



ΕΘΝΙΚΟ ΜΕΤΣΟΒΙΟ ΠΟΛΥΤΕΧΝΕΙΟ

ΣΧΟΛΗ ΧΗΜΙΚΩΝ ΜΗΧΑΝΙΚΩΝ

ΤΟΜΕΑΣ Ι: ΧΗΜΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ

ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΑΝΟΡΓΑΝΗΣ ΚΑΙ ΑΝΑΛΥΤΙΚΗΣ ΧΗΜΕΙΑΣ

**Ανάπτυξη και αξιολόγηση
βολταμετρικής τεχνικής ταυτοποίησης
και ποσοτικοποίησης νοθείας λευκού
οίνου με χυμό μήλου και μηλίτη**

ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ



Όνοματεπώνυμο: Μαρία Λιβέρη

Αριθμός Μητρώου: 05116014

Επιβλέπων: Φώτιος Τσόπελας, Επίκουρος καθηγητής Ε.Μ.Π.

Πρόλογος

Η παρούσα διπλωματική εργασία πραγματοποιήθηκε στη σχολή Χημικών Μηχανικών του Εθνικού Μετσόβιου Πολυτεχνείου από τον Νοέμβριο του 2020 έως τον Ιούνιο του 2021. Το πειραματικό μέρος εκτελέστηκε στο Εργαστήριο Ανόργανης και Αναλυτικής Χημείας του τομέα (1) της σχολής. Η ανάθεση και η επίβλεψη της παρούσας διπλωματικής εργασίας έγινε από τον κύριο Φώτιο Τσόπελα, Επίκουρο Καθηγητή της σχολής Χημικών Μηχανικών του ΕΜΠ.

Η διεξαγωγή της παρούσας εργασίας δεν θα ήταν εφικτή χωρίς τη συμβολή κάποιων ανθρώπων τους οποίους θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά. Αρχικά, θα ήθελα να εκφράσω την ευγνωμοσύνη μου στον κύριο Φώτιο Τσόπελα, που ήταν και ο επιβλέπων μου σε αυτήν την εργασία, για την ευκαιρία που μου έδωσε να εργαστώ μαζί του καθώς και για την συνολική καθοδήγηση που μου παρείχε από την αρχή έως το τέλος της παρούσας διπλωματικής εργασίας. Επιπλέον, θα ήθελα να ευχαριστήσω την κυρία Λαμπρινή-Αρετή Τσακανίκα για τη βοήθεια της καθ' όλη τη διάρκεια του πειραματικού μέρους της εργασίας καθώς και τον φοιτητή Σωτήριο Καλαμιώτη που με τη βοήθεια του με κατατόπισε πλήρως για τα σκεύη και τις συσκευές που χρειάστηκαν κατά τη διάρκεια του πειράματος.

Επιπλέον, θα ήθελα να ευχαριστήσω όλους τους συναδέλφους φοιτητές που μοιραστήκαμε από κοινού αυτό το χρονικό διάστημα το βασικό όργανο μέτρησης της κυκλικής βολταμμετρίας που διαθέτει το εν λόγω εργαστήριο, με τους οποίους υπήρξε μια καλή οργάνωση και συνεργασία έτσι ώστε να μπορέσουμε όλοι να διεκπεραιώσουμε με επιτυχία το πειραματικό μέρος της διπλωματικής που μας είχε ανατεθεί. Τέλος, τίποτα από τα παραπάνω δε θα ήταν δυνατό χωρίς την υποστήριξη από την οικογένειά μου αλλά και από τους κοντινούς μου φίλους. Ευχαριστώ, λοιπόν, όλα τα κοντινά μου άτομα, που μου συμπαραστάθηκαν καθ' όλη τη διάρκεια των σπουδών μου.

Περίληψη

Κατά την παρούσα διπλωματική εργασία μελετήθηκε η δυνατότητα ανάπτυξης αναλυτικής μεθόδου ταυτοποίησης και ποσοτικοποίησης νοθείας σε δείγματα λευκού κρασιού με χυμό μήλου και μηλίτη με βάση την μέθοδο της κυκλικής βολταμμετρίας. Για το σκοπό αυτό, συλλέχθηκαν από την ελληνική αγορά ένας μεγάλος αριθμός οίνων ελληνικής παραγωγής από όλη την επικράτεια καθώς και αρκετά δείγματα από τις πιο γνωστές νοθείες του λευκού κρασιού. Αρχικά, πραγματοποιήθηκε βελτιστοποίηση των βολταμμετρικών συνθηκών του πειράματος χρησιμοποιώντας 8 διαφορετικά ηλεκτρόδια και διερευνήθηκαν 5 μέθοδοι προκατεργασίας. Από αυτήν την διαδικασία αναπτύχθηκαν δύο μέθοδοι στις οποίες τα βολταμμογραφήματα του κρασιού και των μέσων νοθείας του εμφανίζουν σημαντικές διαφορές οι οποίες είναι 1) η προκατεργασία του κάθε δείγματος με εκχύλιση με διχλωρομεθάνιο και η ανάλυση της οργανικής στοιβάδας με κυκλική βολταμμετρία σε ηλεκτρόδιο εργασίας λευκόχρυσου μετά την προσθήκη αιθανολικού διαλύματος ηλεκτρολύτη LiClO_4 και 2) η απευθείας ανάλυση με κυκλική βολταμμετρία με χρήση εκτυπωμένου ηλεκτροδίου πλέγματος (screen printed) ηλεκτροδίου DRP-110CNT-GNP και προσθήκη μικρής ποσότητας ηλεκτρολύτη LiClO_4 . Στη συνέχεια, για την κατηγοριοποίηση των δειγμάτων τα δεδομένα που εξάχθηκαν υποβλήθηκαν σε πολυμεταβλητή/ χημειομετρική ανάλυση με τις μεθόδους της ανάλυσης κύριων συνιστωσών (PCA) και τη μοντελοποίηση μιας κλάσης (Class modelling). Τα αποτελέσματα έδειξαν πως η χρήση της 2ης μεθόδου όπως αυτή αναφέρεται παραπάνω οδηγεί σε καλύτερη κατάταξη και διαχωρισμό των οίνων από τους χυμούς και τους μηλίτες. Τέλος, πραγματοποιήθηκε ποσοτικοποίηση της νοθείας οίνου ξεχωριστά με χυμό μήλου και μηλίτη σε όλα τα δυναμικά (από -1 έως 1 V) αλλά και σε επιλεγμένα δυναμικά στα οποία εμφανίζονται οι μέγιστες διαφορές στα βολταμμετρικά προφίλ. Έτσι, χρησιμοποιήθηκαν μείγματα λευκού κρασιού και των δύο μέσων νοθείας και τα λαμβανόμενα δεδομένα από τα βολταμμογραφήματα επεξεργάστηκαν με την μέθοδο των μερικών ελαχίστων τετραγώνων (PLS). Τα όρια ανίχνευσης προέκυψαν ίσα με 3,6% (όλα τα δυναμικά), 3,5% (επιλεγμένα δυναμικά) για τον χυμό με την χρήση της 1ης μεθόδου ενώ για την 2η μέθοδο τα όρια ανίχνευσης ήταν υψηλότερα και ίσα με 7,5% (όλα), 6,8% (επιλεγμένα) για τον χυμό και ίσα με 7,8% (όλα), 6,3% (επιλεγμένα) για τον μηλίτη. Τα όρια ανίχνευσης είναι συγκρίσιμα με αντίστοιχες μεθόδους που εμφανίζονται στην βιβλιογραφία και σε συνδυασμό με το χαμηλό κόστος της βολταμμετρίας καθιστά τις δύο επιλεγμένες μεθόδους κατάλληλες για αναλύσεις νοθείας λευκού οίνου. Περαιτέρω έρευνα μπορεί να οδηγήσει σε περαιτέρω μείωση του LOD, σε χρήση εναλλακτικών μεθόδων προκατεργασίας οι οποίες ενδεχομένως να είναι και πιο φιλικές στο περιβάλλον, σε ακριβή ταυτοποίηση του είδους του μέσου νοθείας που έχει χρησιμοποιηθεί αλλά και της γεωγραφικής προέλευσης του οίνου και ενδεχομένως, στην ανάπτυξη κινητής αναλυτικής διάταξης για την διεξαγωγή επιτόπιων αναλύσεων.

Λέξεις κλειδιά

Λευκό κρασί, χυμός μήλου, μηλίτης, νοθεία, κυκλική βολταμμετρία, ηλεκτρόδια, ηλεκτρολύτης, χημειομετρία, ποσοτικοποίηση.

Abstract

In the present Diploma thesis, the possibility of developing an analytical approach for the detection and quantification of adulteration of white wine with apple juice and cider was investigated based on cyclic voltammetry. For this purpose, Greek wines, produced from different grape varieties and geographical origins, juices and ciders were collected by local markets. First of all, an optimization in voltammetric conditions was accomplished by using 8 different electrodes, followed by an investigation of 5 pre-treatment methods. Two approaches were developed in which the voltammograms of wine, juice and cider show significant differences. These methods are 1) the extraction of each sample with dichloromethane and analysis of organic phase by cyclic voltammetry on a platinum electrode after addition of LiClO₄/EtOH as electrolyte and 2) the direct analysis with cyclic voltammetry on a screen-printed electrode (DRP-110CNT-GNP) after addition of a small amount of electrolyte. To classify the samples, the exported data were subjected to multivariate/chemometric analysis using Principal Component Analysis (PCA) and Class modelling. The results showed that the application of the 2nd method offers a better classification and separation of wines from juices and ciders. Finally, the quantification of adulteration in wine was carried out separately with apple juice and cider in all dynamics (from -1 to 1 V) as well as in selected dynamics, in which the maximum differences in voltammetric profiles are appeared. Therefore, data points collected from voltammograms of mixtures of white wines, juices and ciders were submitted to Partial Least Squares (PLS) Analysis. The limit of detection was equal to 3,6% (using datapoints measured on all potentials), 3,5% (using datapoints measured on selected potentials) for juice with the use of the 1st method. Respectively, from the 2nd method LOD was greater and equal to 7,5% (all), 6,8% (selected) for juice and equal to 7,8% (all) , 6,3% (selected) for cider. The comparison of LOD values with corresponding analytical approaches reported in the literature, combined with low voltametric cost, concludes that those methods are suitable for white wine fraud analyses. Further research may lead to an additional reduction in LOD, an utilization of alternative pre-treatment methods which can also be more environmentally friendly, an accurate identification not only of possible wine additives but also of the geographical origin of the wine and a development of portable devices to perform field analysis.

Key words

White wine, apple juice, cider, adulteration, fraud, cyclic voltammetry, electrodes, electrolyte, chemometrics, quantification.

Περιεχόμενα

Πρόλογος.....	i
Περίληψη	ii
Λέξεις κλειδιά.....	ii
Abstract.....	iii
Key words	iii
Ευρετήριο εικόνων.....	vi
Ευρετήριο πινάκων	vi
Ευρετήριο γραφημάτων	vii
Κατάλογος συντομογραφιών.....	ix
1. Θεωρητικό μέρος.....	10
1.1. Νοθεία τροφίμων.....	10
1.2. Κρασί.....	11
1.2.1. Γενικά	12
1.2.2. Ιστορικά στοιχεία	13
1.2.3. Προϊόντα Π.Ο.Π. και Π.Γ.Ε.	14
1.2.4. Παραγωγική διαδικασία	19
1.2.5. Αλκοολική ζύμωση κρασιού	20
1.2.6. Κύρια συστατικά κρασιού	22
1.2.7. Ποικιλίες λευκού κρασιού	25
1.3. Νοθεία κρασιού.....	27
1.4. Γενικές πληροφορίες χυμού μήλου και μηλίτη.....	28
1.4.1. Χυμός μήλου	28
1.4.2. Μηλίτης	30
1.5. Βολταμμετρία.....	31
1.5.1. Γενικά	32
1.5.2. Ηλεκτρολυτικό λουτρό	34
1.5.3. Ηλεκτρόδια	35
1.5.4. Κυκλική βολταμμετρία.....	38
1.6. Χημειομετρία	40
1.6.1. Ανάλυση κύριων συνιστωσών (PCA)	41
1.6.2. Μοντελοποίηση μιας κλάσης (Class modelling).....	43
1.6.3. Ανάλυση μερικών ελαχίστων τετραγώνων (PLS).....	44
2. Πειραματικό μέρος	45
2.1. Σχεδιασμός πειραματικής διαδικασίας.....	45

2.2.	Υλικά και μέθοδοι	47
2.2.1.	Συλλογή δειγμάτων κρασιού, χυμού μήλου και μηλίτη	47
2.2.2.	Αντιδραστήρια	51
2.2.3.	Αναλύσεις δειγμάτων	52
2.2.4.	Βοηθητικός εξοπλισμός	54
2.2.4.1.	Συσκευές-Όργανα	54
2.2.4.2.	Ηλεκτρόδια εργασίας	56
2.2.5.	Προκατεργασία δειγμάτων	58
2.2.6.	Διαδικασία ανάλυσης ελαχίστων τετραγώνων	60
2.2.7.	Υπολογιστικά εργαλεία	61
3.	Αποτελέσματα	62
3.1.	Βελτιστοποίηση παραμέτρων και επιλογή προετοιμασίας δειγμάτων	62
3.1.1.	Δοκιμή χωρίς ηλεκτρολύτη και προκατεργασία	62
3.1.2.	Δοκιμή με ηλεκτρολύτη υπερχλωρικό λίθιο	63
3.1.3.	Δοκιμή με ηλεκτρολύτη υδατικό διάλυμα χλωριούχου καλίου	65
3.1.4.	Δοκιμή (1) με προκατεργασία	68
3.1.5.	Δοκιμή (2) με προκατεργασία	70
3.2.	Επιλεγμένες μέθοδοι εύρεσης νοθείας κρασιού	71
3.3.	Χημειομετρία	73
3.3.1.	Ανάλυση δειγμάτων κρασιού, χυμού και μηλίτη με ηλεκτρόδιο εργασίας λευκόχρυσο και προκατεργασία με διχλωρομεθάνιο	73
3.3.1.1.	PCA	80
3.3.1.2.	Class modelling	81
3.3.1.3.	PLS	83
3.3.2.	Ανάλυση δειγμάτων κρασιού, χυμού και μηλίτη με ηλεκτρόδιο εργασίας εκτυπωμένο άνθρακα χωρίς προκατεργασία	86
3.3.2.1.	PCA	89
3.3.2.2.	Class modelling	90
3.3.2.3.	PLS	92
3.4.	Πειραματικές αστοχίες	94
3.5.	Σύγκριση μεταξύ των δύο μεθόδων	96
3.6.	Σύγκριση με υπάρχουσες μεθόδους	97
4.	Συμπεράσματα	99
5.	Προτάσεις	100
	Βιβλιογραφία	101

Ευρετήριο εικόνων

Εικόνα 1: Διαφορετικά είδη κρασιού	12
Εικόνα 2: Σήματα για τα προϊόντα Π.Ο.Π και Π.Γ.Ε.	14
Εικόνα 3: Παραγωγική διαδικασία οινοποίησης	20
Εικόνα 4: Αλκοολική ζύμωση κρασιού	21
Εικόνα 5: Βιομηχανική αλκοολική ζύμωση κρασιού	21
Εικόνα 6: Πορεία οξείδωσης φαινολών του οίνου	24
Εικόνα 7: Διαφορές μεταξύ των ποικιλιών σταφυλιών	25
Εικόνα 8: Νοθεία κρασιού με αλλαγή ετικέτας	27
Εικόνα 9: Χυμός μήλου	28
Εικόνα 10: Μηλίτης	30
Εικόνα 11: Ενδεικτικό βολταμμογράφημα	33
Εικόνα 12: Τυπική διάταξη βολταμμετρίας	35
Εικόνα 13: Διάγραμμα ροής βολταμμετρίας με χρήση τριών ηλεκτροδίων.....	36
Εικόνα 14: Εικονική σύγκριση μεταξύ κελιών δύο και τριών ηλεκτροδίων.....	36
Εικόνα 15: Παραδείγματα ηλεκτροδίου υδραργύρου (αιωρούμενης σταγόνας, σταγονικό ηλεκτρόδιο και στατικό σταγονικό ηλεκτρόδιο).....	37
Εικόνα 16: Διάγραμμα τριγωνικής μεταβολής του δυναμικού στο ηλεκτρόδιο εργασίας	38
Εικόνα 17: Κυκλικό βολταμμογράφημα αντιστρεπτής ηλεκτροχημικής αντίδρασης σε φέροντα ηλεκτρολύτη	39
Εικόνα 18: Κυκλικό βολταμμογράφημα πολλών ηλεκτρενεργών ουσιών	40
Εικόνα 19: Ενδεικτικό διάγραμμα PCA	42
Εικόνα 20: Ενδεικτικό διάγραμμα class modelling	43
Εικόνα 21: Ενδεικτικό διάγραμμα PLS	44
Εικόνα 22: Σχεδιασμός πειραματικής διαδικασίας.....	46
Εικόνα 23: Εικονική αναπαράσταση περιοχών δειγματοληψίας.....	50
Εικόνα 24: Ποτενσιοστάτης 797 VA Computrace	52
Εικόνα 25: Μέρος συσκευής για το ηλεκτρόδιο εργασίας	53
Εικόνα 26: Ποτενσιοστάτης της εταιρείας Metrohm PGSTAT101	54
Εικόνα 27: Ζυγός της εταιρείας Ohaus Pioneer με ονομασία PX Series Analytical Balances	54
Εικόνα 28: Θερμαινόμενη πλάκα με ανάδευση της εταιρείας Heidolph.....	55
Εικόνα 29: Ηλεκτρόδια screen printed Metrohm	56
Εικόνα 30: Ηλεκτρόδιο screen printed ΕΚΠΑ	56
Εικόνα 31: Ηλεκτρόδιο γραφίτη	57
Εικόνα 32: Διάταξη για screen-printed ηλεκτρόδια	58
Εικόνα 33: Διάταξη για αυτοσχέδιο ηλεκτρόδιο γραφίτη	58

Ευρετήριο πινάκων

Πίνακας 1: Νοθείες τροφίμων και τεχνικές ανίχνευσης	11
Πίνακας 2: Περιεκτικότητα των κρασιών σε φαινολικά συστατικά.....	24
Πίνακας 3: Επιλογή διαλύτη/Ηλεκτρολύτη με δεδομένο εύρος.....	34
Πίνακας 4: Κρασιά που συλλέχθηκαν και αναλύθηκαν	47
Πίνακας 5: Επιλεγμένα δείγματα χυμού μήλου	50

Πίνακας 6: Επιλεγμένα δείγματα μηλίτη	51
Πίνακας 7: Αντιδραστήρια και σκοπός χρήσης τους στο πειραματικό μέρος.....	52
Πίνακας 8: Συγκεντρωτικός πίνακας αποτελεσμάτων βελτιστοποίησης	71
Πίνακας 9: Επικύρωση της μεθόδου με το ηλεκτρόδιο λευκόχρυσου (Pt) για νοθεία με χυμό μήλου.....	85
Πίνακας 10: Επικύρωση της μεθόδου με το SPE για τη νοθεία με χυμό μήλου	93
Πίνακας 11: Επικύρωση της μεθόδου με το SPE για τη νοθεία με μηλίτη	94
Πίνακας 12: Συγκεντρωτικός πίνακας αποτελεσμάτων χημειομετρίας.....	96

Ευρετήριο γραφημάτων

Γράφημα 1: Βολταμμογράφημα K-1 με ηλεκτρόδιο C (ΕΚΠΑ)	62
Γράφημα 2: Βολταμμογράφημα X-3 με ηλεκτρόδιο C (ΕΚΠΑ)	62
Γράφημα 3: Βολταμμογράφημα K-1 με ηλεκτρόδιο πλατίνας.....	63
Γράφημα 4: Βολταμμογράφημα X-3 με ηλεκτρόδιο πλατίνας.....	63
Γράφημα 5: Βολταμμογράφημα K-1 με ηλεκτρόδιο boron doped και LiClO ₄	64
Γράφημα 6: Βολταμμογράφημα X-3 με ηλεκτρόδιο boron doped και LiClO ₄	64
Γράφημα 7: Βολταμμογράφημα K-1 με ηλεκτρόδιο DRP-110CNT και LiClO ₄	64
Γράφημα 8: Βολταμμογράφημα X-3 με ηλεκτρόδιο DRP-110CNT και LiClO ₄	64
Γράφημα 9: Βολταμμογράφημα K-4 με ηλεκτρόδιο DRP-110CNT και LiClO ₄	65
Γράφημα 10: Βολταμμογράφημα M-2 με ηλεκτρόδιο DRP-110CNT και LiClO ₄	65
Γράφημα 11: Βολταμμογράφημα KCl με ηλεκτρόδιο πλατίνας (CV)	66
Γράφημα 12: Βολταμμογράφημα KCl και K-1 με ηλεκτρόδιο πλατίνας (CV).....	66
Γράφημα 13: Βολταμμογράφημα KCl με ηλεκτρόδιο πλατίνας (DP).....	66
Γράφημα 14: Βολταμμογράφημα KCl και K-1 με ηλεκτρόδιο πλατίνας (DP).....	66
Γράφημα 15: Βολταμμογράφημα KCl με K-1 με ηλεκτρόδιο υαλώδους C (CV)	67
Γράφημα 16: Βολταμμογράφημα KCl με X-3 με ηλεκτρόδιο υαλώδους C (CV)	67
Γράφημα 17: Βολταμμογράφημα KCl με K-1 με ηλεκτρόδιο υαλώδους C (DP).....	67
Γράφημα 18: Βολταμμογράφημα KCl με X-3 με ηλεκτρόδιο υαλώδους C (DP).....	67
Γράφημα 19: Βολταμμογράφημα KCl με K-1 με ηλεκτρόδιο χρυσού (CV)	68
Γράφημα 20: Βολταμμογράφημα KCl με X-3 με ηλεκτρόδιο χρυσού (CV)	68
Γράφημα 21: Βολταμμογράφημα K-1 με ηλεκτρόδιο πλατίνας με προκατ. (1)	69
Γράφημα 22: Βολταμμογράφημα X-3 με ηλεκτρόδιο πλατίνας με προκατ. (1)	69
Γράφημα 23: Βολταμμογράφημα K-4 με ηλεκτρόδιο πλατίνας με προκατ. (1)	69
Γράφημα 24: Βολταμμογράφημα M-2 με ηλεκτρόδιο πλατίνας με προκατ. (1).....	69
Γράφημα 25: Βολταμμογράφημα K-2 με ηλεκτρόδιο πλατίνας με προκατ. (1)	69
Γράφημα 26: Βολταμμογράφημα K-3 με ηλεκτρόδιο πλατίνας με προκατ. (1)	69
Γράφημα 27: Βολταμμογράφημα K-1 με ηλεκτρόδιο χρυσού με προκατ. (2).....	70
Γράφημα 28: Βολταμμογράφημα X-3 με ηλεκτρόδιο χρυσού με προκατ. (2).....	70
Γράφημα 29: Βολταμμογράφημα K-4 με ηλεκτρόδιο χρυσού με προκατ. (2).....	70
Γράφημα 30: Βολταμμογράφημα M-2 με ηλεκτρόδιο χρυσού με προκατ. (2)	70
Γράφημα 31: Διάγραμμα για τα επιλεγμένα κρασιά με ηλεκτρόδιο πλατίνας	74
Γράφημα 32: Διάγραμμα για τη σύγκριση μεταξύ διαφορετικών ποικιλιών οίνου.....	75
Γράφημα 33: Διάγραμμα για τη επίδραση της γεωγραφικής προέλευσης οίνου	75
Γράφημα 34: Διάγραμμα για το δείγμα K-5 με ηλεκτρόδιο πλατίνας.....	76
Γράφημα 35: Διάγραμμα για το δείγμα X-2 με ηλεκτρόδιο πλατίνας.....	77

Γράφημα 36: Διάγραμμα για το δείγμα M-3 με ηλεκτρόδιο πλατίνας.....	78
Γράφημα 37: Διάγραμμα για τα επιλεγμένα δείγματα με ηλεκτρόδιο πλατίνας σε όλα τα δυναμικά (-1 έως 1 V).....	79
Γράφημα 38: Διάγραμμα για τα επιλεγμένα δείγματα με ηλεκτρόδιο πλατίνας για τα επιλεγμένα δυναμικά (-1 έως 0 V).....	79
Γράφημα 39: Διάγραμμα PCA σε όλα τα δυναμικά (Pt).....	80
Γράφημα 40: Διάγραμμα PCA στα επιλεγμένα δυναμικά (Pt).....	81
Γράφημα 41: Διάγραμμα Class modelling για όλα τα δυναμικά (Pt).....	81
Γράφημα 42: Διάγραμμα Class modelling για όλα τα δυναμικά (Pt) με άγνωστα δείγματα τα συνθετικά μίγματα	82
Γράφημα 43: Διάγραμμα Class modelling για τα επιλεγμένα δυναμικά (Pt).....	83
Γράφημα 44: Διάγραμμα Class modelling για τα επιλεγμένα δυναμικά (Pt) με άγνωστα δείγματα τα συνθετικά μίγματα	83
Γράφημα 45: Διάγραμμα παρατηρούμενης και προβλεπόμενης νοθείας με χυμό μήλου σε όλα τα δυναμικά (Pt).....	84
Γράφημα 46: Διάγραμμα παρατηρούμενης και προβλεπόμενης νοθείας με χυμό μήλου στα επιλεγμένα δυναμικά (Pt).....	85
Γράφημα 47: Διάγραμμα για το δείγμα K-5 με ηλεκτρόδιο DRP-110CNT	86
Γράφημα 48: Διάγραμμα για το δείγμα X-2 με ηλεκτρόδιο DRP-110CNT	87
Γράφημα 49: Διάγραμμα για το δείγμα M-3 με ηλεκτρόδιο DRP-110CNT	87
Γράφημα 50: Διάγραμμα για τα επιλεγμένα δείγματα με ηλεκτρόδιο DRP-110CNT σε όλα τα δυναμικά (-1 έως 1 V).....	88
Γράφημα 51: Διάγραμμα για τα επιλεγμένα δείγματα με ηλεκτρόδιο DRP-110CNT για τα επιλεγμένα δυναμικά (0 έως -1 V)	88
Γράφημα 52: Διάγραμμα PCA σε όλα τα δυναμικά (DRP-110CNT)	89
Γράφημα 53: Διάγραμμα PCA στα επιλεγμένα δυναμικά (DRP-110CNT)	90
Γράφημα 54: Διάγραμμα Class modelling για όλα τα δυναμικά (DRP-110CNT)	91
Γράφημα 55: Διάγραμμα Class modelling για τα επιλεγμένα δυναμικά (DRP-110CNT)	91
Γράφημα 56: Διάγραμμα Class modelling για όλα τα δυναμικά (DRP-110CNT) με άγνωστα δείγματα τα συνθετικά μίγματα	91
Γράφημα 57: Διάγραμμα Class modelling για τα επιλεγμένα δυναμικά (DRP-110CNT) με άγνωστα δείγματα τα συνθετικά μίγματα	91
Γράφημα 58: Διάγραμμα παρατηρούμενης και προβλεπόμενης νοθείας με χυμό μήλου σε όλα τα δυναμικά (DRP-110CNT).....	92
Γράφημα 59: Διάγραμμα παρατηρούμενης και προβλεπόμενης νοθείας με χυμό μήλου στα επιλεγμένα δυναμικά (DRP-110CNT).....	92
Γράφημα 60: Διάγραμμα παρατηρούμενης και προβλεπόμενης νοθείας με μηλίτη σε όλα τα δυναμικά (DRP-110CNT).....	93
Γράφημα 61: Διάγραμμα παρατηρούμενης και προβλεπόμενης νοθείας με μηλίτη στα επιλεγμένα δυναμικά (DRP-110CNT).....	93

Κατάλογος συντομογραφιών

ATR-MIR	Attenuated Total Reflection Mid-Infrared
BDD	Boron Doped Diamond
CNT	Carbon Nanotubes
FID	Flame Ionization Detector
FTIR	Fourier Transform Infrared Spectroscopy
GC-TOFMS	Gas Chromatography Time-of-Flight Mass Spectrometer
GNP	Gold Nanoparticles
HPLC	High Performance Liquid Chromatography
LOD	Limit of Detection
NIR	Near Infrared
NMR	Nuclear Magnetic Resonance
PCA	Principal Component Analysis
PCR	Polymerase Chain Reaction
PLS	Partial Least Squares
SPE	Screen Printed Electrodes
ΠΓΕ	Προστατευόμενη Γεωγραφική Ένδειξη
ΠΟΠ	Προστατευόμενη Ονομασία Προέλευσης

1. Θεωρητικό μέρος

1.1. Νοθεία τροφίμων

Η κατανάλωση τροφής, η οποία αποτελείται κυρίως από νερό, πρωτεΐνες, υδατάνθρακες και λίπη, είναι μια από τις βασικές ανάγκες για κάθε οργανισμό [1]. Η απάτη-νοθεία στον τομέα των τροφίμων (Food Fraud-Adulteration) αποτελεί ένα συχνό φαινόμενο, αναφέρεται σε όλη τη αγροτοδιατροφική αλυσίδα (δεν περιορίζεται αποκλειστικά μόνο στο τρόφιμο) και περιλαμβάνει ένα ευρύ φάσμα δόλιων και παραπλανητικών πρακτικών. Σε αυτές περιλαμβάνονται τεχνικές, όπως η παραχάραξη, η νόθευση εγγράφων ή προϊόντων, η χρήση μη εγκεκριμένων μεθόδων ή διαδικασιών παραγωγής, η αντικατάσταση (ποιοτικά ή ποσοτικά), η διάλυση, η προσθήκη ή η αφαίρεση ενός συστατικού που οδηγούν στη διαφοροποίηση της σύστασης του τροφίμου [2].

Σύμφωνα με την νομοθεσία (Ν. 4235/2014) τα τρόφιμα θεωρούνται ως νοθευμένα όταν σε αυτά έχουν προστεθεί συστατικά, συνήθως μικρότερης αξίας, για κερδοσκοπία ή για καλύτερη εμφάνιση που θα προσεγγίσει τον καταναλωτή [3]. Επιπλέον, σύμφωνα με τους νέους κανόνες ρύθμισης της αγοράς (Ν. 4177/2013 – ΦΕΚ 173 Α/8-8-2013), επιβάλλονται αυστηρές ποινικές κυρώσεις (έως και φυλάκιση) σε επιχειρήσεις που αρνούνται τον έλεγχο, παραβιάζουν τους κανόνες υγιεινής των τροφίμων, νοθεύουν τρόφιμα και αλλοιώνουν τις ενδείξεις των οργάνων μέτρησης και των λογισμικών. Κυρώσεις ορίζονται και σε επιχειρήσεις και επιτηδευματίες που συνεργούν τεχνικά στις παραβιάσεις αυτές [4], [5]. Τα κριτήρια που χρησιμοποιεί η ευρωπαϊκή επιτροπή για την αξιολόγηση της απάτης είναι τα εξής:

- 1) Παραβίαση της Ενωσιακής Νομοθεσίας περί Τροφίμων
- 2) Πρόθεση/Σκοπιμότητα
- 3) Οικονομικό Όφελος
- 4) Εξαπάτηση του Καταναλωτή [2].

Όπως αναφέρθηκε, η νοθεία τροφίμων είναι ένα παγκόσμιο πρόβλημα που επηρεάζει τα περισσότερα τρόφιμα. Παρόλα αυτά, δεν αποτελεί μόνο ένα οικονομικό πρόβλημα αλλά και μια κατάσταση η οποία μπορεί να οδηγήσει σε σοβαρά προβλήματα υγείας για τους καταναλωτές. Καθώς η τεχνολογία εξελίσσεται και οι μέθοδοι νοθείας έχουν γίνει πιο προηγμένες, απαιτούνται πολύ πιο αποτελεσματικές και αξιόπιστες τεχνικές για την ανίχνευση των δόλιων χειρισμών που προαναφέρθηκαν. Οι κύριες μέθοδοι που χρησιμοποιούνται είναι οι εξής:

- Χρωματογραφία
- Φασματομετρία
- Ανάλυση ισοτόπων
- Μεταβολικές μέθοδοι
- Ενζυμικές μέθοδοι και τεχνικές που βασίζονται στο DNA (π.χ. PCR)
- Ηλεκτροαναλυτικές μέθοδοι κ.λπ. [6], [7].

Στον παρακάτω πίνακα παρουσιάζονται τα τρόφιμα που νοθεύονται πιο συχνά σε μεγάλη κλίμακα, τα κοινά είδη νοθείας τους και κάποιες ενδεικτικές μέθοδοι για τη ανίχνευση τους [8], [9].

Πίνακας 1: Νοθείες τροφίμων και τεχνικές ανίχνευσης

Τρόφιμο	Είδος νοθείας/Μέσο νοθείας	Τεχνική ανίχνευσης
Μέλι	Γεωγραφική προέλευση	NMR, GC-TOFMS, NIR, Raman
	Βοτανική προέλευση	FTIR, NIR, SIFT-MS, GC-MS, NMR
	Γλυκαντικά σιρόπια	NMR, Raman, FTIR
Ελαιόλαδο	Γεωγραφική προέλευση	NMR, GC-MS, NIR, FTIR
	Καλαμπόκι, σόγια	NMR, GC-FID, e-tongue/nose
	Άλλα είδη (π.χ. σησαμέλαιο)	FTIR, Raman, NMR, NIR
Γάλα	Γεωγραφική προέλευση	NMR
	Μίξη διαφορετικών ειδών	SSR, PCR
	Νερό, στάχτη, σόγια	MIR, HPLC, ATR-MIR
Κρασί	Γεωγραφική προέλευση	ICP-MS, HPLC
	Σάκχαρα, νερό, χυμοί	IRMS, HPLC
Καφές	Γεωγραφική προέλευση	LC-MC, GC-MS, GC-FID
	Καλαμπόκι, φλοιοί, κλαδιά	GC-MS, NIR, NMR
Τσάι	Γεωγραφική προέλευση	e-tongue/nose, FT-NIR, GC-MS
	Μίξη διαφορετικών ειδών	GC-MS, LC-MS, HPLC
Κρέας, ψάρι, θαλασσινά	Γεωγραφική προέλευση	NMR, IRMS
	Μίξη διαφορετικών ειδών	PCR, NMR

Στο πλαίσιο αυτής της διπλωματικής θα αναζητηθεί η πιθανότητα νοθείας σε δείγματα κρασιού με εναλλακτικές τεχνικές από αυτές που παρουσιάζονται. Συγκεκριμένα θα χρησιμοποιηθεί βολταμμετρία σε δείγματα λευκού κρασιού με μέσα νοθείας χυμό μήλου και μηλίτη.

1.2. Κρασί

Παρακάτω ακολουθούν ορισμένες γενικές πληροφορίες για τον οίνο (λευκό και ερυθρό), κάποια ιστορικά στοιχεία ως προς την ύπαρξη, παραγωγή αλλά και την πώληση του, ο τρόπος παραγωγής του, μέσω της αλκοολικής ζύμωσης, από τα σταφύλια, οι χημικές ενώσεις που περιέχει καθώς και οι επικρατέστερες ποικιλίες λευκού κρασιού στην Ελλάδα.

1.2.1. Γενικά

Το κρασί είναι ένα οινοπνευματώδες ποτό που παράγεται από τη ζύμωση των σταφυλιών ή του χυμού τους (μούστος). Πρόκειται για ένα πολύ δημοφιλές έδρεσμα που συνοδεύει και ενισχύει ένα ευρύ φάσμα ευρωπαϊκών και μεσογειακών γεύσεων, από τις πιο απλές και παραδοσιακές ως τις πιο σύνθετες. Παράλληλα, αποτελεί σημαντικό γεωργικό προϊόν που αντικατοπτρίζει την ποικιλία του εδάφους και το κλίμα ενός τόπου. Το κρασί χρησιμοποιείται επίσης σε θρησκευτικές τελετές σε πολλούς πολιτισμούς (όπως και στο Χριστιανισμό με τη Θεία Λειτουργία) ενώ το εμπόριο του είναι ιστορικής σπουδαιότητας για πολλές περιοχές [10], [11].

Τα κρασιά κατηγοριοποιούνται σε 3 κατηγορίες οι οποίες είναι οι εξής:

- Ανάλογα με το χρώμα τους (λευκά, ερυθρά και ροζέ)
- Ανάλογα με την περιεκτικότητά τους σε σάκχαρα μετά την ζύμωση (ξηρά, ημίξηρα, γλυκά και ημίγλυκα)
- Ανάλογα με την περιεκτικότητά τους σε διοξείδιο του άνθρακα (ήσυχοι, αφρώδεις και ημιαφρώδεις) [12].



Εικόνα 1: Διαφορετικά είδη κρασιού

Επιπλέον, αξίζει να σημειωθεί πως το χρώμα του σταφυλιού και του κρασιού που παράγεται από αυτό δεν είναι πάντα παρόμοια. Στην πραγματικότητα, οι χρωστικές ουσίες του σταφυλιού περιέχονται μόνο στα στερεά μέρη του (στέμφυλα). Έτσι, το χρώμα του σταφυλιού είναι το ίδιο με το χρώμα του οίνου αν και μόνο αν τα στερεά του μέρη συμμετέχουν ενεργά στην διαδικασία της ζύμωσης αφού ο μούστος τόσο των κόκκινων όσο και των ανοιχτόχρωμων ποικιλιών διαθέτει το ίδιο ανοιχτό χρώμα. Κατά συνέπεια, κόκκινο κρασί παράγεται από ποικιλίες κόκκινων (ή μαύρων) σταφυλιών με την προϋπόθεση ότι τα στερεά τους μέρη συμμετέχουν στη ζύμωση, ενώ λευκά κρασιά μπορούν να παραχθούν από οποιαδήποτε ποικιλία εφόσον τα στερεά μέρη των σταφυλιών διαχωριστούν στη διαδικασία της ζύμωσης. Αντίστοιχα παράγονται τα ροζέ κρασιά με τη διαφορά ότι τα στερεά μέρη των σταφυλιών παραμένουν στη ζύμωση για ένα πολύ σύντομο χρονικό διάστημα, συνήθως μικρότερο από μία ημέρα [13].

Όπως διατυπώθηκε και παραπάνω, το κρασί παράγεται από τα σταφύλια, αλλά όχι από τα αυτά που χρησιμοποιούνται άμεσα για κατανάλωση. Τα σταφύλια που είναι κατάλληλα για οινοποίηση συνήθως είναι μικρά, γλυκά, έχουν παχύ περίβλημα και περιέχουν σπόρους. Υπάρχουν πάνω από 1.300 διαφορετικές ποικιλίες κρασιού, αλλά μόνο ένα μικρό ποσοστό αυτών είναι φυτεμένα σε όλο την έκταση της Γης. Ο οίνος που παρασκευάζεται από ένα και μόνο είδος σταφυλιού χαρακτηρίζεται ως «μονοποικιλιακός», ενώ αυτός που παρασκευάζεται με διαφορετικά είδη σταφυλιών ονομάζεται «πολυποικιλιακός» [14].

Τέλος, τα κρασιά συνηθίζεται να ονομάζονται είτε από την ποικιλία σταφυλιών τους είτε από τον τόπο παραγωγής τους, ανάλογα δηλαδή με την περιοχή προέλευση τους. Ειδικότερα, τα κρασιά από την Αυστραλία, τις Ηνωμένες Πολιτείες Αμερικής (ΗΠΑ) και τη Γερμανία ονοματοδοτούνται αποκλειστικά από την ποικιλία σταφυλιών τους, ενώ κρασιά από τη Γαλλία, την Ισπανία, την Ιταλία ή την Ελλάδα χαρακτηρίστηκαν κυρίως από το γεωγραφικό τόπο παραγωγής τους. Για παράδειγμα, η ποικιλία Bordeaux, που προέρχονται από την Γαλλική πόλη Bordeaux, είναι ένα μίγμα από 2 ποικιλίες σταφυλιών: Cabernet Sauvignon και Merlot [13], [14].

1.2.2. Ιστορικά στοιχεία

Το αμπέλι, από το οποίο προέρχεται το κρασί έχει προϊστορία πολλών εκατομμυρίων ετών. Θεωρείται πως ευδοκίμοι σε ακόμη και στην πολιτική ζώνη, πριν από την εποχή των παγετώνων. Οι παγετώνες περιόρισαν σημαντικά την εξάπλωσή του επιβάλλοντας κατά κάποιον τρόπο την γεωγραφική απομόνωση πολλών ποικιλιών, μέρος των οποίων εξελίχθηκαν και σε διαφορετικά είδη. Στην πορεία των χρόνων, διάφοροι πληθυσμοί άγριων αμπελών μετακινήθηκαν προς θερμότερες ζώνες, κυρίως προς την ευρύτερη περιοχή του νοτίου Καυκάσου.

Η διαδικασία της αμπελοργίας εικάζεται πως έχει τις ρίζες της στην αγροτική επανάσταση και τη μόνιμη εγκατάσταση πληθυσμών με σκοπό την καλλιέργεια ενώ χρονολογείται γύρω στο 5000 π.Χ. Από τους πρώτους γνωστούς αμπελοκαλλιεργητές θεωρούνται οι αρχαίοι Πέρσες, οι Σημιτικοί λαοί και οι Ασύριοι. Τα παλαιότερα ευρήματα κρασιού τα οποία βρέθηκαν χρονολογούνται από τις αρχές της 6ης χιλιετίας π.Χ. Μεταγενέστερα οι γνώσεις αμπελοργίας και οινοποιίας μεταφέρθηκαν στους Αιγύπτιους, τους λαούς της Φοινίκης, τους πληθυσμούς της Μικράς Ασίας και του Ελλαδικού χώρου [15], [16].

Το εμπόριο των ελληνικών κρασιών απλωνόταν σε ολόκληρη τη Μεσόγειο μέχρι την Ιβηρική χερσόνησο και τον Εύξεινο πόντο και αποτελούσε μία από τις σημαντικότερες οικονομικές δραστηριότητες. Οι Ρωμαίοι ήρθαν σε επαφή με το κρασί από τους Έλληνες αποίκους και τους γηγενείς Ετρούσκους και επιδόθηκαν επίσης στην αμπελοκαλλιέργεια. Μετά την κατάρρευση της Ρωμαϊκής αυτοκρατορίας και τις μεταναστεύσεις των λαών η αμπελοργία γνώρισε περίοδο ύφεσης. Σε κάποιες περιοχές η αμπελοργία εγκαταλείφθηκε για αιώνες. Σημαντικό ρόλο στην διάσωση της οινοποιίας είχαν οι κληρικοί και μοναχοί, που χρειάζονταν το κρασί για τελετουργικούς σκοπούς [16]. Σημειώνεται πως η εμπορία του κρασιού έχει όλο και μεγαλύτερη ζήτηση και τα έσοδα από την πώληση τους είναι αυξανόμενα ακόμα και την εποχή της οικονομικής κρίσης [17].

1.2.3. Προϊόντα Π.Ο.Π. και Π.Γ.Ε.

Αρχικά, προκειμένου να ταυτοποιηθεί η αυθεντικότητα των τροφίμων και να διασφαλιστεί η ποιότητα τους, όταν αυτά προέρχονται από συγκεκριμένη γεωγραφική περιοχή, εξετάζεται η προστασία των γεωγραφικών ενδείξεων τους. Η Ευρωπαϊκή Ένωση αναγνωρίζοντας την διαφορετικότητα των τόπων, των μεθόδων, των παραδόσεων, των γεωγραφικών χαρακτηριστικών και την επίδραση τους στην παραγωγή αγροτικών προϊόντων, προστατεύει την παραγωγή αυτή με γεωγραφική ένδειξη. Έτσι, μέσω μιας νομοθεσίας που θεσπίστηκε για πρώτη φορά το 1992 δίνεται η δυνατότητα στους καταναλωτές να λάβουν περισσότερες πληροφορίες σχετικά με την προέλευση και την μεθοδολογία που συνάδει με παραδοσιακούς όρους παραγωγής. Οι νόμοι αυτοί αναθεωρήθηκαν πριν μερικά χρόνια και σύμφωνα με τον κανονισμό (Ν. 1308/2013) σήμερα ισχύουν τα εξής:

1) Η ένδειξη Π.Ο.Π. ή ολογράφως «Προστατευόμενη Ονομασία Προέλευσης» αποτελεί την ονομασία που σηματοδοτεί ένα προϊόν, το οποίο προέρχεται από συγκεκριμένο τόπο, περιοχή ή σε σπάνιες περιπτώσεις χώρα. Επιπλέον, η ποιότητα ή τα χαρακτηριστικά του προϊόντος οφείλονται κυρίως ή αποκλειστικά στο ιδιαίτερο γεωγραφικό περιβάλλον που συμπεριλαμβάνει τους εγγενείς φυσικούς και ανθρώπινους παράγοντες, και του οποίου όλα τα στάδια της παραγωγής, πραγματοποιούνται εντός της οριοθετημένης γεωγραφικής περιοχής. Παράδειγμα στη συγκεκριμένη κατηγορία αποτελεί η μαστίχα Χίου, η οποία είναι μια ρητίνη που παράγεται σε συγκεκριμένη μορφή, με συγκεκριμένη μέθοδο, αποκλειστικά στην ευρύτερη περιοχή της Χίου.

2) Η ένδειξη Π.Γ.Ε ή ολογράφως «Προστατευόμενη Γεωγραφική Ένδειξη» αφορά την ονομασία που ταυτοποιεί ένα προϊόν, το οποίο κατάγεται από συγκεκριμένο τόπο, περιοχή ή χώρα. Ομοίως, το προϊόν αυτό διαθέτει ένα συγκεκριμένο ποιοτικό χαρακτηριστικό, ή φήμη ή άλλο χαρακτηριστικό το οποίο μπορεί να αποδοθεί κυρίως στη γεωγραφική του προέλευση. Σημειώνεται πως στην ίδια κατηγορία ανήκουν και τα προϊόντα όπου ένα τουλάχιστον από τα στάδια παραγωγής τους εκτελείται εντός της οριοθετημένης γεωγραφικής περιοχής. Παράδειγμα στη συγκεκριμένη κατηγορία αποτελεί το κρητικό παξιμάδι καθώς αποτελεί προϊόν που παράγεται με συγκεκριμένα χαρακτηριστικά στην Κρήτη [18].

Παρακάτω παρατίθενται τα σήματα για τις ενδείξεις Π.Ο.Π και Π.Γ.Ε.



Εικόνα 2: Σήματα για τα προϊόντα Π.Ο.Π και Π.Γ.Ε.

Στις επόμενες υποενότητες θα αναλυθούν τα Π.Ο.Π και Π.Γ.Ε κρασιά της χώρας που θα χρησιμοποιηθούν στο πειραματικό μέρος της εν λόγω εργασίας.

1.2.3.1. Οίνοι προστατευόμενης ονομασίας προέλευσης (Π.Ο.Π)

Στη συγκεκριμένη ενότητα θα αναλυθούν τα Π.Ο.Π κρασιά που παράγονται σε κάποια γεωγραφικά διαμερίσματα της χώρας και σε επιλεγμένες περιοχές αυτών.

1) Μακεδονία

Η κυριότερη ποικιλία για το Π.Ο.Π κρασί που παράγεται σε περιοχές της Μακεδονίας είναι το ξινόμαυρο. Ο καρπός αυτός δίνει συνήθως ερυθρά ή ροζέ κρασιά και έχει την ικανότητα να ωριμάζει και να παράγεται σε περιοχές με ψυχρές κλιματολογικές συνθήκες. Ειδικότερα, οι περιοχές του συγκεκριμένου γεωγραφικού διαμερίσματος που δίνουν τέτοια Π.Ο.Π κρασιά είναι: η Νάουσα, το Αμύνταιο και η Γουμένισσα. Σημειώνεται πως στις δύο πρώτες περιοχές συνήθως παράγεται οίνος με 100% ξινόμαυρο ενώ στην τρίτη υπάρχουν προσμίξεις με άλλες ποικιλίες οίνου. Επιπλέον, Π.Ο.Π κρασιά παράγονται και από τις Πλαγιές Μελίτων στη Χαλκιδική. Εκεί παράγεται λευκός ξηρός οίνος από τις ποικιλίες αθήρι, ασύρτικο και ροδίτη ενώ ο ερυθρός οίνος Π.Ο.Π. Πλαγιές Μελίτων γίνεται με Cabernet Sauvignon, Cabernet Franc και λημιό.

2) Ήπειρος

Σε αυτό το γεωγραφικό διαμέρισμα υπάρχει μόνο μία Π.Ο.Π., η Ζίτσα, όπου μαζί με την περιοχή του Μετσόβου, είναι οι σημαντικότερες αμπελοκαλλιεργητικές ζώνες του διαμερίσματος. Η ποικιλία της περιοχής είναι η λευκή ντεμπίνα, η οποία είναι γνωστή για την παραγωγή αρωματικών κρασιών. Η Π.Ο.Π. δεν καλύπτει μόνο τα λευκά ξηρά κρασιά αλλά και τα αφρώδη (ξηρά ή ημίγλυκα).

3) Θεσσαλία

Η πρώτη Π.Ο.Π της Θεσσαλίας είναι η Π.Ο.Π. Αγχίαλος και ο οίνος που παράγεται προέρχεται από τις ποικιλίες σαββατιανό και ροδίτη ενώ η δεύτερη προέρχεται από ερυθρά κρασιά και είναι η Π.Ο.Π. Μεσσηνικόλα. Η ποικιλία αυτή παράγεται από τις ποικιλίες μαύρο μεσσηνικόλα, Carignan και Syrah. Η τρίτη και η τέταρτη Π.Ο.Π. της Θεσσαλίας που χρησιμοποιεί το ξινόμαυρο είναι η Ραψάνη. Αν και ήταν μια ονομασία προελεύσεως μικρής εμπορικής σημασίας, οι επενδύσεις της εταιρίας Τσάνταλη την μετέτρεψαν σε μια πολλά υποσχόμενη ποικιλία κατάλληλη ακόμα και για εξαγωγές. Στις δύο αυτές περιπτώσεις το ξινόμαυρο συνδυάζεται με τις ποικιλίες σταυρωτό και κρασάτο αντίστοιχα.

4) Πελοπόννησος

Αρχικά, η μαυροδάφνη Πατρών είναι ο μοναδικός ερυθρός οίνος Π.Ο.Π. της Πελοποννήσου, στον οποίο πραγματοποιείται προσθήκη αλκοόλης. Η ποικιλιακή σύνθεση δεν είναι 100% μαυροδάφνη αλλά μπορεί να χρησιμοποιηθεί και μικρή ποσότητα μαύρης κορινθιακής. Οι άλλες δύο Π.Ο.Π. της περιοχής (Μοσχάτο Πατρών

και Μοσχάτο Ρίου Πατρών) είναι βασισμένες στο λευκό μοσχάτο και δίνουν γλυκά λευκά κρασιά.. Οι διαφορές του χαρακτήρα μεταξύ των δύο αυτών Π.Ο.Π. είναι δύσκολο να παρατηρηθούν, αν και θεωρείται πως το μοσχάτο από το Ρίο έχει ένα λιγότερο φρέσκο χαρακτήρα.

Επίσης, υπάρχουν και τρεις Π.Ο.Π. για ξηρά κρασιά, η ερυθρή Νεμέα και οι λευκές Πάτρα και Μαντινεία. Η Νεμέα είναι η σημαντικότερη οινοπαραγωγική περιοχή ερυθρού οίνου στην Πελοπόννησο, παράγει κρασί από την ποικιλία αγιωργίτικο και δίνει ένα από τα κορυφαία εμπορικά κρασιά της Ελλάδας. Μέσα στην Π.Ο.Π. αυτή περιλαμβάνονται πολλά είδη κρασιών από ερυθρούς γλυκούς, ημίγλυκους και ξηρούς οίνους και από ελαφρά, τύπου Νουveau κρασιά, μέχρι μερικά από τα πιο ταννικά και άξια παλαιώσης. Αντίστοιχα, το Π.Ο.Π. Πάτρας γίνεται από ροδίτη και δίνει κρασιά που περιέχουν έντονα αρώματα φρούτων ενώ το Π.Ο.Π. Μαντινείας γίνεται από μοσχοφίλερο και δίνει κρασιά τα οποία έχουν αρκετά πιο ελαφρύ σώμα αλλά πιο έντονο αρωματικό χαρακτήρα.

Τέλος, η τελευταία προσθήκη κρασιού Π.Ο.Π. στην Πελοπόννησο έγινε το 2010 όταν αναγνωρίστηκε ως Π.Ο.Π. ο οίνος Μονεμβασιά–Malvasia. Το συγκεκριμένο κρασί είναι γλυκό και προέρχεται από τις ποικιλίες μονεμβασιά (τουλάχιστον κατά 51%), ασύρτικο, ασπρούδες και κυδωνίτσα.

5) Αιγαίο πέλαγος

Τα νησιά του Αιγαίου έχουν έναν μεγάλο αριθμό Π.Ο.Π. κρασιών τα οποία επειδή έχουν έναν ιδιαίτερο χαρακτήρα είναι γενικά ακριβά.

Ίσως η πιο σημαντική περιοχή για Π.Ο.Π. γλυκά κρασιά στην Ελλάδα είναι η Σάμος. Τα κρασιά αυτά φτιάχνονται εξ' ολοκλήρου από λευκό μοσχάτο ενώ γενικά η εμπορική σημασία τους στα πλαίσια των εξαγωγών είναι πολύ μεγάλη. Τα κρασιά της Σάμου είναι κυρίως γλυκά, αν και τα τελευταία χρόνια γίνονται προσπάθειες για παραγωγή λεπτών, αρωματικών αλλά ξηρών κρασιών στο νησί (τα οποία όμως κατατάσσονται στην κατηγορία Π.Γ.Ε.). Ομοίως, χρησιμοποιείται η συγκεκριμένη ποικιλία για το Π.Ο.Π. Μοσχάτο Ρόδου ενώ τα κρασιά που παράγονται διαθέτουν πιο φρέσκο και ίσως λιγότερο πολύπλοκο χαρακτήρα από τα κρασιά της Σάμου.

Μια ακόμη σημαντική Π.Ο.Π. του Αιγαίου, η οποία είναι βασισμένη στο μοσχάτο Αλεξάνδρειας, παράγεται στη Λήμνο και διαχωρίζεται σε δύο ξεχωριστές ενδείξεις: στην Π.Ο.Π. Μοσχάτο Λήμνου και στην Π.Ο.Π. Μοσχάτο Λήμνου grand cru. Η σημαντικότερη διαφορά μεταξύ των δύο είναι ότι η δεύτερη μπορεί να προέρχεται μονάχα από συγκεκριμένους επιλεγμένους αμπελώνες του νησιού. Παρόλα αυτά, το συγκεκριμένο νησί περιλαμβάνει και άλλο κρασί με ονομασία προέλευσης και αυτό είναι το Π.Ο.Π. Λήμνου. Πρόκειται για λευκά ξηρά ημίγλυκα ή ημίξηρα κρασιά, τα οποία παράγονται από μοσχάτο Αλεξάνδρειας ενώ από τον Δεκέμβριο του 2011 στην ένδειξη αυτή προστέθηκαν δύο επιπλέον κατηγορίες οίνων: οι ερυθροί ξηροί οίνοι που παράγονται από την ποικιλία λημνιό και οι οίνοι από λιαστά σταφύλια από τις ποικιλίες λημνιό και μοσχάτο Αλεξάνδρειας σε ποσοστά 90/10% αντίστοιχα.

Τέλος, τρία άλλα νησιά που περιλαμβάνουν κρασιά Π.Ο.Π. είναι η Σαντορίνη, η Ρόδος και η Πάρος. Ειδικότερα, στη Σαντορίνη συνδυάζοντας τις ποικιλίες ασύρτικο,

αθήρι και το αηδάνι δημιουργείται ένα κρασί που διαθέτει μεταλλικότητα, κομψότητα, και οξύτητα. Στο ίδιο νησί υπάρχει και η Π.Ο.Π. Vinsanto η οποία παράγεται από σταφύλια της ποικιλίας ασύρτικο τουλάχιστον κατά 51% και το υπόλοιπο από τις ποικιλίες αηδάνι και αθήρι. Αντίστοιχα, στη Ρόδο χρησιμοποιείται μόνο το αθήρι δίνοντας φρέσκα κομψά και αρκετά αρωματικά λευκά κρασιά αλλά και ερυθρά ξηρά χρησιμοποιώντας αποκλειστικά την ερυθρή ποικιλία μαντηλαριά. Το τελευταίο νησί του Αιγαίου που δίνει οίνους Π.Ο.Π. είναι η Πάρος. Σε αυτά τα κρασιά χρησιμοποιείται η ποικιλία μονεμβασιά, η οποία μόνη της δίνει τα λευκά ξηρά Π.Ο.Π. Πάρος ενώ σε μίξη με την μαντηλαριά δίνει τα αντίστοιχα ερυθρά ξηρά αυτής της ένδειξης.

7) Ιόνιο πέλαγος

Το νησί που περιλαμβάνει τρία διαφορετικά Π.Ο.Π κρασιά είναι η Κεφαλλονιά και αυτά προέρχονται από τις ποικιλίες: ρομπόλα, μαυροδάφνη και μοσχάτο. Έτσι, τα Π.Ο.Π. του νησιού είναι η Μαυροδάφνη Κεφαλλονιάς, το Μοσχάτο Κεφαλλονιάς και η Π.Ο.Π. Ρομπόλα Κεφαλλονιάς. Πρόκειται για τρία πολύ γνωστά και δημοφιλή κρασιά και η εμπορία τους γίνεται σε μεγάλες ποσότητες στο εσωτερικό αλλά και στο εξωτερικό της χώρας.

8) Κρήτη

Δύο από τα κυρίαρχα Π.Ο.Π. της Κρήτης είναι το Π.Ο.Π. Αρχανών αλλά και το Π.Ο.Π. Πεζών. Τα δύο αυτά κρασιά παράγονται συνήθως από τις ποικιλίες κοτσιφάλι και μαντηλαριά οι οποίες σε γενικές γραμμές είναι δύο ποικιλίες με αντιφατικά χαρακτηριστικά, προσφέροντας τελικά εμπορικά επιτυχημένα κρασιά. Σημειώνεται πως στα Πεζά υπάρχει και η δυνατότητα παραγωγής λευκού ξηρού κρασιού από την λευκή βηλάνα, μια ποικιλία χωρίς ιδιαίτερα αρώματα.

Ακόμη, μια επιπλέον σημαντική ποικιλία της Κρήτης είναι το ερυθρό λιάτικο που υπάγεται στο Π.Ο.Π. Δαφνών. Ομοίως, η Π.Ο.Π. Σητεία, περιλαμβάνει λευκά ξηρά κρασιά τα οποία παράγονται από βηλάνα και το τοπικό θρασαθήρι αλλά και ερυθρά ξηρά κρασιά από λιάτικο και μαντηλαριά. Τέλος, από τον Δεκέμβριο του 2011, αναγνωρίστηκε μία νέα προστατευόμενη ονομασία προελεύσεως, η Χάνδακας– Candia που παράγεται στον νομό Ηρακλείου η οποία περιλαμβάνει: λευκά ξηρά κρασιά από την ποικιλία βηλάνα σε ποσοστό τουλάχιστον 85%, ερυθρά ξηρά που παράγονται από συν οиноποίηση σταφυλιών των ποικιλιών κοτσιφάλι και μαντηλαριά (σε ποσοστά 70/30%) και οίνους από λιαστά σταφύλια που παράγονται από τοπικές ποικιλίες [19].

1.2.3.2. Οίνοι προστατευόμενης γεωγραφικής ένδειξης (Π.Γ.Ε)

Οι οίνοι Π.Γ.Ε («Προστατευόμενης Γεωγραφικής Ένδειξης») της Ελλάδας περιλαμβάνουν δύο μεγάλες κατηγορίες. Η πρώτη είναι οι «Τοπικοί Οίνοι» και η δεύτερη είναι οι οίνοι με «Ονομασία κατά Παράδοση». Γενικότερα, σύμφωνα με την ευρωπαϊκή και την ελληνική νομοθεσία για τον οίνο οι τοπικοί οίνοι αποτελούν υπό-κατηγορία των επιτραπέζιων και έχουν αναπτυχθεί πολύ, τόσο στην Ελλάδα, όσο και σε άλλες ευρωπαϊκές χώρες. Παρακάτω θα αναλυθούν οι οίνοι αυτής της υποκατηγορίας που υπάγονται στα

διάφορα διαμερίσματα αλλά και σε κάποιες περιφέρειες. Σημειώνεται πως τα νησιά του Ιονίου Πελάγους είναι η μόνη από τις 9 αμπελουργικές περιφέρειες της χώρας που δεν διαθέτει οίνους Π.Γ.Ε.

Οι οίνοι Π.Γ.Ε Περιφερειακών Ενοτήτων διαθέτουν συγκεκριμένα γεωγραφικά όρια στα πλαίσια μιας περιφερειακής ενότητας. Πιο συγκεκριμένα, ο καρπός για αυτούς τους οίνους πρέπει να προέρχεται από τα όρια της περιφερειακής ενότητας και η οινοποίησή του να γίνεται αποκλειστικά εκεί. Οι ποικιλιακές συνθέσεις είναι κατά κανόνα πιο αυστηρές και για αυτό επικαλούνται πολύ συχνά οι Έλληνες παραγωγοί την αντίστοιχη νομοθεσία. Οι 37 οίνοι Π.Γ.Ε Περιφερειακών Ενοτήτων που έχουν θεσμοθετηθεί προέρχονται από τις εξής περιοχές: Αργολίδα, Αρκαδία, Αττική, Αχαΐα, Γρεβενά, Δράμα, Δωδεκάνησα, Έβρος, Εύβοια, Ζάκυνθος, Ηλεία, Ημαθία, Ηράκλειο, Θάσος, Θεσσαλονίκη, Ιωάννινα, Καβάλα, Καρδίτσα, Καστοριά, Κέρκυρα, Κοζάνη, Κορινθία, Κυκλάδες, Λακωνία, Λασιθί, Λέσβος, Λευκάδα, Μαγνησία, Μεσσηνία, Πέλλα, Περία, Ρέθυμνο, Σέρρες, Φλώρινα, Χανιά, Χαλκιδική και Χίος.

Αντίστοιχα, οι οίνοι Π.Γ.Ε Περιοχών περιλαμβάνουν ακόμα πιο αυστηρά νομοθετικά πλαίσια στα γεωγραφικά όρια. Σε αυτούς, τα όρια κάθε οίνου αφορούν τμήμα μίας περιφερειακής ενότητας αλλά και μερικές φορές τα όρια μίας και μόνο κοινότητας – χωριού. Επίσης, πολύ αυστηρά καθορίζονται οι ποικιλίες και τύποι οίνων ενώ σε αυτήν την περίπτωση έχουν θεσμοθετηθεί 58 οίνοι σε 28 περιφερειακές ενότητες της Ελλάδας. Οι περιοχές αυτές είναι οι εξής: Άβδηρα, Άγιον Όρος, Αγορά, Αδριανή, Ανάβυσσος, Βελβεντός, Βίλιτσα, Βόρειες Πλαγιές Πεντελικού, Γεράνια, Ελασσόνα, Επανομή, Θαψανών Πάρου, Θήβα, Ικαρία, Ίλιον, Ίσμαρος, Κάρυστος, Κίσσαμος, Κλημέντι, Κοιλιάδα Αταλάντης, Κορωπί, Κρανιά, Κρανώννας, Κως, Λετρίνα, Ληλάντιο Πεδίο, Μαντζαβινάτα, Μαρκόπουλο, Μαρτίνο, Μεταξάτα, Μετέωρα, Μέτσοβο, Νέα Μεσημβρία, Οπούντια Λοκρίδας, Παγγαίο, Παιανία, Παλλήνη, Παρνασσός, Πισάτις, Πλαγιές Αιγιαλείας, Πλαγιές Αίνου, Πλαγιές Αμπέλου, Πλαγιές Βερτίσκου, Πλαγιές Κιθαιρώνα, Πλαγιές Κνημίδας, Πλαγιές Πάικου, Πλαγιές Πάρνηθας, Πλαγιές Πετρωτού, Πυλία, Ριτσώνα Αυλίδας, Σιάτιστα, Σιθωνία, Σπάτα, Σύρος, Τεγέα, Τριφυλία, Τύρναβος και Χαλικούνα.

Σημείωση: Επιπλέον, υπάρχουν οι οίνοι με Ονομασία κατά Παράδοση στους οποίους συμπεριλαμβάνονται η βερντέα και οι ρετσίνες. Η βερντέα είναι ένα παραδοσιακό λευκό κρασί της Ζακύνθου ενώ μπορεί να εμφιαλώνεται και εκτός της περιοχής αυτής. Έτσι, τα κρασιά που φέρουν αυτόν τον τίτλο εντάσσονται και αυτά στην κατηγορία των οίνων Περιφερειακών Ενοτήτων της Ελλάδας.

Ομοίως κάποιες ρετσίνες, εκτός από οίνοι με Ονομασία κατά Παράδοση απέκτησαν το δικαίωμα να φέρουν και γεωγραφική ένδειξη καταγωγής και εντάσσονται πλέον στην κατηγορία των οίνων της Ελλάδας. Πρόκειται για 3 κύριες ρετσίνες με ένδειξη οίνου Περιφερειακής Ενότητας που προέρχονται από την Αττική, την Βοιωτία και την Εύβοια ενώ υπάρχουν ακόμα 12 ακόμα που μπορούν να φέρουν την ένδειξη Οίνου Περιοχής [19].

1.2.4. Παραγωγική διαδικασία

Η παραγωγική διαδικασία του οίνου είναι μια απλή διαδικασία πέντε σταδίων και γίνεται εδώ και χιλιάδες χρόνια. Γενικότερα, είναι μια διεργασία που πραγματοποιείται μη αυθόρμητα και χρειάζεται ανθρώπινη επίβλεψη ενώ από το ένα στάδιο στο άλλο απαιτείται επιπλέον ανθρώπινο δυναμικό και μηχανήματα.

Τα πέντε βασικά στάδια της διαδικασίας παραγωγής είναι τα εξής:

1) Συγκομιδή ή τρύγος: Ο τρύγος είναι το πρώτο βήμα στη διαδικασία παραγωγής κρασιού και επιδρά σημαντικά στο τελικό (γευστικό, αρωματικό και οπτικό) αποτέλεσμα. Η διαδικασία της συγκομιδής μπορεί να γίνει χειρωνακτικά ή μηχανικά. Η χειρωνακτική συγκομιδή μπορεί να επιλεγεί έναντι της μηχανικής επειδή η δεύτερη μπορεί να «καταπονεί» τόσο τα σταφύλια όσο και τον αμπελώνα. Τα σταφύλια, τα οποία συλλέγονται σε αυτό το στάδιο, είναι τα μόνα φρούτα που έχουν τα απαραίτητα συστατικά (οξέα, εστέρες και ταννίνες) για να δημιουργήσουν φυσικό και σταθερό κρασί. Οι ταννίνες, όπως θα αναφερθεί και στη συνέχεια, είναι από τα κύρια συστατικά, που καθιστούν το ποτό ξηρό ενώ παράλληλα προσθέτουν πικρές νότες και στυπτικότητα σε αυτό. Η οξύτητα, η γλυκύτητα και η γεύση του κρασιού καθορίζεται κατά τη περίοδο της συλλογής από κάποιον επιστημονικά υπεύθυνο, ενώ όλες αυτές οι παράμετροι εξαρτώνται σημαντικά από τις κλιματολογικές συνθήκες και την περιοχή καλλιέργειας. Στο τέλος αυτού του σταδίου τα σταφύλια μεταφέρονται στο οινοποιείο, ταξινομούνται και αφαιρούνται οι σάπιοι ή οι υπερώριμοι καρποί.

2) Σύνθλιψη και πίεση: Αφού τα σταφύλια ταξινομηθούν, είναι έτοιμα για να αφαιρεθούν τα στέμφυλα (αν αυτό είναι απαραίτητο) και να πιεστούν. Η διαδικασία αυτή γίνεται πλέον μόνο μηχανικά ενώ για πολλά χρόνια πραγματοποιούνταν αποκλειστικά με τη βοήθεια των ανθρώπινων άκρων. Οι μηχανικές πρέσες παράγουν το μούστο (πιεσμένος χυμός σταφυλιών που περιέχει τις φλούδες, τους σπόρους και τα στερεά μέρη του σταφυλιού) και η χρήση τους αύξησε κατά πολύ το υγειονομικό κέρδος, τη μακροζωία και τη ποιότητα του τελικού προϊόντος.

3) Ζύμωση: Η εν λόγω διαδικασία μπορεί να αρχίσει φυσικά μέσα σε 6-12 ώρες όταν έχει βοήθεια από άγριες ζύμες στον αέρα. Ωστόσο, πολλοί οινοπαραγωγοί παρεμβαίνουν και προσθέτουν μια εμπορική καλλιεργημένη μαγιά για να καλυτερεύσουν και να προβλέψουν το τελικό παρασκεύασμα.

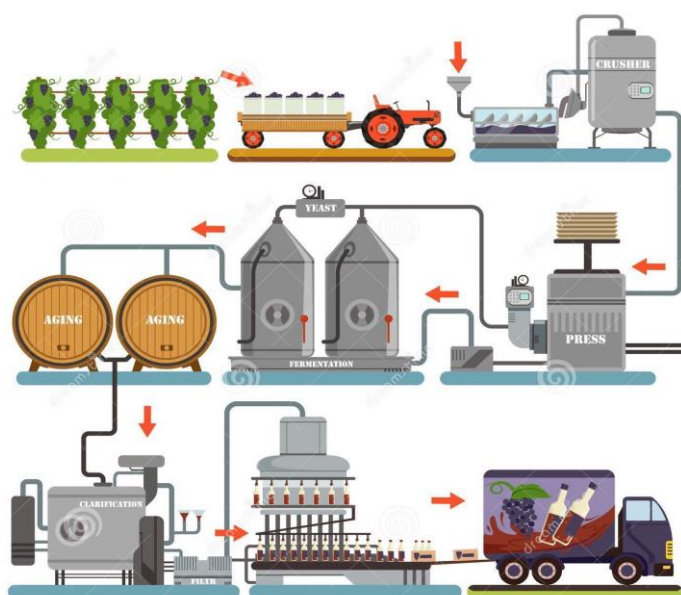
Η ζύμωση θεωρείται ως η το κυριότερο στάδιο της παραγωγικής διαδικασίας και θα αναφερθεί αναλυτικά στην επόμενη ενότητα.

4) Διαύγαση: Η διαύγαση είναι η διαδικασία στην οποία αφαιρούνται στερεά όπως νεκρά κύτταρα ζυμομυκήτων (έχουν δημιουργηθεί κατά τη ζύμωση), ταννίνες και πρωτεΐνες. Το κρασί πριν ξεκινήσει αυτή η διαδικασία μεταφέρεται σε ένα διαφορετικό δοχείο, όπως βαρέλι δρυός ή μια δεξαμενή από ανοξείδωτο χάλυβα. Μετά το πέρας της διαδικασίας το κρασί γίνεται πιο διαυγές ενώ παράλληλα απομακρύνονται ανεπιθύμητα σωματίδια που έχουν τυχόν προσκολληθεί κατά τα προηγούμενα στάδια. Τέλος, το διαυγές κρασί μεταφέρεται σε άλλη δεξαμενή πριν εισαχθεί στο τελευταίο στάδιο της παραγωγικής διαδικασίας.

5) Ωρίμανση και εμφιάλωση: Η ωρίμανση και η εμφιάλωση είναι το τελικό στάδιο της διαδικασίας παραγωγής κρασιού. Πρόκειται για δύο διαφορετικές και διακριτές διαδικασίες και η επιλογή της καθεμίας εξαρτάται αποκλειστικά από τον εκάστοτε παραγωγό. Η ωρίμανση του κρασιού (εναλλακτικά καλείται παλαίωση) μπορεί να γίνει σε φιάλες, δεξαμενές από ανοξείδωτο χάλυβα (κυρίως για λευκά κρασιά) ή δρύινα βαρέλια παράγοντας ένα ομαλότερο, «στρογγυλό» και πιο αρωματισμένο κρασί. Επίσης, κατά την παλαίωση αυξάνεται η έκθεση του κρασιού στο οξυγόνο μειώνοντας παράλληλα τις ταννίνες και βοηθώντας το κρασί να φτάσει στη βέλτιστη κατάστασή του. Στο τέλος, τα κρασιά εμφιαλώνονται είτε με φελλό είτε με βιδωτό πώμα και διατίθενται προς πώληση.

Σημειώνεται πως οι παραγωγοί κρασιού ακολουθούν συνήθως αυτά τα πέντε βήματα, αλλά προσθέτουν παραλλαγές και αποκλίσεις κατά μήκος της διαδρομής για να κάνουν το κρασί τους να διαφέρει συγκριτικά με τα υπόλοιπα και να προσεγγίσουν το καταναλωτικό κοινό [20].

Ακολουθεί η διαδικασία της οινοποίησης και σε διαγραμματική μέθοδο μέσω της ερχόμενης εικόνας.

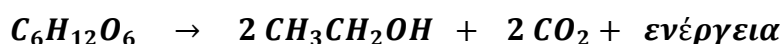


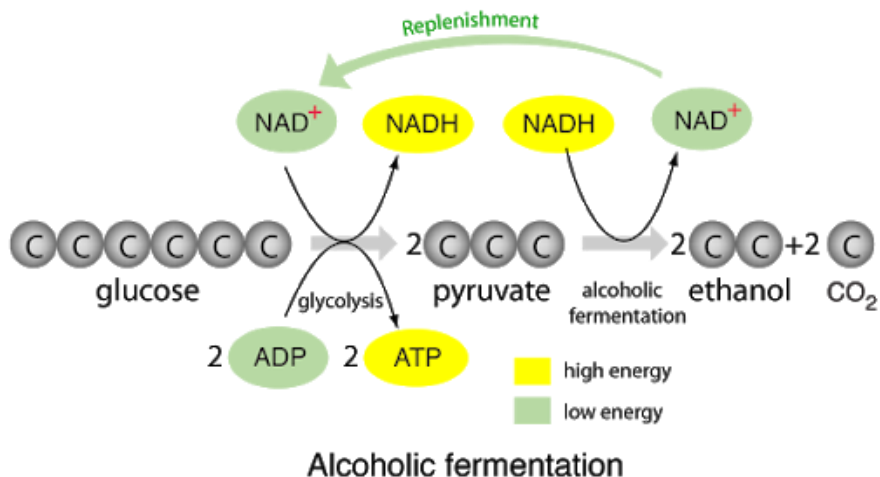
Εικόνα 3: Παραγωγική διαδικασία οινοποίησης

1.2.5. Αλκοολική ζύμωση κρασιού

Αρχικά, όπως ήδη αναφέρθηκε, αλκοολική ζύμωση είναι η διαδικασία μετατροπής του φρέσκου χυμού των σταφυλιών (μούστος ή γλεύκος) σε κρασί. Πρόκειται για την αναερόβια διάσπαση απλών σακχάρων (όπως η γλυκόζη) προς αιθανόλη και διοξείδιο του άνθρακα. Η διάσπαση αυτή πραγματοποιείται με τη χρήση ζυμομυκήτων, οι οποίοι είναι ευκαριωτικοί, μονοκύτταροι οργανισμοί, με σφαιρικό ή ελλειψοειδές σχήμα.

Η αντίδραση που πραγματοποιείται αποτυπώνεται χημικά και σχηματικά υπό τη μορφή εικόνας παρακάτω [21].





Εικόνα 4: Αλκοολική ζύμωση κρασιού

Εναλλακτικά, προκειμένου να επιτευχθεί καλύτερος έλεγχος της ζύμωσης, αλλά και των επιθυμητών χαρακτηριστικών του κρασιού που θα παραχθεί χρησιμοποιούνται άλλες μέθοδοι. Ειδικότερα, μπορούν να χρησιμοποιηθούν επιλεγμένες ζύμες, με τις οποίες «εμβολιάζεται» το γλεύκος. Αν δεν εφαρμοσθεί προσθήκη ζυμών, η αλκοολική ζύμωση λέγεται φυσική ή αυθόρμητη, ενώ αλλιώς ονομάζεται ελεγχόμενη. Επιπλέον, η θερμοκρασία είναι μια παράμετρος που επηρεάζει σημαντικά την ζύμωση. Συγκεκριμένα, όπως είναι γνωστό, οι ζύμες εκλύουν ενέργεια οπότε η θερμοκρασία του χυμού αυξάνεται. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα, οι δεξαμενές όπου πραγματοποιείται η ζύμωση ψύχονται με κρύο νερό ή με εμβάπτιση ψυκτικών στοιχείων στο εσωτερικό τους, ώστε η θερμοκρασία να διατηρείται κατά κανόνα γύρω στους 18°C για την παραγωγή λευκών και στους 25-28°C για την παραγωγή ερυθρών οίνων. Με αυτόν τον τρόπο διατηρείται ο αρωματικός χαρακτήρας του λευκού κρασιού και επιτρέπεται η παραλαβή των συστατικών που διαφοροποιούν κατάλληλα τη γεύση, τη δομή και την υφή του ερυθρού κρασιού.



Εικόνα 5: Βιομηχανική αλκοολική ζύμωση κρασιού

Σημείωση: Εκτός από την αλκοολική, κατά τη διάρκεια της οινοποίησης μπορεί να εκδηλωθεί μια δεύτερη ζύμωση, η μηλογαλακτική. Παρόλου που χαρακτηρίζεται ως ζύμωση προκαλείται από βακτήρια (σε αντίθεση με την αλκοολική ζύμωση που πραγματοποιείται από ζυμομύκητες). Είναι εξαιρετικά σημαντική για την εξέλιξη των ερυθρών κρασιών όπου το μηλικό οξύ μετατρέπεται σε γαλακτικό και βοηθά στην ωρίμανσή τους [22].

1.2.6. Κύρια συστατικά κρασιού

Το κρασί είναι ένα πολυσύνθετο υδρο-αλκοολικό διάλυμα που περιέχει ένα σύνολο 800-1000 χημικών ενώσεων. Τα δύο κύρια συστατικά από τα οποία αποτελείται σε ποσοστά έως και 99% είναι το νερό και η αιθυλική αλκοόλη (κοινώς οινόπνευμα). Το νερό περιέχεται στο κρασί σε περιεκτικότητες 80-85% οπότε η ύπαρξη του σε τόσο μεγάλο ποσοστό οδηγεί στον οπτικό υδατικό χαρακτήρα του. Αντίστοιχα, η αιθανόλη, όπως αναφέρθηκε στην προηγούμενη υποενότητα, είναι το κύριο προϊόν της αλκοολικής ζύμωσης. Σε συνήθεις συνθήκες οινοποίησης η περιεκτικότητα σε αιθανόλη ανέρχεται έως και 14-15% κατ' όγκο, ενώ υψηλότερες συγκεντρώσεις μπορούν να επιτευχθούν με τη προσθήκης σακχάρων ή συμπυκνωμένου γλεύκος, μια διαδικασία που ονομάζεται ενίσχυση του κρασιού.

Παρόλα αυτά, τα βασικά αρωματικά και γευστικά χαρακτηριστικά του κρασιού εξαρτώνται από ένα πλήθος τουλάχιστον 20 επιπλέον ενώσεων, ενώ οι ελαφριές οργανοληπτικές διαφορές ανάμεσα σε κρασιά από διαφορετικές ποικιλίες, οφείλονται σε έναν ακόμα μεγαλύτερο αριθμό συστατικών που περιέχονται στο κρασί. Παρακάτω θα αναφερθούν τα εν λόγω συστατικά του κρασιού τα οποία περιέχονται σε αρκετά μικρά ποσοστά [23]. Οι χημικές αυτές ενώσεις καθώς και οι γενικές κατηγορίες στις οποίες ανήκουν είναι τα εξής:

- Γλυκερόλη: Προέρχεται από την αλκοολική ζύμωση των σακχάρων του μούστου ή από τεχνητή προσθήκη και βρίσκεται στο κρασί σε ποσοστό περίπου 9-18% κατά όγκο. Η ένωση αυτή είναι υπεύθυνη για την υφή του κρασιού και συνεισφέρει στη γλυκύτητά του.
- Μεθανόλη: Γενικότερα, παράγεται κυρίως από την διάσπαση των πηκτινών ενώ βρίσκεται σε μικρές ποσότητες (30-35 mg/l) στον οίνο. Είναι πολύ δύσκολο να ανιχνευτεί οργανοληπτικά και μεταβολίζεται σε φορμαλδεΰδη και φορμικό οξύ. Οι μεταβολίτες αυτοί έχουν τοξική δράση και γι' αυτό η παρουσία της μεθανόλης στο κρασί είναι πάντα σε συγκεντρώσεις πολύ μικρότερες του επιτρεπτού ορίου [23].
- Ανώτερες αλκοόλες: Βρίσκονται ομοίως σε μικρές συγκεντρώσεις με μόνη εξαίρεση τις εξανόλες. Οι ενώσεις αυτές υπάρχουν στον οίνο καθώς προκύπτουν ως παραπροϊόντα της ζύμωσης και μπορούν να συνεισφέρουν μέχρι και στο 50% των αρωματικών συστατικών του [23].
- Σάκχαρα: Τα βασικά σάκχαρα που περιέχονται στο σταφύλι είναι η γλυκόζη και η φρουκτόζη ενώ τα υπόλοιπα σάκχαρα που περιλαμβάνονται βρίσκονται σε πάρα πολύ μικρές ποσότητες. Συνήθως εμφανίζονται σε ανάλογη ποσότητα με το κλάσμα γλυκόζη/φρουκτόζη που συνήθως ισούται με 0,95 στο γλεύκος. Σημειώνεται πως τα σάκχαρα που δεν συμμετέχουν στην ζύμωση βρίσκονται

σε συγκέντρωση χαμηλότερη από 1,5 g/L. Η συγκέντρωση αυτή μπορεί να αυξηθεί ελαφρά κατά την παλαίωση σε δρύινα βαρέλια λόγω της διάλυσης γλυκοζιδίων από το ξύλο και της διάσπασής τους [23].

- **Οξέα:** Ο όξινος χαρακτήρας των κρασιών οφείλεται κυρίως στο τρυγικό οξύ. Το οξύ αυτό αποτελεί ένα από τα κυρίαρχα οξέα τόσο στα ανώριμα σταφύλια όσο και στο γλεύκος. Δεν είναι ιδιαίτερα διαδεδομένο στη φύση για αυτό και είναι γνωστό ως οξύ του κρασιού. Πριν την ωρίμανση η συγκέντρωση του σταφυλιού σε τρυγικό οξύ μπορεί να φτάσει έως και τα 15 g/L. Κάποια άλλα οξέα που περιέχει είναι το μηλικό (υπάρχει συνήθως σε υψηλή συγκέντρωση που μπορεί να φτάσει ως και τα 25 g/L, συνεισφέρει περίπου σε ποσοστό 50% στην ολική οξύτητα και προσδίδει στο κρασί μια ξινή γεύση), το γαλακτικό, το κιτρικό και το οξικό οξύ. Γενικότερα, τα οξέα αυτά συμβάλλουν στη ζωντάνια του χρώματος και στη γευστική ισορροπία των κρασιών.
- **Φαινολικά συστατικά:** Στην κατηγορία αυτή περιλαμβάνονται ένα εύρος χημικών ενώσεων με διαφορετικές δομές και λειτουργίες ενώ αποτελούν μια από τις βασικές κατηγορίες των δευτερογενών μεταβολιτών. Επίσης, συμβάλλουν στη στυφή γεύση, στη σταθεροποίηση του χρώματος, στην παλαίωση και συνεισφέρουν στο χρώμα των παλαιών κόκκινων κρασιών. Από χημικής άποψης διακρίνονται σε:
 - **Απλές φαινόλες:** σε αυτήν την κατηγορία ανήκουν τα βενζοϊκά και τα κινναμωμικά οξέα, καθώς και παράγωγα της βενζαλδεΐδης και της κινναμωμικής αλδεΐδης, που βρίσκονται σε οίνους που έχουν παραμείνει για παλαίωση σε ξύλινο βαρέλι.
 - **Φλαβονοειδείς ενώσεις:** είναι μία μεγάλη ομάδα φυσικών μεταβολικών προϊόντων, πολύ διαδεδομένα στα ανώτερα φυτά αλλά και στα βρύα. Σε αυτές τις ενώσεις ανήκουν οι εξής υποκατηγορίες: οι φλαβόνες (έχουν ανοιχτό κίτρινο χρώμα και αφθονούν στα κουκούτσια και στη φλούδα – για αυτό συνήθως δεν υπάρχουν στα κόκκινα κρασιά), οι φλαβονόλες (είναι φλαβόνες με έναν 3-υδροξύ-υποκαταστάτη, έχουν κίτρινο χρώμα και εντοπίζονται στο φλοιό του σταφυλιού), οι ανθοκυάνες (ερυθρές χρωστικές του σταφυλιού που βρίσκονται μόνο στο φλοιό των ρογών του ενώ η σημαντικότερη από άποψη ποσότητας χρωστικής είναι η μαλβιδίνη ή αλλιώς η οινιδίνη) και τέλος οι ταννίνες (προϊόντα πολυμερισμού των απλών φαινολών και δίνουν τη στυφή γεύση στους οίνους) [24].

Παρακάτω παρατίθεται ένας πίνακας που περιλαμβάνει τα κυριότερα φαινολικά συστατικά με τις ποσότητες τους στα λευκά και στα κόκκινα κρασιά εκφρασμένες σε (mg γαλλικού οξέος¹)/L [25].

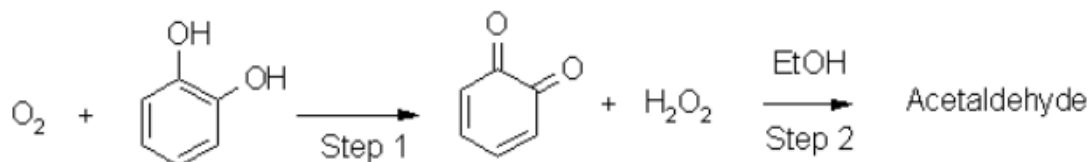
¹ Το γαλλικό οξύ είναι ένα τριυδροξυβενζοϊκό οξύ στο οποίο οι υδροξύ-ομάδες βρίσκονται στις θέσεις 3, 4 και 5 [107]. Οι κύριες πηγές του στο κρασί είναι οι σπόροι των σταφυλιών και υπάρχει ως ελεύθερο οξύ και εστέρας που συνδέεται με πολυμερή προκυανιδίνης. Το γαλλικό οξύ υπάρχει επίσης σε μίσχους των σταφυλιών και μπορεί να αυξηθεί με ζύμωση ολόκληρου του συμπλέγματος [108].

Πίνακας 2: Περιεκτικότητα των κρασιών σε φαινολικά συστατικά

Φαινολικά συστατικά	Κόκκινα κρασιά (mg/L)	Λευκά κρασιά (mg/L)
Κατεχίνη	191	35
Επιγαλοκατεχίνη	82	21
Γαλλικό οξύ	95	7
3- γλυκοσιδίνη της μαλβίνης	24	1
Rutine	9	0
Βαλανοκετόνη	8	0
Μυρισετίνη	9	0
Καφεϊκό οξύ	7.1	2.8
Ρασβερατρόλη	1.5	0

Αξίζει να σημειωθεί πως τόσο τα οξέα όσο και τα φαινολικά συστατικά του κρασιού έχουν την δυνατότητα να συμμετέχουν ενεργά σε οξειδοαναγωγικές δράσεις με αποτέλεσμα να είναι χρήσιμη η γνώση τους στην συγκεκριμένη μελέτη. Μάλιστα, το «κιτρίνισμα» και το καστανό θόλωμα στα λευκά κρασιά που πραγματοποιείται οφείλεται στην επίδραση του οξυγόνου στα φαινολικά συστατικά. Από τα φαινολικά συστατικά του σταφυλιού, αυτά που παίζουν το σπουδαιότερο ρόλο στο κρασί και στις οξειδοαναγωγικές αντιδράσεις είναι οι ταννίνες και οι ανθοκυάνες [26], [27].

Στη συνέχεια, ακολουθεί ενδεικτικά μια διαγραμματική απεικόνιση της οξείδωσης των φαινολικών συστατικών του οίνου σε μια αντίδραση δύο σταδίων [28].



Εικόνα 6: Πορεία οξείδωσης φαινολών του οίνου

Σημειώνεται πως για την αντιμετώπιση αυτών των δράσεων λαμβάνονται κάποια μέτρα, τα οποία περιλαμβάνουν και την προσθήκη κάποιο αντιοξειδωτικών όπως είναι τα εξής:

- Βιταμίνη C (ασκορβικό οξύ): Πρόκειται για μια υδατοδιαλυτή βιταμίνη που γενικά έχει την ικανότητα να παγιδεύει ιόντα χαλκού, τα οποία έχουν ισχυρή οξειδωτική δράση.
- Βιταμίνη A και β-καροτένιο: Η βιταμίνη A είναι μια λιποδιαλυτή βιταμίνη παρούσα σε πολλές λιπιδικές ουσίες ενώ το β-καροτένιο είναι παρόν σε κυτταρικές μεμβράνες και μετατρέπεται σε βιταμίνη A όταν ο οργανισμός το χρειάζεται. Ενεργούν από κοινού με τη βιταμίνη C με σκοπό να προστατεύσουν την αδρανοποιήσουν τις δραστικές ελεύθερες ρίζες.
- Γλουταθειόνη: Είναι η πιο άφθονη μη πρωτεϊνική πηγή θειόλης, εξουδετερώνει την ελεύθερη ρίζα OH και το O₂ ενώ παράλληλα ανάγει τις ρίζες τοκοφερόλης εμποδίζοντας τη λιπιδική υπεροξείδωση.
- Διοξειδίο του θείου κ.λ.π [29].

1.2.7. Ποικιλίες λευκού κρασιού

Οι ποικιλίες του λευκού κρασιού είναι πολλές και διαφέρουν από περιοχή σε περιοχή. Πιο συγκεκριμένα, υπάρχουν χιλιάδες ποικιλίες σταφυλιών που έχουν αναπτυχθεί και φτάνουν περίπου τις 5.000 παγκοσμίως. Συνήθως διαφέρουν μεταξύ τους σε χαρακτηριστικά όπως είναι τα εξής:

- Το χρώμα
- Το μέγεθος
- Η μορφή του καρπού
- Η σύνθεση του χυμού
- Η γεύση
- Ο χρόνος ωρίμανσης και
- Η ανθεκτικότητα στις ασθένειες.

Παρακάτω ακολουθεί μια εικόνα που απεικονίζει μερικές ποικιλίες καρπών σταφυλιού όπου φαίνονται κάποιες από τις διαφοροποιήσεις που αναφέρθηκαν [30].



Εικόνα 7: Διαφορές μεταξύ των ποικιλιών σταφυλιών

Οι ποικιλίες αυτές ευδοκιμούν σχεδόν σε όλο το εύρος κλιματολογικών συνθηκών και υποβάλλονται σε διαφορετικές κατεργασίες για την παραγωγή κρασιού. Με αυτό τον τρόπο δημιουργείται η τεράστια ποικιλία διαθέσιμων κρασιών που υπάρχουν τόσο στην Ελλάδα όσο και στο εξωτερικό.

Οι κυριότερες από αυτές τις ποικιλίες οι οποίες παράγονται και στην Ελλάδα είναι οι εξής:

- Ροδίτης: Είναι η ποικιλία που παρατηρείται περισσότερο στη χώρα και για αυτό το λόγο χρησιμοποιείται για να παραχθούν εκατοντάδες κρασιά. Ωριμάζει αργά και διατηρεί την οξύτητα του σε συνθήκες ζεστής ανάπτυξης, αν και είναι ιδιαίτερα ευαίσθητος σε ιούς. Συχνά αναμιγνύεται με το Σαββατιανό και χρησιμοποιείται στην παραγωγή της ρετσίνας [31]. Δίνει ευχάριστα κρασιά σε γεύση ενώ η καλλιέργεια του σε ορεινά μέρη μπορεί να δώσει κρασιά μεγαλύτερης αρωματικής πολυπλοκότητας και καλής οξύτητας [32].

- **Μοσχοφίλερο:** Εμφανίζεται ευρέως στην Πελοπόννησο και δίνει αρωματικά κρασιά ανθικού χαρακτήρα με νότες μοσχάτου. Τα κρασιά αυτά έχουν ευχάριστο αρωματικό προφίλ με άνθη, λευκόσαρκα φρούτα και βότανα, καλή οξύτητα και ευχάριστη ελαφριά γεύση [32]. Σημειώνεται πως η ποικιλία αυτή έχει υποστεί την επίδραση πολλών μεταλλαξιογόνων παραγόντων με αποτέλεσμα να παρουσιάζει μεγάλη γενετική παραλλακτικότητα σε πολλά μορφολογικά και τεχνολογικά χαρακτηριστικά.
- **Σαββατιανό:** Είναι συνδεδεμένο με τη ρετσίνα αν και παράγει καλά κρασιά χωρίς την προσθήκη ρητίνης. Καλλιεργείται κυρίως στην Αττική αλλά και σε πολλές άλλες περιοχές της Ελλάδας αφού μια από τις πιο ευρέως καλλιεργούμενες ποικιλίες της χώρας. Δίνει κρασιά καθημερινά, που καταναλώνονται εύκολα με φρουτώδη αρώματα [33].
- **Μοσχάτο Αλεξάνδρειας:** Εμφανίζεται ευρέως στη Λήμνο και δίνει πολύ αρωματικά κρασιά ανθικού χαρακτήρα με νότες μοσχάτου [32]. Η πιο πιθανή περιοχή καταγωγής του είναι η Βόρεια Αφρική και η ανοχή του στο ζεστό κλίμα της χώρας βοήθησε στην ανάπτυξη του.
- **Chardonnay:** Είναι ευέλικτο και το αμπέλι από το οποίο παράγεται έχει μεσαίο μέγεθος και κίτρινο χρώμα [31]. Η προέλευση του είναι γαλλική και στην Ελλάδα καλλιεργείται σε ορεινές και δροσερές περιοχές [34].
- **Sauvignon Blanc:** Έχει συνήθως βοτανική γεύση με καλά ισορροπημένη οξύτητα [35]. Η γεύση του είναι πιο ήπια σε σχέση με το Chardonnay και θυμίζει φραγκοστάφυλο, ξινά φρούτα, ροδάκινο, πεπόνι, μάγκο κ.α. [34].
- **Μαλαγουζιά:** Παρατηρείται σχεδόν σε όλη τη χώρα αν και η καλλιέργειά της ξεκίνησε από τη Βόρεια Ελλάδα. Προέλευση της εν λόγω ποικιλίας θεωρείται η δυτική πλευρά της κεντρικής Ελλάδας ενώ σύγχρονες καλλιέργειες εμφανίστηκαν σε αμπελώνες της Χαλκιδικής. Τα κρασιά της ξεχωρίζουν από το έντονο αρωματικό τους προφίλ στο οποίο επικρατεί το ώριμο ροδάκινο αλλά και οι βοτανικές νότες [32].
- **Ασύρτικο:** Είναι ίσως η πιο γνωστή ποιοτική ελληνική ποικιλία λευκού κρασιού. Μπορεί να διατηρήσει την οξύτητα σε θερμές συνθήκες καλλιέργειας, και αυτή η ικανότητα αυξάνει τη δημοτικότητα του σε όλες τις περιοχές της Ελλάδας. Μερικές φορές αναμιγνύεται με ποικιλίες όπως η Μαλαγουζιά, το Sauvignon Blanc και το Sémillon [31]. Γενικά, καλλιεργείται στις περισσότερες ελληνικές αμπελουργικές περιοχές και μπορεί να παραχθεί και γλυκιά ποικιλία όπως είναι το Vinsanto.
- **Sémillon:** Η ποικιλία αυτή έχει ξεχωριστό χαρακτήρα που μοιάζει με σύκο. Το Sémillon αναμιγνύεται συχνά με το Sauvignon Blanc για να ενισχύσει την γεύση του οίνου που παράγεται [36]. Σημειώνεται πως δεν έχει υψηλή αντοχή σε ασθένειες (π.χ. περονόσπορος) και δεν συνηθίζεται η καλλιέργεια του σε χαμηλές θερμοκρασίες.
- **Μικρότερες ποικιλίες όπως:** Κοτσιφάλι, Μαντηλάρι, Λιάτικο, Κοτσιφαλιότικο, Μοσχατέλα, Τσαούσι, Βοστιλίδι, Αηδόνη, Αθήρι, Βιδιανό, Κατσανό, Κυδωνίτσα, Βηλάνα, Ρομπόλα κ.λ.π. [32]. Γενικότερα, οι ποικιλίες αυτές ευδοκιμούν σε μικρότερες περιοχές της χώρας δημιουργώντας ιδιαίτερα σε γεύση και άρωμα κρασιά.

1.3. Νοθεία κρασιού

Το κρασί αποτελεί ένα από τα πιο νοθεύσιμα ποτά παγκοσμίως. Η νοθεία του μπορεί να πραγματοποιηθεί με διάφορους τρόπους και ο προσδιορισμός τους βασίζεται στις μεθόδους που αναφέρθηκαν παραπάνω (ενότητα 1.1. & Πίνακας 1).

Η πιο κοινή νοθεία του κρασιού, αλλά και γενικότερα όλων των υγρών ειδών είναι η προσθήκη νερού. Η αραίωση, όπως καλείται, γίνεται για να μειωθεί η ποσότητα του αυθεντικού ποτού αλλά παράλληλα ο συνολικός όγκος οίνου που παρέχεται στον καταναλωτή να είναι ακριβώς ο ίδιος, με απώτερο σκοπό το κέρδος. Γενικά, το κρασί που χρησιμοποιείται είναι «άκρατος οίνος» (μη προσμεμιγμένος). Οι αρχαίοι Έλληνες έπιναν το κρασί τους «κεκραμένο» δηλαδή νερωμένο. Για αυτό το λόγο ο οίνος χαρακτηρίζεται ως κρασί [37]. Άλλες κοινές νοθείες είναι η προσθήκη χυμών φρούτων (σταφυλιού, μήλου κ.λπ.) και αρτυμάτων όπως ginger και κανέλλα τα οποία προστίθενται για να ενισχυθεί ο αρωματικός χαρακτήρας των ερυθρών οίνων [38].

Μια νοθεία που είχε προκαλέσει το θάνατο δεκάδων ανθρώπων το 1985 είναι η προσθήκη διαιθυλενογλυκόλης (DEG). Η ουσία αυτή είναι ένα από τα κύρια συστατικά που χρησιμοποιούνται ως αντιψυκτικά. Η προσθήκη της στο κρασί χρησιμοποιείται για να αυξηθεί η γλυκύτητα του. Το γνωστό σκάνδαλο («1985 diethylene glycol wine scandal») ανακαλύφθηκε από ελέγχους ποιότητας στη δυτική Γερμανία και προκάλεσε τον θάνατο σε 23 ανθρώπους με τους αρμόδιους για τη νοθεία να καταλήγουν στην φυλακή [39], [40].

Άλλες γνωστές νοθείες του κρασιού είναι η χρήση ξύλινων chips και η προσθήκη γλυκαντικών, όπως η ζάχαρη και η σορβιτόλη. Τα ξύλινα chips, τα οποία είναι ψημένα ροκανίδια ξύλου, προστίθενται στο κρασί κατά τη διάρκεια της ζύμωσης και αφαιρούνται έπειτα με το φιλτράρισμα. Η ωρίμανση και η παλαίωση σε βαρέλια, που συνήθως είναι καμένα στο εσωτερικό τους, προσφέρουν μοναδικά αρωματικά χαρακτηριστικά στον οίνο [41]. Ακόμη, η προσθήκη γλυκαντικών χρησιμοποιείται για την βελτίωση της γεύσης. Σημειώνεται πως σε κάποιες χώρες (ευρωπαϊκές κυρίως) επιτρέπεται η χρήση τους μόνο για να αυξηθεί ο αλκοολικός βαθμός όπου, λόγω ψύχους, τα σταφύλια δυσκολεύονται να ωριμάσουν [42].

Τέλος, τα τελευταία χρόνια, πολλή διαδεδομένη είναι η απάτη της ετικέτας, καθώς πλαστές ετικέτες από πανάκριβα και σπάνια κρασιά τοποθετούνται σε φιάλες με κατώτερο περιεχόμενο και στη συνέχεια μεταπωλούνται [43]. Παράλληλα, μια κατηγορία απάτης πολύ συνήθης και στην Ελλάδα είναι η προσθήκη μιας ποικιλίας για την ενίσχυση μια άλλης, πιο αδύναμης σε χρώμα και πλούτο. Παράδειγμα αποτελούν τα Κρασοστάφυλα όπως το Cabernet Sauvignon και το Merlot που αναμιγνύονται με το Ξινόμαυρο [44].



Εικόνα 8: Νοθεία κρασιού με αλλαγή ετικέτας

1.4. Γενικές πληροφορίες χυμού μήλου και μηλίτη

Παρακάτω παρατίθενται κάποιες πληροφορίες για τα δύο μέσα νοθείας που θα χρησιμοποιηθούν στην παρούσα διπλωματική εργασία.

1.4.1. Χυμός μήλου

Οι χυμοί φρούτων είναι μια πολύ ισχυρή πηγή θρεπτικών συστατικών για το ανθρώπινο σώμα. Γενικότερα, έχουν την δυνατότητα να διατηρούν ένα πλούσιο περιεχόμενο σε θρεπτικές ουσίες που είναι ευεργετικές για τον ανθρώπινο οργανισμό, σε οποιαδήποτε μορφή και αν καταναλωθούν (φρέσκοι, εμφιαλωμένοι, σε κουτιά ή ακόμη μετά από κατάψυξη). Σημειώνεται πως η κατανάλωση χυμών δεν ισοδυναμεί με την κατανάλωση φρούτων αφού οι χυμοί δεν περιέχουν τις πολύτιμες φυτικές ίνες των φρούτων. Οι χυμοί είναι χαμηλής περιεκτικότητας σε λίπη ενώ παράλληλα περιέχουν μεγάλες ποσότητες βιταμινών, μεταλλικών στοιχείων και ιχνοστοιχείων [45].

Ο χυμός μήλου που θα χρησιμοποιηθεί στην παρούσα διπλωματική ως μέσο νοθείας του κρασιού είναι ένας χυμός που παράγεται από (κόκκινα συνήθως) μήλα. Τα μήλα αποτελούν μία τροφή πλούσια σε βιταμίνες και αντιοξειδωτικά και προστατεύουν από ορισμένες ασθένειες, ενώ ενισχύουν το ανοσοποιητικό σύστημα από πολλές λοιμώξεις. Πιο συγκεκριμένα, μελέτες υποδεικνύουν το φρούτο αυτό ιδανικό για την καταπολέμηση του καρκίνου, για την καλή λειτουργία του εντέρου, για την μείωση της πιθανότητας εμφάνισης εγκεφαλικού, για την καλή κατάσταση της μνήμης αλλά και για την προστασία της όρασης [46], [47].



Εικόνα 9: Χυμός μήλου

Τα στάδια παραγωγής ενός χυμού μήλου παρουσιάζονται παρακάτω:

- 1) Συλλογή μήλων. Στο στάδιο αυτό εμφανίζονται «ακαθαρσίες» όπως φύλλα και κλαδιά δέντρων, σκόνη, μίσχοι κ.α. Το πρόβλημα αυτό προκύπτει λόγω των μηχανικών μέσων που χρησιμοποιούνται για τη συλλογή των μήλων και προκειμένου να επιλυθεί τα φρούτα περνούν από ειδικές συσκευές που συγκρατούν αυτές τις «ακαθαρσίες».

- 2) Μεταφορά των φρούτων προς αποθήκευση μέσω μιας γραμμής παραγωγής. Στην γραμμή αυτή λαμβάνονται δείγματα των εισερχόμενων φρούτων και περνούν από το στάδιο του ποιοτικού ελέγχου, όπου απομακρύνονται τα ακατάλληλα προς επεξεργασία φρούτα.
- 3) Έκπλυση φρούτων. Γενικότερα τα μήλα προέρχονται από γεωργικές καλλιέργειες με αποτέλεσμα να περιέχουν αρκετή σκόνη και να περιέχουν ποσότητες εντομοκτόνων.
- 4) Εκχύμωση. Η διαδικασία περιλαμβάνει άσκηση πίεσης μέσω του αποχυμωτή και έτσι συλλέγεται ο χυμός, λίγη πούλπα και κάποια χρήσιμα έλαια για καλλυντικές χρήσεις.
- 5) Φινίρισμα. Σε αυτό το στάδιο τα μεγάλα κομμάτια πούλπας καθώς και τα σπόρια του μήλου απορρίπτονται μέσω συσκευών φινιρίσματος. Αυτές οι συσκευές τοποθετούνται στη σειρά αμέσως μετά τους εκχυμωτές και βιομηχανικά χρησιμοποιούνται δύο συσκευές στη σειρά (βασική και δευτερεύουσα).
- 6) Απομάκρυνση των ελαίων με φυγοκέντρωση. Μετά το τέλος της φυγοκέντρωσης το μίγμα διαχωρίζεται σε δύο φάσεις, την υδάτινη και την ελαιώδη, οι οποίες αξιολογούνται και αποθηκεύονται ξεχωριστά για μελλοντική χρήση. Συνήθως, η υδάτινη φάση, η οποία περιέχει πολλές αρωματικές ενώσεις, προστίθεται ξανά στο συμπυκνωμένο χυμό.
- 7) Απαέρωση για μείωση των οσμών-ατμών. Η διαδικασία αυτή πραγματοποιείται υπό κενό σε θερμοκρασίες χαμηλότερες από το σημείο βρασμού του χυμού.
- 8) Παστερίωση. Κατά την παστερίωση ο χυμός θερμαίνεται σε κατάλληλη θερμοκρασία για ορισμένο χρονικό διάστημα, ώστε να καταστραφούν οι μικροοργανισμοί και να αδρανοποιηθούν τα ένζυμα που προκαλούν την ποιοτική του υποβάθμιση.
- 9) Αποπύκρωση. Η πικρή γεύση ενός χυμού οφείλεται σε ουσίες που ανήκουν στην κατηγορία των λιμονοειδών και των φλαβονοειδών και τα επίπεδα της γεύσης αυτής μπορούν να μειωθούν με χρήση διαφόρων τεχνολογιών, οι οποίες βασίζονται σε χημικές, φυσικές και μικροβιολογικές διεργασίες. Η συνηθέστερη μέθοδος βασίζεται στην απορρόφηση των πικρών συστατικών από πορώδεις ρητίνες.
- 10) Συμπύκνωση για μείωση όγκου, ευκολότερη αποθήκευση και μεταφορά του χυμού ενώ παράλληλα αυξάνεται η διατηρησιμότητα του.
- 11) Συσκευασία. Το τελικό αυτό στάδιο της διαδικασίας παραγωγής του χυμού πραγματοποιείται όσο το υγρό διάλυμα είναι ζεστό σε μεταλλικά κουτιά ή γυάλινα μπουκάλια. Ο χυμός αφού ψυχθεί συσκευάζεται ασηπτικά και αποθηκεύεται σε θερμοκρασίες από -18 °C έως 36 °C και ανά τακτά χρονικά διαστήματα υποβάλλεται σε ελέγχους για να ελεγχθεί το μη ενζυμικό μαύρισμα, η περιεκτικότητα σε L-ασκορβικό οξύ (βιταμίνη C) και τα ποιοτικά του χαρακτηριστικά [48], [49].

1.4.2. Μηλίτης

Ο μηλίτης είναι ένα αλκοολούχο ποτό φτιαγμένο από ζυμωμένο χυμό μήλου. Η περιεκτικότητά του σε οινόπνευμα ποικίλει από 1% μέχρι 8%. Σύμφωνα με τον νόμο το ποτό αυτό πρέπει να προέρχεται από τουλάχιστον 35% χυμό μήλων (φρέσκο ή συμπυκνωμένο) ενώ σε κάποιες ευρωπαϊκές χώρες όπως η Γαλλία ο μηλίτης πρέπει να παρασκευάζεται αποκλειστικά από μήλα [50].

Για την παρασκευή του μπορεί να χρησιμοποιηθεί χυμός από οποιαδήποτε ποικιλία, αλλά υπάρχουν και ποικιλίες που καλλιεργούνται ειδικά για την παραγωγή μηλίτη. Το μέσο νοθείας αυτό είναι δημοφιλές στο Ηνωμένο Βασίλειο, όπου γίνεται και η μεγαλύτερη κατά κεφαλή κατανάλωση και έχουν την έδρα οι μεγαλύτεροι παραγωγοί του. Στην Ελλάδα απαγορευόταν η παραγωγή μέχρι το 2017. Σύμφωνα με τον κανονισμό (Ν. 2963/1922), ο ζύθος ο οποίος δημιουργείται εντός Ελλάδας έπρεπε να παρασκευαζόταν αποκλειστικά από βύνη και λυκίσκο. Ο νόμος πλέον καταργήθηκε, επιτρέποντας την παραγωγή και κατανάλωση μηλίτη στη χώρα [51].



Εικόνα 10: Μηλίτης

Ο μηλίτης θεωρείται πως έχει κάποια κοινά με την μύρα. Παρόλα αυτά, ο σκληρός μηλίτης και η μύρα διαφέρουν πολύ στη σύνθεσή τους. Ο πρώτος παράγεται από ένα συνδυασμό μαγιάς και μήλων. Επειδή οι περισσότερες μύρες είναι απαλλαγμένες από χυμούς φρούτων, η θρεπτική τους αξία φαίνεται διαφορετική από εκείνη του μηλίτη καθώς η σύνθεση της μύρας, της ζύμης, του κριθαριού και άλλων σπόρων, παράγει μια ποικιλία διαφορετικών αντιοξειδωτικών και θρεπτικών ουσιών. Η μύρα περιέχει περισσότερη πρωτεΐνη και βιταμίνη Β από το κρασί ή τον μηλίτη ενώ περιέχει επίσης μια καλή δόση καλίου. Ορισμένες μύρες, σε αντίθεση με τους μηλίτες, μπορούν να παρέχουν το 10% της συνολικής ημερήσιας πρόσληψης φυλλικού οξέος, το οποίο αποτελεί απαραίτητο συστατικό του σχηματισμού και ανάπτυξης των ερυθρών αιμοσφαιρίων [52].

Επιπλέον, το αλκοολούχο ποτό από μήλα έχει τη δυνατότητα να περιέχει όσα αντιοξειδωτικά έχει και το κρασί. Αυτά τα αντιοξειδωτικά, όπως είναι οι πολυφαινόλες,

δρουν κατά ορισμένων τύπων καρκίνου, καρδιαγγειακών παθήσεων και νευροεκφυλιστικών ασθενειών. Μια μελέτη του Πανεπιστημίου της Γλασκόβης συνέκρινε δύο ποικιλίες μηλίτη χρησιμοποιώντας την ίδια μέθοδο ζύμωσης και παραγωγής και βρήκε ένα τεράστιο φάσμα συγκέντρωσης πολυφαινόλης, καθιστώντας σαφές ότι τα επίπεδα των πολυφαινόλων μπορούν να διαφέρουν σημαντικά ανάλογα με την ποικιλία μήλων που χρησιμοποιούνται και να προσφέρουν διαφορετική θρεπτική αξία στο εκάστοτε ποτό.

Ο εξοπλισμός παραγωγής του μηλίτη είναι πολύ παρόμοιος με τον εξοπλισμό ζυθοποιίας. Ειδικότερα, αντί για ένα ζεστό μηχανισμό με ένα ζυθοποιείο, περιέχει μια συναρμολόγηση μηχανών για τον καθαρισμό, τη σύνθλιψη και την πίεση των μήλων. Το υγρό ενδιάμεσο, δηλαδή ο χυμός μήλων, οδηγείται προς ζύμωση συνήθως σε δεξαμενές με κυλινδρικό συνήθως σχήμα, οι οποίες σε σύγκριση με τις δεξαμενές παραγωγής μπύρας διαθέτουν ελαφρώς διαφορετικό μηχανολογικό εξοπλισμό. Η ζύμωση λαμβάνει χώρα σε υψηλότερες θερμοκρασίες και εκτός από την ψύξη απαιτείται συσκευή για τη θέρμανση των δοχείων για τη διατήρηση της επιθυμητής θερμοκρασίας ζύμωσης [52], [53].

Ο μηλίτης υποβάλλεται σε δύο διαφορετικά είδη ζύμωσης:

- Η πρώτη ζύμωση διεξάγεται από ζύμες που είτε έχουν προστεθεί σκόπιμα είτε είναι φυσικά παρούσες στα φλούδια των μήλων. Αυτή η ζύμωση μετατρέπει τα σάκχαρα και τις ανώτερες αλκοόλες (αλκοόλες fusel) σε αιθανόλη.
- Η δεύτερη ζύμωση, η μικρο-γαλακτική ζύμωση μετατρέπει το $L_{(-)}$ μηλικό οξύ σε $L_{(+)}$ γαλακτικό οξύ και σε διοξείδιο του άνθρακα. Αυτή η ζύμωση διεξάγεται από βακτήρια γαλακτικού οξέος που υπάρχουν στον χυμό μήλου. Η προσθήκη ζάχαρης ή επιπλέον φρούτων πριν από μια δεύτερη ζύμωση αυξάνει την περιεκτικότητα σε αιθανόλη του προκύπτοντος ποτού.

Ο μηλίτης είναι έτοιμος προς πόση μετά από μια περίοδο τριών μηνών ζύμωσης, αν και βιομηχανικά ωριμάζει στις δεξαμενές μέχρι και τρία χρόνια [54].

Συνολικά, κάποιες από τις κύριες διαφορές χυμού μήλου και μηλίτη είναι οι εξής:

- Ο μηλίτης είναι πιο πυκνός επειδή περιέχει περισσότερο πολτό και ιζήματα.
- Ο χυμός μήλου περιέχει περισσότερα σάκχαρα.
- Η διαδικασία παραγωγής τους διαφέρει στα στάδια της διήθησης της πούλπας και στη διαδικασία ζύμωσης που συμβαίνει στον μηλίτη [55].

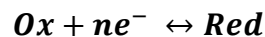
1.5. Βολταμμετρία

Παρακάτω ακολουθούν γενικές πληροφορίες ως προς την μέθοδο που θα χρησιμοποιηθεί για τον προσδιορισμό της νοθείας, το ηλεκτρολυτικό λουτρό που προστίθεται το προς μελέτη διάλυμα, τα διαφορετικά είδη ηλεκτροδίων που χρησιμοποιούνται καθώς και για την κυκλική βολταμμετρία.

1.5.1. Γενικά

Η βολταμμετρία είναι μία ηλεκτροανλυτική τεχνική, η οποία βασίζεται στην παρατήρηση της σχέσεως που συνδέει την ένταση του ρεύματος και την τάση που εφαρμόζεται στο ηλεκτρόδιο εργασίας. Η ελεγχόμενη παράμετρος είναι το δυναμικό του ηλεκτροδίου εργασίας, η οποία αναγκάζει τα μόρια ή τα ιόντα που βρίσκονται στο διάλυμα να αναχθούν ή να οξειδωθούν πάνω στην επιφάνεια του ηλεκτροδίου αυτού. Ειδοποιός διαφορά μεταξύ άλλων ηλεκτρολυτικών τεχνικών είναι ότι βασίζεται στη μέτρηση του ρεύματος, το οποίο αναπτύσσεται σε ένα ηλεκτροχημικό στοιχείο σε συνθήκες πλήρους πόλωσης συγκέντρωσης [56]. Πρόκειται για μια γρήγορη, εύκολη, φθηνή μέθοδο που δίνει αποτελέσματα με μεγάλη ακρίβεια και αυτός είναι ο λόγος που επιλέγεται η χρήση της για την πραγμάτωση του πειραματικού μέρους της παρούσας διπλωματικής εργασίας [57].

Ειδικότερα, η οξειδοαναγωγική δράση που πραγματοποιείται παρουσιάζεται παρακάτω:



Όπου:

- Ox το οξειδωτικό (προκαλεί οξείδωση ενώ το ίδιο ανάγεται)
- Red το αναγωγικό (προκαλεί αναγωγή ενώ το ίδιο οξειδώνεται)
- n ο αριθμός των ηλεκτρονίων (e^-) που μεταφέρονται

Η μαθηματική προτυποποίηση αυτής της δράσης είναι εξίσωση του Nernst. Η εξίσωση αυτή δίνει τη σχέση μεταξύ του δυναμικού του ηλεκτροδίου και της συγκέντρωσης της οξειδωμένης ή της ανηγμένης μορφής στην επιφάνεια του ηλεκτροδίου (στους 25 °C):

$$E = E^o + \left(\frac{0.059}{n}\right) \cdot \log \left(\frac{C_{ox}}{C_{red}}\right)$$

Όπου:

- C_{ox} η συγκέντρωση της οξειδωμένης μορφής
- C_{red} η συγκέντρωση της ανηγμένης μορφής
- E το δυναμικό του ηλεκτροδίου και
- E^o το δυναμικό αναφοράς

Το φαρανταϊκό ρεύμα² εξαρτάται από:

1. Φαινόμενα μεταφοράς μάζας, δηλαδή το πόσο γρήγορα μεταφέρονται οι ηλεκτροδραστικές ενώσεις από το διάλυμα στην επιφάνεια του ηλεκτροδίου.
2. Φαινόμενα μεταφοράς φορτίου, δηλαδή την ταχύτητα με την οποία τα ηλεκτρόνια μεταφέρονται από ενώσεις του διαλύματος επάνω στο ηλεκτρόδιο και αντίστροφα.

² Στις φαρανταϊκές διεργασίες (διέπονται από το νόμο του Faraday) γίνεται μεταφορά ηλεκτρονίων διαμέσου της διεπιφάνειας ηλεκτροδίου-διαλύματος και επομένως λαμβάνει χώρα οξείδωση ή αναγωγή, γιατί δεν είναι δυνατόν να επιβιώσει ελεύθερο ηλεκτρόνιο στο διάλυμα.

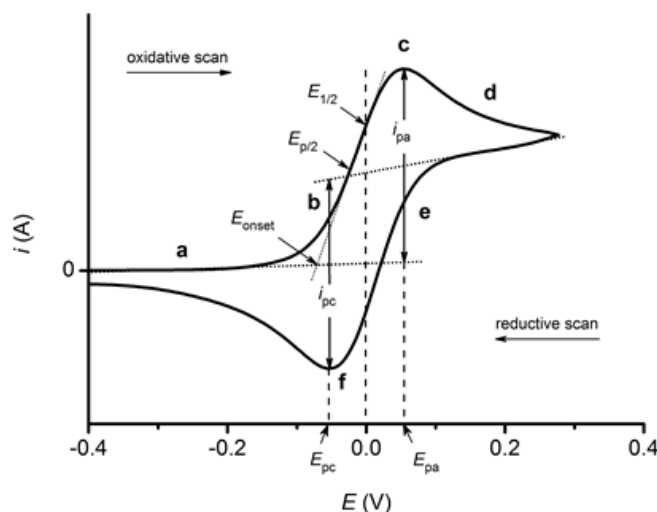
Γενικότερα, στην οξειδοαναγωγή είναι δυνατόν να συμβούν επιφανειακές ή άλλες χημικές αντιδράσεις ενώ το μέγεθος του ρεύματος καθορίζεται από το βραδύτερο στάδιο. Για τη διαδικασία που ελέγχεται από τη μεταφορά μάζας στην οποία οι ηλεκτροδραστικές ενώσεις είναι δυνατόν να φτάσουν στην επιφάνεια του ηλεκτροδίου με διάχυση, το ρεύμα που προκύπτει περιγράφεται από την εξίσωση Cottrell:

$$i = n \cdot F \cdot A \cdot \left(\frac{D}{\pi \cdot t} \right) \cdot \frac{1}{2} \cdot C$$

Όπου:

- i το ρεύμα διάχυσης που διαρρέει το σύστημα σε χρόνο t από την έναρξη του πειράματος
- F η σταθερά Faraday
- A η επιφάνεια του ηλεκτροδίου
- D ο συντελεστής διάχυσης
- C η συγκέντρωση των ηλεκτροδραστικών ενώσεων στο διάλυμα

Το διάγραμμα ρεύματος-δυναμικού καλείται βολταμμογράφημα. Από το βολταμμογράφημα, το δυναμικό στο ανερχόμενο τμήμα του κύματος ή της κορυφής αποδίδεται στο E^0 για το οξειδοαναγωγικό ζεύγος και παρέχει ποιοτικές πληροφορίες. Αντίθετα, το φαρανταϊκό ρεύμα είναι ανάλογο με την συγκέντρωση των ηλεκτροδραστικών ενώσεων και μπορεί να αξιοποιηθεί στην ποσοτική ανάλυση. Το όριο ανίχνευσης προσδιορίζεται από το σχετικό μέγεθος του φαρανταϊκού ρεύματος συγκρινόμενο με το υπολειμματικό ρεύμα [58].



Εικόνα 11: Ενδεικτικό βολταμμογράφημα

Στη βολταμμετρία τρεις είναι οι σημαντικότεροι πειραματικοί παράμετροι που ελέγχονται. Ο πρώτος αφορά τη μεταβολή του εφαρμοζόμενου δυναμικού στο ηλεκτρόδιο εργασίας. Ο δεύτερος σχετίζεται με τη μέθοδο επιλογής της μέτρησης του ρεύματος και ο τρίτος έχει να κάνει με την επιλογή ανάδευσης του ηλεκτρολυτικού διαλύματος [59].

1.5.2. Ηλεκτρολυτικό λουτρό

Το ηλεκτρολυτικό λουτρό (ή κυψελίδα) στο οποίο πραγματοποιείται η βολταμετρία περιλαμβάνει:

- Το μίγμα των συστατικών που μας ενδιαφέρουν να αναλυθούν σε σχετικά μικρές συγκεντρώσεις (10^{-3} - 10^{-5} M)
- Έναν ηλεκτρολύτη σε συγκέντρωση περίπου 0.1 M και
- Έναν διαλύτη στον οποίο να είναι διαλυτά το μίγμα των συστατικών και ο ηλεκτρολύτης.

Η επιλογή του διαλύτη και του ηλεκτρολύτη εξαρτάται από τη διαλυτότητα των χημικών που χρησιμοποιούνται και το επιθυμητό εύρος μέτρησης του δυναμικού. Σημειώνεται πως υπάρχουν διαθέσιμοι πίνακες με πιθανούς συνδυασμούς διαλυτών και ηλεκτρολυτών (βλ. εικόνα 10) αλλά η επιλογή εξαρτάται από την καθαρότητα και την ξηρότητα τους. Για καλύτερα αποτελέσματα, χρησιμοποιούνται όσο το δυνατόν καθαρότεροι διαλύτες και ηλεκτρολύτες ενώ όλα τα διαλύματα ξηραίνονται πριν την χρήση [58].

Πίνακας 3: Επιλογή διαλύτη/Ηλεκτρολύτη με δεδομένο εύρος

Electrode	Solvent	Electrolyte	Positive Range Relative to SCE / V	Negative range Relative to SCE / V
Pt	Water	1 M H ₂ SO ₄	+ 1.3	- 0.3
Pt	Water	pH 7 buffer	+ 1.0	- 0.7
Pt	Water	1 M NaOH	+ 0.6	- 0.9
Hg	Water	1 M H ₂ SO ₄	+ 0.3	- 1.1
Hg	Water	1 M KCl	+ 0.0	- 1.9
Hg	Water	1 M NaOH	- 0.1	- 2.0
Hg	Water	0.1 M Et ₄ NOH	- 0.1	- 2.4
C	Water	1 M HClO ₄	+ 1.5	- 0.2
C	Water	0.1 M KCl	+ 1.0	- 1.3
Pt	MeCN	0.1 M TBANF ₄	+ 2.5	- 2.5
Pt	DMF	0.1 M TBAP	+ 1.5	- 2.8
Pt	Benzonitrile	0.1 M TBANF ₄	+ 2.5	- 2.4
Pt	THF	0.1 M TBAP	+ 1.4	- 3.1
Pt	PC	0.1 M TEAP	+ 2.2	- 2.5
Pt	CH ₂ Cl ₂	0.1 M TBAP	+ 1.8	- 1.7
Pt	SO ₂	0.1 M TBAP	+ 3.4	- 0.0
Pt	NH ₃	0.1 M KI	+ 0.1	- 3.0

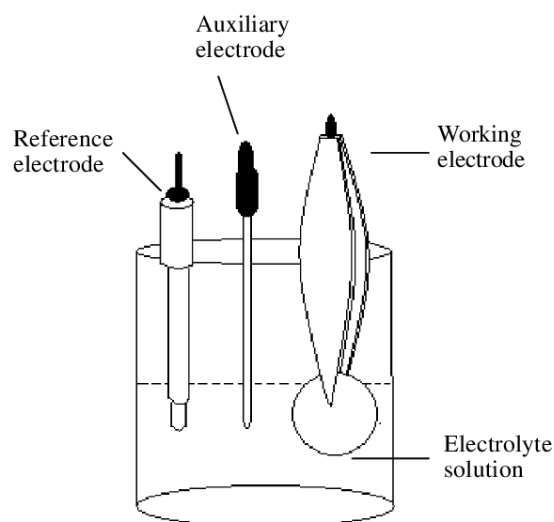
Γενικότερα, ηλεκτρολύτης είναι οποιαδήποτε ουσία που σε υδατικό διάλυμα παρέχει ελεύθερα κινούμενα ιόντα και το καθιστά ηλεκτρικά αγώγιμο. Έτσι, στη βολταμετρία, οι ηλεκτρολύτες προστίθενται για να μειώσουν τα φαινόμενα όδευσης των ηλεκτρενεργών ιόντων, να αυξήσουν την αγωγιμότητα του διαλύματος και να ρυθμίσουν την ιονική του ισχύ. Οι συγκεντρώσεις τους κυμαίνονται συνήθως από 0,01 M ως 1 M. Σε υδατικά διαλύματα, ως φέροντες ηλεκτρολύτες, χρησιμοποιούνται άλατα (KCl, KNO₃, NH₄NO₃, LiClO₄), ισχυρά οξέα (H₂SO₄, HNO₃), ισχυρές βάσεις (KOH, NaOH) και ρυθμιστικά διαλύματα. Οι φέροντες ηλεκτρολύτες πρέπει να έχουν κάποια συγκεκριμένα φυσικοχημικά χαρακτηριστικά. Ενδεικτικά, θα πρέπει να διαθέτουν ιόντα μεγάλης ευκινησίας, να δίστανται πλήρως, να είναι ηλεκτροχημικά ανενεργοί, να είναι καλοί διαλύτες της ηλεκτρενεργού ουσίας, να μη αντιδρούν μ' αυτήν και να είναι υψηλής καθαρότητας.

Τέλος, συνηθίζεται να είναι συνδεδεμένο το ηλεκτρολυτικό κελί με φιάλες αδρανών αερίων. Η απαέρωση που πραγματοποιείται στο ηλεκτρολυτικό διάλυμα χρησιμοποιείται για την αφαίρεση του οξυγόνου. Είναι μια απαραίτητη διαδικασία σε ορισμένες περιπτώσεις πριν από τη διεξαγωγή (ή και κατά τη διάρκεια) ηλεκτροχημικών πειραμάτων (π.χ. μετρήσεις σε αρνητικά δυναμικά, ευοξειδωτες ηλεκτρενεργές ουσίες). Η απαέρωση πραγματοποιείται με τη διαβίβαση αδρανούς αερίου (αζώτου ή αργού) υψηλής καθαρότητας μέσα στο ηλεκτρολυτικό διάλυμα. Τα αέρια αυτά είναι βαρύτερα από τον αέρα, οπότε μένουν στην επιφάνεια του υγρού εμποδίζοντας τη διεύθυνση του οξυγόνου της ατμόσφαιρας και δεν διαφεύγουν εύκολα από την κυψελίδα [60].

1.5.3. Ηλεκτρόδια

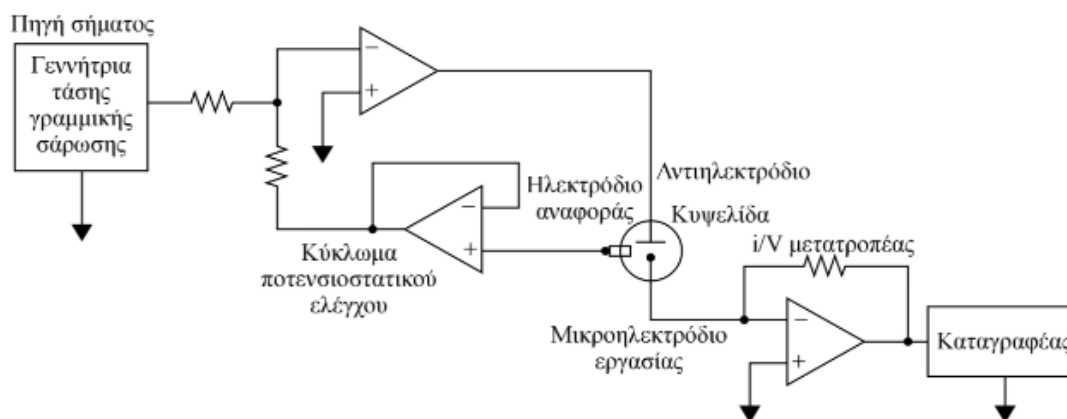
Τα ηλεκτρόδια που χρησιμοποιούνται κατά τη διάρκεια της βολταμετρίας είναι τρία και χαρακτηρίζονται ως: εργασίας, βοηθητικό και αναφοράς.

Τα ηλεκτρόδια αυτά και η διάταξη τους σε ένα ηλεκτρολυτικό λουτρό/διάλυμα παρουσιάζονται παρακάτω:



Εικόνα 12: Τυπική διάταξη βολταμετρίας

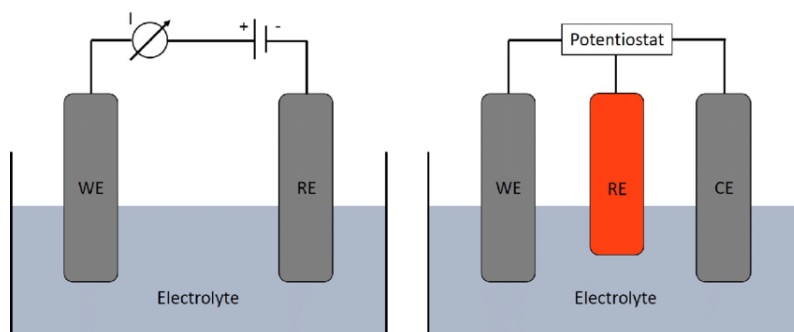
Επιπλέον, προκειμένου να κατανοηθεί σε βάθος η οργανολογία παρατίθεται ένα διάγραμμα ροής στο οποίο περιλαμβάνονται τα τμήματα μιας σύγχρονης συσκευής που εκτελεί βολταμετρικές μετρήσεις γραμμικής σάρωσης [61].



Εικόνα 13: Διάγραμμα ροής βολταμετρίας με χρήση τριών ηλεκτροδίων

Γενικά, το δυναμικό εφαρμογής στο ηλεκτροχημικό στοιχείο ελέγχεται από τον ποτενσιοστάτη και τις γεννήτριες τάσης. Στις σύγχρονες ηλεκτροχημικές διατάξεις ο ποτενσιοστάτης ελέγχεται από ηλεκτροχημικό λογισμικό (Software) πολλαπλών δυνατοτήτων μέσω ηλεκτρονικού υπολογιστή (καταγραφέας). Το δυναμικό, που εφαρμόζεται ανάμεσα στο ηλεκτρόδιο εργασίας και στο βοηθητικό ηλεκτρόδιο (αντιηλεκτρόδιο), παράγεται με μια κατάλληλη πηγή δυναμικού, που συνδέεται στην είσοδο ενός τελεστικού ενισχυτή τάσης, ο οποίος αποτελεί το βασικό στοιχείο του ποτενσιοστάτη. Από τον ποτενσιοστάτη τροφοδοτείται η κυψελίδα με ρεύμα. Σκοπός αυτής της σύνδεσης είναι να παραμένει σταθερή ή να ελέγχεται σε ένα βαθμό η διαφορά δυναμικού ανάμεσα στο ηλεκτρόδιο εργασίας και στο βοηθητικό ηλεκτρόδιο αλλά παράλληλα και να μη διέρχεται ρεύμα ανάμεσα στο ηλεκτρόδιο εργασίας και στο ηλεκτρόδιο αναφοράς.

Αντίθετα, υπάρχουν και κυψελίδες που δέχονται 2 ηλεκτρόδια όπου το ηλεκτρόδιο αναφοράς λειτουργεί και ως βοηθητικό ηλεκτρόδιο. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα το δυναμικό εφαρμογής να μην παραμένει σταθερό λόγω της μεταβολής, που υφίσταται από το γινόμενο του ρεύματος και της αντίστασης του διαλύματος, στο οποίο είναι βυθισμένα τα ηλεκτρόδια. Στις περιπτώσεις όπου το γινόμενο αυτό είναι μικρό ($<1\text{mV}$), η κυψελίδα δύο ηλεκτροδίων μπορεί να χρησιμοποιηθεί ακόμη και σε σημερινές εφαρμογές. Παρακάτω ακολουθεί μια εικονική απεικόνιση της διαφοράς που παρουσιάζεται σε ένα ηλεκτρολυτικό κελί με την ύπαρξη δύο αντί τριών ηλεκτροδίων [62].



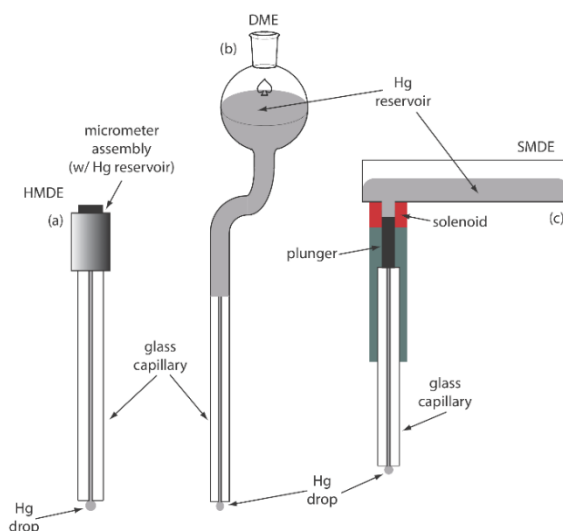
Εικόνα 14: Εικονική σύγκριση μεταξύ κελιών δύο και τριών ηλεκτροδίων

Σημειώνεται πως η υιοθέτηση της διάταξης της κυψελίδας τριών ηλεκτροδίων εξασφαλίζει ελαχιστοποίηση της ωμικής πτώσης τάσης του διαλύματος, ιδιαίτερα σε συνδυασμό με τη χρησιμοποίηση διαλυμάτων υψηλής αγωγιμότητας.

Επιπροσθέτως, τα ηλεκτρόδια εργασίας και το βοηθητικό ηλεκτρόδιο πρέπει να είναι αγώγιμα έτσι ώστε να μπορεί το φορτίο να μεταφέρεται από και προς το διάλυμα ενώ παράλληλα δεν πρέπει να προκαλούν καμία αντίδραση. Η αδράνεια αυτή επιτυγχάνεται με τη χρήση συνήθως «ουδέτερων» υλικών όπως είναι για παράδειγμα η πλατίνα (Pt). Για το σκοπό αυτό, πρέπει η επιφάνεια του ηλεκτροδίου να είναι η μεγαλύτερη δυνατή έτσι ώστε να εξασφαλίζεται ότι το μετρούμενο ρεύμα αντιστοιχεί στο ρεύμα μεταξύ ηλεκτροδίου εργασίας και βοηθητικού.

Αντίστοιχα, το ηλεκτρόδιο αναφοράς πρέπει να παρέχει μόνο ηλεκτροδιακές και όχι χημικές αντιδράσεις (χημικώς αδρανής αγωγός π.χ. Pt, C), να έχει μικρή επιφάνεια ώστε να καθορίζει το ρεύμα που διαρρέει τη κυψελίδα και να χαρακτηρίζεται από όσο το δυνατόν μεγαλύτερη περιοχή (δυναμικών) πόλωσης, με απώτερο σκοπό να επιτρέπει τη μέτρηση μεγαλύτερης ποικιλίας ηλεκτρενεργών σωματιδίων (που δρουν ως αποπολωτές). Το ηλεκτρόδιο αναφοράς είναι ρυθμισμένο στο κελί έτσι ώστε να βρίσκεται σε κύκλωμα με το ηλεκτρόδιο εργασίας σε αντίθετες κατευθύνσεις. Πιο συγκεκριμένα, το ρεύμα στο ηλεκτρόδιο εργασίας κατευθύνεται από τη στερεά κατάσταση στο διάλυμα ενώ στο ηλεκτρόδιο αναφοράς από το διάλυμα στη στερεά κατάσταση. Η συνέπεια αυτού είναι ότι το μετρούμενο δυναμικό είναι μηδέν όταν το δυναμικό του ηλεκτροδίου εργασίας είναι ίσο με το δυναμικό του ηλεκτροδίου αναφοράς. Τα πιο συνηθισμένα ηλεκτρόδια αναφοράς είναι το τυπικό ηλεκτρόδιο καλομέλανα (calomel), το κανονικό ηλεκτρόδιο υδρογόνου, το ηλεκτρόδιο αργύρου/χλωριούχου αργύρου (Ag/AgCl) σε κορεσμένο χλωριούχο κάλιο (KCl_{sat}) και το ηλεκτρόδιο Ag/Ag⁺ σε ακετονιτρίλιο [58], [63]. Τέλος, τα ηλεκτρόδια εργασίας μπορεί να είναι στερεά (π.χ. πλατίνας, χρυσού, υδραργύρου κ.λ.π.) ή ακόμα και εκτυπωμένα (screen printed) αναλόγως την εφαρμογή και το μετρούμενο διάλυμα.

Σημειώνεται πως τα ηλεκτρόδια εργασίας υδραργύρου απαντώνται και σε διάφορα σχήματα, όπως παρουσιάζονται στην εικόνα 15.



Εικόνα 15: Παραδείγματα ηλεκτροδίου υδραργύρου (αιωρούμενης σταγόνας, σταγονικό ηλεκτρόδιο και στατικό σταγονικό ηλεκτρόδιο)

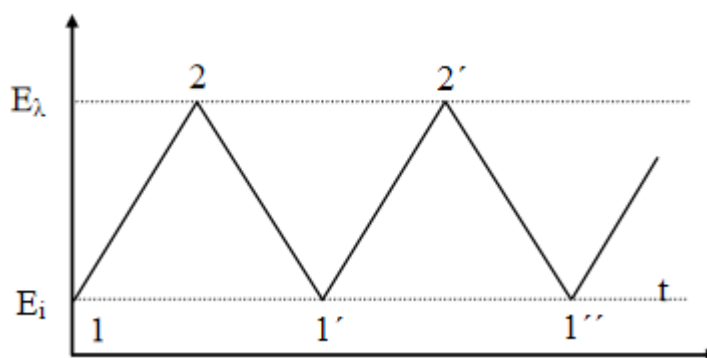
1.5.4. Κυκλική βολταμετρία

Η κυκλική βολταμετρία (Cyclic Voltammetry ή σε συντομογραφία CV) έχει καθιερωθεί τα τελευταία χρόνια ως η δημοφιλέστερη ηλεκτροχημική τεχνική. Η μέθοδος αυτή είναι η καταλληλότερη για προκαταρκτική εξέταση μιας ηλεκτροχημικής αντίδρασης παρέχοντας κυρίως ποιοτικά αποτελέσματα. Επιπλέον, η τεχνική αυτή χαρακτηρίζεται από ορισμένους επιστήμονες ως ηλεκτροχημική φασματομετρία. Αυτό οφείλεται στην ομοιότητα που παρουσιάζει το κυκλικό βολταμμογράφημα με τα συνηθισμένα φασμάτων που προκύπτουν από τις φασματομετρικές τεχνικές.

Τα ποιοτικά αποτελέσματα τα οποία μπορεί να δώσει η τεχνική αυτή είναι τα εξής:

- Αν μια ηλεκτροχημική αντίδραση είναι αντιστρεπτή ή όχι
- Αν στο ηλεκτρόδιο συμβαίνουν φαινόμενα προσρόφησης ή εκρόφησης
- Αν το λαμβανόμενο σήμα είναι φαρανταϊκό,
- Αν η αντίδραση διεξάγεται σε ένα ή περισσότερα στάδια
- Αν παράγονται ενδιάμεσα προϊόντα
- Αν συμβαίνουν φαινόμενα κατάλυσης ή παρεμπόδισης και
- Αν η αντίδραση συνοδεύεται από ομοιογενείς χημικές αντιδράσεις.

Το βασικό χαρακτηριστικό της είναι η γραμμική μεταβολή του δυναμικού του ηλεκτροδίου εργασίας, που βρίσκεται βυθισμένο σε μη αναδύμενο διάλυμα, και η καταγραφή της αντίστοιχης καμπύλης έντασης-δυναμικού. Η γραμμική σάρωση γίνεται μεταξύ δύο οριακών τιμών δυναμικού και κάθε φορά που το δυναμικό του ηλεκτροδίου φτάνει σε μια εκ των δύο τιμών αλλάζει φορά. Η διαδικασία αυτή φαίνεται αναλυτικότερα στην παρακάτω εικόνα.



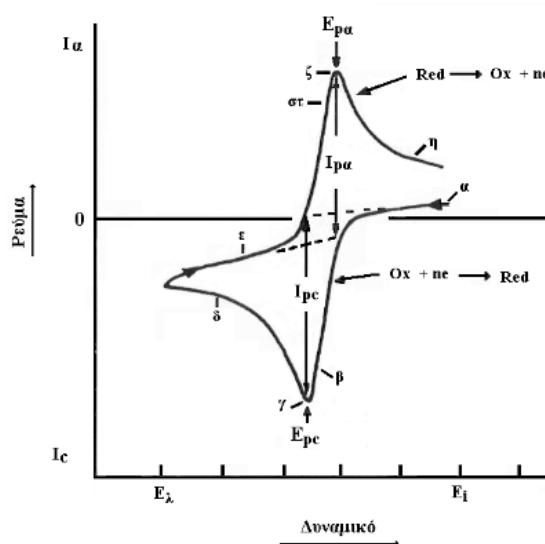
Εικόνα 16: Διάγραμμα τριγωνικής μεταβολής του δυναμικού στο ηλεκτρόδιο εργασίας

Γενικότερα, κατά τις καθοδικές σαρώσεις (τμήματα 2-1' και 2'-1'') πάνω στο ηλεκτρόδιο διεξάγονται αναγωγικές δράσεις, ενώ οι ανοδικές σαρώσεις (τμήματα 1-2, 1'-2', 1'' και εξής) συνοδεύονται από οξειδωτικές δράσεις. Επιπλέον, επειδή η ταχύτητα σάρωσης δυναμικού (sweep rate) πρέπει να είναι σταθερή, είναι φανερό ότι η ένταση του ρεύματος, που διέρχεται από τη μονάδα επιφάνειας του ηλεκτροδίου, είναι επίσης συνάρτηση του χρόνου. Η ταχύτητα σάρωσης του δυναμικού μπορεί να πάρει τιμές από λίγα $\text{mV}\cdot\text{s}^{-1}$ ως και $10^6 \text{ V}\cdot\text{s}^{-1}$. Οι καμπύλες ρεύματος-δυναμικού, που καταγράφονται από τις πειραματικές διατάξεις, όπως αναφέρθηκε και παραπάνω, λέγονται κυκλικά βολταμμογραφήματα ή απλά βολταμμογραφήματα. Συνήθως δεν

υπάρχουν διαφορές μεταξύ του πρώτου και των επόμενων διαδοχικών σαρώσεων αλλά στην περίπτωση που παρατηρηθεί κάτι τέτοιο, παρέχονται σημαντικές πληροφορίες σχετικά με το μηχανισμό διεξαγωγής της εξεταζόμενης ηλεκτροχημικής αντίδρασης. Επίσης, η μορφή ενός κυκλικού βολταμογραφήματος επηρεάζεται γενικά από τον τρόπο και την ταχύτητα μεταφοράς μάζας από και προς την επιφάνεια του ηλεκτροδίου αλλά και από την ταχύτητα μεταφοράς φορτίου κατά τη διεξαγωγή της κύριας ηλεκτροδιακής αντίδρασης. Όπως αναφέρθηκε τα πειράματα κυκλικής βολταμετρίας πραγματοποιούνται χωρίς ανάδευση ενώ προστίθεται μόνο κάποιος ηλεκτρολύτης στο ηλεκτροχημικό κελί. Έτσι, η διάχυση είναι ο αποκλειστικός τρόπος για την μεταφορά μάζας των ηλεκτρενεργών ουσιών σε αυτή τη διεργασία.

Στη συνέχεια, προκειμένου να γίνει αντιληπτό το πως διαβάζεται ένα κυκλικό βολταμογράφημα ακολουθούν κάποιες αιτιολογήσεις για την περίπτωση της αντιστρεπτής οξειδοαναγωγικής αντίδρασης μιας ηλεκτρενεργού ουσίας σε φέροντα ηλεκτρολύτη. Το γράφημα σε αυτήν την περίπτωση έχει την ακόλουθη μορφή.

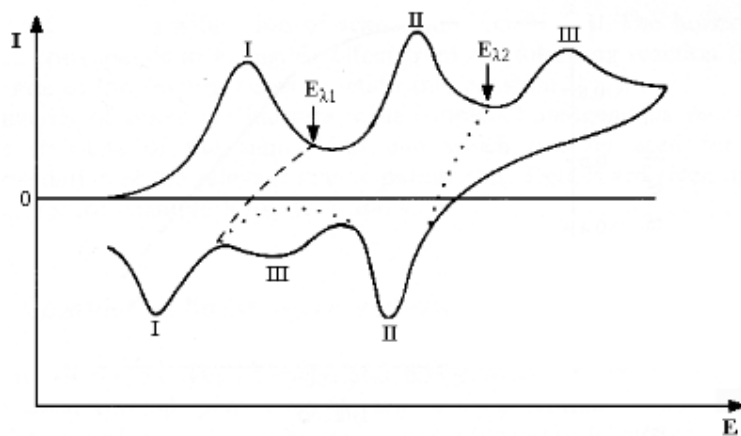
Αρχικά, εφαρμόζεται το δυναμικό εκκίνησης E_i στο σημείο α και παρατηρείται μόνο η διέλευση ενός μικρού χωρητικού ρεύματος. Σημειώνεται πως το δυναμικό E_i είναι πιο θετικό από το τυπικό δυναμικό αναγωγής E^0 που εφαρμόζεται σε ένα αντιστρεπτό σύστημα της μορφής: $Ox + ne \leftrightarrow Red$. Κατά την καθοδική σάρωση (από το α στο β) στο σημείο γ , όπου το δυναμικό είναι αρκετά αρνητικό, αρχίζει η αναγωγή των Ox και το ρεύμα φτάνει σε μια μέγιστη τιμή (I_{pc}) που αντιστοιχεί στο δυναμικό E_{pc} . Έπειτα, το καθοδικό ρεύμα μειώνεται λόγω της εξάντλησης των Ox στην περιοχή της επιφάνειας του ηλεκτροδίου εργασίας



Εικόνα 17: Κυκλικό βολταμογράφημα αντιστρεπτής ηλεκτροχημικής αντίδρασης σε φέροντα ηλεκτρολύτη

και της χρονικής δυσκολίας στην αναπλήρωσή τους από την κύρια μάζα του διαλύματος με διάχυση. Το καθοδικό ρεύμα μειώνεται γρήγορα (από το γ στο δ) λόγω της μετατροπής των Ox σε Red , τα οποία συσσωρεύονται στην επιφάνεια του ηλεκτροδίου. Η φορά σάρωσης αντιστρέφεται προς την ανοδική κατεύθυνση στο δυναμικό επιστροφής E_λ . Ομοίως, όταν το δυναμικό φθάσει σε αρκετά θετικά δυναμικά, αρχίζει η οξείδωση του Red , που έχει συσσωρευτεί στην επιφάνεια του ηλεκτροδίου και προκαλείται ανοδικό ρεύμα (από το ϵ στο ζ). Το ρεύμα αυτό αυξάνεται γρήγορα μέχρι το σημείο ζ όπου αποκτάει και τη μέγιστη (θετική) τιμή του (I_{pa}). Το ρεύμα στη συνέχεια μειώνεται (από το ζ στο η) ενώ παράλληλα μειώνεται και η συγκέντρωση του Red γύρω από την επιφάνεια του ηλεκτροδίου καθώς μετατρέπεται εκ νέου σε Ox . Με αυτόν τον τρόπο, ολοκληρώνεται ο πρώτος κύκλος σάρωσης με το δυναμικό να επανέρχεται στην τιμή E_i . Αναλόγως συνεχίζονται και οι υπόλοιποι (επιλεγμένοι από τον ερευνητή) κύκλοι σάρωσης.

Τέλος, αξίζει να σημειωθεί πως στα περισσότερα συστήματα που μελετώνται στη διεθνή βιβλιογραφία διεξάγονται παράλληλα περισσότερες από μια ηλεκτροχημικές δράσεις (όπως θα παρατηρηθεί και στην συγκεκριμένη ερευνητική εργασία). Αυτό συμβαίνει καθώς είτε γιατί στο κελί υπάρχουν περισσότερες από μία ηλεκτροενεργές ουσίες είτε γιατί το ηλεκτροδραστικό συστατικό έχει περισσότερες από μια ηλεκτροενεργές ομάδες. Σε κάθε περίπτωση, τα αντίστοιχα κυκλικά βολταμμογράφημα εμφανίζουν δύο ή και περισσότερες ανοδικές και καθοδικές κορυφές, όπως φαίνεται και στην παρακάτω εικόνα.



Εικόνα 18: Κυκλικό βολταμμογράφημα πολλών ηλεκτροενεργών ουσιών

Η εμφάνιση ή όχι των διαδοχικών κορυφών εξαρτάται από την ευκολία, με την οποία διεξάγεται η αντίστοιχη οξειδοαναγωγική αντίδραση κάτω από τις συγκεκριμένες πειραματικές συνθήκες. Με την εκλογή των κατάλληλων δυναμικών επιστροφής είναι δυνατόν να ελεγχθεί σε ποιες ηλεκτροενεργές ομάδες αντιστοιχούν οι κορυφές που εμφανίζονται στο βολταμμογράφημα του πολλαπλού συστήματος. Επομένως, είναι προφανές ότι μπορούν να ταυτοποιηθούν τα συστατικά του διαλύματος και να εκτιμηθεί ο πιθανός μηχανισμός των επιμέρους οξειδοαναγωγικών αντιδράσεων [60].

1.6. Χημειομετρία

Η Χημειομετρία είναι μια μέθοδος που χρησιμοποιείται για την αξιοποίηση και την βελτιστοποίηση εξαγωγής ενός μεγάλου όγκου πληροφοριών που προκύπτουν από αναλυτικά ποσοτικά πειράματα. Ο όρος χημειομετρία εισήχθη για πρώτη φορά το 1971 από το Σουηδό χημικό, *S. Wold* για να περιγράψει την αυξανόμενη χρήση μαθηματικών μοντέλων και στατιστικών αρχών στον κλάδο της χημείας. Ένας ορισμός που έχει επικρατήσει είναι αυτός που προτάθηκε από τον Massart κάποια χρόνια αργότερα και ακολουθεί στη συνέχεια:

«Χημειομετρία είναι ο κλάδος της Χημείας, που ασχολείται με την εφαρμογή μεθοδολογιών (στρατηγικών) της στατιστικής, των μαθηματικών, και της τυπικής λογικής (formal logic) στη Χημεία με στόχο:

- a) Το σχεδιασμό ή επιλογή των βέλτιστων πορειών (διαδικασιών) μετρήσεων και πειραμάτων,
- b) Την εξαγωγή της μέγιστης σχετικής χημικής πληροφορίας από την ανάλυση χημικών δεδομένων,

c) Την απόκτηση γνώσεων για χημικά συστήματα» [64].

Επιπλέον, η χημειομετρία βρίσκει εφαρμογές σε πολλούς άλλους τομείς και τείνει να γίνει αυτόνομος επιστημονικός κλάδος. Για παράδειγμα, οι μεθοδολογίες αποτίμησης της ποιότητας ενός υλικού διαμορφώθηκαν σε ένα υποκλάδο της Χημειομετρίας με το όνομα Qualimetrics. Ομοίως, πέραν της Αναλυτικής Επιστήμης είναι ένα χρήσιμο εργαλείο στη συνθετική χημεία, τη φαρμακευτική χημεία, τη θεωρητική χημεία, τη χημική μηχανική, τις επιστήμες υγείας, και σε άλλες επιστήμες, για τον αποδοτικότερο πειραματικό σχεδιασμό και την εξαγωγή των βέλτιστων πληροφοριών [65], [66].

Ιστορικά, η ανάπτυξη της χημειομετρίας τοποθετείται τον 20^ο αιώνα και συγκεκριμένα τη δεκαετία του 70'. Την περίοδο αυτή αυξάνεται σε μεγάλο βαθμό η πολυπλοκότητα της χημικής οργανολογίας και των αναλυτικών διαδικασιών οπότε κρίνεται απαραίτητη και η εύρεση μιας τέτοιας μαθηματικής τεχνικής επεξεργασίας αποτελεσμάτων. Ειδικότερα, οι χημικοί εκτελούσαν πλέον περισσότερο δύσκολες και έμμεσες μετρήσεις, των οποίων τα αποτελέσματα δεν επέτρεπαν μια απλή και κλασσική γραφική απεικόνιση. Έτσι, το 1971, ο Svante Wold του Πανεπιστημίου Umea στη Σουηδία επινόησε τον όρο “Chemometrics” σε μια ερευνητική πρόταση και αμέσως μετά σε συνεργασία με τον Bruce Kowalski του Πανεπιστημίου της Washington εισήγαγαν τον όρο στις ΗΠΑ. Στη συνέχεια, καθώς υπήρξε ευρέα ανάπτυξη της συγκεκριμένης επιστήμης ως υποκλάδο της Χημείας δημιουργήθηκε το 1974 η Διεθνής Ένωση Χημειομετρίας (International Chemometrics Society) [67].

Αξίζει να σημειωθεί πως πρόκειται για μια ομάδα τεχνικών που εμφανίζει πολλά θετικά και για αυτό το λόγο χρησιμοποιείται σε μεγάλο βαθμό σήμερα. Τα πλεονεκτήματα που διαθέτει είναι τα εξής:

1. Καλύτερη ερμηνεία πολλών και περίπλοκων δεδομένων
2. Υψηλό ποσοστό ακρίβειας και αποτελεσματικότητας στην πρόβλεψη
3. Διαθέτει μη χρονοβόρες τεχνικές χωρίς ιδιαίτερο κόστος
4. Διευκολύνει τη διαδικασία λήψης αποφάσεων [68].

Τέλος, στην ομάδα της χημειομετρίας υπάρχουν πολλές τεχνικές επεξεργασίας δεδομένων αλλά παρακάτω θα αναλυθούν θεωρητικά μόνο αυτές που θα χρησιμοποιηθούν στην παρούσα διπλωματική.

1.6.1. Ανάλυση κύριων συνιστωσών (PCA)

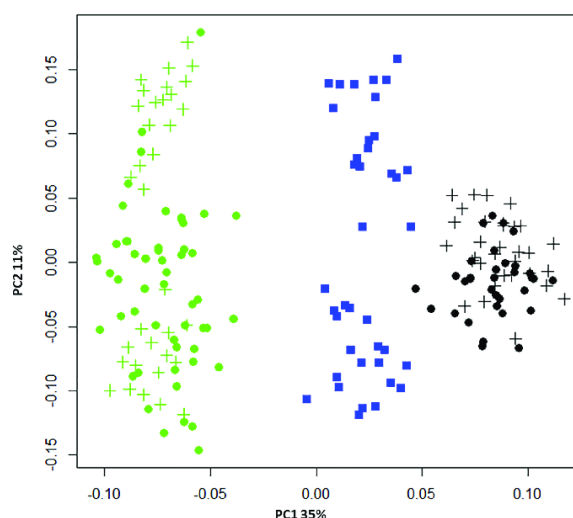
Η ανάλυση κύριων συνιστωσών (PCA), αποτελεί μία γραμμική μέθοδο συμπίεσης δεδομένων. Η μέθοδος αυτή περιλαμβάνει τον επαναπροσδιορισμό των συντεταγμένων ενός συνόλου δεδομένων σε ένα άλλο σύστημα συντεταγμένων το οποίο θα είναι καταλληλότερο στην επικείμενη ανάλυση. Αυτές οι νέες συντεταγμένες είναι το αποτέλεσμα ενός γραμμικού συνδυασμού προερχόμενου από τις αρχικές μεταβλητές και εκπροσωπούνται σε ορθογώνιο άξονα, ενώ τα επικείμενα σημεία διατηρούν μια φθίνουσα σειρά όσο αφορά στη τιμή της διακύμανσής τους. Για αυτό το λόγο, το πρώτο κύριο συστατικό (principal component) διατηρεί περισσότερες πληροφορίες δεδομένων σε σύγκριση με το δεύτερο το οποίο δεν διατηρεί πληροφορίες

οι οποίες έχουν εισέλθει νωρίτερα (στο πρώτο συστατικό). Αξίζει να σημειωθεί επίσης πως οι κύριες αυτές συνιστώσες δεν συσχετίζονται.

Η συνολική ποσότητα των κύριων συνιστωσών είναι ίση με τη ποσότητα των αρχικών μεταβλητών και παρουσιάζει τις ίδιες πληροφορίες στατιστικής. Εντούτοις, η συγκεκριμένη μέθοδος επιτρέπει την μείωση του συνόλου των μεταβλητών, καθώς τα πρώτα συστατικά (principal components) διατηρούν περισσότερο από το 90% των στατιστικών δεδομένων από τα αρχικά δεδομένα. Λόγω αυτών των σημαντικών πλεονεκτημάτων, η μέθοδος αυτή είναι ευρέως διαδεδομένη στην συμπίεση εικόνας και θα χρησιμοποιηθεί και στην επεξεργασία των πειραματικών δεδομένων στη συνέχεια της διπλωματικής [69].

Τα βήματα που ακολουθούνται είναι τα εξής:

1. Λήψη δεδομένων
2. Αφαίρεση του μέσου όρου
3. Υπολογισμός του πίνακα συνδυακότητας
4. Υπολογισμός των ιδιοδιανυσμάτων και των ιδιοτιμών ενός πίνακα συνδιακύμανσης
5. Επιλογή των στοιχείων που θα αποτελέσουν το χαρακτηριστικό διάνυσμα
6. Συλλογή των νέων δεδομένων
7. Επαναφορά των αρχικών δεδομένων [70], [71].



Εικόνα 19: Ενδεικτικό διάγραμμα PCA

Σε αυτήν την μέθοδο, για την αξιολόγηση των αποτελεσμάτων συνήθως χρησιμοποιούνται τα παρακάτω στατιστικά μεγέθη:

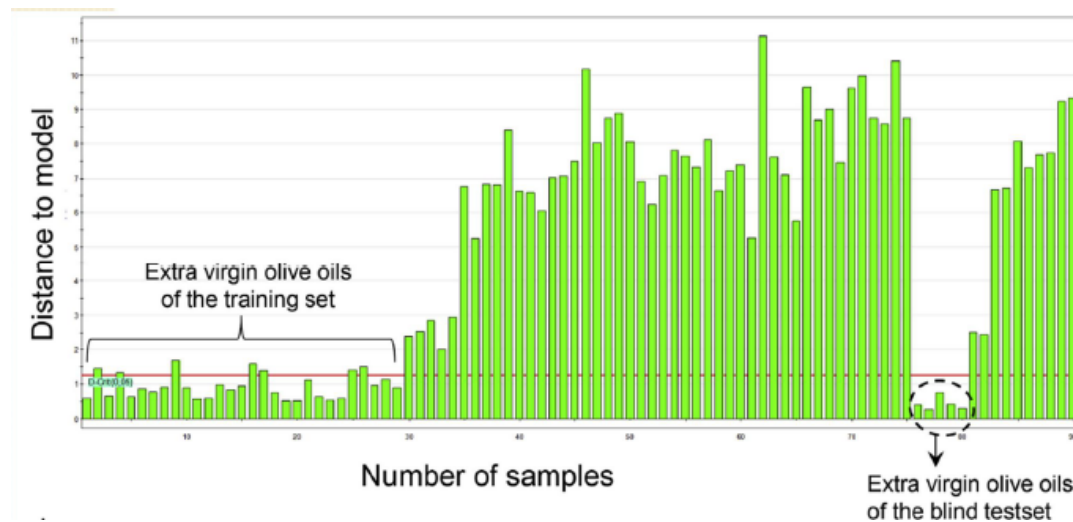
- a) Ο συνολικός συντελεστής συσχέτισης R^2 (cum), ο οποίος εκφράζει το ποσοστό των αθροισμάτων των τετραγώνων όλων των μεταβλητών X που ερμηνεύεται από όλες τις εξαχθείσες κύριες συνιστώσες και
- b) ο διασταυρωμένος συντελεστής συσχέτισης Q^2 (cum), ο οποίος εκφράζει την ικανότητα πρόβλεψης του μοντέλου [72].

1.6.2. Μοντελοποίηση μιας κλάσης (Class modelling)

Η μοντελοποίηση μιας κλάσης ή όπως αναφέρεται στην παγκόσμια βιβλιογραφία class modelling είναι από τις πιο πρόσφατες χρησιμοποιούμενες χημειομετρικές μεθόδους. Επί της ουσίας, πρόκειται για μια εποπτευόμενη μέθοδο η οποία χρησιμοποιείται για να γίνει εστίαση σε μια συγκεκριμένη ομάδα δειγμάτων ή ενώσεων.

Η ειδοποιός διαφορά αυτής της χημειομετρικής τεχνικής σε σχέση με τη προηγούμενη που αναφέρθηκε είναι πως δεν πραγματοποιείται κατάταξη των δειγμάτων σε επιμέρους κατηγορίες αλλά δημιουργείται μια ομαδοποίηση με βάση το αν η ένωση X παρουσιάζει ή όχι μια ιδιότητα Y. Αυτό που ελέγχεται σε κάθε περίπτωση είναι η απόσταση κάθε δείγματος από το μοντέλο σε σχέση με την «κρίσιμη απόσταση» που ορίζεται από 95% στάθμη εμπιστοσύνης. Η κρίσιμη απόσταση περιγράφεται με βάση την κόκκινη γραμμή που εμφανίζεται στην παρακάτω εικόνα (εικόνα 20) ενώ τα δείγματα που αποκλίνουν από αυτήν δεν ανήκουν στην αρχική ομάδα που μοντελοποιήθηκε.

Σημειώνεται πως η εικόνα εισάγεται από μια διπλωματική εργασία που έγινε σε προηγούμενη ανάλυση νοθείας σε δείγματα παρθένου ελαιόλαδου του εργαστηρίου Ανόργανης και Αναλυτικής χημείας. [73].



Εικόνα 20: Ενδεικτικό διάγραμμα class modelling

Η διαδικασία αυτή αξιοποιείται σε πολλούς κλάδους και ειδικότερα μπορεί να γίνει χρήση της από την εύρεση λαθών σε βιομηχανική κλίμακα έως την υπολογιστική μηχανική και κάποιες κλινικές διαγνώσεις. Παρόλα αυτά, η αξιοποίηση της μεθόδου αυτής στην χημεία των τροφίμων είναι ακόμα περιορισμένη ενώ στη θέση της χρησιμοποιούνται οι παλιότερες τεχνικές διάκρισης που αναφέρθηκαν παραπάνω. Η αιτία της παραπάνω παρατήρησης είναι ότι σπάνια υπάρχουν τα δεδομένα για την δημιουργία της αρχικής τάξης που θα καθορίσει και την κρίσιμη απόσταση. Γενικότερα, αξίζει να σημειωθεί πως είναι μια πολλά υποσχόμενη μέθοδος που αναμένεται να χρησιμοποιηθεί σε μεγάλο βαθμό στην βιομηχανία των τροφίμων καθώς χαρακτηρίζεται από μια σχετική ευκολία στην πραγματοποίηση της με υπολογιστικά εργαλεία και είναι γενικά μια τεχνική που δίνει αποτελέσματα με μεγάλη ακρίβεια [74].

1.6.3. Ανάλυση μερικών ελαχίστων τετραγώνων (PLS)

Η ανάλυση μερικών ελαχίστων τετραγώνων (Partial least squares regression ή PLS) είναι μια μέθοδος που χρησιμοποιείται ευρύτατα στην χημειομετρική ανάλυση και έχει πολλές ομοιότητες με την μέθοδο PCA. Είναι ευρέως γνωστό ότι η πολλαπλή παλινδρόμηση χρησιμοποιείται όταν τα δεδομένα του μοντέλου περιγράφονται από πολλές μεταβλητές και ειδικότερα στην περίπτωση που οι μεταβλητές είναι αρκετά περισσότερες από τις παρατηρήσεις. Επί της ουσίας, λαμβάνουμε ένα μοντέλο που να μην καταφέρνει να προσαρμοστεί στα πειραματικά δεδομένα αλλά δεν καταφέρνει με ευκολία και ασφάλεια να προβλέψει τυχόν νέα δεδομένα (φαινόμενο over-fitting).

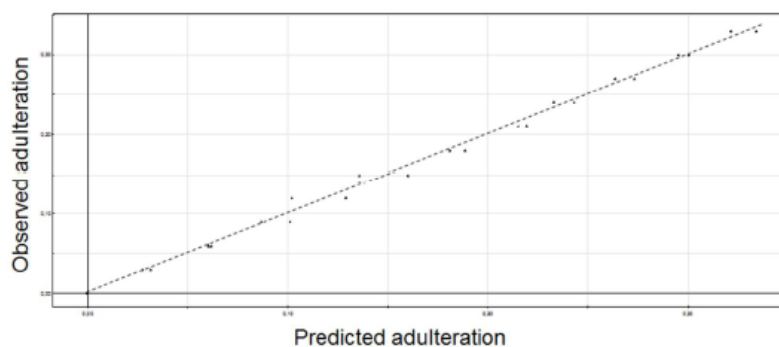
Έτσι, σε αντίθεση με την παλινδρόμηση κύριων συνιστωσών (PCA), η οποία βρίσκει συνιστώσες του πίνακα X (οι οποίες ερμηνεύουν καταλλήλως τον ίδιο πίνακα), η μέθοδος αυτή καταφέρνει να βρει τις συνιστώσες του X (οι οποίες δεν συσχετίζονται απαραίτητα μεταξύ τους) και αυτές με τη σειρά τους προβλέπουν με τον καλύτερο δυνατό τρόπο το Y. Η μόνη προϋπόθεση που υπάρχει σε αυτήν την μέθοδο είναι ότι οι συγκεκριμένες συνιστώσες πρέπει να ερμηνεύουν τη μέγιστη δυνατή συνδυασπορά μεταξύ του X και Y. Επομένως, ο στόχος της PLS είναι να δημιουργεί λανθασμένες μεταβλητές, οι οποίες θα ερμηνεύουν τη μέγιστη διασπορά στην απόκλιση ενώ παράλληλα θα οδηγεί στην καλή μοντελοποίηση των αποκρίσεων [75], [76].

Σημειώνεται πως πρόκειται για μια εποπτευμένη τεχνική, δηλαδή ο χρήστης γνωρίζει ήδη πως κατατάσσονται τα αρχικά δείγματα και έτσι κατασκευάζεται ένα μοντέλο πρόβλεψης και υπολογίζονται τα όρια ανίχνευσης και ποσοτικοποίησης του.

Γενικότερα, η συγκεκριμένη μέθοδος χρησιμοποιείται για τους εξής σκοπούς στην αναλυτική χημεία:

1. Βαθμονόμηση (υπολογισμός της συνάρτησης βαθμονόμησης από γνωστά φασματικά και αναλυτικά δεδομένα ενός πληθυσμού δειγμάτων αναφοράς)
2. Επικύρωση του μοντέλου (αξιολόγηση δεδομένων για τα οποία είναι γνωστή η τιμή του Y αλλά δεν συμμετέχουν στην κατάστρωση του πίνακα X).
3. Πρόβλεψη του μοντέλου (χρήση της συνάρτησης βαθμονόμησης στην πρόβλεψη της ιδιότητας Y με βάση τα X δειγμάτων που δεν έχουν χρησιμοποιηθεί στη βαθμονόμηση αλλά είναι της ίδιας φύσης με αυτά) [77].

Ενδεικτικά, παρατίθεται η απεικόνιση μέσω της μεθόδου PLS της προβλεπόμενης και της παρατηρούμενης νοθείας [73].



Εικόνα 21: Ενδεικτικό διάγραμμα PLS

2. Πειραματικό μέρος

Στις παρακάτω ενότητες περιλαμβάνεται αναλυτικά η πειραματική διαδικασία η οποία πραγματοποιήθηκε για τη διεξαγωγή της παρούσας διπλωματικής. Ειδικότερα, στην δεύτερη αυτή ενότητα της εργασίας εκτός από μια συνοπτική περιγραφή της συνολικής διαδικασίας περιλαμβάνονται και τα δείγματα που συλλέχθηκαν, τα όργανα, οι συσκευές, τα αντιδραστήρια που χρησιμοποιήθηκαν καθώς και οι διαδικασίες που ακολουθήθηκαν (προκατεργασία) για την βελτιστοποίηση των βολταμετρικών προφίλ. Επιπλέον, αναφέρονται τα στατιστικά και υπολογιστικά εργαλεία που χρησιμοποιούνται για να προκύψουν ποιοτικά και ποσοτικά αποτελέσματα.

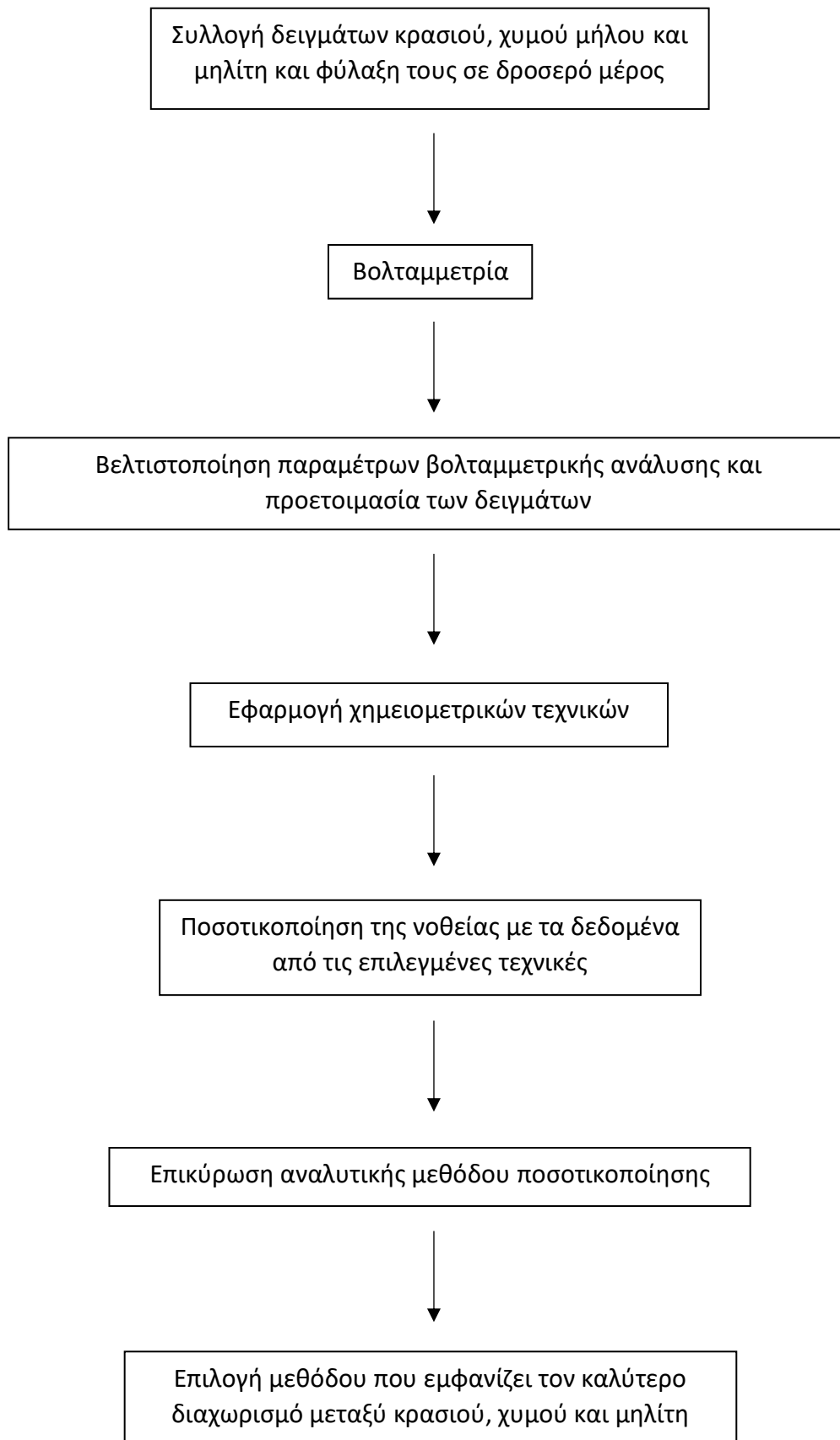
2.1. Σχεδιασμός πειραματικής διαδικασίας

Αρχικά, όπως ήδη αναφέρθηκε, το αντικείμενο της παρούσας διπλωματικής αποτελεί η ανάπτυξη μεθόδου για τον προσδιορισμό της νοθείας δειγμάτων κρασιού με χυμό μήλου και μηλίτη. Είναι γενικά μια διαδικασία που δεν έχει βρεθεί στην ελληνική και στην ξένη βιβλιογραφία και η περάτωση της περιλαμβάνει πολλά κομμάτια που βασίζονταν στην εύρεση νοθείας μέσω βολταμετρικών τεχνικών για άλλα δείγματα (π.χ. λάδι, μέλι, γάλα κ.λ.π.).

Έτσι, για το σκοπό αυτό θα συλλεχθούν δείγματα κρασιού, χυμού μήλου και μηλίτη από όλη την γεωγραφική επικράτεια της Ελλάδας και θα μελετηθούν με βολταμετρία. Έπειτα, απαιτείται μια διαδικασία βελτιστοποίησης των παραμέτρων της ανάλυσης, όπου πραγματοποιείται η εύρεση του κατάλληλου μέσου εκτέλεσης βολταμετρικών αναλύσεων, η επιλογή ηλεκτροδίου εργασίας και τα δυναμικά σάρωσης του προς ανάλυση δείγματος αλλά και μια διαδικασία για την προετοιμασία των δειγμάτων. Για την μεγιστοποίηση των πληροφοριών που θα εξαχθούν από τα πειραματικά δεδομένα θα χρησιμοποιηθούν κατάλληλες πολυμεταβλητές μέθοδοι, όπως η μη εποπτευμένη μέθοδος τεχνική της ανάλυσης κύριων συνιστωσών (PCA) και η μοντελοποίηση μιας κλάσης (Class modelling).

Στη συνέχεια, με βάση τα αποτελέσματα των τεχνικών αυτών θα εμφανιστούν οι κυριότερες διαφορές μεταξύ των δειγμάτων που είναι νοθευμένα ενώ στη συνέχεια θα εξετασθεί η ποσοτική αξιολόγηση της νοθείας μέσω ανάλυσης δειγμάτων κρασιού που έχει νοθευτεί με γνωστές ποσότητες χυμού μήλου και μηλίτη χρησιμοποιώντας την τεχνική ανάλυση μερικών ελαχίστων τετραγώνων (PLS). Τέλος, οι μέθοδοι θα επικυρωθούν ως προς τα χαρακτηριστικά ποιότητας τους (όριο ανίχνευσης, γραμμική περιοχή και πιστότητα).

Η αναπαράσταση αυτής της πειραματικής διαδικασίας παρουσιάζεται μέσω ενός διαγράμματος ροής στην εικόνα που ακολουθεί στην ερχόμενη σελίδα.



Εικόνα 22: Σχεδιασμός πειραματικής διαδικασίας

2.2. Υλικά και μέθοδοι

Στις επόμενες υποενότητες θα αναφερθούν αναλυτικά ο τρόπος συλλογής των δειγμάτων και τα δείγματα που θα χρειαστούν για την διεξαγωγή του πειραματικού μέρους της παρούσας διπλωματικής, τα αντιδραστήρια που χρησιμοποιούνται αλλά και οι κύριες συσκευές που απαιτούνται τόσο για τις βολταμετρικές αναλύσεις όσο και για περιφερειακές μετρήσεις κατά τη διάρκεια της διαδικασίας βελτιστοποίησης των συνθηκών (π.χ. ζυγίσεις).

2.2.1. Συλλογή δειγμάτων κρασιού, χυμού μήλου και μηλίτη

Κατά την παρούσα εργασία συλλέχθηκαν συνολικά 55 λευκά κρασιά από την ελληνική αγορά. Οι λευκοί οίνοι αγοράστηκαν κυρίως από μεγάλα πολυκαταστήματα ειδών διατροφής (σούπερ-μάρκετ και κάβες) της Αττικής, τα οποία είναι είτε από μεγάλους παραγωγούς που πωλούνται παντού είτε από μικρότερους που διατίθενται αποκλειστικά σε επιλεγμένα καταστήματα. Θα πρέπει να σημειωθεί πως τα δείγματα κρασιού που συλλέχθηκαν καλύπτουν γεωγραφικά σχεδόν όλο το σύνολο των Π.Ο.Π. περιοχών που παράγουν κρασί (Πελοπόννησος, Κρήτη, Ιόνια Νησιά, Αιγαίο, Μακεδονία και Θράκη) ενώ παράλληλα προέρχονται από όλες τις πιθανές ποικιλίες και τους συνδυασμούς ποικιλιών που αναφέρθηκαν στο θεωρητικό μέρος της εργασίας. Επιπλέον, συλλέχθηκαν 17 μάρκες φυσικού χυμού μήλου και ανάμικτου χυμού όπου το μήλο είναι κυρίαρχο στην ποσοστιαία αναλογία με τα άλλα φρούτα καθώς και 9 μάρκες μηλίτη (με και χωρίς αρώματα άλλων φρούτων).

Τα κρασιά, οι χυμοί και οι μηλίτες μετά την συλλογή τους μεταφέρθηκαν στο εργαστήριο και αποθηκεύτηκαν σε ψυγείο σε $T = 4\text{ }^{\circ}\text{C}$, καθώς σε αυτήν την θερμοκρασία διατηρούνται οι φαινολικές ενώσεις σε μεγαλύτερο βαθμό από ότι σε θερμοκρασία περιβάλλοντος ($25\text{ }^{\circ}\text{C}$).

Παρακάτω ακολουθούν οι επωνυμίες των κρασιών, το είδος τους, η κατηγορία/ποικιλία τους, η προέλευση καθώς και ο προμηθευτής τους (πίνακας 3) αλλά και μια εικονική αναπαράσταση (εικόνα 24) με τον χάρτη της Ελλάδας των περιοχών που καλύπτονται με τη δειγματοληψία.

Πίνακας 4: Κρασιά που συλλέχθηκαν και αναλύθηκαν

α/α	Όνομασία	Είδος	Κατηγορία/ποικιλία	Προέλευση	Προμηθευτής
1	ΚΑΝΕΝΑΣ	Ξηρό	Μοσχάτο Αλεξάνδρειας και Chardonnay	Ίσμαρος, Ροδόπη	ΤΣΑΝΤΑΛΗΣ Ε. Α.Ε.
2	ΚΥΡ ΓΙΑΝΝΗ - ΠΑΡΑΓΚΑ	Γλυκό	Ροδίτης	Αμύνταιο, Φλώρινα	ΚΥΡ - ΓΙΑΝΝΗ
3	ΚΑΤΩΓΙ ΑΒΕΡΩΦ	Ξηρό	Chardonnay και Ροδίτης	Μέτσοβο	Κατώγι
4	ΤΟ ΚΡΑΣΙ ΤΗΣ ΠΑΡΕΑΣ	Ξηρό	Κοτσιφάλι, Μαντηλάρι, Λιάτικο και Κοτσιφάλι	Πεζά, Κρήτης	Ένωση Αγ. Συνεταιρισμών Πεζών Κρήτης
5	Κτήμα Ρεπάνη Μοσχοφίλερο	Ξηρό	Μοσχοφίλερο (βιολογικό)	Νεμέα	ΝΙΚΟΛΑΣ ΡΕΠΑΝΗΣ ΑΒΕΕ
6	ΑΡΩΜΑ ΛΗΜΝΟΥ	Ξηρό/ΠΟΠ	Μοσχάτο Αλεξάνδρειας	Λήμνος	ΝΙΚΟΛΑΣ ΡΕΠΑΝΗΣ ΑΒΕΕ

7	ΟΙΝΟΣ ΛΕΥΚΟΣ SAUVIGNON BLANC	Ξηρό	Ροδίτης και Sauvignon Blanc	Πελοπόννησος	ΔΙΟΝΥΣΟΣ ΟΙΝΟΠΟΙΗΤΙΚΗ Α.Β.Ε.Ε
8	Chateau Nico Lazaridi 2013	Ξηρό	Sauvignon Blanc, Ungi Blanc και Μοσχάτο Αλεξάνδριας	Δράμα	Νίκος Λαζαρίδης Α.Ε.
9	Ροδίτης Σαββατιανό (χύμα)	Ξηρό	Σαββατιανό και Ροδίτης	Νεμέα	Λεκάκης Α.Ε.
10	Αθήρι 2018	Ξηρό	Αθήρι	Άγιος Παύλος, Χαλκιδική	ΤΣΑΝΤΑΛΗΣ Ε. ΑΕ
11	Μαντινεία	Ξηρό	Μοσχοφίλερο	Μαντινεία, Αρκαδία	ΑΜΒΥΞ Α.Ε.
12	ΑΒ ΚΡΗΤΙΚΟΣ	Ξηρό	Βηλάνα/ Βιδιανό	Χανιά, Κρήτη	ΑΒ Βασιλόπουλος
13	Μαλαματίνα	Ξηρό	Σαββατιανό και Ροδίτης	Καλοχώρι, Θεσσαλονίκη	ΜΑΛΑΜΑΤΙΝΑΣ Ε.& ΥΙΟΣ Α.Ε.Β.Ε.
14	Santorini Assyrtiko 2019	Ξηρό	Ασύρτικο	Σαντορίνη	Santo wines
15	SAMENA	Γλυκό	Μοσχάτο Σάμου	Σάμου	Ε.Ο.Σ. Σάμου
16	Erotico	Ξηρό	Ροδίτης	Τύρναβος Λάρισα	Οινοποιία Βασδαβάνος
17	Robola of Cephalonia	Ξηρό	Ρομπόλα	Κεφαλλονιά	Ορεάλιος Γη
18	Cellar Ροδίτης Μοσχοφίλερο	Ξηρό	Ροδίτης και Μοσχοφίλερο	Εύβοια και Αττική	THE CELLAR
19	Σαββατιανό 2019 SOKOS	Ξηρό	Σαββατιανό	Ερυθρές, Βοιωτία	Οινοποιητική Σώκου
20	Flowers 2019	Ξηρό	Ασύρτικο	Γιάννενα	Ελληνικά κελάρια
21	Ρετσίνα	Ξηρό	Ρετσίνα	Ερυθρές, Βοιωτία	ΠΕΝΘΕΑΣ Α.Ε.
22	Economy οίνος λευκός	Ξηρό	Πολυποικιλιακός	Ζευγολάτο, Κορινθία	DAILY ORANGE Α.Ε.
23	Μικρές φάρμες του βουνού- μοσχοφίλερο	Ξηρό	Μοσχοφίλερο	Νεμέα	MARKET IN Α.Ε.
24	Κρητικός ΑΒ	Ξηρό	Βηλάνα	Κρήτη	Ι. Μπουτάρης & Υιός
25	Μοσχοφίλερο Μπουτάρη	Ξηρό	Μοσχοφίλερο	Νάουσα, Πελοπόννησος	Ι. Μπουτάρης & Υιός
26	Μικρές φάρμες του βουνού- ρετσίνα	Ξηρό	Ρετσίνα	Νάουσα, Πελοπόννησος	Α.Α.Ο.Σ. VAENI
27	Λευκός ξηρός - ΚΟΥΡΤΑΚΗ	Ξηρό	Πολυποικιλιακός	Μαρκόπουλος	Δ.ΚΟΥΡΤΑΚΗΣ Α.Ε.
28	Παλιό κελάρι	Ξηρό	Πολυποικιλιακός	Αττική	ΟΙΝΟΧΟΟΣ Α.Ε.
29	Economy ρετσίνα	Ξηρό	Ρετσίνα	Ζευγολάτο, Κορινθία	DAILY ORANGE Α.Ε.
30	Μικρές φάρμες του βουνού	Ξηρό	Πολυποικιλιακός	Αλιβέρι, Εύβοια	Α.Α.Ο.Σ. VAENI
31	Μικρές φάρμες του βουνού - Ζίτσα	Ξηρό	Πολυποικιλιακός	Ζίτσα, Ιωάννινα	Α.Α.Ο.Σ. VAENI

32	Μικρές φάρμες του βουνού - Μαντίνεια	Ξηρό	Μοσχοφίλερο	Μαντίνεια, Αρκαδία	Α.Α.ΟΣ. VAENI
33	Πυθάρι	Ξηρό	Πολυποικιλιακός	Τρίπολη	Α.Γ. ΚΟΥΤΣΟΔΗΜΟΣ Α.Ε.Ε.
34	Λευκός οίνος ξηρός	Ξηρό	Πολυποικιλιακός	Μέγαρα	ΑΘΑΝΑΣΙΟΣ Κ. ΒΑΡΔΟΣ
35	ΑΛΛΟΤΙΝΟ	Ξηρό	Πολυποικιλιακός	Μαρκόπουλος	Ελληνικά Κελάρια
36	Άκρες	Ξηρό	Μοσχοφίλερο/Αλεπού	Άργος	Skouras winery
37	Σεργιάνι 2020	Ξηρό	Μοσχοφίλερο/Ροδίτης	Κορινθία	Ι & Σ Σκλαβενίτης Α.Ε.Ε
38	Ανεμοβόρι Λευκός	Ξηρό	Πολυποικιλιακός	Ερυθρές, Βοιωτία	Οινοποιητική Σώκου
39	The little prince	Ξηρό	Βηλάνα/Βηδιανό	Χανιά, Κρήτη	Karavitakis winery
40	Κρητικός	Ξηρό	Βηλάνα/Βηδιανό	Παρθένι, Κρήτη	ΕΜΜ Μιχαλάκης
41	CARAMELO	Ξηρό	Πολυποικιλιακός	Άγιος Παύλος, Χαλκιδική	ΤΣΑΝΤΑΛΗΣ Ε. Α.Ε.
42	Το κρασί μας	Ξηρό	Πολυποικιλιακός	Πεζά, Κρήτη	ΑΒ Βασιλόπουλος
43	MOSTRA	Ξηρό	Μοσχάτο/Xhardonnay/Ροδίτης	Ράχα, Τρίκαλα	Κ.ΤΣΙΛΙΛΙΣ S.A.
44	Ρετσίνα - Κουρτάκη	Ξηρό	Ρετσίνα/Σαββατιανό	Στερεά Ελλάδα	Δ.ΚΟΥΡΤΑΚΗΣ Α.Ε.
45	KRASAKI	Ημίγλυκο	Πολυποικιλιακός	Ελευσίνα	ΤΡΙΠΟΔΑΚΗΣ ΚΩΣΤΑΝΤΙΝΟΣ & ΣΙΑ Ε.Ε.
46	Μικρές φάρμες του βουνού – μοσχάτο Λήμνου ροδίτης	Ξηρό	Μοσχάτο/Μοσχοφίλερο	Αλιβέρι, Εύβοια	Οινοποιία Ν. & Ν. Νικολάου Ι.Κ.Ε.
47	Ρετσίνα Μιχάλη Γεωργιάδη	Ξηρό	Ρετσίνα	Χαλκιδική	Μιχάλη Γεωργιάδη & Υιοί Α.Β.Ε.Ε.
48	ΛΗΜΝΟΣ ΛΕΥΚΟΣ	Ξηρό	Μοσχάτο Αλεξάνδρεια	Λήμνος	ΕΑΣ ΛΗΜΝΟΥ
49	Νεφέλη	Ξηρό	Ρετσίνα	Μαρκόπουλος	Ι & Σ Σκλαβενίτης ΑΕΕ
50	Ρετσίνα premium	Ξηρό	Ρετσίνα	Ελλάδα	Διαμαντής Μασούτης Α.Ε.
51	ΛΕΥΚΟΣ	Ξηρό	Πολυποικιλιακός	Ελλάδα	Διαμαντής Μασούτης Α.Ε.
52	Ρετσίνα	Ξηρό	Ρετσίνα	Ελλάδα	ΑΒ Βασιλόπουλος
53	Cellar Μοσχοφίλερο 2015	Ξηρό	Μοσχοφίλερο	Μαντίνεια	THE CELLAR
54	Χρυσή Ρετσίνα Γιώργου Γεωργιάδη	Ξηρό	Ρετσίνα	Κάτω Σχολάρι, Θεσσαλονίκη	Γεωργιάδη ΑΦΟΙ Α.Ε.Ε.Ε
55	ΡΕΤΣΙΝΑ ΚΑΤΑ ΠΑΡΑΔΟΣΗ	Ξηρό	Ρετσίνα	Βασιλικά, Θεσσαλονίκης	Διαμαντής Μασούτης Α.Ε.



Εικόνα 23: Εικονική αναπαράσταση περιοχών δειγματοληψίας

Τέλος, τα δείγματα χυμού μήλου και μηλίτη παρουσιάζονται στους πίνακες 4 και 5.

Πίνακας 5: Επιλεγμένα δείγματα χυμού μήλου

α/α	Ονομασία χυμού	Περιγραφή
1	Amita 1	100% φυσικός χυμός μήλου
2	Πηλίου	Συμπυκνωμένος χυμός μήλων
3	ΑΒ Βασιλόπουλος	Συμπυκνωμένος χυμός μήλων
4	Viva 1	Συμπυκνωμένος χυμός μήλων -χωρίς προσθήκη σακχάρων
5	Granini	100% φυσικός χυμός μήλου
6	Ήβη Go	Χυμός 4ων φρούτων – συμπ. χυμοί μήλο, πορτοκάλι και πουρέ ροδάκινου και βερίκοκου

7	Eviva	Συμπυκνωμένος χυμός μήλων
8	My gousto	Συμπυκνωμένος χυμός μήλων
9	Μικρές φάρμες του βουνού	100% φυσικός χυμός μήλου
10	Viva 2	100% φυσικός χυμός μήλου
11	Μαράτα	Χυμός 3ων φρούτων – πορτοκάλι/μήλο/βερίκοκο
12	myFroothie	Βιολογικός χυμός μήλου
13	My gousto 2	Χυμός 3ων φρούτων – πορτοκάλι/μήλο/ροδάκινο
14	Economy	Χυμός 3ων φρούτων – πορτοκάλι/μήλο/ροδάκινο
15	Amita fun	Χυμός 4ων φρούτων - 100% φυσικοί χυμοί μήλο, πορτοκάλι και πουρέ αχλάδι και βερίκοκου
16	Amita 2	Φρουτοποτό μήλο, πορτοκάλι, βερίκοκο -
17	Heimischer Apfelsafy	100% φυσικός χυμός μήλου

Πίνακας 6: Επιλεγμένα δείγματα μηλίτη

a/a	Ονομασία μηλίτη	Περιγραφή
1	Sommersby 1	Με γεύση μήλου
2	Μηλοκλέφτης 1	Με γεύση μήλου
3	Strongbow 1	Με γεύση μήλου
4	Sommersby 2	Με γεύση αχλάδι
5	Sommersby 3	Με γεύση καρπούζι
6	Μηλοκλέφτης 2	Με γεύση κεράσι
7	Strongbow 2	Με γεύση κόκκινου μούρου
8	Kopparberg 1	Με γεύση ράζμπερι
9	Kopparberg 2	Με γεύση φράουλα και λάιμ

Σημειώνεται πως στην περίπτωση του μηλίτη δεν βρέθηκαν άλλα δείγματα προς ανάλυση στα καταστήματα που αναφέρθηκαν και για αυτό το λόγο υπάρχει αυτός ο σχετικά περιορισμένος αριθμός τους.

Για κάθε ένα από τα παραπάνω δείγματα κρίνεται αναγκαία η δημιουργία μιας κωδικοποίησης προκειμένου να διαχωρίζονται εύκολα κατά τη διάρκεια της διεξαγωγής/περιγραφής της πειραματικής διαδικασίας. Έτσι, τα δείγματα κρασιού θα ονομάζονται ως K-α/α, τα δείγματα χυμού ως X-α/α και τα δείγματα μηλίτη ως M-α/α, όπου α/α ο αριθμός κατάταξης που έχουν τα δείγματα στους πίνακες 3, 4 και 5. Για παράδειγμα, σε περίπτωση που γίνεται αναφορά στο δείγμα K-1 θα πρόκειται για το κρασί με τίτλο ΚΑΝΕΝΑΣ, το οποίο προέρχεται από τη Ροδόπη.

2.2.2. Αντιδραστήρια

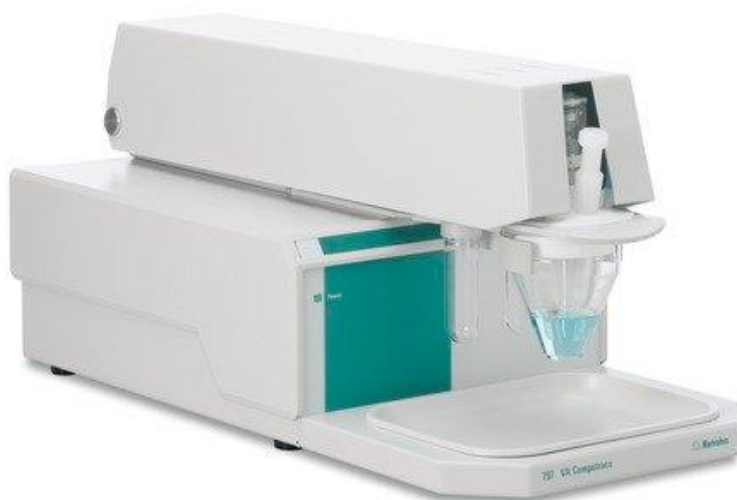
Τα αντιδραστήρια που χρησιμοποιήθηκαν στα πλαίσια της παρούσας πειραματικής διαδικασίας αναφέρονται στον πίνακα 6 μαζί με τον σκοπό για τον οποίο χρησιμοποιούνται κατά τη διάρκεια της διεξαγωγής του πειραματικού μέρους

Πίνακας 7: Αντιδραστήρια και σκοπός χρήσης τους στο πειραματικό μέρος

Αντιδραστήριο	Σκοπός χρήσης
Υπερχλωριούχο λίθιο (LiClO ₄)	Ηλεκτρολύτης βολταμετρικών αναλύσεων
Αιθανόλη (EtOH)	Διαλύτης του ηλεκτρολύτη LiClO ₄ και καθαρισμός σκευών που περιέχουν χημικά (π.χ. διχλωρομεθάνιο)
Διχλωρομεθάνιο (CH ₂ Cl ₂)	Διαλύτης για την εκχύλιση των διαλυμάτων
Μεθανόλη (MeOH)	Διαλύτης για αναδιάλυση στερεού υπολείμματος
Οξικός αιθυλεστέρας (C ₄ H ₈ O ₂)	Διαλύτης για την εκχύλιση των διαλυμάτων
Αλούμινα (Al ₂ O ₃)	Καθαρισμός στερεών ηλεκτροδίων εργασίας
Ακετόνη (DMK)	Έκπλυση γυάλινων συσκευών
Νιτρικό κάλιο (KNO ₃)	Ενεργοποίηση ηλεκτροδίου BDD
Απιονισμένο νερό (H ₂ O)	Καθαρισμός όλων των συσκευών που χρησιμοποιούνται
Υπερκάθαρο νερό (H ₂ O)	Δημιουργία υδατικών διαλυμάτων
Χλωριούχο κάλιο (KCl)	Διαλυμένη ουσία για δημιουργία ηλεκτρολύτη

2.2.3. Αναλύσεις δειγμάτων

Οι αναλύσεις των δειγμάτων πραγματοποιήθηκαν στο εργαστήριο Ανόργανης και Αναλυτικής Χημείας που βρίσκεται στον 1^ο όροφο της νέας πτέρυγας της Σχολής Χημικών Μηχανικών του Ε.Μ.Π. Το κύριο όργανο που χρησιμοποιείται και κατά τη διάρκεια των μετρήσεων αλλά και κατά την επιλογή της προκατεργασίας και του ηλεκτρολύτη είναι ο ποτενσιοστάτης 797 VA Computrace του οίκου Ω Metrohm της Ελβετίας (εικόνα 25), με τον οποίο πραγματοποιείται κυρίως κυκλική βολταμετρία (CV).



Εικόνα 24: Ποτενσιοστάτης 797 VA Computrace

Το όργανο αυτό έχει ενσωματωμένο έναν ποτενσιοστάτη και έναν γαλβανοστάτη, που επιτυγχάνει πολύ καλή αξιοπιστία με μειωμένο θόρυβο μετρήσεων. Ως ηλεκτρόδιο αναφοράς, χρησιμοποιείται ηλεκτρόδιο Ag/AgCl πληρωμένο με διάλυμα 3 M KCl και ως βοηθητικό ηλεκτρόδιο Pt. Επιπλέον, ως ηλεκτρόδιο εργασίας μπορούν να χρησιμοποιηθούν:

- Ηλεκτρόδιο υδραργύρου πολλαπλών χρήσεων (MME),
- Στερεά ηλεκτρόδια: υαλώδους άνθρακα, λευκόχρυσου (πλατίνα), χρυσού, αργύρου και
- 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 (DME), είτε ως ηλεκτρόδιο αιωρούμενης σταγόνας υδραργύρου (HMDE), είτε ως ηλεκτρόδιο στατικής σταγόνας υδραργύρου (SMDE). Σε κάθε περίπτωση, η λειτουργία του ηλεκτροδίου υδραργύρου πολλαπλών χρήσεων επιτυγχάνεται με την πίεση φιάλης αζώτου με την οποία συνδέεται το σύστημα βολταμετρικών αναλύσεων για την απαέρωση των διαλυμάτων πριν την ανάλυση.

Σημείωση: Στην παρούσα διπλωματική εργασία δεν χρησιμοποιείται καθόλου το ηλεκτρόδιο εργασίας υδραργύρου καθώς έχει θεωρηθεί ως μη φιλικό στο περιβάλλον (αυξημένη τοξικότητα). Γενικότερα, γίνεται δοκιμή με όλα τα πιθανά ηλεκτρόδια εργασίας προκειμένου να βρεθεί η βέλτιστη επιλογή με σκοπό την μεγιστοποίηση του βολταμετρικού προφίλ μεταξύ λευκού οίνου και χυμού μήλου/ μηλίτη, αλλάζοντας τα από το κομμάτι της συσκευής (για τα στερεά ηλεκτρόδια) που φαίνεται στην διπλανή εικόνα.



Εικόνα 25: Μέρος συσκευής για το ηλεκτρόδιο εργασίας

Οι ηλεκτροαναλυτικές τεχνικές που μπορούν να πραγματοποιηθούν με αυτή τη συσκευή είναι:

- Πολαρογραφία,
- Ανοδική και Καθοδική Αναδιαλυτική Βολταμετρία,
- Διαφορική παλμική βολταμετρία,
- Κυκλική Βολταμετρία,
- Χρονοαμπερομετρία και
- Χρονοποτενσιομετρία.

Επιπλέον, το σύστημα βολταμετρικών αναλύσεων συνδέεται με ηλεκτρονικό υπολογιστή μέσω του λογισμικού που το συνοδεύει (VA Computrace 797 Software 1.3) για τον προγραμματισμό των λειτουργιών του συστήματος (π.χ. είσοδος χρόνου απαέρωσης στην περίπτωση χρήσης και αρνητικών δυναμικών), την καταγραφή και την αξιολόγηση των ηλεκτροχημικών δεδομένων. Τέλος, το πρόγραμμα διαθέτει και ειδικό κομμάτι ελέγχου καλής λειτουργίας βασικών τμημάτων του πολαρογράφου, όπως των ηλεκτροδίων, του αναδευτήρα (stirrer) και του συστήματος απαέρωσης (purging) [78].

2.2.4. Βοηθητικός εξοπλισμός

Στην παρούσα ενότητα παρουσιάζονται οι συσκευές, τα όργανα καθώς και τα ηλεκτρόδια που χρησιμοποιούνται για να πραγματοποιηθεί το πειραματικό μέρος της παρούσας εργασίας και ειδικότερα η βελτιστοποίηση των παραμέτρων της ανάλυσης.

2.2.4.1. Συσκευές-Όργανα

Αρχικά, εκτός από τον κύριο ποτενσιοστάτη της εταιρείας Metrohm χρησιμοποιείται και ένας καινούριος ποτενσιοστάτης που υπάρχει στο εργαστήριο (της ίδιας εταιρείας) ο οποίος ονομάζεται PGSTAT101 και εμφανίζεται στην παρακάτω εικόνα.



Εικόνα 26: Ποτενσιοστάτης της εταιρείας Metrohm PGSTAT101

Ο ποτενσιοστάτης αυτός χρησιμοποιείται καθώς τα ηλεκτρόδια boron doped (που θα αναφερθούν στην συνέχεια ως ηλεκτρόδια εργασίας) προκειμένου να είναι ηλεκτροχημικά λειτουργικά χρειάζονται ενεργοποίηση μέσω μιας προκατεργασίας. Η διαδικασία που ακολουθείται θα αναφερθεί αναλυτικά στην ενότητα 2.1.1.2.

Επιπλέον, μια ακόμα συσκευή η οποία χρησιμοποιείται είναι ένας αναλυτικός ζυγός, της εταιρείας Ohaus Pioneer με ονομασία PX Series Analytical Balances ο οποίος παρουσιάζεται παρακάτω.



Εικόνα 27: Ζυγός της εταιρείας Ohaus Pioneer με ονομασία PX Series Analytical Balances

Η ζυγαριά αυτή δίνει μετρήσεις μάζας με ακρίβεια μέχρι και το τρίτο δεκαδικό ψηφίο. Κάποια χαρακτηριστικά της είναι: μέγιστη δυνατότητα ζύγισης 82g, ελάχιστη μάζα που μπορεί να αντληφθεί 200mg, αναγνωσιμότητα 0,1mg, γραμμικότητα 0,2mg, δυνατότητα σταθεροποίησης στα 3s και αυτόματη βαθμονόμηση [79].

Όπως φαίνεται στην παραπάνω εικόνα έχει ένα προστατευτικό τζάμι που βοηθάει ώστε να αποφεύγονται οι μεταβολές λόγω εξωγενών παραγόντων ενώ χρησιμοποιείται κατά τη διάρκεια του πειράματος για τη ζύγιση των εξής:

- Ηλεκτρολύτη υπερχλωρικό λίθιο (LiClO_4) σε ποσότητα 1,064 g για τη δημιουργία αιθανολικού διαλύματος (100ml αιθανόλης) της ένωσης αυτής με συγκέντρωση 0,1 M.
- Στερεό νιτρικό κάλιο (KNO_3) σε ποσότητα 1,011 g για τη δημιουργία υδατικού διαλύματος KNO_3 (100 ml υπερκάθαρου νερού) και ενεργοποίηση του BDD ηλεκτροδίου και
- Στερεό χλωριούχο κάλιο (KCl) σε ποσότητα 3,728 g για τη δημιουργία υδατικού διαλύματος KCl (500 ml υπερκάθαρου νερού) και χρήση του ως ηλεκτρολύτη για την επίτευξη τελικής συγκέντρωσης ίση με 0,1M.

Επιπλέον, για μια από τις προκατεργασίες που θα αναλυθεί παρακάτω χρησιμοποιείται μηχανική θερμαντική πλάκα. Η πλάκα αυτή έχει τη δυνατότητα να αναδεύει ένα διάλυμα που βρίσκεται σε ποτήρι ζέσης και ταυτόχρονα να αυξάνει τη θερμοκρασία του περιεχομένου του. Στο πείραμα αυτό χρησιμοποιείται μια πλάκα (Hei-Tec Magnetic Stirrers) της εταιρείας Heidolph (εικόνα 29) με την οποία εξατμίζεται ο διαλύτης που έχει χρησιμοποιηθεί στην εκχύλιση. Η συσκευή αυτή επιτρέπει την άνοδο της θερμοκρασίας ενός διαλύματος έως και στους 300 °C ενώ η ανάδευση μπορεί να πραγματοποιηθεί με έως και 1400 rpm. Αυτά τα χαρακτηριστικά μαζί με την ανθεκτική κατασκευή της (κατασκευασμένη από ανοξείδωτο αλουμίνιο, ανθεκτική σε χημικά και στις γρατσουνιές) την καθιστά ως μια συσκευή εύκολη για κάθε χρήση [80].



Εικόνα 28: Θερμαινόμενη πλάκα με ανάδευση της εταιρείας Heidolph

Σημειώνεται πως η πλάκα που υπάρχει στο εργαστήριο είναι αρκετά παλιά με αποτέλεσμα να έχει χαθεί ένα μέρος της λειτουργικότητάς της. Έτσι, δεν έχει τη δυνατότητα να προσδώσει στο διάλυμα που θερμαίνεται ή/και αναδεύεται την θερμοκρασία που εισάγεται στην πλάκα. Απόρροια αυτής της συνθήκης είναι η θερμοκρασία που εισάγεται στο όργανο να είναι λίγο μεγαλύτερη από την αντίστοιχη τιμή που πρέπει να επιτευχθεί στο εκάστοτε διάλυμα.

Τέλος, εκτός από τις παραπάνω συσκευές κατά τη διάρκεια του πειραματικού μέρους χρησιμοποιούνται τα εξής όργανα: ποτήρια ζέσεως, διαχωριστικές χοάνες, σιφώνια, πουάρ, χωνία, όργανα στήριξης χοάνης, ογκομετρικοί κύλινδροι κ.λ.π.

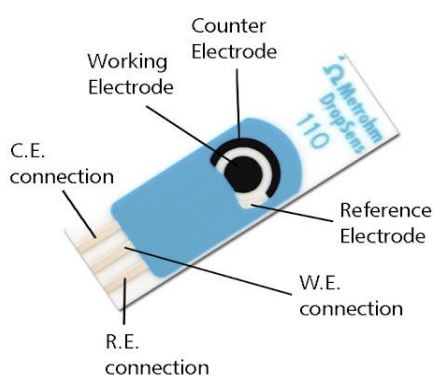
2.2.4.2. Ηλεκτρόδια εργασίας

Όπως αναφέρθηκε παραπάνω τα ηλεκτρόδια εργασίας τα οποία εισάγονται εύκολα στη συσκευή που χρησιμοποιείται για τη βολταμετρία είναι τα ηλεκτρόδια χρυσού, λευκόχρυσου και υαλώδους άνθρακα. Εκτός όμως από αυτά στην παρούσα διπλωματική εργασία έχουν χρησιμοποιηθεί και άλλα ηλεκτρόδια εργασίας τα οποία δεν τοποθετούνται στο απωσπώμενο μέρος της συσκευής (βλ. εικόνα 26) αλλά εισέρχονται απευθείας στο ηλεκτρολυτικό κελί δημιουργώντας τις απαραίτητες συνδέσεις για να ξεκινήσει η εκάστοτε μέτρηση. Τα ηλεκτρόδια αυτά είναι τα εξής:

- Τρία screen-printed (τα οποία έχουν ως ηλεκτρόδιο εργασίας άνθρακα) έτοιμα από την Metrohm
- Ένα screen printed που έχει κατασκευαστεί από το τμήμα Χημείας του ΕΚΠΑ και
- Ένα αυτοσχέδιο ηλεκτρόδιο με γραφίτη (μύτη μηχανικού μολυβιού).

Τα screen printed ηλεκτρόδια χρησιμοποιούνται ευρήτατα τα τελευταία χρόνια λόγω των πολύ καλών ηλεκτροχημικών και μηχανικών ιδιοτήτων τους. Ειδικότερα, για το πειραματικό μέρος της παρούσας διπλωματικής εργασίας, χρησιμοποιούνται τα «εκτυπωμένα» ηλεκτρόδια DRP-110CNT-GNP, DRP-C110 και DRP-CBDD10. Το πρώτο ηλεκτρόδιο της Metrohm περιλαμβάνει νανουλικά από άνθρακα και έχει επεξεργαστεί και τροποποιηθεί με νανοσωματίδια χρυσού, το δεύτερο δεν έχει υποστεί κάποια περαιτέρω επεξεργασία ενώ το τρίτο περιέχει μια λεπτή μεμβράνη βορίου ενισχυμένο με μικρές ποσότητες διαμαντιού [81]. Επίσης, το μικρό ηλεκτρόδιο από 3D printer από άνθρακα (του ΕΚΠΑ) στηρίζεται σε ένα «κροκοδειλάκι» για να μπορέσει να χρησιμοποιηθεί για τις μετρήσεις.

Τα ηλεκτρόδια αυτά εμφανίζονται στις παρακάτω εικόνες.



Εικόνα 29: Ηλεκτρόδια screen printed Metrohm



Εικόνα 30: Ηλεκτρόδιο screen printed ΕΚΠΑ

Τα ηλεκτρόδια της Metrohm εισάγονται στην ειδική υποδοχή που περιλαμβάνει και μια είσοδο για γείωση, η οποία συνδέεται με το μεταλλικό στήριγμα των διαχωριστικών χοανών (βλ. εικόνα 34). Επιπλέον, αξίζει να σημειωθεί πως τα screen printed ηλεκτρόδια χρησιμοποιούνται όπως είναι κατά τη διάρκεια του πειράματος. Μόνη εξαίρεση αποτελεί το ηλεκτρόδιο boron doped το οποίο όπως αναφέρθηκε και παραπάνω χρειάζεται μια ελάχιστη προκατεργασία. Η διαδικασία που ακολουθείται με

τη βοήθεια του ποτενσιοστάτη PGSTAT101 είναι η εξής: βύθιση του ηλεκτροδίου BDD σε 100 ml διαλύματος KNO_3 συγκέντρωσης 0,1 M για 60s και ένταση ρεύματος ίση με 800 μA . Μετά την ολοκλήρωση της το ηλεκτρόδιο είναι έτοιμο για χρήση.

Επιπλέον, προκειμένου να δημιουργηθεί το ηλεκτρόδιο γραφίτη εκτός από τη μύτη ενός μηχανικού μολυβιού χρησιμοποιούνται το κύριο πλαστικό μέρος από μια σύριγγα καθώς και ένα μικρό κομμάτι από Parafilm "M". Τα αντικείμενα αυτά συνδυάζονται με απώτερο σκοπό να δημιουργηθεί μια σταθερή επιφάνεια γραφίτη στην οποία θα πραγματοποιούνται αντιδράσεις οξειδοαναγωγής αλλά και να σταθεροποιηθεί η μύτη εντός της σύριγγας. Η κατασκευή αυτή φαίνεται στην εικόνα 33.



Εικόνα 31: Ηλεκτρόδιο γραφίτη

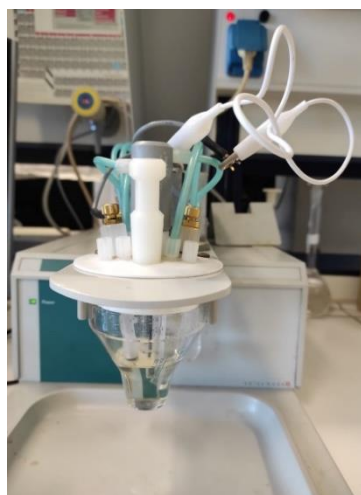
Προκειμένου να καθαριστούν τα ηλεκτρόδια που αναφέρθηκαν παραπάνω χρησιμοποιείται απιονισμένο νερό ενώ μόνο για τα στερεά ηλεκτρόδια (δηλαδή τα ηλεκτρόδια χρυσού, υαλώδους άνθρακα και λευκόχρυσου) γίνεται χρήση και της στερεής αλούμινας. Η αλούμινα (Al_2O_3) ή αλλιώς οξείδιο του αργιλίου μπορεί να είναι και ένυδρη και άνυδρη. Η ουσία αυτή είναι από τα πιο σκληρά κεραμικά υλικά, ενώ είναι διαδεδομένο και σχετικά φτηνό με καθαρότητα 94%. Συνήθως συναντάται σε διαφανείς κρυστάλλους ή σε άσπρη σκόνη. Γενικότερα, είναι πολύ καλή αγωγός της θερμότητας και μονωτής του ηλεκτρικού ρεύματος ενώ είναι δυσδιάλυτη στο νερό με υψηλή θερμοκρασία τήξης. Τέλος, αντιδρά με το υγρό φθόριο, το υδροφθορικό οξύ και το φωσφορικό οξύ και παράλληλα η δραστηριότητα της αυξάνεται με την παρουσία ατμών αλκαλίων. Σημειώνεται πως εκτός από καθαριστικό ηλεκτροδίων χρησιμοποιείται ως προσροφητικό μέσο στα χημικά εργαστήρια με μεγάλες εφαρμογές στην χρωματογραφία [82].

Επιπλέον αξίζει να σημειωθεί πως και στις 3 περιπτώσεις των διαφορετικών αυτών ηλεκτροδίων χρησιμοποιούνται ως βοηθητικό ηλεκτρόδιο και ηλεκτρόδια αναφοράς τα ηλεκτρόδια που έχει ενσωματωμένα το μηχάνημα, δηλαδή ηλεκτρόδιο αναφοράς: Ag/AgCl πληρωμένο με διάλυμα 3 M KCl και βοηθητικό ηλεκτρόδιο: Pt.

Οι απεικονίσεις των λουτρών μαζί με τα προαναφερθέντα ηλεκτρόδια παρουσιάζονται στις παρακάτω εικόνες.



Εικόνα 32: Διάταξη για screen-printed ηλεκτρόδια



Εικόνα 33: Διάταξη για αυτοσχέδιο ηλεκτρόδιο γραφίτη

2.2.5. Προκατεργασία δειγμάτων

Προκειμένου να αποφασιστεί αν τα δείγματα χρειάζονται κάποια προκατεργασία, το είδος της προκατεργασίας και αν πρέπει να προστεθεί κάποιος ηλεκτρολύτης απαιτούνται κάποιες δοκιμαστικές αναλύσεις. Αυτό που ελέγχεται είναι το αν υπάρχει κάποιο από τα παραπάνω ηλεκτρόδια που στις μετρήσεις του κρασιού και του νοθευτικού του, δηλαδή του χυμού μήλου και του μηλίτη να μεγιστοποιεί τις διαφορές στα βολταμμετρικά προφίλ τους. Ειδικότερα, τα βολταμμογραφήματα που εμφανίζονται πρέπει να απέχουν σημαντικά ως προς τις κορυφές και τη θέση αυτών για ένα δεδομένο δυναμικό. Αυτό πρέπει να συμβαίνει καθώς η νοθεία αναμένεται να είναι σε μικρές ποσότητες οπότε με την μεταβολή σε κάποιες κορυφές των γραφημάτων αναμένεται να είναι πιο εύκολος ο προσδιορισμός της ακόμη και σε σχετικά χαμηλά όρια ανίχνευσης.

Έτσι, για τις παραπάνω δοκιμές χρησιμοποιούνται (αρχικά) 2 δείγματα κρασιού, 1 δείγμα χυμού μήλου και ένας μηλίτης. Αυτά τα δείγματα, με βάση την κωδικοποίηση που αναφέρθηκε παραπάνω και με βάση τους πίνακες 3, 4 και 5 είναι τα K-1, K-4, X-3 και M-2.

Οι δοκιμές αυτές περιλαμβάνουν τα εξής:

1) Ανάλυση χωρίς προκατεργασία και ηλεκτρολύτη.

Πρόκειται για μια διαδικασία που εισάγονται απλά 10 ml του κάθε δείγματος στην κυψελίδα που δρα ως ηλεκτρολυτικό κελί στον ποτενσιοστάτη, χωρίς να προστίθεται ούτε κάποιος ηλεκτρολύτης ούτε να κατεργάζεται με κάποιο τρόπο το δείγμα.

2) Ανάλυση χωρίς προκατεργασία αλλά με ηλεκτρολύτη LiClO_4 .

Σε αυτήν την περίπτωση στα 10 ml του δείγματος προστίθεται και μια πολύ μικρή ποσότητα υπερχλωρικού λίθου ο οποίος δρα ως ηλεκτρολύτης. Το υπερχλωρικό λίθιο είναι το άλας καλίου του υπερχλωρικού οξέος και μέλος της σειράς ιόντων Hofmeister με ιδιότητες περιορισμού του θυρεοειδούς. Ο ηλεκτρολύτης αυτός είναι ένας ανταγωνιστικός αναστολέας της πρόσληψης ιωδίου μέσω της αναστολής του ιωδιούχου νατρίου (NIS) στη μεμβράνη του θυρεοειδούς κυττάρου. Αυτό οδηγεί σε

πιθανή μείωση της σύνθεσης των θυρεοειδικών ορμονών, συμπεριλαμβανομένης της θυροξίνης (T4) και της τρι-ιωδοθυρονίνης (T3) [83].

3) Ανάλυση χωρίς προκατεργασία αλλά με ηλεκτρολύτη υδατικό διάλυμα χλωριούχου καλίου συγκέντρωσης 0,1M.

Αφού παρασκευαστεί ένα υδατικό διάλυμα χλωριούχου καλίου μέσω ζύγισης του στερεού KCl προστίθενται 10 ml από αυτό (δρα ως ηλεκτρολύτης) στην κυψελίδα και στη συνέχεια άλλο 1 ml του εκάστοτε δείγματος. Το χλωριούχο κάλιο είναι το άλας που προκύπτει από την εξουδετέρωση του υδροχλωρικού οξέος (HCl) από το υδροξείδιο του καλίου (KOH). Είναι άοσμο λευκό ή άχρωμο υαλώδες κρυσταλλικό στερεό ενώ παράλληλα είναι ευδιάλυτο στο νερό και τα υδατικά του διαλύματα έχουν γεύση παρόμοια με αυτήν του αλατιού. Γενικότερα, είναι κοινώς χρησιμοποιούμενος ηλεκτρολύτης και αξιολογείται σε μεγάλη κλίμακα στις έρευνες προσδιορισμού νοθείας [84].

Επιπλέον, πρέπει να σημειωθεί πως στην συγκεκριμένη μέθοδο εκτός από κυκλική βολταμμετρία δοκιμάζεται και η διαφορική παλμική βολταμμετρία (DP). Η μέθοδος αυτή χρησιμοποιείται συμπληρωματικά με την κυκλική βολταμμετρία καθώς έχει τη δυνατότητα να διαχωρίζει και να φανερώνει μεμονωμένες κορυφές, χωρίς να κάνει στην ουσία κάποιον ολοκληρωμένο κύκλο σάρωσης. Δηλαδή, δεν επιστρέφει μέσω κυκλικής διαδικασίας στο δυναμικό από όπου ξεκίνησε. Τα δυναμικά που επιλέγονται είναι και σε αυτήν την περίπτωση από -1 έως 1V.

4) Ανάλυση με εκχύλιση ως προκατεργασία και αιθανολικό διάλυμα ηλεκτρολύτη LiClO₄.

Η εν λόγω μέθοδος προκατεργασίας περιλαμβάνει την εκχύλιση 30 ml δείγματος με 10 ml διχλωροαιθάνιο ως διαλύτη (αναλογία 3:1). Η εκχύλιση πραγματοποιείται σε συνθήκες περιβάλλοντος, η χοάνη ανακινείται καλά για περίπου 5 λεπτά και παραμένει σε ηρεμία μέχρι να διαχωριστούν οι φάσεις (για 10 λεπτά). Στη συνέχεια, η φάση η οποία χρησιμοποιείται στο επόμενο βήμα αυτής της δοκιμής είναι του διαλύτη (διχλωρομεθάνιο). Έτσι, το διάλυμα με το CH₂Cl₂H που έχει προκύψει (περίπου 6 ml) αναμιγνύεται με αιθανολικό διάλυμα υπερχλωρικού λίθου συγκέντρωσης 0,1M ίσου όγκου. Ακολουθεί προσθήκη του παρασκευασμένου τελικού διαλύματος στο ηλεκτρολυτικό κελί και μέτρηση κυκλικής βολταμμετρίας.

Αξίζει να σημειωθεί πως επιλέγεται το συγκεκριμένο μέσο για την εκχύλιση καθώς αναζητείται ένας διαλύτης που να διαθέτει τα εξής χαρακτηριστικά:

- Να είναι αναμίξιμος (ή μερικώς αναμίξιμος) με τα δείγματα που θα αναλυθούν,
- Να έχει σχετικά υψηλή διηλεκτρική σταθερά,
- Να είναι όσο το δυνατόν λιγότερο τοξικός και
- Να έχει τη δυνατότητα να διαλύσει τον εκάστοτε ηλεκτρολύτη που προστίθεται στο διάλυμα σε στερεή κατάσταση.

Έτσι, το διχλωρομεθάνιο αποτελεί έναν διαλύτη επιλογής για την διάλυση των δειγμάτων κρασιού, χυμού και μηλίτη, με υψηλή διηλεκτρική σταθερά (ϵ) ίση με 8.93 [85] και έχει την ιδιότητα να διαλύει το φαινολικό περιεχόμενο των δειγμάτων, ενώ το αιθανολικό διάλυμα υπερχλωρικού λίθου (LiClO₄) που χρησιμοποιείται είναι πλήρως αναμίξιμο με το διχλωρομεθάνιο [86].

5) Ανάλυση με εκχύλιση, εξάτμιση, αναδιάλυση και ηλεκτρολύτη LiClO_4 .

Η δεύτερη δοκιμή προκατεργασίας αρχικά περιλαμβάνει εκχύλιση των επιλεγμένων διαλυμάτων με διχλωρομεθάνιο (CH_2Cl_2) και με οξικό (ή αιθανικό) αιθυλεστέρα ($\text{C}_4\text{H}_8\text{O}_2$). Στη συγκεκριμένη δοκιμή προστίθενται σε διαχωριστική χοάνη 40ml δείγματος και 10 ml διχλωρομεθάνιο ή οξικού αιθυλεστέρα (αναλογία 4:1). Η εκχύλιση πραγματοποιείται στις ίδιες συνθήκες με τη προηγούμενη δοκιμή. Το διάλυμα της φάσης του εκάστοτε διαλύτη που έχει προκύψει κατευθύνεται σε μηχανική θερμαντική πλάκα και εξατμίζεται ο διαλύτης. Η θερμοκρασία που εισάγεται στην πλάκα για την περίπτωση του διχλωραιθανίου είναι $45\text{ }^\circ\text{C}$ ενώ στην περίπτωση του οξικού αιθυλεστέρα η θερμοκρασία της πλάκας είναι $80\text{ }^\circ\text{C}$. Τέλος, το στερεό υπόλειμμα που προκύπτει αναδιαλύεται με μεθανόλη. Στο τελικό αυτό διάλυμα προστίθεται ο στερεός ηλεκτρολύτης LiClO_4 και τοποθετείται στο ηλεκτρολυτικό κελί.

Γενικές σημειώσεις για τις παραπάνω δοκιμές:

1) Ο διαλύτης οξικός αιθυλεστέρας είναι ένας διαλύτης που έχει ομοίως υψηλή διηλεκτρική σταθερά που ισούται με 6,02 [85] και γενικά είναι αποδεκτός με βάση τα κριτήρια επιλογής ενός διαλύτη όπως αυτά αναφέρθηκαν παραπάνω [87].

2) Η θερμοκρασία που εισάγεται στην θερμαινόμενη πλάκα για την περίπτωση του διχλωραιθανίου είναι $45\text{ }^\circ\text{C}$ καθώς το σημείο βρασμού του είναι $39,6\text{ }^\circ\text{C}$ ενώ στην περίπτωση του οξικού αιθυλεστέρα η θερμοκρασία της πλάκας είναι $82\text{ }^\circ\text{C}$ καθώς το σημείο βρασμού του είναι $77,1\text{ }^\circ\text{C}$. Οι μεγαλύτερες αυτές θερμοκρασίες από το σημείο βρασμού κάθε ένωσης επιλέγονται τυχαία αλλά χρησιμοποιούνται έτσι λόγω της παλαιότητας της πλάκας που την καθιστά μη ικανή να λάβει ακριβώς την θερμοκρασία που δίνεται ως είσοδο από τον χρήστη στη συσκευή, όπως αναφέρθηκε και παραπάνω.

3) Όλες οι μετρήσεις βολταμετρίας γίνονται σε συνθήκες περιβάλλοντος με τα δείγματα να είναι αποθηκευμένα σε ψυγείο και ανοιγμένα μόλις λίγες ώρες ή μέρες πριν από την κάθε μέτρηση.

4) Τα δυναμικά σάρωσης επιλέγονται σε κάθε μέτρηση από -1 έως 1 V αλλά σε κάποιες περιπτώσεις η μέτρηση γίνεται και δεύτερη φορά περιορίζοντας το εύρος του δυναμικού (π.χ. -0.5 έως 1 V) προκειμένου να μην γίνονται και παρουσιάζονται στο γράφημα γραμμές οι οποίες δεν περιέχουν σημαντικές κορυφές (είτε ανοδικές είτε καθοδικές). Επίσης, η ταχύτητα σάρωσης (sweep rate) ορίζεται ίση με $0,05\text{ V} \cdot \text{s}^{-1}$.

5) Λόγω των αρνητικών δυναμικών που χρησιμοποιούνται πρέπει να πραγματοποιηθεί απαερίωση μέσω της φιάλης αζώτου που υπάρχει στο εργαστήριο και ανοίγεται πριν από κάθε εργαστηριακή μέρα για χρονικό διάστημα ίσο με 300s. Η φιάλη αυτή έχει ενσωματωμένο ένα μανόμετρο που μετρά την πίεση στο εσωτερικό της.

2.2.6. Διαδικασία ανάλυσης ελαχίστων τετραγώνων

Αρχικά, αξίζει να σημειωθεί πως μετά τη βελτιστοποίηση των παραμέτρων της βολταμετρικής ανάλυσης χρησιμοποιώντας τις παραπάνω διαδικασίες ακολουθεί χημειομετρική ανάλυση. Η ανάλυση αυτή περιλαμβάνει την μη εποπτευμένη μέθοδο PCA αλλά και την εποπτευμένη Class modelling. Οι δύο αυτές μέθοδοι βοηθούν στην

κατηγοριοποίηση και στον διαχωρισμό των δειγμάτων που ανήκουν σε διαφορετική κατηγορία. Μετά την πραγματοποίηση των χημειομετρικών αυτών διαδικασιών ταξινόμησης ακολουθεί η μέθοδος ελαχίστων τετραγώνων.

Η ανάλυση PLS χρησιμοποιείται προκειμένου να γίνει ποσοτικοποίηση της νοθείας του λευκού οίνου από το κρασί και τον μηλίτη. Για την πραγματοποίηση αυτής της ανάλυσης δημιουργούνται 29 νοθευμένα μίγματα με ποσοστά νοθείας τα οποία κυμαίνονταν από 0-100% (v/v). Τα μίγματα αυτά δημιουργούνται με μίξη όλων των δειγμάτων κρασιού χυμού και μηλίτη που έχουν χρησιμοποιηθεί στην παρούσα διπλωματική εργασία εκτός από αυτά τα οποία στην διαδικασία της κατηγοριοποίησης με τις παραπάνω μεθόδους φαίνεται να αποκλίνουν από την κοινή συμπεριφορά των όμοιων τους δειγμάτων. Τα δείγματα αυτά είναι τα εξής:

- 1) Λευκοί οίνοι με κωδική ονομασία K-10, K-26, K-31, K-33, K-34 και K-34
- 2) Χυμοί με κωδική ονομασία X-1, X-4, X-6 και X-15
- 3) Μηλίτης με κωδική ονομασία M-5.

Τα μίγματα που δημιουργούνται στις κατάλληλες αναλογίες υπόκεινται στις προκατεργασίες που χρησιμοποιούνται σε επιλεγμένες κατεργασίες και με τα εκάστοτε ηλεκτρόδια. Οι κατεργασίες αυτές επιλέγονται με βάση τις μέγιστες διαφοροποίησης στα βολταμμετρικά προφίλ των κρασιών με τους χυμούς/μηλίτες. Η επιλογή αυτή θα αναλυθεί στα αποτελέσματα της παρούσας διπλωματικής εργασίας.

Αξίζει να σημειωθεί πως τα μίγματα που δημιουργούνται και το ποσοστό νοθείας που χρησιμοποιείται σε κάθε περίπτωση χωρίζονται σε δύο κατηγορίες: στα δείγματα για το training set (0, 2, 4, 5, 8, 12, 15, 16, 17, 23, 26, 28, 32, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 70, 80, 90, 100 %) και σε αυτά για το test set (6, 10, 20, 29, 42, 75 %).

2.2.7. Υπολογιστικά εργαλεία

Όπως αναφέρθηκε, η χημειομετρική επεξεργασία των δεδομένων που προέκυψε από τις μετρήσεις που πραγματοποιήθηκαν με βάση τις τελικές παραμέτρους γίνεται με τις μεθόδους PCA, Class modelling και PLS. Ειδικότερα, μετά την εξαγωγή των βολταμμογραφημάτων υπό μορφή σημείων δημιουργούνται τα αντίστοιχα υπολογιστικά φύλλα στο excel με όλα τα δεδομένα που προκύπτουν από τα αντίστοιχα γραφήματα.

Τα πειραματικά αυτά σημεία έντασης δυναμικού εισάγονται στο λογισμικό SIMCA-P 10.5 (Umetrics, USA) [88] με σκοπό να πραγματοποιηθεί η χημειομετρική ανάλυση τους. Το εν λόγω πρόγραμμα μπορεί να κάνει ομαδοποίηση των δειγμάτων ανάλογα με την κατηγορία στην οποία ανήκει χρησιμοποιώντας εποπτευόμενες και μη μεθόδους.

Τα γραφήματα που προκύπτουν μαζί με τον εκάστοτε σχολιασμό τους υπάρχουν στα αποτελέσματα που ακολουθούν στην επόμενη ενότητα.

3. Αποτελέσματα

Παρακάτω ακολουθούν τα αποτελέσματα που προκύπτουν από την πειραματική διαδικασία που αναλύθηκε στην 2^η ενότητα μαζί με τον απαραίτητο σχολιασμό.

3.1. Βελτιστοποίηση παραμέτρων και επιλογή προετοιμασίας δειγμάτων

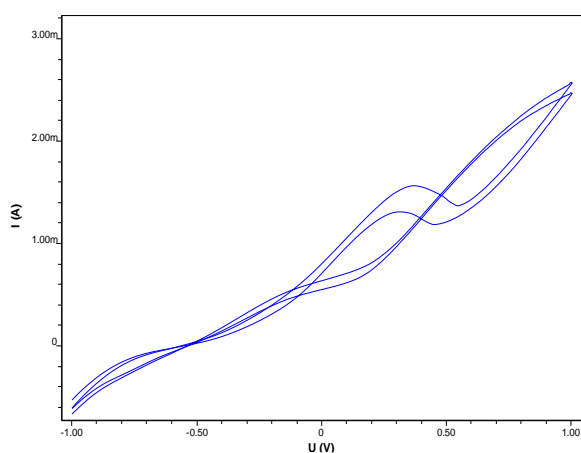
Το πρώτο στάδιο για την ανάπτυξη του μοντέλου εύρεσης νοθείας στον λευκό οίνο μέσω βολταμμετρικών τεχνικών είναι η βελτιστοποίηση των παραμέτρων που χρησιμοποιούνται στην ανάλυση καθώς και η εύρεση της κατάλληλης προετοιμασίας των δειγμάτων. Ειδικότερα, πρέπει να προσδιοριστεί το ηλεκτρόδιο που θα χρησιμοποιηθεί, ο ηλεκτρολύτης που μπορεί να προσδώσει μια καλύτερη ηλεκτρολυτική συμπεριφορά στο διάλυμα καθώς και η διαδικασία που ενδεχομένως να πρέπει να υποστούν τα δείγματα πριν τοποθετηθούν στην κυψελίδα. Σημειώνεται πως απώτερος σκοπός είναι η εύρεση σημαντικών διαφορών μεταξύ των γραφημάτων που προκύπτουν από την κάθε βολταμμετρική μέτρηση μεταξύ κρασιού και χυμού/μηλίτη.

Στις επόμενες υποενότητες ακολουθεί παράθεση των γραφημάτων που προκύπτουν από τις μετρήσεις κυρίως κυκλικής βολταμμετρίας των δειγμάτων K-4 και X-3 ενώ όπου είναι αναγκαίο (όπου έχουν παρατηρηθεί σημαντικές διαφορές) εισάγονται και τα βολταμμογραφήματα των δειγμάτων K-1 και M-2 και των K-2 και K-3.

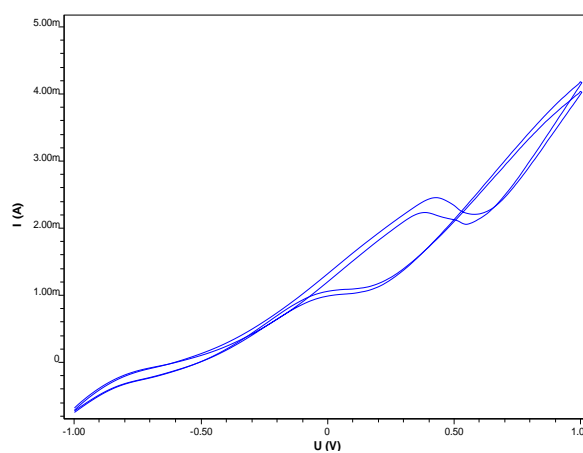
3.1.1. Δοκιμή χωρίς ηλεκτρολύτη και προκατεργασία

Όπως αναφέρθηκε και παραπάνω σε αυτήν την διαδικασία απλά εισάγονται τα διαλύματα (χωρίς οποιαδήποτε προσθήκη ή επεξεργασία) στο ηλεκτρολυτικό κελί και ακολουθεί μέτρηση μέσω του ποτενσιοστάτη και του Η/Υ.

Σε αυτήν την περίπτωση τα περισσότερα από τα ηλεκτρόδια που αναφέρθηκαν παραπάνω (υαλώδη άνθρακα, χρυσού, τα εκτυπωμένα άνθρακα και του γραφίτη) δεν μπορούν να δώσουν σαφή αποτελέσματα. Ενδεικτικά, παρατίθενται τα γραφήματα για το ηλεκτρόδιο screen printed του ΕΚΠΑ.

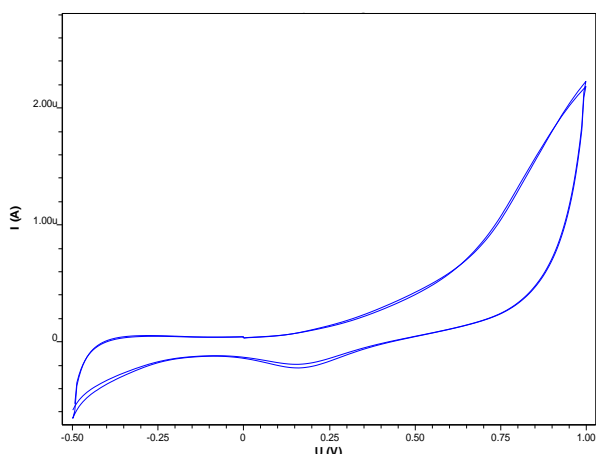


Γράφημα 1: Βολταμμογράφημα K-1 με ηλεκτρόδιο C (ΕΚΠΑ)

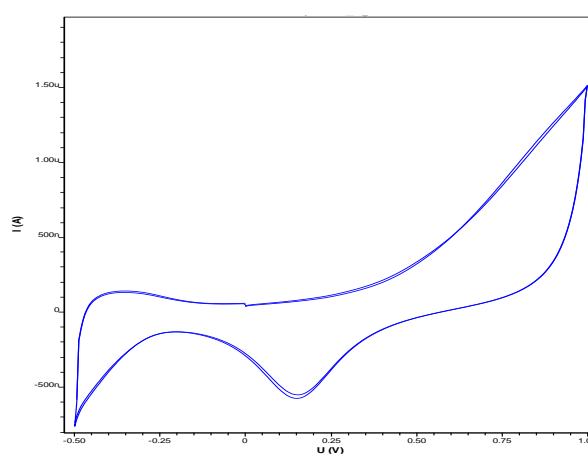


Γράφημα 2: Βολταμμογράφημα X-3 με ηλεκτρόδιο C (ΕΚΠΑ)

Εξαιρέση αποτελούν τα ηλεκτρόδια λευκόχρυσου και DRP-110CNT-GNP όπου εμφανίζονται κάποιες μικρές διαφορές μεταξύ των γραφημάτων των δειγμάτων K-4 και X-3. Ενδεικτικά, τα γραφήματα για την περίπτωση του ηλεκτροδίου πλατίνας είναι τα ακόλουθα:



Γράφημα 3: Βολταμμογράφημα K-1 με ηλεκτρόδιο πλατίνας



Γράφημα 4: Βολταμμογράφημα X-3 με ηλεκτρόδιο πλατίνας

Όπως χαρακτηριστικά φαίνεται στα γραφήματα 3 και 4 δεν κρίνονται τα ηλεκτρόδια κατάλληλα για τη συνέχεια των μετρήσεων καθώς με σύγκριση των γραφημάτων κρασιού και χυμού/μηλίτη προκύπτουν οι ίδιες κορυφές σε περίπου ίδια δυναμικά. Σημειώνεται πως υπάρχει μόνο μια μικρή διαφορά στην περίπτωση του κρασιού όπου παρατηρείται ένα πιο «κλειστό» διάγραμμα ενώ παρόμοια συμπεριφορά εμφανίζεται και με το screen printed ηλεκτρόδιο.

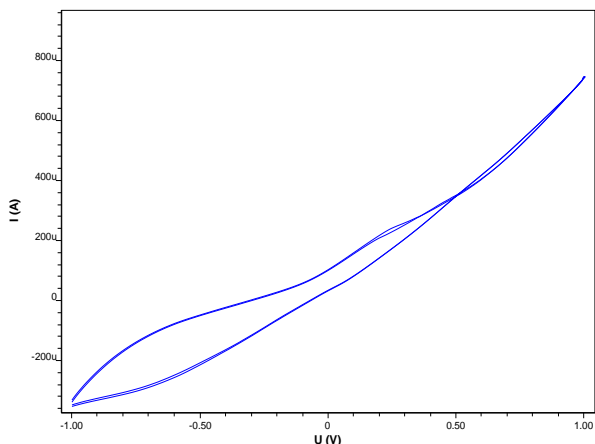
Οπότε, εύκολα συμπεραίνεται πως πρέπει να προστεθεί κάποιος ηλεκτρολύτης στα ενδεικτικά διαλύματα του χυμού και του κρασιού προκειμένου να είναι πιο φανερή η διαφορά μεταξύ των γραφικών παραστάσεων έντασης δυναμικού.

3.1.2. Δοκιμή με ηλεκτρολύτη υπερχλωρικό λίθιο

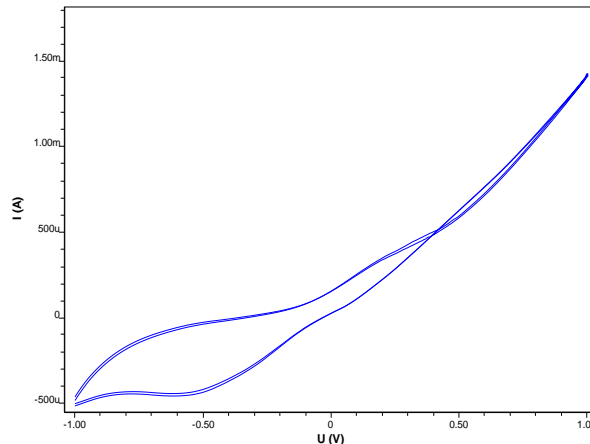
Σε αυτήν την περίπτωση, εκτός από την σταθερή ποσότητα του δείγματος, προστίθεται και μια μικρή ποσότητα στερεού ηλεκτρολύτη (LiClO_4) η οποία είναι ίδια για όλα τα δείγματα. Συγκριτικά με την προηγούμενη περίπτωση υπάρχουν κάποιες διαφορές (μικρότερες και μεγαλύτερες) μεταξύ των γραφημάτων ανάλογα με το ηλεκτρόδιο που χρησιμοποιείται.

Έτσι, αρχικά, χρησιμοποιώντας τα ηλεκτρόδια υαλώδους άνθρακα, χρυσού, DRP-C100 και γραφίτη δεν εμφανίζονται καθόλου διαφορές μεταξύ των προφίλ. Παρόλα αυτά, με τη χρήση των ηλεκτροδίων boron doped (DRP-CBDD10) και του ηλεκτροδίου της πλατίνας εμφανίζονται κάποιες μικρές διαφορές μεταξύ των γραφημάτων.

Παρακάτω παρατίθενται τα γραφήματα για την περίπτωση του boron doped ηλεκτροδίου.



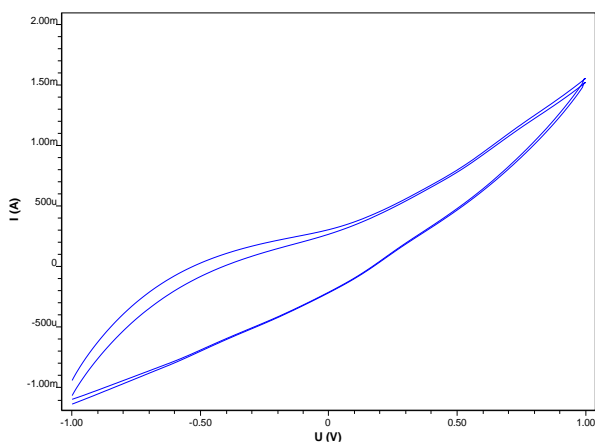
Γράφημα 5: Βολταμμογράφημα K-1 με ηλεκτρόδιο boron doped και LiClO_4



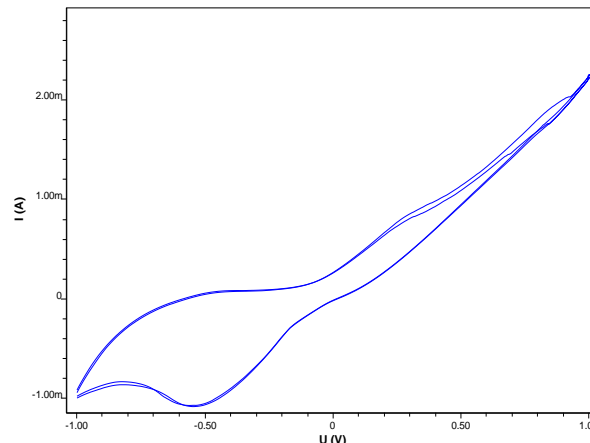
Γράφημα 6: Βολταμμογράφημα X-3 με ηλεκτρόδιο boron doped και LiClO_4

Όπως είναι φανερό τα γραφήματα 5 και 6 εμφανίζουν μια μικρή διαφορά σε μια καθοδική κορυφή κοντά στα $-0,5 \text{ V}$ ενώ το γράφημα του χυμού στην περίπτωση του ηλεκτροδίου πλατίνας είναι λίγο πιο πλατύ σε σχέση με του κρασιού. Σε κάθε περίπτωση, στα πλαίσια της παρούσας διπλωματικής εργασίας, καμία από τις δύο διαδικασίες με το εκάστοτε ηλεκτρόδιο δεν κρίνεται κατάλληλη για το μοντέλο εύρεσης νοθείας του λευκού οίνου.

Τέλος, στην δοκιμή με την προσθήκη στερεού ηλεκτρολύτη υπάρχει και μια περίπτωση η οποία φαίνεται να είναι επιτυχημένη, εμφανίζοντας σημαντικές διαφορές στα βολταμμογραφικά προφίλ. Πρόκειται για τη χρήση του screen printed τροποποιημένου ηλεκτροδίου άνθρακα (DPR-110CNT-GNP), τα γραφήματα του οποίου εμφανίζονται παρακάτω.

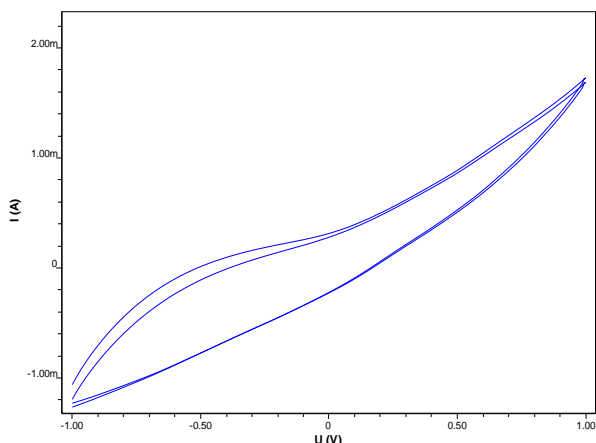


Γράφημα 7: Βολταμμογράφημα K-1 με ηλεκτρόδιο DPR-110CNT και LiClO_4

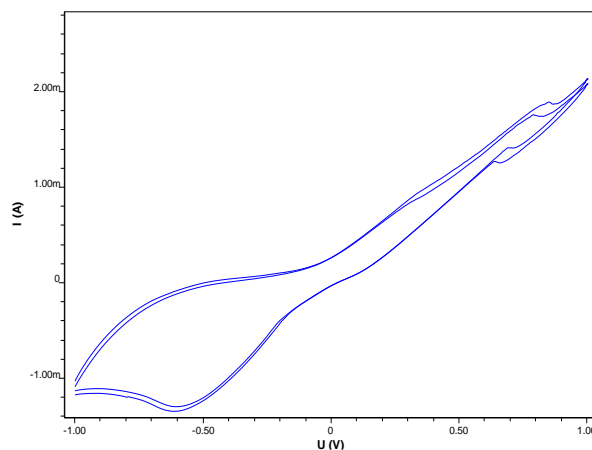


Γράφημα 8: Βολταμμογράφημα X-3 με ηλεκτρόδιο DPR-110CNT και LiClO_4

Προκειμένου να γίνει πιο σαφές αν η συγκεκριμένη μέθοδος είναι καλή για να χρησιμοποιηθεί περαιτέρω για το μοντέλο επιλέγεται να πραγματοποιηθεί μέτρηση των δειγμάτων K-4 και M-2 με αυτό το ηλεκτρόδιο, έτσι ώστε να αποσαφηνιστεί η διαφορά μεταξύ δύο δειγμάτων κρασιών (διαφορετικής ποιότητας) τόσο με χυμό όσο και με μηλίτη. Τα αποτελέσματα εμφανίζονται στα γραφήματα 9 και 10.



Γράφημα 9: Βολταμμογράφημα K-4 με ηλεκτρόδιο DRP-110CNT και LiClO₄



Γράφημα 10: Βολταμμογράφημα M-2 με ηλεκτρόδιο DRP-110CNT και LiClO₄

Με μια απλή οπτική σύγκριση μεταξύ των γραφημάτων του κρασιού (7 και 9) με τα αντίστοιχα του χυμού (8) και του μηλίτη (10) παρατηρείται εύκολα πως η συγκεκριμένη διαδικασία εμφανίζει σημαντικές διαφορές ως προς τη μορφή των καμπυλών και τις κορυφές που σχεδιάζονται, κυρίως στα αρνητικά δυναμικά. Επιπλέον, παρατηρείται πως τα γραφήματα των κρασιών μοιάζουν σημαντικά μεταξύ τους καθώς πρόκειται για διαλύματα κοντινής σύστασης ενώ κάποιες μικρές διαφορές που υπάρχουν ενδεχομένως να οφείλονται στις διαφορετικές ποικιλίες και περιοχές από τις οποίες προέρχονται. Τέλος, τα γραφήματα του χυμού και του μηλίτη μοιάζουν σε μεγάλο βαθμό μεταξύ τους γεγονός που υποδηλώνεται με βάση το θεωρητικό μέρος της εργασίας καθώς ο μηλίτης είναι ένας ζυμωμένος χυμός μήλου.

Έτσι, συνολικά συμπεραίνεται πως η χρήση ηλεκτρολύτη LiClO₄ με ηλεκτρόδιο DRP-110CNT είναι υποψήφια για να χρησιμοποιηθεί στο μοντέλο εύρεσης και ποσοτικοποίησης της νοθείας του οίνου από χυμό μήλου και μηλίτη.

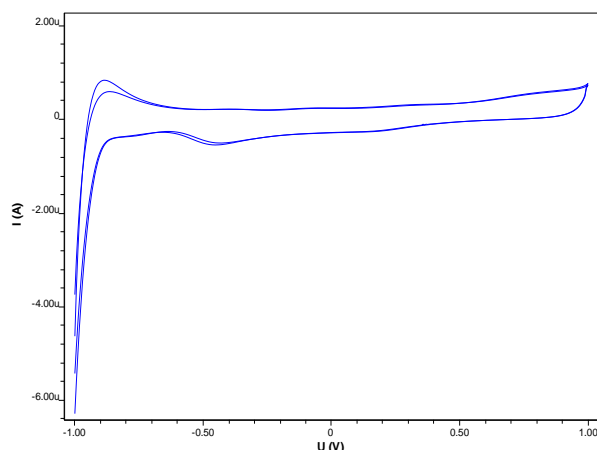
3.1.3. Δοκιμή με ηλεκτρολύτη υδατικό διάλυμα χλωριούχου καλίου

Όπως αναφέρθηκε και στο πειραματικό μέρος στην συγκεκριμένη δοκιμή προστίθενται 10 ml από τον ηλεκτρολύτη KCl και 1 ml από το κάθε δείγμα που μετριέται. Σε αυτήν την περίπτωση, πραγματοποιείται σύγκριση τόσο μεταξύ ανόμοιων δειγμάτων όσο και μεταξύ του εκάστοτε μίγματος ηλεκτρολύτη κρασιού/χυμού σε σχέση με το δείγμα που περιέχει μόνο ηλεκτρολύτη. Η σύγκριση αυτή πραγματοποιείται καθώς η ποσότητα του προς μελέτη δείγματος είναι αρκετά μικρότερη από την ποσότητα του ηλεκτρολύτη οπότε πρέπει να γίνει ένας προκαταρκτικός έλεγχος ύπαρξης διαφορών μεταξύ τους. Σημειώνεται πως οι συγκρίσεις αυτές πραγματοποιούνται και για τις μετρήσεις κυκλικής βολταμμετρίας (CV) αλλά και για τις μετρήσεις διαφορικής παλμικής βολταμμετρίας (DP).

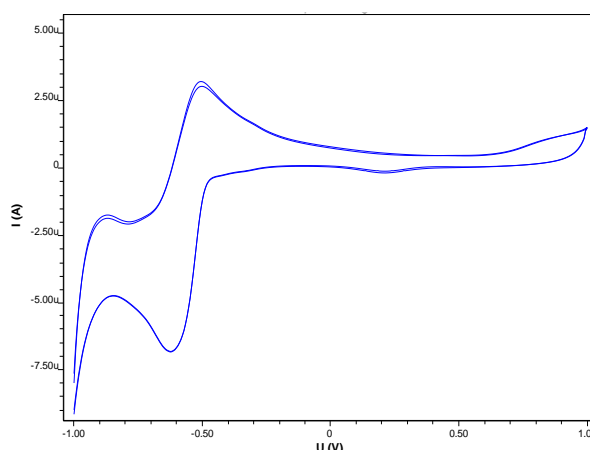
Αρχικά, ως προς τη σύγκριση του γραφήματος του ηλεκτρολύτη με το διάγραμμα του μίγματος με το εκάστοτε διάλυμα φαίνεται πως στις περισσότερες περιπτώσεις υπάρχουν σημαντικές διαφορές. Ενδεικτικά παρουσιάζονται τα γραφήματα του

δείγματος K-1 και με τις δύο ηλεκτροαναλυτικές τεχνικές που χρησιμοποιούνται (CV και DP) με χρήση ηλεκτροδίου πλατίνας.

1) Κυκλική βολταμμετρία



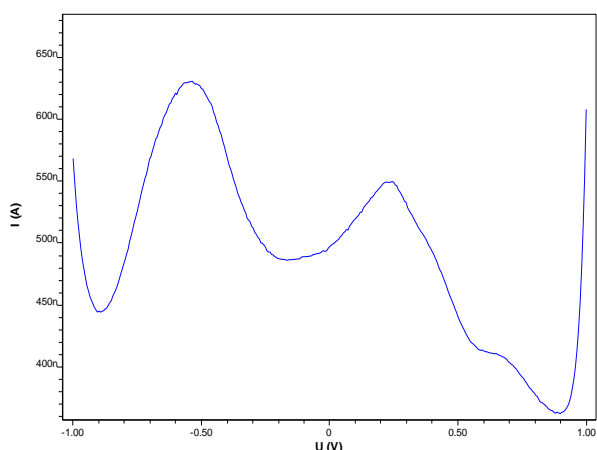
Γράφημα 11: Βολταμμογράφημα KCl με ηλεκτρόδιο πλατίνας (CV)



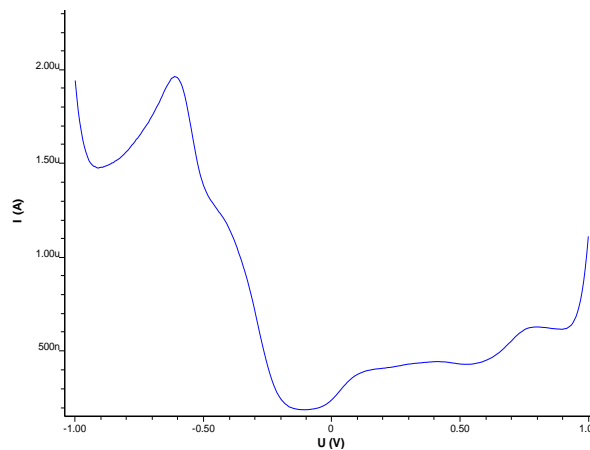
Γράφημα 12: Βολταμμογράφημα KCl και K-1 με ηλεκτρόδιο πλατίνας (CV)

Σύμφωνα με τα γραφήματα 11 και 12 εμφανίζονται μεγάλες διαφορές τόσο στις κορυφές όσο και στην μορφή τους, παρατήρηση που φανερώνει την επίδραση που έχει ακόμα και μια μικρή ποσότητα δείγματος, ανεξάρτητα από την φύση του (κρασί, χυμός και μηλίτης). Παρόμοια συμπεριφορά εμφανίζεται και στην άλλη βολταμμετρική τεχνική όπως φαίνεται παρακάτω.

2) Διαφορική παλμική βολταμμετρία



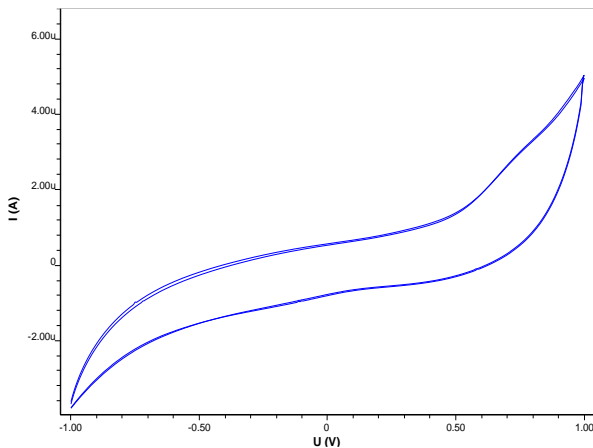
Γράφημα 13: Βολταμμογράφημα KCl με ηλεκτρόδιο πλατίνας (DP)



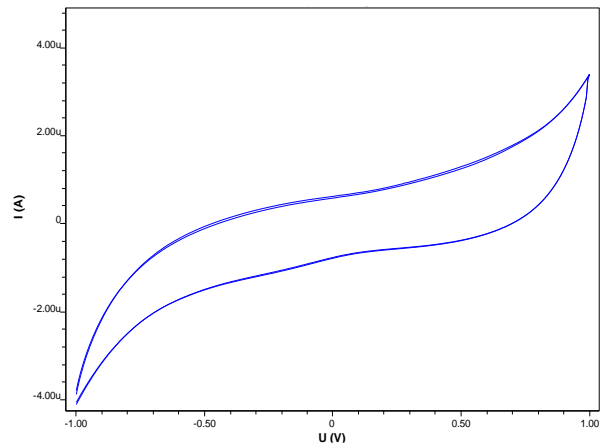
Γράφημα 14: Βολταμμογράφημα KCl και K-1 με ηλεκτρόδιο πλατίνας (DP)

Στη συνέχεια, καθώς εμφανίζονται διαφορές μεταξύ των παραπάνω γραφημάτων πρέπει να συγκριθούν και τα γραφήματα διαφορετικών δειγμάτων μεταξύ τους. Έτσι, μετά την ανάλυση προκύπτει πως σε όλες τις περιπτώσεις ηλεκτροδίων, εκτός από το ηλεκτρόδιο χρυσού, δεν εμφανίζονται σημαντικές διαφορές μεταξύ των δειγμάτων K-1 και X-3. Η περίπτωση που έχει επιλεγεί ως παράδειγμα είναι το ηλεκτρόδιο υαλώδους άνθρακα και τα γραφήματα για τις δύο ηλεκτροαναλυτικές τεχνικές είναι τα εξής:

1) Κυκλική βολταμμετρία



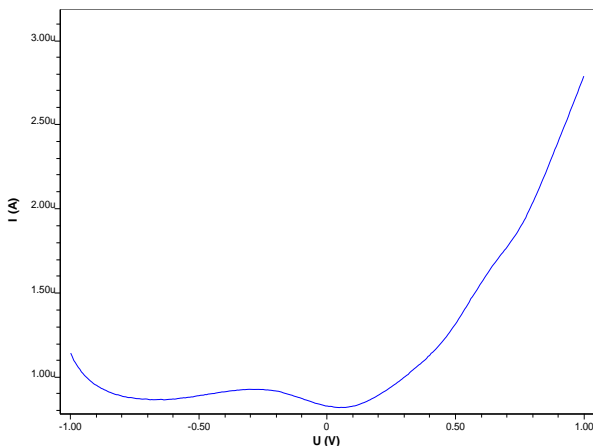
Γράφημα 15: Βολταμμογράφημα KCl με K-1 με ηλεκτρόδιο υαλώδους C (CV)



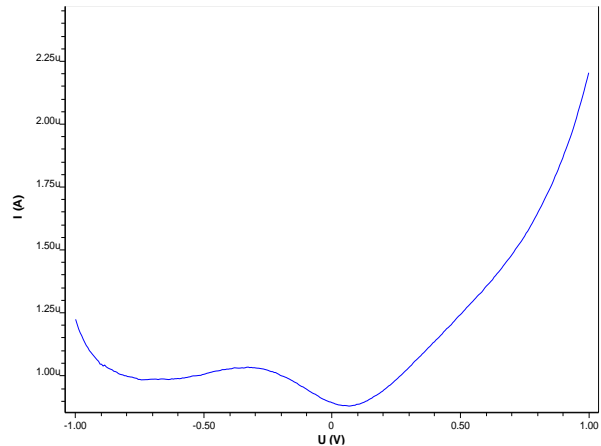
Γράφημα 16: Βολταμμογράφημα KCl με X-3 με ηλεκτρόδιο υαλώδους C (CV)

Σύμφωνα με τα παραπάνω γραφήματα συμπεραίνεται εύκολα πως τόσο το ηλεκτρόδιο υαλώδους άνθρακα όσο και τα υπόλοιπα ηλεκτρόδια δεν είναι ικανά να δώσουν διαφορές στα βολταμμογραφικά προφίλ με αυτήν την 3^η μεθοδολογία και με χρήση κυκλικής βολταμμετρίας.

2) Διαφορική παλμική βολταμμετρία



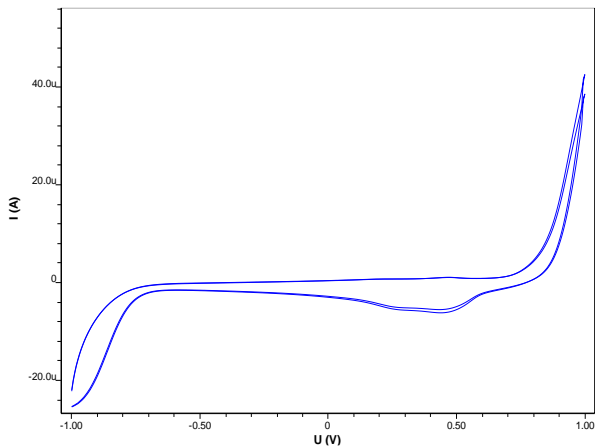
Γράφημα 17: Βολταμμογράφημα KCl με K-1 με ηλεκτρόδιο υαλώδους C (DP)



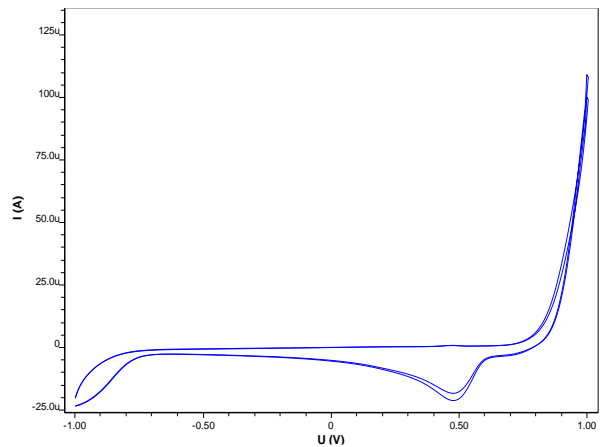
Γράφημα 18: Βολταμμογράφημα KCl με X-3 με ηλεκτρόδιο υαλώδους C (DP)

Ομοίως ούτε η μέθοδος DP δίνει αποτελέσματα για τα ηλεκτρόδια που αναφέρθηκαν όπως φαίνεται στα γραφήματα 17 και 18.

Αντίθετα, με το ηλεκτρόδιο χρυσού εμφανίζονται κάποιες μικρές διαφορές, οι οποίες παρουσιάζονται στα παρακάτω γραφήματα για την περίπτωση της κυκλικής βολταμμετρίας. Σημειώνεται πως παρατηρείται η ίδια συμπεριφορά και για την περίπτωση της διαφορικής παλμικής βολταμμετρίας



Γράφημα 19: Βολταμμογράφημα KCl με K-1 με ηλεκτρόδιο χρυσού (CV)



Γράφημα 20: Βολταμμογράφημα KCl με X-3 με ηλεκτρόδιο χρυσού (CV)

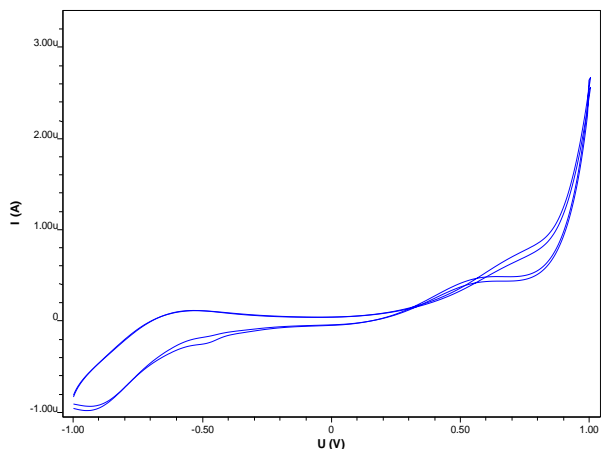
Σύμφωνα με τις παραπάνω απεικονίσεις εμφανίζεται μια διαφορά ως προς την καθοδική κορυφή στην περιοχή δυναμικών γύρω από το σημείο των 0,5 V η οποία στο δείγμα του οίνου είναι μικρότερη και εμφανίζεται σε υψηλότερες εντάσεις ρεύματος. Γενικότερα όμως ούτε αυτή η διαφορά δεν κρίνεται σημαντική. Έτσι, συνολικά η συγκεκριμένη μέθοδος δεν δίνει ικανοποιητικά αποτελέσματα και δεν κρίνεται κατάλληλη για να χρησιμοποιηθεί ως μοντέλο στη συνέχεια της εργασίας.

3.1.4. Δοκιμή (1) με προκατεργασία

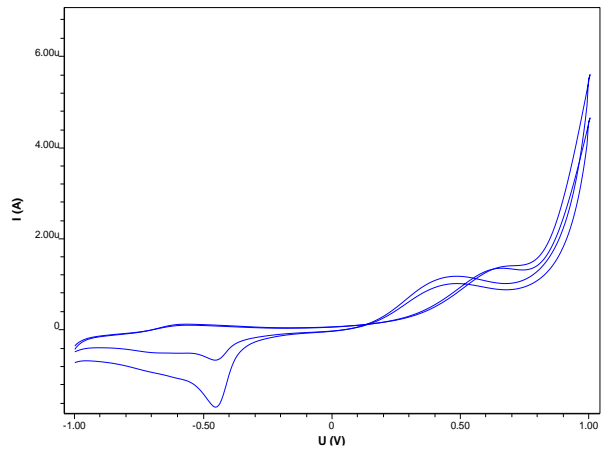
Σε αυτήν την περίπτωση όπου ακολουθείται μια διαδικασία με εκχύλιση και προσθήκη αιθανολικού διαλύματος ηλεκτρολύτη δεν παρατηρούνται ποιοτικές διαγραμματικές διαφορές στην περίπτωση των ηλεκτροδίων χρυσού, υαλώδους άνθρακα, γραφίτη, DRP-C110, boron doped και screen printed άνθρακα ΕΚΠΑ. Στη συνέχεια, αξίζει να σημειωθεί πως με τροποποιημένο ηλεκτρόδιο άνθρακα DRP-110CNT εμφανίζονται κάποιες διαφορές μεταξύ των δειγμάτων K-1 και X-3. Παρόλα αυτά, με τη χρήση των δειγμάτων K-4 και M-2 καθώς και δύο επιπλέον κρασιών (K-2 και K-3) εμφανίζεται μεγάλη ομοιότητα των κρασιών με τον χυμό και τον μηλίτη. Τελικά, αυτό έχει ως αποτέλεσμα η μέθοδος αυτή με το συγκεκριμένο ηλεκτρόδιο να απορριφθεί.

Τέλος, ως προς το ηλεκτρόδιο της πλατίνας εμφανίζονται ομοίως σημαντικές διαφορές μεταξύ των γραφημάτων K-1 και X-3. Γενικότερα, παρατηρούνται εμφανείς διαφορές τόσο στην μορφή των γραφημάτων όσο και στις κορυφές που εμφανίζονται. Ειδικότερα, υπάρχει μια χαρακτηριστική κορυφή κοντά στα -0,7 V στην περίπτωση του χυμού η οποία δεν φαίνεται να υπάρχει στην περίπτωση του κρασιού. Ομοίως χρησιμοποιούνται τα δείγματα K-4 και M-2 και οι δύο επιπλέον οίνοι για επιβεβαίωση ή μη της χρήσης του συγκεκριμένου μοντέλου.

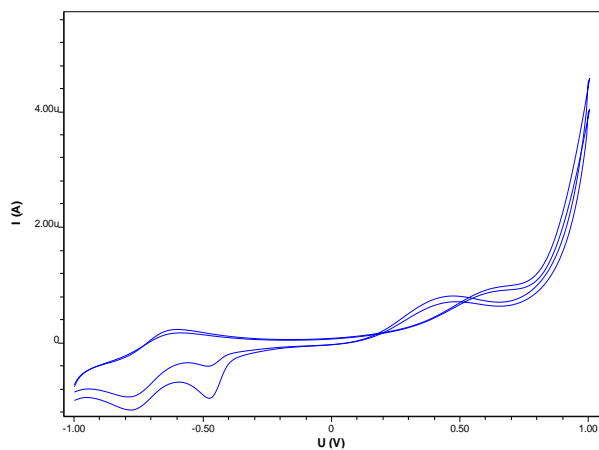
Τα διαγραμματικά αποτελέσματα εμφανίζονται συνολικά στην επόμενη σελίδα της παρούσας διπλωματικής εργασίας.



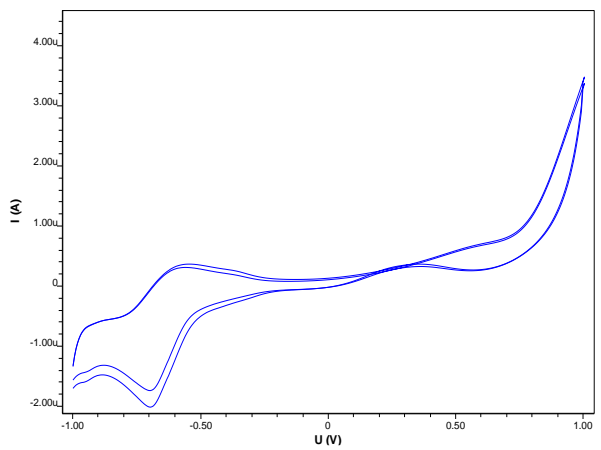
Γράφημα 21: Βολταμμογράφημα K-1 με ηλεκτρόδιο πλατίνας με προκατ. (1)



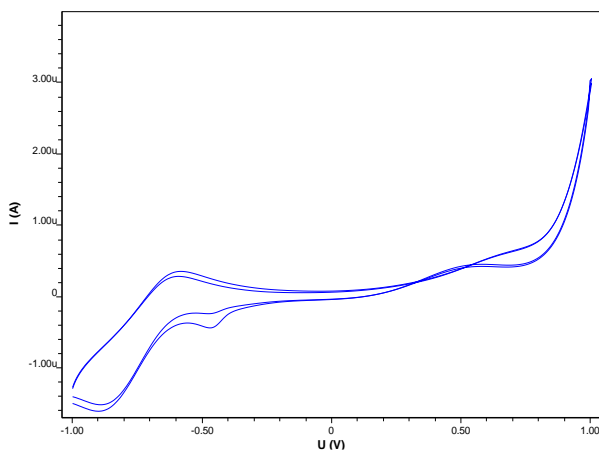
Γράφημα 22: Βολταμμογράφημα X-3 με ηλεκτρόδιο πλατίνας με προκατ. (1)



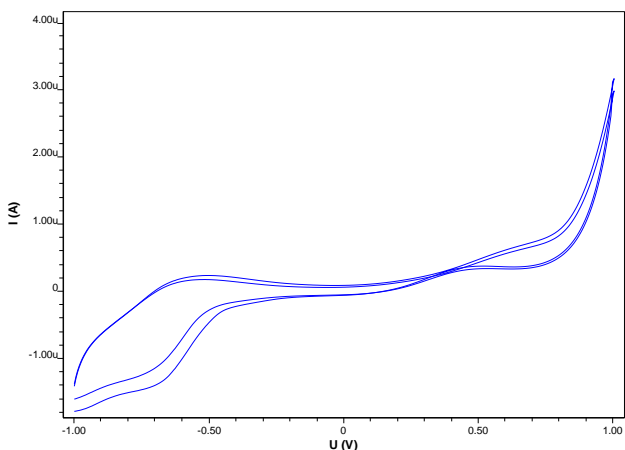
Γράφημα 23: Βολταμμογράφημα K-4 με ηλεκτρόδιο πλατίνας με προκατ. (1)



Γράφημα 24: Βολταμμογράφημα M-2 με ηλεκτρόδιο πλατίνας με προκατ. (1)



Γράφημα 25: Βολταμμογράφημα K-2 με ηλεκτρόδιο πλατίνας με προκατ. (1)



Γράφημα 26: Βολταμμογράφημα K-3 με ηλεκτρόδιο πλατίνας με προκατ. (1)

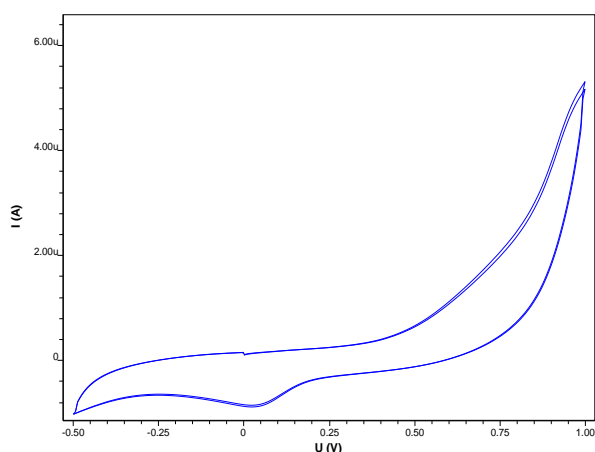
Με μια απλή σύγκριση των παραπάνω γραφημάτων παρατηρείται εύκολα η ανομοιότητα των οίνων με τα μέσα νοθείας. Εξάιρεση αποτελεί το δείγματα κρασιού K-4 όπου εμφανίζει μια μικρή καθοδική κορυφή στα αρνητικά δυναμικά σε αντίθεση με τα άλλα κρασιά.

Η παρατήρηση αυτή οδηγεί στο συμπέρασμα πως η συγκεκριμένη μέθοδος είναι αρκετά καλή για να χρησιμοποιηθεί ως μοντέλο εύρεσης και ποσοτικοποίησης νοθείας λευκού οίνου και τίθεται ως μια ακόμα υποψήφια για το σκοπό αυτό.

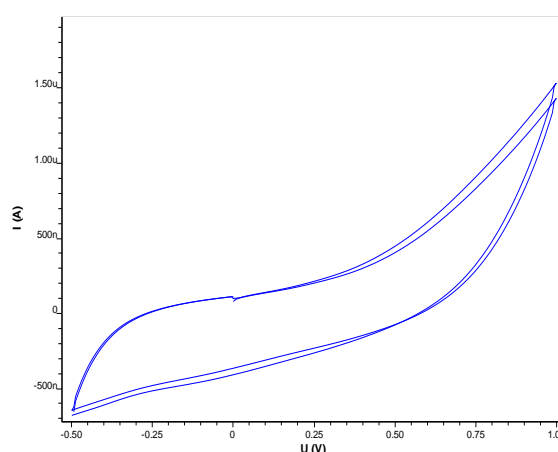
3.1.5. Δοκιμή (2) με προκατεργασία

Σε αυτήν την δοκιμή εκτός από εκχύλιση πραγματοποιείται εξάτμιση του διαλύτη, αναδιάλυση με μεθανόλη αλλά και προσθήκη στερεού ηλεκτρολύτη LiClO_4 . Οι διαλύτες που επιλέγονται όπως αναφέρθηκε στο πειραματικό μέρος της εργασίας είναι το διχλωρομεθάνιο και ο οξικός αιθυλεστέρας.

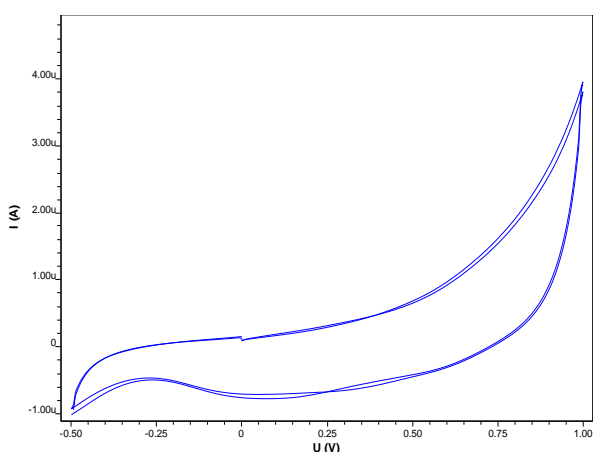
Αρχικά, χρησιμοποιώντας το διχλωρομεθάνιο ως διαλύτη παρατηρείται πως με τη χρήση όλων των ηλεκτροδίων (εκτός από το ηλεκτρόδιο χρυσού) δεν εμφανίστηκαν σημαντικές διαφορές στα προφίλ έντασης δυναμικού. Έτσι, για το ηλεκτρόδιο του χρυσού εμφανίζονται κάποιες διαφορές μεταξύ των δειγμάτων οίνου και νοθευτικών.



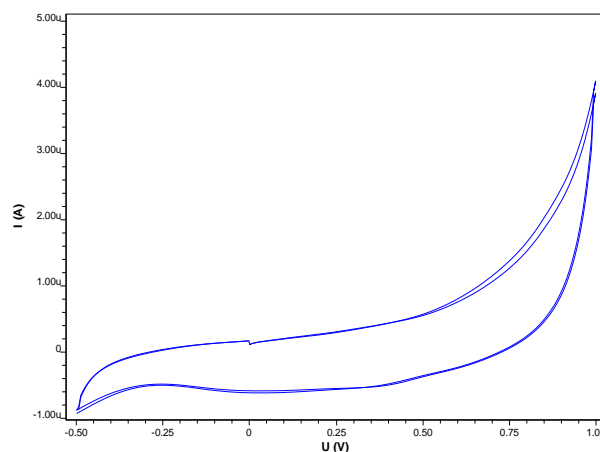
Γράφημα 27: Βολταμμογράφημα K-1 με ηλεκτρόδιο χρυσού με προκατ. (2)



Γράφημα 28: Βολταμμογράφημα X-3 με ηλεκτρόδιο χρυσού με προκατ. (2)



Γράφημα 29: Βολταμμογράφημα K-4 με ηλεκτρόδιο χρυσού με προκατ. (2)



Γράφημα 30: Βολταμμογράφημα M-2 με ηλεκτρόδιο χρυσού με προκατ. (2)

Γενικότερα, παρατηρείται μια διαφορετική καθοδική κορυφή για την περίπτωση οίνου και χυμού ενώ για τον μηλίτη εμφανίζεται ακριβώς η ίδια συμπεριφορά με τα δείγματα κρασιού. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα και αυτή η μέθοδος με το ηλεκτρόδιο χρυσού να

απορρίπτεται. Σημειώνεται πως ακόμα και αυτή η μικρή ανομοιότητα μεταξύ κρασιών και χυμού δεν είναι αρκετή ώστε να καταστήσει τη μέθοδο καλή για το σκοπό της διπλωματικής καθώς πρέπει ταυτόχρονα να μπορεί να υπάρχει διαχωρισμός και για την περίπτωση του μηλίτη. Γενικότερα, αξίζει να σημειωθεί πως το αρνητικό αποτέλεσμα με όλα τα ηλεκτρόδια με αυτήν την δοκιμή είναι πιθανό να οφείλεται σε διαφυγή κάποιων πτητικών συστατικών κατά τη διάρκεια της εξάτμισης του διαλύτη της εκχύλισης. Τα συστατικά αυτά ενδεχομένως να συμμετέχουν ενεργά στις οξειδοαναγωγικές αντιδράσεις που εμφανίζονται στα βολταμμογραφήματα και αυτό να οδηγεί σε κοινά γραφήματα μεταξύ των επιλεγμένων δειγμάτων.

Τέλος, με τη χρήση του οξικού αιθυλεστέρα ως διαλύτη δεν είναι εφικτή η σύγκριση καθώς στην περίπτωση του χυμού μήλου αλλά και του μηλίτη η εκχύλιση δεν είναι δυνατόν να πραγματοποιηθεί. Πιο συγκεκριμένα, κατά την εκχύλιση των δειγμάτων δεν είναι δυνατόν ο σαφής διαχωρισμός των φάσεων του διαλύτη και του διαλύματος με αποτέλεσμα οποιαδήποτε κίνηση μεταβολής της θέσης της στρόφιγγας να μεταβάλλει την ισορροπία του μίγματος και οι δύο (όχι και τόσο διακριτές) φάσεις να αναμιγνύονται εντελώς.

3.2. Επιλεγμένες μέθοδοι εύρεσης νοθείας κρασιού

Προκειμένου να γίνει η τελική επιλογή των παραμέτρων του πειράματος που θα χρησιμοποιηθούν πρέπει να υπάρξει μια συγκεντρωτική κατάταξη των αποτελεσμάτων που προέκυψαν διαγραμματικά από τις διαδικασίες που ακολουθήθηκαν. Για αυτό το σκοπό δημιουργείται ένας πίνακας αποτελεσμάτων όπου σημειώνεται με πλην (-) η μέθοδος με το ηλεκτρόδιο που δεν λειτούργησε, με συν (+) η μέθοδος που φαίνεται να έχει αρκετά καλά αποτελέσματα και με συν/πλην (+/-) η μέθοδος που έχει πολύ μικρά αποτελέσματα ως προς τις διαφορές στα γραφήματα.

Πίνακας 8: Συγκεντρωτικός πίνακας αποτελεσμάτων βελτιστοποίησης

Διαδικασία Ηλεκτρόδιο	Χωρίς ηλεκτρολύτη	Με LiClO ₄	Με KCl	Προκατ. (1)	Προκατ. (2)
Πλατίνα	+/-	+/-	-	+	-
Χρυσός	-	-	+/-	-	-
Υαλώδης άνθρακας	-	-	-	-	-
DRP-110CNT-GNP	+/-	+	-	-	-
DRP-C110	-	-	-	-	-
DRP-CBDD10	-	+/-	-	-	-
Screen printed άνθρακα (ΕΚΠΑ)	-	-	-	-	-
Γραφίτης	-	-	-	-	-

Αρχικά, πριν χρησιμοποιηθούν οι επιλεγμένες μέθοδοι κατά την χημειομετρία (PCA και class modelling) και την ποσοτικοποίηση μέσω της μεθόδου PLS αξίζει να αναφερθούν κάποια συνολικά συμπεράσματα που προκύπτουν από την διαδικασία βελτιστοποίησης των βολταμμετρικών συνθηκών.

Τα συμπεράσματα αυτά είναι τα εξής:

- Η απλή τοποθέτηση του μετρούμενου διαλύματος στο ηλεκτρολυτικό κελί δεν αποφέρει σημαντικά αποτελέσματα με κανένα από τα ηλεκτρόδια που χρησιμοποιούνται. Μόνη εξαίρεση αποτελούν τα ηλεκτρόδια της πλατίνας και το τροποποιημένο screen printed ηλεκτρόδιο άνθρακα. Μια τέτοια παρατήρηση είναι αναμενόμενη καθώς πρόκειται για ποτά πολύ κοντά στη χημική τους σύσταση και οποιαδήποτε διαφορά βολταμμετρικά ενδεχομένως να οφείλεται σε κάποια προσθήκη ηλεκτρολύτη, ο οποίος παρέχοντας ελεύθερα κινούμενα ιόντα, θα δημιουργήσει διαφορετικά ηλεκτρικά αγωγά διαλύματα.
- Η προσθήκη του στερεού ηλεκτρολύτη έχει γενικά καλύτερα αποτελέσματα από την προσθήκη του υδατικού διαλύματος KCl και μάλιστα με τη χρήση του υπερχλωρικού λιθίου και το ηλεκτρόδιο DRP-110CNT-GNP φαίνεται να εμφανίζονται πολύ καλά αποτελέσματα.
- Με το LiClO_4 εμφανίζονται μικρές διαφορές ακόμα και με το ηλεκτρόδιο boron doped DRP-CBDD10, ηλεκτρόδιο το οποίο δεν εμφανίζει με καμία άλλη μεθοδολογία κάποιο αποτέλεσμα. Εδώ αξίζει να σημειωθεί πως τα ηλεκτρόδια BDD γενικότερα μπορούν να ενεργοποιηθούν με πολλές διεργασίες που υπάρχουν στην παγκόσμια βιβλιογραφία οπότε υπάρχει πιθανότητα με κάποια άλλη κατεργασία να είχε καλύτερα αποτελέσματα. Ενδεικτικά αναφέρεται μια προκατεργασία που φαίνεται να έχει βιβλιογραφικά καλά αποτελέσματα στην προκατεργασία αυτών των ηλεκτροδίων: χρήση υδατικού διαλύματος θεικού οξέος συγκέντρωσης 0,5 M και καθοδική επεξεργασία με εφαρμογή δυναμικού -1,4 V για 180 s κατά την έναρξη κάθε μέρας ενώ μεταξύ μεμονωμένων μετρήσεων εφαρμόζεται ενεργοποίηση για 60s υπό τις ίδιες συνθήκες. Σε περίπτωση ανοδικής προκατεργασίας χρησιμοποιείται το ίδιο διάλυμα σε δυναμικό +1,4 V ομοίως για 180 s [89].
- Η προκατεργασία (1), δηλαδή η διαδικασία με την εκχύλιση και την προσθήκη αιθανολικού διαλύματος ηλεκτρολύτη, δεν φαίνεται να εμφανίζει αποτελέσματα με κανένα ηλεκτρόδιο εκτός από το ηλεκτρόδιο της πλατίνας, το οποίο για ακόμα μια φορά κρίνεται αποτελεσματικό. Αξίζει να σημειωθεί πως η παρούσα προκατεργασία έχει χρησιμοποιηθεί με επιτυχία και σε παρόμοια μελέτη νοθείας του εργαστηρίου ανόργανης και αναλυτικής χημείας για την εύρεση νοθείας παρθένου ελαιόλαδου με ηλεκτρόδια υαλώδους άνθρακα και πλατίνας [73].
- Η προκατεργασία (2), δηλαδή η διαδικασία με την εκχύλιση, την εξάτμιση και την αναδιάλυση με μεθανόλη, δεν φαίνεται να είναι ικανοποιητική με κανένα από τα ηλεκτρόδια που χρησιμοποιούνται. Όπως ήδη αναφέρθηκε, αυτό ενδεχομένως οφείλεται στην εξάτμιση των πτητικών συστατικών κατά την εξάτμιση του διαλύτη. Οι ενώσεις αυτές πιθανώς να ήταν από αυτές που συμμετείχαν στη δημιουργία των κορυφών και έχουν διαχυθεί κατά την εκχύλιση από τη φάση του δείγματος στη φάση του διαλύτη.

- Τα ηλεκτρόδια screen printed γενικότερα δεν είναι πολύ αποδοτικά όταν χρησιμοποιούνται σε διαβρωτικούς διαλύτες όπως είναι το διχλωροαιθάνιο ενώ προκαλείται ταυτόχρονα και αποκόλληση στο χρώμα που έχει δημιουργηθεί από την εξειδικευμένη εκτύπωση που αυτά υφίστανται. Η θεωρητική αυτή γνώση συμφωνεί απόλυτα με τα αποτελέσματα που υπάρχουν στον πίνακα 7 για τα 4 εκτυπωμένα ηλεκτρόδια καθώς δεν φαίνεται να «λειτουργούν».
- Τέλος, τα ηλεκτρόδια του γραφίτη καθώς και το screen printed του ΕΚΠΑ δεν είναι λειτουργικά με καμία από τις δοκιμές που έγιναν, γεγονός που οδηγεί στην σκέψη για την εναλλακτική χρήση τους σε επόμενες έρευνες μέσω κάποιας αρχικής τροποποίησης τους (π.χ. με νανοσωματίδια).

Τελικά, όπως είναι φανερό οι μέθοδοι οι οποίες θεωρούνται ως οι καλύτερες δυνατές (οι οποίες συμβολίζονται με κόκκινο χρώμα στον παραπάνω πίνακα) είναι οι εξής:

1. Χρήση ηλεκτροδίου εργασίας πλατίνας (λευκόχρυσος), προκατεργασία μίγματος με εκχύλιση με διχλωροαιθάνιο και προσθήκη ίσης ποσότητας αιθανολικού διαλύματος στερεού ηλεκτρολύτη LiClO_4 .
2. Χρήση ηλεκτροδίου εργασίας εκτυπωμένο ηλεκτρόδιο άνθρακα DRP-110CNT-GNP, χωρίς προκατεργασία και με προσθήκη μικρής ποσότητας στερεού ηλεκτρολύτη LiClO_4 .

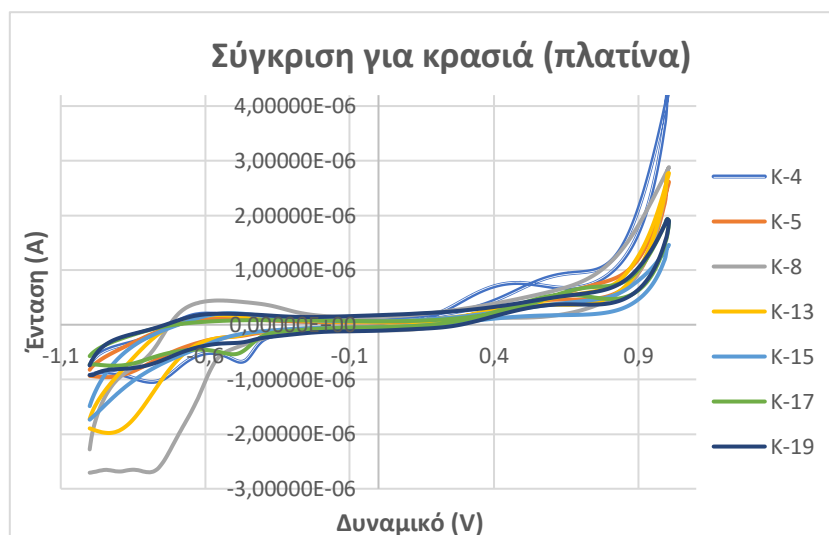
3.3. Χημειομετρία

Σύμφωνα με το θεωρητικό μέρος της εργασίας η χημειομετρία είναι μια μέθοδος που χρησιμοποιείται για την αξιολόγηση και την βελτιστοποίηση εξαγωγής ενός μεγάλου όγκου πληροφοριών που προκύπτουν από αναλυτικό ποσοτικά πειράματα. Στη συγκεκριμένη διπλωματική εργασία ο μεγάλος όγκος πληροφοριών περιλαμβάνει δεδομένα έντασης για κάθε μια κοινή τιμή δυναμικού (από -1 έως 1V) για όλα τα δείγματα. Έτσι, επί της ουσίας αφού συλλεχθούν όλα τα δεδομένα και εισαχθούν στα υπολογιστικά κελιά του excel χρησιμοποιείται το προγραμματιστικό περιβάλλον του SIMCA έτσι ώστε να γίνει κατάταξη των δειγμάτων ανάλογα με την κατηγορία στην οποία ανήκουν αλλά και να πραγματοποιηθεί η διαδικασία της ποσοτικοποίησης της νοθείας. Σημειώνεται πως ο πίνακας των δεδομένων (data matrix) αποτελούταν από 82 γραμμές (εξεταζόμενα δείγματα) και 675 στήλες (τιμές ρεύματος για κάθε τιμή τάσης) για τις δύο πρώτες χημειομετρικές μεθόδους ενώ για την περίπτωση της ποσοτικοποίησης με την PLS οι γραμμές γίνονται 29 (νοθευμένα μίγματα) ενώ οι στήλες παραμένουν ίδιες.

3.3.1. Ανάλυση δειγμάτων κρασιού, χυμού και μηλίτη με ηλεκτρόδιο εργασίας λευκόχρυσου και προκατεργασία με διχλωρομεθάνιο

Όπως αναφέρθηκε στην παραπάνω ενότητα της βελτιστοποίησης των παραμέτρων η προκατεργασία (1) – δηλαδή η εκχύλιση των δειγμάτων με διχλωρομεθάνιο και προσθήκη ίσης ποσότητας αιθανολικού διαλύματος ηλεκτρολύτη (LiClO_4) στη φάση του διαλύτη – είναι μια διαδικασία που φαίνεται να έχει αξιόλογα αποτελέσματα. Έτσι, σε πρώτο στάδιο προκειμένου να κατανοηθούν τα γραφήματα και τα αποτελέσματα που θα προκύψουν από τη χημειομετρία παρουσιάζονται παρακάτω μέσω

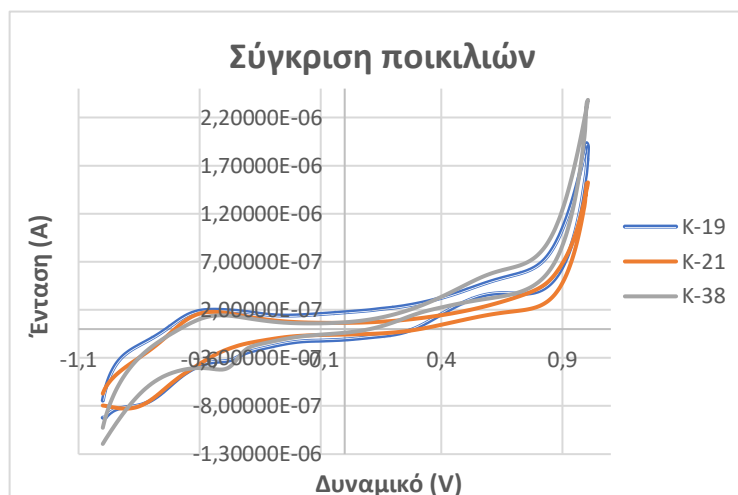
διαγραμματικής απεικόνισης κάποια επιλεγμένα κρασιά που ανήκουν σε διαφορετικά γεωγραφικά διαμερίσματα αλλά και σε διαφορετικές ποικιλίες προκειμένου να φανεί η τοπογραφική επίδραση των δειγμάτων στην βολταμετρική συμπεριφορά.



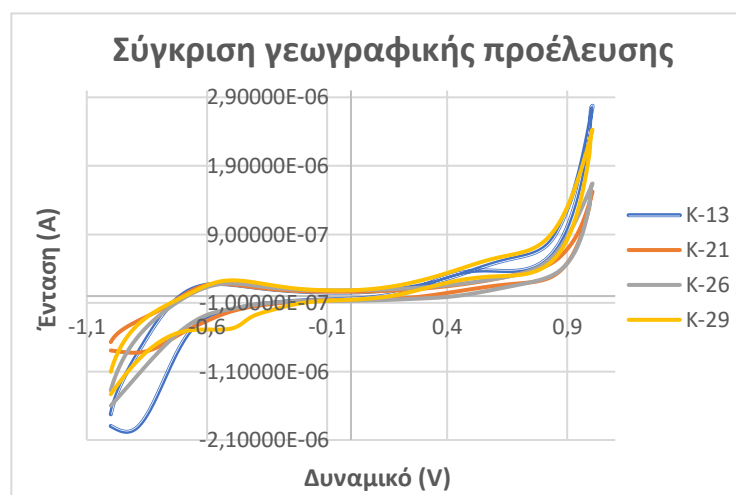
Γράφημα 31: Διάγραμμα για τα επιλεγμένα κρασιά με ηλεκτρόδιο πλατίνας

Όπως είναι φανερό από το παραπάνω γράφημα παρόλο που πρόκειται για δείγματα κρασιού δεν έχουν όλα ακριβώς την ίδια βολταμετρική συμπεριφορά αλλά γενικότερα εμφανίζουν την ίδια μορφή και κορυφές σε κοντινά δυναμικά. Αρχικά, η διαφοροποίηση αυτή μπορεί να αποδοθεί σε ενδεχόμενες διαφορές στις συνθήκες διεξαγωγής των πειραμάτων, καθώς δεν επικρατούσε σταθερά η ίδια θερμοκρασία (ενδεικτικό εύρος τιμών θερμοκρασίας: 10-30°C) αλλά και σε πιθανά πειραματικά σφάλματα κατά τη διάρκεια των μετρήσεων. Βέβαια, οι παραπάνω αιτιολογήσεις ως προς τις αποκλίσεις των συνεχών γραμμών στα γραφήματα δεν είναι οι μοναδικές αλλά ούτε και οι πιο βασικές. Πιο συγκεκριμένα, είναι πιθανό να υπάρχει μεγάλη εξάρτηση από τη γεωγραφική προέλευση των κρασιών που έχουν επιλεγεί για την διαγραμματική σύγκριση αλλά και από την ποικιλία από την οποία προέρχονται. Αρχικά, σύμφωνα με βιβλιογραφικά δεδομένα [90] όπου ερευνάται μέσω αέριας χρωματογραφίας με ανιχνευτή μαζών (GC-MS) η επιρροή των διαφορετικών ποικιλιών (κοινή γεωγραφική προέλευση) στην ύπαρξη και στην συγκέντρωση κάποιων συστατικών, προέκυψε σημαντική διαφορά. Ειδικότερα, σε πολλά από τα συστατικά που συμμετέχουν σε οξειδοαναγωγικές δράσεις (π.χ. οξικό οξύ) υπάρχουν αποκλίσεις της τάξης των mg/L στις συγκεντρώσεις μεταξύ των δειγμάτων. Η παρατήρηση αυτή έχει προφανώς άμεσο αποτέλεσμα στο βολταμετρικό προφίλ και οι διαφορές στις συγκεντρώσεις οδηγούν σε διαφοροποιήσεις στη θέση των κορυφών. Επίσης, μέσω μιας έρευνας [91] που έγινε για τα φαινολικά συστατικά σε κοινές ποικιλίες κρασιών για διαφορετικές περιοχές της Κίνας που παράγουν μεγάλες ποσότητες οίνου προέκυψε ακριβώς το ίδιο αποτέλεσμα με την προαναφερθείσα έρευνα. Παρόλα αυτά, προκειμένου να γίνει αντιληπτό ποια από τις δύο παραμέτρους, δηλαδή η γεωγραφική προέλευση ή η ποικιλία, επιδρούν περισσότερο (ή αν επιδρούν) στα βολταμετρικά προφίλ των οίνων εξετάζονται ως ξεχωριστές παράμετροι. Πιο συγκεκριμένα, επιλέγονται κρασιά από την ίδια περιοχή (Ερυθρές Βοιωτίας) που προέρχονται από διαφορετική ποικιλία και η διαγραμματική τους σύγκριση παρατίθεται στο γράφημα 32 ενώ χρησιμοποιούνται οίνοι από κοινή

ποικιλία (ρετσίνα) για να διευκρινιστεί η γεωγραφική επίδραση και το γράφημα ακολουθεί ομοίως παρακάτω.



Γράφημα 32: Διάγραμμα για τη σύγκριση μεταξύ διαφορετικών ποικιλιών οίνου



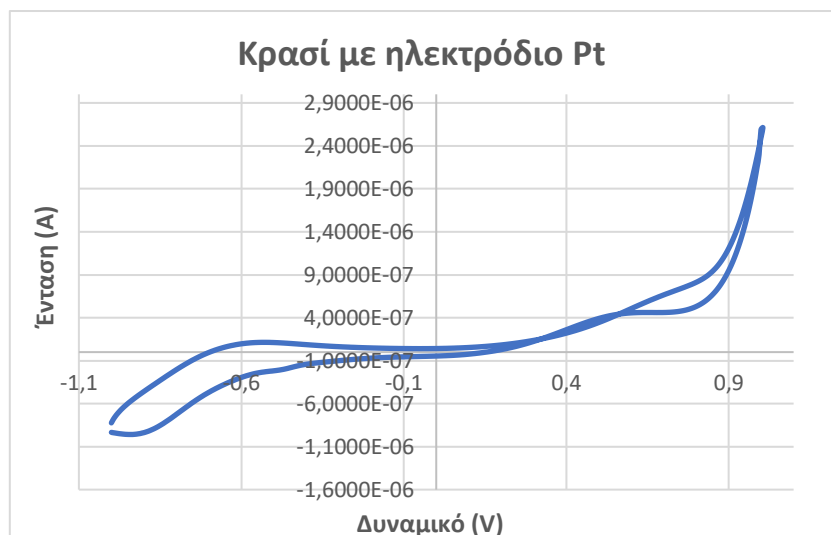
Γράφημα 33: Διάγραμμα για τη επίδραση της γεωγραφικής προέλευσης οίνου

Όπως είναι φανερό από τα παραπάνω γραφήματα τόσο η ποικιλία όσο και η γεωγραφική προέλευση επιδρούν στα διαγράμματα έντασης δυναμικού. Αυτό το συμπέρασμα μπορεί να εξαχθεί με σιγουριά παρατηρώντας τις διαφοροποιήσεις μεταξύ των καμπυλών του κάθε οίνου. Επιπλέον, μέσω μελέτης των διαφορών αυτών θα μπορούσε να θεωρηθεί πως η γεωγραφική προέλευση επιδρά περισσότερο στο οξειδοαναγωγικό προφίλ των ενώσεων των δειγμάτων οίνου καθώς στο γράφημα 33 παρατηρούνται περισσότερες αλλομορφίες μεταξύ των καμπυλών σε σχέση με το γράφημα 32.

Στη συνέχεια, προκειμένου να γίνει πλήρως αντιληπτή η χημειομετρική διαγραμματική απεικόνιση που ακολουθεί στις ερχόμενες ενότητες κρίνεται επίσης απαραίτητη η αξιολόγηση και επεξήγηση των κορυφών που υπάρχουν στα γραφήματα κρασιών, χυμών και μηλιτών.

Είναι γνωστό ότι τα οινοπνευματώδη ποτά, και ιδιαίτερα οι λευκοί οίνοι περιέχουν σημαντική ποσότητα αντιοξειδωτικών και ευοξειδωτων ενώσεων (π.χ. φαινολικά συστατικά). Οι ενώσεις αυτές μπορούν να υποστούν ηλεκτροχημική οξείδωση ή αναγωγή η οποία θα αποδοθεί διαγραμματικά μέσω της ύπαρξης κάποιας κορυφής στα αντίστοιχα βολταμμογράφημα.

Έτσι, ένα χαρακτηριστικό και ενδεικτικό κυκλικό βολταμμογράφημα για τη συμπεριφορά που καταγράφηκε για τον οίνο είναι το δείγμα με κωδική ονομασία K-5 και παρουσιάζεται στο παρακάτω διάγραμμα.



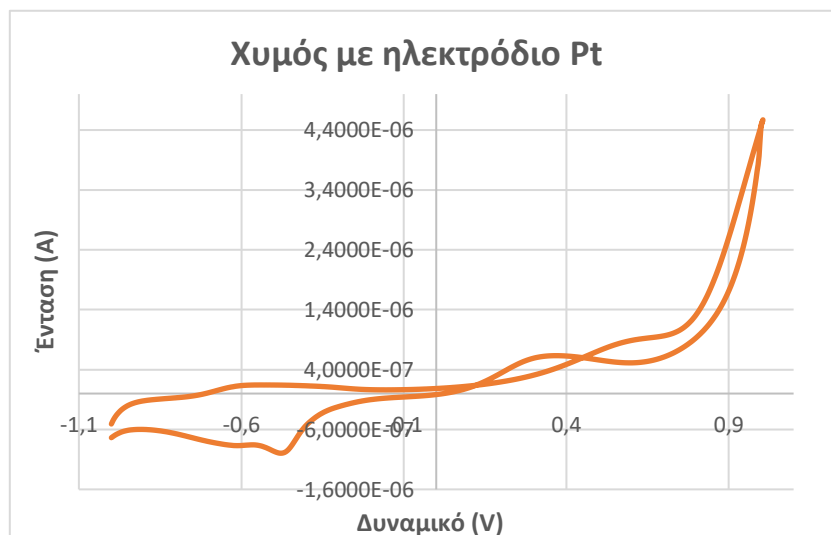
Γράφημα 34: Διάγραμμα για το δείγμα K-5 με ηλεκτρόδιο πλατίνας

Σύμφωνα με το παραπάνω γράφημα είναι εμφανές πως κατά την ανοδική σάρωση δεν παρουσιάζονται κορυφές. Αντίθετα, κατά την καθοδική σάρωση εμφανίζεται μια καθοδική κορυφή λίγο πιο αριστερά από τα 0,75 V. Η ακριβής θέση της κορυφής αυτής είναι μάλλον αμφισβητήσιμη, γεγονός το οποίο μάλλον υποδηλώνει επικαλυπτόμενα στάδια αναγωγής. Παράλληλα, εμφανίζεται ένας πολύ μικρός βρόγχος αρκετά κοντά στη κορυφή που αναφέρθηκε.

Γενικά, είναι δύσκολο να αποδοθούν οι ομάδες συστατικών στις οποίες οφείλεται καθεμία από τις κορυφές που εμφανίζονται στα βολταμμογραφήματα. Αυτό συμβαίνει γιατί δεν υπάρχουν πολλές έρευνες που να χρησιμοποιούν ως κύριο μετρούμενο διάλυμα κρασί και ηλεκτρόδιο λευκόχρυσου. Παρόλα αυτά, υπάρχουν έρευνες που μελετούν συστατικά του οίνου με ηλεκτρόδιο πλατίνας και υαλώδους άνθρακα αλλά με χρήση διαφορετικού ηλεκτρολύτη. Πιο συγκεκριμένα, σε μια έρευνα [92] όπου μελετάται η ηλεκτροχημική οξείδωση κάποιων φαινολικών συστατικών σε διάλυμα θεικού οξέος με ηλεκτρόδιο πλατίνας παρατηρείται μια καθοδική κορυφή σε δυναμικό κοντά στα 0,5 V η οποία οφείλεται στην αναγωγή του θεικού οξέος. Σημειώνεται πως προστίθεται θεικό οξύ στο κρασί προκειμένου να αυξηθεί η οξύτητα του, αντί να προστεθεί σε αυτό το ταρταρικό οξύ που υπάρχει φυσικά στον καρπό [93]. Η διαφορά στα δυναμικά αναγωγής οφείλεται, εκτός από τα πιθανά πειραματικά σφάλματα που υπάρχουν, στην μειωμένη πολικότητα του μέσου που διεξήχθησαν οι βολταμμετρικές αναλύσεις σε σχέση με την υδατική φάση που χρησιμοποιήθηκε στην εν λόγω μελέτη καθώς και στην ύπαρξη ηλεκτρολύτη (LiClO₄). Σε άλλη μελέτη [94] με ηλεκτρόδιο υαλώδη άνθρακα όπου έχει πραγματοποιηθεί κυκλική βολταμμετρία σε κρασιά για τον προσδιορισμό πολυφαινολών και ελεύθερο διοξειδίου του θείου, παρατηρείται ομοίως μια καθοδική κορυφή σε κοντινό δυναμικό αναγωγής. Ειδικότερα, στην περίπτωση της κατεχίνης, του καφεϊκού οξέος και της ρουτίνης παρατηρούνται καθοδικές κορυφές που ενδεχομένως οφείλεται στην αναγωγή των εν λόγω ενώσεων. Ομοίως οι διαφορές στην τιμή του δυναμικού οφείλονται τόσο σε πειραματικά σφάλματα όσο και στις διαφορετικές πειραματικές συνθήκες (οργανικό περιβάλλον, pH, ηλεκτρολύτης κ.λ.π.).

Γενικότερα, η εν λόγω καθοδική κορυφή που παρατηρείται μπορεί να έχει προκύψει από τον συνδυασμό των αναγωγών των παραπάνω χημικών ενώσεων.

Ομοίως, για την περίπτωση του χυμού μήλου παρουσιάζεται ένα ενδεικτικό κυκλικό γράφημα του δείγματος με κωδική ονομασία X-2.



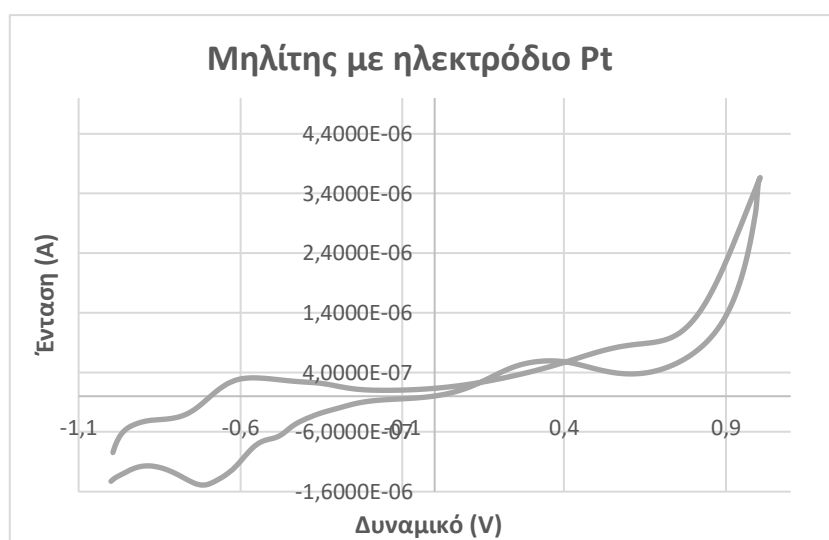
Γράφημα 35: Διάγραμμα για το δείγμα X-2 με ηλεκτρόδιο πλατίνας

Σύμφωνα με το γράφημα 35 είναι εμφανές πως εμφανίζονται ανοδικές και καθοδικές κορυφές. Ειδικότερα, παρουσιάζεται μια καθοδική κορυφή σε δυναμικό $-0,45$ V και μια μικρότερη καθοδική κορυφή σε δυναμικό περίπου $0,7$ V. Αντίθετα, εμφανίζεται ένα ανοδικό κύμα σε δυναμικό περίπου $0,3$ V ενώ παράλληλα εμφανίζεται ένας μεγαλύτερος και πιο ευκρινής βρόγχος αρκετά κοντά στην ανοδική κορυφή που παρουσιάζεται.

Αρχικά, παρατηρείται μια κοινή καθοδική κορυφή με το κρασί σε δυναμικό περίπου ίσο με $0,7$ V. Οι δύο άλλες κορυφές που αναφέρονται είναι διαφορετικές ως προς τον οίνο και θα αναφερθούν ξεχωριστά στη συνέχεια. Ειδικότερα, ως προς την καθοδική ανοδική κορυφή που εμφανίζεται στα αρνητικά δυναμικά δεν υπάρχουν πολλές βολταμετρικές έρευνες που να περιλαμβάνουν μετρήσεις σε αρνητικά δυναμικά με χρήση ηλεκτροδίου πλατίνας σε χυμούς. Σημειώνεται πως η συγκεκριμένη παρατήρηση επεκτείνεται και σε άλλα δείγματα (εκτός του χυμού) καθώς δεν είναι πολύ συχνή η χρήση ηλεκτροδίου λευκόχρυσου σε αρνητικά δυναμικά (συνηθίζεται για αυτήν την περίπτωση η χρήση ηλεκτροδίων υδραργύρου, που όπως αναφέρθηκε στο πειραματικό μέρος της εργασίας δεν θεωρούνται πολύ φιλικά στο περιβάλλον και είναι τοξικά σε ανοδικά δυναμικά) [95]. Παρόλα αυτά, βρέθηκε μια μελέτη [96] για την οξειδοαναγωγική συμπεριφορά κάποιων οργανικών χημικών ουσιών όπου υπάρχουν διαγραμματικά αποτελέσματα κυκλικής βολταμετρίας σε παρόμοιες περιβαλλοντικές συνθήκες. Σε αυτά τα γραφήματα παρατηρείται μια καθοδική κορυφή σε δυναμικό $-0,5$ V και οφείλεται στην αναγωγή της βιταμίνης B₂ (υπάρχει σε όλα τα φρούτα και στους χυμούς τους). Το εν λόγω πείραμα διαθέτει διαφορετικό διάλυμα (ιονισμένο νερό), δεν περιλαμβάνει ηλεκτρολύτη ενώ το ηλεκτρόδιο που χρησιμοποιείται είναι φτιαγμένο από άνθρακα [97]. Ομοίως, η ανοδική κορυφή (κύμα) που παρατηρείται κατά την καθοδική σάρωση είναι πιθανό να οφείλεται στην οξείδωση της βιταμίνης C που περιέχεται σε όλους τους χυμούς φρούτων. Το συμπέρασμα αυτό εξάγεται μέσω μιας μελέτης προσδιορισμού της βιταμίνης C σε χυμούς μήλου

χρησιμοποιώντας ηλεκτρόδιο εργασίας λευκόχρυσου και ηλεκτρολύτη χλωριούχο κάλιο [98]. Στη μελέτη αυτή παρουσιάζεται και η επίδραση της συγκέντρωσης της βιταμίνης C όπου όσο μικρότερη είναι τόσο μειώνεται και το δυναμικό οξείδωσης της ένωσης αυτής.

Τέλος, ως προς τον μηλίτη, ο οποίος σε γενικές γραμμές εμφανίζει μια ενδιάμεση συμπεριφορά σε σχέση με αυτή των κρασιών και των χυμών μήλου, παρουσιάζεται παρακάτω ένα γράφημα χαρακτηριστικό για το βολταμμετρικό προφίλ των εν λόγω δειγμάτων. Ο μηλίτης που χρησιμοποιείται έχει κωδική ονομασία M-3.



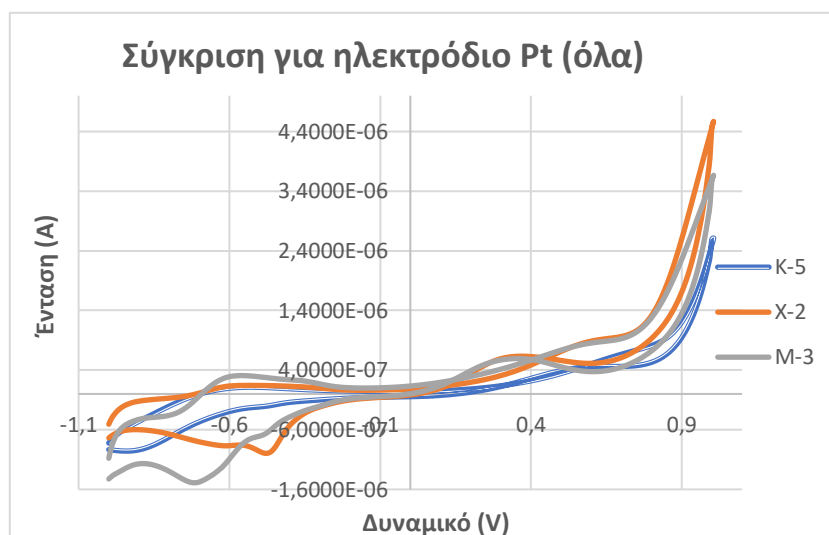
Γράφημα 36: Διάγραμμα για το δείγμα M-3 με ηλεκτρόδιο πλατίνας

Σύμφωνα με το βολταμμογράφημα για τον μηλίτη είναι εμφανές πως εμφανίζονται αρκετές κορυφές. Ειδικότερα, παρουσιάζεται μια καθοδική κορυφή σε δυναμικό $-0,7$ V και μια μικρότερη καθοδική κορυφή σε δυναμικό περίπου $0,7$ V. Αντίθετα, εμφανίζεται μια ανοδική κορυφή σε δυναμικό περίπου $-0,6$ V και άλλη μια σημαντικά μικρότερη σε θετικά δυναμικά, η οποία είναι κοντά στα $0,3$ V. Επιπλέον, και σε αυτήν την περίπτωση υπάρχει ένας ευκρινής βρόγχος αρκετά κοντά στην μικρότερη ανοδική κορυφή ο οποίος όπως αναμένεται με βάση τη θεωρία είναι σε «ένταση» ανάμεσα στον βρόγχο του κρασιού και του χυμού.

Όπως είναι φανερό, μεταξύ των 3 ειδών δειγμάτων εμφανίζονται κάποιες ομοιότητες. Ειδικότερα, η καθοδική κορυφή στα θετικά δυναμικά εμφανίζεται και σε αυτήν την περίπτωση. Επιπλέον, εμφανίζεται τόσο η καθοδική κορυφή στα αρνητικά του άξονα των δυναμικών όσο και η κορυφή κοντά στα $0,3$ V, οι οποίες σχολιάζονται αναλυτικά για την περίπτωση του χυμού. Σημειώνεται πως η μικρή διαφορά στα δυναμικά οξείδωσης και αναγωγής ενδεχομένως οφείλεται στη διαφορετική περιεκτικότητα των βιταμινών B₂ και C στα δύο μέσα νοθείας. Αντίθετα, εμφανίζεται μια ανοδική κορυφή κατά την ανοδική σάρωση στα αρνητικά δυναμικά. Η κορυφή αυτή μπορεί να οφείλεται στην οξείδωση της βιταμίνης B₂ που στη συνέχεια ανάγεται. Ειδικότερα, στη μελέτη [96] με τα διαγραμματικά αποτελέσματα κυκλικής βολταμμετρίας σε παρόμοιες περιβαλλοντικές συνθήκες παρατηρείται μια καθοδική κορυφή σε δυναμικό $-0,5$ V και μια ανοδική σε δυναμικό $0,7$ V. Έτσι, συμπεραίνεται εύκολα πως η βιταμίνη αυτή συμμετέχει ενεργά στο βολταμμογράφημα του μηλίτη τόσο με την οξείδωση όσο και με την αναγωγή της (αντιστρεπτή δράση) ενώ στην περίπτωση του χυμού το στάδιο

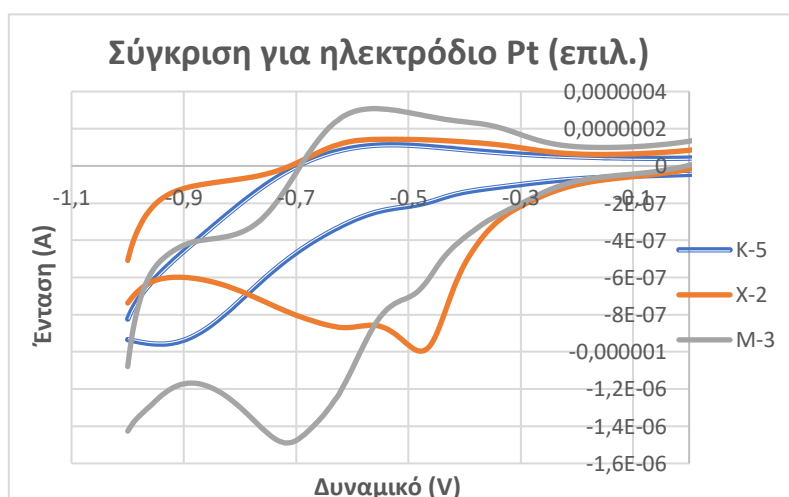
της οξειδωσης είναι πιθανό να επικαλύπτεται με κάποια άλλη δράση (π.χ. αναγωγή κάποιας φαινολικής ένωσης) και να μην είναι τόσο εμφανής στο γράφημα.

Οι παραπάνω διαφορές στην μορφή και στις κορυφές των γραφημάτων παρουσιάζονται και σε ένα κοινό γράφημα προκειμένου να φανούν συγκριτικά οι διαφορές μεταξύ των βολταμμογραφικών προφίλ, στις οποίες στηρίζεται όλη η διαδικασία της βελτιστοποίησης των βολταμμογραφικών συνθηκών. Το συγκεντρωτικό γράφημα για όλα τα δυναμικά στα οποία πραγματοποιείται το κάθε πείραμα (από -1 έως 1 V) φαίνεται παρακάτω.



Γράφημα 37: Διάγραμμα για τα επιλεγμένα δείγματα με ηλεκτρόδιο πλατίνας σε όλα τα δυναμικά (-1 έως 1 V)

Όπως είναι φανερό από την παραπάνω απεικόνιση οι μεγαλύτερες διαφορές μεταξύ κρασιού και χυμού/μηλίτη βρίσκονται στα αρνητικά του άξονα των δυναμικών. Συνολικά, τα κρασιά εμφανίζουν μια μικρή ανοδική κορυφή σε αντίθεση με τους χυμούς που εμφανίζουν μια μεγαλύτερη και καθοδική και τους μηλίτες που εμφανίζουν και μια ανοδική και μια καθοδική με μεγαλύτερο εύρος και ένταση. Σημειώνεται πως στα θετικά δυναμικά η μορφή των γραφημάτων είναι αρκετά παρόμοια και υπάρχουν μόνο κάποιες μικρές αλλομορφίες. Έτσι, προκειμένου να γίνει περισσότερο ορατή η γραφική απεικόνιση των 3 δειγμάτων στα αρνητικά δυναμικά παρουσιάζεται ένα νέο γράφημα μόνο για τα επιλεγμένα αρνητικά δυναμικά (από -1 έως 0 V).



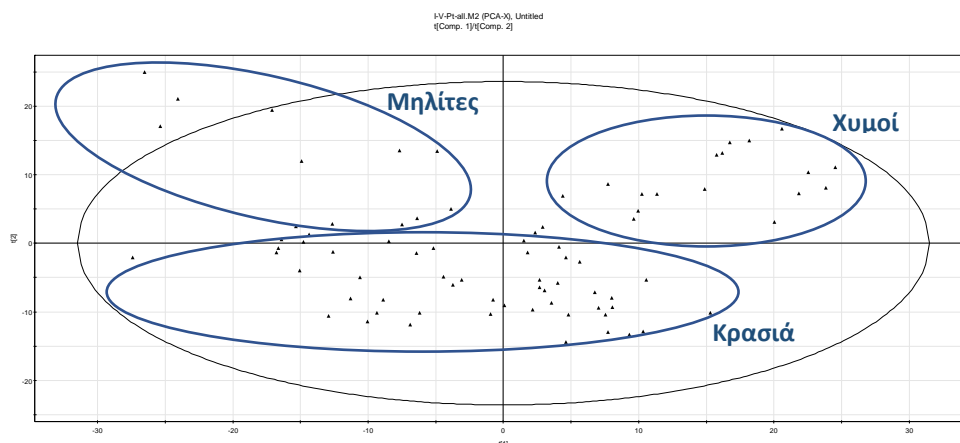
Γράφημα 38: Διάγραμμα για τα επιλεγμένα δείγματα με ηλεκτρόδιο πλατίνας για τα επιλεγμένα δυναμικά (-1 έως 0 V)

Από το γράφημα 38 επιβεβαιώνεται η παραπάνω παρατήρηση για τις μεγάλες διαφορές σε αυτήν την περιοχή δυναμικών και για αυτό το λόγο επιλέγεται το συγκεκριμένο εύρος δυναμικού για τη χημειομετρία που θα αναλυθεί στη συνέχεια προκειμένου να εμφανιστεί η καλύτερη δυνατή κατηγοριοποίηση των δειγμάτων.

Τελικά, μετά την παράθεση των διαφορών στις κορυφές και την αιτιολόγηση τους ακολουθούν οι 3 μέθοδοι χημειομετρίας που αναφέρθηκαν στο θεωρητικό μέρος της εργασίας για την κατηγοριοποίηση των δειγμάτων (PCA και Class modelling) και για την ποσοτικοποίηση της νοθείας (PLS).

3.3.1.1. PCA

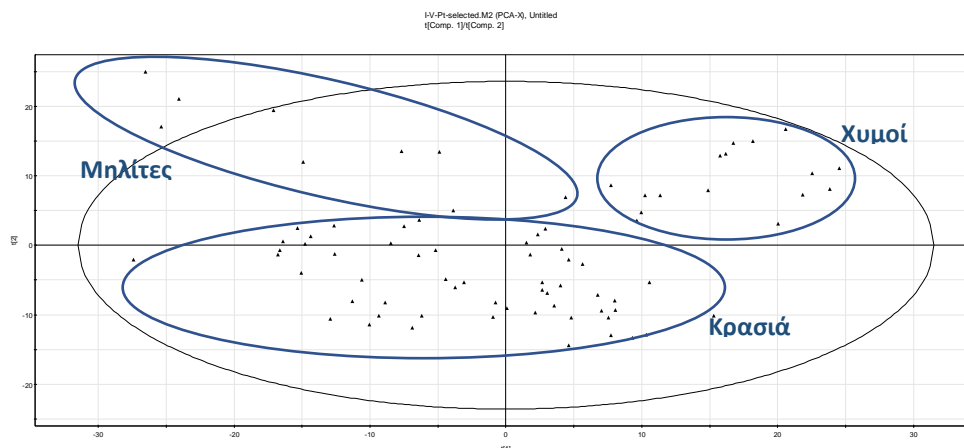
Κατά την ανάλυση PCA, για την περίπτωση της 1^{ης} προκατεργασία με τη χρήση ηλεκτροδίου λευκόχρυσου, ο οίνος K-28 και ο χυμός μήλου X-6 συμπεριφέρονται ως ισχυροί outliers, δηλαδή εμφανίζουν πολύ διαφορετική συμπεριφορά από τα υπόλοιπα δείγματα. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα τα δείγματα αυτά να τοποθετούνται στο εξωτερικό της έλλειψης και όλα τα υπόλοιπα να μαζεύονται στο εσωτερικό της με αποτέλεσμα να μην μπορεί να πραγματοποιηθεί σαφή κατηγοριοποίηση. Έτσι, για τη διευκόλυνση της διαδικασίας τα δύο αυτά δείγματα αφαιρούνται. Τελικά, από αυτή την ανάλυση, προέκυψε μοντέλο με 10 κύριες συνιστώσες, συνολικό συντελεστή συσχέτισης $R^2(\text{cum})= 0,992$ και διασταυρωμένο συντελεστή συσχέτισης $Q^2(\text{cum})= 0,982$ ενώ δημιουργήθηκε διάγραμμα συντεταγμένων (scores plot), το οποίο παρουσιάζεται παρακάτω. Το γράφημα 39 περιλαμβάνει τα δεδομένα έντασης για όλα τα δυναμικά της μέτρησης.



Γράφημα 39: Διάγραμμα PCA σε όλα τα δυναμικά (Pt)

Από το παραπάνω γράφημα είναι εμφανές ότι υπάρχει σε ένα βαθμό μια διαφοροποίηση των λευκών κρασιών από τους χυμούς και τους μηλίτες. Αυτό το αποτέλεσμα είναι αναμενόμενο καθώς τα εν λόγω δείγματα φαίνεται να παρουσιάζουν διαφορές στα βολταμμογραφήματα τους, όπως παρουσιάζεται αναλυτικά στις προηγούμενες ενότητες. Επιπλέον, παρατηρείται μια διασπορά στα δείγματα των κρασιών στο εσωτερικό της έλλειψης η οποία αποδίδεται στη γεωγραφική και ποικιλιακή επίδραση που αναφέρθηκε παραπάνω.

Στη συνέχεια, προκειμένου ενδεχομένως να γίνει καλύτερη κατηγοριοποίηση των δειγμάτων και να δημιουργηθεί μοντέλο με λιγότερες κύριες συνιστώσες χρησιμοποιούνται τα δεδομένα μόνο για τα επιλεγμένα δυναμικά, και έτσι προκύπτει το παρακάτω γράφημα (με αφαίρεση των δύο έκτροπων δειγμάτων). Σημειώνεται πως προέκυψε μοντέλο με 10 κύριες συνιστώσες, με $R^2(\text{cum})=0,992$ και $Q^2(\text{cum})=0,982$, όπως και στην προηγούμενη περίπτωση.

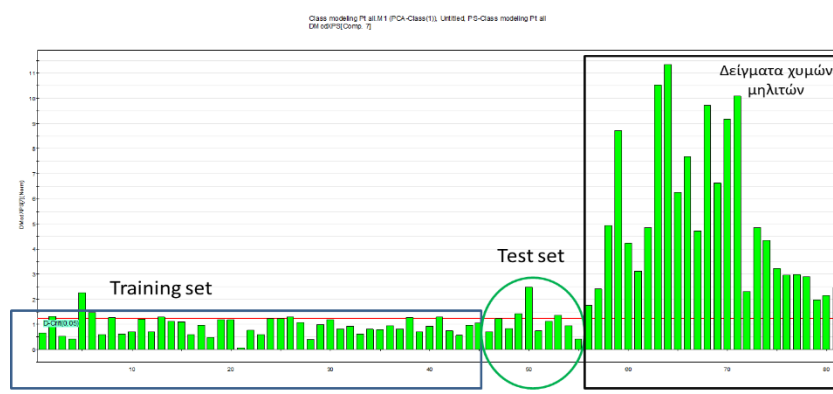


Γράφημα 40: Διάγραμμα PCA στα επιλεγμένα δυναμικά (Pt)

Ομοίως, από το γράφημα 40 παρατηρείται μια ικανοποιητική κατηγοριοποίηση των λευκών κρασιών από τους χυμούς και τους μηλίτες. Επιπλέον, σύμφωνα με την ομαδοποίηση που παρουσιάζεται φαίνεται πως υπάρχει μια καλύτερη συνθήκη για τα επιλεγμένα δυναμικά γεγονός που δεν επιβεβαιώνεται από τα στατιστικά δεδομένα του μοντέλου.

3.3.1.2. Class modelling

Όπως αναφέρθηκε και στο θεωρητικό μέρος της εργασίας στην συγκεκριμένη μέθοδο εισάγεται μια ομάδα δειγμάτων (οίνοι) τα οποία καθορίζουν την κρίσιμη απόσταση (κόκκινη γραμμή). Τα υπόλοιπα δείγματα εισάγονται ως άγνωστα και ελέγχεται η απόστασή τους από την κρίσιμη. Επίσης, προκειμένου να επιβεβαιωθεί η ταυτότητα κάποιων οίνων εισάγονται κάποια τυχαία δείγματα ως test set (K-2, K-4, K-12, K-13, K-19, K-23, K-25, K-42, K-46, K-50) και το τελικό αποτέλεσμα παρουσιάζεται στο παρακάτω γράφημα. Σημειώνεται πως στην περίπτωση της απεικόνισης με όλα τα δυναμικά προέκυψε μοντέλο με 7 κύριες συνιστώσες, $R^2=0,994$ και $Q^2=0,971$.



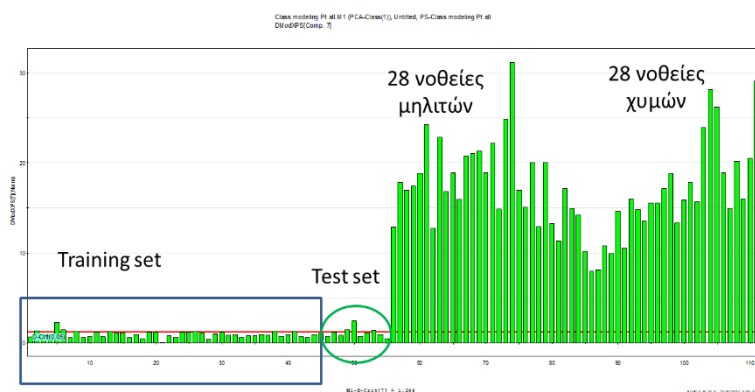
Γράφημα 41: Διάγραμμα Class modelling για όλα τα δυναμικά (Pt)

Από το παραπάνω γράφημα είναι φανερό πως η κατηγοριοποίηση είναι αρκετά καλή αλλά υπάρχουν κάποιες λίγες εξαιρέσεις. Πιο συγκεκριμένα, κάποια δείγματα κρασιού που περιλαμβάνονται στο training set (π.χ. τα K-5, K-6) φαίνεται να αποκλίνουν λίγο από την συμπεριφορά των άλλων οίνων και να απομακρύνονται από την κρίσιμη απόσταση ενώ υπάρχουν και κάποια δείγματα του test set που διαφοροποιούνται με τον ίδιο τρόπο (π.χ. το K19). Επιπλέον, τόσο οι χυμοί όσο και οι μηλίτες φαίνεται να απομακρύνονται (όπως αναμενόταν) από την κρίσιμη απόσταση.

Γενικότερα, για την αξιολόγηση του μοντέλου από την παραπάνω ανάλυση προκύπτουν τα εξής:

- Ως προς την ευαισθησία (sensitivity) δηλαδή τα αληθώς θετικά δείγματα κρασιού (true positive) που δεν ξεπερνούν την κρίσιμη απόσταση: 37/45 (82.2%) για το training set και 6/10 (60.0%) για το test set.
- Ως προς την ειδικότητα (specificity) δηλαδή τα αληθώς αρνητικά δείγματα χυμού και μηλίτη που αποκλίνουν από την κρίσιμη απόσταση: 26/26 (100%)

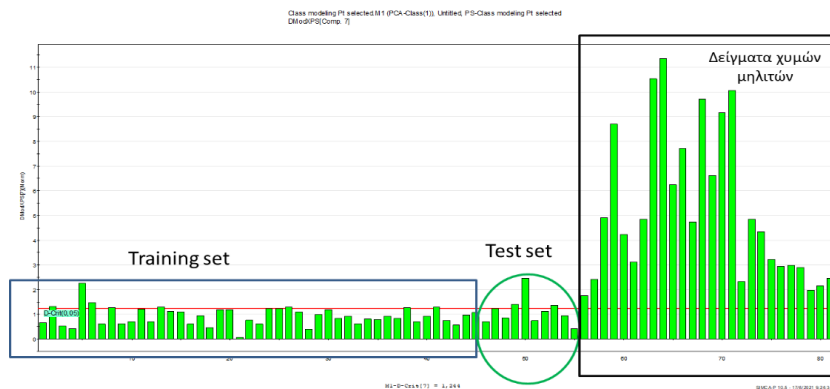
Αξίζει να σημειωθεί πως στην περίπτωση που αντί για τα άγνωστα δείγματα χυμού και μηλίτη εισαχθούν τα συνθετικά μίγματα που δημιουργήθηκαν και μελετήθηκαν κατά την ποσοτικοποίηση προκύπτει ένα μοντέλο το οποίο διαθέτει τις ίδιες κύριες συνιστώσες και τους ίδιους συντελεστές συσχέτισης. Η απεικόνιση που προκύπτει σε αυτήν την περίπτωση είναι η ακόλουθη.



Γράφημα 42: Διάγραμμα Class modelling για όλα τα δυναμικά (Pt) με άγνωστα δείγματα τα συνθετικά μίγματα

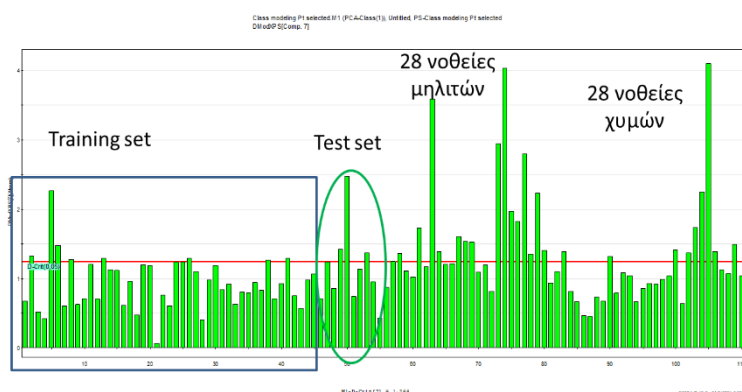
Όπως παρατηρείται από το γράφημα 42 όλα τα συνθετικά μίγματα που δημιουργήθηκαν για την πρόβλεψη της νοθείας ξεπερνούν την κρίσιμη απόσταση και συνεπώς προβλέπονται σωστά από το μοντέλο. Το αποτέλεσμα αυτό οδηγεί στο συμπέρασμα πως η εν λόγω μέθοδος (για την περίπτωση της μη εξαίρεσης κάποιων δυναμικών) έχει την ικανότητα να ανιχνεύσει την νοθεία τόσο με μηλίτη όσο και με χυμό μήλου ακόμα και σε πολύ μικρές συγκεντρώσεις.

Ομοίως ακολουθείται η ίδια διαδικασία για τα επιλεγμένα δυναμικά και το μοντέλο που προκύπτει διαθέτει ομοίως 7 κύριες συνιστώσες, $R^2 = 0,994$, $Q^2 = 0,971$ και το γράφημα που δημιουργείται ακολουθεί στη συνέχεια. Σημειώνεται πως και σε αυτήν την περίπτωση, είναι φανερό πως η κατηγοριοποίηση είναι αρκετά καλή με ελάχιστες εξαιρέσεις, οι οποίες είναι κοινές με το προηγούμενο γράφημα. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα, και η αξιολόγηση του μοντέλου να δίνει ακριβώς τα ίδια αποτελέσματα.



Γράφημα 43: Διάγραμμα Class modelling για τα επιλεγμένα δυναμικά (Pt)

Τέλος, σε αυτήν την περίπτωση, χρησιμοποιώντας ως άγνωστα τα νοθευμένα μίγματα δημιουργείται ένα μοντέλο με τις ίδιες συνιστώσες και συντελεστές συσχέτισης και το γράφημα που προκύπτει ακολουθεί παρακάτω.



Γράφημα 44: Διάγραμμα Class modelling για τα επιλεγμένα δυναμικά (Pt) με άγνωστα δείγματα τα συνθετικά μίγματα

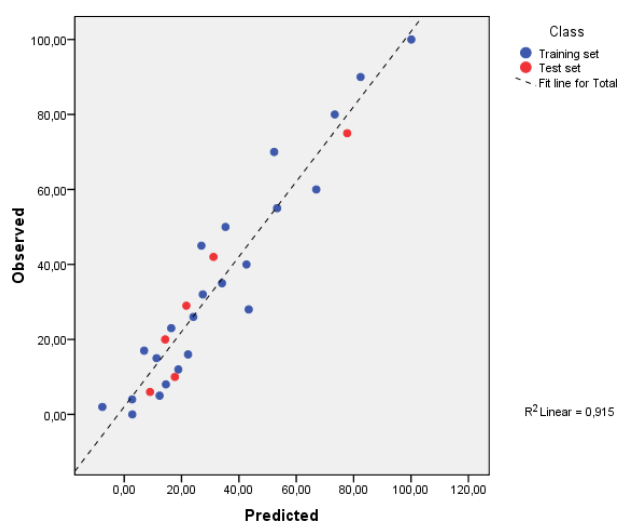
Σύμφωνα με το γράφημα 44 αρκετά από τα συνθετικά μίγματα που δημιουργήθηκαν για την πρόβλεψη της νοθείας δεν ξεπερνούν την κρίσιμη απόσταση. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα το μοντέλο να κρίνεται μη ικανοποιητικό καθώς μπορεί να προβλέψει ένα νοθευμένο δείγμα ως γνήσιο.

3.3.1.3. PLS

Προκειμένου να γίνει αναλυτικά ποσοτικοποίηση της νοθείας λευκού κρασιού με χυμό μήλου και μηλίτη πραγματοποιείται όπως αναφέρθηκε και παραπάνω η μέθοδος ανάλυσης ελαχίστων τετραγώνων (PLS). Σε κάθε περίπτωση, αξιολογείται η νοθεία του οίνου τόσο με το χυμό όσο και με τον μηλίτη ξεχωριστά. Δηλαδή, δημιουργούνται ξεχωριστά μίγματα στις αναλογίες που αναφέρθηκαν με τα δύο αυτά μέσα νοθείας και σχεδιάζονται τα γραφήματα παρατηρούμενης και προβλεπόμενης νοθείας που προκύπτουν σε κάθε περίπτωση. Σημειώνεται πως προκειμένου να γίνει μια εκτενέστερη ανάλυση δημιουργούνται τα γραφήματα τόσο για όλο το εύρος δυναμικού (από -1 έως 1 V) όσο και για τα επιλεγμένα δυναμικά, όπου εμφανίζονται οι μέγιστες βολταμμετρικές διαφορές σε κάθε περίπτωση. Έτσι, αρχικά, στην περίπτωση της

νοθείας του κρασιού με χυμό μήλου μετά από την ανάλυση PLS προκύπτει ένα μοντέλο με 2 κύριες συνιστώσες, $R^2= 0.860$, $Q^2= 0.744$ και $RMSEE= 8.399$. Σημειώνεται πως το $RMSEE$ είναι μια συντομογραφία του στατιστικού μεγέθους Root Mean Squared Error of Estimation ή στα ελληνικά της μέσης τετραγωνικής ρίζας του εκτιμώμενου σφάλματος. Επί της ουσίας υπολογίζεται ως η τυπική απόκλιση της διαφοράς μεταξύ πραγματικών και προβλεπόμενων τιμών, οι οποίες υπολογίζονται από το εκάστοτε μοντέλο. Επιπλέον, το όριο ανίχνευσης υπολογίστηκε ίσο με 3,6 % v/v το οποίο ορίζεται ως η νοθεία για την οποία η σχετική τυπική απόκλιση (RSD) διαδοχικών μετρήσεων ισούται με 33%. Γενικότερα, σε τέτοιου είδους αναλύσεις εύρεσης και ποσοτικοποίησης νοθείας δεν είναι απαραίτητα πολύ χαμηλά όρια ανίχνευσης (π.χ. 1 ή 2%). Αυτό συμβαίνει καθώς οι νοθείες για να είναι οικονομικά συμφέρουσες θα πρέπει να γίνονται τουλάχιστον σε συγκεντρώσεις 10% (v/v). Πρακτικά οι συνηθισμένες νοθείες είναι κατά 30%, 50% ή ακόμα και 100% στο εκάστοτε μέσο νοθείας.

Χρησιμοποιώντας τα δεδομένα και για το training set (μπλε) και για το test set (κόκκινο) προκύπτει το εξής γράφημα (για όλα τα δυναμικά) για αυτήν την ανάλυση:

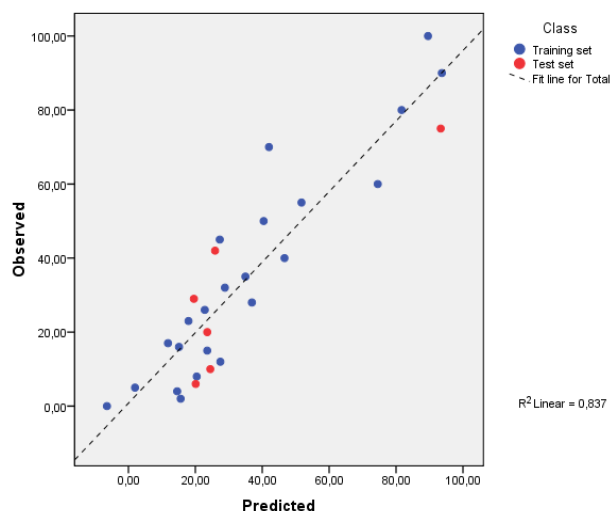


Γράφημα 45: Διάγραμμα παρατηρούμενης και προβλεπόμενης νοθείας με χυμό μήλου σε όλα τα δυναμικά (Pt)

Όπως εύκολα παρατηρείται από το παραπάνω γράφημα το μοντέλο που δημιουργείται διαθέτει μια ικανοποιητική γραμμικότητα τόσο για τα δεδομένα του training όσο και για τα δεδομένα του test set ενώ συνολικά προκύπτει ένας συντελεστής γραμμικότητας (R^2_{linear}) κοντά στην μονάδα (συγκεκριμένα ισούται με 0,915).

Στη συνέχεια, παρατίθεται το γράφημα που δημιουργείται με τα ίδια δεδομένα που προκύπτει και το παραπάνω απλά αφαιρώντας τα δυναμικά στα οποία δεν παρατηρούνται σημαντικές διαφορές κατά το στάδιο της βελτιστοποίησης των παραμέτρων.

Έτσι, προέκυψε ένα μοντέλο με 1 κύρια συνιστώσα, $R^2=0.864$, $Q^2=0,803$ και $RMSEE=11,011$. Επιπλέον, το όριο ανίχνευσης υπολογίστηκε ίσο με 3,5 % (v/v).



Γράφημα 46: Διάγραμμα παρατηρούμενης και προβλεπόμενης νοθείας με χυμό μήλου στα επιλεγμένα δυναμικά (Pt)

Όπως είναι εμφανές από το παραπάνω γράφημα και στα επιλεγμένα δυναμικά παρατηρείται μια ικανοποιητική γραμμικότητα παρόλα αυτά φαίνεται μια μικρή μείωση στον συντελεστή γραμμικότητας. Η μείωση αυτή δεν συνάδει με την μικρή αύξηση που παρατηρείται στους συντελεστές που δίνονται παραπάνω για την αξιολόγηση του μοντέλου. Η παρατήρηση αυτή μπορεί να οφείλεται στην μειωμένη γραμμικότητα των σημείων του test set τα οποία δεν λαμβάνονται υπόψιν στα R^2 και Q^2 ενώ συμπεριλαμβάνονται στο συντελεστή γραμμικότητας.

Η επικύρωση (validation) των παραπάνω μεθόδων έγινε αρχικά με ανάλυση των δειγμάτων του test set και τα αποτελέσματα παρουσιάζονται στον πίνακα 8.

Πίνακας 9: Επικύρωση της μεθόδου με το ηλεκτρόδιο λευκόχρυσου (Pt) για νοθεία με χυμό μήλου

Όλα τα δυναμικά		Επιλεγμένα δυναμικά	
Δείγμα γνωστής νοθείας (v/v)	Νοθεία που υπολογίζει το μοντέλο (v/v)	Δείγμα γνωστής νοθείας (v/v)	Νοθεία που υπολογίζει το μοντέλο (v/v)
6.0 %	9.0 ± 1.0%	6.0 %	20.1 ± 1.6 %
10.0 %	17.7 ± 1.3%	10.0 %	24.5 ± 1.4%
20.0 %	14.3 ± 1.4%	20.0 %	23.6 ± 1.7%
29.0 %	21.7 ± 1.6 %	29.0 %	19.6 ± 1.8%
42.0 %	31.1 ± 2.0%	42.0 %	25.9 ± 1.6%
75.0 %	77.7 ± 2.1 %	75.0 %	93.4 ± 2.2%

Σύμφωνα με τον πίνακα 8 τα ποσοστά νοθείας που προβλέπει το μοντέλο είναι σχετικά κοντινά με τα αντίστοιχα πραγματικά. Παρόλα αυτά, τα αποτελέσματα της επικύρωσης στην περίπτωση των επιλεγμένων δυναμικών εμφανίζουν μεγαλύτερες αποκλίσεις στις τιμές της γνωστής και της προβλεπόμενης νοθείας. Το γεγονός αυτό μπορεί να οφείλεται τόσο σε πειραματικά σφάλματα όσο και στην παρατηρούμενη απόκλιση των δεδομένων του συγκεκριμένου set από τη μορφή $y=x$ του μοντέλου.

Επίσης, η επικύρωση πραγματοποιείται και στα δείγματα (καθαρών) χυμών μήλων και μηλίτων. Σε αυτήν την περίπτωση το μοντέλο υπολογίζει τα εξής:

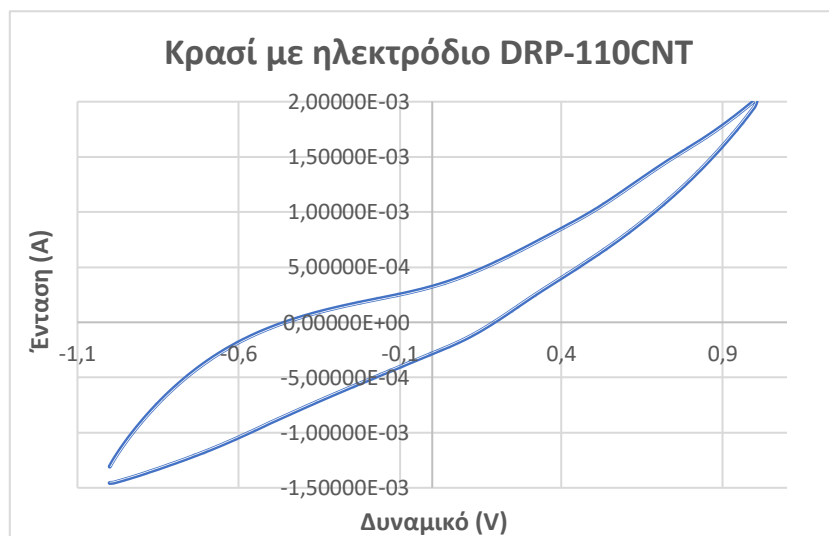
- Για όλα τα δυναμικά: σε εύρος νοθείας 88-115% (v/v)
- Για τα επιλεγμένα δυναμικά: σε εύρος νοθείας 91-118% (v/v).

Στη συνέχεια, ακολουθώντας την ίδια διαδικασία για την περίπτωση της νοθείας με μηλίτη δεν προέκυψαν γραφήματα από την διαδικασία της PLS. Αυτό συμβαίνει καθώς δεν προκύπτει γραμμική συσχέτιση για τα δεδομένα που προέκυψαν από την ανάλυση με αυτό το μέσο νοθείας. Έτσι, συμπεραίνεται πως δεν μπορεί να χρησιμοποιηθεί το συγκεκριμένο μοντέλο για την πρόβλεψη νοθείας λευκού κρασιού με μηλίτη.

3.3.2. Ανάλυση δειγμάτων κρασιού, χυμού και μηλίτη με ηλεκτρόδιο εργασίας εκτυπωμένο άνθρακα χωρίς προκατεργασία

Σε αυτήν την περίπτωση, όπου προστίθεται απλά στο εκάστοτε διάλυμα που μετρείται μικρή ποσότητα ηλεκτρολύτη, εμφανίζονται ομοίως αρκετά καλά αποτελέσματα. Έτσι, και σε αυτή τη διαδικασία, όπου χρησιμοποιείται ηλεκτρόδιο screen printed άνθρακα τροποποιημένο με νανοσωματίδια χρυσού (DRP-110CNT), ακολουθεί η επεξήγηση των ενδεικτικών γραφημάτων κρασιού, χυμού και μηλίτη. Επιπλέον, αξίζει να σημειωθεί πως τα γραφήματα των κρασιών παρουσιάζουν ομοίως διαφορές μεταξύ τους λόγω των διαφορετικής γεωγραφικής προέλευσης και των πολλών ποικιλιών από τα οποία προέρχονται αλλά όχι σε τόσο μεγάλο βαθμό όσο στην προηγούμενη περίπτωση, γεγονός που αναμένεται να επιβεβαιωθεί και στις παρακάτω παραγράφους με τις μεθόδους χημειομετρίας.

Σημειώνεται πως τα γραφήματα έχουν εντελώς διαφορετική μορφή από ότι στην περίπτωση με το ηλεκτρόδιο πλατίνας (Pt) ενδεχομένως λόγω των διαφορετικών χημικών δράσεων που συμβαίνουν στο εκάστοτε ηλεκτρόδιο. Έτσι, αρχικά το βολταμμογράφημα για το δείγμα K-5 είναι το εξής:



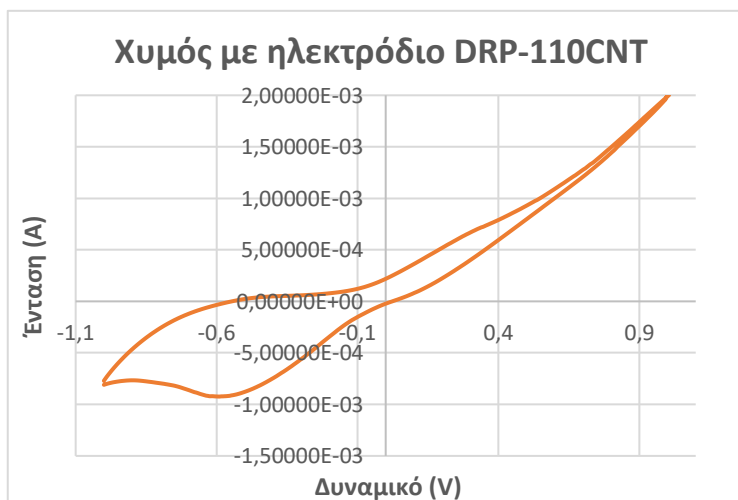
Γράφημα 47: Διάγραμμα για το δείγμα K-5 με ηλεκτρόδιο DRP-110CNT

Σύμφωνα με το παραπάνω διάγραμμα είναι εμφανές πως στο βολταμμογράφημα του οίνου δεν εμφανίζονται σαφείς κορυφές. Παρόλα αυτά, μπορεί να θεωρηθεί πως

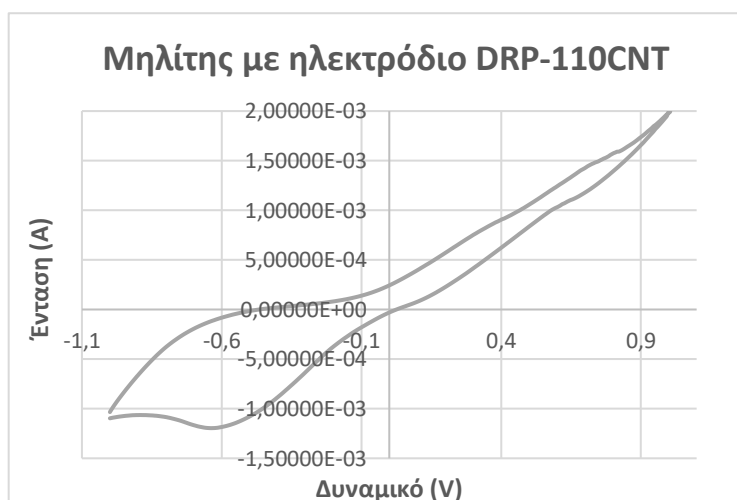
υπάρχει μια πολύ μικρή και διευρυμένη ανοδική κορυφή, η οποία ενδέχεται να είναι απόρροια πολλών οξειδοναναγωγικών δράσεων. Η κορυφή αυτή εμφανίζεται σε ένα εύρος δυναμικών από -0,6 έως -0,1 V ενώ μπορεί να θεωρηθεί πως η καμπή της δίνεται για δυναμικό ίσο με -0,4 V.

Προκειμένου να αποσαφηνιστεί ο λόγος ύπαρξης της συγκεκριμένης μορφής αναζητούνται βιβλιογραφικές πηγές με τη χρήση του συγκεκριμένου ηλεκτροδίου της Metrohm ή με παρόμοια ηλεκτρόδια screen printed που αναλύουν κρασί ή συστατικά που περιέχονται σε αυτό. Έτσι, βρέθηκε μια έρευνα [99] προσδιορισμού χαλκού σε δείγματα κρασιού όπου φανερώνονται πολύ παρόμοια βολταμμετρικά προφίλ με αυτό του γραφήματος 47 χρησιμοποιώντας SPEs. Η περιεκτικότητα των μετάλλων στον οίνο εξαρτάται από το έδαφος, την τοποθεσία, τις ποικιλίες σταφυλιών, τις καιρικές ή τις περιβαλλοντικές συνθήκες. Γενικότερα, κατά τη ζύμωση του κρασιού η συγκέντρωση του χαλκού μειώνεται αλλά στην περίπτωση που κατά την οινοποίηση και την εμφιάλωση το κρασί έρθει σε επαφή με χαλκό (ή κράματα του) τότε μπορεί να αυξηθεί η συγκέντρωση αυτή. Ο χαλκός είναι μια παράμετρος ασφαλείας για τα κρασιά και μάλιστα σε συγκεντρώσεις μεγαλύτερες από 0,5 mg/L έχει αρνητική επίδραση στα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά του ποτού. Στην συγκεκριμένη περίπτωση το γράφημα 46 φαίνεται να έχει πιο όμοια μορφή με το αντίστοιχο γράφημα της έρευνας για συγκέντρωση ίση με 0,2 mg/L οπότε δεν φαίνεται να υπάρχει κάποια απόκλιση από τα όρια ασφαλείας [99]. Σημειώνεται πως η μικρή διαφορά που παρατηρείται κατά την καθοδική σάρωση στα θετικά δυναμικά μεταξύ των δύο γραφημάτων ενδεχομένως οφείλεται στην διαφορετική διαδικασία που έχει ακολουθηθεί στην συγκεκριμένη πειραματική μελέτη (βύθιση ηλεκτροδίου σε κρασί για διαφορετικά χρονικά διαστήματα, έκπλυση του με υδατικό διάλυμα αιθανόλης και οξικό αμμώνιο και χρήση κυκλικής βολταμμετρίας σε διαλύματα χαλκού διαφορετικής συγκέντρωσης).

Στη συνέχεια, όπως και στην προηγούμενη περίπτωση, θα αναλυθούν και τα γραφήματα των νοθευτικών που χρησιμοποιούνται στην παρούσα διπλωματική εργασία. Παρόλα αυτά, εδώ παρατηρείται μια μεγαλύτερη ομοιότητα μεταξύ των γραφημάτων αυτών με αποτέλεσμα να παρατίθενται και να σχολιάζονται μαζί παρακάτω.



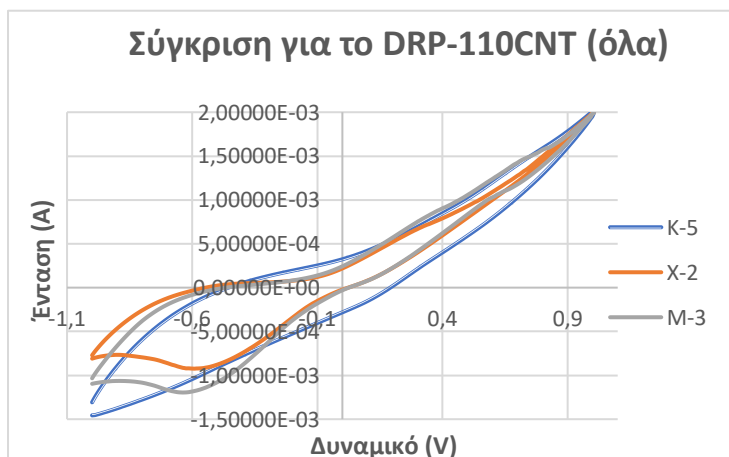
Γράφημα 48: Διάγραμμα για το δείγμα X-2 με ηλεκτρόδιο DRP-110CNT



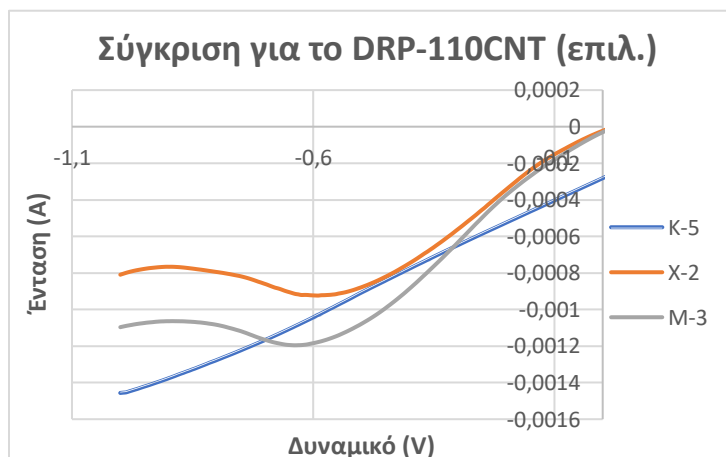
Γράφημα 49: Διάγραμμα για το δείγμα M-3 με ηλεκτρόδιο DRP-110CNT

Όπως είναι φανερό γραφήματα του χυμού και του μηλίτη (48 και 49) παρατηρείται μια κοινή πολύ μικρή ανοδική κορυφή (η οποία παρατηρείται και στο γράφημα του οίνου) αλλά και μια καθοδική κορυφή στα αρνητικά δυναμικά. Η κορυφή αυτή φαίνεται να εμφανίζεται σχεδόν σε ίδιο δυναμικό (-0,55 V) και για τα δύο διαφορετικά δείγματα. Παρόλα αυτά, παρατηρούνται κάποιες μικρές διαφορές ως προς την ένταση στην οποία παρατηρείται η καθοδική αυτή κορυφή. Πιο συγκεκριμένα, στην περίπτωση του μηλίτη η εν λόγω κορυφή εμφανίζεται για μεγαλύτερη (κατά απόλυτη τιμή) ένταση ενώ στο γράφημα του χυμού είναι κάπως πιο διευρυμένη (κατά πλάτος). Σε κάθε περίπτωση όμως, τα αναγωγικά αυτά κύματα είναι κοντινά και ενδεχομένως να οφείλονται στην αναγωγή της ίδιας χημικής ένωσης που περιέχεται τόσο στον χυμό όσο και στον μηλίτη. Γενικότερα, βιβλιογραφικά εκλείπουν δεδομένα με τη χρήση SPE και την βολταμμετρία χυμού μήλου και μηλίτη σε αρνητικά δυναμικά αν και γενικότερα τα συγκεκριμένα ηλεκτρόδια είναι λειτουργικά και σε αυτές τις περιπτώσεις. Παρόλα αυτά, βρέθηκε μια έρευνα [100] κατά την οποία μελετώνται οι φαινολικές ενώσεις που περιέχονται σε εκχυλίσματα τσαγιού με τη χρήση κυκλικής βολταμμετρίας και παρόμοιου ηλεκτροδίου. Σε αυτή τη μελέτη παρατίθεται ένα βολταμμογράφημα στο οποίο εμφανίζεται μια καθοδική κορυφή σε δυναμικό κοντά στα -0,4 V. Η κορυφή αυτή αποδίδεται στην αναγωγή της πάρα-κυνόνης (p-quinone) σε υδροκυνόνη (hydroquinone), η οποία έχει παραχθεί από την οξείδωση της υδροκυνόνης σε πάρα-κυνόνη. Η ένωση που ανάγεται είναι παρούσα σε προϊόντα που παράγονται από μήλα και δρα ως αντιοξειδωτικό [101]. Συνεπώς, η p-quinone είναι πολύ πιθανό να περιέχεται τόσο στο χυμό μήλου όσο και στο μηλίτη. Σημειώνεται πως η διαφορά στο δυναμικό αναγωγής μπορεί να αποδοθεί στις διαφορετικές πειραματικές συνθήκες μεταξύ των δύο πειραμάτων (π.χ. χρήση διαφορετικού ηλεκτρολύτη).

Οι διαφορές στις κορυφές των γραφημάτων που αναφέρθηκαν και αναλύθηκαν παραπάνω παρουσιάζονται και σε ένα κοινό γράφημα προκειμένου να φανεί συγκριτικά η διαφορά μεταξύ των βολταμμογραφικών προφίλ και σε αυτήν την διαδικασία. Τα συγκεντρωτικά γραφήματα για όλα και για τα επιλεγμένα δυναμικά ακολουθούν παρακάτω.



Γράφημα 50: Διάγραμμα για τα επιλεγμένα δείγματα με ηλεκτρόδιο DRP-110CNT σε όλα τα δυναμικά (-1 έως 1 V)



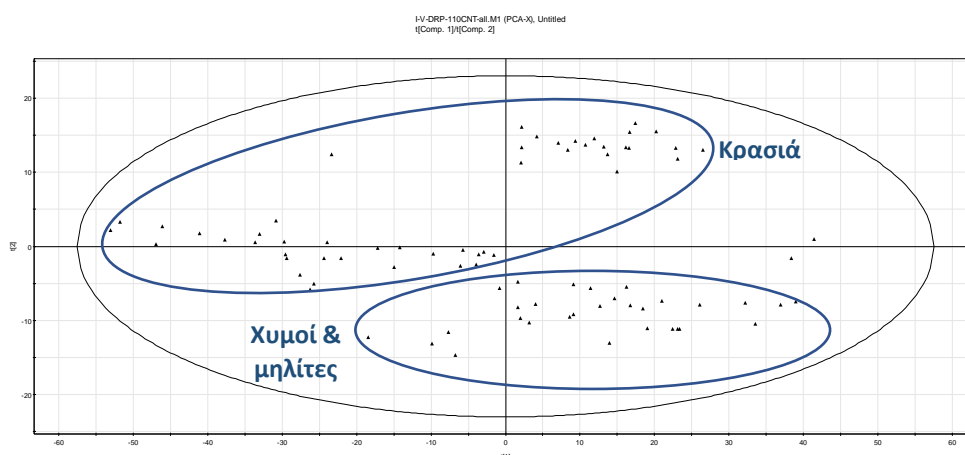
Γράφημα 51: Διάγραμμα για τα επιλεγμένα δείγματα με ηλεκτρόδιο DRP-110CNT για τα επιλεγμένα δυναμικά (0 έως -1 V)

Όπως αποτυπώνεται στα εν λόγω διαγράμματα οι μεγαλύτερες διαφορές μεταξύ κρασιού και χυμού/μηλίτη βρίσκονται στα αρνητικά του άξονα των δυναμικών αλλά μόνο στην «καθοδική» πλευρά των αντίστοιχων δυναμικών (από -1 έως 0 V). Όπως αναφέρθηκε, αυτό που παρατηρείται είναι ότι οι χυμοί και οι μηλίτες εμφανίζουν μια διευρυμένη καθοδική κορυφή στα αρνητικά δυναμικά σε σχέση με τα κρασιά. Σημειώνεται πως στα θετικά δυναμικά η μορφή των γραφημάτων είναι αρκετά παρόμοια και υπάρχουν μόνο κάποιες μικρές αλλομορφίες.

Στη συνέχεια, ακολουθεί η χημειομετρική ανάλυση με τις τρεις μεθόδους όπως αυτές αναφέρθηκαν και αναλύθηκαν παραπάνω.

3.3.2.1. PCA

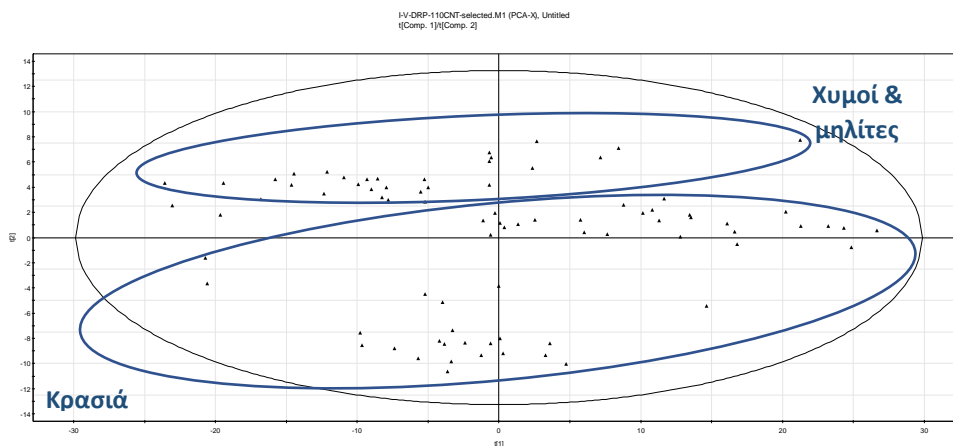
Σε αυτήν την περίπτωση, κατά την ανάλυση PCA, δεν υπάρχουν δείγματα που να αποκλίνουν από την συμπεριφορά των υπολοίπων με αποτέλεσμα να μην παρατηρείται η ύπαρξη κάποιων outliers, οι οποίοι να πρέπει να αφαιρεθούν. Έτσι, προέκυψε μοντέλο με 6 κύριες συνιστώσες, με συνολικό συντελεστή συσχέτισης $R^2(\text{cum})= 0,994$ και διασταυρωμένο συντελεστή συσχέτισης $Q^2(\text{cum})= 0,992$. Το διάγραμμα συντεταγμένων που εξάχθηκε, παρουσιάζεται παρακάτω και περιλαμβάνει τα δεδομένα έντασης για όλα τα δυναμικά της σάρωσης.



Γράφημα 52: Διάγραμμα PCA σε όλα τα δυναμικά (DRP-110CNT)

Από το γράφημα 52 είναι εμφανές ότι υπάρχει μια κατηγοριοποίηση των λευκών κρασιών από τους χυμούς και τους μηλίτες, σε μικρότερο όμως βαθμό από ότι στην προηγούμενη περίπτωση. Επίσης, παρατηρείται πως δεν είναι δυνατός ο διαχωρισμός των νοθευτικών μεταξύ τους καθώς όπως αναφέρθηκε και στην προηγούμενη ενότητα παρουσιάζουν μεγάλες ομοιότητες στα διαγράμματα που προκύπτουν από την βολταμμετρία.

Επιπροσθέτως, όπως και στην προηγούμενη περίπτωση, για να γίνει καλύτερη κατηγοριοποίηση των δειγμάτων και να δημιουργηθεί μοντέλο με λιγότερες κύριες συνιστώσες χρησιμοποιούνται τα δεδομένα μόνο για τα επιλεγμένα δυναμικά, και έτσι προκύπτει το παρακάτω γράφημα. Το μοντέλο προέκυψε με 4 κύριες συνιστώσες, $R^2= 0,999$ και $Q^2= 0,998$, τα οποία διαφέρουν συγκριτικά με τα αποτελέσματα για όλα τα δυναμικά.



Γράφημα 53: Διάγραμμα PCA στα επιλεγμένα δυναμικά (DRP-110CNT)

Έτσι, από το παραπάνω γράφημα παρατηρείται καλύτερη κατηγοριοποίηση με την μέθοδο της PCA των λευκών κρασιών από τους χυμούς και τους μηλίτες. Επίσης, δημιουργείται καλύτερη ομαδοποίηση στη περίπτωση του γραφήματος για τα επιλεγμένα δυναμικά. Το οπτικό αυτό συμπέρασμα επιβεβαιώνεται και από τα μαθηματικά αποτελέσματα που προκύπτουν από το λογισμικό που χρησιμοποιείται. Ειδικότερα, παρατηρείται καλύτερευση τόσο στις κύριες συνιστώσες του μοντέλου (μείωση από 6 σε 4) όσο και στους συντελεστές R^2 και Q^2 (αύξηση από 0,994 σε 0,999 και από 0,992 σε 0,998 αντίστοιχα).

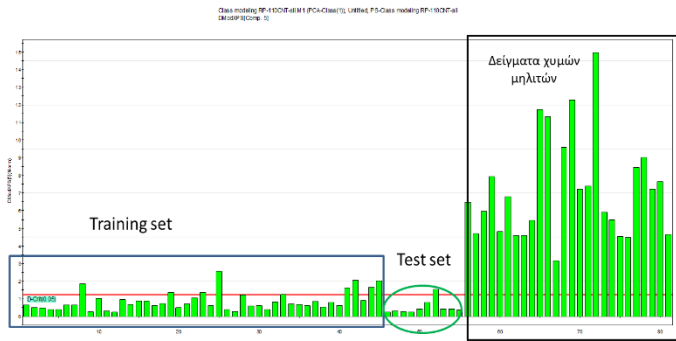
Συνολικά, με μια σύγκριση αυτής της μεθόδου με την προηγούμενη όπου γίνεται χρήση του ηλεκτροδίου λευκόχρυσου και τα δείγματα υπάγονται σε μια διαδικασία προκατεργασίας παρατηρούνται καλύτερα αποτελέσματα. Πιο συγκεκριμένα, αν εξαιρεθεί η αδυναμία στην διάκριση των δύο νοθευτικών στα αντίστοιχα γραφήματα, οι κύριες συνιστώσες και οι συντελεστές συσχέτισης είναι αρκετά βελτιωμένοι.

3.3.2.2. Class modelling

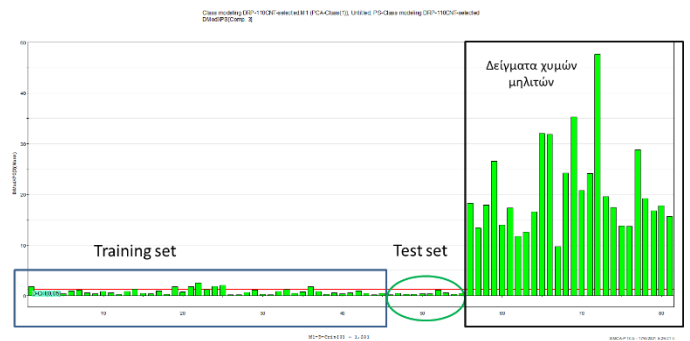
Όπως και στην προηγούμενη περίπτωση, με την εισαγωγή των περισσότερων οίνων που θα καθορίσουν την κρίσιμη απόσταση και στη συνέχεια των υπόλοιπων δειγμάτων κρασιού και νοθευτικών ως άγνωστα προκύπτουν μέσω του SIMCA για το μοντέλο τα παρακάτω:

- 1) Για όλα τα δυναμικά: 5 κύριες συνιστώσες, $R^2= 0.997$ και $Q^2= 0.996$.
- 2) Για τα επιλεγμένα δυναμικά: 3 κύριες συνιστώσες, $R^2= 0.999$ και $Q^2= 0.999$.

Τα αντίστοιχα γραφήματα που προκύπτουν ακολουθούν στην ερχόμενη σελίδα.



Γράφημα 54: Διάγραμμα Class modelling για όλα τα δυναμικά (DRP-110CNT)



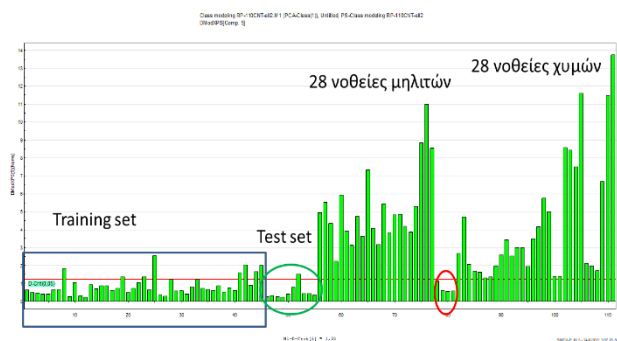
Γράφημα 55: Διάγραμμα Class modelling για τα επιλεγμένα δυναμικά (DRP-110CNT)

Όπως παρατηρείται παραπάνω, τόσο για την περίπτωση της μη εξαίρεσης κάποιον δυναμικών όσο και για τα επιλεγμένα δυναμικά η κατηγοριοποίηση είναι αρκετά καλή αλλά υπάρχουν κάποιες λίγες εξαιρέσεις. Ειδικότερα, υπάρχουν κάποιοι οίνοι του training set που αποκλίνουν από την κρίσιμη απόσταση ενώ υπάρχει μόνο ένας οίνος (K-25) του test set που ξεπερνά την χαρακτηριστική αυτή κόκκινη γραμμή.

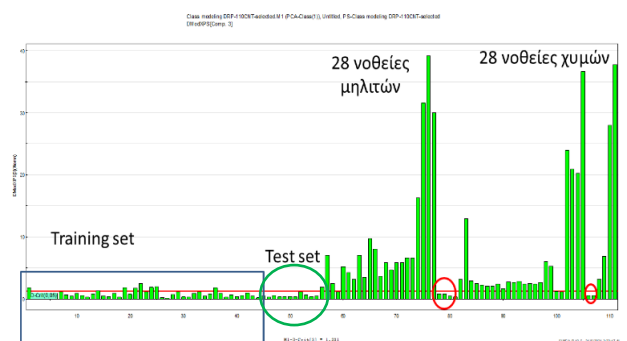
Έτσι, η αξιολόγηση του μοντέλου είναι κοινή και για τις δύο περιπτώσεις:

- Ευαισθησία: 37/45 (82.2%) για το training set και 9/10 (90.0%) για το test set.
- Ειδικότητα: 26/26 (100%)

Επιπλέον, με την αντικατάσταση των χυμών μήλου/μηλιτών με τα συνθετικά μίγματα προκύπτουν μοντέλα με τον ίδιο αριθμό συνιστωσών και με τους ίδιους συντελεστές με τις αντίστοιχες περιπτώσεις για τα δύο μέσα νοθείας ενώ παράλληλα σχεδιάζονται τα ακόλουθα γραφήματα.



Γράφημα 56: Διάγραμμα Class modelling για όλα τα δυναμικά (DRP-110CNT) με άγνωστα δείγματα τα συνθετικά μίγματα



Γράφημα 57: Διάγραμμα Class modelling για τα επιλεγμένα δυναμικά (DRP-110CNT) με άγνωστα δείγματα τα συνθετικά μίγματα

Όπως είναι φανερό από τα παραπάνω γραφήματα υπάρχουν κάποια μίγματα τα οποία το μοντέλο τα εντάσσει λανθασμένα στα γνήσια (εντός κόκκινων κύκλων). Τα μίγματα αυτά είναι τα εξής: νοθεία μηλίτη με συγκέντρωση 5, 16, 28 και 42% και για τις δύο περιπτώσεις ενώ μόνο για τα επιλεγμένα δυναμικά το μοντέλο προβλέπει ως «καλά» και τα μίγματα για νοθεία με χυμό μήλου σε συγκεντρώσεις 5 και 16%.

Συνολικά, μέσω του class modelling με άγνωστα τα μέσα νοθείας συμπεραίνεται πως οι 2 μέθοδοι που έχουν επιλεγθεί ως μοντέλα είναι αρκετά καλές αλλά η δεύτερη με το SPE παρέχει καλύτερη ευαισθησία (90% αντί για 60%) για το test set. Αντίθετα,

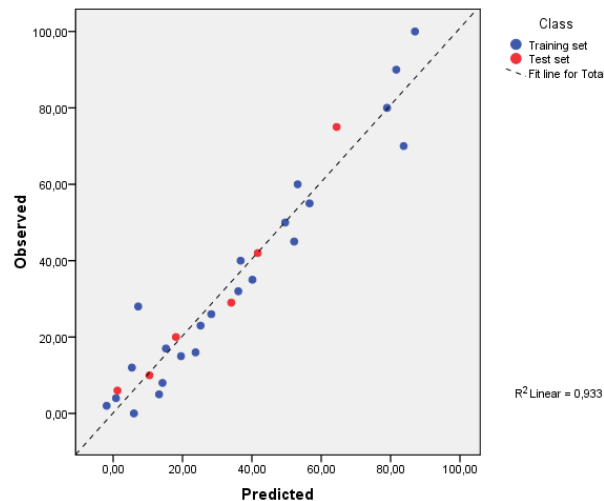
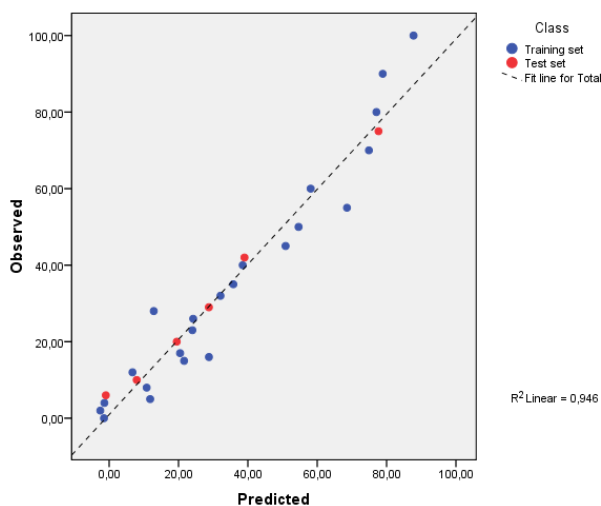
παρατηρείται μια καλύτερη προσαρμογή των άγνωστων μιγμάτων στην περίπτωση της μεθόδου με το ηλεκτρόδιο λευκόχρυσου μόνο όμως για την περίπτωση της επιλογής όλου του φάσματος των δυναμικών. Στην περίπτωση των επιλεγμένων δυναμικών το μοντέλο με το SPE δίνει πολύ καλύτερα αποτελέσματα καθώς διαθέτει λιγότερα μίγματα που συμπεριφέρονται ως γνήσια.

3.3.2.3. PLS

Όπως και στην προηγούμενη περίπτωση, με το ηλεκτρόδιο λευκόχρυσου, έτσι και σε αυτήν πραγματοποιείται ανάλυση ελαχίστων τετραγώνων για τον χυμό και τον μηλίτη ξεχωριστά ενώ ομοίως επιλέγεται η ανάλυση σε όλα και στα επιλεγμένα δυναμικά.

Οπότε, μέσω του λογισμικού και της μεθόδου PLS προκύπτουν για την νοθεία με χυμό μήλου τα εξής:

- 1) Για όλα τα δυναμικά: 3 κύριες συνιστώσες, $R^2=0.939$, $Q^2=0.863$, $RMSEE=7.742$ και όριο ανίχνευσης=7,5%.
- 2) Για τα επιλεγμένα δυναμικά: 3 κύριες συνιστώσες, $R^2= 0.929$, $Q^2= 0.896$, $RMSEE=8,339$ και όριο ανίχνευσης=6,8%.



Γράφημα 58: Διάγραμμα παρατηρούμενης και προβλεπόμενης νοθείας με χυμό μήλου σε όλα τα δυναμικά (DRP-110CNT)

Γράφημα 59: Διάγραμμα παρατηρούμενης και προβλεπόμενης νοθείας με χυμό μήλου στα επιλεγμένα δυναμικά (DRP-110CNT)

Σύμφωνα με τα παραπάνω γραφήματα γίνεται εύκολα αντιληπτό πως το συγκεκριμένο ηλεκτρόδιο και η προσθήκη μικρής ποσότητας ηλεκτρολύτη είναι μια πολύ καλή πρόταση για την εύρεση νοθείας με χυμό μήλου σε λευκό κρασί. Η παρατήρηση αυτή προκύπτει με ευκολία βλέποντας τα υψηλά R^2_{linear} που υποδηλώνουν την γραμμική σχέση της προβλεπόμενης και της παρατηρούμενης νοθείας και στα δύο set μετρήσεων (κυρίως στο training set). Επιπλέον, με αυτό το ηλεκτρόδιο παρατηρείται μια καλύτερη σε όλα τα στατιστικά αποτελέσματα αξιολόγησης των μοντέλων και για τις δύο υποπεριπτώσεις επιλογής δυναμικών.

Τα αποτελέσματα της επικύρωσης της διαδικασίας ακολουθούν παρακάτω.

Πίνακας 10: Επικύρωση της μεθόδου με το SPE για τη νοθεία με χυμό μήλου

Όλα τα δυναμικά		Επιλεγμένα δυναμικά	
Δείγμα γνωστής νοθείας (v/v)	Νοθεία που υπολογίζει το μοντέλο (v/v)	Δείγμα γνωστής νοθείας (v/v)	Νοθεία που υπολογίζει το μοντέλο (v/v)
6.0 %	-0.9 ± 2.5 %	6.0 %	1.2 ± 2.3 %
10.0 %	8.0 ± 1.0%	10.0 %	10.5 ± 0.9%
20.0 %	19.5 ± 1.2%	20.0 %	18.1 ± 1.5%
29.0 %	28.7 ± 1.5%	29.0 %	34.0 ± 1.7%
42.0 %	39.0 ± 1.8 %	42.0 %	41.7 ± 1.7%
75.0 %	77.7 ± 2.1%	75.0 %	64.4 ± 2.2 %

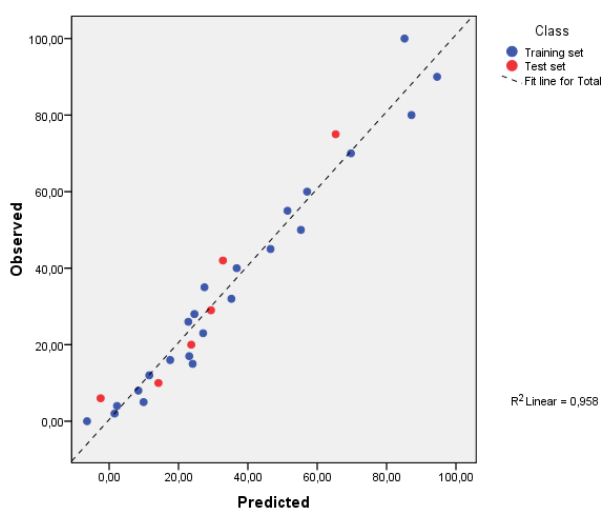
Από τον παραπάνω πίνακα τα ποσοστά νοθείας που προβλέπει το μοντέλο είναι πολύ κοντινά με τα αντίστοιχα πραγματικά. Εξαιρέση αποτελεί η περίπτωση του δείγματος με ποσοστό νοθείας 6% (v/v). Βέβαια, σε κάθε περίπτωση, τα αποτελέσματα της επικύρωσης είναι πολύ βελτιωμένα σε σχέση με την προηγούμενη μέθοδο.

Επιπλέον, η επικύρωση με τα δείγματα χυμών μήλου και μηλιτών δίνει τα εξής:

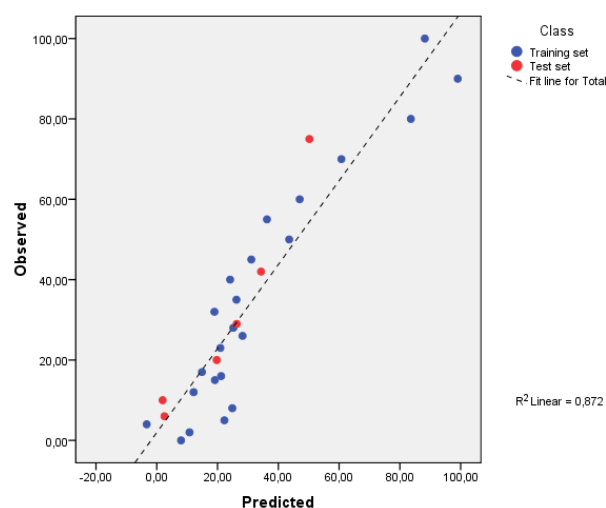
- Για όλα τα δυναμικά: σε εύρος νοθείας 80-110% (v/v)
- Για τα επιλεγμένα δυναμικά: σε εύρος νοθείας 72-106% (v/v).

Τέλος, σε αντίθεση με το παραπάνω μοντέλο η συγκεκριμένη μέθοδος μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την ποσοτικοποίηση της νοθείας με μηλίτη και μέσω του λογισμικού προκύπτουν τα εξής:

- 1) Για όλα τα δυναμικά: 4 κύριες συνιστώσες, $R^2= 0.965$, $Q^2= 0.946$, RMSEE=6.009 και όριο ανίχνευσης=7.8%.
- 2) Για τα επιλεγμένα δυναμικά: 3 κύριες συνιστώσες, $R^2= 0.782$, $Q^2= 0.726$, RMSEE=14.991 και όριο ανίχνευσης=6.3%.



Γράφημα 60: Διάγραμμα παρατηρούμενης και προβλεπόμενης νοθείας με μηλίτη σε όλα τα δυναμικά (DRP-110CNT)



Γράφημα 61: Διάγραμμα παρατηρούμενης και προβλεπόμενης νοθείας με μηλίτη στα επιλεγμένα δυναμικά (DRP-110CNT)

Και σε αυτήν την περίπτωση νοθείας γίνεται εύκολα αντιληπτό πως η εν λόγω μέθοδος είναι μια πολύ καλή πρόταση για την εύρεση νοθείας στο λευκό οίνο και με μηλίτη. Αυτό επιβεβαιώνεται από τους συντελεστές γραμμικότητας που προκύπτουν κοντά στην μονάδα (κυρίως για όλα τα δυναμικά).

Σημειώνεται πως στην συγκεκριμένη περίπτωση δεν μπορεί να πραγματοποιηθεί σύγκριση με την άλλη μέθοδο καθώς όπως ήδη αναφέρθηκε καθώς σε εκείνη δεν είναι εφικτό να πραγματοποιηθεί ανάλυση μερικών ελαχίστων τετραγώνων.

Ο πίνακας με τα αποτελέσματα της επικύρωσης της διαδικασίας για τα δεδομένα του test set είναι ο παρακάτω.

Πίνακας 11: Επικύρωση της μεθόδου με το SPE για τη νοθεία με μηλίτη

Όλα τα δυναμικά		Επιλεγμένα δυναμικά	
Δείγμα γνωστής νοθείας (v/v)	Νοθεία που υπολογίζει το μοντέλο (v/v)	Δείγμα γνωστής νοθείας (v/v)	Νοθεία που υπολογίζει το μοντέλο (v/v)
6.0 %	-2.5 ± 3.1 %	6.0 %	2.5 ± 1.1 %
10.0 %	14.2 ± 1.2%	10.0 %	1.9 ± 1.2%
20.0 %	23.7 ± 1.5%	20.0 %	19.7 ± 1.4 %
29.0 %	29.4 ± 1.7%	29.0 %	26.3 ± 1.6%
42.0 %	32.8 ± 2.1%	42.0 %	34.3 ± 1.9%
75.0 %	65.3 ± 2.3%	75.0 %	50.2 ± 1.9%

Από τον παραπάνω πίνακα τα ποσοστά νοθείας που προβλέπει το μοντέλο είναι κοντινά με τα αντίστοιχα πραγματικά. Σημειώνεται πως γενικότερα εμφανίζεται μια τάση καμπύλωσης του διαγράμματος βαθμονόμησης με αποτέλεσμα η τιμή που υπολογίζεται για υψηλές συγκεντρώσεις να είναι μικρότερη της πραγματικής.

Ομοίως, η επικύρωση στα δείγματα (καθαρών) μηλιτών και χυμών μήλου δίνει τα εξής:

- Για όλα τα δυναμικά: σε εύρος νοθείας 72-106% (v/v)
- Για τα επιλεγμένα δυναμικά: σε εύρος νοθείας 72-85% (v/v).

3.4. Πειραματικές αστοχίες

Κατά τη διάρκεια του πειραματικού μέρους της παρούσας διπλωματικής εργασίας είναι πιθανό να έχουν πραγματοποιηθεί κάποια πειραματικά σφάλματα, τα οποία αναλύονται παρακάτω:

1. Λανθασμένη βαθμονόμηση των οργάνων. Πιο συγκεκριμένα, κατά την διεξαγωγή του πειράματος χρησιμοποιήθηκαν πολλά όργανα και συσκευές, τα οποία αναφέρθηκαν παραπάνω και είναι πιθανό να εμφανίζουν διαφορετική ή και λανθασμένη βαθμονόμηση. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα τόσο οι ποσότητες που λαμβάνονται κατά τη διάρκεια της δειγματοληψίας όσο και κάποιες μετρήσεις που πραγματοποιούνται να περιλαμβάνουν σφάλματα τα οποία τις περισσότερες φορές δεν είναι εφικτό να ελεγχθούν και να γίνουν αντιληπτά.

2. Λανθασμένη χρήση των οργάνων. Σε αυτήν την περίπτωση λαμβάνονται υπόψιν τα ατομικά πειραματικά σφάλματα του πειραματιστή κατά τον χειρισμό και την ανάγνωση των οργάνων. Τα σφάλματα αυτά στατιστικά μειώνονται όσο πιο έμπειρος γίνεται ο πειραματιστής αλλά σε κάθε περίπτωση είναι σχεδόν αδύνατον να θεωρηθούν μηδενικά και συνήθως επηρεάζουν σημαντικά τις μετρήσεις. Τα σφάλματα ανάγνωσης γίνονται αναπόφευκτα κατά την λανθασμένη ανάγνωση κάποιου οργάνου μέτρησης. Σημειώνεται πως κάθε όργανο έχει τη δική του ακρίβεια η οποία εξαρτάται από την κατασκευή του ενώ το σφάλμα ανάγνωσης το εκτιμά ο παρατηρητής ανάλογα με κάθε όργανο και την εμπειρία του [102].
3. Καθαρισμός συσκευών και οργάνων. Όπως είναι προφανές οτιδήποτε χρησιμοποιείται κατά τη διάρκεια του πειραματικού μέρους πρέπει να καθαρίζεται συστηματικά με τέτοιο τρόπο ώστε να μην παραμένουν χημικά υπολείμματα τα οποία μπορούν να επηρεάσουν σημαντικά τις προς μελέτη ενώσεις. Ειδικότερα, καθώς τα όργανα και οι χημικές ουσίες που διατίθενται στο εργαστήριο είναι κοινά για όσους χρησιμοποιούν το βασικό ποτενσιοστάτη είναι πιθανό λόγω κακής έκπλυσης τόσο των σκευών όσο και της κυψελίδας (ηλεκτρολυτικό κελί) του οργάνου να υπάρχουν μικρά σφάλματα κατά τις μετρήσεις. Σημειώνεται πως το σφάλμα αυτό είναι ενδεχομένως από τα πιο ελεγχόμενα καθώς κατά την έναρξη κάθε εργαστηριακής μέρας πλένονται λεπτομερώς όλα τα σκεύη που θα χρησιμοποιηθούν.
4. Εξωτερικά αίτια. Πρόκειται για παραμέτρους που δημιουργούνται από εξωγενείς παράγοντες όπως είναι η θερμοκρασία και η υγρασία. Καθώς το πειραματικό μέρος της παρούσας διπλωματικής εργασίας πραγματοποιήθηκε τόσο σε χειμερινές μέρες με χαμηλή θερμοκρασία και υψηλή υγρασία όσο και σε πιο καλοκαιρινές με καλύτερες καιρικές συνθήκες είναι πιθανό να υπάρχει μια σημαντική επίδραση στα αποτελέσματα που προκύπτουν. Τα εξωτερικά αυτά αίτια είναι προφανές πως δεν μπορούν να αντιμετωπιστούν και είναι υπεύθυνα σε μεγάλο βαθμό για τα συστηματικά σφάλματα της διεργασίας. Τα συστηματικά σφάλματα τείνουν να μετατοπίσουν όλες τις μετρήσεις με συστηματικό τρόπο έτσι ώστε η μέση τιμή να είναι μετατοπισμένη προς μία διεύθυνση. Ο μόνος τρόπος να ποσοτικοποιηθεί το σφάλμα δηλαδή να εκτιμηθεί σωστά η τάξη μεγέθους του είναι να συγκριθεί το όργανο που χρησιμοποιείται με άλλο που θεωρείται πρότυπο.
5. Τυχαία σφάλματα. Πρόκειται για σφάλματα που σχετίζονται με την ακρίβεια μιας μέτρησης και δείχνουν τις διακυμάνσεις που έχουν οι μετρήσεις ενός επαναλαμβανόμενου πειράματος που γίνεται κάτω από τις ίδιες φαινομενικά συνθήκες και τα οποία οδηγούν στην κατανομή των αποτελεσμάτων γύρω από μία μέση τιμή. Αξίζει να σημειωθεί πως κατά τις μετρήσεις λαμβάνονται φάσματα έντασης δυναμικού για 3 κύκλους σάρωσης. Τα δυναμικά αυτά αποθηκεύονται μεταφέρονται σε excel και δημιουργείται μια μέση τιμή έντασης για το εκάστοτε δυναμικό. Συνεπώς, είναι πιθανό να υπάρξουν τέτοια σφάλματα και στο εν λόγω πείραμα [103].

3.5. Σύγκριση μεταξύ των δύο μεθόδων

Σύμφωνα με τις παραπάνω παραγράφους προκύπτει εύκολα το συμπέρασμα πως οι δύο προτεινόμενες μέθοδοι είναι αρκετά καλές και μπορούν να χρησιμοποιηθούν υπό περιπτώσεις προκειμένου να προσδιοριστεί το ποσοστό νοθείας λευκού οίνου με χυμό μήλου ή μηλίτη. Παρόλα αυτά, η δεύτερη μέθοδος, δηλαδή η διαδικασία με το ηλεκτρόδιο screen printed C με νανοσωματίδια χρυσού και την προσθήκη μιας μικρής ποσότητας ηλεκτρολύτη, φαίνεται να εμφανίζει καλύτερα αποτελέσματα. Το συμπέρασμα αυτό μπορεί να προκύψει πολύ εύκολα ελέγχοντας και συγκρίνοντας τις κύριες συνιστώσες και τους συντελεστές συσχέτισης (R^2 και Q^2), όπως παρουσιάζονται συνολικά στον παρακάτω πίνακα.

Πίνακας 12: Συγκεντρωτικός πίνακας αποτελεσμάτων χημειομετρίας

Διαδικασία Μέθοδος	Προκατεργασία (1) - ηλεκτρόδιο Pt όλα τα δυναμικά	Προκατεργασία (1) - ηλεκτρόδιο Pt επιλεγμένα δυναμικά	Προσθήκη στερεού ηλεκτρολύτη – ηλεκτρόδιο DRP-110CNT όλα τα δυναμικά	Προσθήκη στερεού ηλεκτρολύτη – ηλεκτρόδιο DRP-110CNT επιλεγμένα δυναμικά
PCA	10 συνιστώσες	10 συνιστώσες	6 συνιστώσες	4 συνιστώσες
	$R^2= 0,992$	$R^2= 0,992$	$R^2= 0,994$	$R^2= 0,999$
	$Q^2= 0,982$	$Q^2= 0,982$	$Q^2= 0,992$	$Q^2= 0,998$
Class modelling	7 συνιστώσες	7 συνιστώσες	5 συνιστώσες	3 συνιστώσες
	$R^2= 0,994$	$R^2= 0,994$	$R^2= 0,997$	$R^2= 0,999$
	$Q^2= 0,971$	$Q^2= 0,971$	$Q^2= 0,996$	$Q^2= 0,999$
PLS για χυμό μήλου	3 συνιστώσες	1 συνιστώσα	3 συνιστώσες	3 συνιστώσες
	$R^2= 0,860$	$R^2= 0,864$	$R^2= 0,939$	$R^2= 0,929$
	$Q^2= 0,774$	$Q^2= 0,803$	$Q^2= 0,863$	$Q^2= 0,896$
	RMSEE=8,339	RMSEE=11,011	RMSEE=7,742	RMSEE=8,339
PLS για μηλίτη	-	-	4 συνιστώσες	3 συνιστώσες
	-	-	$R^2= 0,965$	$R^2= 0,782$
	-	-	$Q^2= 0,946$	$Q^2= 0,726$
	-	-	RMSEE=6,009	RMSEE=14,991

Αρχικά, μέσω της χημειομετρικής τεχνικής PCA παρατηρείται μια σαφής καλύτερευση στα στατιστικά μεγέθη για την περίπτωση της μεθόδου με το SPE ενώ παράλληλα σε αυτή τη μέθοδο το μοντέλο βελτιώνεται με τη χρήση μόνο των επιλεγμένων δυναμικών. Παρόμοιο συμπέρασμα προκύπτει και με την μοντελοποίηση μιας κλάσης για την περίπτωση της εισαγωγής ως άγνωστα δείγματα τα μέσα νοθείας που έχουν αγοραστεί. Με την αντικατάσταση τους από τα μίγματα κρασιού και χυμού/μηλίτη η μέθοδος με την προκατεργασία (1) κατηγοριοποιεί πλήρως ως νοθευμένα τα μίγματα ενώ με την μέθοδο με το SPE υπάρχουν κάποιες εξαιρέσεις. Παρόλα αυτά, η προκατεργασία (1) για την περίπτωση των επιλεγμένων δυναμικών δίνει πολύ χειρότερα αποτελέσματα κατατάσσοντας μεγάλο αριθμό μιγμάτων ως γνήσια δείγματα οίνου.

Επιπλέον, τα αποτελέσματα από την ποσοτικοποίηση και την ανάλυση μερικών ελαχίστων τετραγώνων (PLS) δίνουν παρεμφερή συμπεράσματα με τις παραπάνω μεθόδους. Ειδικότερα, για την περίπτωση του προσδιορισμού της νοθείας με χυμό μήλου οι δύο μέθοδοι είναι ικανοποιητικές αλλά η επιλεχθείσα μέθοδος παρουσιάζει αυξημένους συντελεστές συσχέτισης και μειωμένο σφάλμα. Σημειώνεται πως η PLS

παρουσιάζει χειρότερη συμπεριφορά για τα επιλεγμένα δυναμικά σε αντίθεση με τις χημειομετρικές τεχνικές κατηγοριοποίησης των δειγμάτων. Τέλος, για την ποσοτικοποίηση της νοθείας με μηλίτη το μοντέλο που αποδείχθηκε παραπάνω πως υστερεί δεν εμφανίζει αποτελέσματα λόγω μη γραμμικότητας των αποτελεσμάτων.

Συμπερασματικά, η δεύτερη μέθοδος (ηλεκτρόδιο DRP-110CNT-GNP και προσθήκη στερεού ηλεκτρολύτη) είναι κατάλληλη για την μοντελοποίηση και την ποσοτικοποίηση και των δύο ειδών νοθευτικών και επιλέγεται ως η βέλτιστη από όλες τις μεθόδους που δοκιμάστηκαν.

3.6. Σύγκριση με υπάρχουσες μεθόδους

Στην βιβλιογραφία δεν συναντώνται πολλές έρευνες, οι οποίες χρησιμοποιούν ηλεκτροαναλυτικές μεθόδους για την μελέτη νοθείας στο λευκό κρασί, κάτι που αφήνει μεγάλο περιθώριο για έρευνα. Οι περισσότερες από τις δημοσιεύσεις που υπάρχουν περιλαμβάνουν εύρεση νοθείας τόσο σε λευκό όσο και κόκκινο κρασί αλλά χρησιμοποιώντας διαφορετικά μέσα νοθείας σε σχέση με την παρούσα διπλωματική εργασία. Γενικότερα, αξίζει να σημειωθεί πως η βολταμετρία (και ειδικότερα η κυκλική βολταμετρία) είναι μια τεχνική που έχει αναπτυχθεί σε μεγάλο βαθμό σε άλλα δείγματα (π.χ. ελαιόλαδο) όπως φανερώνεται από βιβλιογραφικές έρευνες αλλά και με βάση τις προ υπάρχουσες ερευνητικές εργασίες του εργαστηρίου Ανόργανης και Αναλυτικής Χημείας της Σχολής Χημικών Μηχανικών του ΕΜΠ.

Αρχικά βρέθηκε μια έρευνα [104] όπου γίνεται προσδιορισμός της νοθείας του λευκού και του ερυθρού Αυστραλιανού οίνου με χυμό μήλου και σορβιτόλη με την χρήση υγρής χρωματογραφίας. Με βάση αυτήν την τεχνική, όπου γίνεται χρήση πληθώρας δειγμάτων οίνου, και με το χλωρογενικό οξύ ως μέτρο αναφοράς (η ύπαρξη του οδηγεί στο συμπέρασμα παρουσίας ή απουσίας του χυμού μήλου) παρατηρήθηκε η νοθεία πολλών κρασιών σε σημαντικά ποσοστά μέχρι και 17% κατ' όγκο. Γενικότερα, η διαδικασία που ακολουθείται στο εν λόγω πειραματικό μέρος οδηγεί σε όρια ανίχνευσης 0.1 mg/L για την περίπτωση της σορβιτόλης ενώ για το χυμό προσδιορίστηκαν ίσα με 0.5 mg/L and 1.0 mg/L για λευκό και κόκκινο κρασί αντίστοιχα. Παρόλα αυτά, όπως είναι φανερό τα συγκεκριμένα όρια ανίχνευσης δεν μπορούν να συγκριθούν με τα αντίστοιχα της παρούσας διπλωματικής εργασία καθώς δίνονται σε άλλη άλλες μονάδες μέτρησης.

Έτσι, προκειμένου να γίνει μια σύγκριση με ήδη υπάρχοντα όρια ανίχνευσης που προέκυψαν από παρόμοιες τεχνικές ανίχνευσης νοθείας σε ελαιόλαδο έχουν προκύψει LOD από 2-10% [73], [105], [106]. Οι μελέτες αυτές περιλαμβάνουν τη νοθεία του έξτρα παρθένου ελαιόλαδου με μέσα νοθείας όπως είναι το ηλιέλαιο, το αραβοσιτέλαιο και το σογιέλαιο ή ακόμα και το φουντουκέλαιο.

Συνεπώς, με βάση αυτές τις μελέτες, είναι εμφανές ότι η μέθοδος που αναπτύχθηκε κατά την παρούσα διπλωματική εργασία έχει όρια ανίχνευσης συγκρίσιμα με αρκετές αντίστοιχες μεθόδους που αναφέρονται στην βιβλιογραφία, ενώ ταυτόχρονα επιτυγχάνει εν μέρη και διαχωρισμό των κρασιών ανάλογα με την προέλευση και το είδος τους. Πιο συγκεκριμένα, όπως αναφέρθηκε και παραπάνω τα όρια ανίχνευσης για τις μεθόδους όπου η PLS δίνει αποτελέσματα είναι τα εξής:

- Ηλεκτρόδιο πλατίνας για νοθεία χυμού μήλου σε όλα τα δυναμικά: 3,6%
- Ηλεκτρόδιο πλατίνας για νοθεία χυμού μήλου σε επιλεγμένα δυναμικά: 3,5%
- Ηλεκτρόδιο DRP-11OCNT για νοθεία χυμού μήλου σε όλα τα δυναμικά: 7,5%
- Ηλεκτρόδιο DRP-11OCNT για νοθεία χυμού μήλου σε επιλεγμένα δυναμικά: 6,8%
- Ηλεκτρόδιο DRP-11OCNT για νοθεία μηλίτη σε όλα τα δυναμικά: 7,8%
- Ηλεκτρόδιο DRP-11OCNT για νοθεία χυμού μήλου σε επιλεγμένα δυναμικά: 6,3%

Έτσι, όπως είναι φανερό από μια αριθμητική σύγκριση των προσδιορισμένων ορίων ανίχνευσης με τα αντίστοιχα όρια που έχουν βρεθεί βιβλιογραφικά προκύπτει πως τα όρια ανίχνευσης των δύο μεθόδων είναι αρκετά ικανοποιητικά και μάλιστα έχουν την ίδια τάξη μεγέθους με αντίστοιχα όρια για μεθόδους νοθείας ελαιόλαδου.

Τέλος, επισημαίνεται πως τα υπολογιζόμενα όρια ανίχνευσης είναι σχετικά χαμηλά σε σχέση με τα ποσοστά νοθείας που χρησιμοποιούνται στην αγορά. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα οι συγκεκριμένες μέθοδοι να κρίνονται κατάλληλες για την ανίχνευση και ποσοτικοποίηση νοθείας σε λευκό οίνο σε όλα τα εμπορικά διαθέσιμα προϊόντα παγκοσμίως.

4. Συμπεράσματα

Η παρούσα διπλωματική εργασία ασχολείται με την ανάπτυξη αναλυτικής διαδικασίας για την ταυτοποίηση και ποσοτικοποίηση της νοθείας λευκού οίνου με χυμό μήλου και μηλίτη. Το λευκό κρασί είναι ένα οινοπνευματώδες ποτό το οποίο περιλαμβάνει πολλά κοινά συστατικά με τα δύο μέσα νοθείας. Οι ενώσεις που περιλαμβάνονται τόσο στον οίνο όσο και στα μέσα νοθείας έχουν την ικανότητα να συμμετέχουν σε μεγάλο βαθμό σε οξειδοαναγωγικές δράσεις με αποτέλεσμα να δίνουν κάποιες χαρακτηριστικές ανοδικές ή καθοδικές κορυφές.

Κατά το στάδιο της βελτιστοποίησης των παραμέτρων διερευνήθηκε η χρήση 8 ηλεκτροδίων εργασίας και 5 μεθόδων προκατεργασίας με σκοπό την όσο το δυνατό καλύτερη διαφοροποίηση μεταξύ λευκού κρασιού και μέσων νοθείας προκειμένου να επιτυγχάνεται ταυτοποίηση και ποσοτικοποίηση της νοθείας με όσο το δυνατό χαμηλότερα όρια ανίχνευσης. Τα ηλεκτρόδια τα οποία χρησιμοποιούνται είναι 3 κοινά στερεά ηλεκτρόδια (υαλώδους άνθρακα, πλατίνας και χρυσού), 4 screen printed (ένα που έχει κατασκευαστεί από το ΕΚΠΑ και τα DRP-110CNT-GNP, DRP-C110, DRP-CBDD10) καθώς και ένα αυτοσχέδιο ηλεκτρόδιο γραφίτη που κατασκευάζεται στο εργαστήριο Ανόργανης και Αναλυτικής χημείας. Οι διεργασίες/ προκατεργασίας οι οποίες πραγματοποιήθηκαν είναι οι εξής: 1) χρήση του διαλύματος του δείγματος ως έχειν χωρίς κάποια επιπλέον διαδικασία, 2) προσθήκη στο δείγμα μικρή ποσότητα στερεού ηλεκτρολύτη LiClO₄, 3) προσθήκη περίσσειας διαλύματος ηλεκτρολύτη KCl και μικρή ποσότητα δείγματος, 4) προκατεργασία με εκχύλιση με διχλωρομεθάνιο και προσθήκη στο εκχύλισμα αιθανολικού διαλύματος ηλεκτρολύτη και 5) προκατεργασία με εκχύλιση με διχλωρομεθάνιο ή οξικό αιθυλεστέρα, εξάτμιση του διαλύτη του εκχυλίσματος, αναδιάλυση σε μεθανόλη και προσθήκη μικρής ποσότητας στερεού ηλεκτρολύτη LiClO₄.

Από αυτές τις μεθόδους μέσω σύγκρισης των γραφημάτων που εξάχθηκαν μετά την κυκλική βολταμμετρία (CV) αλλά και την διαφορική παλμική βολταμμετρία (στην 3^η μόνο διαδικασία) προέκυψαν δύο μέθοδοι με αξιόλογα αναλυτικά αποτελέσματα. Ειδικότερα, μέσω της συγκριτικής ανάλυσης στις κορυφές των βολταμμογραφημάτων οι επιλεχθείσες μέθοδοι είναι η 2^η μέθοδος με χρήση ηλεκτροδίου εκτυπωμένου άνθρακα τροποποιημένου με νανοσωματίδια χρυσού (DRP-110CNT-GNP) και η 4^η μέθοδος με χρήση ηλεκτροδίου πλατίνας.

Έτσι, μετά την πραγματοποίηση των χημειομετρικών τεχνικών που αναφέρθηκαν προέκυψε (μέσω σύγκρισης των στατιστικών δεδομένων) πως η μέθοδος με το SPE ηλεκτρόδιο και την προσθήκη στερεού ηλεκτρολύτη είναι η βέλτιστη. Επιπλέον, και οι δύο μέθοδοι διαθέτουν όρια ανίχνευσης συγκρίσιμα με τα βιβλιογραφικά τα οποία μπορούν να ανιχνεύσουν οποιαδήποτε νοθεία πραγματοποιείται σε εμπορικά διαθέσιμα λευκά κρασιά. Συνεπώς, συνοψίζοντας όλα τα παραπάνω η επιλεχθείσα μέθοδος, η οποία διαθέτει χαμηλό κόστος και διακρίνεται ως προς την ευκολία της προτείνεται για την εύρεση και ποσοτικοποίηση της νοθείας λευκού οίνου με χυμό και μηλίτη.

5. Προτάσεις

Από την παρούσα διπλωματική εργασία καταδεικνύονται σημαντικές προοπτικές περαιτέρω βελτίωσης και ανάπτυξης νέων βολταμμετρικών τεχνικών εύρεσης και ποσοτικοποίησης της νοθείας λευκού οίνου.

Αρχικά, υπάρχει περιθώριο βελτίωσης της βολταμμετρικής ανάλυσης των οίνων με χρήση κάποιας άλλης προκατεργασίας των δειγμάτων, πιο φιλική και στο περιβάλλον, αντί για τις δύο προκατεργασίες που ήδη χρησιμοποιήθηκαν στην παρούσα διπλωματική εργασία. Αυτό ενδεχομένως θα μπορούσε να οδηγήσει σε ενίσχυση των κορυφών στα αντίστοιχα βολταμμογραφήματα, με πιθανή βελτίωση της κατάταξης τους κατά τη χημειομετρική επεξεργασία. Ταυτόχρονα, μία ακόμα πολλά υποσχόμενη τεχνική, είναι η χρήση του αυτοσχέδιου ηλεκτροδίου γραφίτη το οποίο κατασκευάστηκε με απλά και φθηνά υλικά (μύτη μηχανικού μολυβιού και σύριγγα) αλλά χρησιμοποιώντας παράλληλα κάποια μέθοδο κατεργασίας του η οποία θα του προσέφερε καλύτερη οξειδοαναγωγική συμπεριφορά. Ενδεικτικά, προτείνεται η επεξεργασία του ηλεκτροδίου με νανοσωματίδια από κάποιο αγωγίμο υλικό (π.χ. χρυσός, χαλκός κ.λ.π.).

Επίσης, θα μπορούσαν να χρησιμοποιηθούν όλα τα ηλεκτρόδια αλλά κυρίως τα εκτυπωμένα ηλεκτρόδια πλέγματος (screen printed electrodes) συνδυασμένα με φορητούς ποτενσιοστάτες/γαλβανοστάτες που λειτουργούν με μπαταρίες και συνδέονται με φορητούς Η/Υ. Με αυτό τον τρόπο, θα μπορούσαν να αναπτυχθούν κινητές αναλυτικές διατάξεις για την διεξαγωγή επιτόπιων αναλύσεων σε συνθήκες πεδίου (field analysis) σε χώρους παραγωγής και διακίνησης οίνου. Ομοίως, θα μπορούσαν να χρησιμοποιηθούν εναλλακτικές μέθοδοι ενεργοποίησης του BDD ηλεκτροδίου.

Τέλος, θα μπορούσε να επεκταθεί το συγκεκριμένο θέμα της παρούσας διπλωματικής σε ένα παρεμφερές αντικείμενο όπου θα προσδιοριζόταν η γεωγραφική προέλευση του λευκού οίνου και βολταμμετρικά αλλά και με τη χρήση κάποιων άλλων τεχνικών (π.χ. φασματομετρία Raman, φασματομετρία μαζών επαγωγικά συζευγμένου πλάσματος, φασματομετρία υπερύθρου κ.λ.π.). Αντίστοιχα, ένας εναλλακτικός τρόπος για να επεκταθεί το θέμα της συγκεκριμένης πειραματικής εργασίας είναι η αγορά περισσότερων δειγμάτων λευκού κρασιού για περαιτέρω ανάλυση ή η χρήση άλλων ειδών οίνου ως το κύριο δείγμα που θα νοθευτεί (ερυθρό και ροζέ) αλλά και η προσθήκη άλλων κοινών νοθευτικών (π.χ. χρήση και άλλων ειδών χυμού ή κάποιων γλυκαντικών).

Βιβλιογραφία

- [1] Ankita Choudhary, Neeraj Gupta, Fozia Hameed, Skarma Choton, «An overview of food adulteration: Concept, sources, impact, challenges and detection,» *International Journal of Chemical Studies*, pp. 2564-2573, 2020.
- [2] «Παραπλάνηση/Νοθεία,» [Ηλεκτρονικό]. Available: <https://www.efet.gr/index.php/el/consumers/paraplanisi-notheia>. [Πρόσβαση 10 Δεκεμβρίου 2020].
- [3] «Νόμος 4235/2014 - ΦΕΚ 32/Α/11-2-2014 (Κωδικοποιημένος),» 2014. [Ηλεκτρονικό]. Available: <https://www.e-nomothesia.gr/kat-agrotike-anaptukse/ktenotrophia/n-4235-2014.html>. [Πρόσβαση 19 Οκτώμβρη 2020].
- [4] «Νόμος 4177/2013 - ΦΕΚ 173/Α/8-8-2013 (Κωδικοποιημένος),» 2013. [Ηλεκτρονικό]. Available: <https://www.e-nomothesia.gr/kat-agoranomikes-diatakseis/n-4177-2013.html>. [Πρόσβαση 19 Δεκεμβρίου 2020].
- [5] «Ποινικές κυρώσεις για νοθεία τροφίμων και εξαπάτηση καταναλωτών,» 2013. [Ηλεκτρονικό]. Available: <https://www.eea.gr/arthra-eea/poinikes-kyroseis-gia-notheia-trofimon-kai-eksapatisi-katanaloton/>. [Πρόσβαση 10 Δεκεμβρίου 2020].
- [6] Andreas Schieber, «Introduction to Food Authentication,» *Academic Press*, pp. 1-21, 2018.
- [7] Ashabahebwa Ambrose, Byoung-Kwan Cho, «A Review of Technologies for Detection and Measurement of Adulterants in Cereals and Cereal Products,» *Journal of Biosystems Engineering*, pp. 357-365, 2014.
- [8] Eunyoung Hong, Sang Yoo Lee, Jae Yun Jeong, JungMin Park, Byung Hee Kim, Kisung Kwon and Hyang Sook Chun, «Modern analytical methods for the detection of food fraud and adulteration by food category,» *J Sci Food Agric*, pp. 4-12, 2017.
- [9] Elena Cubero-Leon, Rosa Peñalver, Alain Maquet, «Review on metabolomics for food authentication,» *Food Research International*, pp. 95-107, 2014.
- [10] «Ιστορικά, εγκυκλοπαιδικά και γευσιγνωστικά στοιχεία για το κρασί,» [Ηλεκτρονικό]. Available: <http://www.cellocafe.gr/about-wine/>. [Πρόσβαση 19 Δεκεμβρίου 2020].
- [11] «Wiorld Wine Search,» [Ηλεκτρονικό]. Available: <https://www.worldwinersearch.com/wineinfo.php?title=Greece&wineinfo=70>. [Πρόσβαση 19 Δεκεμβρίου 2020].
- [12] Georponoi.gr, «Ποιοι είναι οι τύποι των κρασιών,» 2018. [Ηλεκτρονικό]. Available: https://www.huffingtonpost.gr/entry/poioi-einai-oi-tepoi-ton-krasion-kai-poia-krasia-prepei-na-gyorizeis_gr_5a4a1424e4b0b0e5a7a7ba33. [Πρόσβαση 19 Δεκεμβρίου 2020].

- [13] Hugh Johnson, *Hugh Johnson's Modern Encyclopedia of Wine*, London: Simon & Schuster, 1998.
- [14] Wine outlet, «Τα βασικά για το κρασί – Οδηγός για αρχάριους,» [Ηλεκτρονικό]. Available: <https://wineoutlet.gr/ta-vasika-gia-to-krasi-odigos-gia-arxarious/>. [Πρόσβαση 21 Μαΐου 2021].
- [15] «The history of Greek wines,» [Ηλεκτρονικό]. Available: <https://winesofgreece.org/category/historicals/the-history-of-greek-wine/>. [Πρόσβαση 19 Δεκεμβρίου 2020].
- [16] Rupert Wynne, «A History of Wine,» 2019. [Ηλεκτρονικό]. Available: <https://www.arenaflowers.com/blogs/news/history-of-wine>. [Πρόσβαση 10 Δεκεμβρίου 2020].
- [17] Λεωνίδας Κουμάκης, «2019: Ελληνικό κρασί και οι top 10 της ελληνικής οικονομίας,» 2019. [Ηλεκτρονικό]. Available: <https://analyst.gr/2019/10/10/2019-elliniko-krasi-kai-oi-top-10-tis-ellinikis-oinoroiiias/>. [Πρόσβαση 20 Δεκεμβρίου 2020].
- [18] «ΕΚΤΕΛΕΣΤΙΚΟΣ ΚΑΝΟΝΙΣΜΟΣ (ΕΕ) 2019/34,» 2018. [Ηλεκτρονικό]. Available: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EL/TXT/PDF/?uri=CELEX:32019R0034&from=EN>. [Πρόσβαση 4 Ιουνίου 2021].
- [19] Χατζηδημητρίου Άννα Αντωνία, «Το ελληνικό κρασί μέσα από τους δρόμους του μεταξιού,» Πολυτεχνείο Κρήτης, Χανιά, 2017.
- [20] «Πως γίνεται το κρασί: η διαδικασία σε πέντε στάδια,» [Ηλεκτρονικό]. Available: <https://www.krasiagr.com/pws-ginetait-okrasi-i-diadikasia-se-pente-stadia/>. [Πρόσβαση 21 Μαΐου 2021].
- [21] «Fermentation,» [Ηλεκτρονικό]. Available: <http://hyperphysics.phy-astr.gsu.edu/hbase/Biology/ferment.html>. [Πρόσβαση 21 Δεκεμβρίου 2020].
- [22] «Η αλκοολική ζύμωση,» [Ηλεκτρονικό]. Available: http://www.newwinesofgreece.com/h_alkooliki_zumosi/en_h_alkooliki_zumosi.html. [Πρόσβαση 23 Δεκεμβρίου 2020].
- [23] Τσελέπος Άρης, «Μελέτη της εξέλιξης των φαινολικών συστατικών του κρασιού κατά την οινοποίηση και την αποθήκευση σε τροποποιημένη ατμόσφαιρα,» ΕΜΠ, Αθήνα, 2015.
- [24] Στράτος Καραγαβριλίδης, «Η χημεία του κρασιού,» [Ηλεκτρονικό]. Available: <https://www.rodiki.gr/article/319835/h-xhmeia-toy-krasiou>. [Πρόσβαση 30 Ιανουαρίου 2020].
- [25] Melissa M. Markoski, Juliano Garavaglia, Aline Oliveira, Jessica Olivaes and Aline Marcadenti, «Molecular Properties of Red Wine Compounds and Cardiometabolic Benefits,» *Nutr Metab Insights.*, pp. 51-57, 2016.

- [26] «Τα φαινολικά συστατικά στο κρασί,» [Ηλεκτρονικό]. Available: https://www.enologylab.gr/2016/01/blog-post_72.html. [Πρόσβαση 30 Μαΐου 2021].
- [27] Carla Maria Oliveira, António César Silva Ferreira, Victor De Freitas, Artur M.S.Silva, «Oxidation mechanisms occurring in wines,» *Food Research International*, pp. 1115-1126, Ιούνιος 2011.
- [28] Andrew L. Waterhouse, «Introduction to Oxidation in Wine,» 2016. [Ηλεκτρονικό]. Available: <https://slideplayer.com/slide/8041379/>. [Πρόσβαση 25 Μαΐου 2021].
- [29] Σαμαράς Βασίλειος, «Αποτίμηση αντιοξειδωτικής δράσης σε τοπικά κρασιά με συνδυασμό μοριακών τεχνικών,» 2018. [Ηλεκτρονικό]. Available: <https://core.ac.uk/download/pdf/159785933.pdf>. [Πρόσβαση 22 Μαΐου 2021].
- [30] Wine Folly, «Native Wine Grapes of America,» 2015. [Ηλεκτρονικό]. Available: <https://winefolly.com/deep-dive/native-wine-grapes-of-america/>. [Πρόσβαση 5 Ιουνίου 2021].
- [31] «Greek White,» [Ηλεκτρονικό]. Available: <https://www.winemag.com/varietals/greek-white/>. [Πρόσβαση 31 Οκτώμβρη 2020].
- [32] «Ελληνικές ποικιλίες λευκών κρασιών,» 2017. [Ηλεκτρονικό]. Available: <https://www.greeceandgrapes.com/blog/greek-white-wine-types>. [Πρόσβαση 30 Ιανουαρίου 2020].
- [33] «Σαββατιανό,» [Ηλεκτρονικό]. Available: <http://kelarismani.gr/index.php?fc=module&module=leoblog&id=13&controller=blog>. [Πρόσβαση 21 Ιανουαρίου 2020].
- [34] «Ποιοι είναι οι τύποι των κρασιών και ποια κρασιά πρέπει να γνωρίζεις,» 2018. [Ηλεκτρονικό]. Available: <https://www.huffingtonpost.gr/entry/ποιοι-einai-oi-terponton-krasion-kai-ποια-krasia-prepei-na-γνωρίζεις>. [Πρόσβαση 1 Φεβρουαρίου 2020].
- [35] «Τύποι λευκού ξηρού κρασιού για το καλοκαίρι,» 2015. [Ηλεκτρονικό]. Available: <http://www.krasiagr.com/>. [Πρόσβαση 1 Φεβρουαρίου 2020].
- [36] «Types of white wines,» 2019. [Ηλεκτρονικό]. Available: <http://frenchscout.com/types-of-white-wines>. [Πρόσβαση 31 Ιανουαρίου 2020].
- [37] «Ποτά ... μπόμπες,» 2017. [Ηλεκτρονικό]. Available: <https://xhmeiapedia.blogspot.com/2017/07/pota-mpompes.html>. [Πρόσβαση 11 Νοεμβρίου 2020].
- [38] «Adulteration of wine,» 2020. [Ηλεκτρονικό]. Available: <https://glossary.wein.plus/adulteration-of-wine>. [Πρόσβαση 23 Νοεμβρίου 2020].
- [39] «Σκέψεις πάνω στο χρονικό ενός προαναγγεθθέντος σκανδάλου,» [Ηλεκτρονικό]. Available: <https://www.tovima.gr/2011/06/14/opinions/skepseis-panw-sto-xroniko-enos-proanaggelthentos-skandaloy/>. [Πρόσβαση 11 Νοεμβρίου 2020].

- [40] «Glykol-Wein-Skandal wird bekannt,» [Ηλεκτρονικό]. Available: <https://www1.wdr.de/stichtag1338.html>. [Πρόσβαση 11 Νοεμβρίου 2020].
- [41] Maria Kyraleou, Eleni Tzanakouli, Yorgos Kotseridis, Kleopatra Chira e.t.c., «Addition of wood chips in red wine during and after alcoholic fermentation,» *OENO One*, pp. 1-36, 2016.
- [42] Anna Stoj, «Methods of detecting adulteration of wines,» *Technologia. Jakość*, pp. 17-26, 2011.
- [43] Kim Gittleson, «Wine fraud: How easy is it to fake a 50-year-old bottle?,» 8 Αυγούστου 2014. [Ηλεκτρονικό]. Available: <https://www.bbc.com/news/business-28697721>. [Πρόσβαση 11 Δεκεμβρίου 2020].
- [44] «Wines of Greece,» [Ηλεκτρονικό]. Available: <https://winesofgreece.org/el/category/var-international-el/>. [Πρόσβαση 11 Δεκεμβρίου 2020].
- [45] «Χυμοί: Ποια είναι η σημασία τους για την υγεία;» [Ηλεκτρονικό]. Available: <https://www.medlook.net/>. [Πρόσβαση 16 Φεβρουαρίου 2020].
- [46] «Ο χυμός μήλου ευεργετικός για τη λειτουργία της καρδιάς,» 2018. [Ηλεκτρονικό]. Available: <https://m.naftemporiki.gr/story/1340929>. [Πρόσβαση 16 Φεβρουαρίου 2020].
- [47] «4 Benefits of Apple Juice (And 5 Downsides),» [Ηλεκτρονικό]. Available: <https://www.healthline.com/nutrition/apple-juice-benefits>. [Πρόσβαση 16 Φεβρουαρίου 2020].
- [48] Σαριδάκη Αγγελική, «Μελέτη της επίδρασης των διεργασιών παστερίωσης και αποπύκνωσης στις φυσικοχημικές παραμέτρους χυμού,» 2013. [Ηλεκτρονικό]. Available: <http://www.gaiapedia.gr/gaiapedia/>. [Πρόσβαση 17 Φεβρουαρίου 2020].
- [49] Shashi Bhushan, Kalpana Kalia, Madhu Sharma, Paramvir S Ahuja, «Processing of Apple Pomace for Bioactive Molecules,» *Critical Reviews in Biotechnology*, pp. 285-296, 2008.
- [50] «Cider,» [Ηλεκτρονικό]. Available: <https://www.britannica.com/topic/cider>. [Πρόσβαση 17 Φεβρουαρίου 2020].
- [51] Δήμητρα Μανιφάβα, «Νόμος του 1922 απαγορεύει την παραγωγή μηλίτη στην Ελλάδα,» 2017. [Ηλεκτρονικό]. Available: <https://www.kathimerini.gr/society/913154/nomos-toy-1922-apagoreyei-tin-paragogi-militi-stin-ellada/>. [Πρόσβαση 17 Φεβρουαρίου 2020].
- [52] «Μηλίτης ή μπύρα; ποιά είναι η πιο υγιεινή επιλογή,» [Ηλεκτρονικό]. Available: <http://www.krasiagr.com/militis-vs-mpyra/>. [Πρόσβαση 17 Φεβρουαρίου 2020].

- [53] «Cider,» 2020. [Ηλεκτρονικό]. Available: <https://www.encyclopedia.com/sports-and-everyday-life/food-and-drink/alcoholic-beverages/cider>. [Πρόσβαση 17 Φεβρουαρίου 2020].
- [54] «Ενδιαφέρουσες πληροφορίες για τον μηλίτη,» 2018. [Ηλεκτρονικό]. Available: https://argyris446kypreos.blogspot.com/2018/06/blog-post_5.html. [Πρόσβαση 1 Μαρτίου 2020].
- [55] «Czech Mini Breweries,» [Ηλεκτρονικό]. Available: <https://www.czechminibreweries.com/el/production/ciderias/>. [Πρόσβαση 10 Μαρτίου 2020].
- [56] Douglas A. Scoog, F. James Holler, Stanley R. Crouch, Αρχές Ενόργανης Ανάλυσης, Κωσταράκη, 2007, pp. 818-841.
- [57] Gamal A.E. Mostafa, Yazeed H. Al-Otaibi, Abdullah A. Al-Badr, «Profiles of Drug Substances, Excipients and Related Methodology,» 2019, pp. 1-165.
- [58] «7.5: Voltammetric Methods,» 9 Ιανουαρίου 2020. [Ηλεκτρονικό]. Available: <https://www.ossila.com/pages/cyclic-voltammetry>. [Πρόσβαση 16 Δεκεμβρίου 2020].
- [59] Αναστάσιος Χ. Σουρουτζίδης, «Ηλεκτροχημικός προσδιορισμός ασκορβικού οξέος,» 2017. [Ηλεκτρονικό]. Available: <https://ikee.lib.auth.gr/record/294796/files/GRI-2017-20461.pdf>. [Πρόσβαση 16 Δεκεμβρίου 2020].
- [60] Αγγελική Φλώρου, «Βασικές αρχές κυκλικής βολταμμετρίας,» Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων, Ιωάννινα, 2018.
- [61] Νάντια Α. Παπαδοπούλου, «Ανάπτυξη χημικών αισθητήρων χαμηλού κόστους σε εκτυπωμένα ηλεκτρόδια γραφίτη τροποποιημένα με Nafion για τον προσδιορισμό σιδήρου σε πόσιμο νερό,» Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων, Ιωάννινα, 2017.
- [62] Julia Marzioch, «Microsensor system for the metabolic monitoring in cancer cell culture,» Oslo, 2019.
- [63] «11.4: Voltammetric and Amperometric Methods,» Αύγουστος 2020. [Ηλεκτρονικό]. Available: https://chem.libretexts.org/Bookshelves/Analytical_Chemistry/. [Πρόσβαση 16 Ιανουαρίου 2020].
- [64] M. Esteban, C. Ariño, J.M. Díaz-Cruz, «Chemometrics for the analysis of voltammetric data,» *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, pp. 86-92, 2006.
- [65] «Χημειομετρία - Στατιστική,» 2014. [Ηλεκτρονικό]. Available: <https://opencourses.uoa.gr/modules/units/?course=CHEM100&id=2282>. [Πρόσβαση 18 Ιανουαρίου 2020].
- [66] S. Medina, R. Perestrelo, P. Silva, J.A.M. Pereira, J.S. Camara, «Current trends and recent advances on food authenticity technologies and chemometric approaches,» σε *Trends in Food Science and Technology*, 2019, pp. 163-170.

- [67] «ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ ΣΤΗ ΧΗΜΕΙΟΜΕΤΡΙΑ,» [Ηλεκτρονικό]. Available: <https://eclass.uoa.gr/modules/document/file.php/CHEM234/%CE%9A%CE%95%CE%A6%CE%91%CE%9B%CE%91%CE%99%CE%9F%201-%CE%95%CE%99%CE%A3%CE%91%CE%93%CE%A9%CE%93%CE%97.pdf>. [Πρόσβαση 30 Μαΐου 2021].
- [68] Nur Zahidah Shafii, Ahmad Shakir Mohd Saudi, Jyh Chyang Pang, Izuddin Fahmy Abu, Norzahir Sapawe, Mohd Khairul Amri Kamarudin, Hammad Farhi Mohd Saudi, «Application of chemometrics techniques to solve environmental issues in Malaysia,» *Heliyon*, 2019.
- [69] Lennart Eriksson, «What Is Principal Component Analysis (PCA) and How Is It Used?,» 18 Αυγούστου 2020. [Ηλεκτρονικό]. Available: <https://blog.umetrics.com/what-is-principal-component-analysis-pca-and-how-it-is-used>. [Πρόσβαση 18 Φεβρουαρίου 2020].
- [70] «Η ΜΕΘΟΔΟΣ PCA (Principle Component Analysis),» [Ηλεκτρονικό]. Available: https://eclass.uoa.gr/modules/document/file.php/DI367/%CE%A5%CE%BB%CE%B9%CE%BA%CF%8C/PCA_method.pdf. [Πρόσβαση 18 Φεβρουαρίου 2020].
- [71] Matthew Hamilton, James Kijas, Natasha Botwright, «Genome Sequencing of Blacklip and Greenlip Abalone,» *Frontiers in Genetics*, pp. 4-9, 2019.
- [72] Α. Τσάντλη-Κακουλίδου, «Σημειώσεις στατιστικής χημειομετρίας,» σε *Πολυπαραμετρικές στατιστικές μέθοδοι*, Αθήνα, ΕΚΠΑ, 2016.
- [73] Δημήτριος Κωνσταντόπουλος, «Συμβολή στην ανάπτυξη νέας αναλυτικής τεχνικής για την ανίχνευση νοθείας παρθένου ελαιολάδου από πυρηνέλαια και σπορέλαια,» ΕΜΠ, Αθήνα, 2017.
- [74] Paolo Oliveri, «Class-modelling in food analytical chemistry: Development, sampling, optimisation and validation issues - A tutorial,» *Analytica Chimica Acta*, pp. 9-19, 2017.
- [75] Kee Siong Ng, «A Simple Explanation of Partial Least Squares,» 27 Απριλίου 2017. [Ηλεκτρονικό]. Available: <http://users.cecs.anu.edu.au/~kee/pls.pdf>. [Πρόσβαση 26 Μαρτίου 2021].
- [76] Σταύρος Κωσταντίνος Σταυρινίδης, «Παλινδρόμηση μερικών ελάχιστων τετραγώνων,» 2011. [Ηλεκτρονικό]. Available: <https://dspace.lib.ntua.gr/xmlui/handle/123456789/5523>. [Πρόσβαση 26 Μαρτίου 2021].
- [77] Σιδερούδη Θεοχαρία, «Φασματοσκοπική Μελέτη Οφθαλμικών Παθήσεων και Ανίχνευση Μορίων Φαρμάκων,» 2006. [Ηλεκτρονικό]. Available: https://nemertes.lis.upatras.gr/jspui/bitstream/10889/1472/1/Nimertis_Sideroudi.pdf. [Πρόσβαση 26 Φεβρουαρίου 2021].

- [78] «797 VA Computrace for CVS,» [Ηλεκτρονικό]. Available: <https://www.metrohm.com/en/products-overview/27970030>. [Πρόσβαση 17 Μαρτίου 2020].
- [79] Parkes scientific Canada, «Ohaus Pioneer® PX Series Analytical Balances,» [Ηλεκτρονικό]. Available: <https://parkesscientific.com/p/ohaus-pioneer-px-series-analytical-balances>. [Πρόσβαση 5 Απριλίου 2021].
- [80] «Hei Tec Magnetic Stirrers,» [Ηλεκτρονικό]. Available: <https://heidolph-instruments.com/en/products/Magnetic-Stirrers/Hei-Tec~p141>. [Πρόσβαση 3 Απριλίου 2021].
- [81] Ω Metrhom DropSens, «Screen-printed electrodes,» [Ηλεκτρονικό]. Available: http://www.dropsens.com/en/screen_printed_electrodes_pag.html. [Πρόσβαση 10 Μαΐου 2021].
- [82] PubChem, «Alumina,» [Ηλεκτρονικό]. Available: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Alumina#section=2D-Structure>. [Πρόσβαση 13 Απριλίου 2021].
- [83] PubChem, «Potassium perchlorate,» [Ηλεκτρονικό]. Available: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/516900#section=InChI-Key>. [Πρόσβαση 13 Απριλίου 2021].
- [84] PubChem, «Potassium chloride,» [Ηλεκτρονικό]. Available: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Potassium-chloride#section=2D-Structure>. [Πρόσβαση 26 Απριλίου 2021].
- [85] «Dielectric constant of common solvents,» [Ηλεκτρονικό]. Available: https://depts.washington.edu/eooptic/linkfiles/dielectric_chart%5B1%5D.pdf. [Πρόσβαση 2 Απριλίου 2020].
- [86] Pub Chem, «Dichloromethane,» [Ηλεκτρονικό]. Available: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Dichloromethane#section=Depositor-Supplied-Synonyms>. [Πρόσβαση 2 Απριλίου 2021].
- [87] Pub Chem, «Ethyl acetate,» [Ηλεκτρονικό]. Available: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Ethyl-acetate#section=3D-Conformer>. [Πρόσβαση 2 Απριλίου 2021].
- [88] «SIMCA 15,» 2017. [Ηλεκτρονικό]. Available: https://blog.umetrics.com/hubfs/Download%20Files/drupal/simca_15_user_guide.pdf. [Πρόσβαση 8 Μαΐου 2021].
- [89] Abdullah A., Abdullah Yavuz Yardım, Zühre Şentürk, «The performance of cathodically pretreated boron-doped diamond electrode,» 2018. [Ηλεκτρονικό]. Available: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0039914018304752>. [Πρόσβαση 3 Μαρτίου 2021].

- [90] Guo Cheng, Ye Liu, Tai-Xin Yue, Zhen-Wen Zhang, «Comparison between aroma compounds in wines from four *Vitis vinifera* grape varieties grown in different shoot position,» *Food Science and Technology*, 2015.
- [91] Bao JIANG, Zhan-Yu SUN, «Phenolic compounds, total antioxidant capacity and volatile components of Cabernet Sauvignon red wines from five different wine-producing regions in China,» *Food Science and Technology*, 2018.
- [92] H.Nady, M.M.El-Rabiei, G.M. Abd El-Hafez, «Electrochemical oxidation behavior of some hazardous phenolic compounds in acidic solution,» *Egyptian Journal of Petroleum*, pp. 669-78, 2017.
- [93] Rebecca Gibb , «Unorthodox Behavior On the Right Bank,» 2012. [Ηλεκτρονικό]. Available: <https://www.wine-searcher.com/m/2012/05/bordeaux-producers-sulfuric-acid>. [Πρόσβαση 2 Ιουνίου 2021].
- [94] Olga Makhotkina, Paul A. Kilmartin, «The use of cyclic voltammetry for wine analysis: Determination of polyphenols and free sulfur dioxide,» *Analytica Chimica Acta*, pp. 155-165, 2010.
- [95] Chemistry Libretexts, «C. Working Electrodes,» 2020. [Ηλεκτρονικό]. Available: [https://chem.libretexts.org/Bookshelves/Analytical_Chemistry/Supplemental_Modules_\(Analytical_Chemistry\)/Analytical_Sciences_Digital_Library/JASDL/Courseware/Analytical_Electrochemistry%3A_The_Basic_Concepts/05_Experimental_Hardware/C._Working_Electrodes](https://chem.libretexts.org/Bookshelves/Analytical_Chemistry/Supplemental_Modules_(Analytical_Chemistry)/Analytical_Sciences_Digital_Library/JASDL/Courseware/Analytical_Electrochemistry%3A_The_Basic_Concepts/05_Experimental_Hardware/C._Working_Electrodes). [Πρόσβαση 2 Ιουνίου 2021].
- [96] Bor-Yann Chen, Chung-Chuan Hsueh, «Deciphering Electron Shuttles for Bioremediation and Beyond,» *American Journal of Chemical Engineering*, pp. 114-21, 17 Οκτωβρίου 2016.
- [97] Bor-Yann Chen, Meng-Meng Zhang, Yongtao Ding, Chang-Tang Chang, «Feasibility study of simultaneous bioelectricity generation and dye decolorization using naturally occurring decolorizers,» *Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers*, pp. 682-88, 2010.
- [98] Jolanta Wawrzyniak, Antoni Ryniecki, Włodzimierz Zembrzuski, «Application of voltammetry to determine vitamin C in apple juices,» *Acta scientiarum polonorum*, pp. 5-16, 2005.
- [99] Liliana Norocel, Gheorghe Gutt, «Screen-Printed Voltammetric Biosensors for the Determination of Copper in Wine,» *Sensors* , pp. 19-21, 2019.
- [100] Pedro Ibarra-Escutia, Jorge Juarez Gómez, Carole Calas-Blanchard, Jean Louis Marty, María Teresa, Ramírez-Silva, «Amperometric biosensor based on a high resolution photopolymer deposited onto a screen-printed electrode for phenolic compounds monitoring in tea infusions,» *Talanta*, pp. 1636-42, 2010.
- [101] Sylvain Guyot, Stéphane Bernillon, Pascal Poupard, Catherine M. G. C. Renard, «Multiplicity of Phenolic Oxidation Products in Apple Juices and Ciders, from

Synthetic Medium to Commercial Products,» *Recent Advances in Polyphenol Research*, pp. 278-92, 2009.

- [102] [Ηλεκτρονικό]. Available:
http://repfiles.kallipos.gr/html_books/9890/file/eisagogi_1.html. [Πρόσβαση 20 Μαΐου 2021].
- [103] «2. ΑΝΑΛΥΣΗ ΣΦΑΛΜΑΤΩΝ,» [Ηλεκτρονικό]. Available:
http://www.physics.upatras.gr/UploadedFiles/course_173_6304.pdf. [Πρόσβαση 20 Μαΐου 2021].
- [104] Katarina Burda, Michael Collins, «Adulteration of Wine with Sorbitol and Apple Juice,» *J Food Prot*, pp. 381-382, 1990.
- [105] I. Apetrei and C. Apetrei, «Detection of virgin olive oil using a voltammetric e-tongue,» *Computers and Electronics in Agriculture*, pp. 148-54, 2014.
- [106] P. Oliveri, M. Antonietta Baldo, S. Daniele and M. Forina, «Development of a voltammetric electronic tongue for discrimination of edible oils,» *Anal. Bioanal. Chem*, pp. 1135-43, 2009.
- [107] Pub Chem, «Gallic acid,» [Ηλεκτρονικό]. Available:
<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Gallic-acid#section=Spectral-Information>. [Πρόσβαση 10 Μαΐου 2021].
- [108] ETS Laboratories, «Profiling phenolic compounds in red wine,» 2015. [Ηλεκτρονικό]. Available: <https://www.etslabs.com/library/34>. [Πρόσβαση 10 Μαΐου 2021].