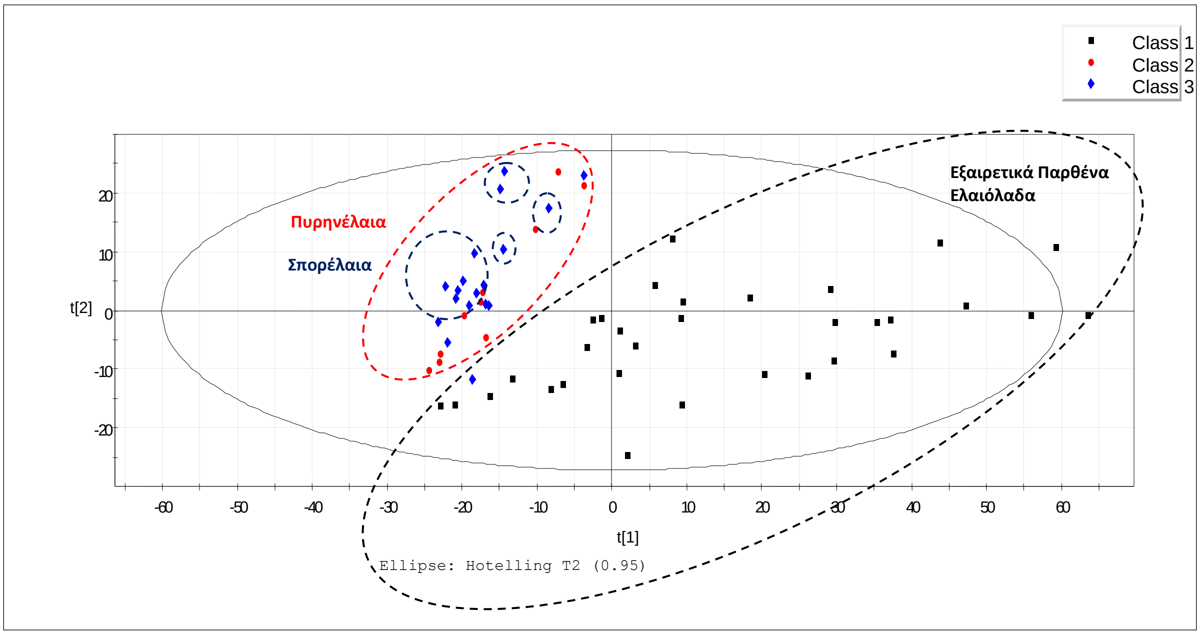
Μετά την ανάλυση PCA, διεξήχθη η ανάλυση Class Modeling. Στην περίπτωση αυτής της ανάλυσης τα δείγματα ταξινομούνται ανάλογα με την φυτική τους προέλευση. Η μέθοδος ακολουθεί μια συγκεκριμένη λογική. Η Μοντελοποίηση Ταξινόμησης χαρακτηρίζεται από δυο παράγοντες. Αρχικά ποσοτικά, δηλαδή από την ευαισθησία του μοντέλου που είναι ο αριθμός των γνήσιων (παρθένων) ελαιολάδων που ταξινομούνται κάτω από την κόκκινη γραμμή. Ύστερα, από την ειδικότητα που αποτελεί τον αριθμό των ελαίων χαμηλής ποιότητας ή των νοθευμένων ελαιολάδων. Τα έλαια αυτά υπερβαίνουν την κόκκινη γραμμή, οπότε απορρίπτονται από το μοντέλο. Για την ταξινόμηση λοιπόν, επιλέγονται όλα τα δείγματα των εξαιρετικά παρθένων ελαιόλαδων. Η ανάλυση οδήγησε σε μοντέλο με 7 κύριες συνιστώσες, με συνολικό συντελεστή συσχετίσεως $R^2$(cum)=0,993 και διασταυρωμένο συντελεστή συσχέτισης $Q^2$(cum)=0,98. Το διάγραμμα ταξινόμησης που προκύπτει ύστερα από την ανάλυσης παρουσιάζεται στο σχήμα 12. Όπως φαίνεται από το διάγραμμα κάθε κάθετη στήλη παράλληλα στον άξονα Υ συβολίζει κάθε δείγμα ελαίου. Στην προκειμένη περίπτωση φαίνεται πως από τα 32 συνολικά εξαιρετικά παρθένα ελαιόλαδα, μόνο τα 4 υπερβαίνουν την κόκκινη γραμμή. Αυτό σημαίνει πως η ευαισθησία (αληθώς θετικά δείγματα) της μεθόδου είναι 28/32, δηλαδή 87,5%. Όσον αφορά τα έλαια χαμηλής ποιότητας (σπορέλαια), 5 από τα συνολικά 29 δεν υπερβαίνουν την κόκκινη γραμμή. Το γεγονός αυτό δείχνει πως η ειδικότητα της μεθόδου (αληθώς αρνητικά δείγματα) είναι 24/29 δείγματα ελαίων, δηλαδή 82,8%. Τέλος, στην περίπτωση των απλών ελαιολάδων (ελαιόλαδα χαμηλότερης ποιότητας) φαίνεται πως και τα 5 ταξινομούνται ως εξαιρετικά παρθένα ελαιόλαδα.




*Σχήμα 12: Διάγραμμα ταξινόμης με την μέθοδο Class Modeling για την ανάλυση των δειγμάτων*

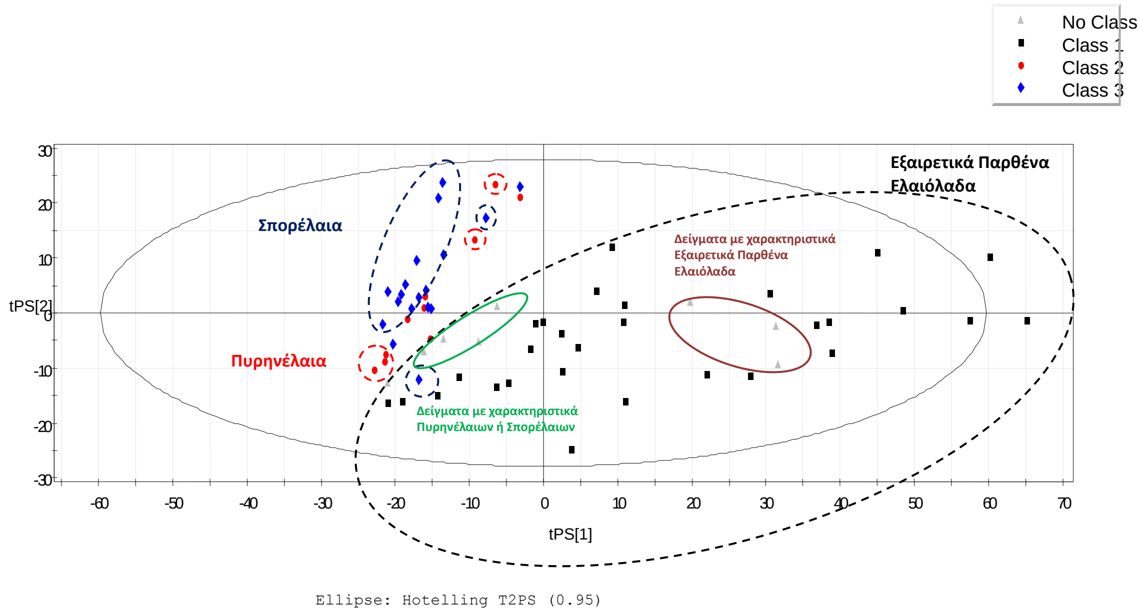
### 5.2.3 Ανάλυση PLS-DA

Στη συνέχεια ακολούθησε ανάλυση μέσω της μεθόδου PLS-DA όπου αρχικά ορίστηκαν 3 ομάδες (3 samplegroups). Πιο συγκεκριμένα, το μοντέλο αυτό προέκυψε με 2 κύριες συνιστώσες και $R^2X(cum)=0,844$, $R^2Y(cum)=0,396$ και $Q^2(cum)=0,359$. Όπως φαίνεται και από το διάγραμμα συντεταγμένων στο σχήμα 13, έχει οριστεί ως Class 1 το σύνολο των εξαιρετικά παρθένων ελαιόλαδων, Class 2 αποτελεί όλα τα δείγματα των πυρηνέλαιων ενώ Class 3 είναι τα σογιέλαια, ηλιέλαια και αραβοσιτέλαια που χρησιμοποιήθηκαν. Σε αυτή την περίπτωση ανάλυσης παρατηρείται αρκετά καλή διαφοροποίηση των εξαιρετικά παρθένων ελαιόλαδων από τα υπόλοιπα έλαια (σπορέλαια, πυρηνέλαια).



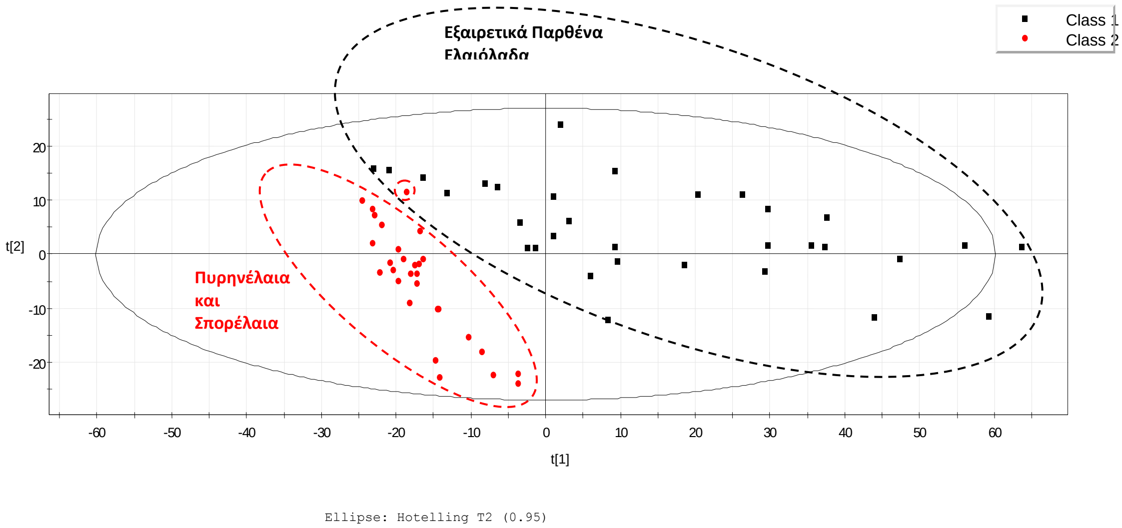

*Σχήμα 13: Διάγραμμα συντεταγμένων της μεθόδου PLS-DA (3 ομάδων) για την ανάλυση υδατικών εκχυλισμάτων με ηλεκτρόδιο υαλώδους άνθρακα*

Εκτός αυτής της ανάλυσης και των δειγμάτων, έγινε μια ανάλυση πάλι με 3 ομάδες, όπου σε αυτή την περίπτωση χρησιμοποιήθηκαν άγνωστα δείγματα με σκοπό την ανίχνευση των χαρακτηριστικών και των στοιχείων τους. Όπως στην προηγούμενη ανάλυση, έτσι και σε αυτή χρησιμοποιούνται τα ίδια Classes ελαίων. Στο σχήμα 14 φαίνεται το διάγραμμα συντεταγμένων όπου με το γκρι χρώμα είναι τα άγνωστα δείγματα. Το μοντέλο που προκύπτει έχει 2 κύριες συνιστώσες και $R^2X(cum)=0,846$, $R^2Y(cum)=0,387$ και $Q^2(cum)=0,348$. Όπως φαίνεται από την εικόνα, υπάρχουν 3 άγνωστα δείγματα τα οποία παρουσιάζουν παρόμοιες ιδιότητες και χαρακτηριστικά με τα εξαιρετικά παρθένα ελαιόλαδα, ενώ υπάρχουν και 5 δείγματα με χαρακτηριστικά σπορέλαιων ή πυρηνέλαιων.



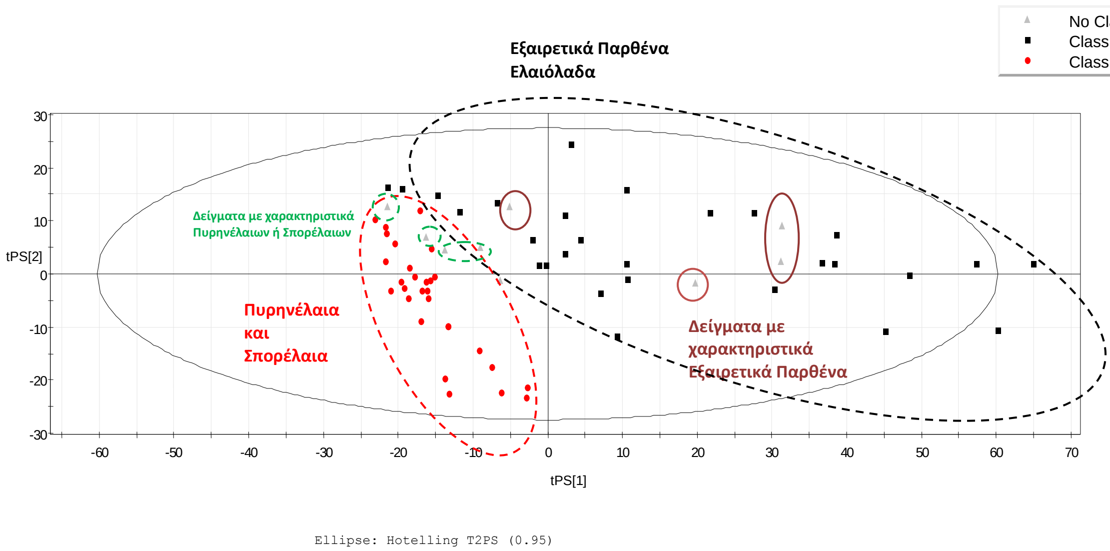

***Σχήμα 14: Διάγραμμα συντεταγμένων της μεθόδου PLS-DA (3 ομάδων) για την ανάλυση υδατικών εκχυλισμάτων αγνώστων ιδιοτήτων με ηλεκτρόδιο υαλώδους άνθρακα***

Μετά την ανάλυση PLS-DA με 3 ομάδες ελαίων, διεξήχθη ανάλυση με 2 ομάδες. Προκύπτει μοντέλο με 4 κύριες συνιστώσες και τις τιμές $R^2X(cum)=0,949$, $R^2Y(cum)=0,79$ και $Q^2(cum)= 0,757$, τιμές πολύ καλύτερες από τις αντίστοιχες στην ανάλυση με 3 ομάδες ελαίων. Οι τιμές αυτές δείχνουν ότι υπάρχει μεγαλύτερη ακρίβεια στην συγκεκριμένη ανάλυση, καθώς δύο διαφορετικά είδη ελαίων έχουν καταταγεί σε 1 κοινό Class. Πιο συγκεκριμένα και σε αυτή την ανάλυση παραμένουν στο Class 1 μόνο τα εξαιρετικά παρθένα ελαιόλαδα ενώ στο Class 2 πλεόν συνυπάρχουν όλα τα σπορέλαια (ηλιέλαια, σογιέλαια, αραβοσιτέλαια) με τα πυρηνέλαια. Όπως φαίνεται από το σχήμα 15, υπάρχει ξεκάθαρη διαφοροποίηση των εξαιρετικών παρθένων ελαιόλαδων από τα υπόλοιπα έλαια.




***Σχήμα 15: Διάγραμμα συντεταγμένων της μεθόδου PLS-DA (2 ομάδων) για την ανάλυση υδατικών εκχυλισμάτων με ηλεκτρόδιο υαλώδους άνθρακα***

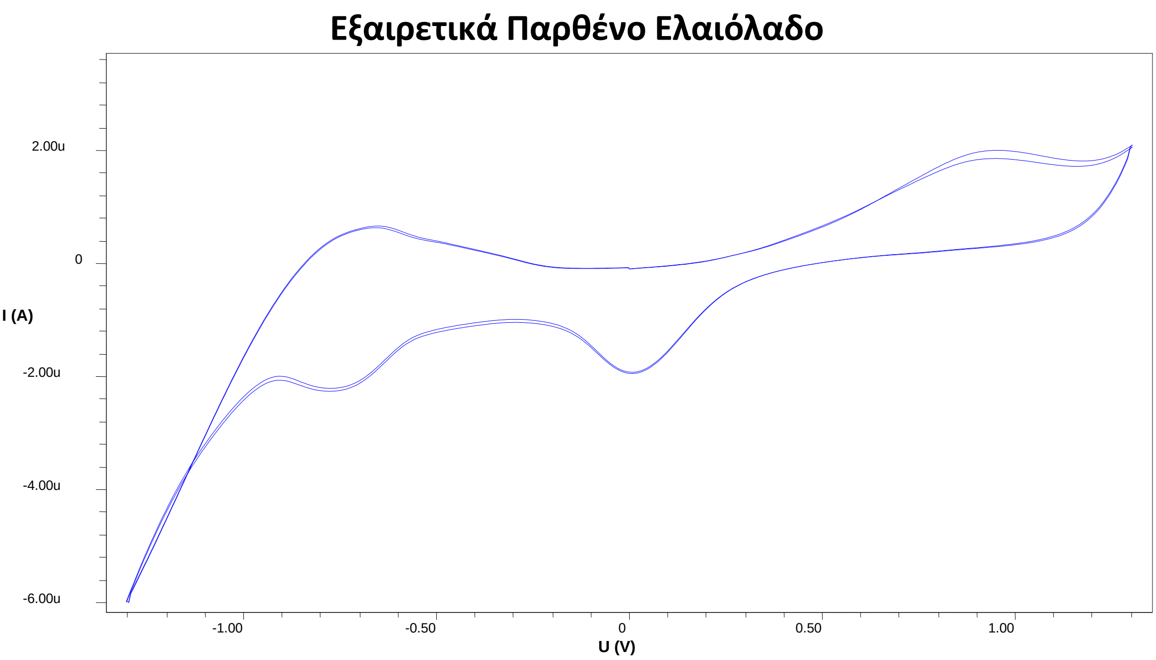
Όπως στην προηγούμενη ανάλυση, έτσι και σε αυτή έγινε ανίχνευση δειγμάτων αγνώστων χαρακτηριστικών και ιδιοτήτων. Στο σχήμα 16 φαίνεται το διάγραμμα συντεταγμένων όπου με το γκρι χρώμα είναι τα άγνωστα δείγματα. Το μοντέλο που προκύπτει έχει 4 κύριες συνιστώσες και $R^2X$(cum)=0,954, $R^2Y$(cum)=0,786 και$Q^2$(cum)= 0,75. Όπως φαίνεται από την εικόνα, υπάρχουν 4 άγνωστα δείγματα τα οποία παρουσιάζουν παρόμοιες ιδιότητες και χαρακτηριστικά με τα εξαιρετικά παρθένα ελαιόλαδα, ενώ υπάρχουν και 5 δείγματα που δεν γίνεται ξεκάθαρη η προέλευση τους και οι ιδιότητες τους.




***Σχήμα 16: Διάγραμμα συντεταγμένων της μεθόδου PLS-DA (2 ομάδων) για την ανάλυση υδατικών εκχυλισμάτων αγνώστων ιδιοτήτων με ηλεκτρόδιο υαλώδους άνθρακα***

## 5.3 Μελέτη ελαιόλαδων και σπορέλαιων με κυκλική βολταμμετρία σε ηλεκτρόδιο εργασίας Λευκόχρυσου

Με δεδομένο πως η ένταση και η θέση των κορυφών εξαρτώνται από την φύση του ηλεκτροδίου εργασίας, η κυκλική βολταμμετρία των υπό μελέτη ελαίων πραγματοποιήθηκε επίσης σε ηλεκτρόδιο εργασίας πλατίνας. Όπως και στο προηγούμενο πείραμα, επειδή στα έλαια υπάρχει μια ιδιαίτερα σημαντική ποσότητα αντιοξειδωτικών τα οποία συνήθως μπορούν να υποστούν ηλεκτροχημικήοξείδωση, έτσι και τώρα επιλέγεται μια αρχική σάρωση, με εύρος τάσης από -1,3 V έως τα 1,3 V. Αντιπροσωπευτικά κυκλικά βολταμμογραφήματα για τα εξαιρετικά παρθένα ελαιόλαδα, τα σπορέλαια και τα πυρηνέλαια παρουσιάζονται στις εικόνες 17 έως 22.



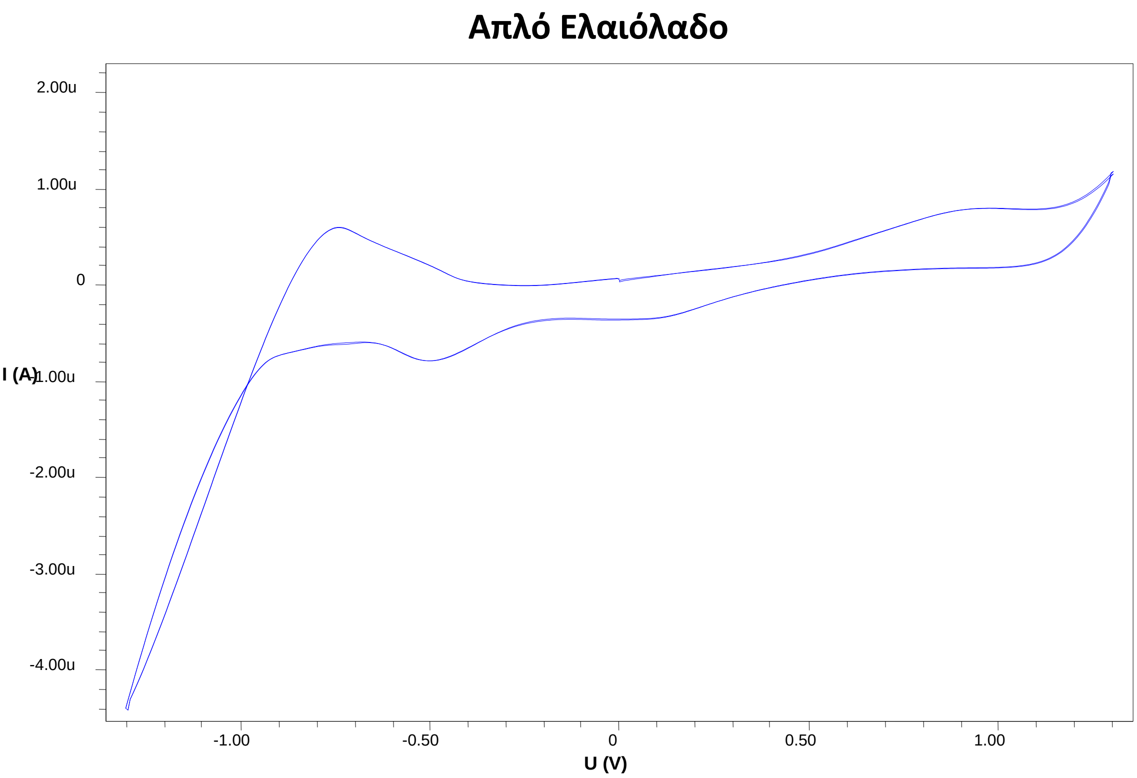

*Σχήμα 17: Βολταμμογράφημα Εξαιρετικά παρθένου Ελαιόλαδου με ηλεκτρόδιο πλατίνας*

Όπως φαίνεται από το παραπάνω διάγραμμα (σχήμα 17), στην μελέτη του ελαιόλαδου με ηλεκτρόδιο λευκόχρυσου, παρουσιάζονται συνολικά τέσσερα διαφορετικά εύρη δυναμικού. Πιο συγκεκριμένα, φαίνονται τα εύρη δυναμικού -0,8 έως -0,7 V, -0,7 έως -0,6 V, -0,1 έως 0,1 V καθώς και το 0,8-1,0 V. Στην προκειμένη περίπτωση, εμφανίζονται τόσα εύρη δυναμικού, άρα και κορυφές, λόγω των αρκετών επικαλυπτόμενων σταδίων οξείδωσης.

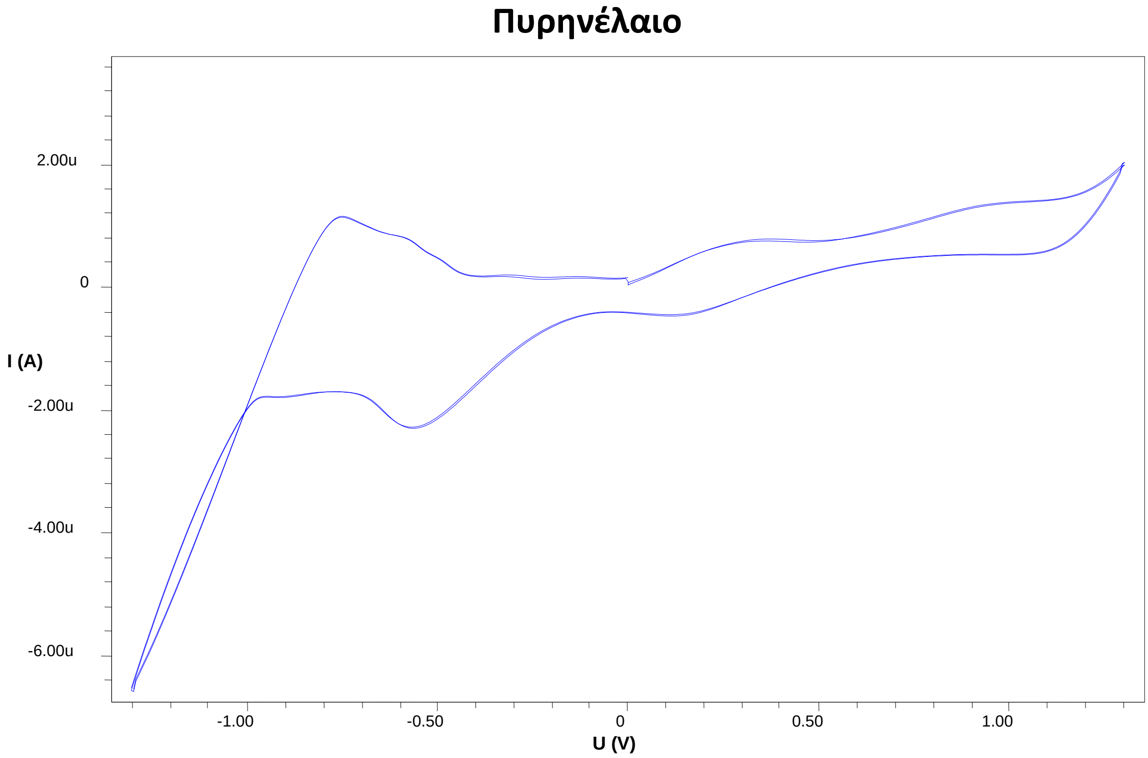
Στην αντίστοιχη περίπτωση μελέτης του απλού ελαιόλαδου, φαίνεται στην σχήμα 18 πως εμφανίζονται δυο εύρη δυναμικού. Συγκεκριμένα τα δυο εύρη είναι το -0,9 έως -0,7 V και το -0,6 έως -0,4 V.

Αντίστοιχα αποτελέσματα φάνηκαν και στην μελέτη των πυρηνέλαιων. Σε αυτή την περίπτωση εμφανίστηκαν δυο ξεκάθαρα εύρη δυναμικού, -0,9 έως -0,7 V και -0,6 έως -0,5 V, ενώ υπάρχουν και άλλα δυο, όχι και τόσο ξεκάθαρα εύρη. Πρόκειται για τα 0 – 0,2 V και 0,4 – 0,5 V. Τα συγκεκριμένα ζεύγη δεν είναι ξεκάθαρα καθώς οι επικαλύψεις όσον αφορά το πυρηνέλαιο είναι εντονότερες, όταν πρόκειται για θετικές τιμές δυναμικού. Το βολταμμογράφημα του πυρηνέλαιου φαίνεται στην σχήμα 19.

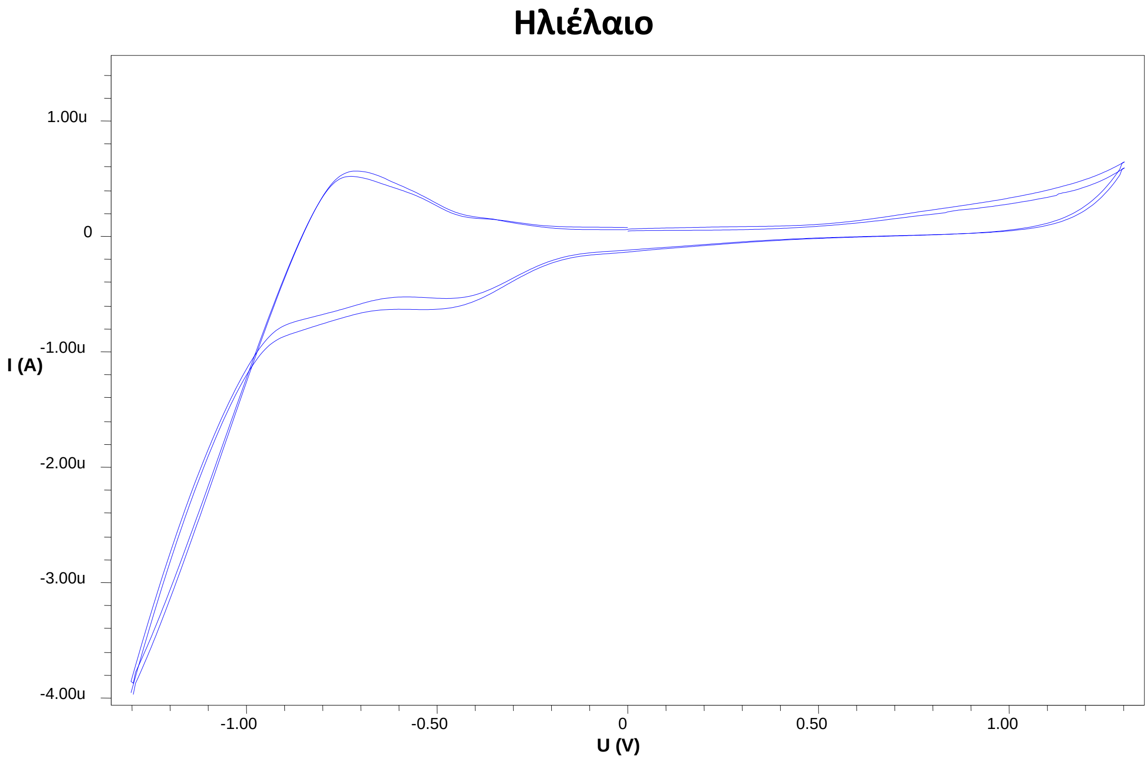
Όσον αφορά την περίπτωση των σπορέλαιων, παρατηρείται ότι το σογιέλαιο εμφανίζει αρκετά ανάλογα αποτελέσματα με το ηλιέλαιο και το αραβοσιτέλαιο. Παρατηρόντας τα σχήματα 20, 21 και 22, στα βολταμμογραφήματα φαίνεται πως και τα τρία έλαια εμφανίζουν κορυφή ανάμεσα στο εύρος δυναμικού -0,8 έως -0,7 V. Παράλληλα, αξίζει να αναφερθεί πως το ηλιέλαιο και το αραβοσιτέλαιο ίσως να εμφανίζουν κορυφή ανάμεσα στα δυναμικά -0,5 έως -0,4 V, αν και δεν είναι ξεκάθαρο λόγω των επικαλύψεων.



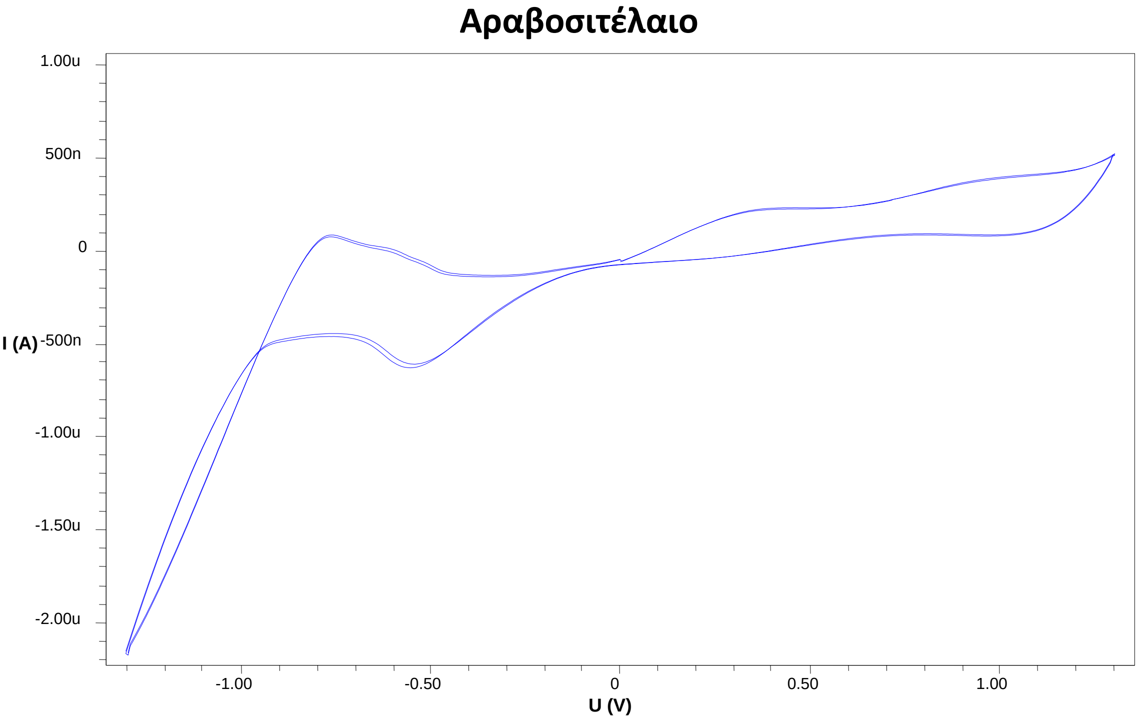

*Σχήμα 18: Βολταμμογράφημα Απλού Ελαιόλαδου με ηλεκτρόδιο πλατίνας*



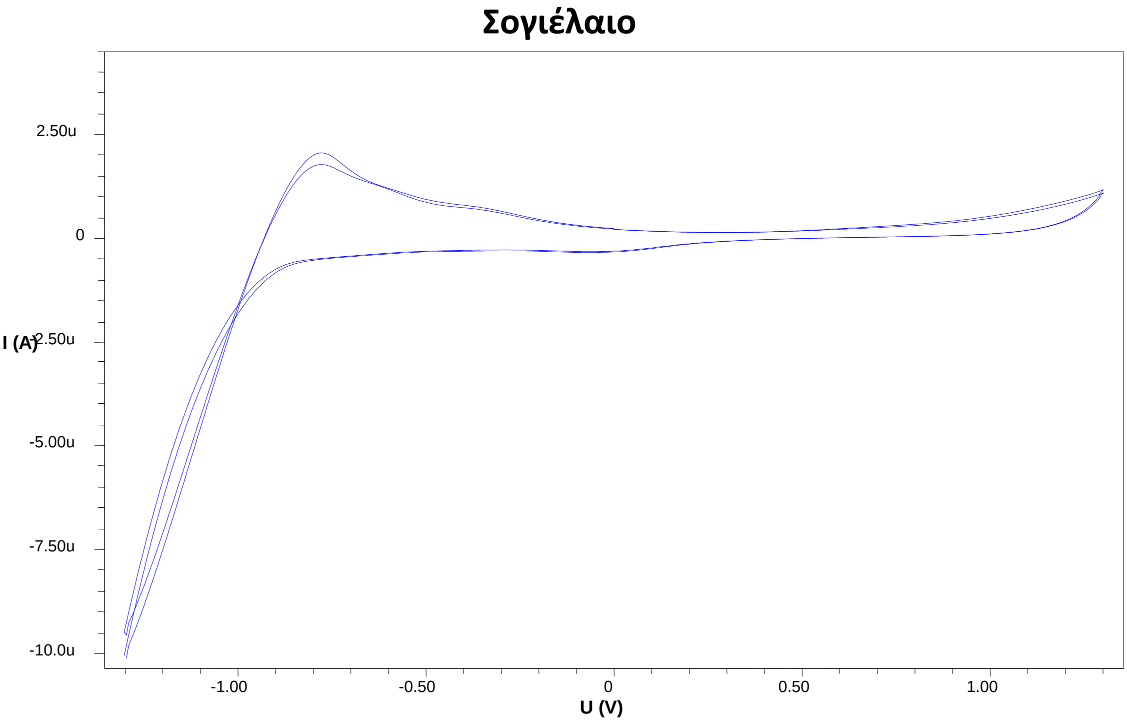

*Σχήμα 19: ΒολταμμογράφημαΠυρηνέλαιου με ηλεκτρόδιο πλατίνας*




*Σχήμα 20: ΒολταμμογράφημαΗλιέλαιου με ηλεκτρόδιο πλατίνας*




*Σχήμα 21: ΒολταμμογράφημαΑραβοσιτέλαιου με ηλεκτρόδιο πλατίνας*

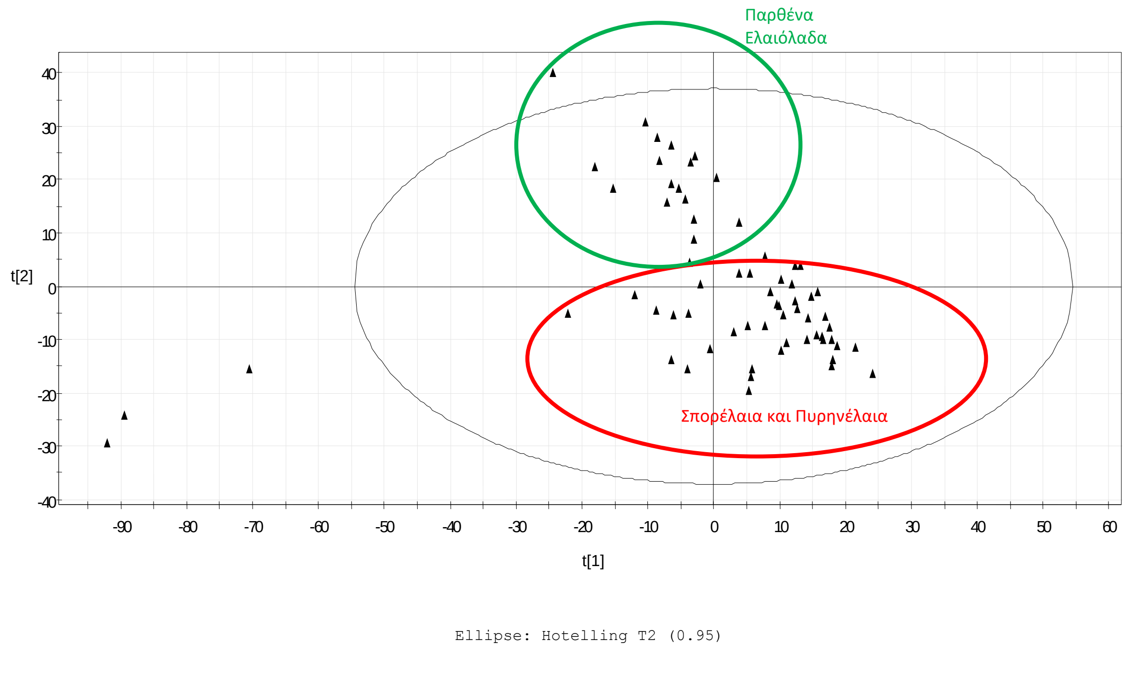



*Σχήμα 22: ΒολταμμογράφημαΣογιέλαιου με ηλεκτρόδιο πλατίνας*

Τα σημεία των κυκλικών βολταμμογραφημάτων από τις παραπάνω αναλύσεις υποβλήθηκαν σε πολυμεταβλητή ανάλυση, έτσι ώστε να γίνει κατάταξη των ελαίων ανάλογα με την φυτική τους προέλευση. Ο πίνακας των δεδομένων (data matrix) αποτελούταν από 66 γραμμές (εξεταζόμενα έλαια) και 877 στήλες (μέτρηση ρεύματος στην εκάστοτε τιμή τάσης).

### 5.3.1 Ανάλυση PCA

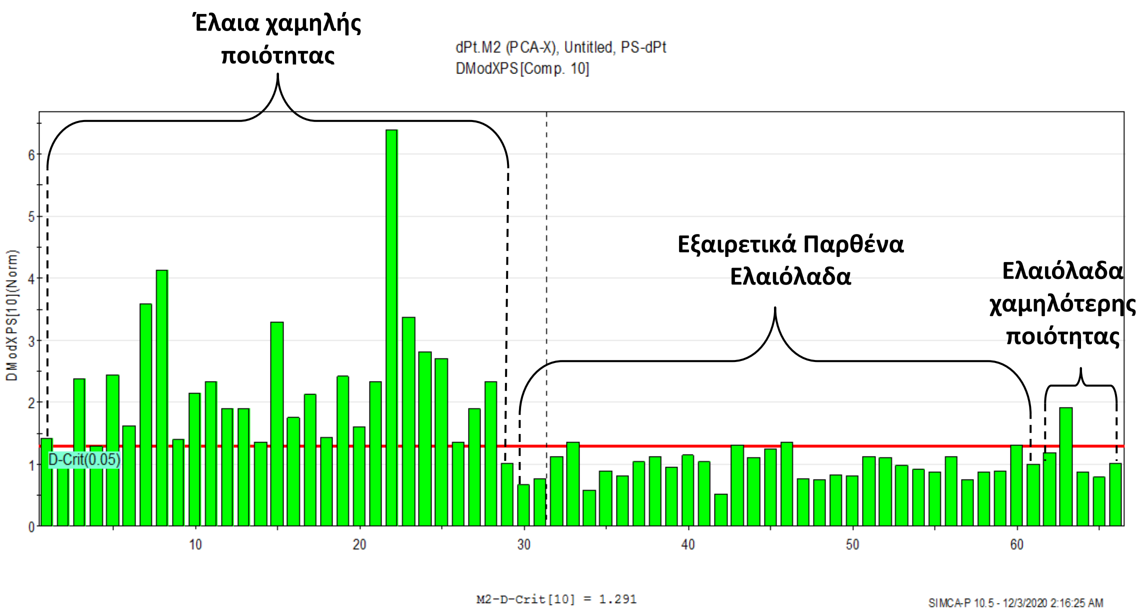
Στη συνέχεια πραγματοποιήθηκε ανάλυση PCA, η οποία οδήγησε σε μοντέλο με 9 κύριες συνιστώσες, με συνολικό συντελεστή συσχετίσεως $R^2$(cum)=0,99 και διασταυρωμένο συντελεστή συσχέτισης $Q^2$(cum)=0,977. Το διάγραμμα συντεταγμένων (scoresplot) που προκύπτει παρουσιάζεται στο σχήμα 23. Παρατηρείται ότι υπάρχει ορισμένη διαφοροποίηση των ελαιόλαδων από τα υπόλοιπα έλαια όμως, θα ήταν προτιμότερο και πολύ καλύτερο τα παρθένα ελαιόλαδα να είναι πιο συμπηκνωμέναμεταξύ τους. Φαίνεται πως τρία δείγματα ξεφεύγουν από τα υπόλοιπα δείγματα, δείγμα του ότι δεν είναι ξεκάθαρη η φυτική τους προέλευση. Επίσης φαίνεται ότι δεν διαχωρίζονται τα σπορέλαια από τα πυρηνέλαια, καθώς παρουσιάζονται συμπτιγμένα στο μεγαλύτερο ποσοστό τους στο τέταρτο τεταρτημόριο του διαγράμματος, ενώ ταυτόχρονα υπάρχει μερικός διαχωρισμός των μειγμάτων ελαιόλαδων με εξευγενισμένα ελαιόλαδα από τα παρθένα/εξαιρετικά παρθένα ελαιόλαδα.




*Σχήμα 23: Διάγραμμα συντεταγμένων της μεθόδου PCA για την ανάλυση των δειγμάτων και τον διαχωρισμό τους*

### 5.3.2 Class Modeling (Μοντελοποίηση Ταξινόμησης)

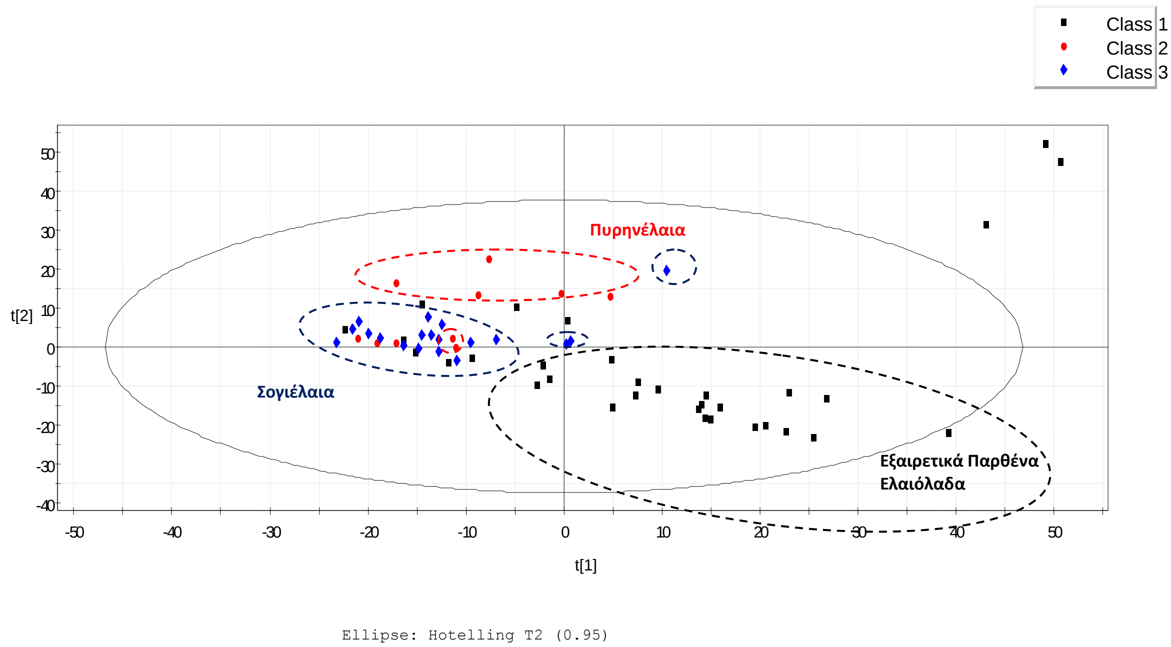
Μετά την ανάλυση PCA, διεξήχθη η ανάλυση ClassModeling. Στην περίπτωση αυτής της ανάλυσης τα δείγματα ταξινομούνται ανάλογα με την φυτική τους προέλευση. Η μέθοδος ακολουθεί μια συγκεκριμένη λογική. Η Μοντελοποίηση Ταξινόμησης χαρακτηρίζεται από δυο παράγοντες. Αρχικά ποσοτικά, δηλαδή από την ευαισθησία του μοντέλου που είναι ο αριθμός των γνήσιων (παρθένων) ελαιολάδων που ταξινομούνται κάτω από την κόκκινη γραμμή. ‘Υστερα, από την ειδικότητα που αποτελεί τον αριθμό των ελαίων χαμηλής ποιότητας ή των νοθευμένων ελαιολάδων. Τα έλαια αυτά υπερβαίνουν την κόκκινη γραμμή, οπότε απορρίπτονται από το μοντέλο. Για την ταξινόμηση λοιπόν, επιλέγονται όλα τα δείγματα των εξαιρετικά παρθένων ελαιόλαδων. Η ανάλυση οδήγησε σε μοντέλο με 10 κύριες συνιστώσες, με συνολικό συντελεστή συσχετίσεως $R^2$(cum)=0,996 και διασταυρωμένο συντελεστή συσχέτισης $Q^2$(cum)=0,982. Το διάγραμμα ταξινόμησης που προκύπτει ύστερα από την ανάλυσης παρουσιάζεται στην σχήμα 24. Όπως φαίνεται από το διάγραμμα κάθε κάθετη στήλη παράλληλα στον άξονα Y συβολίζει κάθε δείγμα ελαίου. Στην προκειμένη περίπτωση φαίνεται πως από τα 32 συνολικά εξαιρετικά παρθένα ελαιόλαδα, μόνο τα 4 υπερβαίνουν την κόκκινη γραμμή, έστω και οριακά. Αυτό σημαίνει πως η ευαισθησία (αληθώς θετικά δείγματα) της μεθόδου είναι 28/32, δηλαδή 87.5%. Όσον αφορά τα έλαια χαμηλής ποιότητας (σπορέλαια), 2 από τα συνολικά 29 δεν υπερβαίνουν την κόκκινη γραμμή. Το γεγονός αυτό δείχνει πως η ειδικότητα της μεθόδου (αληθώς αρνητικά δείγματα) είναι 27/29 δείγματα ελαίων, δηλαδή 93.1%. Τέλος, στην περίπτωση των 5 απλών ελαιολάδων (ελαιόλαδα χαμηλότερης ποιότητας), τα 4 από αυτά ταξινομούνται ως εξαιρετικά παρθένα ελαιόλαδα, ενώ 1 από αυτά ταξινομείται μαζί με τα πυρηνέλαια και τα σπορέλαια.




***Σχήμα 24: Διάγραμμα ταξινόμης με την μέθοδο Class Modeling για την ανάλυση των δειγμάτων***

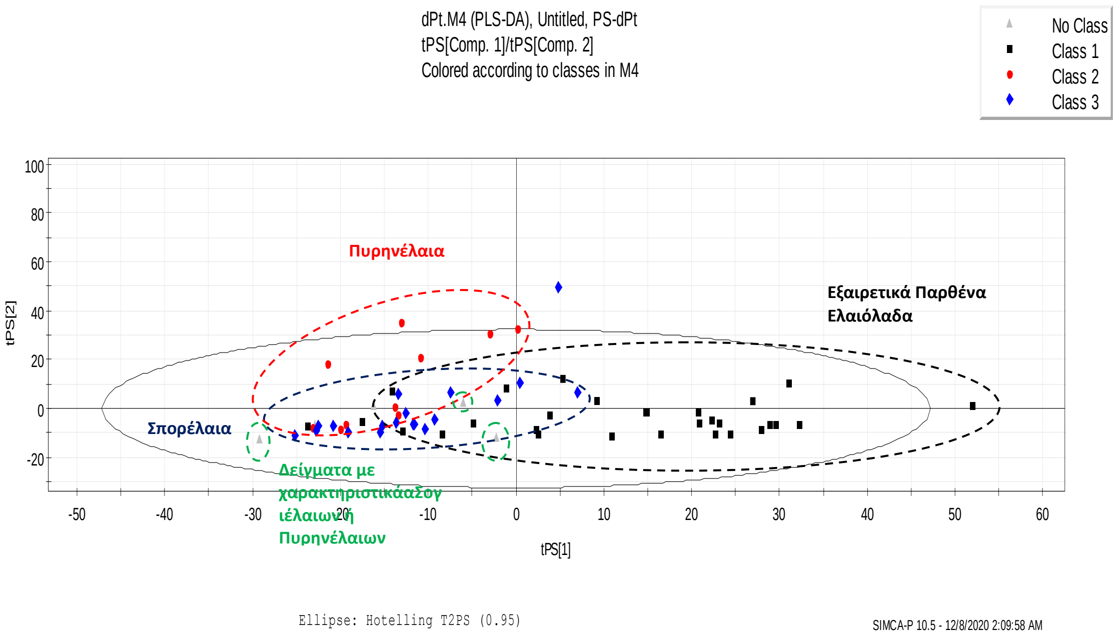
### 5.3.3 Ανάλυση PLS-DA

Στη συνέχεια ακολούθησε ανάλυση μέσω της μεθόδου PLS-DA όπου αρχικά ορίστηκαν 3 ομάδες (3 samplegroups). Πιο συγκεκριμένα, το μοντέλο αυτό προέκυψε με 2 κύριες συνιστώσες και $R^2X$(cum)=0,762, $R^2Y$(cum)=0,277 και $Q^2$(cum)= 0,249. Όπως φαίνεται και από το διάγραμμα συντεταγμένων στην σχήμα 25, έχει οριστεί ως Class 1 το σύνολο των εξαιρετικά παρθένων ελαιόλαδων, Class 2 αποτελεί όλα τα δείγματα των πυρηνέλαιων ενώ Class 3 είναι τα σογιέλαια, ηλιέλαια και αραβοσιτέλαια που χρησιμοποιήθηκαν. Σε αυτή την περίπτωση ανάλυσης δεν υπάρχει καλή διαφοροποίηση των εξαιρετικών παρθένωελαιόλαδων από τα υπόλοιπα έλαια (σπορέλαια, πυρηνέλαια) καθώς πολλά δείγματα εξαιρετικά παρθένων ελαιόλαδων βρίσκονται στην περιοχή των σπορέλαιων.



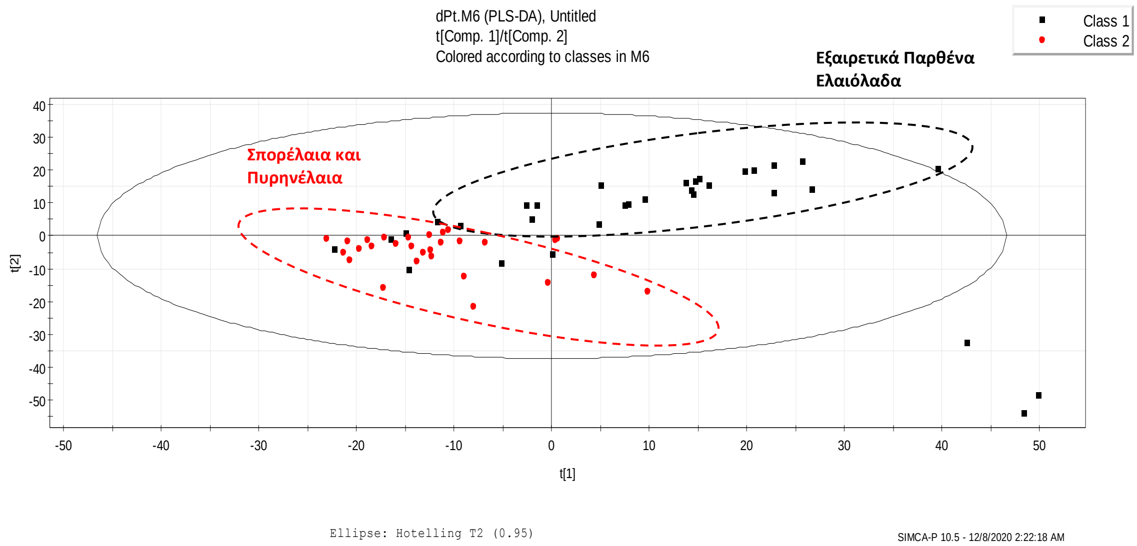

*Σχήμα 25: Διάγραμμα συντεταγμένων της μεθόδου PLS-DA (3 ομάδων) για την ανάλυση υδατικών εκχυλισμάτων με ηλεκτρόδιο λευκόχρυσου*

Εκτός αυτής της ανάλυσης και των δειγμάτων, έγινε μια ανάλυση πάλι με 3 ομάδες, όπου σε αυτή την περίπτωση χρησιμοποιήθηκαν άγνωστα δείγματα με σκοπό την ανίχνευση των χαρακτηριστικών και των στοιχείων τους. Όπως στην προηγούμενη ανάλυση, έτσι και σε αυτή χρησιμοποιούνται τα ίδια Classes ελαίων. Στην σχήμα 26 φαίνεται το διάγραμμα συντεταγμένων όπου με το γκρι χρώμα είναι τα άγνωστα δείγματα. Το μοντέλο που προκύπτει έχει 9 κύριες συνιστώσες και $R^2X$(cum)=0,981, $R^2Y$(cum)=0,726 και $Q^2$(cum)= 0,485. Όπως φαίνεται από την εικόνα,τα άγνωστα δείγματα δεν είναι ξεκάθαρο ποιες ιδότητες εμφανίζουν ώστε να τα χαρακτηρίσουμε ως προς το είδος τους. Αυτό που μπορεί ίσως να διακριθεί από το διάγραμμα είναι ότι στην πλειοψηφία τους εμφανίζουν στοιχεία σπορέλαιων-πυρηνέλαιων.



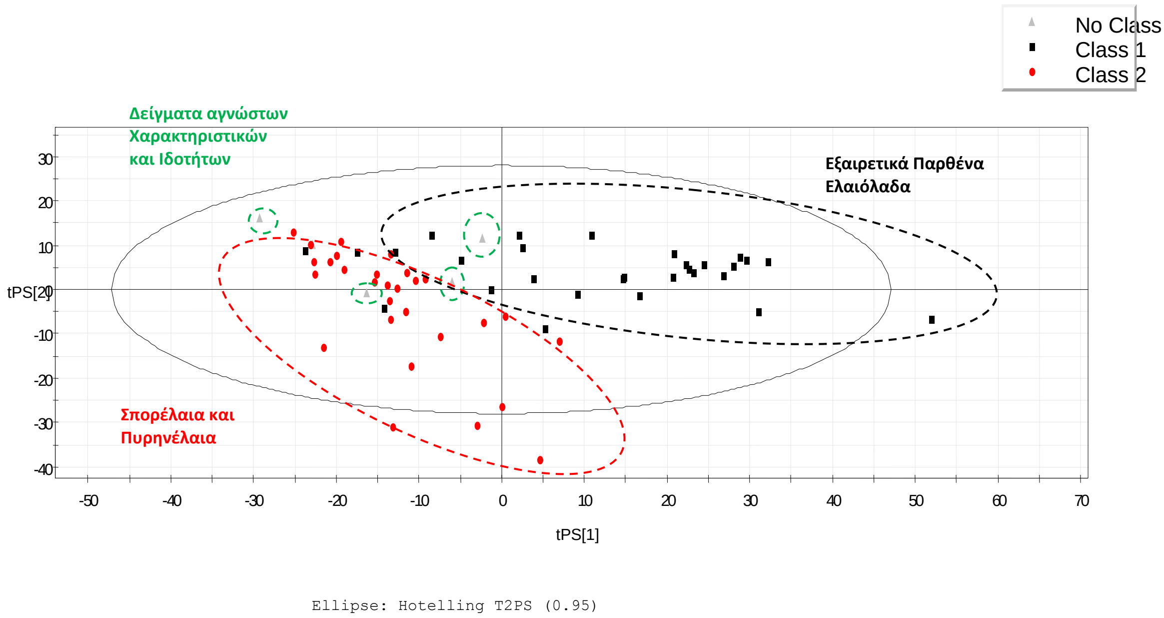

***Σχήμα 26: Διάγραμμα συντεταγμένων της μεθόδου PLS-DA (3 ομάδων) για την ανάλυση υδατικών εκχυλισμάτων αγνώστων ιδιοτήτων με ηλεκτρόδιο λευκόχρυσου***

Μετά την ανάλυση PLS-DA με 3 ομάδες ελαίων, διεξήχθη ανάλυση με 2 ομάδες. Προκύπτει μοντέλο με 4 κύριες συνιστώσες και τις τιμές $R^2X$(cum)=0,869, $R^2Y$(cum)=0,675 και $Q^2$(cum)= 0,569, τιμές πολύ καλύτερες από τις αντίστοιχες στην ανάλυση με 3 ομάδες ελαίων. Οι τιμές αυτές δείχνουν ότι υπάρχει μεγαλύτερη ακρίβεια στην συγκεκριμένη ανάλυση, καθώς δύο διαφορετικά είδη ελαίων έχουν καταταγεί σε 1 κοινό Class. Πιο συγκεκριμένα και σε αυτή την ανάλυση παραμένουν στο Class 1 μόνο τα εξαιρετικά παρθένα ελαιόλαδα ενώ στο Class 2 πλεόν συνυπάρχουν όλα τα σπορέλαια (ηλιέλαια, σογιέλαια, αραβοσιτέλαια) με τα πυρηνέλαια. Όπως φαίνεται από το σχήμα 27, δεν υπάρχει ξεκάθαρη διαφοροποίηση των εξαιρετικών παρθένων ελαιόλαδων από τα υπόλοιπα έλαια.




***Σχήμα 27: Διάγραμμα συντεταγμένων της μεθόδου PLS-DA (2 ομάδων) για την ανάλυση υδατικών εκχυλισμάτων με ηλεκτρόδιο λευκόχρυσου***

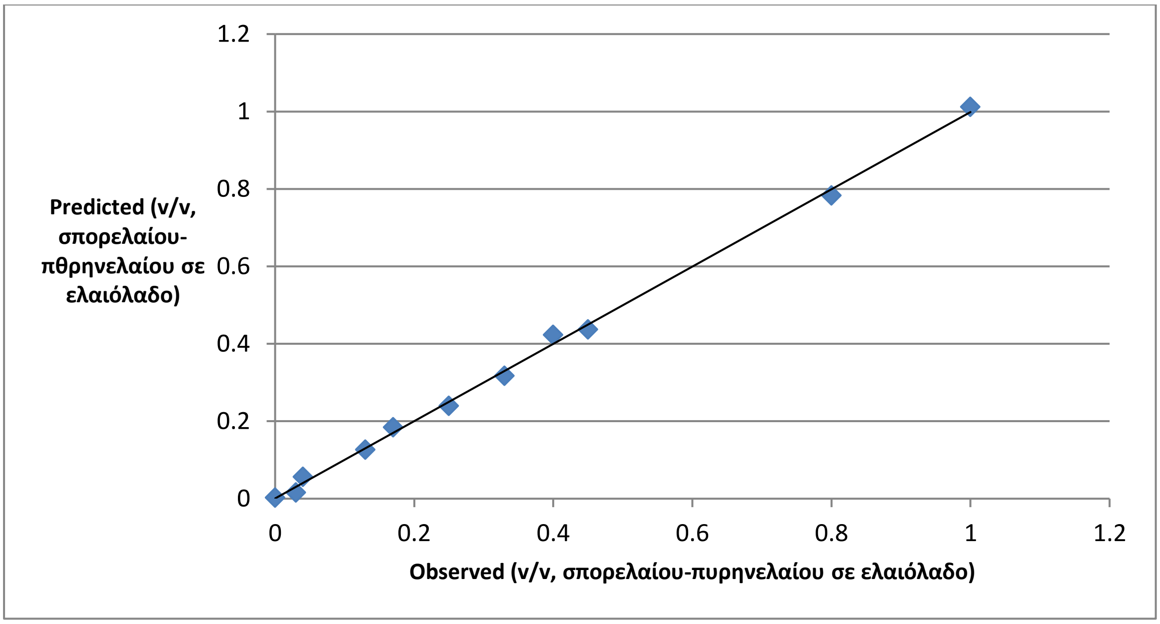
Όπως και στις προηγούμενες αναλύσεις, έτσι και σε αυτή έγινε ανίχνευση δειγμάτων αγνώστων χαρακτηριστικών και ιδιοτήτων. Στο σχήμα 28 φαίνεται το διάγραμμα συντεταγμένων όπου με το γκρι χρώμα είναι τα άγνωστα δείγματα. Το μοντέλο που προκύπτει έχει 6 κύριες συνιστώσες και $R^2X(cum)=0,934$, $R^2Y(cum)=0,855$ και $Q^2(cum)= 0,77$. Όπως φαίνεται από την εικόνα, υπάρχουν 4 άγνωστα δείγματα για τα οποία δεν μπορούν να αναγνωριστούν οι ιδιοτητές τους και σε ποιο είδος ελαίων κατατάσσονται.




***Σχήμα 28: Διάγραμμα συντεταγμένων της μεθόδου PLS-DA (2 ομάδων) για την ανάλυση υδατικών εκχυλισμάτωνα αγνώστων ιδιοτήτων με ηλεκτρόδιο λευκόχρυσου***

### 5.3.4 PLS

Στη συνέχεια πραγματοποιήθηκε ανάλυση ελαχίστων τετραγώνων ώστε να ποσοτικοποιηθεί η νοθεία του ελαιόλαδου, από σπορέλαιο ή πυρηνέλαιο. Για την ανάλυση αυτή έγινε παρασκευή 11 νοθευμένων μειγμάτων. Το μείγμα των ελαιόλαδων αποτελούταν από 20 επιλεγμένα εξαιρετικά παρθένα ελαιόλαδα ενώ εκείνο των σπορέλαιων-πυρηνέλαιων περιείχε 7 σογιέλαια, 7 ηλιέλαια και 6 πυρηνέλαια. Τα δύο μείγματα αναμείχθηκαν και τα 11 νοθευμένα που προέκυψαν είχαν ποσοστά νοθείας τα οποία κυμαίνονταν από 0-100% (v/v). Τα σημεία από τα βολταμμογραφήματα που μελετήθηκαν είναι από -1,3 έως +1,3 V, για ανοδική και καθοδική σάρωση. Το μοντέλο που προέκυψε είναι δυο συνιστώσεων, με τιμές $R^2$ = 0,998 και $Q^2$ = 0,986. Μέσω του υπολογισμού του RSD το οποίο βρέθηκε ότι 33%, υπολογίστηκε η τιμή του LOD (όριο ανιχνευσιμότητας): 2,1%. Το LOQ (όριο ποσοτικοποίησης) βρέθηκε να έχει τιμή 6,3%. Για τους υπολογισμούς χρησιμοποιήθηκε το λογισμικό του Microsoft Excel. Στο σχήμα 29 παρουσιάζεται το μοντέλο που αναφέρθηκε. Στον πίνακα 12 παρουσιάζονται τα δεδομένα του μοντέλου και οι τιμές που προέκυψαν.



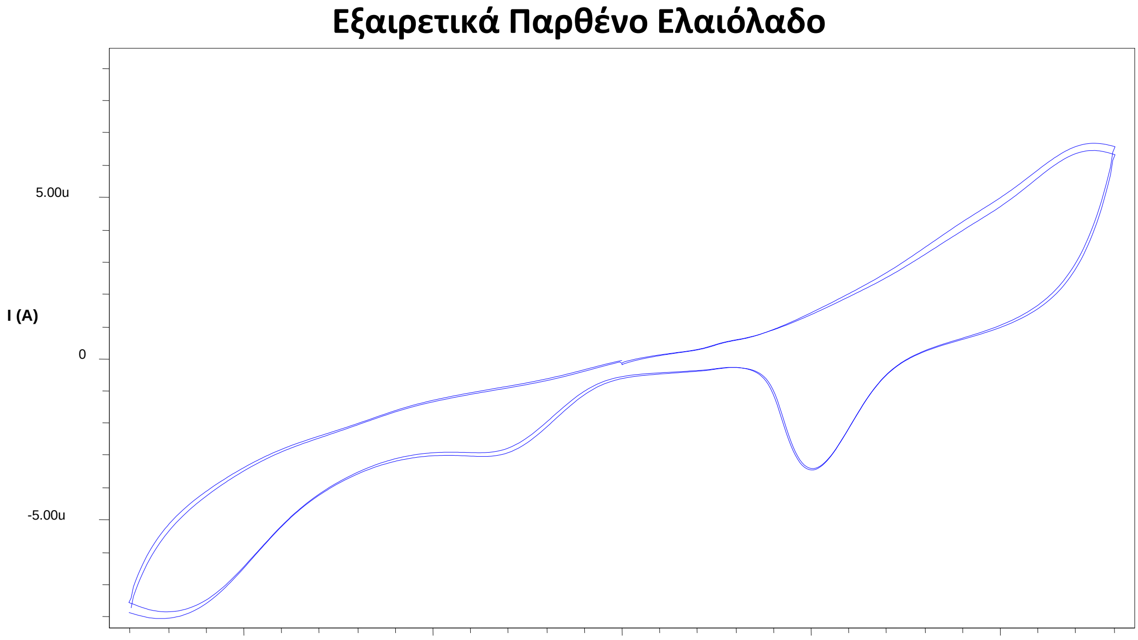

*Σχήμα 29: Διάγραμμα Predicted/Observed*

*Πίνακας 12: Δεδομένα της μεθόδου*

| **Δείγμα** | **% Υπολογισμένη Νοθεία** |
|---|---|
| Καθαρό εξαιρετικά παρθένο ελαιόλαδο | 0 ± 0,1% |
| 3% νοθεία ελαίου σε εξαιρετικά παρθένο ελαιόλαδο | 1,6 ± 0,2% |
| 4% νοθεία ελαίου σε εξαιρετικά παρθένο ελαιόλαδο | 5,7 ± 0,6% |
| 13% νοθεία ελαίου σε εξαιρετικά παρθένο ελαιόλαδο | 12,6 ± 1,1% |
| 17% νοθεία ελαίου σε εξαιρετικά παρθένο ελαιόλαδο | 18,4 ± 1,6% |
| 25% νοθεία ελαίου σε εξαιρετικά παρθένο ελαιόλαδο | 24 ± 1,7% |
| 33% νοθεία ελαίου σε εξαιρετικά παρθένο ελαιόλαδο | 31,7 ± 2,3% |
| 40% νοθεία ελαίου σε εξαιρετικά παρθένο ελαιόλαδο | 42,2± 3,4% |
| 45% νοθεία ελαίου σε εξαιρετικά παρθένο ελαιόλαδο | 43,7 ± 3,9% |
| 80% νοθεία ελαίου σε εξαιρετικά παρθένο ελαιόλαδο | 78,3 ± 7,2% |
| 100% νοθεία ελαίου σε εξαιρετικά παρθένο ελαιόλαδο | 100,0 ± 6,3% |

## 5.4 Μελέτη ελαιόλαδων και σπορέλαιων με κυκλική βολταμμετρία σεηλεκτρόδιο εργασίας Χρυσού

Έχοντας ως δεδομένο πως η ένταση και η θέση των κορυφών εξαρτώνται από την φύση του ηλεκτροδίου εργασίας, η κυκλική βολταμμετρία για τα έλαια που μελετήθηκαν πραγματοποιήθηκε επίσης σε ηλεκτρόδιο εργασίας χρυσού. Για του ίδιους λόγους όπως και στα προηγούμενα πειράματα επιλέγεται σάρωση με εύρος τάσης από -1,3 V έως τα 1,3 V Παρακάτω παρουσιάζονται αντιπροσωπευτικά κυκλικά βολταμμογραφήματα για τα εξαιρετικά παρθένα ελαιόλαδα, τα σπορέλαια και τα πυρηνέλαια. Τα χαρακτηριτικάβολταμμογραφήματα φαίνονται στα σχήμα 30 έως 35.



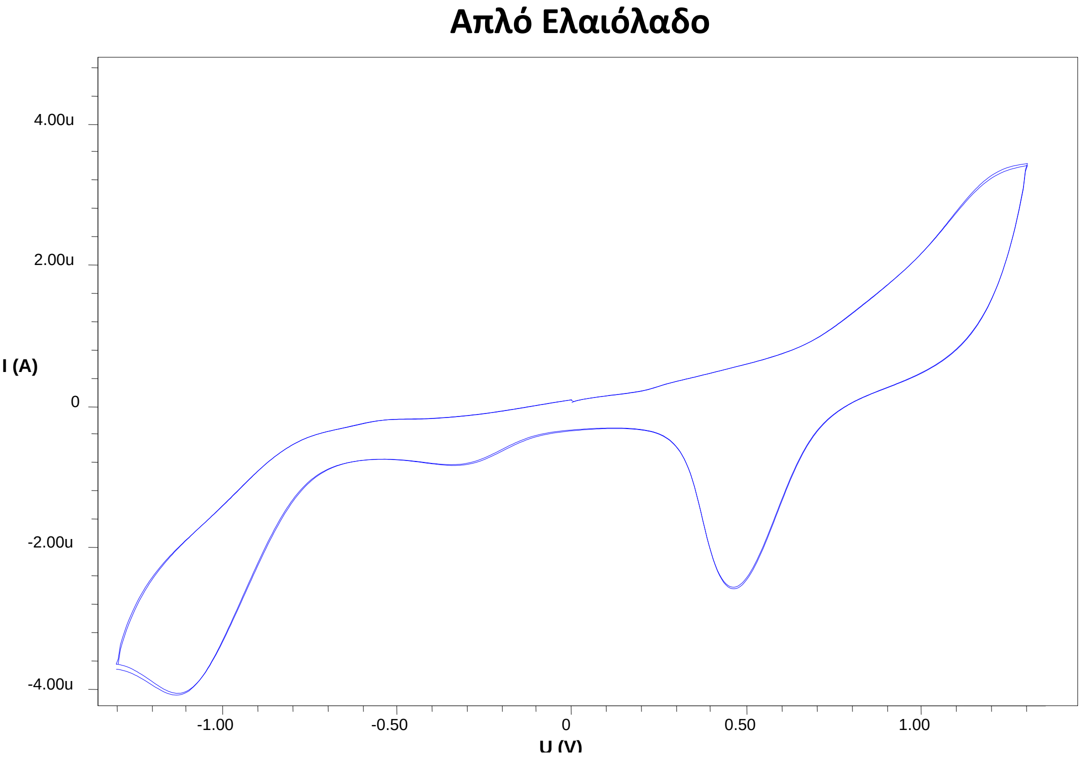

***Σχήμα 30: Βολταμμογράφημα Εξαιρετικά παρθένου Ελαιόλαδου με ηλεκτρόδιο χρυσού***

'Οπως φαίνεται από το παραπάνω βολταμμογράφημα (σχήμα 30), από τη συγκεκριμένη μελέτη εμφανίστηκαν δύο διαφορετικά εύρη δυναμικού. Με εξαίρεση τις κορυφές στις τάσεις -1,3 V και 1,3 V, φαίνεται ότι στα εύρη δυναμικού -0,4 έως -0,2 V και 0,4 – 0,6 V εμφανίζονται χαρακτηριστικές κορυφές.

Αντίστοιχα αποτελέσματα σε σχέση με τα εύρη δυναμικών και τις κορυφές έδωσε και η μελέτη του απλού ελαιόλαδου, όπως φαίνεται και στο σχήμα 31. Κατά την μελέτη του πυρηνέλαιου ανιχνεύθηκαν δυο εύρη δυναμικού. Πρόκειται για την τιμή -1,2 έως -1,1 V καθώς και την 0,5 – 0,6 V. Στην περίπτωση του πυρηνέλαιου (σχήμα 32) φαίνεται πως υπάρχουν ακόμα περισσότερες κορυφές, όμως τα εύρη δεν είναι ξεκάθαρα λόγω των επικαλυπτώμενων σταδίων οξείδωσης.

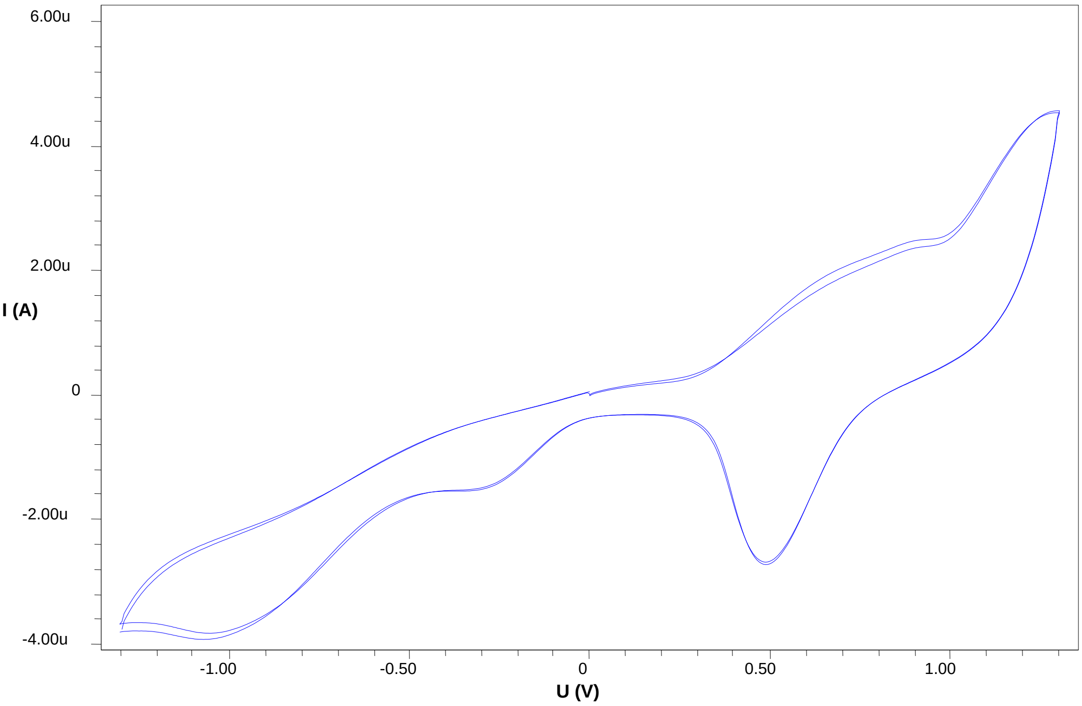
Όσον αφορά την περίπτωση των σπο ρέλαιων παρατηρούμε πως τα δυο βολταμμογραφήματα, τόσο του σογιέλαιου όσο και του ηλιέλαιου, παρουσιάζουν παρόμοιες κορυφές και σχεδόν κοινά εύρη δυναμικών. Πιο συγκριμένα, φαίνεται πως και στα δυο βολταμμογραφήματα υπάρχει το εύρος δυναμικού 0,4 – 0,5 V. Όσον αφορά ξεχωριστά το ηλιέλαιο, υπάρχουν το εύρη δυναμικού -0,2 έως 0 V και -1,25 έως -1,05 V. Παράλληλα , στην περίπτωση του σογιέλαιου εμφανίζονται ένα εύρη δυναμικού που δεν υπάρχει στην αντίστοιχη μελέτη για το ηλιέλαιο. Πρόκειται για το εύρος -0,5 έως -0,3 V.

Προσεγγίζοντας τα αραβοσιτέλαια φαίνεται πως υπάρχουν συνολικά δυο εύρη δυναμικού τα οποία οριακά ταυτίζονται. Τα εύρη δυναμικού που αναφέρθηκαν είναι τα 0,25-0,4 Vκαι 0,35 - 0,55 V.



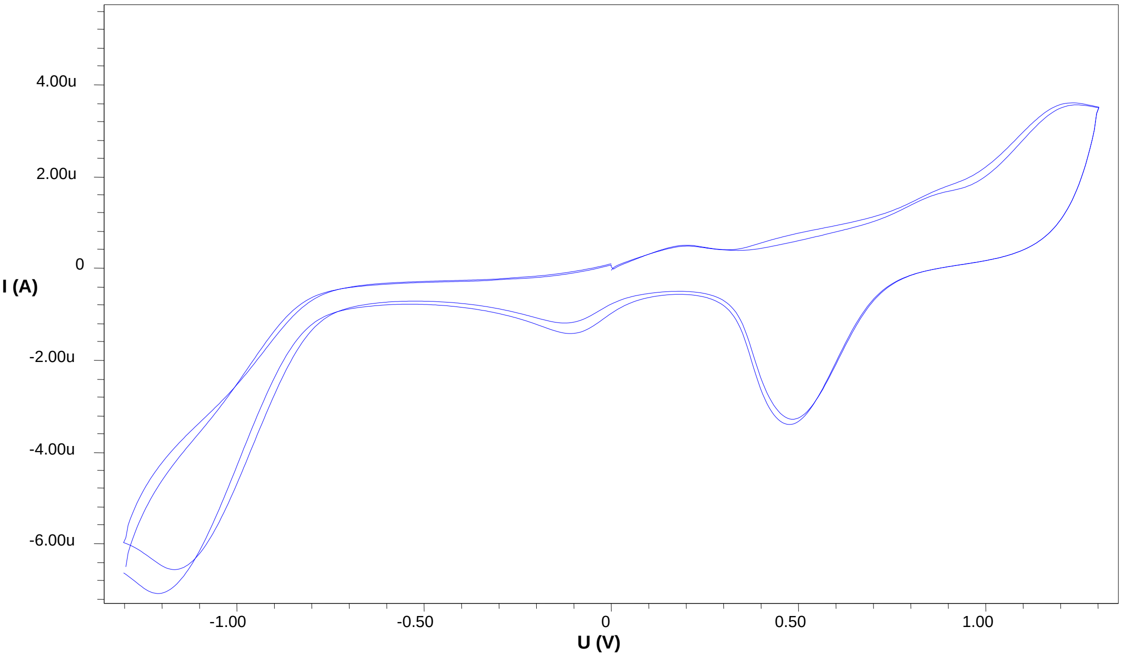
*Σχήμα 31: Βολταμμογράφημα Απλού Ελαιόλαδου με ηλεκτρόδιο χρυσού*

## Πυρηνέλαιο



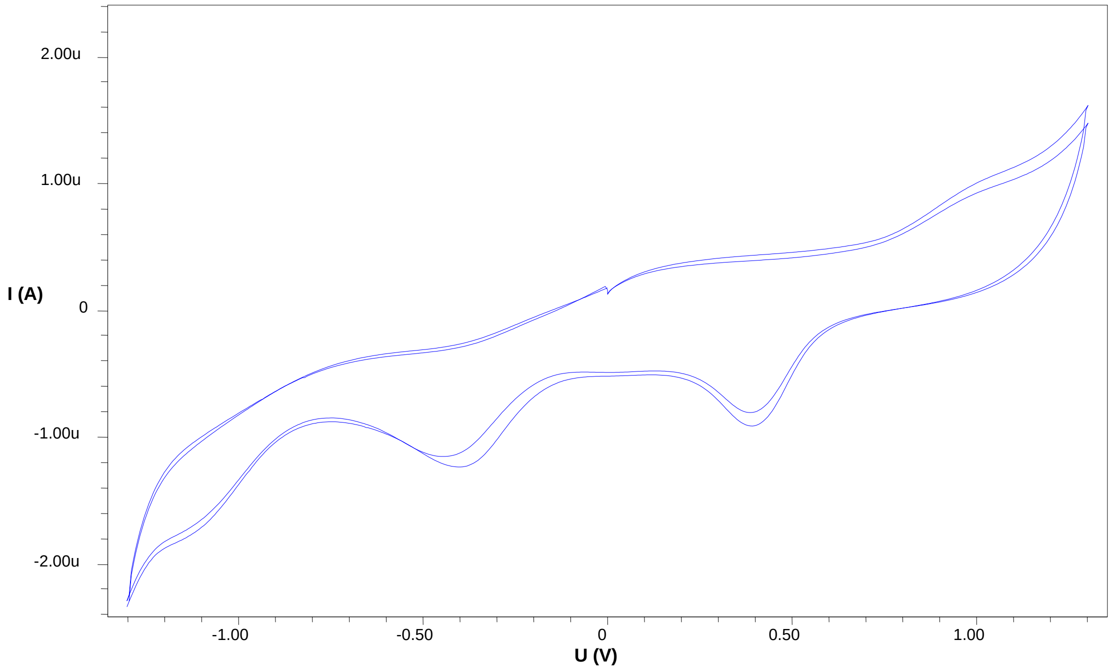

*Σχήμα 32: Βολταμμογράφημα Πυρηνέλαιου με ηλεκτρόδιο χρυσού*

## Ηλιέλαιο



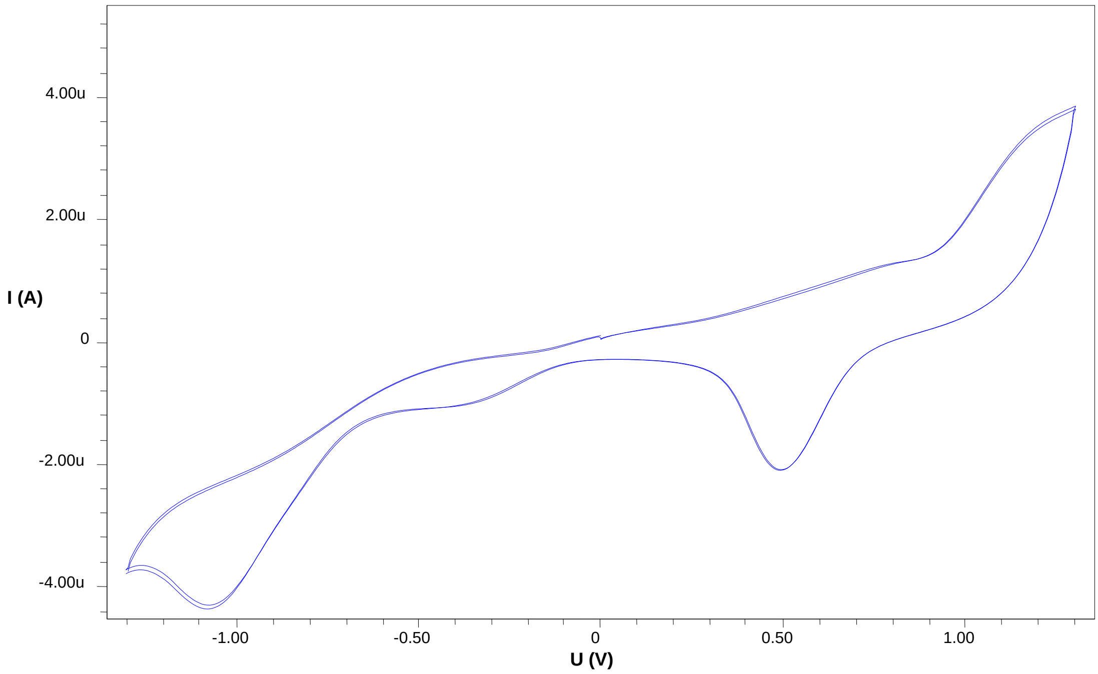

*Σχήμα 33: Βολταμμογράφημα Ηλιέλαιου με ηλεκτρόδιο χρυσού*

## Σογιέλαιο




*Σχήμα 34: Βολταμμογράφημα Σογιέλαιου με ηλεκτρόδιο χρυσού*

## Αραβοσιτέλαιο

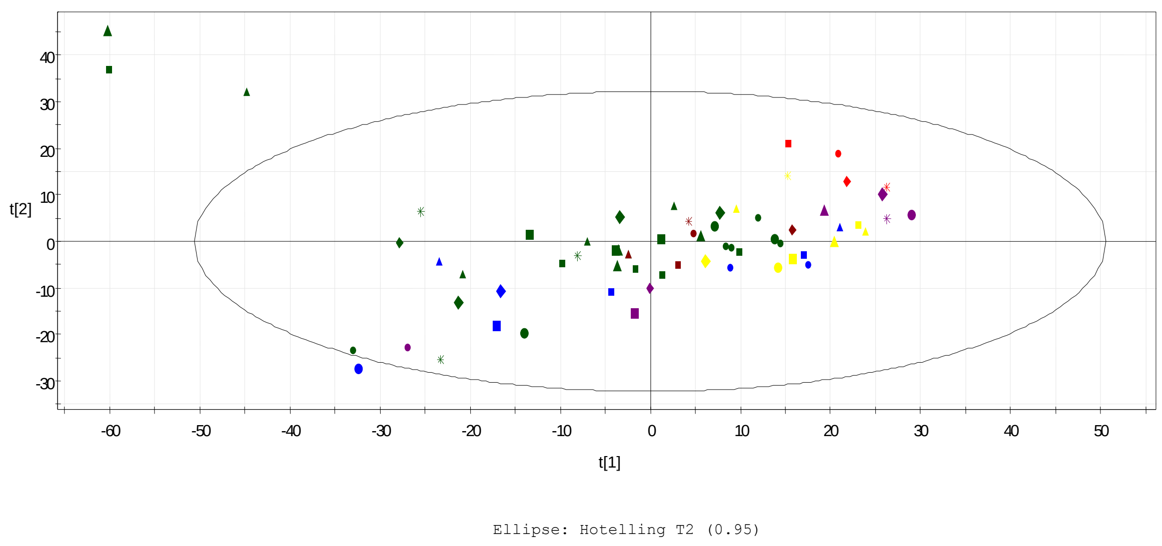



*Σχήμα 35: Βολταμμογράφημα Αραβοσιτέλαιου με ηλεκτρόδιο χρυσού*

Τα σημεία των κυκλικών βολταμμογραφημάτων από τις παραπάνω αναλύσεις υποβλήθηκαν σε πολυμεταβλητή ανάλυση, έτσι ώστε να γίνει κατάταξη των ελαίων ανάλογα με την φυτική τους προέλευση. Ο πίνακας των δεδομένων (data matrix) αποτελούταν από 66 γραμμές (εξεταζόμενα έλαια) και 877 στήλες (μέτρηση ρεύματος στην εκάστοτε τιμή τάσης).

### 5.4.1 Ανάλυση PCA

Στη συνέχεια πραγματοποιήθηκε ανάλυση PCA, η οποία οδήγησε σε μοντέλο με 12 κύριες συνιστώσες, με συνολικό συντελεστή συσχετίσεως $R^2$(cum)=0,993 και διασταυρωμένο συντελεστή συσχέτισης $Q^2$(cum)=0,978. Το διάγραμμα συντεταγμένων (scoresplot) που προκύπτει παρουσιάζεται στο σχήμα 36. Παρατηρείται ότι υπάρχει αρκετά μεγάλη διασπορά μεταξύ των ελαίων, ενώ στην περίπτωση που φαίνεται ότι τα έλαια είναι ''κοντά'' μεταξύ τους, στην περιοχή εκείνη ποικίλει η φυτική προέλευση του κάθε ελαίου. Αναμφίβολα θα ήταν πιο επιθυμητό και πολύ καλύτερο τα παρθένα ελαιόλαδα να είναι πιο συμπηκνωμένα μεταξύ τους. Παράλληλα, στο αριστερό μέρος του διάγραμματος φαίνεται πως τρία δείγματα ξεφεύγουν από τα υπόλοιπα. Το αξιοσημείωτο είναι πως τα δείγμα αυτά αποτελούν εξαιρετικά παρθένα ελαιόλαδα, νεότερης παραγωγής. Επίσης φαίνεται ότι δεν διαχωρίζονται τα σπορέλαια από τα πυρηνέλαια, καθώς παρουσιάζονται συμπτιγμένα στο μεγαλύτερο ποσοστό τους στο δεξί μέρος του διαγράμματος, ενώ δυστυχώς δενυπάρχει μερικός διαχωρισμός των μειγμάτων ελαιόλαδων με εξευγενισμένα ελαιόλαδα από τα παρθένα/εξαιρετικά παρθένα ελαιόλαδα.

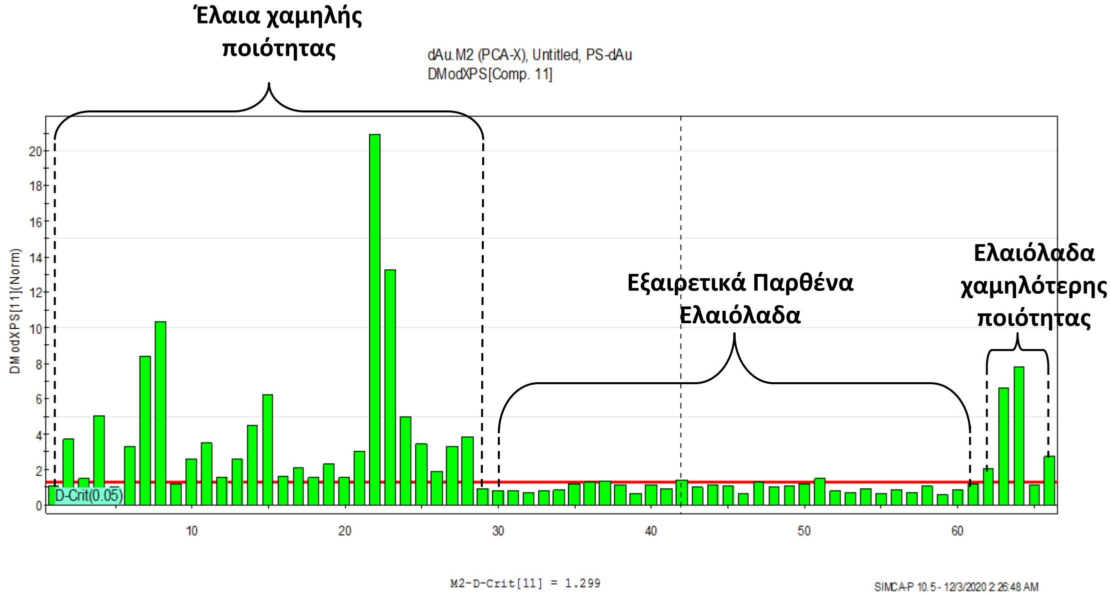


- Εξαιρετικά Παρθένα Ελαιόλαδα
- Αραβοσιτέλαια
- Ηλιέλαια
- Εξευγενισμένα Ελαιόλαδα
- Σογιέλαια
- Πυρηνέλαια

***Σχήμα 36:* Διάγραμμα συντεταγμένων της μεθόδου PCA για την ανάλυση των δειγμάτων και τον διαχωρισμό τους**

### 5.4.2 Class Modeling (Μοντελοποίηση Ταξινόμησης)

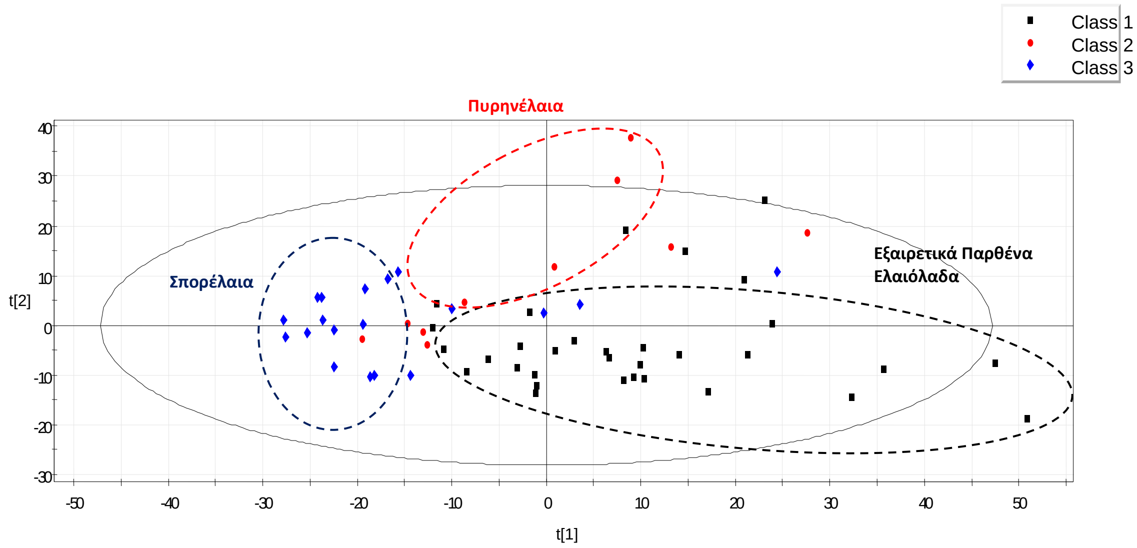
Μετά την ανάλυση PCA, διεξήχθη η ανάλυση ClassModeling. Στην περίπτωση αυτής της ανάλυσης τα δείγματα ταξινομούνται ανάλογα με την φυτική τους προέλευση. Η μέθοδος ακολουθεί μια συγκεκριμένη λογική. Η Μοντελοποίηση Ταξινόμησης χαρακτηρίζεται από δυο παράγοντες. Αρχικά ποσοτικά, δηλαδή από την ευαισθησία του μοντέλου που είναι ο αριθμός των γνήσιων (παρθένων) ελαιολάδων που ταξινομούνται κάτω από την κόκκινη γραμμή. ‘Υστερα, από την ειδικότητα που αποτελεί τον αριθμό των ελαίων χαμηλής ποιότητας ή των νοθευμένων ελαιολάδων. Τα έλαια αυτά υπερβαίνουν την κόκκινη γραμμή, οπότε απορρίπτονται από το μοντέλο. Για την ταξινόμηση λοιπόν, επιλέγονται όλα τα δείγματα των εξαιρετικά παρθένων ελαιόλαδων. Η ανάλυση οδήγησε σε μοντέλο με 11 κύριες συνιστώσες, με συνολικό συντελεστή συσχετίσεως $R^2$(cum)=0,996 και διασταυρωμένο συντελεστή συσχέτισης $Q^2$(cum)=0,981. Το διάγραμμα ταξινόμησης που προκύπτει ύστερα από την ανάλυσης παρουσιάζεται στην σχήμα 37. Όπως φαίνεται από το διάγραμμα κάθε κάθετη στήλη παράλληλα στον άξονα Υ συβολίζει κάθε δείγμα ελαίου. Στην προκειμένη περίπτωση φαίνεται πως από τα 32 συνολικά εξαιρετικά παρθένα ελαιόλαδα, μόνο τα 2 υπερβαίνουν την κόκκινη γραμμή, έστω και οριακά. Αυτό σημαίνει πως η ευαισθησία (αληθώς θετικά δείγματα) της μεθόδου είναι 30/32, δηλαδή 93,8%. Όσον αφορά τα έλαια χαμηλής ποιότητας (σπορέλαια), 4 από τα συνολικά 29 δεν υπερβαίνουν την κόκκινη γραμμή. Το γεγονός αυτό δείχνει πως η ειδικότητα της μεθόδου (αληθώς αρνητικά δείγματα) είναι 25/29 δείγματα ελαίων, δηλαδή 86,2%. Τέλος, στην περίπτωση των 5 απλών ελαιολάδων (ελαιόλαδα χαμηλότερης ποιότητας), τα 1 από αυτά ταξινομείται  ως εξαιρετικά παρθένο ελαιόλαδο, ενώ 4 από αυτά ταξινομούνται μαζί με τα πυρηνέλαια και τα σπορέλαια.




***Σχήμα 37: Διάγραμμα ταξινόμης με την μέθοδο Class Modeling για την ανάλυση των δειγμάτων***

## 5.4.3 Ανάλυση PLS-DA

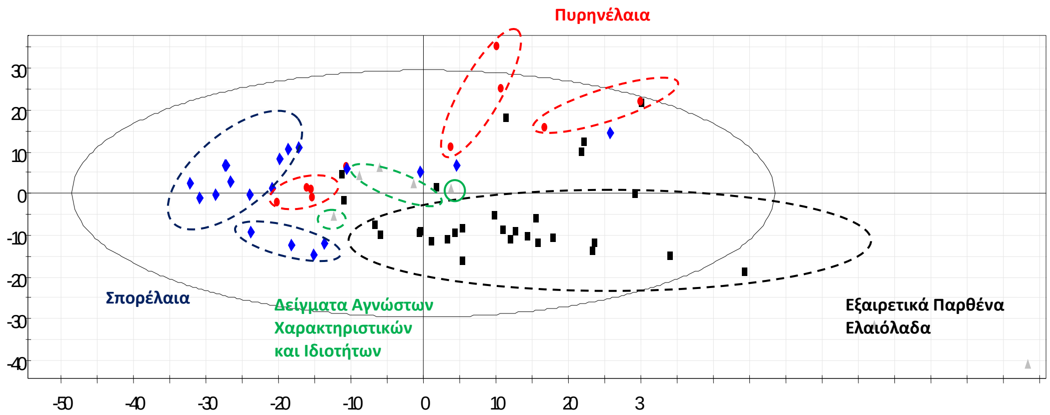
Στη συνέχεια ακολούθησε ανάλυση μέσω της μεθόδου PLS-DA όπου αρχικά ορίστηκαν 3 ομάδες (3 samplegroups). Πιο συγκεκριμένα, το μοντέλο αυτό προέκυψε με 5 κύριες συνιστώσες και $R^2X$(cum)=0,886, $R^2Y$(cum)=0,531 και $Q^2$(cum)= 0,364. Όπως φαίνεται και από το διάγραμμα συντεταγμένων στο σχήμα 38, έχει οριστεί ως Class 1 το σύνολο των εξαιρετικά παρθένων ελαιόλαδων, Class 2 αποτελεί όλα τα δείγματα των πυρηνέλαιων ενώ Class 3 είναι τα σογιέλαια, ηλιέλαια και αραβοσιτέλαια που χρησιμοποιήθηκαν. Ούτε σε αυτή την περίπτωση ανάλυσης δεν υπάρχει καλή διαφοροποίηση των εξαιρετικών παρθένωελαιόλαδων από τα υπόλοιπα έλαια (σπορέλαια, πυρηνέλαια) καθώς πολλά δείγματα του Class 1 βρίσκονται στην περιοχή των σπορέλαιων.




Ellipse: Hotelling T2 (0.95)

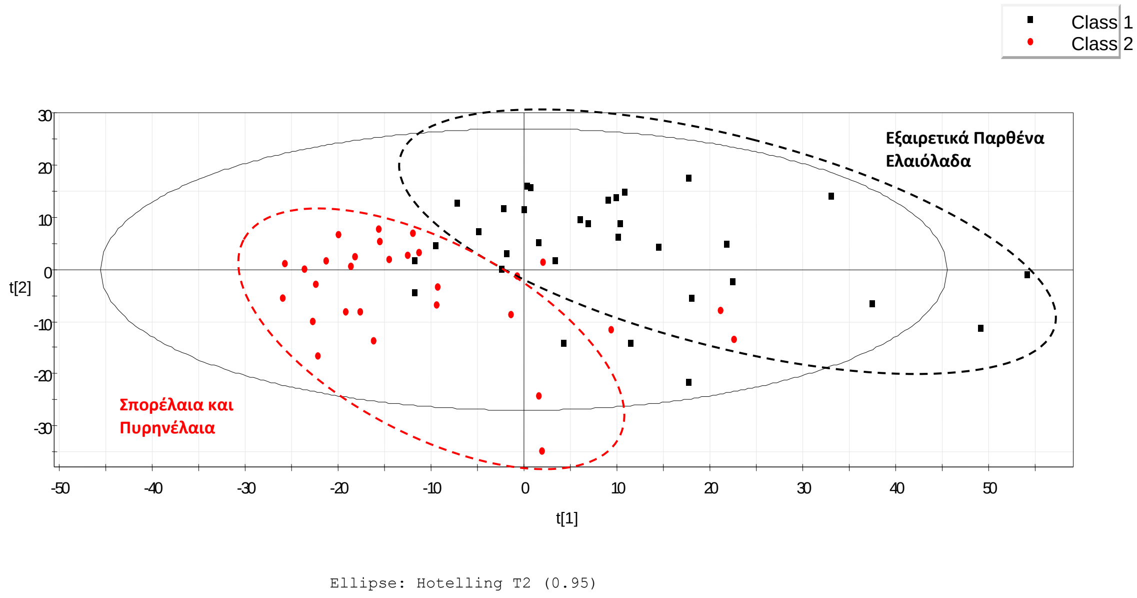
***Σχήμα 38: Διάγραμμα συντεταγμένων της μεθόδου PLS-DA (3 ομάδων) για την ανάλυση υδατικών εκχυλισμάτων με ηλεκτρόδιο χρυσού***

Εκτός αυτής της ανάλυσης και των δειγμάτων, έγινε μια ανάλυση πάλι με 3 ομάδες, όπου σε αυτή την περίπτωση χρησιμοποιήθηκαν άγνωστα δείγματα με σκοπό την ανίχνευση των χαρακτηριστικών και των στοιχείων τους. Όπως στην προηγούμενη ανάλυση, έτσι και σε αυτή χρησιμοποιούνται τα ίδια Classes ελαίων. Στο σχήμα 39 φαίνεται το διάγραμμα συντεταγμένων όπου με το γκρι χρώμα είναι τα άγνωστα δείγματα. Το μοντέλο που προκύπτει έχει 2 κύριες συνιστώσες και $R^2X$(cum)=0,64, $R^2Y$(cum)=0,397 και $Q^2$(cum)= 0,341. Όπως φαίνεται από την εικόνα,τα άγνωστα δείγματα δεν είναι ξεκάθαρο ποιες ιδότητες εμφανίζουν ώστε να τα χαρακτηρίσουμε ως προς το είδος τους.



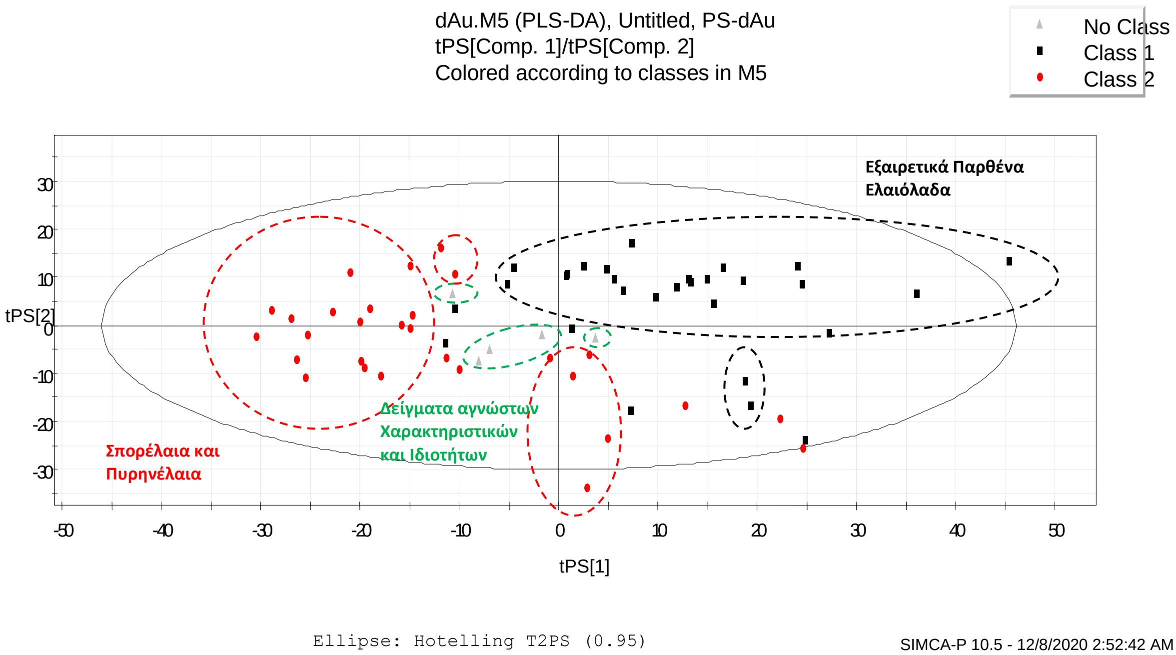

*Σχήμα 39: Διάγραμμα συντεταγμένων της μεθόδου PLS-DA (3 ομάδων) για την ανάλυση υδατικών εκχυλισμάτων αγνώστων ιδιοτήτων με ηλεκτρόδιο χρυσού*

Μετά την ανάλυση PLS-DA με 3 ομάδες ελαίων, διεξήχθη ανάλυση με 2 ομάδες. Προκύπτει μοντέλο με 3 κύριες συνιστώσες και τις τιμές $R^2X(cum)=0{,}649$, $R^2Y(cum)=0{,}677$ και $Q^2(cum)= 0{,}516$. Σε αυτή την περίπτωση δύο διαφορετικά είδη ελαίων έχουν καταταγεί σε 1 κοινό Class. Πιο συγκεκριμένα και σε αυτή την ανάλυση παραμένουν στο Class 1 μόνο τα εξαιρετικά παρθένα ελαιόλαδα ενώ στο Class 2 πλεόν συνυπάρχουν όλα τα σπορέλαια (ηλιέλαια, σογιέλαια, αραβοσιτέλαια) με τα πυρηνέλαια. Όπως φαίνεται από το σχήμα 40, δεν υπάρχει ξεκάθαρη διαφοροποίηση των εξαιρετικών παρθένων ελαιόλαδων από τα υπόλοιπα έλαια.




***Σχήμα 40: Διάγραμμα συντεταγμένων της μεθόδου PLS-DA (2 ομάδων) για την ανάλυση υδατικών εκχυλισμάτων με ηλεκτρόδιο χρυσού***

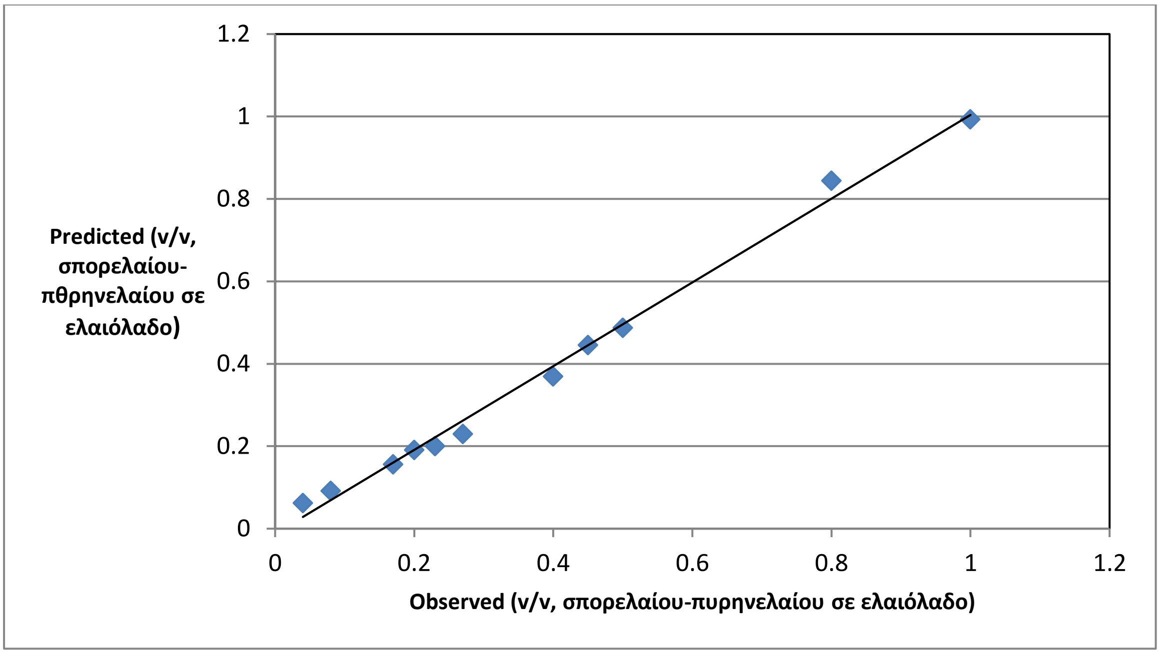
Όπως έγινε και στις προηγούμενες αναλύσεις, έτσι και σε αυτή πραγματοποιήθηκε ανίχνευση δειγμάτων αγνώστων χαρακτηριστικών και ιδιοτήτων. Στο σχήμα 41 φαίνεται το διάγραμμα συντεταγμένων όπου με το γκρι χρώμα είναι τα άγνωστα δείγματα. Το μοντέλο που προκύπτει έχει 3 κύριες συνιστώσες και $R^2X$(cum)=0,6954, $R^2Y$(cum)=0,731 και $Q^2$(cum)= 0,599. Όπως φαίνεται από την εικόνα, υπάρχουν 5 άγνωστα δείγματα για τα οποία δεν μπορούν να αναγνωριστούν οι ιδιοτητές τους και σε ποιο είδος ελαίων ανήκουν.




***Σχήμα 41: Διάγραμμα συντεταγμένων της μεθόδου PLS-DA (2 ομάδων) για την ανάλυση υδατικών εκχυλισμάτων αγνώστων ιδιοτήτων με ηλεκτρόδιο χρυσού***

## 5.4.4 PLS

Στη συνέχεια πραγματοποιήθηκε ανάλυση ελαχίστων τετραγώνων ώστε να ποσοτικοποιηθεί η νοθεία του ελαιόλαδου, από σπορέλαιο ή πυρηνέλαιο. Για την ανάλυση αυτή έγινε παρασκευή 11 νοθευμένων μειγμάτων. Το μείγμα των ελαιόλαδων αποτελούταν από 20 επιλεγμένα εξαιρετικά παρθένα ελαιόλαδα ενώ εκείνο των σπορέλαιων-πυρηνέλαιων περιείχε 7 σογιέλαια, 7 ηλιέλαια και 6 πυρηνέλαια. Τα δύο μείγματα αναμείχθηκαν και τα 11 νοθευμένα που προέκυψαν είχαν ποσοστά νοθείας τα οποία κυμαίνονταν από 0-100% (v/v). Τα σημεία από τα βολταμμογραφήματα που μελετήθηκαν είναι από -1,3 έως +1,3 V, για ανοδική και καθοδική σάρωση. Το μοντέλο που προέκυψε είναι δυοσυνιστώσεων, με τιμές $R^2$ = 0,989 και $Q^2$ = 0,919. Μέσω του υπολογισμού του RSD το οποίο βρέθηκε ότι 12,9%, υπολογίστηκε η τιμή του LOD (όριο ανιχνευσιμότητας): 2,2%. Το LOQ (όριο ποσοτικοποίησης) βρέθηκε να έχει τιμή 6,7%. Για τους υπολογισμούς χρησιμοποιήθηκε το λογισμικό του MicrosoftExcel. Στο σχήμα 42 παρουσίαζεται το μοντέλο που αναφέρθηκε. Στον πίνακα 13 παρουσιάζονται τα δεδομένα του μοντέλου και οι τιμές που προέκυψαν.




*Σχήμα 42: Διάγραμμα Predicted/Observed*

*Πίνακας 13: Δεδομένα της μεθόδου για ποσοστά νοθείας σε εξαιρετικά παρθένο ελαιόλαδο*

| Δείγμα | % Υπολογισμένη Νοθεία |
|---|---|
| 4% νοθεία | 6,2 ± 0,5% |
| 8% νοθεία | 9,1 ± 0,9% |
| 17% νοθεία | 15,6 ± 1,4% |
| 20% νοθεία | 19,1 ± 1,7% |
| 23% νοθεία | 20 ± 1,9% |
| 27% νοθεία | 23 ± 2,4% |
| 40% νοθεία | 36,9 ± 3,1% |
| 45% νοθεία | 44,5 ± 3,8% |
| 50% νοθεία | 48,7 ± 4,2% |
| 80% νοθεία | 84,4 ± 7,9% |
| 100% νοθεία | 99,3 ± 8,7% |

# Κεφάλαιο 6 «Σύγκριση Κυκλικής Βολταμμετρίας με υπάρχουσες μεθόδους»

Στις βιβλιογραφικές πηγές δεν αναφέρονται εκτενώς έρευνες οι οποίες χρησιμοποιούν ηλεκτροαναλυτικές μεθόδους για την μελέτη νοθείας στο ελαιόλαδο. Αρχικά, βρέθηκε έρευνα στην οποία αναπτύσσεται μέθοδος που ανιχνεύει τη νοθεία του ελαιλάδου από διάφορα σπορέλαια, όπως ηλιέλαιο, αραβοσιτέλαιο και σογιέλαιο. Η συγκεκριμένη μέθοδος έχει όριο ποσοτικοποίσης χαμηλότερο του 10% και όριο ανίχνευσης 2%, ενώ το εύρος κυμαίνεται στο διάστημα 2-25% [27]. Μια άλλη βιβλιογραφική πηγή αναφέρει έρευνα ή οποία ανέπτυξε μέθοδο για ανίχνευση της νοθείας του ελαιόλαδου από φουντουκέλαιο (hazelnutoil) με χρήση φασματομετρίας NMR. Η συγκεκριμένη μέθοδος υπολογίζει LOQ μικρότερο από 10%, μαζί με τα ποσοτικά σφάλματα [15]. Τέλος με εφαρμογή της μεθόδου διαφορικής θερμιδομετρίας σάρωσης (DSC), έγινε μελέτη της νοθείας του ελαιόλαδου με ηλιέλαιο στην οποία προκύπτει όριο ανίχνευσης 2-10% [20]. Με βάση τις μελέτες που προαναφέρθηκαν, η φιλική προς το περιβάλλον μέθοδος που αναπτύχθηκε στην παρούσα Διπλωματική Εργασία εμφανίζει αρκετά θετικά στοιχεία. Πρόκειται για μέθοδο που ασχολείται με την νοθεία του εξαιρετικά παρθένου ελαιόλαδου από μια μεγάλη ποικιλία σπορέλαιων και πυρηνέλαιων, ενώ παράλληλα δεν χρησιμοποιεί οργανικούς διαλύτες και διατηρεί ένα «πράσινο» και φιλικό προφίλ προς το περιβάλλον. Στα λιγότερο θετικά, θα ήταν πολύ σημαντικό να είχε μικρότερα όρια ανίχνευσης και ποσοτικοποίησης όπως οι προαναφερθείσες μέθοδοι.

## Συμπεράσματα

Η μέθοδος της κυκλικής βολταμμετρίας έδωσε μεγάλη ποικιλία αποτελεσμάτων. Αρχικά, αναλύοντας τα διαλύματα ελαίων με διαλύτη το νερό χρησιμοποιώντας ηλεκτρόδιο εργασίας υαλώδους άνθρακα, προέκυψαν μικρές διαφορές στα κυκλικά βολταγραφήματα τόσο μεταξύ των ελαιόλαδων και σπορέλαιων, όσο και μεταξύ των ελαιόλαδων με τα πυρηνέλαια. Κατά την χημειομετρική ανάλυση, υπάρχει σαφής διαφοροποίηση μεταξύ των ελαιόλαδων και των υπόλοιπων ελαίων (σπορέλαια και πυρηνέλαια) μέσω της μεθόδου PCA. Με την μέθοδο Class Modeling φαίνεται πως το μεγαλύτερο ποσοστό των δειγμάτων (28/32-87,5%) διαφοροποιούνται και παρουσιάζουν στοιχεία εξαιρετικά παρθένου ελαιόλαδου. Η ανάλυση PLS-DA έδωσε ξεκάθαρη διαφοροποίηση μεταξύ εξαιρετικά παρθένων ελαιόλαδων και των υπόλοιπων ελαίων, τόσο με ανάλυση δυο ομάδων όσο και με ανάλυση τριών ομάδων.

Η ίδια μέθοδος με χρήση ηλεκτροδίου εργασίας λευκόχρυσου έδωσε βολταμμογραφήματα, στα οποία φαίνεται διαφορά των ελαιόλαδων τόσο με τα σπορέλαια όσο και με τα πυρηνέλαια. Κατά την χημειομετρική επεξεργασία, προέκυψε ικανοποιητική διαφοροποίηση των ελαιόλαδων από τα υπόλοιπα έλαια μόνο κατά την ανάλυση PCA. Με την PLS-DA δεν προέκυψε καλή διαφοροποίηση μεταξύ των ελαίων, ενώ μέσω της μεθόδους Class Modeling υπάρχει ξανά μεγάλη διαφοροποίηση των εξαιρετικά παρθένων ελαιολάδων (28/32-87,5%). Με χρήση της τεχνικής μερικών ελαχίστων τετραγώνων (PLS) έγινε ανάπτυξη μοντέλου για τον ποσοτικό προσδιορισμό νοθείας ελαιόλαδου από μείγμα σπορέλαιου και πυρηνέλαιου. Βάσει αυτού προέκυψε όριο ανίχνευσης όριο ανιχνευσιμότητας 2,1% (v/v) και όριο ποσοτικοποίησης 6,3% (v/v).

Τέλος, πραγματοποιήθηκε η ίδια μέθοδος με χρήση ηλεκτροδίου εργασίας χρυσού που έδωσε βολταμμογραφήματα, στα οποία δεν παρατηρείται μεγάλη διαφορά μεταξύ των ελαιόλαδων με τα υπόλοιπα έλαια (σπορέλαια και πυρηνέλαια). Κατά την χημειομετρική επεξεργασία, δεν προκύπτει κάποια διαφοροποίηση σε καμία από τις μεθόδους ανάλυσης μεταξύ των ελαίων, με εξαίρεση την μέθοδο Class Modeling όπου ξανά υπάρχει μεγάλη διαφοροποίηση των ελαιολάδων (30/32-93,75%). Στη συνέχεια, μέσω της τεχνικής των μερικών ελαχίστων τετραγώνων (PLS) αναπτύχθηκε μοντέλο για τον ποσοτικό προσδιορισμό μείγματος σπορέλαιου και πυρηνέλαιου σε ελαιόλαδο. Από αυτή τη διαδικασία προέκυψε όριο ανιχνευσιμότητας 2,2% (v/v) και όριο ποσοτικοποίησης 6,7%

(v/v).

# Προτάσεις

Από την παρούσα διπλωματική εργασία μπορούν να προκύψουν αρκετές προοπτικές βελτίωσης και ανάπτυξης νεότερων βολταμμετρικών τεχνικών για την ανίχνευση και ποσοτικοποίησης της νοθείας στο ελαιόλαδο. Για την βελτίωση της βολταμμετρικής ανάλυσης των ελαίων, μπορεί να γίνει χρήση ιοντικών υγρών τα οποία αυξάνουν την αγωγιμότητα των ελαίων, αντί για το καθαρό νερό που χρησιμοποιείται ως διαλύτης. Βέβαια, τα ιοντικά υγρά αποτελούν και αυτά χημικά, ωστόσο χαρακτηρίζονται ως σαφώς περιβαλλοντικά φιλικότερα σε σχέση με άλλες μεθόδους που αναφέρονται στην βιβλιογραφία (π.χ. εκχυλίσεις με οξικό αιθυλεστέρα). Μια άλλη βελτίωση που θα μπορούσε να γίνει είναι η χρήση εκτυπωμένων ηλεκτροδίων πλέγματος (screen printed electrodes), μιας και δεν θα υπήρχε η πιθανότητα διάβρωσης της επικάλυψης των ηλεκτροδίων αυτών από τον υδατικό διαλύτη. Τα εκτυπωμένα ηλεκτρόδια πλέγματος συνδυάζονται με φορητούς ποτενσιοστάτες/γαλβανοστάτες που λειτουργούν με μπαταρίες και συνδέονται με φορητούς ηλεκτρονικούς υπολογιστές. Με αυτό τον τρόπο, θα μπορούσε να γίνει ανάπτυξη κινητών αναλυτικών διατάξεων για την διεξαγωγή επιτόπιων αναλύσεων σε συνθήκες πεδίου (field analysis), σε χώρους παραγωγής και διακίνησης ελαιόλαδου.

# Βιβλιογραφία


[1] Boskou Dr., D. (2011). Olive Oil. Στο*Vegetable Oils in Food Technology: Composition, Properties and Uses, Second Edition*. https://doi.org/10.1002/9781444339925.ch9

[2] Likudis, Z., Costarelli, V., Vitoratos, A., & Apostolopoulos, C. (2014). Determination of pesticide residues in olive oils with protected geographical indication or designation of origin. *International Journal of Food Science and Technology*, *49*(2), 484–492. https://doi.org/10.1111/ijfs.12326

[3] "Ελαιόλαδο: Το εθνικό μας προϊόν" [Ηλεκτρονικά]. Διαθέσιμο: https://www.cnn.gr/oikonomia/insights/story/66491/elaiolado-to-ethniko-mas-proion. [Πρόσβαση 18 Νοεμβρίου 2020].

[4] "GreatOliveOil" [Ηλεκτρονικά]. Διαθέσιμο: https://www.greatoliveoil.gr/portal/node/13. [Πρόσβαση 18 Νοεμβρίου 2020].

[5] Caramia, G., Gori, A., Valli, E., & Cerretani, L. (2012). Virgin olive oil in preventive medicine: From legend to epigenetics. *European Journal of Lipid Science and Technology*, *114*(4), 375–388. https://doi.org/10.1002/ejlt.201100164

[6] Attika, E. C. B. I. C. O. F. (2012). *ΚΛΑΔΙΚΗ ΜΕΛΕΤΗ ΕΛΑΙΟΛΑΔΟΥ – ΠΥΡΗΝΕΛΑΙΟΥ « ΣΥΝΟΠΤΙΚΗΣ ΑΝΑΦΟΡΑΣ ΣΤΗΝ ΑΓΟΡΑ ΤΩΝ ΕΠΙΤΡΑΠΕΖΙΩΝ ΕΛΙΩΝ »*.

[7] ''Παρθένα Ελαιόλαδα-Κανάκης Ορισμοί'' [Ηλεκτρονικά]. Διαθέσιμο: https://www.oliveoil-kanakis.gr/orismoi/?lang=el. [Πρόσβαση 2 Δεκεμβρίου 2020].

[8] ''HYDROGENATEDOLIVEOIL'' [Ηλεκτρονικά]. Διαθέσιμο: https://www.lesielle.com/int/en/hydrogenated-olive-oil-818. [Πρόσβαση 2 Δεκεμβρίου

2020]

[9] «ΚΑΝΟΝΙΣΜΟΣ (ΕΚ) αριθ. 1989/2003 ΤΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗΣ της 6ης Νοεμβρίου 2003 για τροποποίηση του κανονισμού (ΕΟΚ) αριθ. 2568/91 σχετικάμε τον προσδιορισμό των χαρακτηριστικών των ελαιόλαδων και των πυρηνέλαιων καθώς και με τις μεθόδους προσδιορισμού,» *ΕπίσημηΕφημερίδα της Ευρωπαϊκής Ένωσης,* τόμ. 295, pp. 57-77, 2003.

[10] Σ. Τζουβάρα - Καραγιάννη, ΣΥΣΤΑΣΗ, ΧΗΜΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ ΚΑΙ ΠΡΟΔΙΑΓΡΑΦΕΣ ΒΑΣΙΚΩΝ ΤΡΟΦΙΜΩΝ, 6η έκδοση, Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων, Τμήμα Χημείας, 1994.

[11] «Υπουργείο Αγροτικής Ανάπτυξης και Τροφίμων», [Ηλεκτρονικό]. Διαθέσιμο: http://www.minagric.gr/. [Πρόσβαση 4 Ιανουαρίου 2021].

[12] Kerkeni, L., Ruano, P., Delgado, L. L., Picco, S., Villegas, L., Tonelli, F., Merlo, M., Rigau, J., Diaz, D., & Masuelli, M. (2016). We are IntechOpen , the world ’ s leading publisher of Open Access books Built by scientists , for scientists TOP 1 %. *Intech*, *tourism*, 13. https://www.intechopen.com/books/advanced-biometric-technologies/liveness-detection-in-biometrics

[13] «ΕΛΓΟ ΔΗΜΗΤΡΑ», [Ηλεκτρονικό]. Διαθέσιμο: http://www.elgo.gr/. [Πρόσβαση 10 Δεκεμβρίου 2020].

[14] ''EU project OLEUM: Assuring the quality and authenticity of olive oil'', [Ηλεκτρονικό]. Διαθέσιμο: https://www.eufic.org/en/. [Πρόσβαση 11 Δεκεμβρίου2020].

[15] ''INTERNATIONAL OLIVE COUNCIL'', [Ηλεκτρονικό]. Διαθέσιμο: https://www.internationaloliveoil.org/about-ioc/mission-basic-text. [Πρόσβαση 11 Δεκεμβρίου 2020].

[16] ''Horizon 2020'', [Ηλεκτρονικό]. Διαθέσιμο: https://ec.europa.eu/programmes/horizon2020/en. [Πρόσβαση 15 Νοεμβρίου 2020].

[17] Gómez-Caravaca, A. M., Maggio, R. M., & Cerretani, L. (2016). Chemometric applications to assess quality and critical parameters of virgin and extra-virgin olive oil. A review. *Analytica Chimica Acta*, *913*, 1–21. https://doi.org/10.1016/j.aca.2016.01.025.

[18] COI: Conseil Oléicole International. (2013). *International Global Method for the Detection of extraneous oils in olive oils. T.20/Doc. No 25/Rev. 1., 2013*. *25*.

[19] M. Όξενκιουν - Πετροπούλου, Φασματομετρικές Μέθοδοι, Αθήνα: Εκδόσεις Συμμετρία, 2012.

[20] Mendes, T. O., da Rocha, R. A., Porto, B. L. S., de Oliveira, M. A. L., dos Anjos, V. de C., & Bell, M. J. V. (2015). Quantification of Extra-virgin Olive Oil Adulteration with Soybean Oil: a Comparative Study of NIR, MIR, and Raman Spectroscopy Associated with Chemometric Approaches. *Food Analytical Methods*, *8*(9), 2339–2346. https://doi.org/10.1007/s12161-015-0121-y.

[21] Van Wetten, I. A., Van Herwaarden, A. W., Splinter, R., Boerrigter-Eenling, R., & Van Ruth, S. M. (2015). Detection of sunflower oil in extra virgin olive oil by fast differential scanning calorimetry. *Thermochimica Acta*, *603*, 237–243. https://doi.org/10.1016/j.tca.2014.11.030.

[22] Pizarro, C., Rodríguez-Tecedor, S., Pérez-Del-Notario, N., Esteban-Díez, I., &González-Sáiz, J. M. (2013). Classification of Spanish extra virgin olive oils by data fusion of visible spectroscopic fingerprints and chemical descriptors. *Food Chemistry*, *138*(2–3), 915–922. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.11.087.

[23] Townshen, A. (1983). Principles of Instrumental Analysis. Στο*Analytica Chimica Acta* (τ. 152). https://doi.org/10.1016/s0003-2670(00)84936-3.

[24] Bagur-González, M. G., Pérez-Castaño, E., Sánchez-Viñas, M., & Gázquez-Evangelista, D. (2015). Using the liquid-chromatographic-fingerprint of sterols fraction to discriminate virgin olive from other edible oils. *Journal of Chromatography A*, *1380*, 64–70. https://doi.org/10.1016/j.chroma.2014.12.052.

[25] Srigley, C. T., Oles, C. J., Kia, A. R. F., & Mossoba, M. M. (2016). Authenticity Assessment of Extra Virgin Olive Oil: Evaluation of Desmethylsterols and Triterpene Dialcohols. *JAOCS, Journal of the American Oil Chemists' Society*, *93*(2), 171–181. https://doi.org/10.1007/s11746-015-2759-4.

[26] N. Finnerty, F. BOLGER and J. Lowry, "Process of electrochemically reducing an aromatic diazonium salt on a substrate and substrate obtained thereby". 26 June 2014.

[27] Bond, A. M., Compton, R. G., Fiedler, D. A., Inzelt, G., Kahlert, H., Lohse, H., Lovric, M., Lovric, S. K., Marken, F., Neudeck, A., Retter, U., Scholz, F., & Stojek, Z. (2009). *Electroanalytical Methods Guide to Experiments and Applications 2nd, revised and extended edition*.

[28] Sibel A. Ozkan, Electroanalytical Methods in Pharmaceutical Analysis and Their Validation, Ankara University, Ankara Turkey.

[29] Apetrei, I. M., & Apetrei, C. (2014). Detection of virgin olive oil adulteration using a voltammetric e-tongue. *Computers and Electronics in Agriculture*, *108*, 148–154. https://doi.org/10.1016/j.compag.2014.08.002.

[30] Bayne, C. K., & Haswell, S. J. (1995). Practical Guide to Chemometrics. Στο*Technometrics* (τ. 37, Τεύχος 2). https://doi.org/10.2307/1269627.

[31] Manly, B. F. J. (2004). Multivariate Statistical Methods. Στο*Multivariate Statistical Methods*. https://doi.org/10.1201/b16974.

[32] Christie, O. H. J. (1995). Introduction to multivariate methodology, an alternative way? *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems*, *29*(2), 177–188. https://doi.org/10.1016/0169-7439(95)80094-P.

[33] Lid, P. P., & Planning, S. (1993). *PRINCIPAL COMPONENTS ANALYSIS ( PCA )* Xln 1* (τ. 19, Τεύχος 3).

[34] Oliveri, P. (2017). Class-modelling in food analytical chemistry: Development, sampling, optimisation and validation issues – A tutorial. *Analytica Chimica Acta*, *982*, 9–19. https://doi.org/10.1016/j.aca.2017.05.013.

[35] Wold, S., Sjöström, M., & Eriksson, L. (2001). PLS-regression: A basic tool of chemometrics. *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems*, *58*(2), 109–130. https://doi.org/10.1016/S0169-7439(01)00155-1.

[36] ''SCHRÖDINGER - What is the meaning of increasing R-squared and Q-squared values with increasing number of PLS factors?'', [Ηλεκτρονικό]. Διαθέσιμο: https://www.schrodinger.com/kb/264. [Πρόσβαση 30 Οκτωβρίου 2020].

[37] Πέτρος Λ. Καρκαλούσος, Συμπληρωματικές Σημειώσεις για το μάθημα ''Διαπίστευση Βιοϊατρικών Εργαστηρίων'' - Επαλήθευση μεθόδων, υπολογισμός αβεβαιότητας, υπολογισμός τιμών αναφοράς, Σχολή Επαγγελμάτων Υγείας και Πρόνοιας Τμήμα Ιατρικών Εργαστηρίων.

[38] Oliveri, P., Baldo, M. A., Daniele, S., & Forina, M. (2009). Development of a voltammetric electronic tongue for discrimination of edible oils. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, *395*(4), 1135–1143. https://doi.org/10.1007/s00216-009-3070-8.