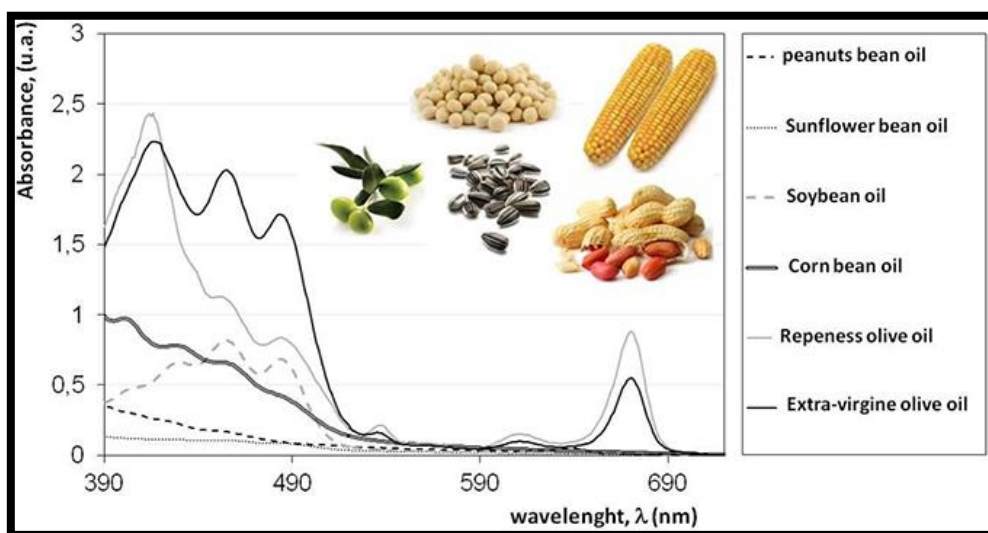




ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΠΕΛΟΠΟΝΝΗΣΟΥ
ΣΧΟΛΗ ΓΕΩΠΟΝΙΑΣ ΚΑΙ ΤΡΟΦΙΜΩΝ
ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΚΑΙ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ

ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ
ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑ ΚΑΙ ΠΟΙΟΤΗΤΑ ΕΠΙΤΡΑΠΕΖΙΑΣ ΕΛΙΑΣ ΚΑΙ
ΕΛΑΙΟΛΑΔΟΥ

**Μελέτη νοθείας ελαιόλαδου με βάση την ανάλυση φασματοσκοπίας
υπέρυθρου με μετασχηματισμό Fourier (Ftir)**



Μεταπτυχιακή Διπλωματική Εργασία

Της

Ιωάννας Θεοδοροπούλου

Που υποβάλλεται στο καθηγητικό σώμα για τη μερική εκπλήρωση των υποχρεώσεων
απόκτησης Διπλώματος Μεταπτυχιακών Σπουδών στην «Τεχνολογία και Ποιότητα
Επιτραπέζιας Ελιάς και Ελαιόλαδου» του Τμήματος Επιστήμης και Τεχνολογίας
Τροφίμων του Πανεπιστημίου Πελοποννήσου

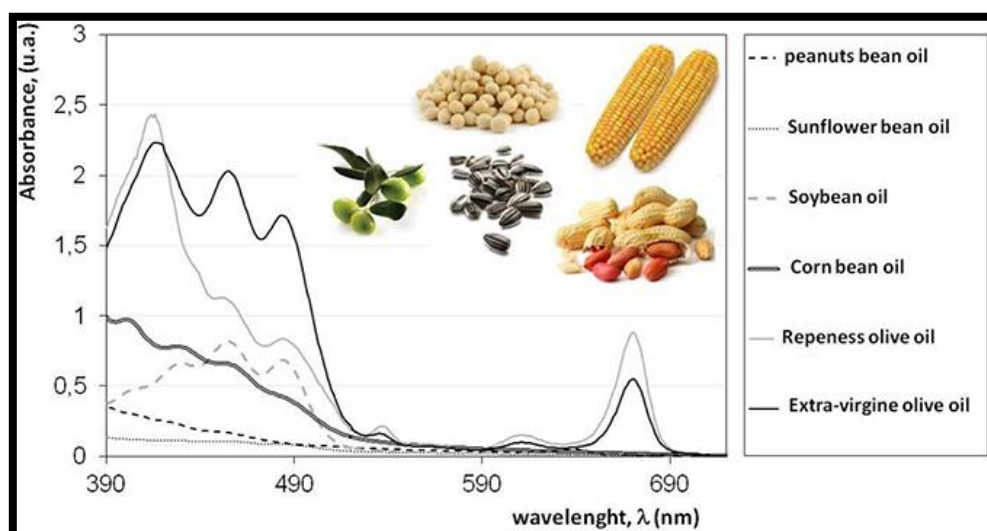
Επιβλέπων: Ιωάννης Καπόλος, Καθηγητής

Καλαμάτα, Απρίλιος 2023



UNIVERSITY OF PELOPONNESE
SCHOOL OF AGRICULTURE AND FOOD
DEPARTMENT OF FOOD SCIENCE AND TECHNOLOGY

MASTER OF SCIENCE (M.Sc.) IN
TECHNOLOGY AND QUALITY OF TABLE OLIVES AND OLIVE OIL
**Study of olive oil adulteration based on Fourier transform infrared
spectroscopy analysis (Ftir)**



Master Thesis

By

Theodoropoulou Ioanna

Submitted to the faculty for the partial fulfillment of the obligations to obtain a Postgraduate Diploma in “Technology and Quality of Table Olives and Olive Oil” of the Department of Food Science and Technology of the University of Peloponnese

Supervisor: Ioannis Kapolos, Professor

Kalamata, April 2023

Οι υπογράφωντες δηλώνουμε ότι έχουμε εξετάσει τη μεταπτυχιακή διπλωματική εργασία (master thesis) με τίτλο «**ΜΕΛΕΤΗ ΝΟΘΕΙΑΣ ΕΛΑΙΟΛΑΔΟΥ ΜΕ ΒΑΣΗ ΤΗΝ ΑΝΑΛΥΣΗ ΦΑΣΜΑΤΟΣΚΟΠΙΑΣ ΜΕΤΑΣΧΗΜΑΤΙΣΜΟΥ FOURIER (FTIR)**» που παρουσιάστηκε από την **Ιωάννα Θεοδωροπούλου** και βεβαιώνουμε ότι γίνεται δεκτή.

The signatories declare that we have examined the postgraduate diploma thesis titled “**STUDY OF OLIVE OIL ADULTERATION BASED ON FOURIER TRANSFORMINFARED SPECTROSCOPY (FTIR) ANALYSIS**” presented by **Ioanna Theodoropoulou** and we affirm that is accepted.

**Όνοματεπώνυμο & Υπογραφή 1^{ου} Μέλους Επιτροπής
(Name and Signature of 1st Commission Member):**

Καπόλος Ιωάννης, Καθηγητής

**Όνοματεπώνυμο & Υπογραφή 2^{ου} Μέλους Επιτροπής
(Name and Signature of 2nd Commission Member):**

Σπηλιόπουλος Ιωακείμ, Αναπληρωτής Καθηγητής

**Όνοματεπώνυμο & Υπογραφή 3^{ου} Μέλους Επιτροπής
(Name and Signature of 3rd Commission Member):**

Ρεκούμη Κωνσταντίνα, Λέκτορας Εφαρμογών

Με την υποβολή αυτής της διατριβής, δηλώνω ότι το σύνολο των εργασιών που περιέχονται σε αυτή είναι το δικό μου, πρωτότυπο έργο, ότι εγώ είμαι ο μοναδικός δημιουργός τους (εκτός αν αναφέρεται διαφορετικά), ότι η αναπαραγωγή και η δημοσίευσή της από το Πανεπιστήμιο Πελοποννήσου δεν θα παραβιάζει οποιαδήποτε δικαιώματα τρίτων και ότι δεν έχω υποβάλει στο παρελθόν το σύνολο ή μέρος αυτής για την απόκτηση οποιουδήποτε τίτλου.

By submitting this thesis, I declare that the entirety of the work contained therein is my own, original work, that I am the sole author thereof (save to the extent explicitly otherwise stated), that reproduction and publication thereof by the University of the Peloponnese will not infringe any third party rights and that I have not previously in its entirety or in part submitted it for obtaining any qualification.

**Όνοματεπώνυμο & Υπογραφή Υποψηφίου
(Surname and first name of the candidate):**

Ιωάννα Θεοδωροπούλου

Πνευματική ιδιοκτησία © 2023 Πανεπιστήμιο Πελοποννήσου
Όλα τα δικαιώματα διατηρούνται

Copyright © 2023 University of the Peloponnese
All rights reserved.

Copyright © Ιωάννα Θεοδωροπούλου, 2023

Με επιφύλαξη κάθε δικαιώματος. All rights reserved.

Απαγορεύεται η αντιγραφή, αποθήκευση και διανομή της παρούσας εργασίας, εξ ολοκλήρου ή τμήματος αυτής, για εμπορικό σκοπό. Επιτρέπεται η ανατύπωση, αποθήκευση και διανομή για σκοπό μη κερδοσκοπικό, εκπαιδευτικής ή ερευνητικής φύσης, υπό την προϋπόθεση να αναφέρεται η πηγή προέλευσης και να διατηρείται το παρόν μήνυμα. Ερωτήματα που αφορούν τη χρήση της εργασίας για κερδοσκοπικό σκοπό πρέπει να απευθύνονται προς τη συγγραφέα. Οι απόψεις και τα συμπεράσματα που περιέχονται σε αυτό το έγγραφο εκφράζουν τη συγγραφέα και δεν πρέπει να ερμηνευθεί ότι αντιπροσωπεύουν τις επίσημες θέσεις του Τμήματος Επιστήμης και Τεχνολογίας Τροφίμων της Σχολής Γεωπονίας και Τροφίμων του Πανεπιστημίου Πελοποννήσου

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Θα ήθελα να ευχαριστήσω τον επιβλέποντα καθηγητή μου κ.Καπόλο Ιωάννη , για την καθοδήγηση που μου προσέφερε και το χρόνο που διέθεσε δίνοντάς μου χρήσιμες συμβουλές και οδηγίες για την ολοκλήρωση της διπλωματικής μου εργασίας. Στο ίδιο πλαίσιο ευγνωμοσύνης, θα ήθελα να ευχαριστήσω τους καθηγητές κ.Σπηλιόπουλο Ιωακείμ και κ. Ρεκούμη Κωνσταντίνα για τη συμβολή τους.

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Το ελαιόλαδο έχει κατηγοριοποιηθεί ως το προϊόν με το μεγαλύτερο και συχνότερο ποσοστό νοθείας στην Ευρωπαϊκή Επιτροπή και ως εκ τούτου απαιτεί συνεχή ανάπτυξη μεθόδων ελέγχου ταυτότητας. Σκοπός της παρούσας εργασίας είναι η ανίχνευση του Π.Ο.Π ελαιόλαδου Καλαμάτας από νοθευμένα δείγματα ελαιόλαδων με ηλιέλαιο. Χρησιμοποιήθηκαν 69 δείγματα Π.Ο.Π ελαιόλαδου Καλαμάτας από διαφορετικές περιοχές της Μεσσηνίας (3 διαφορετικά αγροτεμάχια από κάθε περιοχή). Έπειτα πάρθηκαν τα 44 από αυτά και νοθευτήκαν με ηλιέλαιο. Απώτερος στόχος της εργασίας ήταν να επαληθευτεί η αξιόπιστη και αποτελεσματική εφαρμογή φασματοσκοπίας υπέρυθρης ακτινοβολίας μετασχηματισμού Fourier (FTIR) στην ανίχνευση νοθευμένου εξαιρετικού παρθένου ελαιόλαδου και να οδηγήσει σε εξασφάλιση της ποιότητας του Π.Ο.Π ελαιόλαδου Καλαμάτας.

Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι οι καλύτερες ζώνες που είναι στατιστικά σημαντικές είναι $1711-1590\text{cm}^{-1}$, $1531-1476\text{cm}^{-1}$, $2386-2330\text{cm}^{-1}$. Καλή διασπορά επίσης έδωσαν και οι ζώνες $1500-600\text{cm}^{-1}$ και $3200-2700\text{cm}^{-1}$ με τον αλγόριθμο της PCA παρόλο που δεν έδωσαν ιδιαίτερη διαφοροποίηση κατά την σύγκριση των φασμάτων τους οπτικά με overlay. Επίσης έγινε επικύρωση του αλγόριθμου PCA για τις παραπάνω ζώνες απορρόφησης. Οι παραπάνω ζώνες έδωσαν καλή διασπορά κατά την εκπαίδευση της PCA καθώς και υψηλό ποσοστό της συνολικής διακύμανσης που εξηγείται από κάθε κύριο στοιχείο και επικυρώθηκαν επιτυχώς με άγνωστα δείγματα.

Τέλος αξίζει να σημειωθεί ότι τα νέφη διασποράς παρόλο που ήταν ξεκάθαρα διαχωρισμένα δεν ήταν τόσο πυκνά και αυτό θα μπορούσε να οφείλεται στο ότι τα δείγματα προέρχονται από διαφορετικές περιοχές του Νομού και διερευνηθεί μελλοντικά το πως η γεωγραφική προέλευση του κάθε δείγματος επηρεάζει το αποτέλεσμα.

Συμπερασματικά σύμφωνα με τα αποτελέσματα της γραμμικής παλινδρόμησης η μέθοδος FTIR προβλέπει αξιόπιστα τα νοθευμένα και μη νοθευμένα ελαιόλαδα με την πλέον καταλληλότερη ζώνη απορρόφησης να είναι η $2386-2330\text{cm}^{-1}$ για τα μη νοθευμένα ($R^2=0,452$, $RMSE=12,395$) και νοθευμένα ελαιόλαδα ($R^2=0,802$, $RMSE=7,453$).

Λέξεις Κλειδιά: φασματοσκοπία μετασχηματισμού Fourier (FTIR), φασματοσκοπία, ελαιόλαδο, νοθεία

ABSTRACT

The European Commission has identified olive oil as the most common food fraud, necessitating ongoing development of authentication techniques. The purpose of this work is the separation of PDO Kalamata olive oil from adulterated samples of olive oils with sunflower oil. 69 samples of PDO Kalamata olive oil from different regions of Messinia were used (3 different parcels from each region). Then 44 of them were taken and adulterated in sunflower oil ratios of 5%, 10%, 20%, 25%, 30%, 50%, 55%, 60%, 75%, 80%, 90% sunflower oil. The goal of the work was to verify the reliable and effective application of Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR) in the detection of adulterated extra virgin olive oil and to lead to quality assurance of Kalamata PDO olive oil.

The results showed that the best separation bands are 1711-1590cm⁻¹, 1531-1476cm⁻¹, 2386-2330cm⁻¹. The 1500-600cm⁻¹ and 3200-2700cm⁻¹ bands also gave good dispersion with the PCA algorithm, although they did not give much differentiation when comparing their spectra visually with overlay. The PCA algorithm was also validated for the above absorption bands. The above bands gave good dispersion during PCA training as well as a high percentage of the total variance explained by each principal component and were successfully validated with unknown samples.

Finally, it is worth noting that the dispersion clouds, although they were clearly separated, were not so dense and this could be because the samples come from different regions of the Prefecture, and it should be investigated in the future how the geographical origin of each sample affects the result.

In conclusion according to the linear regression results the FTIR method reliably predicts adulterated and unadulterated olive oils with the most suitable absorption band being 2386-2330cm⁻¹ for unadulterated (R²=0.452, RMSE=12.395) and adulterated olive oils (R²=0.802, RMSE=7.453).

Keywords: Fourier transform spectroscopy (FTIR), spectroscopy, olive oil, adulteration

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΠΕΡΙΛΗΨΗ.....	6
ABSTRACT.....	7
ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΕΙΚΟΝΩΝ	13
ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΠΙΝΑΚΩΝ	15
Κεφάλαιο 1^ο Ελιά και Ελαιόλαδο	16
1.1. Εισαγωγή.....	16
1.2. Ιστορική Αναδρομή.....	16
1.3. Καλλιέργεια Ελιάς στην Ελλάδα	18
1.4. Ποικιλίες ελιάς στην Ελλάδα	20
1.5. Σύνθεση Ελαιολάδου	24
1.6. Διαδικασία παραγωγής ελαιολάδου	25
1.7. Ποιοτικές παράμετροι ελαιολάδου.....	29
Κεφάλαιο 2^ο Ποιότητα, Ασφάλεια, Αυθεντικότητα και Νόθεια Ελαιολάδου	32
2.1. Εισαγωγή.....	32
2.2 Νοθεία, έλεγχος και ανιχνευσιμότητα του ΕVOO.....	33
2.2.1 Δόλιες δραστηριότητες στην παραγωγή ΕVOO.....	33
2.2.2 Έλεγχος ταυτότητας	34
2.3. Στοιχεία που προσδιορίζονται κατά τον έλεγχο νοθείας.....	39
2.3.1 Λιπαρά οξέα και παράγωγα γλυκεριδίων.	39
2.3.2 Φωσφολιπίδια	41
2.3.3. Τοκοφερόλες.....	42
2.3.4 Φαινολικές ενώσεις	43
2.3.5 Πτητικές ενώσεις	45
2.3.6 Χρωστικές.....	47
2.3.7 Σύνθεση στερόλης, τριτερπενικής διαλκοόλης και στιγμασταδιενίου	49
2.3.8 Εφαρμογή «δακτυλικού αποτυπώματος» λαδιού στον έλεγχο ταυτότητας	51

2.3.9 Προτεινόμενοι δείκτες για ανίχνευση νοθείας EVOO	52
Κεφάλαιο 3^ο Ανασκόπηση αναλυτικών τεχνικών για την ανίχνευση νοθείας στο ελαιόλαδο	54
3.1. Εισαγωγή.....	54
3.2. Ανίχνευση νοθευμένου εξαιρετικού παρθένου ελαιολάδου με χρήση δονητικής φασματοσκοπίας (υπέρυθρης και φασματοσκοπίας Raman).....	56
3.2.1. Εφαρμογή φασματοσκοπίας υπέρυθρης ακτινοβολίας μετασχηματισμού Fourier (FTIR) για την ανίχνευση νοθευμένου εξαιρετικού παρθένου ελαιολάδου.....	56
3.2.2. Εφαρμογή φασματοσκοπίας εγγύς υπέρυθρης ακτινοβολίας (NIR) για την ανίχνευση νοθευμένου εξαιρετικού παρθένου ελαιολάδου.....	61
3.2.3. Εφαρμογή φασματοσκοπίας κοντινού υπέρυθρου (NIR) για την ανίχνευση νοθευμένου έξτρα παρθένου ελαιολάδου.....	62
3.2.4. Εφαρμογή φασματοσκοπίας Raman για την ανίχνευση νοθευμένου εξαιρετικού παρθένου ελαιολάδου	65
3.3. Ανίχνευση νοθευμένου εξαιρετικού παρθένου ελαιολάδου με άλλες φασματοσκοπικές τεχνικές.....	69
3.3.1 Εφαρμογή φασματοσκοπίας υπεριώδους-ορατού (UV-Vis) για την ανίχνευση νοθευμένου εξαιρετικού παρθένου ελαιολάδου	69
3.3.2. Η χρήση της φασματοσκοπίας πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού (NMR) για την ανίχνευση νοθευμένου εξαιρετικού παρθένου ελαιολάδου.....	72
3.3.3. Εφαρμογή φασματοσκοπίας μάζας για την ανίχνευση νοθευμένου εξαιρετικού παρθένου ελαιολάδου	74
3.3.4. Χρήση της φασματοσκοπίας φθορισμού για την ανίχνευση νοθευμένου εξαιρετικού παρθένου ελαιολάδου	76
3.3.5. Άλλες φασματοσκοπικές τεχνικές.....	78
3.4. Ανίχνευση νοθευμένου εξαιρετικού παρθένου ελαιολάδου με χρωματογραφικές τεχνικές.....	79
3.4.1. Εφαρμογή υγρής χρωματογραφίας υψηλής απόδοσης (HPLC) για την ανίχνευση νοθευμένου εξαιρετικού παρθένου ελαιολάδου	79

3.4.2. Η χρήση της Αέριας Χρωματογραφίας (GC) για τον εντοπισμό νοθείας στο Εξαιρετικό Παρθένο Ελαιόλαδο (EVOO) και στο Παρθένο Ελαιόλαδο (VOO).....	80
3.4.3 Συνδυασμένη χρήση υγρής χρωματογραφίας υψηλής απόδοσης (HPLC) και αέριας χρωματογραφίας (GC).....	86
3.5 Μέθοδοι θερμικής ανάλυσης ανίχνευσης νοθείας εξαιρετικού παρθένου ελαιολάδου .	88
3.6. Άλλες τεχνικές ανίχνευσης νοθείας εξαιρετικού παρθένου ελαιολάδου	88
3.7. Σύγκριση μεθόδων ανίχνευσης νοθείας	90
Κεφάλαιο 4^ο FT-IR Υλικά και Μέθοδοι πειραματικής διαδικασίας	93
4.1 Σκοπός Πειραματικής Διαδικασίας.....	93
4.2. Έλαια που χρησιμοποιήθηκαν.....	94
4.3 Οργανολογία	98
4.4 Δειγματοληψία	99
4.5 Χημειομετρία- Ανάλυση Κύριων Συνιστωσών PCA.....	101
4.6 Χημειομετρία – Γραμμική Παλινδρόμηση (Linear Regression)	102
Κεφάλαιο 5^ο Αποτελέσματα	104
5.1 Αποτελέσματα FT-IR Φασματοσκοπίας.....	104
5.2 Αποτελέσματα PCA	107
5.3 Επικύρωση Αλγόριθμου PCA.....	113
5.4. Στατιστική Ανάλυση	117
5.4.1. Προσαρμογή Γραμμικού μοντέλου για την περιοχή απορρόφησης υπέρυθρης ακτινοβολίας 1711-1590cm ⁻¹	119
5.4.2. Προσαρμογή Γραμμικού μοντέλου για την περιοχή απορρόφησης υπέρυθρης ακτινοβολίας 1531-1476 cm ⁻¹	120
5.4.3. Προσαρμογή Γραμμικού μοντέλου για την περιοχή απορρόφησης υπέρυθρης ακτινοβολίας 2386-2330cm ⁻¹	120
5.4.4. Προσαρμογή Γραμμικού μοντέλου για την περιοχή απορρόφησης υπέρυθρης ακτινοβολίας 1500-600cm ⁻¹	121

5.4.5. Προσαρμογή Γραμμικού μοντέλου για την περιοχή απορρόφησης υπέρυθρης ακτινοβολίας 3200-2700cm ⁻¹	121
Κεφάλαιο 6^ο Συζήτηση Αποτελεσμάτων	123
Κεφάλαιο 7^ο Συμπεράσματα.....	125
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	126

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΕΙΚΟΝΩΝ

Εικόνα 1. Ο Ποσειδώνας και η Αθηνά.	17
Εικόνα 2. Ποικιλίες ελιάς «Αμφίσσης» (Α), «Καλαμών» (Β) και «Κορωνέϊκη» (C).	20
Εικόνα 3. Διαδικασία παραγωγής ελαιολάδου	26
Εικόνα 4. Ποσοστιαία κατανομή κύριων λιπαρών οξέων σε διάφορα φυτικά έλαια.	40
Εικόνα 5. Σύγκριση προφίλ χρωστικής Πηγή: Ferreiro-González et al., 2017	49
Εικόνα 6. Απεικόνιση φασματομέτρου FTIR. Πηγή: Rohman et al., 2020.	57
Εικόνα 7. Σχηματική απεικόνιση εισαγωγής αισθητήρα NIRS στο τελευταίο πέρασμα στη διαδικασία εξαγωγής ελαιολάδου: (1) λάδι από οριζόντια φυγοκεντρική καράφα. (2) κάθετη φυγόκεντρος για διαύγαση λαδιού. (3) δεξαμενή για καθίζηση λαδιού. (4) συνεχής ζύγιση λαδιού. (5) σε δοχείο αποθήκευσης λαδιού. (6) Εξοπλισμός NIRS. Πηγή: García Martín, 2022.	64
Εικόνα 8. Φάσματα Raman για διαφορετικά φυτικά έλαια φυτικών ελαίων: (α) εξαιρετικά παρθένα ελαιόλαδα. b) ραφινρισμένα ελαιόλαδα· (c) πυρηνέλαιου· (d) καλαμπόκι· (e) ηλιάνθος· f) λιναρόσπορος· g) σιτάρι· (h) σόγια· (i) macadamia; (j) καρυδιά· και (k) καρύδι πεκάν. Πηγή: Jiménez-Sanchidrián, et al., 2016.	66
Εικόνα 9. Ημιδιαφανές μπουκαλάκι, 100ml	94
Εικόνα 10. FTIR Perkin Elmer Spectrum Bxii	99
Εικόνα 11. Φάσμα ελαιόλαδου	99
Εικόνα 12. Πλακίδια NaCl	100
Εικόνα 13. Holder φασματοφωτόμετρου που τοποθετούνται τα πλακίδια NaCl με το δείγμα	100
Εικόνα 14. Πλύση πλακιδίων NaCl.	101
Εικόνα 15. Διαφοροποίηση νοθευμένων δειγμάτων από παρθένα στα 1711-1590cm ⁻¹	105
Εικόνα 16. Διαφοροποίηση νοθευμένων δειγμάτων από παρθένα στα 1531-1476cm ⁻¹	105
Εικόνα 17. Διαφοροποίηση νοθευμένων δειγμάτων από παρθένα στα 1500-600cm ⁻¹	106
Εικόνα 18. Διαφοροποίηση νοθευμένων δειγμάτων από παρθένα στα 2386-2330cm ⁻¹	107
Εικόνα 19. Διάγραμμα διασποράς της μεθόδου PCA για την ανάλυση με φασματομετρία υπέρυθρου στα 1711-1590cm ⁻¹	108
Εικόνα 20. Συνολική διακύμανση για τον αλγόριθμο της PCA στα 1711-1590cm ⁻¹	108
Εικόνα 21. Διάγραμμα διασποράς της μεθόδου PCA για την ανάλυση με φασματομετρία υπέρυθρου στα 1531-1476cm ⁻¹	109
Εικόνα 22. Συνολική διακύμανση για τον αλγόριθμο της PCA στα 1531-1476cm ⁻¹	109
Εικόνα 23. Διάγραμμα διασποράς της μεθόδου PCA για την ανάλυση με φασματομετρία υπέρυθρου στα 2386-2330cm ⁻¹	110
Εικόνα 24. Συνολική διακύμανση για τον αλγόριθμο της PCA στα 2386-2330cm ⁻¹	110

Εικόνα 25. Διάγραμμα διασποράς της μεθόδου PCA για την ανάλυση με φασματομετρία υπέρυθρου στα 1500-600cm ⁻¹	111
Εικόνα 26. Συνολική διακύμανση για τον αλγόριθμο της PCA στα 1500-600cm ⁻¹	111
Εικόνα 27. Διάγραμμα διασποράς της μεθόδου PCA για την ανάλυση με φασματομετρία υπέρυθρου στα 3200-2700cm ⁻¹	112
Εικόνα 28. Συνολική διακύμανση για τον αλγόριθμο της PCA στα 3200-2700cm ⁻¹	112
Εικόνα 29. Διάγραμμα διασποράς της μεθόδου PCA για την ανάλυση με φασματομετρία υπέρυθρου στα 1711-1590cm ⁻¹	113
Εικόνα 30. Συνολική διακύμανση για τον αλγόριθμο της PCA στα 1711-1590cm ⁻¹	114
Εικόνα 31. Διάγραμμα διασποράς της μεθόδου PCA για την ανάλυση με φασματομετρία υπέρυθρου στα 1531-1476cm ⁻¹	114
Εικόνα 32. Συνολική διακύμανση για τον αλγόριθμο της PCA στα 1531-1476cm ⁻¹	115
Εικόνα 33. Διάγραμμα διασποράς της μεθόδου PCA για την ανάλυση με φασματομετρία υπέρυθρου στα 2386-2330cm ⁻¹	115
Εικόνα 34. Συνολική διακύμανση για τον αλγόριθμο της PCA στα 2386-2330cm ⁻¹	116
Εικόνα 35. Διάγραμμα διασποράς της μεθόδου PCA για την ανάλυση με φασματομετρία υπέρυθρου στα 1500-600cm ⁻¹	116
Εικόνα 36. Συνολική διακύμανση για τον αλγόριθμο της PCA στα 1500-600cm ⁻¹	117

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΠΙΝΑΚΩΝ

Πίνακας 1. Κατάλογος σημαντικών ελληνικών ποικιλιών ελιάς.....	22
Πίνακας 2. Γενική σύνθεση λιπαρών οξέων έξτρα παρθένου ελαιολάδου	25
Πίνακας 3. Κριτήρια ποιότητας σύμφωνα με τον κανονισμό 2568/91 της Ευρωπαϊκής Ένωσης και το εμπορικό πρότυπο του Διεθνούς Συμβουλίου Ελαιολάδου. Πηγή: Κυριτσάκης, 2007	31
Πίνακας 4. Σύνοψη των σύγχρονων ή καινοτόμων αναλυτικών τεχνικών, ενώσεων βιοδεικτών και μεθόδων επεξεργασίας δεδομένων για την ανίχνευση νοθευτών ΕVOO.....	36
Πίνακας 5. Σύγκριση μεθόδων ανίχνευσης και ποσοτικοποίησης του νοθευμένου και μη έξτρα παρθένου ελαιολάδου.	90
Πίνακας 6. Δείγματα Π.Ο.Π ελαιόλαδου Καλαμάτα που χρησιμοποιήθηκαν για την εκπαίδευση του αλγόριθμου της PCA	95
Πίνακας 7. Δείγματα Π.Ο.Π ελαιόλαδου Καλαμάτα που χρησιμοποιήθηκαν για την επικύρωση της εκπαίδευσης του αλγόριθμου της PCA.....	97
Πίνακας 8. Αποτελέσματα Γραμμικής Παλινδρόμησης.....	122

Κεφάλαιο 1^ο Ελιά και Ελαιόλαδο

1.1. Εισαγωγή

Η ελιά είναι πολύ σημαντική για την περιοχή της Μεσογείου με την Ελλάδα, Ιταλία και Ισπανία να πρωταγωνιστούν στην παραγωγή του εδώ και πολλά χρόνια. Το ελαιόλαδο είναι πολύ σημαντικό για την καθημερινότητά μας και μας θυμίζει την ιστορία μας. Η ελιά είναι σύμβολο ειρήνης και δύναμης, και πάντα θεωρούνταν ένα ιδιαίτερο και ιερό φυτό.

Η ελιά είναι ένα πολύ ιδιαίτερο φυτό που έχει βοηθήσει τους ανθρώπους με πολλούς τρόπους σε όλη την ιστορία, ειδικά στην περιοχή της Μεσογείου. Έχει επηρεάσει πολλούς τομείς όπως το τι τρώνε οι άνθρωποι, τον πολιτισμό και τη θρησκεία τους, και μάλιστα βοήθησε στη δημιουργία του τρόπου ζωής που έχουμε σήμερα. Μόνο το σιτάρι είναι τόσο σημαντικό όσο η ελιά στην ιστορία μας (Schicchi et al., 2021). Τα κοφτερά και κυρτά κλαδιά των ελιών έχουν διαμορφώσει το μεσογειακό τοπίο και οι καρποί τους έχουν τροφοδοτήσει πολλούς πολιτισμούς, από τη Μέση Ανατολή μέχρι την Ελλάδα, από την Ιταλία μέχρι την Ισπανία. Ο Πλίνιος ο Πρεσβύτερος έγραψε ότι στους ανθρώπους αρέσουν πολύ δύο υγρά: το κρασί και το λάδι. Το λάδι είναι πραγματικά σημαντικό και οι άνθρωποι έχουν εργαστεί σκληρά για να το αποκτήσουν.

1.2. Ιστορική Αναδρομή

Για να γίνει κατανοητή η σημασία της ελιάς στον μεσογειακό πολιτισμό, πρέπει να εμβαθύνουμε στο μακρινό παρελθόν και να εντοπίσουμε την προέλευση αυτού του αξιοσημείωτου φυτού. Πιστεύεται ότι η καλλιέργεια της ελιάς στη σημερινή της μορφή ξεκίνησε περίπου πριν από έξι με επτά χιλιάδες χρόνια στη Μέση Ανατολή, συγκεκριμένα στην αρχαία Περσία και τη Μεσοποταμία. Την εποχή αυτή εξημερώθηκε για πρώτη φορά η αγριελιά και παρήχθη λάδι. Η αξία αυτής της πολύτιμης ουσίας εξαπλώθηκε γρήγορα κατά την Εποχή του Χαλκού, χάρη στους εμπόρους που ταξίδευαν μεταξύ της Συρίας, του Λιβάνου, του Ισραήλ, της Παλαιστίνης, της Αιγύπτου, της Ελλάδας και της Ιταλίας. Με την πάροδο των αιώνων, το ελαιόλαδο απέκτησε αυξανόμενη κοινωνικοοικονομική σημασία. Το 2010, ο Terra1 και οι συνεργάτες του διεξήγαγαν μια μελέτη για να διερευνήσουν τις γενετικές παραλλαγές μεταξύ των άγριων και εξημερωμένων φυτών ελιάς για να προσδιορίσουν την πηγή του σημερινού ευρωπαϊκού είδους ελιάς, επιστημονικά γνωστού ως *Olea europaea* (Breton et al., 2006). Σύμφωνα με τον μελετητή, η γέννηση της σύγχρονης ελιάς είναι πιο περίπλοκη από ό,τι θα μπορούσε να σκεφτεί κανείς, καθώς προέρχεται από τη διασταύρωση 11 διαφορετικών

ποικιλιών. Ένα πράγμα είναι σίγουρο, ωστόσο, ότι η ελιά αποτελεί μέρος της μεσογειακής χλωρίδας από αμνημονεύτων χρόνων, απολιθωμένη γύρη του γένους *Olea* έχει μάλιστα βρεθεί σε αρκετές μεσογειακές χώρες, όπως η Μακεδονία και η Ελλάδα, ενώ απολιθωμένα φύλλα που χρονολογούνται πριν από περίπου 37 χιλιάδες χρόνια έχουν βρεθεί στο ελληνικό νησί της Σαντορίνης (Marie et al., 2012).

Η παραγωγή και το εμπόριο ελαιολάδου ρυθμίστηκαν το 2500 π.Χ. με τον Βαβυλωνιακό κώδικα Χαμουραπί, ενώ κλαδιά ελιάς κοσμούσαν τους τάφους των Φαραώ γύρω στο 1300 π.Χ. Η ελιά εξαπλώθηκε σε όλη τη Μεσόγειο χάρη στους Έλληνες και εκτιμήθηκε ιδιαίτερα στον ελληνικό πολιτισμό, ενώ εμφανίστηκε στην ελληνική μυθολογία με τον Ποσειδώνα και την Αθηνά να μάχονται για την προστασία της Αθήνας (Morford et al., 2015). Ο Ποσειδώνας χρησιμοποίησε την τρίαινά του για να χτυπήσει έναν βράχο, ο οποίος τελικά έγινε το θεμέλιο της Ακρόπολης. Ως αποτέλεσμα, ένα ισχυρό άλογο και μια πηγή θαλασσινού νερού αναδύθηκε από αυτό. Η Αθηνά, από την άλλη, ήταν υπεύθυνη για τη φύτευση της πρώτης ελιάς. Το συγκεκριμένο δέντρο έχει χρησιμεύσει ως πηγή τροφής, θεραπείας και φωτός για αμέτρητες γενιές (Εικόνα 1)



Εικόνα 1. Ο Ποσειδώνας και η Αθηνά.

Μετά την προτίμηση των Ελλήνων για τον πολλαπλασιασμό της ελιάς στην περιοχή της Μεσογείου, οι Ρωμαίοι ανέλαβαν την ευθύνη να επεκτείνουν ακόμη περισσότερο την καλλιέργειά της. Η ελιά φυτεύτηκε ευρέως σε όλη την αυτοκρατορία, σε τέτοιο βαθμό που οι

φόροι εισπράττονταν με τη μορφή ελαιολάδου. Οι Ρωμαίοι ενίσχυσαν επίσης τη διαδικασία παραγωγής και κατηγοριοποίησαν διάφορους τύπους λαδιών με βάση τη μέθοδο της έκθλιψης, εντοπίζοντας τελικά πέντε διαφορετικούς τύπους (Grego, 2022).

Η ελιά είχε σημαντική απήχηση σε πολλούς τομείς, με τον αθλητισμό να είναι ένας από αυτούς. Οι Έλληνες αθλητές αλείφονταν με ελαιόλαδο πριν πάνε στη μάχη και οι νικητές Ολυμπιονίκες στολίζονταν με ιερά κλαδιά ελιάς και χαρίζονταν με περίτεχνα διακοσμημένες αμπούλες λαδιού. Οι Έλληνες και οι Ρωμαίοι χρησιμοποιούσαν το ελαιόλαδο στο μαγείρεμα πολλών πιάτων. Επιπλέον, το ελαιόλαδο είχε ένα ευρύ φάσμα εφαρμογών, συμπεριλαμβανομένης της χρήσης του ως θεραπευτικός παράγοντας, φαρμακευτικό φάρμακο, βαλσαμική ουσία, απορρυπαντικό, ακόμη και ως πηγή καυσίμου για λαμπτήρες αναθηματικών. Η ευελιξία του το έκανε πολύτιμο αγαθό σε διάφορους κλάδους και για διαφορετικούς σκοπούς. Από τη θεραπεία μέχρι τον καθαρισμό, αυτή η ουσία ήταν ένα απαραίτητο συστατικό στο οποίο βασίζονταν οι άνθρωποι για αιώνες (Grego, 2022).

Κατά τη διάρκεια της διακυβέρνησης της Ρώμης, το φυτό ελιάς γνώρισε σημαντική άνοδο σε δημοτικότητα και μπόρεσε να επεκτείνει την καλλιέργειά του σε περιοχές όπου προηγουμένως ήταν δύσκολο να αναπτυχθεί λόγω των δυσμενών καιρικών συνθηκών. Οι Βέρβεροι της Βόρειας Αφρικής ήταν γνωστό ότι είχαν κατακτήσει την τεχνική του εμβολιασμού των ελαιόδεντρων, αν και η ακριβής προέλευση της γνώσης τους παραμένει ασαφής. Οι λατινικές πηγές αναφέρουν ότι οι Βέρβεροι ήταν ήδη επιδέξιοι στον εμβολιασμό πριν κατακτηθούν από τους Ρωμαίους (Grego, 2022).

Μετά την ανακάλυψή τους στα τέλη του 15ου αιώνα, οι ελιές μεταφέρθηκαν τελικά στον Νέο Κόσμο. Το λιμάνι της Σεβίλλης διευκόλυνε τη μεταφορά των πρώτων ελαιόδεντρων στις Αντίλλες λίγο μετά την ανακάλυψή τους. Οι ελαιώνες έχουν παρατηρηθεί στο Μεξικό από το 1560 και αργότερα εμφανίστηκαν στο Περού, την Καλιφόρνια, τη Χιλή και την Αργεντινή (Torres et al., 2017).

1.3. Καλλιέργεια Ελιάς στην Ελλάδα

Η πρακτική της καλλιέργειας ελιών στην Ελλάδα πιστεύεται ότι ξεκίνησε κατά τη διάρκεια του Μινωικού πολιτισμού στο νησί της Κρήτης γύρω στο 3.500 π.Χ., που είναι προγενέστερη από την ανακάλυψη μυκηναϊκών απολιθωμάτων ελιάς που χρονολογούνται από το 1.600 π.Χ. Σύμφωνα με την ελληνική μυθολογία, η Αθηνά, η θεά που συνδέεται με τη σοφία και τον πολιτισμό, έδωσε στους Αθηναίους την πρώτη τους εξημερωμένη ελιά και ως αποτέλεσμα, η

πόλη ονομάστηκε Αθήνα προς τιμήν της. Η ελιά είχε επίσης σημαντικό νόημα στην αρχαία Ελλάδα, αντιπροσωπεύοντας τη νίκη και τη συμφιλίωση (Ριζοπούλου, 2004).

Η εξημερωμένη ελιά σταδιακά διαχέεται από την Ανατολή προς την Δύση από τους Φοίνικες, τους Ετρούσκους, τους Έλληνες και τους Ρωμαίους, κυρίως λόγω των πολλαπλών χρήσεων της (π.χ. λάδι, φρούτα, ξύλο και στην πρακτική ιατρική). Η εισαγωγή του εξημερωμένου βλαστικού πλάσματος της ελιάς στη Σικελία πιστεύεται ότι διευκολύνθηκε από Έλληνες αποίκους κατά τη χρονική περίοδο που εκτείνεται από τον ένατο έως τον πέμπτο αιώνα π.Χ. Οι αρχαιολογικές και μοριακές αναλύσεις υποστηρίζουν τη δυνατότητά του να προτείνει μια πρώιμη εισαγωγή ποικιλιών από τις περιοχές της Ανατολικής Μεσογείου στην Ιταλία. Η υπόθεση αυτή υποδηλώνει ότι ο λατινικός όρος "olea" έχει την προέλευσή του στην ελληνική λέξη "aelea" που σημαίνει ελιά. Πιστεύεται ότι η ελιά εισήχθη σε διάφορες περιοχές, συμπεριλαμβανομένης της Γαλλίας, της Ισπανίας και της Τυνησίας μέσω εμπορικών οδών που δημιούργησαν οι Έλληνες και οι Φοίνικες, οι οποίοι είχαν εξαπλώσει την καλλιέργειά της κατά μήκος των ακτών της Μεσογείου. Είναι αξιοσημείωτο, ωστόσο, ότι η πρόσφατη μοριακή ανάλυση, χρησιμοποιώντας πυρηνικούς και κυτταροπλασματικούς δείκτες, έδειξε ότι οι άγριοι πληθυσμοί της Ανατολικής και Δυτικής Μεσογείου διαφοροποιούνται έντονα ο ένας από τον άλλο. Σύμφωνα με τα διαθέσιμα στοιχεία και τις αρχαιοβοτανικές ανακαλύψεις, έχει προταθεί ότι η καλλιέργεια των ποικιλιών ελιάς γινόταν σε ξεχωριστές γενετικές δεξαμενές στην Ανατολική και Δυτική Μεσόγειο. Αυτό υποδηλώνει ότι υπήρξαν πιθανώς πολλαπλές περιπτώσεις εξημέρωσης στη Δυτική Μεσόγειο, οι οποίες πρόσθεσαν την ποικιλομορφία και την ποικιλία της καλλιεργούμενης γονιδιακής δεξαμενής. Επί του παρόντος, η περιοχή της Μεσογείου είναι υπεύθυνη για πάνω από το 90% της παγκόσμιας παραγωγής ελαιολάδου. Ωστόσο, λόγω των υψηλής ποιότητας και υγιεινών συστατικών του, η κατανάλωση ελαιολάδου αυξάνεται σταθερά σε όλο τον κόσμο και οδηγεί την ελαιοκαλλιέργεια σε περιοχές όπως η Λατινική Αμερική, η Καλιφόρνια, η Νότια Αφρική, η Κίνα και η Αυστραλία. Περισσότερα από 1.250 ονόματα ποικιλιών έχουν αναφερθεί μέχρι στιγμής σε όλο τον κόσμο, αν και μόνο λίγες ποικιλίες έχουν μεγάλη διασπορά ενώ η πλειονότητα είναι μάλλον εντοπισμένη. Προκειμένου να διασφαλιστεί η διατήρηση και η υπεύθυνη χρήση των γενετικών πόρων, είναι ζωτικής σημασίας να προσδιοριστεί με ακρίβεια το επίπεδο γενετικής διαφοροποίησης που υπάρχει στο καλλιεργούμενο και άγριο γεννητικό πλάσμα, καθώς και να γίνει διάκριση μεταξύ των γνήσιων ποικιλιών, της ενδοποικιλιακής ποικιλογένεσης και των αντίστοιχων χαρακτηριστικών τους (Banilas et al., 2009).

1.4. Ποικιλίες ελιάς στην Ελλάδα

Οι γονότυποι της ελιάς μπορούν να διατηρήσουν τα χαρακτηριστικά του γεννητικού πλάσματος για χιλιάδες χρόνια λόγω της αξιοσημείωτης μακροζωίας του δέντρου της ελιάς και του αγενούς πολλαπλασιασμού των κλώνων. Με την πάροδο των αιώνων, η διατήρηση των αρχαίων ποικιλιών ελιάς υπήρξε επιτυχής, οδηγώντας στην ύπαρξή τους στη σύγχρονη εποχή. Επιπλέον, η διαδικασία επιλογής για επιθυμητά χαρακτηριστικά και προσαρμογής σε διαφορετικά μικροκλίματα είχε ως αποτέλεσμα την εξέλιξη πολλών νέων ποικιλιών κατά τη διάρκεια των αιώνων. Αυτό οδήγησε σε σημαντικό επίπεδο ποικιλότητας στο ελαιοκαλλιεργητικό βλαστικό πλάσμα στην Ελλάδα, όπως παρατηρείται στη σημερινή εποχή. Μια μελέτη των Bartolini et al. (1994) υπογραμμίζει την εκτεταμένη και παρατεταμένη προσπάθεια που καταβλήθηκε στην ανάπτυξη αυτών των ποικιλιών. Όπως φαίνεται στην Εικόνα 2 οι ελληνικές ποικιλίες ελιάς παρουσιάζουν σημαντικές διαφορές στα φυσικά και γενετικά τους χαρακτηριστικά. Αυτό μπορεί να παρατηρηθεί στην ποικιλόμορφη εμφάνιση του καρπού καθώς ωριμάζει σε τρεις βασικές αυτόχθονες ποικιλίες. Οι ελιές διαφέρουν πολύ σε μέγεθος, σχήμα και χρώμα, υπογραμμίζοντας την έκταση της μεταβλητότητας που υπάρχει μεταξύ των ελληνικών ποικιλιών ελιάς.



Εικόνα 2. Ποικιλίες ελιάς «Αμφίσσης» (A), «Καλαμών» (B) και «Κορωνέϊκη» (C).

Η παρουσία γενετικής ποικιλότητας μεταξύ των ποικιλιών ελιάς, σε συνδυασμό με την εμφάνιση συνωνύμων και ομώνυμων, έχει οδηγήσει σε σημαντική σύγχυση σχετικά με την τρέχουσα κατάσταση των ποικιλιών ελιάς σε πολλές χώρες, ιδιαίτερα στην Ελλάδα. Η ύπαρξη πανομοιότυπων κλώνων με διαφορετικά ονόματα και η χρήση ίδιων ή παρόμοιων ονομάτων για διαφορετικές ποικιλίες έχουν οδηγήσει σε σύγχυση και έλλειψη σαφήνειας σχετικά με τον πραγματικό αριθμό και τους τύπους των ποικιλιών ελιάς σε αυτές τις περιοχές (Nikoloudakis et al., 2003). Μέρος αυτής της αβεβαιότητας θα μπορούσε να αποδοθεί στις αλληλεπιδράσεις του περιβάλλοντος και του γονότυπου, καθώς οι συνθήκες καλλιέργειας μπορεί να συμβάλλουν σε αλλαγές στη μορφολογία της ελιάς (Perrin et al., 2002). Τα τελευταία χρόνια, η αναγνώριση διαφορετικών τύπων ελιών καθορίζεται αποκλειστικά από τα φυσικά και γεωργικά χαρακτηριστικά τους. Οι διαδικασίες που εφαρμόζονται σε δενδροκομεία ήταν εξαιρετικά επιτυχημένες στην οργάνωση ποικιλιών ελιάς, επιλύοντας κάθε αβεβαιότητα που προκαλείται από παραπλανητικά ονόματα και διασφαλίζοντας την ακριβή αναγνώριση συνωνύμων και ομώνυμων (Barranco et al., 2005). Ωστόσο, το να βασιζόμαστε αποκλειστικά σε οπτικά χαρακτηριστικά για τη διάκριση των ποικιλιών ελιάς μπορεί να δημιουργήσει προκλήσεις, ιδιαίτερα κατά τις αρχικές φάσεις της ανάπτυξης των δέντρων (Mekuria et al., 1999). Η ανάπτυξη τεχνικών βιοχημικών και μοριακών δεικτών βελτίωσε τον ακριβή ρυθμό διάκρισης της ποικιλίας, την ταυτοποίηση και τον χαρακτηρισμό του βλαστικού πλάσματος. Οι Ouazzani et al. (1993) χρησιμοποίησαν πολυμορφισμούς ισοενζύμων για να αναλύσουν τη μεταβλητότητα του βλαστικού πλάσματος της ελιάς και να διαφοροποιήσουν μεταξύ άγριων φυτών και ποικιλιών. Στον τομέα των μελετών γενετικής ποικιλότητας, οι πρόσφατες εξελίξεις στην τεχνολογία είναι ιδιαίτερα αξιοσημείωτες. Δύο τέτοιες τεχνολογίες, το τυχαίο ενισχυμένο πολυμορφικό DNA (RAPD) και ο Πολυμορφισμός Μήκους ενισχυμένων θραυσμάτων (AFLP), έχει βρεθεί ότι είναι εξαιρετικά αποτελεσματικές στην εκτίμηση των γενετικών ομοιοτήτων μεταξύ των ποικιλιών. Αυτό έχει αποδειχθεί σε αρκετές μελέτες, συμπεριλαμβανομένων εκείνων που διεξήχθησαν από τους Mekuria et al. (1999), Gemas et al. (2000), και Owen et al. (2004). Επιπλέον, η ανακάλυψη απλών επαναλήψεων ακολουθιών (SSRs) ή μικροδορυφόρων στην ελιά (Cipriani et al., 2002) έχει ανοίξει νέους δρόμους για έρευνα σε αυτό το πεδίο. Συνολικά, αυτές οι εξελίξεις έχουν σηματοδοτήσει ένα σημαντικό ορόσημο στη μελέτη της γενετικής ποικιλότητας στις ποικιλίες ελιάς.

Παρά τη μακρά ιστορία και τη συμβολή του γεννητικού πλάσματος της ελιάς της Ανατολικής Μεσογείου στη συνολική ποικιλότητα της ελιάς, η τρέχουσα γνώση σχετικά με τη μεταβλητότητα του βλαστικού πλάσματος της ελιάς στην Ελλάδα είναι ακόμη περιορισμένη.

Η χώρα της Ελλάδας έχει μια μεγάλη ποικιλία ποικιλιών ελιάς, με πάνω από 170 διαφορετικά ονόματα. Ωστόσο, μπορεί να υπάρχει κάποια επικάλυψη λόγω της πιθανότητας συνωνύμων. Οι ελληνικές ποικιλίες συχνά ονομάζονται από συγκεκριμένες περιοχές, όπως «Καλαμών», «Κορωνέικη», «Μεγαρίτικη» και «Χαλκιδική», ή από το σχήμα του καρπού, όπως «Βαλανόλια» ή «Αμυγδαλολιά». Επιπλέον, ορισμένες ποικιλίες ονομάζονται με βάση την τελική τους χρήση, όπως η "Λαδολιά", η οποία είναι ένας τύπος ελιάς που καλλιεργείται ειδικά για την παραγωγή λαδιού. Δυστυχώς, αυτό έχει οδηγήσει σε κάποια σύγχυση επειδή υπάρχουν πολλά ομώνυμα με το όνομα "Λαδολιά". Ο Πίνακας 1 επισημαίνει μερικές από τις πιο σημαντικές ελληνικές ποικιλίες που έχουν αναγνωριστεί μέσω διαφόρων τεχνικών βιοχημικών ή μοριακών δεικτών, σύμφωνα με μελέτες που διεξήγαγαν οι Nikoloudakis et al. (2003) και Owen et al. (2004).

Πίνακας 1. Κατάλογος σημαντικών ελληνικών ποικιλιών ελιάς

Επίσημη ονομασία	Άλλα κοινά ονόματα – συνώνυμα	Κύρια περιοχή καλλιέργειας	Μέγεθος/ χρήση καρπού	Κύρια αγρονομικά χαρακτηριστικά
Ανδραμυτίνη	«Φραγκολιά», «Αϊβαλιώτικη»	Λέσβος/ Νησιά Αιγαίου, Κυκλάδες	Μεσαίο/ επιτραπέζια και λάδι	Μέση απόδοση σε φρούτα και λάδι. Επιτραπέζιες ελιές ποιότητας.
Αγουρομανακολιά	«Αγουρομάνακο»	Αργολίδα/ Ανατολική Πελοπόννησος	Μεσαίο/ Λάδι	Υψηλής απόδοσης. Υψηλή ποιότητα λαδιού. Ανθεκτικό στο ψύχος, όψιμη ωρίμανση.
Αμφίσσης	«Κονσερβόλια»	Άμφισσα/ Στερεά Ελλάδα, ευρέως διαδεδομένο σε Ελλάδα, ΗΠΑ, Αυστραλίας	Μεγάλο/ Επιτραπέζια	Υψηλής απόδοσης όταν καλλιεργείται σε καλό έδαφος και ποτίζεται. Ανθεκτικό στο κρύο.
Καλαμών	Καλαμάτα	Καλαμάτα/ ευρέως διαδεδομένο σε Ελλάδα, ΗΠΑ, Αυστραλία	Μεγάλο/ Επιτραπέζια	Μέση απόδοση. Πρώιμη ωρίμανση. Ευπαθές στην ξηρασία
Κορωνέικη	«Ψιλολιά», «Κρητικιά», «Λαδολιά»,	Κορώνη/ Πελοπόννησος, Κρήτη, Ιόνια	Μικρό/ Λάδι	Υψηλής απόδοσης. Εξαιρετική

	«Λιανολιά», «Βατσική»	Νησιά, Δυτική Στερεά Ελλάδα, Νησιά Αιγαίου, Αυστραλία, ΗΠΑ		ποιότητα λαδιού. Ανθεκτικό σε αντίξοες συνθήκες (ξηρασία, ξηρά εδάφη).
Κοθρέικη	«Μανάκι», «Μανακολιά», «Κορινθιακή», «Κονσερβολιά»	Φωκίδα/ Στερεά Ελλάδα, βορειανατολική Πελοπόννησος	Μεσαίο/ επιτραπέζια και λάδι	Μέση έως υψηλή απόδοση. Επιτραπέζιες ελιές με υψηλή ποιότητα. Ανθεκτικές στην ξηρασία και την ψύξη.
Λιανολιά Κερκύρας	«Σουβλολιά», «Μερόλια», «Λαδολιά», «Κορφολιά»	Κέρκυρα/ Ιόνια Νησιά, δυτική Θράκη	Μικρό/ Λάδι	Υψηλής απόδοσης. Υψηλή ποιότητα λαδιού (παρόμοια με την Κορωνέικη). Καλλιεργείται σε βραχώδη ξηρά εδάφη και παρουσιάζει ευπάθεια στη ξηρασία.
Μαστοειδής	«Τσουνάτη», «Μουρατολιά», «Αθηνολιά»	Κρήτη/ νότια Πελοπόννησος,	Μεσαίο/ Λάδι	Μέτρια προς χαμηλή απόδοση. Μπορεί να φτάσει μέχρι τα 1.000 μέτρα ύψος. Προτιμά τα ασβεστούχα εδάφη.
Μεγαρίτικη	«Λαδόλια», «Χονδρολιά»	Αττική/ Ανατολική Στερεά Ελλάδα, ανατολική Πελοπόννησος	Μέτριο/ επιτραπέζια και λάδι	Μέτρια προς υψηλή απόδοση. Μέση ποιότητα λαδιού. Ανθεκτικό στην ξηρασία.
Θρουμπολιά	Θρουμπολιά	Κρήτη/ Νησιά Αιγαίου, ανατολική Στερεά Ελλάδα	Μέτριο/ επιτραπέζια και λάδι	Μέση απόδοση. Οι βρώσιμες ελιές ωριμάζουν πάνω στο δέντρο (γνωστές και ως «θρούμπες»). Ευπαθές στην ξηρασία και την ψύξη.

Βαλιανολιά	«Μυτιληνία», «Βαλάνα», «Κολοβή»	Λέσβος/ βόρεια Νησιά Αιγαίου	Μέτριο/ λάδι	Υψηλής απόδοσης. Εξαιρετική ποιότητα λαδιού. Καθυστερημένη ωρίμανση.
------------	---------------------------------------	---------------------------------	-----------------	---

Συνήθως πιστεύεται ότι ένα όνομα ποικιλίας που περιλαμβάνει ένα τοπωνύμιο υποδηλώνει την τοποθεσία από την οποία προήλθε ή καλλιεργείται κυρίως. Ωστόσο, αυτή η υπόθεση δεν είναι απαραίτητα ακριβής, καθώς η σύγχρονη έρευνα με χρήση μοριακής ανάλυσης έχει αποκαλύψει σημαντικές περιπτώσεις ανταλλαγής γενετικού υλικού σε διάφορες περιοχές της Ελλάδας στο παρελθόν (Nikoloudakis et al., 2003; Owen et al., 2005).

1.5. Σύνθεση Ελαιολάδου

Το ελαιόλαδο μπορεί να χωριστεί σε δύο κύρια συστατικά: το σαπωνοποιήσιμο κλάσμα και το μη σαπωνοποιήσιμο κλάσμα. Το σαπωνοποιήσιμο κλάσμα αποτελεί την πλειοψηφία του ελαίου, περίπου το 98%, και αποτελείται από διάφορα λιπαρά οξέα εστεροποιημένα σε γλυκερίνη, καθώς και άλλες ενώσεις όπως ελεύθερα λιπαρά οξέα, φωσφολιπίδια, κεριά και εστέρες στερόλης. Το μη σαπωνοποιήσιμο κλάσμα αποτελεί περίπου το 2% του ελαίου και αποτελείται από μια ποικιλία χημικών οικογενειών συμπεριλαμβανομένων των αλκοολών, των στερολών, των υδρογονανθράκων, των φαινολικών ενώσεων, των χρωστικών και των πτητικών συστατικών (Dabbou et al., 2009). Το μη σαπωνοποιήσιμο κλάσμα των ενώσεων που βρίσκεται στο ελαιόλαδο διαδραματίζει κρίσιμο ρόλο στην ενίσχυση της γεύσης του και στην προστασία του από οξειδωτική βλάβη. Επιπλέον, η έρευνα έχει δείξει ότι ορισμένες από αυτές τις ενώσεις, όπως η βιταμίνη Ε, οι φυτοστερόλες, οι χρωστικές και οι φαινολικές ενώσεις, έχουν πιθανά οφέλη για την υγεία (Bajoub et al., 2015).

Το ελαιόλαδο είναι μοναδικό λόγω της υψηλής του συγκέντρωσης σε μονοακόρεστα λιπαρά οξέα, ιδιαίτερα ελαϊκό οξύ (C18:1 D9), το οποίο αποτελεί το 55 έως 83% της συνολικής περιεκτικότητας σε λιπαρά οξέα (Al-Bachir & Sahloul, 2017). Από την άλλη πλευρά, πολυακόρεστα οξέα όπως το λινολεϊκό (C18: 2 Δ9,12) και το λινολενικό (C18: 3 Δ9,12,15) υπάρχουν σε μικρότερες ποσότητες, αντιπροσωπεύοντας 3 έως 21% και λιγότερο από 1%, αντίστοιχα. της συνολικής σύνθεσης λιπαρών οξέων του ελαιολάδου (da Silveira et al., 2017). Επιπλέον, το ελαιόλαδο είναι γνωστό ότι περιέχει αξιοσημείωτα επίπεδα κορεσμένων λιπαρών οξέων στη χημική του σύνθεση, με ιδιαίτερη έμφαση στο παλμιτικό οξύ. Το συγκεκριμένο λιπαρό οξύ μπορεί να αποτελεί έως και το 20% της συνολικής περιεκτικότητας σε λιπαρά οξέα

που υπάρχει στο ελαιόλαδο. Ο Πίνακας 2 δείχνει τη σύνθεση λιπαρών οξέων των εξαιρετικά παρθένων ελαιολάδων, που καθιερώθηκε από το Διεθνές Συμβούλιο Ελαιόλαδου (IOC-International Olive Council) και υιοθετήθηκε από τη νομοθεσία της Ελλάδας.

Πίνακας 2. Γενική σύνθεση λιπαρών οξέων έξτρα παρθένου ελαιολάδου

Λιπαρά οξέα	Καθιερωμένα όρια (%)
C 14:0 – Μυριστικό	Λιγότερο ή ίσο με 0.03
C 16:0 – Παλμιτικό	7.5-20
C 16:1 – Παλμιτολεϊκό	0.3-3.5
C 17:0 – Μαργαρικό	Λιγότερο ή ίσο με 0.3
C 17:1 – cis-10- Επταδεκανοϊκό	Λιγότερο ή ίσο με 0.3
C 18:0 – Στεαρικό	0.5-5.0
C 18:1 – Ολεϊκό	55.0-83.0
C 18:2 – Λινολεϊκό	2.5-21.0
C 18:3 – Λινελαϊκό	Λιγότερο ή ίσο με 1.0
C 20:0 – Αραχιδονικό	Λιγότερο ή ίσο με 0.6
C 20:1 – cis-11- Εικοσενοϊκό	Λιγότερο ή ίσο με 0.4
C 22:0 – Βεχενικό	Λιγότερο ή ίσο με 0.2
C 24:0 – Λιγνοκερικό	Λιγότερο ή ίσο με 0.2

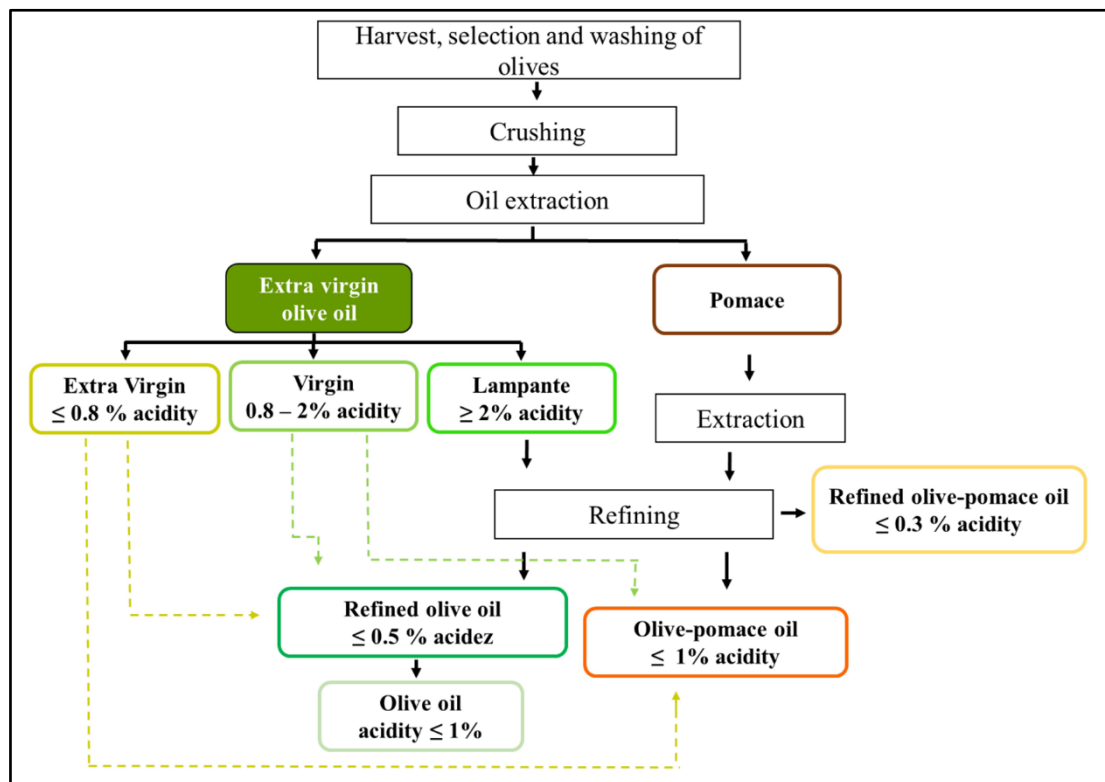
Η σύνθεση του ελαιολάδου δεν είναι σταθερή και μπορεί να επηρεαστεί από διάφορους παράγοντες όπως ο τύπος της ελιάς, η γεωγραφική θέση, οι μέθοδοι καλλιέργειας που χρησιμοποιούνται, το επίπεδο ωριμότητας των ελιών κατά τη συγκομιδή, η μέθοδος εξαγωγής και οι συνθήκες αποθήκευσης (Romero et al., 2015). Οι ερευνητές ανακάλυψαν ότι το προφίλ λιπαρών οξέων του ελαίου μπορεί να χρησιμοποιηθεί για τον προσδιορισμό της προέλευσης και της αυθεντικότητάς του (Bajoub et al. (2015).

1.6. Διαδικασία παραγωγής ελαιολάδου

Το ελαιόλαδο είναι μοναδικό μεταξύ των φυτικών ελαίων επειδή εξάγεται μηχανικά και όχι μέσω χημικών διεργασιών (Angerosa et al., 2006). Σύμφωνα με την ελληνική νομοθεσία, μόνο το λάδι που λαμβάνεται από ελιές μπορεί να θεωρηθεί γνήσιο ελαιόλαδο, ενώ τα λάδια που λαμβάνονται με διαλύτες ή άλλες μεθόδους ή αναμειγνύονται με άλλα έλαια δεν πληρούν τις προϋποθέσεις. Αυτός ο ορισμός διασφαλίζει την καθαρότητα και την ποιότητα του ελαιολάδου

για τους καταναλωτές (ΕΦΕΤ, 2015). Το ελαιόλαδο και το πυρηνέλαιο μπορούν να κατηγοριοποιηθούν σε διαφορετικές ομάδες και τύπους. Αυτά περιλαμβάνουν το παρθένο ελαιόλαδο, το ελαιόλαδο που είναι συνδυασμός εξευγενισμένων ελαιόλαδων και παρθένων ελαιόλαδων και το πυρηνέλαιο. Το παρθένο ελαιόλαδο υποδιαιρείται περαιτέρω σε τρεις τύπους, δηλαδή έξτρα παρθένο, παρθένο και λαμπάντε, οι οποίοι προσδιορίζονται με βάση συγκεκριμένες ποιοτικές παραμέτρους όπως η ελεύθερη οξύτητα, ο δείκτης υπεροξειδίου και ο ειδικός συντελεστής εξαφάνισης στο υπεριώδες φάσμα (ΕΦΕΤ, 2015).

Η παραγωγή του ελαιολάδου περιλαμβάνει μια σειρά από στάδια που κυμαίνονται από τη συγκομιδή της ελιάς έως την αποθήκευση του λαδιού. Το σχήμα 3 απεικονίζει τις βασικές φάσεις που εμπλέκονται στη βιομηχανική διαδικασία παραγωγής διαφόρων τύπων ελαιολάδου. Το διάγραμμα δείχνει ότι υπάρχουν ορισμένα βήματα όπου τα έλαια μπορεί να αναμειχθούν μεταξύ τους, όπως υποδεικνύεται από τα διακεκομμένα βέλη, πριν φτάσουν στο τελικό προϊόν.



Εικόνα 3. Διαδικασία παραγωγής ελαιολάδου

Μόλις συγκομιστούν οι ελιές, πρέπει να μεταφερθούν από το χωράφι στο ελαιοτριβείο σε αεριζόμενα κουτιά, είτε χειροκίνητα είτε μηχανικά. Είναι ζωτικής σημασίας η επεξεργασία των ελιών το συντομότερο δυνατό, συνήθως εντός 24 ωρών από τη συγκομιδή, για να

ελαχιστοποιηθεί η οξείδωση και η εμφάνιση βιοχημικών αντιδράσεων. Οι ελιές επιλέγονται προσεκτικά ως προς την ποιότητα, πλένονται σε τρεχούμενο νερό και ζυγίζονται πριν θρυμματιστούν και πολτοποιηθούν (Souilem et al., 2017).. Η διαδικασία σύνθλιψης, η οποία περιλαμβάνει τη χρήση μηχανικών θραυστήρων, χρησιμοποιείται για τη διάσπαση των ιστών των φρούτων και την εξαγωγή του ελαίου που είναι αποθηκευμένο στα κύτταρα.

Μετά τη διαδικασία σύνθλιψης, το επόμενο βήμα ονομάζεται μάλαξη. Αυτό περιλαμβάνει την αργή ανάδευση της πάστας ελιάς για να βελτιωθεί το αποτέλεσμα σύνθλιψης και να δημιουργηθεί μια ομοιόμορφη πάστα. Επιπλέον, ο στόχος είναι να διαχωριστούν τα συστατικά του λαδιού και του νερού έτσι ώστε τα σταγονίδια λαδιού να μπορούν να συγχωνευθούν και να σχηματίσουν μεγαλύτερες σταγόνες. Αυτό το σημαντικό στάδιο εκτελείται χρησιμοποιώντας κυλινδρικούς αναμικτήρες γνωστούς ως θερμομίκτες, οι οποίοι έχουν λεπίδες που περιστρέφουν και ανακατεύουν την πάστα με τρόπο παρόμοιο με το ψαλίδι που την κόβει. Η θερμοκρασία και η διάρκεια του σταδίου ζύμωσης επηρεάζουν σε μεγάλο βαθμό την ποιότητα και τη σύνθεση του λαδιού που προκύπτει, καθιστώντας το ένα κρίσιμο μέρος της διαδικασίας (Kapellakis et al., 2007). Αφού περάσουν από τις προαναφερθείσες διαδικασίες, η πάστα ελιάς χωρίζεται σε έναν συμπαγή πυρήνα και έναν υγρό ελαιώδη μούστο που αποτελείται από λάδι και νερό. Ο απώτερος στόχος των επόμενων σταδίων της διαδικασίας εκχύλισης είναι ο αποτελεσματικός και αποδοτικός διαχωρισμός αυτών των φάσεων, με στόχο την επίτευξη της μέγιστης δυνατής ανάκτησης του ελαιώδους κλάσματος (Bajoub, 2015). Η επίτευξη αυτού του διαχωρισμού είναι ζωτικής σημασίας για τη διασφάλιση της ποιότητας και της ποσότητας του τελικού προϊόντος, καθώς και για τη βελτιστοποίηση της χρήσης των πόρων και την ελαχιστοποίηση της σπατάλης. Ως εκ τούτου, χρησιμοποιούνται διάφορες τεχνικές και εξοπλισμός για τη διευκόλυνση της διαδικασίας διαχωρισμού, όπως η φυγοκέντρηση, η απόχυση και η διήθηση. Επιπλέον, παράγοντες όπως η θερμοκρασία, η πίεση και ο χρόνισμός παίζουν επίσης σημαντικό ρόλο στην απόδοση διαχωρισμού και στην ποιότητα του λαδιού που λαμβάνεται. Συνολικά, ο επιτυχής διαχωρισμός του στερεού και του υγρού κλάσματος είναι μια κρίσιμη πτυχή της παραγωγής ελαιολάδου και απαιτεί ιδιαίτερη προσοχή και εξειδικευμένη εφαρμογή (Bajoub, 2015).

Οι φυγόκεντροι διαχωριστές χρησιμοποιούνται συνήθως στις αγροβιομηχανίες για τον διαχωρισμό μειγμάτων που περιέχουν στερεά και υγρά. Αυτοί οι διαχωριστές χρησιμοποιούν υψηλές φυγόκεντρες δυνάμεις για να διαχωρίσουν τα στερεά σωματίδια από το ελαιώδη μεταφορέα που περιστρέφεται συνεχώς για να εκκενώσει τα στερεά σωματίδια ενώ η υγρή

φάση(ες) ρέει κατά μήκος του ίδιου μεταφορέα. Οι φυγόκεντροι διαχωριστές είναι η πιο σύγχρονη και ευρέως χρησιμοποιούμενη μέθοδος διαχωρισμού φάσεων σύμφωνα με τον Bajoub (2015).

Η διαφορά μεταξύ διφασικών και τριφασικών συστημάτων διαχωριστή έγκειται στις απαιτήσεις τους σε νερό κατά τη διαδικασία εξαγωγής. Ένα σύστημα θεωρείται τριφασικό όταν προστίθεται νερό στην πάστα για να διευκολυνθεί η εκχύλιση, ενώ μια διφασική διαδικασία περιλαμβάνει φυγοκέντρωση λαδιού χωρίς προσθήκη νερού. Σε ένα συνεχές τριφασικό σύστημα παράγονται τρία προϊόντα: λάδι, romace και λύματα. Ωστόσο, το κλάσμα ελαίου που λαμβάνεται εξακολουθεί να περιέχει σταγονίδια νερού και αδιάλυτα στερεά, επομένως πρέπει να υποβληθεί σε κατακόρυφη φυγοκέντρωση για να διαχωριστεί και να καθαριστεί το λάδι. Αυτή η διαδικασία δημιουργεί σημαντική ποσότητα λυμάτων. Ενώ το διφασικό σύστημα παράγει δύο τελικά ρεύματα (έλαιο και ελαιοπυρήνας), τα λύματα εξακολουθούν να απομακρύνονται μαζί με το στερεό μέρος. (Sánchez Moral & Ruiz Méndez, 2006).

Το τελευταίο βήμα στην παραγωγή ελαιολάδου είναι η διήθηση. Αυτό γίνεται για να αφαιρεθούν τυχόν στερεά σωματίδια και υγρασία πριν το λάδι εμφιαλωθεί και αποθηκευτεί. Η διαδικασία διήθησης μπορεί να περιλαμβάνει τη χρήση γης διατόμων ή κυτταρίνης. Είναι σημαντικό να αποτραπεί η οξείδωση του λαδιού, καθώς αυτή μπορεί να ξεκινήσει κατά την επεξεργασία και να επιταχυνθεί κατά την αποθήκευση από παράγοντες όπως ο αέρας, η θερμότητα, το φως και τα μέταλλα. Για να αποφευχθεί η οξείδωση, είναι καλύτερο να αποθηκεύετε το ελαιολάδο σε δοχεία που δεν εκτίθενται στο φως ή στο οξυγόνο και να το διατηρείτε σε θερμοκρασία περίπου 15-18°C. Αυτό θα βοηθήσει στη διατήρηση της ποιότητας του λαδιού με την πάροδο του χρόνου (Bajoub, 2015).

Η διαδικασία εξαγωγής του ελαιολάδου έχει ως αποτέλεσμα δύο τύπους υπολειμμάτων: το υδατικό υπόλειμμα, που αποτελείται από νερό που χρησιμοποιείται για την εκχύλιση μαζί με το νερό που υπάρχει στις ελιές και χρησιμοποιείται για το πλύσιμο τους, και το στερεό υπόλειμμα πυρηνελαίου, που αποτελείται από θρυμματισμένο πολτό και επικάρπιο, μέρη πυρήνα και νερό. Οι βιομηχανίες που εξάγουν ελαιολάδο διερευνούν εναλλακτικούς τρόπους χρήσης αυτών των υπολειμμάτων, όπως η κομποστοποίηση, η χρήση τους ως ορυκτά λιπάσματα ή ζιζανιοκτόνα, η διατροφή τους σε ζώα, η αξιοποίησή τους για παραγωγή ενέργειας ή η χρήση τους σε εφαρμογές τροφίμων (Medeiros et al. το 2016).

Το ελαιόλαδο εκτιμάται ιδιαίτερα στην αγορά λόγω των μοναδικών αισθητηριακών του χαρακτηριστικών και της υψηλής συγκέντρωσης αντιοξειδωτικών ενώσεων. Ωστόσο, το κόστος των διαδικασιών καλλιέργειας, συγκομιδής και εκχύλισης το καθιστά ευάλωτο σε νοθεία με φθηνότερα φυτικά έλαια μικρότερης εμπορικής αξίας. Αυτός ο τύπος απάτης προκαλεί μεγάλη ανησυχία τόσο για τη βιομηχανία όσο και για την υγεία των καταναλωτών, καθώς μπορεί να θέσει σε κίνδυνο την ποιότητα και την ασφάλεια των προϊόντων ελαιολάδου. Ως εκ τούτου, είναι σημαντικό να εφαρμόζονται αυστηρά μέτρα ποιοτικού ελέγχου για την πρόληψη και τον εντοπισμό νοθείας του ελαιολάδου (Vlachos et al., 2006).

1.7. Ποιοτικές παράμετροι ελαιολάδου

Η ελληνική νομοθεσία έχει εφαρμόσει κριτήρια ποιότητας για το ελαιόλαδο σύμφωνα με τα καθιερωμένα παγκόσμια εμπορικά πρότυπα και τυποποιημένες μεθόδους του Διεθνούς Συμβουλίου Ελαιολάδου (IOC), του Συμβουλίου της Ευρωπαϊκής Ένωσης και της Επιτροπής Codex Alimentarius, για τον έλεγχο ταυτότητας και τον εντοπισμό της νοθείας για την προστασία της αγοράς, του καταναλωτή και την καθιέρωση δίκαιου εμπορίου (ΕΦΕΤ, 2015). Το Διεθνές Συμβούλιο Ελαιολάδου (IOC) είναι ένας παγκόσμιος οργανισμός υπεύθυνος για την επίβλεψη της παραγωγής και πώλησης ελαιολάδου, διασφαλίζοντας ότι πληροί ορισμένα πρότυπα ποιότητας και είναι αυθεντικό. Η ΔΟΕ χρησιμοποιεί έναν αριθμό μεθόδων για τον εντοπισμό τυχόν προσπαθειών νοθείας ή υποκατάστασης του ελαιολάδου, συμπεριλαμβανομένης της αισθητηριακής αξιολόγησης, της χρωματογραφίας, της φασματομετρίας μάζας και του πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού. Αυτές οι τεχνικές χρησιμοποιούνται παραδοσιακά για τον εντοπισμό τυχόν πιθανών προβλημάτων με τα βρώσιμα έλαια, προκειμένου να διατηρηθούν τα υψηλότερα δυνατά πρότυπα ποιότητας και γνησιότητας (IOC, 2013).

Κατά την αξιολόγηση της ποιότητας του ελαιολάδου, υπάρχουν αρκετοί παράγοντες που πρέπει να ληφθούν υπόψη. Αυτά περιλαμβάνουν τα επίπεδα οξύτητας, την οξείδωση, το χρώμα και τα αισθητηριακά χαρακτηριστικά όπως το άρωμα και η γεύση. Είναι σημαντικό να ληφθούν υπόψη όλοι αυτοί οι παράγοντες προκειμένου να αξιολογηθεί με ακρίβεια η ποιότητα του λαδιού. Κάθε κριτήριο μετρά μια διαφορετική πτυχή του λαδιού, όπως η υδρόλυση ή η οξείδωση. Επομένως, μια ολοκληρωμένη αξιολόγηση πρέπει να λάβει υπόψη όλους αυτούς τους παράγοντες (Κυριτσάκης, 2007). Ο Cucurachi (1975) προτείνει ότι ο πιο αποτελεσματικός τρόπος αξιολόγησης του ελαιολάδου είναι ο έλεγχος των αισθητηριακών του χαρακτηριστικών. Τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά εξαρτώνται τόσο από τη σύστασή του

όταν ακόμα βρίσκεται στον ελαιόκαρπο, όσο και από τις διάφορες αλλοιώσεις τις οποίες υφίσταται στα στάδια που μεσολαβούν από τον σχηματισμό του στον καρπό μέχρι την κατανάλωση.

Η αξιολόγηση των ελαιόλαδων ως προς τη γνησιότητα και την ποιότητά τους μπορεί να πραγματοποιηθεί με ανάλυση διαφόρων παραμέτρων, όπως η ελεύθερη οξύτητα, ο δείκτης υπεροξειδίου, οι ειδικοί συντελεστές απόσβεσης και η σύνθεση λιπαρών οξέων, στερολών, στιγμασταδιενίων και κεριών. Αυτοί οι παράγοντες μπορούν να επηρεαστούν από διάφορους παράγοντες όπως η διαδικασία ωρίμανσης, οι συνθήκες αποθήκευσης, η ενζυματική δραστηριότητα, η ποιότητα της ελιάς, το σύστημα παραγωγής ελαιόλαδου, ο βαθμός εξευγενισμού και η καθαρότητα (da Silva et al., 2012). Το επίπεδο οξύτητας των ελαιόλαδων καθορίζεται από τη δράση των λιπασών που αποσυνθέτουν τις τριακυλογλυκερίνες, απελευθερώνοντας λιπαρά οξέα. Ο δείκτης υπεροξειδίου είναι ένας δείκτης του βαθμού οξείδωσης του ελαίου, ο οποίος αυξάνεται καθώς τα ακόρεστα και τα ελεύθερα λιπαρά οξέα αντιδρούν με το οξυγόνο. Οι συγκεκριμένοι συντελεστές απόσβεσης βοηθούν στον προσδιορισμό του εάν το προϊόν προέρχεται από πρώτες ύλες υψηλής ποιότητας και εάν εφαρμόστηκαν οι κατάλληλες συνθήκες επεξεργασίας. Αυτή η ανάλυση επιβεβαιώνει την παρουσία ενώσεων καρβονυλίου (που σχηματίζονται κατά το στάδιο δευτερογενούς οξείδωσης) και συζευγμένων τριενίων (που σχηματίζονται κατά το στάδιο διαύγασης με οξείδωση και αφυδάτωση εποξειδίων που παράγονται από ακόρεστα λιπαρά οξέα).

Στον Πίνακα 3 παρουσιάζονται τα κριτήρια ποιότητας σύμφωνα με τον κανονισμό 2568/91 της ΕΕ και το εμπορικό πρότυπο του ΔΣΕ

Πίνακας 3. Κριτήρια ποιότητας σύμφωνα με τον κανονισμό 2568/91 της Ευρωπαϊκής Ένωσης και το εμπορικό πρότυπο του Διεθνούς Συμβουλίου Ελαιολάδου. Πηγή: Κυριτσάκης, 2007

Κατηγορία	οξύτητα	K ₂₇₀	K ₂₃₂	ΔΚ	Αριθμός Υπεροξειδίων	Οργανοληπτική Αξιολόγηση	
						Ενδιάμεση Τιμή (Me) φρουτώδους	Ενδιάμεση Τιμή (Me) ελαττωμάτων
Εξαιρετικό	≤0,8	≤0,22	≤2,50	≤0,01	≤20	>0	=0
Παρθένο	≤2,0	≤0,25	≤2,50	≤0,01	≤20	>0	≤2,5
Κοινό	≤3,3	≤0,25	≤2,60	≤0,01	≤20	0	>2,5 ≤6,0
Μειονεκτικό	>2 (ή >3,3)		-	-			>6,0
Ραφινρισμένο	≤0,3	≤1,10	-	≤0,16	≤5		
Ελαιόλαδο	≤1,0	≤0,90	-	≤0,15	≤15		

Το χρώμα του ελαιολάδου αποτελεί χαρακτηριστικό δείκτη ποιότητας. Διαφέρει συνήθως από ελαιόλαδο σε ελαιόλαδο και πολλές φορές επηρεάζει τις επιλογές του καταναλωτικού κοινού. Το είδος των χρωστικών ουσιών (χλωροφύλλες, φαιοφυτίνες, καροτίνες κλπ) Οι οποίες επικρατούν στον ελαιόκαρπο στο στάδιο της συγκομιδής, καθορίζει βασικά το χρώμα του ελαιολάδου το οποίο παραλαμβάνεται. Τέλος ο έλεγχος των οργανοληπτικών χαρακτηριστικών άρωμα και γεύση του ελαιολάδου αποτελεί χωρίς αμφιβολία το βασικότερο κριτήριο ποιοτικής αξιολόγησης. Με κριτήριο τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά οι Frezotti & Manni (1956) διαφοροποίησαν τα ελαιόλαδα στις εξής κατηγορίες αγουρέλαια πικρά ελαιόλαδα φρουτώδη ελαιόλαδα με καλή γεύση και ελαττωματικά (Κυριτσάκης, 2007).

Κεφάλαιο 2^ο Ποιότητα, Ασφάλεια, Αυθεντικότητα και Νόθεια Ελαιολάδου

2.1. Εισαγωγή

Το εξαιρετικό παρθένο ελαιόλαδο (EVOO) είναι ένα είδος ελαιολάδου που εκτιμάται ιδιαίτερα για την εξαιρετική του ποιότητα και είναι γνωστό για τις αισθητηριακές και διατροφικές του ιδιότητες. Γίνεται ολοένα και πιο δημοφιλές σε περιοχές πέρα από τη Μεσόγειο, όπου παραδοσιακά καταναλώνεται ως κύρια πηγή διατροφικού λίπους (Flori et al., 2019). Το κύριο συστατικό του EVOO είναι τα τριγλυκερίδια (TAG), τα οποία αποτελούν περίπου το 98% της σύνθεσής του. Αυτά τα τριγλυκερίδια αποτελούνται κυρίως από μονοακόρεστα λιπαρά οξέα (MUFA) (80%), με το ελαϊκό οξύ (C18:1) να είναι το πιο διαδεδομένο. Αυτός ο τύπος λιπαρού οξέος, όπως το ελαϊκό οξύ (C18:1), είναι υπεύθυνος για τις μοναδικές φυσικές και χημικές ιδιότητες που κάνουν το EVOO τόσο επιθυμητό (Jimenez-Lopez et al., 2020). Η μικρή ποσότητα του εναπομείναντος ασαπωνοποιησίμου κλάσματος, που αποτελεί μόνο το 1-2%, περιέχει διάφορες ενώσεις που έχει αποδειχθεί ότι έχουν θετικές επιδράσεις στην υγεία, όπως φαινολικές ενώσεις και τριτερπενικά οξέα (Criado-Navarro et al., 2021). Το EVOO είναι γνωστό για την υψηλή θρεπτική του αξία λόγω της αφθονίας των αντιοξειδωτικών και αντιφλεγμονωδών φαινολικών ενώσεων, καθώς και του προφίλ του σε λιπαρά οξέα. Αυτές οι ιδιότητες συνδέονται με μια σειρά από οφέλη για την υγεία, συμπεριλαμβανομένης της μείωσης του κινδύνου καρδιαγγειακών παθήσεων, καρκίνου, νευροεκφυλιστικών διαταραχών και διαβήτη (Castro- Barquero et al., 2020).

Ενώ η διαδικασία παραγωγής του έξτρα παρθένου ελαιολάδου (EVOO) παραμένει συνεπής, υπάρχουν πολλές μεταβλητές που μπορούν να επηρεάσουν τη σύνθεση και τα αισθητηριακά χαρακτηριστικά του τελικού προϊόντος. Παράγοντες όπως ο τύπος και η ωριμότητα των χρησιμοποιούμενων ελιών, οι περιβαλλοντικές συνθήκες και οι μέθοδοι που χρησιμοποιούνται κατά την επεξεργασία και την αποθήκευση μπορούν να παίξουν ρόλο στον καθορισμό των μοναδικών ιδιοτήτων ενός συγκεκριμένου μείγματος EVOO (López-Yerena et al., 2021). Ωστόσο, προκειμένου ένα ελαιόλαδο να ανήκει στην κατηγορία EVOO (αντί για παρθένο ελαιόλαδο ή ελαιόλαδο), πρέπει να πληρούνται ορισμένα κριτήρια (Jimenez-Lopez et al., 2020):

1. Η παραγωγή πρέπει να γίνεται αποκλειστικά με μηχανικές διαδικασίες.
2. Το μέγιστο επιτρεπόμενο επίπεδο ελεύθερου λιπαρού οξέος πρέπει να περιορίζεται στο 0,8% και να μην υπερβαίνει αυτό το όριο.

3. Το ελαιόλαδο πρέπει να στερείται ανεπιθύμητων αισθητηριακών ιδιοτήτων και να έχει διακριτά φρουτώδη χαρακτηριστικά.
4. Το εξαιρετικό παρθένο ελαιόλαδο (EVOO) πρέπει να έχει ορισμένες ιδιότητες που υποδεικνύουν τη γνησιότητα και την ποιότητά του. Αυτά περιλαμβάνουν χαμηλά επίπεδα υπεροξειδίου και ειδικές φασματοφωτομετρικές τιμές, όπως το K232 να είναι μικρότερο ή ίσο με 2,5, το K270 να είναι μικρότερο ή ίσο με 0,22 και το ΔK να είναι μικρότερο ή ίσο με 0,01. Αυτές οι ιδιότητες είναι σημαντικές για τη διασφάλιση ότι το EVOO δεν είναι μόνο αυθεντικό αλλά και υψηλής ποιότητας.

Παρόλο που η βιομηχανία ελαιόλαδου υπόκειται σε αυστηρούς κανονισμούς από την Ευρωπαϊκή Ένωση (Καν. (ΕΕΚ) 2568/91), και το Διεθνές Συμβούλιο Ελαιόλαδου, εξακολουθούν να υπάρχουν ελλείψεις στις αναλυτικές μεθόδους τους (Conte et al., 2020). Παρά τις προσπάθειες διασφάλισης ποιότητας και συνέπειας, υπάρχει περιθώριο βελτίωσης στην αξιολόγηση και ανάλυση του ελαιόλαδου. Ο έλεγχος ταυτότητας των τροφίμων και ο εντοπισμός νοθείας αποτελούν ανησυχίες σε όλη την εξέλιξη των βιομηχανιών τροφίμων (Perez et al., 2020) και η παραγωγή EVOO δεν αποτελεί εξαίρεση (González-Domínguez et al., 2019). Καθώς οι αλυσίδες παραγωγής τροφίμων γίνονται πιο περίπλοκες, είναι ζωτικής σημασίας να εφαρμοστούν εκτεταμένα μέτρα και στρατηγικές για την καταπολέμηση των δόλιων ενεργειών από παραγωγούς τροφίμων που στοχεύουν στην αύξηση των κερδών τους (Creydt & Fischer, 2018). Η κλιμακούμενη πολυπλοκότητα της βιομηχανίας τροφίμων έχει καταστήσει ευκολότερο για τους παραγωγούς να επιδίδονται σε ανέντιμες πρακτικές για να μεγιστοποιήσουν τα οικονομικά τους κέρδη. Ως εκ τούτου, είναι επιτακτική ανάγκη να εφαρμοστούν πιο ολοκληρωμένα και αποτελεσματικά μέτρα για την πρόληψη και τον εντοπισμό της απάτης στα τρόφιμα. Τα μέτρα αυτά θα πρέπει να καλύπτουν όλες τις πτυχές της αλυσίδας παραγωγής τροφίμων, από την προμήθεια πρώτων υλών έως το τελικό προϊόν στα ράφια. Με αυτόν τον τρόπο, μπορούμε να προστατεύσουμε την ακεραιότητα των τροφίμων που καταναλώνουμε και να προστατεύσουμε την υγεία και την ευημερία των καταναλωτών.

2.2 Νοθεία, έλεγχος και ανιχνευσιμότητα του EVOO

2.2.1 Δόλιες δραστηριότητες στην παραγωγή EVOO

Το πρόβλημα των δόλιων δραστηριοτήτων στην παγκόσμια βιομηχανία τροφίμων γίνεται ολοένα και πιο ανησυχητικό. Αυτές οι δραστηριότητες περιλαμβάνουν διάφορες ανήθικες

πρακτικές όπως η αραίωση, η αντικατάσταση και η μη εξουσιοδοτημένη βελτίωση των προϊόντων διατροφής, η λανθασμένη επισήμανση και η λαθρεμπορία (Stadler et al., 2016). Το κύριο κίνητρο πίσω από αυτές τις δραστηριότητες είναι το οικονομικό κέρδος, αλλά ο αντίκτυπός τους δεν περιορίζεται μόνο σε ζητήματα νομιμότητας. Η απάτη στα τρόφιμα μπορεί να έχει αρνητικές συνέπειες για την υγεία των καταναλωτών. Ως εκ τούτου, είναι ζωτικής σημασίας να αντιμετωπιστεί αυτό το ζήτημα για να διασφαλιστεί η ασφάλεια και η αυθεντικότητα των προϊόντων διατροφής (Bansal et al., 2017). Μια ολοκληρωμένη εξέταση που αξιολόγησε την εξέλιξη της απάτης στα τρόφιμα για τρεις δεκαετίες, ξεκινώντας από το 1980 έως το 2010, ανακάλυψε ότι ο πιο συχνά αναφερόμενος τύπος τρόφιμου που έχει παραβιαστεί είναι το ελαιόλαδο (Moore et al., 2012). Δεδομένου ότι οι παραδοσιακές μεθοδολογίες για τον εντοπισμό τέτοιων νοθειών μέσω της αξιολόγησης της ποιότητας και της καθαρότητας έχουν ορισμένους περιορισμούς (Conte et al., 2020), πρέπει να αναπτυχθούν νέες αναλυτικές τεχνικές (Violino et al., 2021).

Οι πιο συχνά αναφερόμενες απάτες στην παραγωγή EVOO είναι: (i) η ανάμειξη του EVOO με λάδια χαμηλότερης ποιότητας που είναι φθηνότερα στην παραγωγή. (ii) η εσφαλμένη επισήμανση, για παράδειγμα, ο ψευδής ισχυρισμός ότι το εξευγενισμένο ελαιόλαδο είναι EVOO ή η απόκρυψη του πραγματικού τύπου προέλευσης· και (iii) απάτη στις τιμές, η οποία συνίσταται στη μείωση της τιμής του ελαιόλαδου για τεχνητή μείωση της αγοραίας αξίας (García Martínez, 2020). Η νοθεία μπορεί να γίνει με εξευγενισμένο ελαιόλαδο (García et al., 2013), εξευγενισμένο πυρηνέλαιο (Torrecilla et al., 2010), ελαιόλαδο lampante (Fragaki et al., 2005) και πυρηνέλαιο (Guimet et al., 2005). Πολλά άλλα φυτικά έλαια έχουν χρησιμοποιηθεί ως βρώσιμα έλαια, όπως το φουντούκι, η σόγια, το καλαμπόκι, η κανόλα και ο ηλιάνθος. Οι Arlorio et al. (2010) βρήκαν το φουντουκέλαιο ως μια επιλογή, ενώ οι Milanez et al. (2017) και οι Yildiz Tiryaki & Ayvaz (2017) διερεύνησαν τη χρήση του σογιέλαιου. Οι Jabeur et al. (2014) ερεύνησαν τις δυνατότητες τόσο του καλαμποκιού όσο και του ηλιέλαιου, ενώ οι Salivaras & McCurdy (1992) μελέτησαν τη χρήση του ελαίου canola.

Διάφορα στοιχεία του EVOO έχουν προταθεί ως πιθανοί δείκτες για τον εντοπισμό περιπτώσεων νοθείας, όπως η γηγενής χλωροφύλλη, οι διακυλογλυκερόλες, τα λιπαρά οξέα, οι εστέρες του κεριού, οι φαινολικές ενώσεις και οι στερόλες (Gómez-Coca et al., 2020).

2.2.2 Έλεγχος ταυτότητας

Η βιομηχανία τροφίμων αντιμετωπίζει μια αυξανόμενη ζήτηση από τους καταναλωτές για διασφάλιση της γνησιότητας και της ιχνηλασιμότητας των προϊόντων τους, και ως εκ τούτου,

η πιστοποίηση ποιότητας έχει γίνει κύριος στόχος. Για την αντιμετώπιση αυτού του ζητήματος, μια σειρά νόμων, κανονισμών και κατευθυντήριων γραμμών έχουν εισαχθεί από διάφορους εθνικούς και διεθνείς οργανισμούς (Conte et al., 2020).

Η ποιότητα του ελαιολάδου διέπεται από Τον Διεθνή Οργανισμό Ελαιόλαδου (IOC) καθώς και από την Ευρωπαϊκή Κοινότητα και την Επιτροπή Codex Alimentarius (Stadler et al., 2016), έναν οργανισμό που προτείνει διάφορες αναλυτικές μεθόδους ποιοτικής ανάλυσης του ελαιολάδου, όπως η αέρια χρωματογραφία (GC), η υγρή χρωματογραφία υψηλής απόδοσης (HPLC) και η βαρυμετρία, μεταξύ άλλων. Ο ευρωπαϊκός κανονισμός έχει τις ρίζες του σε ποικίλες πηγές, συμπεριλαμβανομένων των κανονισμών της ΔΟΕ και της Επιτροπής Codex Alimentarius, καθώς και των εθνικών κανονισμών. Ωστόσο, υπάρχουν ορισμένες χώρες που δεν έχουν ακόμη εσωτερικούς κανονισμούς για το EVOO, στην περίπτωση των Ηνωμένων Πολιτειών, ο Οργανισμός Τροφίμων και Φαρμάκων δεν έχει ακόμη κανονισμό που να ορίζει αυτό το προϊόν.

Για να ταξινομηθεί ως EVOO στην Ευρώπη, υπάρχει ένα σύνολο παραμέτρων που περιγράφονται στους κανονισμούς της ΕΕ 2568/91 (Ευρωπαϊκή Ένωση, 1991) και 1348/2013 (Ευρωπαϊκή Ένωση, 2013) που πρέπει να πληρούνται. Αυτοί οι κανονισμοί αξιολογούνται χρησιμοποιώντας χημικές και αισθητηριακές δοκιμές με βάση τις μεθόδους και τα πρότυπα της ΔΟΕ (Jimenez-Lopez et al., 2020). Τα κριτήρια ποιότητας που αξιολογούνται περιλαμβάνουν την ελεύθερη οξύτητα, τον δείκτη υπεροξειδίου, τους συντελεστές απορρόφησης υπεριώδους (K232, K270 και ΔΚ), τους αιθυλεστέρες λιπαρών οξέων και τα αισθητηριακά χαρακτηριστικά (Conte et al., 2020; Jimenez-Lopez et. al., 2020). Ο προσδιορισμός βασικών παραμέτρων ποιότητας στο EVOO, όπως λιπαρά οξέα, στερόλες, φωσφολιπίδια, τοκοφερόλες, φαινολικά μόρια και πτητικές ενώσεις μπορεί να είναι εξαιρετικά χρήσιμος για τον εντοπισμό τυχόν περιπτώσεων απάτης ή αυθεντικότητας στο λάδι. Αναλυτικές τεχνικές και μέθοδοι επεξεργασίας δεδομένων μπορούν να χρησιμοποιηθούν για τον προσδιορισμό της παρουσίας νοθευτών EVOO, όπως φαίνεται στον Πίνακα 4. Επομένως, αυτές οι παράμετροι διαδραματίζουν κρίσιμο ρόλο στη διασφάλιση της γνησιότητας και της εγκυρότητας των προϊόντων EVOO (Mikrou et al., 2020).

Πίνακας 4. Σύνοψη των σύγχρονων ή καινοτόμων αναλυτικών τεχνικών, ενώσεων βιοδεικτών και μεθόδων επεξεργασίας δεδομένων για την ανίχνευση νοθευτών ΕVOO

Μέθοδος	Προσδιορισμός	Νόθευμα	Αναφορά
Αέρια Χρωματογραφία με Ανίχνευτή Ιονισμού Φλόγας (GC – FID)	Σύνθεση λιπαρών οξέων	Γεωγραφικές ποικιλίες	Mikrou t al., 2020)
Αέρια Χρωματογραφία με Ανίχνευτή Ιονισμού Φλόγας (GC – FID)	Σύνθεση λιπαρών οξέων	Έλαια καλαμποκιού, ηλίανθου, σόγιας και κανόλας	Aykas et al., 2020)
Ανάλυση έγχυσης ροής - φασματομετρία μάζας υψηλής ανάλυσης με θερμαινόμενο ηλεκτροψεκασμό ιονισμού (FIA-HESI-HRMS)	Προφίλ τριακυλογλυκεριδίων	Φυτικά έλαια με υψηλή περιεκτικότητα σε λινολεϊκό και υψηλό ελαϊκό οξύ	Quintanilla-Casas et al., 2021)
Ανάλυση έγχυσης ροής - φασματομετρία μάζας μαγνητικού συντονισμού (FIA-MRMS)	τριακυλογλυκερίδια, διακυλογλυκερίδια και ελεύθερα λιπαρά οξέα	Γεωγραφικές ποικιλίες	Nikou et al., 2020
Μετασχηματισμός Fourier κοντά σε υπέρυθρη φασματοσκοπία (FT-NIR)	Σύνθεση λιπαρών οξέων	Έλαια με υψηλή περιεκτικότητα σε λινολεϊκό ή ελαϊκό οξύ, φοινικολαΐνη και εξευγενισμένο ελαιόλαδο	Azizian et al., 2016
Φασματοσκοπία Raman (FT-Raman)	Σύνθεση λιπαρών οξέων	Γεωγραφική θέση, ποικιλία ελιάς, έτος συγκομιδής και ΠΟΠ	Sánchez-López et al., 2016
Φασματομετρία μάζας με λείζερ υποβοηθούμενο από μήτρα εκρόφηση/ιονισμός (MALDI-TOF-MS)	Φωσφολιπίδιο	Λάδι φουντουκιού	Calvano et al., 2012
Φασματοσκοπία φθορισμού (FL)	Τοκοφερόλες, φαινολικές ενώσεις και χλωροφύλλη	Έλαια καλαμποκιού, σόγιας,	Lia et al., 2018

Μέθοδος	Προσδιορισμός	Νόθευμα	Αναφορά
		λιναρόσπορου ή ηλιέλαιου	
Μήτρα φασματοσκοπίας φθορισμού εκπομπής διέγερσης (EEM-FL)	Τοκοφερόλες, τοκοτριενόλες, φαινολικές ενώσεις και προϊόν οξείδωσης	EVOO εναντίον VOO	Abamba Omwange et al., 2021
Βολταμετρική ανάλυση	Φαινολικές ενώσεις και τοκοφερόλη	Έλαια ηλιάνθου, σόγιας και καλαμποκιού	Tsopelas et al., 2018
Υγρή χρωματογραφία συζευγμένη με ανιχνευτή συστοιχίας διόδων (HPLC-DAD)	Φαινολικές ενώσεις	Διαφορετικές ποικιλίες, ηλιέλαιο και εξευγενισμένο ελαιόλαδο	Carranco et al., 2018
Αέρια Χρωματογραφία με Ανιχνευτή Ιονισμού Φλόγας, Υγρή χρωματογραφία-φασματοσκοπία φθορισμού υψηλής απόδοσης (HPLC-FL), Υγρή χρωματογραφία συζευγμένη με ανιχνευτή συστοιχίας Διόδων, φασματομετρίας μάζας ιονισμού ηλεκτροψεκασμού (HPLC-DAD-ESI/MS), Φασματοσκοπία υπεριώδους (UV)	Πτητικές ουσίες, πολικές φαινολικές ουσίες, αντιοξειδωτική δράση, σύνθεση λιπαρών οξέων και α-τοκοφερόλη	Χαμηλή τιμή έναντι υψηλής τιμής EVOO	Fiorini et al., 2018
Υγρή χρωματογραφία συζευγμένη με ανιχνευτή συστοιχίας Διόδων, φασματομετρίας μάζας ιονισμού ηλεκτροψεκασμού (HPLC-DAD)	Σκουαλένιο και τυροσόλη	Έλαια ηλιάνθου και σταφυλιού	Hayakawa et al., 2020
Φασματομετρία μάζας-σωλήνας ροής επιλεγμένων ιόντων (SIFT-MS)	Πτητικές ενώσεις	Καλαμπόκι, ηλιάνθος, ηλιάνθος με υψηλή περιεκτικότητα σε	Ozcan-Sinir, 2020

Μέθοδος	Προσδιορισμός	Νόθευμα	Αναφορά
		ελαϊκό οξύ και ελαιόλαδα	
Ορατή φασματοσκοπία κοντά στην υπέρυθρη φασματοσκοπία (vis-NIR)	Πτητικές ενώσεις και χρωστικές	Καλαμπόκι, ηλίανθος, ρύζι, φιστίκι, φουντούκι, παρθένο φύτρο σιταριού και παρθένο έλαιο αμύλου αραβοσίτου	Violino et al., 2021
αέρια χρωματογραφία φασματομετρία ιοντικής κινητικότητας (GC-IMS), flash αέρια χρωματογραφία με ηλεκτρονική μύτη (FGC E-nose)	Πτητικές ενώσεις	εξευγενισμένο ελαιόλαδο	Damiani et al., 2020
Μεσαία υπέρυθρη φασματοσκοπία (MidIR), Φασματοσκοπία υπεριώδους ορατή φασματοσκοπία (UV-vis), Φασματοσκοπία φθορισμού (FL)	Χρωστικές, φαινολικές ενώσεις, τοκοφερόλες, λιπαρά οξέα και προϊόντα οξειδωσης	Ηλικιωμένα EVOO	Uncu & Ozen, 2019

Η αυθεντικότητα των τροφίμων ή των ποτών μπορεί να εξακριβωθεί με την ακριβή αντιστοίχιση μεταξύ των χαρακτηριστικών, των ιδιοτήτων και της σύνθεσης του προϊόντος και της περιγραφής στην ετικέτα. Η Ευρωπαϊκή Ένωση παρακολουθεί στενά τη βιομηχανία ελαιολάδου, αλλά ο κίνδυνος αλλοίωσης του έξτρα παρθένου ελαιολάδου εξακολουθεί να είναι σημαντικός, κυρίως λόγω των οικονομικών ανταμοιβών και των πιο προηγμένων μεθόδων που χρησιμοποιούνται για τέτοιες δόλιες πρακτικές (Bansal et al. , 2017).

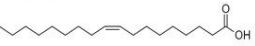







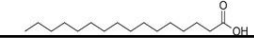
Η Ευρωπαϊκή Ένωση έχει εφαρμόσει διάφορους κανονισμούς για να διασφαλίσει τη συνεπή παραγωγή και εμπορία έξτρα παρθένου ελαιολάδου (EVOO), το οποίο είναι το πιο ευρέως παραγόμενο, εξαγόμενο και καταναλωτικό είδος ελαιολάδου στον κόσμο (Melucci et al., 2016). Ένας τέτοιος κανονισμός, ο κανονισμός της ΕΕ αριθ. 1019/02, καθορίζει τις απαιτήσεις για την επισήμανση και τη συσκευασία του EVOO. Αυτό γίνεται για να διασφαλιστεί ότι παρέχονται στους καταναλωτές ακριβείς πληροφορίες σχετικά με τη γνησιότητα του προϊόντος. Επιπλέον, οι ετικέτες EVOO αναμένεται να παρέχουν πληροφορίες για τα

αισθητηριακά χαρακτηριστικά του, όπως αν είναι ελαφρύ, μεσαίο ή έντονο. Αυτό βοηθά τους καταναλωτές να λάβουν μια τεκμηριωμένη απόφαση όταν αγοράζουν το EVOO.

2.3. Στοιχεία που προσδιορίζονται κατά τον έλεγχο νοθείας

2.3.1 Λιπαρά οξέα και παράγωγα γλυκεριδίων.

Τα λιπαρά οξέα (FA) βρίσκονται στο έλαιο με τη μορφή τριακυλογλυκερολών. Το κύριο συστατικό του είναι το ελαϊκό οξύ, ένα κυρίως μονοακόρεστο λιπαρό οξύ (MUFA) που αντιπροσωπεύει το 65–80% της περιεκτικότητας σε FA (Lozano-Castellón et al., 2022). Το ελαϊκό οξύ έχει βρεθεί ότι έχει θετικές επιδράσεις στην καρδιαγγειακή υγεία και ως μονοακόρεστο λιπαρό οξύ (MUFA) με έναν μόνο διπλό δεσμό, είναι πιο σταθερό από τα πολυακόρεστα λιπαρά οξέα (PUFAs). (Yubero-Serrano et al., 2019). Σε σύγκριση με άλλα φυτικά έλαια, όπως το ηλιέλαιο ή το φυσικέλαιο, το εξαιρετικά παρθένο ελαιόλαδο (EVOO) περιέχει υψηλότερη ποσότητα λινολεϊκού οξέος (Jimenez-Lopez et al., 2020). υτό το μοναδικό προφίλ λιπαρών οξέων κάνει το EVOO να ξεχωρίζει και μπορεί να χρησιμοποιηθεί για να ανιχνεύσει εάν έχει αναμειχθεί με άλλα έλαια. Το Σχήμα 4 απεικονίζει τις διαφορές στη σύνθεση λιπαρών οξέων του EVOO σε σύγκριση με άλλα βρώσιμα έλαια. Υπάρχουν και άλλα έλαια, όπως το λάδι canola, που περιέχουν επίσης υψηλή ποσότητα MUFA. Έχουν διεξαχθεί μελέτες για τη σύγκριση των προφίλ λιπαρών οξέων του EVOO και των κοινών χρησιμοποιούμενων ελαίων που χρησιμοποιούνται συχνά για τη νοθεία του, όπως το ηλιέλαιο, το καλαμπόκι, το φυστίκι, η καρύδα ή το λάδι canola (Aykas et al., 2020; Mikrou et al., 2020). Η αέρια χρωματογραφία (GC) σε συνδυασμό με τον ανιχνευτή ιονισμού φλόγας (FID) ή τη φασματομετρία μάζας (MS) είναι η παραδοσιακή μέθοδος που χρησιμοποιείται για την αξιολόγηση της περιεκτικότητας σε λιπίδια του EVOO. Ωστόσο, αυτή η μέθοδος απαιτεί προεπεξεργασία του δείγματος για να ληφθούν μεθυλεστέρες λιπαρών οξέων. Μια πρόσφατη μελέτη ανίχνευσε επιτυχώς αποσμημένο ελαιόλαδο στο EVOO αναλύοντας τις διακυλογλυκερόλες και τα ελεύθερα λιπαρά οξέα που υπάρχουν στο δείγμα (Gómez-Coca et al., 2020). Μια συγκριτική μελέτη που αναλύει τριγλυκερίδια με ιονισμό ηλεκτροψεκασμού MS (ESI-MS) και λιπαρά οξέα με Αέρια Χρωματογραφία με Ανιχνευτή Ιονισμού Φλόγας (GC-FID) κατέληξε στο συμπέρασμα ότι η φασματοσκοπική τεχνική ήταν ταχύτερη και πιο αποτελεσματική από τη χρωματογραφική μέθοδο. Η εφαρμογή αυτής της νέας προσέγγισης οδήγησε στον προσδιορισμό της 10-επταδεκαενοϊκής ελαΐνης ως δείκτη λιπιδίων για την παρουσία σογιέλαιου σε εξαιρετικό παρθένο ελαιόλαδο (da Silveira et al., 2017)

	EVOO	Sunflower oil	Rapeseed oil	Peanut oil	Palm oil	Hazelnut oil
Oleic acid 	 66.4 - 80.3	 25.8 - 34.0	 59.6 - 63.7	 41.1 - 71.1	 36 - 49.8	 78 - 82
Linoleic acid 	4.4 - 16.4	51.0 - 62.5	16.8 - 21.7	18.2 - 40.0	6.7 - 9.3	10.5 - 12.7
Palmitic acid 	5.0 - 16.5	5.6 - 11.0	4.0 - 5.5	7.5 - 11.6	34.2 - 45	4.6 - 7

Εικόνα 4. Ποσοστιαία κατανομή κύριων λιπαρών οξέων σε διάφορα φυτικά έλαια.

Τα τελευταία χρόνια, οι φασματοσκοπικές μέθοδοι έχουν γίνει δημοφιλείς για την ταυτοποίηση λιπαρών οξέων λόγω της αποτελεσματικότητάς τους και της έλλειψης ανάγκης για ένα στάδιο παραγωγοποίησης, καθιστώντας τις ταχύτερες από τις χρωματογραφικές μεθόδους. Ως αποτέλεσμα, ο Di Girolamo και οι συνεργάτες του (2015) ανέπτυξαν μια απλή προσέγγιση που χρησιμοποιεί φασματομετρία μάζας εκρόφησης/ιονισμού λέιζερ υποβοηθούμενη από μήτρα (MALDI-TOF MS) σε συνδυασμό με μη εποπτευόμενη ιεραρχική ομαδοποίηση (UHC), ανάλυση κύριου συστατικού (PCA) και Αναλύσεις συσχέτισης Pearson για τη διάκριση μεταξύ έξτρα παρθένου ελαιολάδου (EVOO) και νοθευμάτων αραβοσιτέλαιου. Μοντέλα ελέγχου ταυτότητας για την ανίχνευση φυτικών ελαίων υψηλού λινολεϊκού και υψηλού ελαϊκού σε EVOO αναπτύχθηκαν με βάση την ανάλυση έγχυσης ροής - φασματομετρία μάζας υψηλής ανάλυσης με θερμαινόμενο ηλεκτροσπαστικό ιονισμού (FIA-HESI-HRMS) σε συνδυασμό με ανάλυση μερικών ελαχίστων τετραγώνων (PLS) - ανάλυση διάκρισης (DA), το οποίο παρείχε προφίλ TAG δειγμάτων ελαιολάδου (Quintanilla-Casas et al., 2021).

Σε πρόσφατη μελέτη των Νίκου et al. (2020), το λιπιδικό προφίλ του εξαιρετικά παρθένου ελαιολάδου (EVOO) αναλύθηκε χρησιμοποιώντας μια μη στοχευμένη μεταβολική προσέγγιση. Η μέθοδος περιλάμβανε ανάλυση έγχυσης ροής-φασματομετρία μάζας μαγνητικού συντονισμού (FIA-MRMS) και χημειομετρία. Τα αποτελέσματα της ανάλυσης ήταν επιτυχή στον χαρακτηρισμό του λιπιδικού προφίλ του EVOO. Επιπλέον, η φασματοσκοπία μετασχηματισμού Fourier κοντά στο υπέρυθρο (FT-NIR) σε συνδυασμό με χημειομετρικά εργαλεία όπως η ανάλυση μερικών ελαχίστων τετραγώνων (PLS) μπόρεσε να ανιχνεύσει νοθευτές (δηλαδή, βρώσιμα έλαια με υψηλή περιεκτικότητα σε 16:0 [φοινικέλαιο], 18:1n-9 [φοινικέλαιο, έλαια φουντουκιού, canola, ηλίανθου και καρθάκου], 18:2n-6 [σογιέλαιο, ηλιέλαιο ή καλαμποκέλαιο] και εξευγενισμένο ελαιόλαδο) στο EVOO (Azizian et

al., 2016). Η FT-Raman, μια τεχνική δόνησης, χρησιμοποιήθηκε σε συνδυασμό με χημειομετρικά για την αποτελεσματική ταξινόμηση δειγμάτων έξτρα παρθένου ελαιολάδου (EVOO) με βάση το έτος συγκομιδής, την ποικιλία ελιάς, τη γεωγραφική προέλευση και την προστατευόμενη ονομασία προέλευσης (ΠΟΠ). Επιπλέον, μπόρεσε να ανιχνεύσει περιπτώσεις νοθείας με ηλίανθο ή μαγειρικά απόβλητα ελαιολάδου, τα οποία μπορούν να αποδοθούν στα διαφορετικά επίπεδα ακόρεστου που υπάρχουν στα λιπαρά οξέα (Sánchez-López et al., 2016).

Εν κατακλείδι, η χρήση αναλυτικών μεθόδων όπως η φασματοσκοπία NIR και Raman αναμένεται να αυξηθεί σε σημαντικό βαθμό και να αντικαταστήσει τις συμβατικές χρωματογραφικές τεχνικές για τον εντοπισμό των νοθευτών με την ανάλυση των λιπαρών οξέων. Αυτές οι τεχνικές προσφέρουν γρήγορα αποτελέσματα και έχουν το πρόσθετο πλεονέκτημα της ευκολότερης προετοιμασίας δειγμάτων για ανάλυση, ελαχιστοποιώντας έτσι τον χρόνο που αφιερώνεται στην ανάλυση.

2.3.2 Φωσφολιπίδια

Οι ελιές και το ελαιόλαδο είναι γνωστό ότι περιέχουν μια σειρά από φωσφολιπίδια σε μικρές ποσότητες (Alves et al., 2005). Ενώ η συγκέντρωση αυτών των φωσφολιπιδίων είναι χαμηλότερη στο έξτρα παρθένο ελαιόλαδο σε σύγκριση με άλλα φυτικά έλαια, μπορούν ακόμα να χρησιμοποιηθούν για τη δημιουργία ενός μοναδικού «δαχτυλικού αποτυπώματος» για έρευνα ιχνηλασιμότητας και γνησιότητας (Antonelli et al., 2020). Αυτό σημαίνει ότι η ανάλυση του προφίλ των φωσφολιπιδίων στο ελαιόλαδο μπορεί να βοηθήσει στη διασφάλιση της αυθεντικότητας και της προέλευσής του (Alves et al., 2018).

Μια μέθοδος για την ανάλυση των φωσφολιπιδίων στο ελαιόλαδο αναπτύχθηκε χρησιμοποιώντας ένα ιοντικό υγρό τόσο ως μήτρα όσο και ως διαλύτη εκχύλισης. Αυτή η προσέγγιση ήταν σε θέση να ανιχνεύσει ακόμη και μικρά επίπεδα μόλυνσης από φουντούκια στο λάδι, με ευαισθησία έως και 1%. Η αύξηση των σημάτων φωσφολιπιδίων ήταν ο βασικός δείκτης της παρουσίας φουντουκιού (Calvano et al., 2012). . Ομοίως, μια άλλη μελέτη χρησιμοποίησε επίσης ανάλυση φωσφολιπιδίων με MALDI-TOF-MS για να προσδιορίσει τον τύπο του λαδιού και να εντοπίσει χαμηλά επίπεδα καλαμποκιού στο EVOO, έως και 0,5%. Αυτά τα ευρήματα υπογραμμίζουν τις δυνατότητες αυτής της τεχνικής για τον εντοπισμό και τον ποσοτικό προσδιορισμό της νοθείας στο ελαιόλαδο (Di Girolamo et al. , 2015).

2.3.3. Τοκοφερόλες

Οι τοκοφερόλες είναι μια ομάδα ενώσεων που κατηγοριοποιούνται σε τέσσερις διαφορετικές μορφές, δηλαδή α-, β-, γ- και δ-τοκοφερόλη (Ergönül & Köseoğlu, 2014). Αυτές οι ενώσεις βρίσκονται συνήθως στους ελαιούχους σπόρους. Ωστόσο, στο Εξαιρετικό Παρθένο Ελαιόλαδο (EVOO), έχουν ανακαλυφθεί μόνο α-, β- και γ-τοκοφερόλες. Μεταξύ αυτών, η α-τοκοφερόλη είναι η πιο κυρίαρχη, που αποτελεί πάνω από το 95% της συνολικής περιεκτικότητας σε τοκοφερόλη (Beltrán et al., 2010). Η ποσότητα και η σύνθεση της τοκοφερόλης στο ελαιόλαδο επηρεάζεται από διάφορους παράγοντες που σχετίζονται με την καλλιέργεια, όπως ο τύπος της ελιάς, το στάδιο ωρίμανσης κατά τη συγκομιδή και το τοπικό κλίμα (Beltrán et al., 2010). Για να αποτρέψουν δόλιες πρακτικές στη βιομηχανία ελαιολάδου, οι ερευνητές έχουν διερευνήσει το προφίλ της τοκοφερόλης ως πιθανό δείκτη νοθείας, λόγω της ικανότητάς της να ανιχνεύει δόλιες πρακτικές με υψηλό βαθμό ακρίβειας, ευαισθησίας και επιλεκτικότητας.

Το επίπεδο των τοκοφερολών που υπάρχουν στο EVOO μπορεί να μεταβληθεί όταν αναμειγνύεται με άλλα φυτικά έλαια, όπως ελαιόλαδα χαμηλότερης ποιότητας (Omwange et al., 2021). Αυτή η αλλαγή μπορεί είτε να οδηγήσει σε αύξηση είτε σε μείωση της συγκέντρωσης της τοκοφερόλης ανάλογα με τον τύπο του λαδιού που χρησιμοποιείται για νόθευση. Για παράδειγμα, όταν το EVOO είναι μολυσμένο με ηλιέλαιο, η συγκέντρωση της τοκοφερόλης μπορεί να αυξηθεί, όπως αναφέρεται από τους Lia et al. (2018). Αντίθετα, όταν νοθεύεται με ελαιόλαδο, η συγκέντρωση της τοκοφερόλης μπορεί να μειωθεί, σύμφωνα με τους Merás et al. (2018). Σε μια μελέτη που διεξήχθη από τους Lia et al. (2018), η αραίωση του μαλτέζικου EVOO με διάφορα φυτικά έλαια (όπως καλαμπόκι, σόγια, λιναρόσπορος και ηλιάνθος) αναγνωρίστηκε χρησιμοποιώντας φασματομετρία φθορισμού σε συνδυασμό με ανάλυση κύριου συστατικού (PCA), παλινδρόμηση μερικών ελαχίστων τετραγώνων (PLSR) και τεχνητό νευρικό δίκτυο. Αυτές οι μέθοδοι έχουν αποδειχθεί αποτελεσματικές στον εντοπισμό νοθευμένων ελαίων και στη διασφάλιση της γνησιότητας του EVOO. Η φασματοσκοπία φθορισμού μπροστινής όψης και η απεικόνιση φθορισμού που προκαλείται από την υπεριώδη ακτινοβολία έχουν χρησιμοποιηθεί για τη διάκριση μεταξύ καθαρού έξτρα παρθένου ελαιόλαδου (EVOO) και νοθευμένων ελαίων. Αυτό επιτυγχάνεται μέσω της αναγνώρισης μιας συγκεκριμένης περιοχής μητρών εκπομπής διέγερσης (μεταξύ 300 και 600 nm), η οποία αντιστοιχεί σε τοκοφερόλες, τοκοτριενόλες, ενώσεις E, βιταμίνες και προϊόντα οξειδωσιών. Πρόσφατη έρευνα που έγινε από τους Omwange et al. (2021) έχει αποδείξει την αποτελεσματικότητα αυτής της μεθόδου. Επιπλέον, οι Chen et al. (2011) διεξήγαγαν μια μελέτη στην οποία αξιολογήθηκε η αυθεντικότητα του EVOO χρησιμοποιώντας την αναλογία

α/β τοκοφερόλης και την παρουσία δ-τοκοφερόλης για την ανίχνευση της δόλιας προσθήκης ελαίων από άλλες πηγές. Αυτή η μέθοδος έχει αποδειχθεί αξιόπιστο εργαλείο για τον εντοπισμό νοθευμένων ελαίων και τη διασφάλιση της ποιότητας και της καθαρότητας του EVOO.

Οι τοκοφερόλες είναι γνωστές για τις αντιοξειδωτικές τους ιδιότητες που τις καθιστούν ανιχνεύσιμες μέσω ηλεκτροαναλυτικών μεθόδων (Tsopelas et al., 2018). Το βολταμετρικό δακτυλικό αποτύπωμα του EVOO μπορεί να αποκαλύψει αλλαγές στη συγκέντρωση ηλεκτρενεργών ενώσεων όπως οι τοκοφερόλες. Με τη χρήση βολταμετρικών δακτυλικών αποτυπωμάτων, μπορούν να αποκαλυφθούν αλλαγές στη συγκέντρωση τοκοφερολών και άλλων ηλεκτρενεργών ενώσεων στο EVOO. Επιπλέον, οι Apetrei & Apetrei (2014) διαπίστωσαν ότι μια ηλεκτρονική γλώσσα που χρησιμοποιεί βολταμετρία ήταν σε θέση να ανιχνεύσει με επιτυχία νοθείες στο ελαιόλαδο που περιείχε λιγότερο από 10% έλαια ηλιανθου, σόγιας και καλαμποκιού. Σε ξεχωριστή μελέτη, οι Tsopelas et al. (2018) έδειξαν ότι το βολταμετρικό δακτυλικό αποτύπωμα σε συνδυασμό με το PLS-DA θα μπορούσε να διαφοροποιήσει με ακρίβεια τα ελαιόλαδα (εξαιρετικά παρθένα και κανονικά) και τα πυρηνέλαια/σπορέλαια. Αυτή η διάκριση πιθανότατα οφείλεται στη σημαντικά χαμηλότερη περιεκτικότητα σε τοκοφερόλη στο ελαιόλαδο σε σύγκριση με τα σπορέλαια, όπως αναφέρεται από τον Kamal-Eldin (2006).

Το προφίλ της τοκοφερόλης έχει σημαντικά πλεονεκτήματα καθώς απαιτεί ελάχιστη προετοιμασία δείγματος, όπως η αραίωση του λαδιού (Chen et al., 2011; Lia et al., 2018), ή η εκχύλισή του με μεθανόλη (Tsopelas et al., 2018) πριν από την ανάλυσή του μέσω χημειοφωταύγειας ή βολταμετρίας. Αυτή η μέθοδος έχει εφαρμοστεί σε διάφορες μελέτες, συμπεριλαμβανομένης της άμεσης ανάλυσης του έξτρα παρθένου ελαιολάδου (Apetrei & Apetrei, 2014; Merás et al., 2018), αποδεικνύοντας την ευελιξία και την αποτελεσματικότητά της. Μία από τις λιγότερο χρησιμοποιούμενες προσεγγίσεις για την ανίχνευση της νοθείας EVOO, η λήψη δακτυλικών αποτυπωμάτων τοκοφερόλης πιθανότατα αξίζει ευρύτερης εφαρμογής.

2.3.4 Φαινολικές ενώσεις

Το εξαιρετικό παρθένο ελαιόλαδο (EVOO) περιέχει διάφορους τύπους φαινολικών ενώσεων, με τα σεκουριδοειδή να είναι τα πιο σημαντικά, μαζί με τα φαινολικά οξέα, τις λιγνάνες, τα φλαβονοειδή και τις φαινολικές αλκοόλες (Lozano-Castellón et al., 2022). Δεδομένου ότι τα σεκουριδοειδή είναι μοναδικά για την οικογένεια Oleacea, μια μείωση στη συγκέντρωσή τους

μπορεί να υποδηλώνει πιθανή νοθεία προσθέτοντας EVOO από διαφορετική ποικιλία, όπως η Arbequina, η οποία έχει λιγότερες φαινολικές ενώσεις από το Picual, ή με την ανάμειξη του EVOO με άλλους τύπους ελαίων. Υπάρχουν διάφορες διαθέσιμες μέθοδοι για την ανάλυση της περιεκτικότητας σε φαινολικά συστατικά του έξτρα παρθένου ελαιολάδου (EVOO). Μία από τις πιο ευρέως χρησιμοποιούμενες τεχνικές περιλαμβάνει την εκχύλιση υγρού-υγρού, ακολουθούμενη από υγρή χρωματογραφία με διάφορους τύπους ανιχνευτών. Επιπλέον, υπάρχουν και άλλες μέθοδοι όπως ο πυρηνικός μαγνητικός συντονισμός (Olmo-Cunillera et al., 2020) και η GC-MS (Chiou et al., 2007), αν και αυτές απαιτούν ένα επιπλέον βήμα για την εξάτμιση των ενώσεων-στόχων. Συνολικά, υπάρχουν πολλές διαθέσιμες προσεγγίσεις για την ανάλυση του φαινολικού περιεχομένου του EVOO, καθεμία με τα δικά της πλεονεκτήματα και περιορισμούς.

Αναλύοντας τα επίπεδα σκουαλενίου και τυροσόλης, είναι δυνατό να διακρίνουμε το γνήσιο έξτρα παρθένο ελαιόλαδο από μείγματα έξτρα παρθένου ελαιολάδου και σπορέλαιων. Η συγκέντρωση και των δύο ενώσεων είναι υψηλότερη στο καθαρό έξτρα παρθένο ελαιόλαδο και κατά τη γραφική παράσταση των συγκεντρώσεων τυροσόλης και σκουαλενίου, τα αναμειγμένα δείγματα βρίσκονται κοντά στο σημείο μηδέν, καθιστώντας τα εύκολα αναγνωρίσιμα (Hayakawa et al., 2020). Η χρήση ηλεκτρονικής γλώσσας έχει βρεθεί ότι είναι αποτελεσματική στη διάκριση μεταξύ καθαρού έξτρα παρθένου ελαιολάδου (EVOO) και EVOO που έχει μολυνθεί με ηλιέλαιο, σογιέλαιο και καλαμποκέλαιο. Αυτό οφείλεται στα ειδικά ηλεκτρικά χαρακτηριστικά των φαινολικών ενώσεων, οι οποίες βρίσκονται σε χαμηλότερες συγκεντρώσεις στα νοθευμένα δείγματα (Apetrei & Apetrei, 2014). Επιπλέον, ένα μοντέλο παλινδρόμησης μερικών ελαχίστων τετραγώνων (PLSR) που δημιουργήθηκε από το υψηλής απόδοσης φάσμα υγρής χρωματογραφίας-υπεριώδους (HPLC-UV) του φαινολικού εκχυλίσματος μπόρεσε να διακρίνει με ακρίβεια τη μονοποικιλιακή Arbequina EVOO και την ίδια ποικιλιακή ανάμειξη με Picual EVOO, εξευγενισμένο ελαιόλαδο ή ηλιέλαιο (Carranco et al., 2018). Μια μελέτη που διεξήχθη από τους Omwange et al. (2021) χρησιμοποίησε ένα μοντέλο παλινδρόμησης μερικών ελαχίστων τετραγώνων (PLSR) που δημιουργήθηκε από φάσματα φθορισμού του φαινολικού προφίλ για να διαφοροποιήσει το καθαρό Εξαιρετικό Παρθένο Ελαιόλαδο (EVOO) και το EVOO αναμειγμένο με ελαιόλαδο. Η μελέτη εντόπισε επίσης το EVOO που είχε νοθευτεί με εξευγενισμένο πυρηνέλαιο αναλύοντας την περιεκτικότητα σε φαινολικά και στερόλη. Αυτό οφείλεται στο γεγονός ότι αυτές οι ενώσεις είναι πιο υδρόφιλες στο πυρηνέλαιο μετά την αρχική εκχύλιση λαδιού σε σύγκριση με το

EVOO. Μια άλλη μελέτη που διεξήχθη από τους Drira et al. (2020) κατέληξε σε παρόμοια συμπεράσματα.

Το φαινολικό προφίλ του έξτρα παρθένου ελαιολάδου (EVOO) μπορεί να επηρεαστεί από πολλά στοιχεία, όπως ο τύπος της ελιάς που χρησιμοποιείται, οι γεωργικές πρακτικές, η μέθοδος εκχύλισης που χρησιμοποιείται και οι συνθήκες αποθήκευσης. Μελέτες που διεξήχθησαν από τους López-Yereña (2019; 2021) κατέδειξαν τον αντίκτυπο των αγρονομικών τεχνικών και των διαδικασιών εκχύλισης στις φαινολικές ενώσεις του EVOO. Επιπλέον, οι Castillo-Luna et al. (2021) διαπίστωσαν πρόσφατα ότι η αποθήκευση του EVOO μπορεί επίσης να επηρεάσει το φαινολικό του προφίλ. Η νόθευση έξτρα παρθένου ελαιολάδου με εξευγενισμένα φυτικά έλαια μπορεί να οδηγήσει σε μείωση της περιεκτικότητας σε φαινολικά, αλλά δεν προσθέτει νέες ενώσεις που μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως δείκτες για ανίχνευση. Αυτός ο τύπος νοθείας είναι δύσκολο να εντοπιστεί με βάση αποκλειστικά τη συγκέντρωση φαινολών, καθώς μπορεί να ποικίλλει λόγω παραγόντων όπως οι μέθοδοι εκχύλισης, η αποθήκευση και η ποικιλία ελιάς. Ως εκ τούτου, είναι απαραίτητο να ανιχνευθεί αυτός του είδους η νόθευση χρησιμοποιώντας άλλες ενώσεις εκτός από φαινολικές ουσίες (Nikou et al., 2020).

2.3.5 Πτητικές ενώσεις

Το εξαιρετικό παρθένο ελαιόλαδο (EVOO) είναι μια δημοφιλής επιλογή μεταξύ των καταναλωτών λόγω του υπέροχου αρώματος και της ξεχωριστής γεύσης του. Το άρωμα του EVOO επηρεάζεται από τις πτητικές ενώσεις που υπάρχουν σε αυτό, οι οποίες καθορίζονται από παράγοντες όπως ο τύπος της ελιάς, οι συνθήκες καλλιέργειας και οι τεχνικές επεξεργασίας που χρησιμοποιούνται. Οι πτητικές ενώσεις που συμβάλλουν στο άρωμα μπορούν να επηρεαστούν από μια σειρά από γεύσεις και ανεπιθύμητες οσμές που προκύπτουν από διάφορους μηχανισμούς. Οι θετικές οσμές δημιουργούνται κυρίως από την οξειδωση του λινολεϊκού και του λινολενικού οξέος από ένζυμα της οδού λιποξυγενάσης, τα οποία απελευθερώνονται όταν ο καρπός συνθλίβεται και έχουν σημαντικό αντίκτυπο κατά τη μάλαξη. Αντίθετα, δυσάρεστες οσμές μπορεί να προκύψουν λόγω της ζύμωσης των σακχάρων, της μετατροπής αμινοξέων, της δραστηριότητας των ενζύμων μούχλας και της παρουσίας αναερόβιων μικροοργανισμών. Επιπλέον, το άρωμα του ελαιολάδου μπορεί να επηρεαστεί από την αυτο- και φωτοοξειδωση των λιπαρών οξέων κατά την αποθήκευση, η οποία μπορεί να οδηγήσει στο σχηματισμό διαφόρων ενώσεων όπως γραμμικά οξέα, αλκοόλες, εστέρες και

κετόνες. Αυτά τα φαινόμενα έχουν τεκμηριωθεί σε πρόσφατες ερευνητικές μελέτες, όπως η μελέτη που διεξήχθη από τους Cecchi et al. το 2021.

Η υποβάθμιση της ποιότητας του ελαιολάδου προκαλείται κυρίως από την οξειδωση, η οποία είναι μια χημική διαδικασία που διασπά τα λιπαρά οξέα του λαδιού. Αυτή η διάσπαση έχει ως αποτέλεσμα το σχηματισμό καρβονυλικών ενώσεων, οι οποίες μπορούν να παράγουν δυσάρεστες γεύσεις και οξειδωτική τάγγιση στο ελαιόλαδο (Sanmartin et al., 2018). Η διαδικασία της αυτοοξειδωσης μπορεί να λάβει χώρα χωρίς την παρουσία φωτός και λαμβάνει χώρα μέσω ενός μηχανισμού ελεύθερων ριζών όπου η απορρόφηση οξυγόνου οδηγεί στη δημιουργία υδροϋπεροξειδίων. Αυτές οι ενώσεις είναι πτητικές και μπορούν να προκαλέσουν ένα σύνθετο μείγμα πτητικών ουσιών, συμπεριλαμβανομένων αλδεϋδων, κετονών, υδρογονανθράκων, αλκοολών και εστέρων. Δυστυχώς, αυτές οι ενώσεις μπορεί να έχουν αρνητικό αντίκτυπο στη γεύση του ελαιολάδου και πρέπει να διατηρούνται κάτω από ένα συγκεκριμένο όριο προκειμένου το λάδι να ταξινομηθεί ως «εξαιρετικό παρθένο» ή «παρθένο». Εάν τα επίπεδα των προϊόντων οξειδωσης των λιπιδίων, όπως τα υδροϋπεροξειδία, υπερβούν αυτό το όριο, τότε το λάδι μπορεί να αναπτύξει μια ταγγισμένη γεύση. Είναι ενδιαφέρον ότι η παρουσία συγκεκριμένων οσμών ή πτητικών ενώσεων οξειδωσης μπορεί επίσης να χρησιμοποιηθεί για να ανιχνευθεί εάν ένα ελαιόλαδο έχει νοθευτεί με άλλες ουσίες (Zhou et al., 2021).

Η προσθήκη άλλων τύπων ελαίων στο εξαιρετικό παρθένο ελαιόλαδο μπορεί να αποδυναμώσει το άρωμα και την απόχρωση του. Ωστόσο, δεν υπάρχει ακόμη υποχρεωτική αξιολόγηση των πτητικών οργανικών ενώσεων (VOCs) στην πιστοποίηση του έξτρα παρθένο ελαιολάδου, παρά τον σημαντικό ρόλο τους στην ποιότητα του προϊόντος και τα ευνοϊκά αισθητηριακά χαρακτηριστικά του (Violino et al., 2021). Είναι προφανές ότι υπάρχει απαίτηση για οικονομικά αποδοτικές και αξιόπιστες τεχνικές που μπορούν να αξιολογήσουν γρήγορα τη σύνθεση των πτητικών οργανικών ενώσεων (VOCs) στο εξαιρετικό παρθένο ελαιόλαδο (EVOO) σε μεγάλης κλίμακας βιομηχανικό επίπεδο.

Τα τελευταία δέκα χρόνια, αρκετές έρευνες επικεντρώθηκαν στον εντοπισμό των πτητικών οργανικών ενώσεων ως μέσο ανίχνευσης της προσθήκης φθηνότερων ελαίων, όπως καλαμποκιού, σόγιας, ηλίανθου, ηλίανθου με υψηλή περιεκτικότητα σε ελαϊκό οξύ, ελιάς, μαλακής εξευγενισμένης ελιάς και ραφινρισμένων ελαιολάδων, στο EVOO (Damiani et al., 2020; Ozcan-Sinir, 2020; Violino et al., 2021; Zhou et al., 2021). Οι τεχνικές που εφαρμόζονται περιλαμβάνουν Αέρια χρωματογραφία φασματομετρία μάζας (GC-MS), Αέρια

Χρωματογραφία με Ανιχνευτή Ιονισμού Φλόγας (GC-FID), φασματομετρία μάζας οσφρητική χρωματογραφία αερίου (GC-O-MS), φασματομετρία κινητικότητας ιόντων GC (GC-IMS), flash αέρια χρωματογραφία με ηλεκτρονική μύτη (FGC E-nose), θερμοβαρυμετρική-Αέρια χρωματογραφία φασματομετρία μάζας (TGA-GC/MS), Φασματομετρία μάζας-σωλήνας ροής επιλεγμένων ιόντων (SIFT-MS), Μετασχηματισμό Fourier κοντά σε υπέρυθρη φασματοσκοπία (FT-NIR) και ορατή φασματοσκοπία κοντά στην υπέρυθρη φασματοσκοπία (vis-NIR). Μεταξύ των στρατηγικών για την απομόνωση VOCs για ανάλυση με GC-MS είναι η εκχύλιση εκδίοξης και παγίδευσης (purge and trap) (Drira et al., 2021), οι μη θερμικές επεξεργασίες πλάσματος (Van Durme & Vandamme, 2016) και η διαμόρφωση του προφίλ της σύνθεσης του υπερκείμενου αερίου (headspace) (Damiani et al., 2020). Η ανάλυση SIFT-MS απαιτεί τη χρήση υδατόλουτρου ελεγχόμενης θερμοκρασίας σε συγκεκριμένη θερμοκρασία 30°C για διάρκεια 30 λεπτών. Αυτή η διαδικασία χρησιμοποιείται για την απελευθέρωση πτητικών ενώσεων μέχρι να επιτευχθεί ισορροπία στην υπερκείμενη αέρια φάση (headspace) (Ozcan-Sinir, 2020).

Πρόσφατη έρευνα έδειξε ότι το νοθευμένο έξτρα παρθένο ελαιόλαδο (EVOO) εμφανίζει σημαντική μείωση της πεντανάλης και της εξανάλης, που είναι υπεύθυνα για τις νότες πράσινης μυρωδιάς (Violino et al., 2021). Αυτή η μείωση είναι πιθανό να οφείλεται στην παρουσία υψηλότερων επιπέδων πολυακόρεστων λιπαρών οξέων (PUFA) σε έλαια μη EVOO, όπως το ηλιέλαιο, τα οποία είναι πιο επιρρεπή σε πτητική οξείδωση από το EVOO (Van Durme & Vandamme, 2016). Αν και δεν υπάρχουν επί του παρόντος νομικές απαιτήσεις για τη σύνθεση των πτητικών κλασμάτων του EVOO, η ενσωμάτωση αυτής της προσέγγισης θα μπορούσε να αποδειχθεί πολύτιμο εργαλείο για τη διασφάλιση της ποιότητας του EVOO.

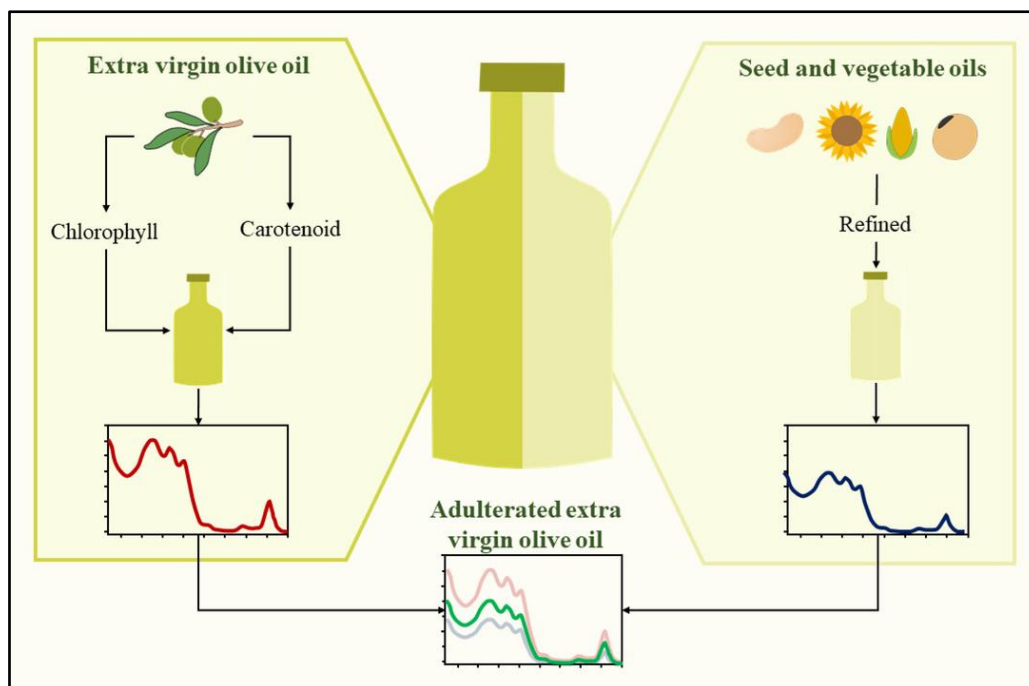
2.3.6 Χρωστικές

Το χρώμα του έξτρα παρθένου ελαιολάδου (EVOO) οφείλεται στην παρουσία λιπόφιλης χλωροφύλλης και καροτενοειδών χρωστικών που βρίσκονται στον καρπό της ελιάς. Το EVOO περιέχει μια ποικιλία παραγώγων χλωροφύλλης και καροτενοειδών, συμπεριλαμβανομένων της χλωροφύλλης a και b, της φαιοφυτίνης a και b, της βήτα-καροτίνης, της λουτεΐνης, της βιολακανθίνης, της νεοξανθίνης και άλλων ξανθοφύλλων (Uncu & Ozen, 2020). Η ύπαρξη χρωστικών μπορεί να αποδοθεί σε διάφορους παράγοντες, όπως ο συγκεκριμένος τύπος ελιάς που καλλιεργείται, ο βαθμός ωρίμανσης του καρπού, οι συνθήκες υπό τις οποίες καλλιεργείται, ο τρόπος με τον οποίο εκχυλίζονται οι χρωστικές και ο τρόπος στο οποίο αποθηκεύονται (Giuffrida et al., 2007). Η χρωματική σύνθεση της EVOO έχει χρησιμοποιηθεί ως μέσο

προσδιορισμού της ποιότητας και της νομιμότητάς της. Μέσω αυτής της μεθόδου, διάφορα έλαια όπως καλαμπόκι, κανόλα, σόγια, φιστίκι, ηλιέλαιο, εξευγενισμένο ελαιόλαδο, πυρηνέλαιο και παλαιωμένα ελαιόλαδα έχουν εντοπιστεί ως πρόσθετα στο EVOO (Merás et al., 2018; Milanez et al., 2017; Uncu & Ozen, 2019).

Μελέτες έχουν δείξει ότι η χρήση της φασματοσκοπίας UV-vis, φθορισμού και/ή FT-IR + UV-vis μπορεί να ανιχνεύσει αποτελεσματικά μια μείωση των χλωροφύλλων και των καροτενοειδών στο EVOO που έχει νοθευθεί. Αυτές οι μέθοδοι έχουν βρεθεί ότι είναι και γρήγορες και αξιόπιστες (Merás et al., 2018; Milanez et al., 2017; Uncu & Ozen, 2019).

Για τον εντοπισμό νοθείας του έξτρα παρθένου ελαιολάδου (EVOO), μπορεί κανείς να συγκρίνει τα ορατά φάσματα απορρόφησής του. Οι ζώνες απορρόφησης στην περιοχή των 430-480 nm και 670 nm είναι χαρακτηριστικές λόγω της παρουσίας καροτενοειδών και χρωστικών χλωροφύλλης στο EVOO (Ferreiro-González et al., 2017). Μετρώντας την ένταση αυτών των κορυφών, μπορεί κανείς να διαφοροποιήσει το EVOO από άλλα σπορέλαια ή φυτικά έλαια, όπως απεικονίζεται στο Σχήμα 5. Επομένως, μπορεί να χρησιμοποιηθεί φασματοσκοπική ανάλυση για τον προσδιορισμό της αυθεντικότητας του EVOO. Διεξήχθη μια μελέτη για τη σύγκριση των προφίλ χρωστικών του έξτρα παρθένου ελαιολάδου (EVOO) με εκείνα των σπόρων και φυτικών ελαίων, καθώς και του EVOO που είχε νοθευθεί με εξευγενισμένα έλαια. Τα αποτελέσματα εμφανίστηκαν σε ένα γράφημα με μια κόκκινη καμπύλη που αντιπροσωπεύει το προφίλ χρωστικής του EVOO και τα σπορέλαια και τα φυτικά έλαια, μια πράσινη καμπύλη που αντιπροσωπεύει το προφίλ χρωστικής του νοθευμένου EVOO και μια μπλε ή γκρι καμπύλη που αντιπροσωπεύει το προφίλ χρωστικής των επεξεργασμένων σπόρων και φυτικών ελαίων. Η μελέτη προσπάθησε να προσδιορίσει τις διαφορές στη σύνθεση της χρωστικής μεταξύ αυτών των ελαίων και να εντοπίσει οποιαδήποτε πιθανή νοθεία του EVOO με εξευγενισμένα έλαια (Ferreiro-González et al., 2017).



Εικόνα 5. Σύγκριση προφίλ χρωστικής Πηγή: Ferreiro-González et al., 2017

2.3.7 Σύνθεση στερόλης, τριτερπενικής διαλκοόλης και στιγμασταδιενίου

Οι στερόλες και οι παραλλαγές τριτερπενίων παίζουν καθοριστικό ρόλο στον προσδιορισμό της καθαρότητας του ελαιολάδου. Αυτές οι ενώσεις χρησιμοποιούνται για τη διάκριση μεταξύ διαφορετικών τύπων ελαίων, όπως τα πυρηνέλαια και εκείνων που δεν εκχυλίζονται με διαλύτες, όπως το εξαιρετικό παρθένο ελαιόλαδο (EVOO) (International Olive Council, 2021). Η ενσωμάτωση πρόσθετων ελαίων στο μείγμα μπορεί να ενισχύσει τα επίπεδα αυτών των ουσιών, οδηγώντας σε μια σαφέστερη διαφοροποίηση μεταξύ του γνήσιου έξτρα παρθένου ελαιολάδου και των νοθευμένων EVOO (Al-Imsail et al., 2010). Η επίσημη διαδικασία περιλαμβάνει πολλαπλά στάδια, ξεκινώντας με τον διαχωρισμό των ουσιών από το σαπωνοποιήσιμο συστατικό. Έχει καθιερωθεί μια διαδικασία μερικού καθαρισμού χρησιμοποιώντας χρωματογραφία, ακολουθούμενη από παραγωγοποίηση και ανάλυση μέσω Αέριας Χρωματογραφίας με Ανιχνευτή Ιονισμού Φλόγας (GC-FID). Ωστόσο, λόγω της μεγάλης διάρκειάς του, έχουν επινοηθεί εναλλακτικές μέθοδοι για μια πιο συνοπτική και απλή προσέγγιση (Valli et al., 2021).

Πολυάριθμες ερευνητικές προσπάθειες έχουν αφιερωθεί στην εξέταση της σύνθεσης των στερολών και των παραγώγων τριτερπενίων προκειμένου να κατηγοριοποιηθούν διαφορετικοί τύποι εξαιρετικά παρθένων ελαιολάδων και να εντοπιστούν τυχόν δόλιες αλλοιώσεις, όπως η προσθήκη κατώτερου ελαιολάδου ή πυρηνελαίου. Με βάση τα ποσοστά της καμπεστερόλης

και της στιγμαστερόλης, εντοπίστηκε νοθεία με έλαια καλαμποκιού, σόγιας, ηλιέλαιου και βαμβακιού (Al-Ismail et al., 2010) ενώ η ουβαόλη και η ερυθροδιόλη αποκάλυψαν την παρουσία πυρηνελαίου (Mathison & Holstege, 2013). Στον τομέα της ανίχνευσης νοθείας του έξτρα παρθένου ελαιολάδου (EVOO), μελέτες έχουν βρει ότι η Δ-7-στιγμαστερόλη και η καμπεστερόλη είναι αποτελεσματικοί δείκτες νοθείας με ηλιάνθο και καλαμπόκι, αντίστοιχα (Jabeur et al., 2014). Αυτό το εύρημα έχει υποστηριχθεί από πολλές μελέτες, συμπεριλαμβανομένης μιας που βρήκε ότι αυτές οι στερόλες είναι επίσης δείκτες νοθείας σόγιας (Youseff et al., 2014). Οι Srigley et al. (2015) διαπίστωσαν ότι με την ανάλυση της συνολικής περιεκτικότητας σε στερόλη, της σύνθεσης της απομεθυλστερόλης και των επιπέδων τριτερπενικής διαλκοόλης, ήταν δυνατό να ανιχνευθεί η παρουσία μολυσματικών παραγόντων σε εξαιρετικά παρθένο ελαιόλαδο canola, καλαμπόκι, φιστίκι, έλαιο καρθάκου, σόγιας ή ηλιέλαιου. Ωστόσο, αυτή η μέθοδος δεν ήταν σε θέση να ανιχνεύσει την παρουσία φουντουκέλαιου. Αυτό υπογραμμίζει τη σημασία της χρήσης πολλαπλών παραμέτρων για τον αποτελεσματικό εντοπισμό της νοθείας στα τρόφιμα. Οι μέσες τιμές κάθε στερόλης επέτρεψαν να διαφοροποιηθούν τα EVOOs ανάλογα με την ποικιλία ελιάς και την ποικιλία αγριελιάς (Oleaster), συμπεριλαμβανομένων των υβριδίων (Manai-Djebali et al., 2021). Η Η ποσότητα των στερολών που υπάρχουν στο ελαιόλαδο μπορεί να ποικίλλει σημαντικά ανάλογα με τον τύπο της ποικιλίας που χρησιμοποιείται. Για παράδειγμα, η συγκέντρωση της Δ5-αβεναστερόλης έχει βρεθεί ότι κυμαίνεται από 2,2% έως 15,2% της συνολικής περιεκτικότητας σε στερόλη (Manai-Djebali et al., 2018). Τέλος, μια πρόσφατη μελέτη ανέπτυξε μια νέα τεχνική που μπορεί να ανιχνεύσει την παρουσία μόλις 2% ηλιέλαιου σε εξαιρετικό παρθένο ελαιόλαδο αναλύοντας τόσο τις ελεύθερες όσο και τις εστεροποιημένες στερόλες και τις τριτερπενικές αλκοόλες (Valli et al., 2021).

Στην προσπάθεια να εντοπίσουν δόλιες πρακτικές στην παραγωγή Εξαιρετικού Παρθένου Ελαιολάδου (EVOO), οι ερευνητές έχουν εξερευνήσει διάφορες μεθόδους για τον εντοπισμό της νοθείας. Μία από τις μεθόδους περιλαμβάνει τη διερεύνηση της παρουσίας στερολών μεταξύ άλλων ενώσεων. Οι Ruiz-Aracama et al. (2017) χρησιμοποίησε μια τεχνική που ονομάζεται καταστολή σήματος λιπιδίων φασματοσκοπία πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού πρωτονίων (^1H NMR) για να ταξινομήσει το EVOO με βάση πολλά σήματα, συμπεριλαμβανομένων αυτών των στερολών. Αναλύοντας τα προφίλ στερόλης και λιπαρών οξέων, ένα μοντέλο ανάλυσης κύριου συστατικού (PCA) μπόρεσε να διαφοροποιήσει σαφώς μεταξύ του γνήσιου EVOO και εκείνων που περιείχαν βαμβακέλαιο και ηλιέλαιο (Kesen, 2019).

Το προφίλ στερόλης και οι λιπαρές αλκοόλες είναι αξιόπιστοι δείκτες για την ανίχνευση νοθείας στο εξαιρετικό παρθένο ελαιόλαδο. Μελέτες έχουν αποδείξει την αποτελεσματικότητά τους στον εντοπισμό πιθανών νοθευτών στο λάδι. Η επίσημη μέθοδος για τον προσδιορισμό τους έχει βελτιωθεί, με την ανάπτυξη ταχύτερων και πιο οικολογικών εναλλακτικών λύσεων που απαιτούν λιγότερα στάδια προετοιμασίας δείγματος και καταναλώνουν λιγότερα αντιδρώντα για να επιτευχθούν παρόμοια αποτελέσματα (Tena et al., 2015).

Η ανίχνευση των στιγμασταδιενίων είναι μια εξαιρετικά ευαίσθητη μέθοδος για την ανίχνευση της παρουσίας εξευγενισμένων ελαίων σε εξαιρετικά παρθένα ελαιόλαδα. Ενώ τα εξαιρετικά παρθένα ελαιόλαδα ψυχρής έκθλιψης περιέχουν ασήμαντες ποσότητες στιγμασταδιενίων (λιγότερο από 0,01 mg/kg³), τα EVOO επιτρέπεται να περιέχουν έως και 0,15 mg/kg³ βάσει κανονισμών.(Uncu & Ozen , 2020). Κατά τη διαδικασία εξευγενισμού, οι στερόλες, ιδιαίτερα η β-σιτοστερόλη, αφυδατώνονται σε υψηλές θερμοκρασίες, με αποτέλεσμα τον σχηματισμό μετρήσιμων ποσοτήτων 3,5-στιγμασταδιενίου που κυμαίνονται από 0,3 έως 0,9 mg/kg³. (Gordon & Firman, 2001). Ειδικότερα, η αναγνώριση των στιγμασταδιενίων στο παρθένο ελαιόλαδο μπορεί να υποδηλώνει τη χρήση λευκαντικού αργίλου ή μεθόδων υψηλής θερμοκρασίας κατά τη διαδικασία εξευγενισμού. Αυτό σημαίνει ότι η παρουσία αυτών των στεροειδών υδρογονανθράκων στο VOO μπορεί να αποδείξει νόμιμα τη μόλυνση του προϊόντος από εξευγενισμένα φυτικά έλαια όπως ο πυρήνας της ελιάς, η σόγια, το ηλιέλαιο και το φοινικέλαιο (Schneider, 2016) .

Οι Crews et al. (2014) έχουν εισαγάγει μια νέα μέθοδο για την ανίχνευση στιγμασταδιενίων που προσφέρει αρκετά πλεονεκτήματα σε σχέση με τις υπάρχουσες τυποποιημένες μεθόδους. Εκτός από το ότι είναι πιο γρήγορο και πιο βολικό στη χρήση, αυτή η δοκιμή είναι ικανή να εντοπίσει άλλα στερένια που υπάρχουν στα λάδια, καθιστώντας το ένα ευέλικτο εργαλείο για διάφορες εφαρμογές. Αυτή η μέθοδος παρουσιάζει υψηλή ευαισθησία σε χαμηλά επίπεδα στιγμασταδιενίων. Αν και μπορεί να μην παρέχει ακριβή μέτρηση της συγκέντρωσης εξευγενισμένου λαδιού, είναι σε θέση να ανιχνεύει μείγματα που περιέχουν λιγότερο από 5% εξευγενισμένα έλαια.

2.3.8 Εφαρμογή «δακτυλικού αποτυπώματος» λαδιού στον έλεγχο ταυτότητας

Τα τελευταία χρόνια, υπάρχει αυξανόμενο ενδιαφέρον για τη χρήση χρωματογραφικών μεθόδων μαζί με φασματοσκοπική ανίχνευση ή φασματομετρία μάζας, και σε συνδυασμό με τη χημειομετρία, για την αντιμετώπιση σύνθετων προβλημάτων ελέγχου ταυτότητας τροφίμων χρησιμοποιώντας προσεγγίσεις δακτυλικών αποτυπωμάτων. Σύμφωνα με μελέτη των Medina

et al. (2019), αυτές οι τεχνικές έχουν επιδείξει αξιοσημείωτη αποτελεσματικότητα σε αυτόν τον τομέα. Σε αυτό το πλαίσιο, η ανάλυση έγχυσης ροής σε συνδυασμό με φασματομετρία μάζας υψηλής ανάλυσης (FIA–HRMS), χρησιμοποιώντας μια στρατηγική δακτυλικών αποτυπωμάτων χρησιμοποιήθηκε για τη διάκριση του ελαιολάδου από άλλα φυτικά έλαια, καθώς και για μια αξιολόγηση της κατηγορίας ποιότητάς του (Campmajó et al., 2022). Μετά από μια διαδικασία εξωτερικής επικύρωσης, επιτεύχθηκε εξαιρετικό επίπεδο ακρίβειας στην ταξινόμηση. Επιπλέον, με τη χρήση θερμαινόμενου ιονισμού με ηλεκτροψεκασμό, κατέστη δυνατός ο εντοπισμός των πιο διαδεδομένων ιόντων, επιτρέποντας έτσι τη διάκριση του ελαιολάδου από άλλα δείγματα φυτικών ελαίων με μεγάλη ακρίβεια μέσω της ανάλυσης κύριου συστατικού (PCA). Όπως αναφέρθηκε προηγουμένως, μια παρόμοια προσέγγιση που βασίζεται στο προφίλ TAG χρησιμοποιήθηκε ικανοποιητικά για την ανίχνευση φυτικών ελαίων με υψηλή περιεκτικότητα σε λινολεϊκό και υψηλό ελαϊκό οξύ στο EVOO (Quintanilla-Casas et al., 2021).

Από την άλλη πλευρά, η χρήση χρωματογραφικών δακτυλικών αποτυπωμάτων (HPLC συζευγμένο με φορτισμένο ανιχνευτή αερολύματος και GC υψηλής θερμοκρασίας συζευγμένο με FID) σε συνδυασμό με τεχνικές πολλαπλών παραλλαγών εφαρμόστηκε για τον έλεγχο ταυτότητας της γεωγραφικής προέλευσης του EVOO χωρίς ταυτοποίηση ή ποσοτικό προσδιορισμό των χημικών ενώσεων (Vera et al., 2019). Ομοίως, οι Quintanilla-Casas et al. (2021) καθιέρωσε το δακτυλικό αποτύπωμα ως μια πιο αποτελεσματική προσέγγιση από το προφίλ των υδρογονανθράκων σεσκιτερπενίου για την ταξινόμηση του EVOO σύμφωνα με την προέλευσή του.

2.3.9 Προτεινόμενοι δείκτες για ανίχνευση νοθείας EVOO

Κατά τη νόθευση EVOO, το προφίλ λιπαρών οξέων και το προφίλ δευτερευουσών ενώσεων αλλάζουν. Τα επίπεδα των φαινολικών ενώσεων και των πτητικών ενώσεων στο EVOO μειώνονται, ενώ η ποσότητα των κεριών όπως η καμπεστερόλη αυξάνεται. Για την ανίχνευση της νοθείας, είναι χρήσιμο να παρακολουθείτε πολλαπλές ενώσεις. Αυτό μπορεί να γίνει με τη χρήση θερμαινόμενου ιονισμού με ηλεκτροψεκασμό (HRMS) στο δακτυλικό αποτύπωμα EVOO, αλλά αυτή η μέθοδος απαιτεί ακριβό εξοπλισμό που μπορεί να μην είναι πάντα διαθέσιμος. Μια άλλη επιλογή είναι να χρησιμοποιήσετε τη φασματοσκοπία UV-vis ή FT-NIR για την παρακολούθηση των φασμάτων απορρόφησης ή εκπομπής, αλλά αυτό μπορεί να ανιχνεύσει μόνο ορισμένες ενώσεις και να μην παρέχει τόσες πληροφορίες όπως η ανάλυση HRMS. Επομένως, μπορεί να μην είναι αρκετό για τον εντοπισμό πλαστών προϊόντων.

Το εξαιρετικό παρθένο ελαιόλαδο (EVOO) αναμιγνύεται συχνά με άλλα έλαια, όπως λάδι κανόλας ή φουντουκιού, ή με έλαια που έχουν εκχυλιστεί με τη χρήση διαλυτών, όπως το πυρηνέλαιο. Η διαδικασία καθαρισμού που απαιτείται για την κατασκευή του EVOO περιλαμβάνει θέρμανση του λαδιού σε εξαιρετικά υψηλές θερμοκρασίες, συχνά γύρω στους 180°C. Αυτή η διαδικασία χρησιμοποιείται τόσο σε φυσικές όσο και σε χημικές βελτιώσεις (Varona et al., 2021). Υπάρχει πιθανότητα η χρήση δεικτών θέρμανσης, όπως τα στιγμασταδιένια ή οι γλυκυλεστέρες (GE), να μπορεί να χρησιμοποιηθεί για τον εντοπισμό της παρουσίας εξευγενισμένων ελαίων στο εξαιρετικό παρθένο ελαιόλαδο (EVOO). Αυτή η μέθοδος έχει προταθεί από τους Gordon και Firman (2001) και θεωρείται ως μια εφικτή προσέγγιση για τον εντοπισμό νοθείας EVOO. Οι Crews et al. (2014) υποστηρίζουν επίσης τη χρήση ανάλυσης δεικτών θέρμανσης για τον εντοπισμό νοθείας στο EVOO. Με την ανάλυση αυτών των δεικτών, είναι δυνατό να ανιχνευθεί η παρουσία ραφιναρισμένων ελαίων στο EVOO, τα οποία μπορούν να βοηθήσουν στη διασφάλιση της ποιότητας και της αυθεντικότητας του προϊόντος. Ως εκ τούτου, η χρήση ανάλυσης δεικτών θέρμανσης μπορεί να θεωρηθεί ως αποτελεσματικό εργαλείο για την ανίχνευση νοθείας EVOO. Από την άλλη πλευρά, για την ανίχνευση νοθείας με έλαια που εκχυλίζονται με διαλύτη, η ανάλυση του στερολικού προφίλ θα μπορούσε να είναι μια χρήσιμη προσέγγιση, καθώς η συγκέντρωση αυτών των ενώσεων θα αυξηθεί (Mathison & Holstege, 2013).

Συνοψίζοντας, σε περιπτώσεις όπου η τεχνολογία HRMS δεν είναι προσβάσιμη, θα μπορούσε να είναι συμφέρουσα και οικονομικά αποδοτική η χρήση της ανάλυσης στιγμασταδιενίων και στερολών ως μέσο εντοπισμού δόλιας EVOO. Δεδομένου ότι αυτές οι ουσίες έχουν ήδη εξεταστεί για ταξινόμηση ελαιολάδου (σύμφωνα με την Ευρωπαϊκή Ένωση το 1991), δεν απαιτείται συμπληρωματικός μηχανισμός για την εκτέλεση αυτών των αξιολογήσεων.

Κεφάλαιο 3^ο Ανασκόπηση αναλυτικών τεχνικών για την ανίχνευση νοθείας στο ελαιόλαδο

3.1. Εισαγωγή

Το εξαιρετικό παρθένο ελαιόλαδο (EVOO) αναμιγνύεται συχνά με διάφορα άλλα έλαια όπως λάδι κανόλας, ηλιέλαιο, φουντουκέλαιο, αραβοσιτέλαιο, καρυδέλαιο και σογιέλαιο. Οι ισχύοντες κανονισμοί του Διεθνούς Συμβουλίου Ελαιολάδου (IOC) έχουν ορίσει συγκεκριμένες κατηγορίες ελαιολάδου (IOC, 2018) και η νοθεία του EVOO με φυτικά έλαια κακής ποιότητας απαιτεί διάφορες αναλυτικές μεθόδους και τεχνικές για την επαλήθευση της γνησιότητάς του. Η ανάμειξη του EVOO με φθηνά, κατώτερα φυτικά έλαια μπορεί να οδηγήσει σε δυσαρέσκεια των καταναλωτών και μπορεί να εγκυμονεί κινδύνους για την υγεία και την ασφάλεια, ιδιαίτερα εάν οι καταναλωτές το αγοράζουν για τα θρεπτικά και υγιεινά πλεονεκτήματά του (Meenu et al., 2019).

Συνεπώς, Η πιστοποίηση και ο έλεγχος της νοθείας στη βιομηχανία ελαιολάδου είναι ένα σημαντικό και περίπλοκο θέμα. Η Επιτροπή της Ευρωπαϊκής Ένωσης, το Διεθνές Συμβούλιο Ελαιολάδου και η Επιτροπή του Codex για τα λίπη και τα έλαια διαδραματίζουν ρόλο στη ρύθμιση και την επίβλεψη του Εξαιρετικού Παρθένου Ελαιόλαδου (EVOO). Αυτοί οι οργανισμοί θεσπίζουν συγκρίσιμα πρότυπα ποιότητας για τα ελαιόλαδα, αν και δεν είναι πανομοιότυπα. Επίσημες μέθοδοι για τον ποιοτικό έλεγχο του EVOO έχουν επίσης καθιερωθεί από αυτές τις ομάδες. Ωστόσο, ορισμένες προτεινόμενες προσεγγίσεις είναι προκλητικές, περίπλοκες, περιλαμβάνουν δαπανηρές και επικίνδυνες χημικές ουσίες και απαιτούν προετοιμασία δείγματος πριν από την ανάλυση (Valli et al., 2016).

Για τον εντοπισμό και τον ποσοτικό προσδιορισμό των νοθειών στο EVOO, έχουν αναφερθεί δύο ξεχωριστές μεθοδολογίες. Η αρχική προσέγγιση επικεντρώθηκε γύρω από την ακριβή χημική συσχέτιση δεικτών όπως οι τοκοτριενόλες, τα πολικά στοιχεία, οι τριακυλογλυκερόλες και το σύνολο της καμπεστερόλης και της στιγμαστερόλης (Al-Ismail, et al., 2010). Ωστόσο, αυτές οι τεχνικές συνεπάγονται τη χρήση αέριας και υγρής χρωματογραφίας, η οποία παρουσιάζει μειονεκτήματα όπως το γεγονός ότι είναι χρονοβόρα, η ανάγκη περίπλοκης προετοιμασίας του δείγματος και η εμπλοκή επικίνδυνων ουσιών. Μια άλλη μεθοδολογία επικεντρώνεται στη χρήση ενόργανων μεθόδων που αποκτούν ολοκληρωμένη και πολυμεταβλητή απεικόνιση της χημικής σύνθεσης των υπό διερεύνηση δειγμάτων χρησιμοποιώντας φασματοσκοπία Raman (Farley et al., 2017), Υπέρυθρη φασματοσκοπία

μετασχηματισμού Fourier (FTIR) (Maggio et al., 2010), φασματοσκοπία μέσου υπέρυθρου (MIR) (Mendes et al., 2015), φασματοσκοπία εγγύς υπέρυθρης ακτινοβολίας (NIR) (Mendes et al., 2015), και πυρηνικός μαγνητικός συντονισμός (NMR) (Mavromoustakos et al., 2000).

Η εφαρμογή χρωματογραφικών τεχνικών και τεχνικών με βάση το DNA έχει επανεξεταστεί για την ανίχνευση της νοθείας του ελαιολάδου και της γεωγραφικής ιχνηλασιμότητας των ελαιολάδων (Ben-Ayed et al., 2013). Έχουν συζητηθεί πολυάριθμες τεχνικές για την ανίχνευση της προέλευσης και της αυθεντικότητας των ελαιολάδων, όπως η οπτική ανίχνευση, η χρωματογραφία, η NMR και οι μέθοδοι που βασίζονται στο DNA (Ou et al., 2015). Επιπλέον, έχουν διερευνηθεί συμβατικές μέθοδοι που βασίζονται σε δείκτες για την ανίχνευση της παρουσίας φυτικών ελαίων στο ελαιόλαδο (Azadmard-Damirchi & Torbati, 2015). Οι δονητικές φασματοσκοπικές τεχνικές, όπως η φασματοσκοπία NIR, FTIR και Raman, έχουν επίσης εξεταστεί τόσο για επιτόπιο όσο και για επίσημο έλεγχο των ελαιολάδων και των παρθένων ελαιολάδων (Nenadis & Tsimidou, 2016). Έχουν γίνει αρκετές μελέτες που έχουν διερευνήσει τη χρήση της φασματοσκοπίας Raman για την ανίχνευση της νοθείας των ελαιολάδων. Σε μια μελέτη που διεξήχθη από τους Jiménez-Sanchidrián και Ruiz το 2016, συζητήθηκε η δυνατότητα της φασματοσκοπίας Raman. Σε μια ξεχωριστή μελέτη των Delfino et al. το 2018, διερευνήθηκαν διάφορες τεχνικές, συμπεριλαμβανομένης της στατικής και δυναμικής σκέδασης φωτός, της φασματοσκοπίας διάχυτου κύματος και της φασματοσκοπίας Raman, με σκοπό τον χαρακτηρισμό και τη διασφάλιση της ποιότητας του ελαιολάδου. Διάφορες χημομετρικές και μοριακές μέθοδοι που χρησιμοποιούνται για τον έλεγχο ταυτότητας, τον ποιοτικό έλεγχο και την ιχνηλασιμότητα των ελαιολάδων έχουν επίσης αναθεωρηθεί (Avramidou et al., 2018).

Ακολουθεί μια εκτενής ανάλυση των σημαντικών αναλυτικών μεθόδων που χρησιμοποιούνται για τον εντοπισμό και τη μέτρηση του επιπέδου νοθείας στο Εξαιρετικό Παρθένο Ελαιόλαδο (EVOO) με ελαιόλαδα και φυτικά έλαια χαμηλής ποιότητας. Ειδικότερα παρουσιάζονται διάφορες αναλυτικές τεχνικές όπως δονητικές τεχνικές (FTIR, MIR, NIR και φασματοσκοπία Raman), φασματοσκοπικές τεχνικές (φασματοσκοπία υπεριώδους-ορατού, φασματοσκοπία πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού, φασματοσκοπία μάζας, φασματοσκοπία φθορισμού, οπτοθερμική φασματοσκοπία υπέρυθρων λέιζερ CO₂, διηλεκτρική φασματοσκοπία, φασματοσκοπία ορατού, φασματομετρία κινητικότητας υπεριώδους-ιόντων), χρωματογραφικές τεχνικές (υγρή χρωματογραφία υψηλής απόδοσης και αέρια χρωματογραφία), θερμικές τεχνικές (διαφορική θερμιδομετρία σάρωσης, θερμοβαρυσμετρικός αναλυτής) και επίσης συζητήθηκαν άλλες τεχνικές όπως η ηλεκτρονική μύτη, η ηλεκτρονική

γλώσσα, η ψηφιακή απεικόνιση, η βολταμμετρική ανάλυση και η ανάλυση DNA που χρησιμοποιούνται για την ανίχνευση και τον ποσοτικό προσδιορισμό της νοθείας EVOO μέχρι σήμερα.

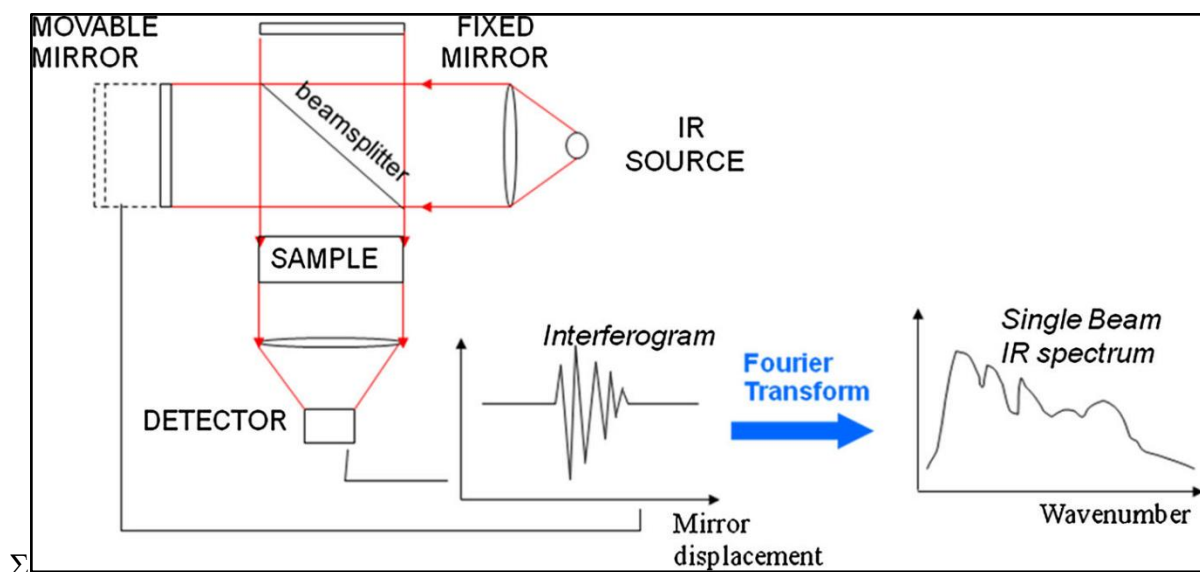
3.2. Ανίχνευση νοθευμένου εξαιρετικού παρθένου ελαιολάδου με χρήση δονητικής φασματοσκοπίας (υπέρυθρης και φασματοσκοπίας Raman)

Η φασματοσκοπία δόνησης βασίζεται στην αλληλεπίδραση μεταξύ της ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας και των καταστάσεων δόνησης των ατομικών πυρήνων στα μόρια. Αυτή η τεχνική προσφέρει πολυάριθμα οφέλη ως αναλυτική μέθοδος, συμπεριλαμβανομένης της οικονομικής προσιτότητας, της ταχύτητας, της μη επεμβατικότητας και της ελάχιστης ανάγκης για προετοιμασία δείγματος πριν από την ανάλυση (Teixeira & Sousa, 2019). Η φασματοσκοπία Raman και Μεσαίο υπέρυθρο mid-infrared (MIR) καθορίζει τυπικές θεμελιώδεις δονήσεις που χρησιμοποιούνται για τη διαλεύκανση της μοριακής δομής του υπό διερεύνηση δείγματος. Η φασματοσκοπία εγγυούς υπέρυθρου NIR είναι μια διαδικασία που οδηγεί σε ευρείες ζώνες έντασης και συνδυασμού θεμελιωδών δονήσεων (Craig et al., 2015). Αντίθετα, η φασματοσκοπία υπέρυθρων μετασχηματισμού Fourier (FTIR) είναι μια εξαιρετικά αποτελεσματική μέθοδος μέτρησης πολλαπλών συχνοτήτων ταυτόχρονα, χάρη στη συμβολομετρική διαμόρφωση της ακτινοβολίας. Σε σύγκριση με άλλα όργανα, η φασματοσκοπία FTIR προσφέρει βελτιωμένη ακρίβεια, ευαισθησία, ενεργειακή απόδοση και ταχύτητα ανάλυσης (Rodriguez-Saona & Allendorf, 2011). Στη γεωργία και τη βιομηχανία τροφίμων, η φασματοσκοπία δόνησης και η χημειομετρία έχουν χρησιμοποιηθεί ευρέως με αξιοσημείωτα αποτελέσματα (Meenu et al., 2016). Έχουν διεξαχθεί πολλές μελέτες με τη χρήση φασματοσκοπίας υπέρυθρης ακτινοβολίας και Raman για την ανίχνευση και τη μέτρηση της παρουσίας νοθευτών στο εξαιρετικό παρθένο ελαιόλαδο. Αυτές οι μελέτες περιγράφονται λεπτομερώς στις επόμενες ενότητες.

3.2.1. Εφαρμογή φασματοσκοπίας υπέρυθρης ακτινοβολίας μετασχηματισμού Fourier (FTIR) για την ανίχνευση νοθευμένου εξαιρετικού παρθένου ελαιολάδου

Η φασματοσκοπία υπέρυθρων μετασχηματισμού Fourier (FTIR) (Εικόνα 6) είναι μία από τις φασματοσκοπίες δόνησης που βασίζεται στην αλληλεπίδραση μεταξύ λειτουργικών ομάδων που υπάρχουν στα αναλυόμενα δείγματα με ηλεκτρομαγνητικές ακτινοβολίες που έχουν ως αποτέλεσμα τα επίπεδα δονητικής ενέργειας. Στη βιομηχανία τροφίμων, η φασματοσκοπία FTIR έχει γίνει μια δημοφιλής τεχνική για τον προσδιορισμό της αυθεντικότητας των τροφίμων, ιδιαίτερα όταν χρησιμοποιείται σε συνδυασμό με εξασθενημένη ολική ανάκλαση

(ATR) και χημειομετρικό λογισμικό. Αυτή η προσέγγιση προσφέρει έναν γρήγορο και αξιόπιστο τρόπο ανάλυσης των τροφίμων. Εξετάζοντας τα φασματικά χαρακτηριστικά FTIR ενός δείγματος τροφίμου, είναι δυνατό να γίνει διάκριση μεταξύ αυθεντικών και νοθευμένων προϊόντων. Το φάσμα ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας που χρησιμοποιείται σε αυτή την τεχνική κυμαίνεται από 14.000 έως 50 cm^{-1} και χωρίζεται σε τρεις περιοχές: κοντά στο IR ($1/\lambda$ 14.000–4000 cm^{-1}), στο μέσο υπέρυθρο IR ($1/\lambda$ 4000–400 cm^{-1}) και στο μακρινό IR ($1/\lambda$ 400–50 cm^{-1}). Από αυτές τις περιοχές, το εύρος mid-IR ($1/\lambda$ 4000–400 cm^{-1}) χρησιμοποιείται πιο συχνά για την ανάλυση της περιεκτικότητας σε λιπαρά και λάδια των τροφίμων (Rohman et al., 2020).



Εικόνα 6. Απεικόνιση φασματομέτρου FTIR. Πηγή: Rohman et al., 2020

Η μέθοδος FTIR σε συνδυασμό με εξασθενημένη ολική ανάκλαση (ATR) και μερική παλινδρόμηση ελαχίστων τετραγώνων (PLS) χρησιμοποιήθηκε για την ανάλυση δύο κύριων ρύπων, δηλαδή εξευγενισμού ελαιόλαδου και καρυδέλαιο στο EVOO. Σε μια μελέτη που διεξήχθη από τους Lai et al. (1995)}, διαπιστώθηκε ότι το τυπικό σφάλμα πρόβλεψης (SEP) για το EVOO με προσθήκη εξευγενισμένου και καρυδέλαιου ήταν 0,92 g/100 g και 0,68 g/100 g, αντίστοιχα. Μια άλλη μελέτη συνέκρινε την αποτελεσματικότητα της φασματοσκοπίας MIR και Raman για τον εντοπισμό και τη μέτρηση διαφόρων νοθευτών στο EVOO. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι το MIR σε συνδυασμό με το LDA είχε υψηλότερα ποσοστά ακρίβειας στον εντοπισμό και τον ποσοτικό προσδιορισμό των νοθευτών (Marigheto et al. 1998).

Το ATR-MIR σε συνδυασμό με το PLS αναφέρθηκε ότι είναι μια αποτελεσματική μέθοδος για την πρόβλεψη ηλιελαίου στο EVOO με Τυπικό Σφάλμα Πρόβλεψης 1,2% χρησιμοποιώντας φασματικές περιοχές που επιλέγονται από μια ειδική στρατηγική επιλογής μεταβλητών (Kupper et al., 2001). Η μέθοδος ATR-FTIR χρησιμοποιήθηκε για την ανίχνευση τυχόν περιπτώσεων ανάμιξης ηλιελαίου με EVOO. Μοντέλο διακριτικής ανάλυσης (DA) που χρησιμοποιεί 12 κύρια συστατικά που αναφέρθηκαν για την ακριβή ταξινόμηση όλων των δειγμάτων (100%). Σε μια μελέτη που διεξήχθη από τους Tay et al. (2002), το PLS χρησιμοποιήθηκε για την ακριβή πρόβλεψη διαφορετικών βαθμών νοθείας με εντυπωσιακό συντελεστή προσδιορισμού (R^2) 0,99.

Κατά την ανάλυση του EVOO, διαπιστώθηκε ότι οι εντάσεις ορισμένων ζωνών FTIR μειώθηκαν καθώς αυξήθηκαν τα επίπεδα νοθείας καλαμποκιού, σόγιας και ηλιάνθου. Συγκεκριμένα, επηρεάστηκαν οι ζώνες στα 1097, 1118 και 1163 cm^{-1} , καθώς και η αναλογία απορρόφησης των υψών των κορυφών στα 1118/1097 cm^{-1} . Μια άλλη συνέπεια της αυξημένης νοθείας ήταν μια μετατόπιση της κορυφής στα 912,78 cm^{-1} σε υψηλότερους κυματικούς αριθμούς. Για να βοηθήσουν στην ανίχνευση αυτών των ρύπων, δημιουργήθηκαν βιβλιοθήκες αναζήτησης και ποιοτικού ελέγχου και χρησιμοποιήθηκαν για τη σύγκριση καθαρών και μολυσμένων φασμάτων EVOO. Αυτή η μέθοδος βρέθηκε να έχει υψηλό ποσοστό ακρίβειας 96,15% στην πρόβλεψη άγνωστων δειγμάτων (Allam & Hamed, 2007). Μια άλλη μελέτη χρησιμοποίησε συμπίεση κυματιδίων για να συμπίεσει τα φάσματα MIR του καθαρού και νοθευμένου έξτρα παρθένου ελαιολάδου (EVOO) με διάφορα φυτικά έλαια πριν από τη διεξαγωγή ανάλυσης PCA. Η μελέτη διαπίστωσε ότι το όριο ανίχνευσης για τους νοθευτές ήταν 5%. Οι ερευνητές χρησιμοποίησαν επίσης PLS σε φασματικά δεδομένα που υποβλήθηκαν σε επεξεργασία με ορθογώνια διόρθωση σήματος και συμπίεση κυματιδίων. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι η πρόβλεψη των νοθευμένων ελαίων είχε ένα περιθώριο σφάλματος που κυμαίνεται από 1,04 έως 1,32 (Gurdeniz & Ozen, 2009). Σε μια ξεχωριστή μελέτη, η μέθοδος FTIR συνδυάστηκε με πολλαπλή γραμμική παλινδρόμηση για την εκτίμηση της σύνθεσης του EVOO νοθευμένου με φουντούκι, σόγια, καλαμπόκι και ηλιέλαιο. Η έρευνα έδειξε ότι η μέθοδος θα μπορούσε να προβλέψει έως και 5% χαμηλότερης ποιότητας φυτικά έλαια στο EVOO (Lerma-García et al., 2010). Το PLS χρησιμοποιήθηκε επίσης για την ανάλυση των φασματικών δεδομένων FTIR του EVOO που νοθεύτηκε με διάφορα φυτικά έλαια μετά τη χρήση του 1ου παραγώγου και του μέσου κεντραρίσματος ως προεπεξεργασία δεδομένων. Τα μοντέλα PLS που αναπτύχθηκαν μπορούν να χρησιμοποιηθούν

αποτελεσματικά για την πρόβλεψη μοντελοποιημένων νοθειών μαζί με την πρόβλεψη άγνωστων νοθειών (Maggio et al., 2010).

Η ανίχνευση του φοινικέλαιου στο EVOO επιτεύχθηκε μέσω της χρήσης PLS και PCR σε φασματικά δεδομένα FTIR, με τη βοήθεια διακριτικής ανάλυσης (DA) που είχε ως αποτέλεσμα 100% ακρίβεια στον εντοπισμό του καθαρού έναντι του νοθευμένου EVOO. Τα μοντέλα που αναπτύχθηκαν χρησιμοποιώντας PCR και PLS ήταν εξαιρετικά αποτελεσματικά στην πρόβλεψη του επιπέδου νοθείας στο EVOO, με τιμές R^2 0,999 και χαμηλές τιμές RMSECV 0,373 και 0,285, αντίστοιχα. Χρησιμοποιώντας μέσο κεντράρισμα και PLS σε κανονικοποιημένα φάσματα FTIR ($1200-900\text{ cm}^{-1}$ και $2949-2885\text{ cm}^{-1}$), αναπτύχθηκε ένα αξιόπιστο μοντέλο για την πρόβλεψη του EVOO σε ένα τεταρτοταγές μείγμα (EVOO, έλαιο σπόρων σταφυλιού, καρυδέλαιο και έλαιο πίτουρου ρυζιού). με υψηλή τιμή R^2 πάνω από 0,99, χαμηλό RMSEC 1,55% (v/v) και χαμηλό RMSEP 3,65% (v/v). (Rohman & Man, 2011).

Ο συνδυασμός ATR-FTIR και PLS-DA έχει βρεθεί ότι είναι εξαιρετικά αποτελεσματικός στην ακριβή αναγνώριση του καθαρού EVOO μεταξύ άλλων φυτικών ελαίων, με ποσοστό επιτυχίας 100%. Αυτή η μέθοδος μπορεί επίσης να διαφοροποιήσει μεταξύ επιπέδων περιεκτικότητας σε EVOO άνω του 50% και λιγότερο από 50% σε μείγματα λαδιών. Ωστόσο, κατά την προσπάθεια πρόβλεψης του περιεχομένου EVOO έως και 50% σε ένα μείγμα χρησιμοποιώντας PLS, υπήρξε υψηλό σφάλμα πρόβλεψης 8,28 (de la Mata et al., 2012). Ο προσδιορισμός της νοθείας του έξτρα παρθένου ελαιολάδου (EVOO) με διάφορα φυτικά έλαια διεξήχθη μέσω της χρήσης τεχνικών υπέρυθρων μετασχηματισμού Fourier (FTIR), μερικών ελαχίστων τετραγώνων (PLS) και μεταβλητής σημασίας των βαθμολογιών προβολής (VIP). Αυτή η μέθοδος οδηγεί στην πρόβλεψη του ηλιέλαιου και του σογιέλαιου στο EVOO στην περιοχή 1-24% (w / w) με σχετικά σφάλματα πρόβλεψης για το σύνολο εξωτερικής επικύρωσης > 3% (w/w). Σύμφωνα με μια μελέτη που διεξήχθη από τους Oussama et al. (2012), το μοντέλο PLS-DA βρέθηκε ότι είναι ικανό να προβλέψει με ακρίβεια την παρουσία ηλιέλαιου και σογιέλαιου σε εξαιρετικό παρθένο ελαιόλαδο με ποσοστό ακρίβειας 100%.

Η ποσότητα σησαμέλαιου που υπάρχει στο έξτρα παρθένο ελαιόλαδο μετρήθηκε χρησιμοποιώντας τυπικά φάσματα FTIR εντός συγκεκριμένων περιοχών συχνοτήτων. Αυτό συνδυάστηκε με το PLS για την ανάπτυξη ενός μοντέλου που ποσοτικοποιούσε με ακρίβεια την περιεκτικότητα σε σησαμέλαιο. Τα αποτελέσματα έδειξαν υψηλό επίπεδο ακρίβειας με τιμή R^2 0,99 και τιμές RMSEC και RMSEP 0,331% (v/v) και 1,01% (v/v), αντίστοιχα. Η αύξηση της συγκέντρωσης στεατικού και λινολεϊκού οξέος και η μείωση της συγκέντρωσης

παλμιτικού και ελαιϊκού οξέος με την προσθήκη σησαμέλαιου στο EVOO προσδιορίστηκαν με αεριοχρωματογραφία (GC) και αυτές οι παρατηρήσεις συμπληρώνουν το αποτέλεσμα που ελήφθη με τη χρήση FTIR (Rohman & Man, 2012a).

Προκειμένου να προσδιοριστεί η παρουσία και η ποσότητα καλαμποκιού και ηλιελαίου στο εξαιρετικό παρθένο ελαιόλαδο (EVOO), οι ερευνητές χρησιμοποίησαν τη φασματοσκοπία υπέρυθρων μετασχηματισμού Fourier (FTIR). Επέλεξαν συγκεκριμένα εύρη συχνοτήτων ($790-698\text{ cm}^{-1}$, $1076-860\text{ cm}^{-1}$ και $3027-3000\text{ cm}^{-1}$) για κάθε λάδι, με στόχο τον ακριβή εντοπισμό και τον ποσοτικό προσδιορισμό τυχόν νοθείας. Η ανάλυση διάκρισης που πραγματοποιήθηκε στα φάσματα FTIR οδήγησε σε μια τέλεια ταξινόμηση του καθαρού και του νοθευμένου EVOO. Επιπλέον, κανονικοποιημένα φάσματα FTIR χρησιμοποιήθηκαν σε ανάλυση μερικών ελαχίστων τετραγώνων (PLS) για να ποσοτικοποιηθεί η παρουσία αραβοσιτέλαου στο EVOO. Τα αποτελέσματα αυτής της ανάλυσης ήταν εξαιρετικά ακριβή, με τιμή R^2 0,99 και σφάλματα βαθμονόμησης/επικύρωσης 0,40% και 1,13%, αντίστοιχα. Συνολικά, το FTIR αποδείχθηκε αξιόπιστη και αποτελεσματική μέθοδος για τον εντοπισμό και τη μέτρηση της νοθείας στο EVOO. Προκειμένου να μετρήσουν την ποσότητα ηλιελαίου που υπάρχει στο εξαιρετικό παρθένο ελαιόλαδο, οι ερευνητές χρησιμοποίησαν το πρώτο παράγωγο φάσματα FTIR και PLS. Αυτή η μέθοδος είχε ως αποτέλεσμα μετρήσεις υψηλής ακρίβειας, με τιμή R^2 μεταξύ 0,99-1,00 και ελάχιστα σφάλματα τόσο στα σετ δειγμάτων βαθμονόμησης (0,034%) όσο και στα σετ δειγμάτων επικύρωσης (2,02%) (Rohman & Man, 2012b).

Τα φάσματα FTIR, τα οποία καλύπτουν το εύρος των $3020-3000\text{ cm}^{-1}$ και $1200-900\text{ cm}^{-1}$, έχουν χρησιμοποιηθεί επιτυχώς σε συνδυασμό με διακριτική ανάλυση για την ακριβή ταξινόμηση του καθαρού και του εξαιρετικά παρθένου ελαιόλαδου (EVOO) νοθευμένο με έλαιο πίτουρου ρυζιού. Επιπλέον, οι τεχνικές PLS και PCR έχουν χρησιμοποιηθεί αποτελεσματικά για την πρόβλεψη της ποσότητας του ελαίου από πίτουρο ρυζιού που υπάρχει στο EVOO. Η ανάλυση GC της σύνθεσης λιπαρών οξέων έδωσε επίσης αποτελέσματα σύμφωνα με εκείνα που λαμβάνονται μέσω ανάλυσης φασματικών δεδομένων FTIR (Rohman & Man, 2012c). Επιπλέον, η ανάλυση PLS χρησιμοποιώντας κανονικοποιημένα φάσματα FTIR που κυμαίνονται από $3028-2985\text{ cm}^{-1}$ και $1200-987\text{ cm}^{-1}$ έχει αποδειχθεί ότι παρέχει εξαιρετικά ακριβείς προβλέψεις της περιεκτικότητας σε λάδι canola στο EVOO, με τιμή R^2 0,99 και RMSEC 0,108 % (v/v). Η διακριτική ανάλυση που βασίζεται στην ίδια φασματική περιοχή FTIR έχει επίσης βρεθεί ότι ταξινομεί αξιόπιστα το καθαρό και το νοθευμένο EVOO με ακρίβεια 100% (Rohman, Man, & Yusof, 2014).

Οι μέθοδοι ταξινόμησης πλησιέστερων κεντροειδών και PLS εφαρμόστηκαν σε δεδομένα FTIR χαμηλής διάστασης και χρησιμοποιήθηκαν για την ταξινόμηση και τον ποσοτικό προσδιορισμό των περιεχομένων βρώσιμων ελαίων στο EVOO. Τα δεδομένα FTIR μετά την προεπεξεργασία (πρώτα παράγωγα, εξομάλυνση και μέσο κεντράρισμα) οδήγησαν σε ελάχιστο ποσοστό εσφαλμένης ταξινόμησης στο σετ εκπαίδευσης (1,01%) και στο σετ δοκιμής (3,42%). Διάφορες μελέτες έχουν αποδείξει την αποτελεσματικότητα των φασματοσκοπικών τεχνικών στην ανίχνευση νοθευτών σε βρώσιμα έλαια. Μια μελέτη χρησιμοποίησε προεπεξεργασμένα δεδομένα FTIR στη δημιουργία μοντέλων PLS για το σύνολο επικύρωσης, με αποτέλεσμα υψηλές τιμές R2 που κυμαίνονται από 0,98 έως 0,99, καθώς και χαμηλές τιμές RMSE στο σύνολο δοκιμής (Sun et al., 2015). Μια άλλη μελέτη χρησιμοποίησε φασματοσκοπία MIR και PLS για να ποσοτικοποιήσει με ακρίβεια τη νοθεία EVOO με σογιέλαιο, επιτυγχάνοντας τιμή R2 άνω του 0,98 και RMSEP 4,89% (Mendes et al., 2015). Επιπρόσθετα, η φασματοσκοπία FTIR σε συνδυασμό με την τεχνική Continuous Locity Preserving Projections (CLPP) και τον αλγόριθμο kNN χρησιμοποιήθηκε σε μια μελέτη για την ταυτοποίηση του ελαίου φουντουκιού στο EVOO. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι το CLPP και το kNN είχαν καλύτερες επιδόσεις σε σύγκριση με τα SIMCA και PLS-DA (Georgouli et al., 2017). Αυτά τα ευρήματα υπογραμμίζουν τις δυνατότητες των φασματοσκοπικών τεχνικών για την ανίχνευση και τον εντοπισμό νοθευτών στα βρώσιμα έλαια, κάτι που μπορεί τελικά να βοηθήσει στη διασφάλιση της ποιότητας και της αυθεντικότητας αυτών των προϊόντων.

3.2.2. Εφαρμογή φασματοσκοπίας εγγύς υπέρυθρης ακτινοβολίας (NIR) για την ανίχνευση νοθευμένου εξαιρετικού παρθένου ελαιολάδου

Το NIR μαζί με την ανάλυση κύριων συστατικών (PCA) χρησιμοποιήθηκε με επιτυχία (75%) για την πρόβλεψη του ηλιελαίου, του καλαμποκιού και του ακατέργαστου πυρηνελαίου στο EVOO. Σε πρόσφατες μελέτες, βρέθηκε ότι η χρήση φασμάτων NIR σε συνδυασμό με τροποποιημένο PLS είχε ως αποτέλεσμα υψηλό επίπεδο ακρίβειας, με 98% σωστή πρόβλεψη της συγκέντρωσης νοθείας στο EVOO (Wesley et al., 1995). Επιπλέον, το NIRS σε συνδυασμό με το PCA έχει αποδειχθεί αποτελεσματικό στον ακριβή εντοπισμό της παρουσίας ηλιάνθου, canola και σογιέλαιου στο EVOO στην πλειονότητα των περιπτώσεων. Η χρήση του PLS έχει επίσης δείξει πολλά υποσχόμενη στον ποσοτικό προσδιορισμό των επιπέδων νοθείας, με τη διασταυρούμενη επικύρωση και την εξωτερική επικύρωση να υποδεικνύουν ακρίβεια $\pm 0,9\%$ και $\pm 2,77\%$, αντίστοιχα. Αυτά τα ευρήματα υποδηλώνουν ότι η νοθεία του EVOO μπορεί να μετρηθεί αξιόπιστα χρησιμοποιώντας αυτές τις μεθόδους (Wesley et al., 1996).

Σύμφωνα με μια μελέτη που έγινε από τους Downey et al. Το 2002, ο συνδυασμός ορατής και φασματοσκοπίας εγγύς υπέρυθρης ακτινοβολίας με μαλακή ανεξάρτητη μοντελοποίηση αναλογίας κλάσης (SIMCA) μπόρεσε να διακρίνει με ακρίβεια το καθαρό και το νοθευμένο έξτρα παρθένο ελαιόλαδο (EVOO) με ποσοστό επιτυχίας 100%. Αυτό επιτεύχθηκε με την ανάλυση της πρώτης παραγώγου της φασματικής περιοχής μεταξύ 1100-2498 nm τόσο στα σύνολα βαθμονόμησης όσο και στα σύνολα πρόβλεψης. Η συγκέντρωση νοθείας στο EVOO προβλέφθηκε επίσης με επιτυχία χρησιμοποιώντας μερικά ελάχιστα τετράγωνα (PLS), με σφάλμα πρόβλεψης διασταυρούμενης επικύρωσης μόνο 0,8%. Μια νέα μέθοδος που χρησιμοποιεί φασματοσκοπία διάχυτης απορρόφησης φωτός (μέτρηση απορρόφησης φωτός από 400 έως 1700 νανόμετρα) χρησιμοποιήθηκε για να προσδιοριστεί εάν το ελαιόλαδο ήταν καθαρό ή νοθευμένο με έλαια χαμηλότερης ποιότητας. Αυτή η τεχνική δεν επηρεάζεται από τη διασπορά και βρέθηκε ότι είναι αποτελεσματική στην πρόβλεψη και τη διάκριση των νοθευμένων δειγμάτων. Οι ερευνητές χρησιμοποίησαν εφαρμογή PCA και γραμμική διακριτική ανάλυση (LDA) για να αναλύσουν τα φασματικά δεδομένα. Αυτή η μέθοδος ήταν επιτυχής στη διαφοροποίηση μεταξύ καθαρού και νοθευμένου δειγμάτων ελαιολάδου (Mignani et al., 2011).

Ένα πρωτόκολλο που αναπτύχθηκε πρόσφατα και χρησιμοποιεί τεχνολογία γρήγορου μετασχηματισμού Fourier και Near-Infrared (NIR) έχει επικυρώσει με επιτυχία το Εξαιρετικό Παρθένο Ελαιόλαδο (EVOO), ενώ ανιχνεύει επίσης τον τύπο και το επίπεδο νοθείας. Πριν από αυτή την εξέλιξη, η διαδικασία απαιτούσε πολλαπλές αναλυτικές διαδικασίες και ήταν χρονοβόρα και εντατική (Azizian et al., 2016). Μια άλλη μελέτη έδειξε ότι η φασματοσκοπία NIR και το PLS ήταν αποτελεσματικά στον ποσοτικό προσδιορισμό του σογιέλαιου σε νοθευμένο EVOO, με υψηλό επίπεδο ακρίβειας ($R^2 > 0,98$ και RMSEP 1,76%) (Mendes et al., 2015).

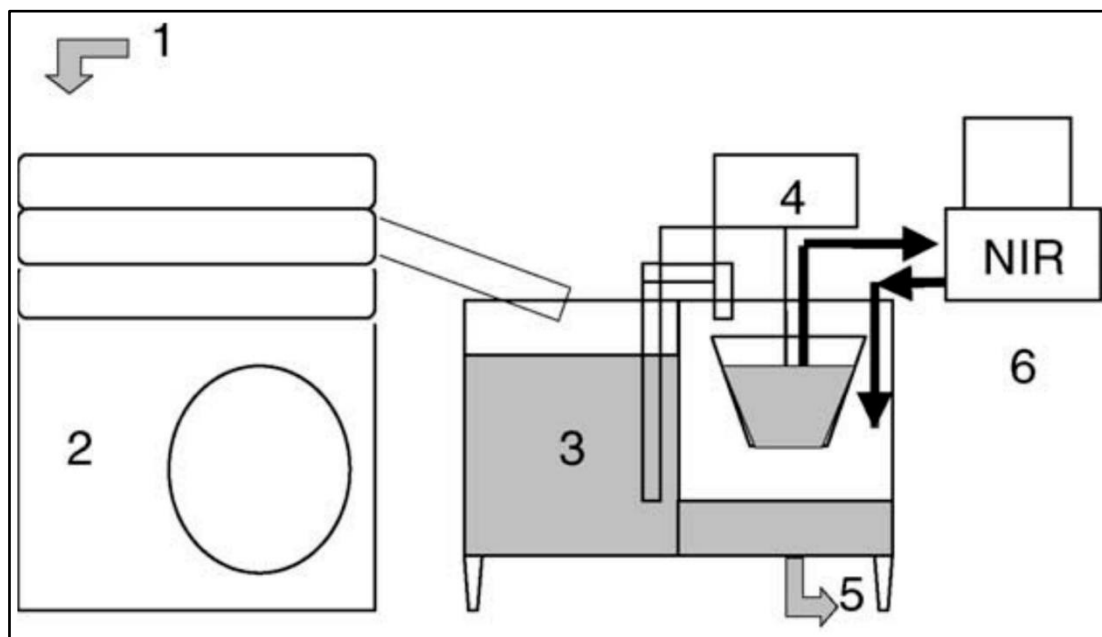
3.2.3. Εφαρμογή φασματοσκοπίας κοντινού υπέρυθρου (NIR) για την ανίχνευση νοθευμένου έξτρα παρθένου ελαιολάδου

Η φασματοσκοπία υπέρυθρων είναι μια δονητική φασματοσκοπία, όπως η φασματοσκοπία Raman. Όταν ένα μόριο απορροφά ακτινοβολία στην περιοχή του κοντινού υπέρυθρου (NIR), είναι επειδή η ενέργεια της ακτινοβολίας αντιστοιχεί στη διαφορά ενέργειας μεταξύ δύο επιπέδων δόνησης μέσα στο μόριο. Επιπλέον, το μόριο πρέπει να βιώσει μια αλλαγή στη διπολική ροπή για να συμβεί απορρόφηση, παρόμοια με αυτή που συμβαίνει στην περιοχή του μεσαίου υπέρυθρου. Ωστόσο, σε αντίθεση με το εύρος των μεσαίων υπέρυθρων, οι

θεμελιώδεις ζώνες δόνησης (όπου ο κβαντικός αριθμός δόνησης αλλάζει κατά ένα) δεν φαίνονται στο φάσμα NIR. Αντίθετα, παρατηρούνται απορροφήσεις λόγω των αποχρώσεων και των ζωνών συνδυασμού. Οι ζώνες υπερτονικών εμφανίζονται όταν ο δονητικός κβαντικός αριθμός αλλάζει κατά περισσότερους από έναν, με μόνο τον πρώτο (αλλαγή στον κβαντικό αριθμό δύο) και τον δεύτερο (αλλαγή στον κβαντικό αριθμό τριών) να εμφανίζονται συνήθως ανάλογα με τον τύπο των δεσμών στο μόριο. Οι ζώνες συνδυασμού εμφανίζονται μόνο σε πολυατομικά μόρια και οφείλονται σε ταυτόχρονες αλλαγές στην ενέργεια δύο ή περισσότερων τρόπων δόνησης. Επομένως, το εγγύς υπέρυθρο φάσμα είναι το αποτέλεσμα της αλλαγής της μοριακής διπολικής ροπής κατά τη διάρκεια της δόνησης. Οι κορυφές απορρόφησης στο φάσμα του κοντινού υπέρυθρου (NIR) είναι συχνά αδύναμες και ευρείες επειδή επηρεάζονται από τις λειτουργικές ομάδες των χημικών συστατικών. Για παράδειγμα, οι εκτάσεις C=O και O-H σε μόρια CO₂ και νερού, αντίστοιχα, είναι πολικές λειτουργικές ομάδες που έχουν σημαντική απορρόφηση στο φάσμα NIR. Η φασματοσκοπία εγγύς υπέρυθρης ακτινοβολίας είναι πιο κατάλληλη για ποσοτική ανάλυση παρά για ταυτοποίηση ένωσης, αν και μπορεί ακόμα να παρέχει κάποιες πληροφορίες για λειτουργικές ομάδες. Λόγω της μη καταστροφικής, χαμηλού κόστους και ταχείας φύσης της, η φασματοσκοπία NIR θεωρείται μια ισχυρή αναλυτική τεχνική για τον προσδιορισμό των ενώσεων και των παραμέτρων στα τρόφιμα. Ένα από τα πιο σημαντικά πλεονεκτήματα της χρήσης φασματοσκοπίας εγγύς υπέρυθρης ακτινοβολίας είναι ότι δεν απαιτεί τη χρήση αντιδραστηρίων ή την παραγωγή αποβλήτων. Επιπλέον, παρέχει ένα ασφαλές περιβάλλον εργασίας και επιτρέπει τις ηλεκτρονικές μετρήσεις, γεγονός που ανοίγει ένα ευρύ φάσμα δυνατοτήτων για μελλοντικές εφαρμογές. Αυτά τα οφέλη καθιστούν τη φασματοσκοπία εγγύς υπέρυθρη ακτινοβολία μια ιδιαίτερα επιθυμητή μέθοδο για τη βιομηχανία τροφίμων (García Martín, 2022).

Ένα φασματόμετρο NIR αποτελείται από πολλά εξαρτήματα, συμπεριλαμβανομένης μιας πηγής ακτινοβολίας, ενός επιλογέα μήκους κύματος, μιας υποδοχής δείγματος και ενός ανιχνευτή. Η πηγή ακτινοβολίας είναι συνήθως μια λυχνία αλογόνου βολφραμίου-νήματος-φωτιάς με παράθυρο χαλαζία. Ο επιλογέας μήκους κύματος είναι συνήθως μια συσκευή διασποράς, ενώ ο ανιχνευτής κατασκευάζεται συχνά από ημιαγωγούς όπως τα InGaAs και PbS. Στις αρχές του 20^{ου} αιώνα, πραγματοποιήθηκαν πολυάριθμες μελέτες σχετικά με την εφαρμογή της τεχνολογίας NIRS για την ανάλυση των ποιοτικών χαρακτηριστικών του ελαιολάδου σε διάφορα στάδια της διαδικασίας εξαγωγής λαδιού στα ελαιοτριβεία. Ως αποτέλεσμα, ο εξοπλισμός NIRS εφαρμόστηκε σε μια γραμμή παραγωγής ελαιολάδου για τη

συλλογή δειγμάτων σε δύο βασικά σημεία: την έξοδο της φυγόκεντρου διαύγασης και τη χοάνη όπου το λάδι ζυγίζεται σε συνεχή βάση. Αυτό μπορεί να παρατηρηθεί στο σχήμα 7 μιας μελέτης που διεξήχθη από τον Marquez και τους συνεργάτες του το 2005 (Marquez et al., 2005). Επιπλέον, η χρήση της τεχνολογίας NIRS έχει επεκταθεί για την ανάπτυξη ενός συστήματος για τη διασφάλιση της ποιότητας του ελαιολάδου με την ανίχνευση τυχόν μολύνσεων από άλλα έλαια όπως ηλιέλαιο, αραβοσιτέλαιο και ακατέργαστο ελαιόλαδο. Έχει επίσης χρησιμοποιηθεί για τη διάκριση μεταξύ ελαιολάδων που ανήκουν σε διαφορετικές ονομασίες προέλευσης (García Martín, 2022).



Εικόνα 7. Σχηματική απεικόνιση εισαγωγής αισθητήρα NIRS στο τελευταίο πέρασμα στη διαδικασία εξαγωγής ελαιολάδου: (1) λάδι από οριζόντια φυγόκεντρική καράφα. (2) κάθετη φυγόκεντρος για διαύγαση λαδιού. (3) δεξαμενή για καθίζηση λαδιού. (4) συνεχής ζύγιση λαδιού. (5) σε δοχείο αποθήκευσης λαδιού. (6) Εξοπλισμός NIRS. Πηγή: García Martín,

2022

Αρκετές μελέτες έχουν δείξει ότι η χρήση φασματοσκοπικών τεχνικών όπως η φασματοσκοπία ορατής και εγγύς υπέρυθρης ακτινοβολίας, μαζί με ανεξάρτητη μοντελοποίηση αναλογίας κλάσης (SIMCA) και μερικά ελάχιστα τετράγωνα, μπορεί να ταξινομήσει με ακρίβεια το αγνό και νοθευμένο έξτρα παρθένο ελαιόλαδο. Σε μια μελέτη, ένα 1ο παράγωγο της φασματικής περιοχής μεταξύ 1100-2498 nm χρησιμοποιήθηκε για την επίτευξη 100% ακρίβειας τόσο στα σύνολα πρόβλεψης όσο και στα σύνολα βαθμονόμησης. Επιπλέον, εφαρμόστηκε μια νέα τεχνική που βασίζεται στη φασματοσκοπία απορρόφησης διάχυτου φωτός για τη διάκριση

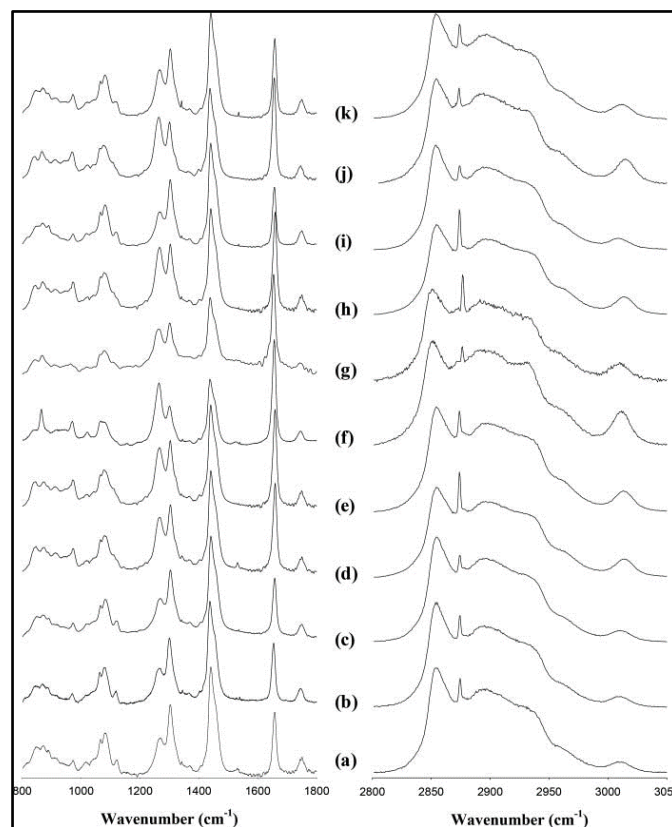
μεταξύ καθαρών και νοθευμένων EVOO και προέβλεψε επιτυχώς τη συγκέντρωση νοθείας με χαμηλό σφάλμα πρόβλεψης διασταυρούμενης επικύρωσης περί το 0,8% (Downey, McIntyre, & Davies, 2002). Αναπτύχθηκε μια νέα μέθοδος για τον προσδιορισμό της ποιότητας του ελαιολάδου, η οποία χρησιμοποιεί φασματοσκοπία διάχυτης απορρόφησης φωτός για να ανιχνεύσει αλλαγές στο φάσμα φωτός μεταξύ 400 και 1700 νανόμετρων. Αυτή η μέθοδος δεν επηρεάζεται από τη διασπορά και έχει χρησιμοποιηθεί για τη διάκριση μεταξύ καθαρών και νοθευμένων ελαιολάδων χαμηλότερης ποιότητας. Χρησιμοποιώντας την ανάλυση των κύριων συστατικών και την ανάλυση γραμμικής διάκρισης, οι ερευνητές μπόρεσαν να προβλέψουν με ακρίβεια εάν τα δείγματα ελαιολάδου είχαν νοθευθεί ή όχι. (Mignani et al., 2011). Ομοίως, η φασματοσκοπία κοντά στο υπέρυθρο, σε συνδυασμό με μερικά ελάχιστα τετράγωνα, ήταν επίσης επιτυχής στην ανίχνευση της παρουσίας σογιέλαιου σε νοθευμένο ελαιόλαδο με υψηλή ακρίβεια ($R^2 > 0,98$ και RMSEP 1,76%) (Mendes et al., 2015). Αυτές οι εξελίξεις έχουν καταστήσει ευκολότερο τον εντοπισμό πρακτικών απάτης στη βιομηχανία ελαιολάδου και τη διασφάλιση της ποιότητας των προϊόντων που είναι διαθέσιμα στους καταναλωτές

3.2.4. Εφαρμογή φασματοσκοπίας Raman για την ανίχνευση νοθευμένου εξαιρετικού παρθένου ελαιολάδου

Η φασματομετρία, Raman έχει χρησιμοποιηθεί για τον προσδιορισμό των cis και trans σομερών των ακόρεστων λιπαρών οξέων στα έλαια. Η μέθοδος μπορεί επίσης να χρησιμοποιηθεί για τον εντοπισμό της παρουσίας δόλιων ουσιών στο παρθένο ελαιόλαδο. Με εξευγενισμένα έλαια, όπως σπορέλαια, εξευγενισμένο ελαιόλαδο και πυρηνέλαιο, γιατί κατά τον εξευγενισμό, Σχηματίζονται trans ισομερή των ακόρεστων λιπαρών οξέων (Κυριτσάκης, 2007).

Το 1936, ο Ch. O V. Jogaao χρησιμοποίησε για πρώτη φορά τη φασματοσκοπία Raman για να αναλύσει διάφορα φυτικά έλαια, όπως το αραχιδέλαιο και το λάδι καρύδας. Εντοπίζοντας συγκεκριμένες ζώνες στα φάσματα, ο Jogaao μπόρεσε να προσδιορίσει το κύριο συστατικό του γκι. Ωστόσο, αυτή η πρώιμη μέθοδος απαιτούσε μεγάλο χρόνο έκθεσης 48 ωρών, καθώς και δύο ξεχωριστές καταγραφές φασμάτων με και χωρίς διάλυμα θειικής κίνινης για την απόσβεση του φθορισμού. Επιπλέον, τα φασματοόμετρα Raman ήταν δαπανηρά και συχνά έπρεπε να κατασκευαστούν κατά παραγγελία. Παρά τα ελπιδοφόρα αρχικά αποτελέσματα, η φασματοσκοπία Raman δεν χρησιμοποιήθηκε ξανά για ανάλυση λαδιού μέχρι τη δεκαετία του 1970, όταν χρησιμοποιήθηκε για την αξιολόγηση της cis/trans ισομερικής σύνθεσης των ελαίων αναλύοντας τις ζώνες στα 1656 cm^{-1} και 1670 cm^{-1} . Η αντιστοίχιση των δονήσεων

τάνυσης στους δεσμούς CHC και CHO, καθώς και οι δονήσεις ψαλιδιού σε ομάδες CH₂, κατέστη δυνατή για μια ποικιλία λιπαρών εστέρων και τριγλυκεριδίων σε διάφορες διαμορφώσεις. Το δυναμικό της φασματοσκοπίας Raman στον προσδιορισμό των αναλογιών ισομερών σε βρώσιμα έλαια αποδείχθηκε χρησιμοποιώντας τους κυματοαριθμούς που ελήφθησαν για τους διπλούς δεσμούς σε ελαϊκό, λινολεϊκό και λινολενικό οξύ σε διαμορφώσεις cis και trans. Αυτό επέτρεψε την εκτίμηση των αναλογιών cis και trans ισομερών σε μεταβλητά υδρογονωμένα σογιέλαια. Με τα χρόνια, οι ερευνητές μπόρεσαν να αναγνωρίσουν με σιγουριά τις συγκεκριμένες ζώνες στα φάσματα Raman που αντιστοιχούν στα περισσότερα βρώσιμα φυτικά έλαια. Μέσω των ερευνών τους, καθορίστηκε ότι οι ζώνες εντός των περιοχών 800-1800 και 2800-3050 cm⁻¹ ήταν κατάλληλες για σκοπούς αναγνώρισης. Από τότε έχουν διεξαχθεί πολλαπλές μελέτες για να αναφέρουν τις ζώνες Raman διαφόρων φυτικών ελαίων και διαπιστώθηκε ότι υπάρχει μικρή διακύμανση μεταξύ των ελαίων σε αυτές τις ζώνες. Το Σχήμα 8 δείχνει τις δύο φασματικές περιοχές για διαφορετικά έλαια, όπως παρατηρήθηκε σε μια μελέτη από των Jiménez-Sanchidrián et al. (2016).



Εικόνα 8. Φάσματα Raman για διαφορετικά φυτικά έλαια φυτικών ελαίων: (α) εξαιρετικά παρθένα ελαιόλαδα. b) ραφιναρισμένα ελαιόλαδα· (c) πυρηνέλαιου· (d) καλαμπόκι· (e)

ηλιάνθος· f) λιναρόσπορος· g) σιτάρι· (h) σόγια· (i) macadamia; (j) καρυδιά· και (k) καρύδι πεκάν. Πηγή: Jiménez-Sanchidrián, et al., 2016

Μέσω της συνδυασμένης χρήσης της φασματοσκοπίας Raman, των μερικών ελαχίστων τετραγώνων (PLS) και του γενετικού προγραμματισμού, τα φουντουκέλαια σε εξαιρετικό παρθένο ελαιόλαδο (EVOO) μπόρεσαν να προβλεφθούν με υψηλή τιμή μέσου τετραγώνου σφάλματος πρόβλεψης (RMSEP) 0,98. Αυτή η προσέγγιση επέτρεψε τον ακριβή και αποτελεσματικό προσδιορισμό της παρουσίας φουντουκέλαιου στο EVOO. Το PCA χρησιμοποιήθηκε επίσης στα φάσματα Raman για την επιτυχή διάκριση μεταξύ χημικά πανομοιότυπων ελαίων (Lopez-Diez et al., 2003). Οι Heise et al. (2005) χρησιμοποίησαν έναν συνδυασμό φασμάτων μετασχηματισμού Fourier-Raman, μερικών ελαχίστων τετραγώνων (PLS) και μεθόδου επιλογής μεταβλητής Tabu για να δημιουργήσουν ένα ενιαίο μοντέλο για την πρόβλεψη της παρουσίας ηλιέλαιου σε εξαιρετικό παρθένο ελαιόλαδο (EVOO) από τρία διαφορετικά έτη συγκομιδής. Η προσέγγισή τους παρήγαγε ένα τυπικό σφάλμα πρόβλεψης (SEP) 1,4%.

Η ανάλυση PCA των φασμάτων ορατού (Vis)-Raman του καθαρού και του EVOO νοθευμένου με ηλιέλαιο οδήγησε σε επιτυχή διάκριση του καθαρού και του EVOO με νοθευτικό έλαιο τόσο χαμηλό όσο $\leq 5\%$. Το επίπεδο νοθείας σε δείγματα λαδιού μπορεί να προβλεφθεί με ακρίβεια μέσω της χρήσης της παλινδρόμησης PLS σε φασματικά δεδομένα, με αποτέλεσμα υψηλή τιμή R^2 0,97 και χαμηλό RMSECV 0,036, όπως αναφέρεται από τους El-Abassy et al. (2009). Μια άλλη μέθοδος για τη διάκριση μεταξύ καθαρού και νοθευμένου έξτρα παρθένου ελαιόλαδου (EVOO) περιλαμβάνει τη χρήση της φασματοσκοπίας Raman. Αναλύοντας την αναλογία έντασης των ζωνών στα 1441 cm^{-1} και 1657 cm^{-1} και σχεδιάζοντας τις σε ένα δισδιάστατο γράφημα, μια γραμμή στο $y = 0,7$ μπορεί να χρησιμοποιηθεί για τη διαφοροποίηση μεταξύ καθαρού EVOO και νοθευμένων δειγμάτων που περιέχουν φυτικά έλαια. Αυτή η προσέγγιση είναι ικανή να προσδιορίσει το καθαρό EVOO με ποσοστό νοθείας $\geq 5\%$, σύμφωνα με τους Zou et al. (2009).

Σε μια ξεχωριστή ερευνητική μελέτη, τα φάσματα Raman εντός της περιοχής $1000\text{-}1800\text{ cm}^{-1}$ χρησιμοποιήθηκαν για την ανίχνευση της παρουσίας καλαμποκιού, ηλιέλαιου και σογιέλαιου στο EVOO. Μια συγκεκριμένη ζώνη στα 1441 cm^{-1} χρησιμοποιήθηκε ως σημείο αναφοράς για την ομαλοποίηση της έντασης των ζωνών δόνησης Raman. Χρησιμοποιήθηκαν δύο μέθοδοι για τον ποσοτικό προσδιορισμό των νοθευτών που υπάρχουν στο EVOO: μηχανές Διανυσμάτων Υποστήριξης ΜΔΥ (Support Vector Machines, SVM) και μέθοδο εξωτερικού

προτύπου (ESM) (ESM). Η προσέγγιση που βασίζεται στη ESM βρέθηκε να είναι μια αξιόπιστη τεχνική για τον εντοπισμό νοθείας στο EVOO με διάφορα βρώσιμα έλαια, όπως συμπέραναν οι Zhang et al. (2011).

Σε άλλη έρευνα, η τεχνική Raman μικρής εμβέλειας χρησιμοποιήθηκε για τον εντοπισμό οποιασδήποτε νοθείας στο EVOO με έλαιο canola και σταφυλιού από απόσταση έως και 1 μέτρου. Η ευαισθησία της τεχνικής μειώθηκε από 2,5 σε 5% της νοθείας καθώς η απόσταση αυξήθηκε από 15 cm σε 1 m. Η μελέτη χρησιμοποίησε επίσης ένα φάσμα Raman τόσο καθαρού όσο και νοθευμένου EVOO με διακυμάνσεις θερμοκρασίας για να διακρίνει τους νοθευτές. Οι μοριακές δομές και των δύο ομάδων οδήγησαν σε εξαρτώμενες από τη θερμοκρασία διακυμάνσεις της έντασης και του σχεδίου των φασμάτων, γεγονός που ενίσχυσε τελικά την ακρίβεια του ελέγχου ταυτότητας. Το χαμηλότερο σφάλμα διάκρισης 8,0% επιτεύχθηκε μέσω φασματικών μετρήσεων ενός καθαρού και νοθευμένου δείγματος σε θερμοκρασία -36,4 °C (Ryoo et al., 2017). Μια άλλη μελέτη ανέφερε επίσης τη χρήση της τεχνικής συνεχούς διατήρησης της τοποθεσίας (CLPP) και του αλγορίθμου k-πλησιέστερων γειτόνων (kNN) σε συνδυασμό με τη φασματοσκοπία Raman για την ταυτοποίηση του ελαίου φουντουκιού στο EVOO. Σε μελέτη που έγινε από τους Georgouli et al., (2017), σημειώθηκε ότι ο συνδυασμός CLPP και kNN επέδειξε ανώτερη απόδοση σε σύγκριση με άλλες προηγμένες μεθόδους αναγνώρισης προτύπων, συμπεριλαμβανομένων των SIMCA και PLS-DA. Αυτό υποδηλώνει ότι η χρήση του CLPP και του kNN θα μπορούσε ενδεχομένως να ενισχύσει την ακρίβεια και την αξιοπιστία των τεχνικών αναγνώρισης προτύπων σε διάφορους τομείς.

Μια πρόσφατη ερευνητική μελέτη εξέτασε την αποτελεσματικότητα της φασματοσκοπίας Raman και της ορατής φασματοσκοπίας στον εντοπισμό νοθείας στο κρητικό εξαιρετικό παρθένο ελαιόλαδο (EVOO) με ηλιέλαιο. Τα αποτελέσματα αποκάλυψαν ότι η φασματοσκοπία Raman, σε συνδυασμό με το PLS, ήταν πιο ακριβής στην ανίχνευση νοθείας, με όριο ανίχνευσης 3,5%. Αντίθετα, η ορατή φασματοσκοπία είχε όριο ανίχνευσης 5,5% και ήταν λιγότερο αποτελεσματική (Philippidis et al., 2017). Η φορητή φασματοσκοπία Raman μαζί με τη μοντελοποίηση του διαστήματος συνέργειας μερικού ελαχίστου τετραγώνου (SiPLS) και διαστήματος μερικού ελαχίστου τετραγώνου (iPLS) περιγράφηκε για την αποτελεσματική ανίχνευση νοθείας του EVOO με χρησιμοποιημένο μαγειρικό λάδι. Το 2018, οι Li et al. (2018) διαπίστωσαν ότι η χρήση τυπικής κανονικής μεταβλητής (SNV) επεξεργασμένων φασματικών δεδομένων σε συνδυασμό με το SiPLS οδήγησε στην πιο αποτελεσματική μοντελοποίηση και πρόβλεψη νοθείας. Αυτή η προσέγγιση είχε ως αποτέλεσμα χαμηλό RMSEC 0,0503 και ριζικό μέσο τετραγωνικό σφάλμα επικύρωσης

(RMSEV) 0,0485. Οι ερευνητές κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι αυτή η μέθοδος ήταν ανώτερη από άλλες τεχνικές στον εντοπισμό της νοθείας στα δείγματα.

Οι φασματοσκοπικές τεχνικές δόνησης παράγουν σημαντικό όγκο φασματικών δεδομένων, καθιστώντας αναγκαία τη χρήση χημειομετρικών εργαλείων για την εξαγωγή σχετικών πληροφοριών. Αυτές οι τεχνικές απαιτούν επίσης μεγάλο αριθμό δειγμάτων και ακριβή δεδομένα αναφοράς. Η εφαρμογή χημειομετρικών εργαλείων είναι μια χρονοβόρα και κουραστική διαδικασία που απαιτεί εξειδικευμένες γνώσεις, περιορίζοντας έτσι τη δυνατότητα εφαρμογής της φασματοσκοπίας δόνησης. Για να αναλυθεί το EVOO νοθευμένο με διάφορα φυτικά έλαια κατώτερης ποιότητας, το μοντέλο πρέπει να ενημερώνεται τακτικά ώστε να περιλαμβάνει ένα ευρύ φάσμα EVOO και νοθευτών και να ανακατασκευάζεται για να εξετάζονται δείγματα εντός διαφορετικών ορίων. Η μεταφορά φασματικών δεδομένων και μοντέλων μεταξύ οργάνων είναι εξαιρετικά σημαντική. Είναι απαραίτητο να συγκεντρωθούν αξιόπιστα φασματικά δεδομένα από διάφορες τοποθεσίες και αγορές προκειμένου να δημιουργηθούν τράπεζες φασματικών δεδομένων που μπορούν να χρησιμοποιηθούν από ρυθμιστικούς οργανισμούς για τη δημιουργία μοντέλων βαθμονόμησης. Το πεδίο της φασματοσκοπίας δόνησης έχει γνωρίσει σημαντικές προόδους λόγω της ανάπτυξης νέου υλικού, ευαίσθητων ανιχνευτών, αποδοτικών οπτικών συστημάτων και λογισμικού. Ως αποτέλεσμα, αναμένεται ότι οι ρυθμιστικοί φορείς θα εφαρμόσουν σύντομα τυποποιημένες μεθόδους που βασίζονται σε τεχνικές φασματοσκοπίας δόνησης.

3.3. Ανίχνευση νοθευμένου εξαιρετικού παρθένου ελαιολάδου με άλλες φασματοσκοπικές τεχνικές

3.3.1 Εφαρμογή φασματοσκοπίας υπεριώδους-ορατού (UV-Vis) για την ανίχνευση νοθευμένου εξαιρετικού παρθένου ελαιολάδου

Άλλες φασματοσκοπίες που εφαρμόζονται στη μελέτη του ελαιολάδου σχετίζονται με την απορρόφηση του φωτός UV-Vis (φασματοσκοπία απορρόφησης UV-Vis) και με την εκπομπή φθορισμού στην περιοχή UV-Vis (φασματοσκοπία φθορισμού). Στον τομέα των δοκιμών ποιότητας και γνησιότητας ελαιολάδου, έχει εμφανιστεί μια νέα τεχνική, η οποία χρησιμοποιείται μόνο τον τελευταίο καιρό. Συγκεκριμένα, αυτή η τεχνική εστιάζει στην ανάλυση της περιεκτικότητας σε χλωροφύλλη των φρέσκων έναντι των μη φρέσκων ελαίων (El Orche et al., 2020), καθώς και των φασματικών προφίλ εκπομπής που προκύπτουν από την παρουσία πολυφαινόλων στο ελαιόλαδο (Ali et al., 2020). Η φασματοσκοπία απορρόφησης UV-Vis είναι ένα ισχυρό εργαλείο για την ανίχνευση μικρών ποσοτήτων χρωστικών στο ορατό

εύρος (περίπου 400 nm έως 800 nm) και άλλων ενώσεων που βρίσκονται στο ελαιόλαδο, όπως πολυφαινόλες, υπεροξειδία και παράγωγα λιπαρών οξέων. Αυτή η τεχνική είναι ιδιαίτερα χρήσιμη για την ανίχνευση προϊόντων οξείδωσης στην περιοχή UV (περίπου 230 nm έως 400 nm) που μπορεί να συμβεί στα ελαιόλαδα. Οι ερευνητές χρησιμοποίησαν επιτυχώς φασματοσκοπία UV-Vis με πολυπαραγοντική ανάλυση για να προσδιορίσουν εάν τα εξαιρετικά παρθένα ελαιόλαδα έχουν νοθευτεί με έλαια χαμηλότερης ποιότητας (Torrecilla et al., 2010). Συνδυάστηκε επίσης με ηλεκτρονική μύτη για την επαλήθευση της γεωγραφικής προέλευσης των EVOO (Casale et al., 2007) και με άλλες μη επιλεκτικές (φασματοσκοπία κοντινού και μέσου υπέρυθρου) και επιλεκτικές τεχνικές για τον χαρακτηρισμό των ελαιόλαδων Προστατευόμενης Ονομασίας Προέλευσης (ΠΟΠ) (Casale et al., 2012). Το 2014, οι Gonçaves et al. (2014) χρησιμοποίησαν φασματοσκοπική μεθοδολογία για να αναλύσουν τις θερμικές ιδιότητες διαφόρων τύπων βρώσιμων ελαίων. Αυτή η καινοτόμος τεχνική επέτρεψε μια πιο ενδελεχή εξέταση της χημικής σύνθεσης και της συμπεριφοράς των ελαίων σε διαφορετικές θερμοκρασίες. Πρόσφατα, εφαρμόστηκε μια νέα μέθοδος για τον προσδιορισμό και τον ποσοτικό προσδιορισμό της κύριας περιεκτικότητας σε χρωστική ουσία που βασίζεται στην αποσυνέλιξη των φασμάτων απορρόφησης σχεδόν UV-Vis των ελαιολάδων (Borello & Domenici, 2019) και εφαρμόστηκε στη μελέτη των EVOOs που παράγονται σε διαφορετικές μεσογειακές χώρες (Lazzerini et al., 2017) και κατά τη διάρκεια διαφορετικών ετών συγκομιδής (Lazzerini & Domenici, 2017). Η φασματοσκοπία απορρόφησης Near-UV-Vis έχει πολλά αξιοσημείωτα πλεονεκτήματα όσον αφορά τη μέτρηση χρωστικών, συμπεριλαμβανομένης της αξιοσημείωτης ταχύτητάς της με την ικανότητα ανάλυσης δειγμάτων σε λίγα λεπτά, της οικονομικής αποδοτικότητάς της όσον αφορά τόσο το όργανο όσο και την ίδια την ανάλυση και την ακρίβειά της στον προσδιορισμό των επιπέδων χρωστικών που είναι συγκρίσιμες με τις παραδοσιακές χρωματογραφικές τεχνικές (Lazzerini et al., 2017).

Η μελέτη των Torrecilla et al. (2010) ανέφερε την εφαρμογή μοντέλου γραμμικής παλινδρόμησης για την πρόβλεψη του EVOO νοθευμένου με ROO και εξευγενισμένο OPO με βάση χαστικές παραμέτρους που υπολογίζονται χρησιμοποιώντας φασματοσκοπικά δεδομένα ultra (UV)-Vis νοθευμένων EVOO. Τα μοντέλα που αναπτύχθηκαν υποβλήθηκαν σε εξωτερική επικύρωση και ανακαλύφθηκε ότι είναι ικανά να ανιχνεύσουν νοθεία άνω του 10%. Επιπλέον, η ρίζα μέσου τετραγωνικού σφάλματος (root mean square error, rmse) βρέθηκε να είναι μεγαλύτερο από 1%, ενώ ο μέσος συντελεστής συσχέτισης ήταν μικρότερος από 0,97. Τα χημειομετρικά μοντέλα, τα οποία ήταν τόσο γραμμικά όσο και μη γραμμικά, σχεδιάστηκαν

για να προβλέψουν τα επίπεδα νοθείας EVOO χρησιμοποιώντας φασματοσκοπία UV-Vis (190-900 nm) νοθευμένων δειγμάτων EVOO. Διαπιστώθηκε ότι τα γραμμικά μοντέλα είναι πιο γρήγορα στον υπολογισμό και την πρόβλεψη των νοθευτών, αλλά είναι λιγότερο ακριβή. Από την άλλη πλευρά, εάν δεν ληφθεί υπόψη η πολυπλοκότητα του μοντέλου, ένα μοντέλο δικτύου ακτινικής βάσης μπορεί να επιτύχει υψηλή ακρίβεια στην πρόβλεψη νοθείας στο EVOO.

Σε μια μελέτη που διεξήχθη το 2013, οι ερευνητές χρησιμοποίησαν τα φάσματα UV-Vis τόσο του ανόθευτου όσο και του νοθευμένου έξτρα παρθένου ελαιολάδου που συνδυάστηκαν είτε με λευκό τυχαίο θόρυβο είτε με ημιτονοειδές λευκό τυχαίο θόρυβο προκειμένου να υπολογίσουν χαοτικές παραμέτρους. Μέσω της χρήσης ενός αυτο-ταξινομούμενου χάρτη, οι ερευνητές μπόρεσαν να κατηγοριοποιήσουν επιτυχώς τα σήματα σε πέντε διακριτές ομάδες με βάση τα επίπεδα θορύβου, τον τύπο και την ποσότητα των πλαστών που υπήρχαν. Αυτό το σύστημα ταξινόμησης είχε ένα εξαιρετικά χαμηλό ποσοστό εσφαλμένης ταξινόμησης μόνο 1,3%. (Torrecilla et al., 2013). Το K270 είναι ένα μέτρο της αύξησης της απορρόφησης της υπεριώδους ακτινοβολίας σε μήκος κύματος 270 nm, το οποίο δείχνει την παρουσία περισσότερων συζευγμένων διπλών δεσμών. Αυτή η μέτρηση χρησιμοποιήθηκε για τον εντοπισμό της παρουσίας διαφόρων ελαίων, συμπεριλαμβανομένου του σογιέλαιου, του OPO, του καλαμποκέλαιου, του OO και του φοινικέλαιου, στο EVOO, με συγκεντρώσεις που κυμαίνονται από 2% έως 10%. (Jabeur et al., 2016). Η χρήση της φασματοσκοπίας UV-Vis σε συνδυασμό με πολλές προσεγγίσεις πολυμεταβλητής παλινδρόμησης έχει αναφερθεί στη βιβλιογραφία ως αποτελεσματικό μέσο προβολής της ποσότητας σογιέλαιου που υπάρχει στο εξαιρετικό παρθένο ελαιόλαδο (EVOO), δίνοντας ένα ριζικό μέσο τετραγωνικό σφάλμα πρόβλεψης (RMSEP) που κυμαίνονται από 13,3 έως 30,4 γραμμάρια ανά κιλό (Milanez et al., 2017).

Υπάρχουν διάφορες τεχνικές για την ανίχνευση ακαθαρσιών στο EVOO, όπως η χρωματογραφία, η υπέρυθη φασματοσκοπία και η φασματοσκοπία Raman. Ωστόσο, αυτές οι μέθοδοι είναι αρκετά περίπλοκες και δαπανηρές και απαιτούν πρόσβαση σε εξειδικευμένες εργαστηριακές εγκαταστάσεις. Αντίθετα, η φασματοσκοπία υπεριώδους ακτινοβολίας είναι μια πιο απλή και οικονομικά αποδοτική μέθοδος για την ανίχνευση νοθευτών στο EVOO.

3.3.2. Η χρήση της φασματοσκοπίας πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού (NMR) για την ανίχνευση νοθευμένου εξαιρετικού παρθένου ελαιολάδου

Η φασματοσκοπία πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού (NMR) είναι μια τεχνική που χρησιμοποιεί ένα μαγνητικό πεδίο που κυμαίνεται από 4 έως 900 MHz για να αλληλεπιδράσει με ατομικούς πυρήνες που έχουν μαγνητικές ιδιότητες. Πυρήνες με περιττούς ατομικούς ή μαζικούς αριθμούς, συμπεριλαμβανομένων των ^1H , ^{13}C , ^{15}N , ^{17}O , ^{19}F , ^{23}Na , ^{29}Si και ^{39}K , είναι ιδιαίτερα χρήσιμοι στην ανάλυση NMR. Όταν αυτοί οι πυρήνες εκτίθενται σε μαγνητικό πεδίο και ακτινοβολία ραδιοσυχνότητας, μπορούν να απορροφήσουν ενέργεια και να παράγουν ένα σήμα συντονισμού που μπορεί να κωδικοποιηθεί για τη δημιουργία χωρικών πληροφοριών και εικόνων NMR. Το NMR χρησιμοποιείται συχνά σε μη στοχευμένες αναλύσεις τροφίμων για τον προσδιορισμό της αυθεντικότητάς του λόγω των μοναδικών ποσοτικών ιδιοτήτων, της εξαιρετικής γραμμικότητας, της αναλογικής απόκρισης στη συγκέντρωση, της ρυθμιζόμενης ευαισθησίας και των χαμηλών ορίων ανίχνευσης. Η φασματοσκοπία ^1H NMR έχει εφαρμοστεί ευρέως για τον χαρακτηρισμό των ποικιλιών και της γεωγραφικής προέλευσης του EVOO και άλλων βρώσιμων ελαίων (Pereira et al., 2021).

Ο πυρηνικός μαγνητικός συντονισμός (NMR) θεωρείται μια από τις πιο αποτελεσματικές φασματοσκοπίες για την ανάλυση και τον χαρακτηρισμό των ελαιολάδων. Συγκεκριμένα, οι τεχνικές NMR ^1H και ^{13}C έχουν χρησιμοποιηθεί για τη μελέτη τόσο του χύμα ελαιολάδου όσο και των εκχυλισμάτων ελαιολάδου. Αυτές οι μέθοδοι προχωρούν ραγδαία και αναγνωρίζονται πλέον ως σημαντικά εργαλεία για την ανάλυση και τον χαρακτηρισμό του ελαιολάδου (Olmo-Cunillera et al., 2020). Διάφοροι άλλοι τύποι μαγνητικών πυρήνων, όπως ο ^{31}P , έχουν χρησιμοποιηθεί για να εξεταστεί η αυθεντικότητα των ελαιολάδων μέσω της χρήσης τεχνολογίας NMR, όπως αποδείχθηκε σε μια μελέτη των Dais & Spyros (2007). Επιπλέον, η έρευνα έχει δείξει ότι τα φάσματα ^1H NMR μπορούν παρέχουν πολύτιμες πληροφορίες τόσο για τα κύρια όσο και για τα δευτερεύοντα συστατικά του ελαιολάδου χωρίς προηγούμενη επεξεργασία ή χρήση εκχυλισμάτων διαλυτών (Barison et al. 2010). Μια άλλη μελέτη των Pérez-Trujillo et al. (2010) χρησιμοποίησε φασματική ανάλυση ^1H NMR για να ανιχνεύσει και να ποσοτικοποιήσει φαινολικές ενώσεις, διακυλογλυκερόλες και να καθορίσει τη σύνθεση λιπαρών οξέων του ελαιολάδου. Χρησιμοποιήθηκε επίσης στο μεταβολικό προφίλ και τη λήψη δακτυλικών αποτυπωμάτων για τον εντοπισμό νοθευμάτων (Fauhl et al., 2000) για την αξιολόγηση της γεωγραφικής προέλευσης (Girelli et al., 2018) ή για τον καθορισμό της χρησιμοποιούμενης μεθόδου συγκομιδής (D'Imperio, et al., 2010) κύρια χρήση της φασματοσκοπίας ^{13}C NMR ήταν να προσφέρει σημαντικές γνώσεις σχετικά με την κατανομή

ακυλίου και την κατανομή της θέσης ακυλίου των τριεστέρων γλυκερίνης που υπάρχουν στα έλαια. Χρησιμοποιήθηκε ένας συνδυασμός μονοδιάστατων και διδιάστατων τεχνικών NMR για την παρακολούθηση της παραγωγής αλυσίδας ελαιολάδου (Del Coco, et al., 2014), ενώ πολλαπλές μέθοδοι κβαντικού NMR βελτιστοποιήθηκαν για τη διερεύνηση της περιεκτικότητας σε πολυφαινόλη στο ελαιόλαδο (Manjunatha Reddy, et al., 2017).

Χρησιμοποιήθηκε φασματοσκοπία NMR ^{13}C για τον προσδιορισμό της νοθείας EVOO με άλλα φυτικά έλαια. Σε αυτή την έρευνα, η εστίαση είναι στην ολεφινική περιοχή που βρίσκεται στο φάσμα του έξτρα παρθένου ελαιολάδου (EVOO). Αυτή η περιοχή αποτελείται από 12 κορυφές που συνδέονται με τμήματα ακόρεστων λιπαρών οξέων, συγκεκριμένα λινολεϊκά και ελαϊκά οξέα, τα οποία συνδέονται με τη ραχοκοκαλιά της γλυκερίνης. Η μελέτη στοχεύει να προσδιορίσει τον βαθμό αυθεντικότητας του EVOO εξετάζοντας τις αλλαγές στην ένταση αυτών των 12 κορυφών μετά από νοθεία. Όπως σημειώθηκε σε προηγούμενη έρευνα που διεξήχθη από τους Manromoustakos et al. (2000), οι αλλαγές στην ένταση που παρατηρήθηκαν μπορούν να χρησιμεύσουν ως δείκτης της αυθεντικότητας του EVOO. Η φασματοσκοπία υψηλού πεδίου ^{31}P NMR (202.2 MHz) χρησιμοποιήθηκε επίσης για την απεικόνιση της νοθείας EVOO με διάφορες ποιότητες ελαιολάδων με βάση τις συνολικές διακυλογλυκερόλες (TDGs), τις 1,3-διακυλογλυκερόλες (1,3-DGs), τις 1,2-διακυλογλυκερόλες (1,2-DGs), την αναλογία D (1,2-DGs / TDGs), τις στερόλες και την οξύτητα. Σύμφωνα με έκθεση των Fragaki et al. (2005), η χρήση του DA σε δεδομένα NMR αποκάλυψε την παρουσία νοθευμένων εξαιρετικά παρθένων ελαιολάδων που περιέχουν 5% w/w λαμπάντε και χαμηλής κατανάλωσης ROO..

Χρησιμοποιώντας φασματοσκοπία NMR διάχυσης κλίσης υψηλής ισχύος, κατέστη δυνατός ο εντοπισμός της νοθείας σε εξαιρετικά παρθένο ελαιόλαδο αναλύοντας τους συντελεστές διάχυσης. Η Διακριτική Ανάλυση πραγματοποιήθηκε για την ποιοτική και ποσοτική εκτίμηση των νοθειών. Η ακρίβεια της πρόβλεψης της αυθεντικότητας των δειγμάτων EVOO βελτιώθηκε σημαντικά με τη χρήση δύο μοντέλων DA ταυτόχρονα, επιτυγχάνοντας ένα αξιοσημείωτο ποσοστό ακρίβειας 98-100%. Για να επιβεβαιωθεί η αξιοπιστία της πρόβλεψης, τα μοντέλα δοκιμάστηκαν σε τυχαία νοθευμένα δείγματα EVOO και το αποτέλεσμα ήταν ότι όλα τα δείγματα ταξινομήθηκαν με ακρίβεια με ποσοστό ακρίβειας 100% (Šmejkalová & Piccolo, 2010). Μη εποπτευόμενα μοντέλα χρησιμοποιήθηκαν για την ανίχνευση νοθείας του EVOO λαμβάνοντας υπόψη την περιεκτικότητα σε κορεσμένα λιπαρά, ελαϊκά και λινολεϊκά οξέα που εξετάστηκαν με την εφαρμογή φασματικών δεδομένων ^{31}P NMR και ^1H NMR. Τα μη εποπτευόμενα μοντέλα που αναφέρθηκαν ότι ανιχνεύουν με ακρίβεια τις νοθείες του

EVOO και επίσης είναι σε θέση να ταξινομήσουν > 94% των δειγμάτων. Έχουν αναπτυχθεί διάφορα μοντέλα για την ανίχνευση της παρουσίας νοθευτών στο Εξαιρετικό Παρθένο Ελαιόλαδο (EVOO), όπως έλαια σόγιας, ηλιάνθου, καλαμποκιού και φουντουκιού. Αυτά τα μοντέλα έχουν βρεθεί ότι είναι αποτελεσματικά στην ανίχνευση νοθείας εάν η συγκέντρωση του νοθευμένου είναι μεγαλύτερη από 5%, 5%, 10% και 10% αντίστοιχα (Torrecilla et al., 2010). Επιπλέον, μια μη καταστροφική μέθοδος που βασίζεται σε μονομερή NMR χαμηλού πεδίου έχει εισαχθεί για την ανίχνευση νοθείας EVOO. Αυτή η μέθοδος είναι ικανή να ανιχνεύσει νοθεία EVOO με τουλάχιστον 10% κόκκινο φοινικέλαιο και ηλιέλαιο (Xu et al., 2014). Σε προηγούμενη μελέτη, βρέθηκε ότι η φασματοσκοπία ^1H NMR 60 MHz, γνωστή και ως Pulsar, ήταν μια αποτελεσματική μέθοδος για τον έλεγχο του φουντουκιού σε ελαιόλαδο, με επίπεδο ανίχνευσης 11,2% w/w/w. Επιπλέον, η μελέτη έδειξε ότι το Pulsar είχε παρόμοιο επίπεδο ευαισθησίας και καλύτερη ειδικότητα σε σύγκριση με τη φασματοσκοπία FTIR (Parker et al., 2014).

Η φασματοσκοπία πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού (NMR) έχει αναγνωριστεί ως μια γρήγορη και μη επεμβατική τεχνική για τη διάκριση μεταξύ καθαρού και νοθευμένου έξτρα παρθένου ελαιολάδου (EVOO). Ωστόσο, αξίζει να σημειωθεί ότι η φασματοσκοπία NMR βασίζεται σε ένα αρκετά μεγάλο και δαπανηρό όργανο που δεν είναι πρακτικό για χρήση στο πεδίο. Ως αποτέλεσμα, συνιστάται να υποβάλλονται σε πρόσθετες δαπανηρές και χρονοβόρες αναλύσεις μόνο εκείνα τα δείγματα EVOO που έχουν περάσει την αρχική δοκιμή διαλογής NMR και κρίθηκαν γνήσια για να επιβεβαιωθεί η αυθεντικότητά τους. Τα χημειομετρικά εργαλεία χρησιμοποιήθηκαν επίσης σε τεράστια δεδομένα NMR για την εξαγωγή χρήσιμων πληροφοριών. Οι Xu et al. (2014) διεξήγαγαν μια μελέτη σχετικά με τη χρήση μονομερούς NMR χαμηλού πεδίου για τον εντοπισμό νοθευμένου έξτρα παρθένου ελαιολάδου. Αυτή η τεχνική έχει το πλεονέκτημα ότι είναι φορητή στο πεδίο, παρόμοια με τη φασματοσκοπία Raman. Επιπλέον, τα δείγματα λαδιού μπορούν να αναλυθούν χωρίς προηγούμενη προετοιμασία και χωρίς να χρειαστεί να αφαιρεθούν από τις αρχικές σφραγισμένες φιάλες τους.

3.3.3. Εφαρμογή φασματοσκοπίας μάζας για την ανίχνευση νοθευμένου εξαιρετικού παρθένου ελαιολάδου

Η αποτύπωση του ελαιολάδου επιτυγχάνεται συχνά με την εφαρμογή αεριοχρωματογραφίας-φασματόμετρου μάζας, φασματοσκοπίας NMR και φασματοσκοπίας Raman. Ωστόσο, έχει σημειωθεί σημαντική πρόοδος στην τεχνολογία φασματομετρίας μάζας, η οποία οδήγησε στην

ανάπτυξη ταχύτερων, πιο αξιόπιστων, ακριβών και ανθεκτικών αναλυτικών τεχνικών για τον εντοπισμό της παρουσίας νοθείας στο EVOO χρησιμοποιώντας διαφορετικούς τύπους φυτικών ελαίων.

Πρόσφατα, η χρήση της φασματομετρίας μάζας *headsapce* έχει αποδειχθεί αποτελεσματική στην ανίχνευση της νοθείας του ηλιέλαιου και του πυρηνελαίου EVOO αναλύοντας τις πτητικές ενώσεις τους. Επιπλέον, η εφαρμογή του LDA σε δεδομένα NMR οδήγησε σε 100% ακριβή ταξινόμηση καθαρών και νοθευμένων δειγμάτων, με τις προβλέψεις να είναι επίσης περίπου 100% ακριβείς (Lorenzo et al., 2002). Μια άλλη τεχνική, η λήψη δακτυλικών αποτυπωμάτων με φασματομετρία μάζας ιονισμού ηλεκτροψεκασμού (ESI-MS), έχει επίσης χρησιμοποιηθεί για την ανίχνευση νοθείας στο EVOO αναλύοντας τα πολικά συστατικά των δειγμάτων λαδιού τόσο σε θετικούς όσο και σε αρνητικούς τρόπους ιόντων. Τα αποτελέσματα της ανάλυσης κύριου συστατικού (PCA) κατέδειξαν περαιτέρω ότι τα δακτυλικά αποτυπώματα ESI-MS μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως αξιόπιστη μέθοδος για την ανίχνευση νοθευτών στο EVOO (Catharino et al., 2005).

Διεξήχθη μια μελέτη για τη σύγκριση της ταυτότητας του έξτρα παρθένου ελαιολάδου (EVOO) χρησιμοποιώντας δύο διαφορετικές πηγές ιονισμού - ιονισμό ηλεκτροψεκασμού (ESI) και ιονισμό φωτοψεκασμού ατμοσφαιρικής πίεσης (APPI) - μαζί με ένα τετραπολικό φασματόμετρο μάζας χρόνου πτήσης (QqTOF). Η πηγή ιονισμού φωτοψεκασμού ατμοσφαιρικής πίεσης (APPI) βρέθηκε ότι ανταποκρίνεται περισσότερο στα ιόντα μονοακυλογλυκερόλης και θραύσματος διακυλογλυκερόλης. Το ESI βρέθηκε να είναι πιο δεκτικό στις τριακυλογλυκερόλες, ενώ η επεξεργασία των φασμάτων ESI-MS και APPI-MS χρησιμοποιώντας PCA είχε ως αποτέλεσμα την επιτυχή κατηγοριοποίηση και αναγνώριση των ελαίων. Σε αυτή την περίπτωση, το LDA χρησιμοποιεί τριακυλογλυκερόλες (TAGs) ως μεταβλητές ικανές να ομαδοποιήσουν καθαρό και EVOO νοθευμένο με 10% έλαιο φουντουκιού που διαφορετικά είναι πιο δύσκολο να ανιχνευθεί λόγω της χαμηλής συγκέντρωσής του και της χημικής του ομοιότητας με το EVOO (Gómez-Ariza et al., 2006) Μια άλλη μελέτη εξέτασε την εφαρμογή της φασματομετρίας μάζας εκρόφησης λέιζερ υποβοηθούμενης από μήτρα (MALDI-TOF) για την αποκάλυψη νοθείας EVOO με έλαιο φουντουκιού σε επίπεδο 1% με βάση τα φωσφολιπίδια (Calvano et al., 2012). Η τεχνική του ESI-MS χρησιμοποιήθηκε για να ελέγχεται η προσθήκη σογιέλαιου στο EVOO, με βάση την παρουσία ενός φυσικού δείκτη λιπιδίων (m/z 886,68 [TAG + NH₄]⁺) που βρίσκεται στο σογιέλαιο. Αυτή η προσέγγιση ήταν αποτελεσματική στον εντοπισμό ακόμη και της παραμικρής ποσότητας 1% (v/v) σογιέλαιου στο EVOO (da Silveira et al., 2017).

Η φασματομετρία μάζας/Headspace συνίσταται από απευθείας ζεύξη του δειγματολήπτη κεφαλής με φασματόμετρο μάζας και αποτελεί μια εξαιρετικά αποτελεσματική μέθοδο για τον εντοπισμό πολύπλοκων μιγμάτων τόσο σε καθαρό όσο και σε νοθευμένο εξαιρετικό παρθένο ελαιόλαδο (EVOO). Αυτή η τεχνική ξεπερνά τις δυνατότητες των αισθητήρων αερίων και είναι πιο οικονομική και αποδοτική από τη χρωματογραφία. Εξαλείφει επίσης την ανάγκη για προετοιμασία δειγμάτων και οργανικούς διαλύτες, καθιστώντας την μια επιθυμητή μέθοδο διαλογής. Ο ιονισμός ηλεκτροψεκασμού (ESI) είναι μια ευέλικτη τεχνική ιονισμού που είναι ιδιαίτερα ικανή στην ανάλυση πολικών μορίων. Σε αντίθεση με τη χρωματογραφία, το ESI-MS δεν απαιτεί χημική παραγωγοποίηση ή εκχύλιση από πολικά διαλύματα. Ως εκ τούτου, είναι μια κατάλληλη μέθοδος για τον γρήγορο και ολοκληρωμένο χαρακτηρισμό του καθαρού και νοθευμένου EVOO και εξαλείφει την ανάγκη για χρωματογραφικό διαχωρισμό. Ωστόσο, η συμπληρωματική χρήση των ESI-MS και APPI-MS διαπιστώθηκε ότι υπόσχεται να ελέγξει τη νόθευση του EVOO λόγω της εύκολης διαδικασίας χειρισμού του δείγματος, της εξάλειψης του σταδίου χρωματογραφίας και του μικρότερου χρόνου ανάλυσης, δηλαδή 1 λεπτό/δείγμα.

3.3.4. Χρήση της φασματοσκοπίας φθορισμού για την ανίχνευση νοθευμένου εξαιρετικού παρθένου ελαιολάδου

Στον τομέα της φασματοσκοπίας φθορισμού, οι εξελίξεις στην τεχνολογία και το λογισμικό κατέστησαν δυνατή την εξαγωγή πολύτιμων πληροφοριών από φασματικά δεδομένα. Ένα παράδειγμα αυτού είναι η χρήση ασθενών εκπομπών χημειοφωταύγειας σε ένα μείγμα EVOO και άλλων σπορελαίων για τη δημιουργία ενός μοντέλου βαθμονόμησης που μπορεί να ανιχνεύσει νοθεία του EVOO με λάδι χαμηλής ποιότητας κάτω από 3% (Papadopoulos et al., 2002). Μια άλλη μελέτη διαπίστωσε ότι η φασματοσκοπία φθορισμού διέγερσης-εκπομπής μπορεί να ανιχνεύσει νοθεία του EVOO με πυρηνέλαιο, με ποσοστό ακρίβειας 100% χρησιμοποιώντας την παλινδρόμηση ελαχίστων τετραγώνων (N-PLS) για την ταξινόμηση των δειγμάτων λαδιού. Αυτές οι εξελίξεις έχουν συμβάλει σημαντικά στην πρόοδο και την ανάπτυξη της φασματοσκοπίας φθορισμού. Η μέθοδος παλινδρόμησης N-PLS είχε ως αποτέλεσμα την ποσοτικοποίηση του EVOO νοθευμένου με 5% του πυρηνελαίου με σφάλμα πρόβλεψης 1,2% (Guimet et al., 2005). Η τεχνική της φασματοσκοπίας φθορισμού χρησιμοποιήθηκε σε συνδυασμό με μοντέλα πολλαπλής παλινδρόμησης για την ακριβή πρόβλεψη της ποσότητας σογιέλαιου που υπάρχει στο EVOO. Αυτή η μέθοδος αποδείχθηκε εξαιρετικά επιτυχημένη, με ένα ριζικό μέσο τετραγωνικό σφάλμα πρόβλεψης (RMSEP) που κυμαίνεται μεταξύ 14,0 έως 17,5 g/kg (Milanez et al., 2017).

Η φασματοσκοπία μοριακού φθορισμού είναι μια εξαιρετικά ευαίσθητη τεχνική, αλλά έχει περιορισμούς όταν πρόκειται για την ανάλυση πολύπλοκων δειγμάτων όπως το EVOO λόγω επικαλυπτόμενων ζωνών διέγερσης και εκπομπής. Ως αποτέλεσμα, οι εφαρμογές του στον εντοπισμό νοθείας και πιστοποίησης EVOO είναι περιορισμένες. Ωστόσο, η σύγχρονη φασματοσκοπία φθορισμού (SyF) μπορεί να ξεπεράσει αυτόν τον περιορισμό σαρώνοντας τους μονοχρωματιστές διέγερσης και εκπομπής ταυτόχρονα, διατηρώντας παράλληλα ένα σταθερό διάστημα μήκους κύματος. Αυτή η τεχνική ελαχιστοποιεί τις φασματικές επικαλύψεις και ενισχύει τη φασματική επιλεκτικότητα, καθιστώντας την ένα χρήσιμο εργαλείο για την ανάλυση του EVOO (Patra & Mishra, 2002).

Η χρήση της φασματοσκοπίας SyF σε συνδυασμό με τεχνικές πολλαπλών μεταβλητών έχει αναφερθεί για τη διάκριση μεταξύ παρθένων ελαιολάδων και ηλιέλαιων. Αυτή η μέθοδος είχε ως αποτέλεσμα την ανίχνευση νοθείας άνω του 3,4% (w/v) χρησιμοποιώντας διάστημα μήκους κύματος 80 nm σε μόλις 2,5 λεπτά (Poulli et al., 2006). Μια άλλη μελέτη ανέφερε την ανίχνευση της νοθείας EVOO με ελαιόλαδο χαμηλότερης ποιότητας χρησιμοποιώντας φασματοσκοπία SyF σε συνδυασμό με τεχνική πολλαπλής παλινδρόμησης. Το χαμηλότερο όριο ανίχνευσης ελαιολάδου στο EVOO αναφέρθηκε ότι είναι 8,4% και 8,9%, σε διάστημα μήκους κύματος 80 και 60 nm και μήκος κύματος διέγερσης 302 και 350 nm, αντίστοιχα (Dankowska & Małecka, 2009). Προκειμένου να ανιχνευθεί η νοθεία του έξτρα παρθένου ελαιολάδου (EVOO) με ηλιέλαιο, δοκιμάστηκαν διάφορες μέθοδοι, συμπεριλαμβανομένης της φασματοσκοπίας SyF σε συνδυασμό με μοντέλα παλινδρόμησης PLS-DA και PLS. Διαπιστώθηκε ότι η χρήση θερμικής επεξεργασίας βελτίωσε την ακρίβεια της διαφοροποίησης μεταξύ καθαρών και νοθευμένων δειγμάτων, με διαφορά περίπου 2% σε σύγκριση με δείγματα που αναλύθηκαν σε θερμοκρασία δωματίου. Επιπλέον, η ίδια μέθοδος χρησιμοποιήθηκε για τη διάκριση και τον ποσοτικό προσδιορισμό του καθαρού EVOO από το EVOO που είχε νοθευθεί με ηλιέλαιο. Η μελέτη παρατήρησε επίσης ότι η εφαρμογή της θερμικής επεξεργασίας επηρέασε θετικά την ακρίβεια και την προγνωστική ικανότητα της μεθόδου ανίχνευσης (Mabood et al., 2015).

Σύμφωνα με μια μελέτη που διεξήχθη από τους Milanez et al. (2017), η χρήση φασματικών δεδομένων φθορισμού και UV-Vis για τον εντοπισμό νοθευμένου με σόγια EVOO είναι αποτελεσματική όταν συνδυάζεται με διάφορα μοντέλα πολυμεταβλητής παλινδρόμησης. Πιστεύεται ότι η διακύμανση των δεδομένων προκαλείται από την οξείδωση εστέρων πολυακόρεστων λιπαρών οξέων, η οποία στη συνέχεια μεταφέρει φωτεινή ενέργεια σε άλλα φθορίζοντα είδη που βρίσκονται στα βρώσιμα έλαια (Papadopoulos et al., 2002). Επιπλέον, η

φασματοσκοπία φθορισμού είναι μια γρήγορη τεχνική που δεν απαιτεί καμία προεπεξεργασία δείγματος, καθιστώντας την ιδανική μέθοδο για τον γρήγορο έλεγχο του EVOO για νοθεία.

3.3.5. Άλλες φασματοσκοπικές τεχνικές

Προκειμένου να προσδιοριστεί ο βαθμός νοθείας του έξτρα παρθένου ελαιολάδου (EVOO) με έλαια καρδάμου και ηλιάνθου, οι ερευνητές χρησιμοποίησαν οπτοθερμική φασματοσκοπία υπερύθρων λέιζερ CO₂. Αυτή η μέθοδος αποδείχθηκε ταχύτερη, πιο ακριβής και ευκολότερη από τη μέθοδο ATR-FTIR που χρησιμοποιείται συνήθως. Η μελέτη ανέφερε ένα προβλεπόμενο όριο ανίχνευσης 6% και 4,5% (w/w) για το EVOO νοθευμένο με νερό και ηλιέλαιο, αντίστοιχα, με προκύπτοντα σχετικά σφάλματα 0,3% και 0,18% (Favier et al., 1998). Επιπλέον, χρησιμοποιήθηκε διηλεκτρική φασματοσκοπία για την ανίχνευση της παρουσίας βρώσιμων ελαίων χαμηλής ποιότητας στο EVOO. Τα διηλεκτρικά φάσματα των δειγμάτων λαδιού έδειξαν γραμμική αύξηση στο σήμα με αυξανόμενη συγκέντρωση νοθείας. Η επεξεργασία των διηλεκτρικών φασμάτων από την ανάλυση κύριου συστατικού οδήγησε στη διαφοροποίηση και τον εντοπισμό διαφορετικής συγκέντρωσης νοθευτών. Τα μοντέλα PLS που χρησιμοποιούν φασματικά δεδομένα μπόρεσαν να προβλέψουν με ακρίβεια την παρουσία διαφορετικών επιπέδων νοθευτών στο EVOO, αποδεικνύοντας την αποτελεσματικότητά τους στην ανίχνευση νοθείας (Lizhi et al., 2010).

Τεχνητό νευρωνικό δίκτυο σε συνδυασμό με ορατή φασματοσκοπία που αναφέρεται ως συνεπής, χαμηλού κόστους, εύκολη στη χρήση και σε πραγματικό χρόνο μέθοδος ανίχνευσης νοθείας σε EVOO με υψηλό ποσοστό αναγνώρισης (96%) και αποτελεσματική ποσοτικοποίηση με αποδεκτό μέσο σφάλμα πρόβλεψης (1,2%) (Aroca-Santos et al., 2015). Προκειμένου να επαληθευτεί η αυθεντικότητα του έξτρα παρθένου ελαιολάδου (EVOO), χρησιμοποιήθηκε ένας συνδυασμός μεθόδων ανάλυσης ορατής φασματοσκοπίας και πολυμεταβλητής καμπύλης, όπως η ανάλυση κύριου συστατικού (PCA) και η γραμμική διακριτική ανάλυση (LDA). Τα αποτελέσματα έδειξαν ποσοστό ακρίβειας 95% για την ταξινόμηση των δειγμάτων (Ferreiro- González et al., 2017). Αντίστοιχα η μελέτη των Philippidis et al. (2017) συνέκρινε τη φασματοσκοπία Raman και την ορατή φασματοσκοπία για την ανίχνευση του EVOO νοθευμένου με ηλιέλαιο. Διαπιστώθηκε ότι η φασματοσκοπία Raman σε συνδυασμό με μερικά ελάχιστα τετράγωνα (PLS) ήταν μια πιο αποτελεσματική μέθοδος από την ορατή φασματοσκοπία με όρια ανίχνευσης 3,5% και 5,5% αντίστοιχα.

Η φασματική υπογραφή του έξτρα παρθένου ελαιολάδου (EVOO) μπορεί να προσδιοριστεί χρησιμοποιώντας έναν συνδυασμό συστοιχίας headspace και φασματομετρίας κινητικότητας

ιόντων UV, μαζί με βαθμονόμηση πολλαπλών μεταβλητών. Αυτή η μέθοδος έχει αποδειχθεί ότι ανιχνεύει αποτελεσματικά τη νόθευση στο EVOO. Χρησιμοποιώντας ένα μοντέλο PCA-LDA-k-πλησιέστερων γειτόνων, ήταν δυνατό να γίνει διάκριση μεταξύ καθαρού και νοθευμένου EVOO. Επιπλέον, τα μοντέλα βαθμονόμησης PLS μπόρεσαν να ποσοτικοποιήσουν με ακρίβεια τα επίπεδα νοθείας τουλάχιστον 10% στο EVOO, με τιμές R2 να ξεπερνούν το 0,72 και τιμές RMSEC και RMSECV κάτω από 9,22 και 12,62, αντίστοιχα (Garrido- Delgado et al., 2018).

3.4. Ανίχνευση νοθευμένου εξαιρετικού παρθένου ελαιολάδου με χρωματογραφικές τεχνικές

Η αναγνώριση νοθευμένου έξτρα παρθένου ελαιολάδου μέσω χρωματογραφικών τεχνικών περιλαμβάνει την αξιολόγηση συγκεκριμένων δεικτών. Αυτοί οι δείκτες ποσοτικοποιούνται προκειμένου να προσδιοριστεί η παρουσία οποιωνδήποτε δόλιων ουσιών εντός του δείγματος ελαίου. Οι ενώσεις-δείκτες όπως τα τριγλυκερίδια, οι τοκοφερόλες, οι τοκοτριενόλες, το πολικό κλάσμα, οι φαινολικές ενώσεις και οι πυροφαιοφυτίνες προσδιορίστηκαν χρησιμοποιώντας υγρή χρωματογραφία υψηλής απόδοσης (Jabeur et al., 2014) ενώ, οι ενώσεις-δείκτες όπως οι μεθυλεστέρες λιπαρών οξέων (FAME), οι στερόλες (καμπεστερόλη και στιγμαστερόλη), η τριακυλογλυκερόλη, το στιγμασταδιένιο και οι πτητικές ενώσεις αναλύονταν συνήθως με αέρια χρωματογραφία (Crews et al., 2014). Αυτές οι δύο χρωματογραφικές τεχνικές αποτελούν τη βάση των τρεχόντων προτύπων ποιότητας EVOO.

3.4.1. Εφαρμογή υγρής χρωματογραφίας υψηλής απόδοσης (HPLC) για την ανίχνευση νοθευμένου εξαιρετικού παρθένου ελαιολάδου

Η ποσότητα τοκοτριενολών που υπάρχουν στο EVOO έχει προταθεί ως μέσο για τον εντοπισμό της παρουσίας φοινικέλαιου και σταφυλέλαιου στο EVOO. Προηγουμένως, χρησιμοποιήθηκε μια υγρή χρωματογραφία υψηλής απόδοσης ανεστραμμένης φάσης (RP-HPLC) σε συνδυασμό με σύστημα αμπερομετρικής ανίχνευσης για τον προσδιορισμό των τοκοτριενολών σε βρώσιμα έλαια. Η τεχνική που αναφέρθηκε προηγουμένως οδήγησε σε αξιοσημείωτα επίπεδα ανάκτησης της α-τοκοτριενόλης (97,0%) και της γ-τοκοτριενόλης (102,0%) στο Εξαιρετικό Παρθένο Ελαιόλαδο (EVOO). Ως αποτέλεσμα, αυτή η μέθοδος έχει ισχυριστεί ότι μπορεί να προσδιορίσει την παρουσία ελαίων φοινικέλαιου και σταφυλιού (1-2%) στο EVOO (Dionisi et al., 1995). Τα πρότυπα και οι συγκεντρώσεις του n-αλκανίου χρησιμοποιήθηκαν για τον προσδιορισμό της νοθείας του EVOO. Η διαδικασία απομόνωσης n-αλκανίων από το EVOO περιελάμβανε τη χρήση HPLC και στη συνέχεια την ανάλυσή τους

με έναν ανιχνευτή ιονισμού φλόγας GC (FID). Αυτή η ανάλυση αποκάλυψε ότι υπήρχαν 0,5% ποσοστό νοθείας στο EVOO. Η χρήση PCA για την ανάλυση των μοτίβων n-αλκανίων βοήθησε στον εντοπισμό των νοθευτών. Ωστόσο, η ανάλυση μόνο του προφίλ αριθμού άνθρακα ήταν αρκετή για να ανιχνεύσει το χαμηλό επίπεδο νοθείας (2,6% w/w) (Webster et al., 2000).

Μια άλλη μελέτη έχει εξετάσει τα πολικά συστατικά ως δείκτη για την ανίχνευση ελαίου φουντουκιού στο EVOO. Η μέθοδος αυτή περιλάμβανε διαχωρισμό του πολικού κλάσματος με βάση την έλξη στερεάς φάσης (SPE) και ανάλυση με τη χρήση RP-HPLC σε συνδυασμό με ανιχνευτή UV. Σύμφωνα με τη μελέτη των Zabaras & Gordon (2004), βρέθηκε ότι μια συγκεκριμένη μέθοδος μπορεί να ανιχνεύσει με ακρίβεια τη νοθεία με ακρίβεια μόλις 5%, και έδειξε υψηλή αναπαραγωγιμότητα με σχετικό τυπικό σφάλμα 4,7%. Επιπλέον, εμφάνισε υψηλή γραμμικότητα με τιμή R² 0,9982. Μια άλλη μελέτη που διεξήχθη από τους Fasciotti & Netto (2010) εξέτασαν τη νοθεία του EVOO με σογιέλαιο, χρησιμοποιώντας ως δείκτη τις τριακυλογλυκερόλες. Οι ερευνητές χρησιμοποίησαν την επεξεργασία PCA φασματικών δεδομένων μάζας, η οποία τους επέτρεψε να διακρίνουν μεταξύ των αργεντίνικων και ευρωπαϊκών EVOO και της νοθείας τους με σογιέλαιο.

Μια μελέτη που διεξήχθη για την ανίχνευση της παρουσίας φουντουκέλαιου στο εξαιρετικό παρθένο ελαιόλαδο χρησιμοποίησε πολικές ενώσεις ως δείκτη. Η διαδικασία περιλάμβανε ανάλυση και χαρακτηρισμό του πολικού κλάσματος των ελαίων χρησιμοποιώντας μικροστήλες υδρόφιλης υγρής χρωματογραφίας σε συνδυασμό με φασματομετρία μάζας ιονισμού εκρόφησης λέιζερ υποβοηθούμενη από μήτρα (MALDI-ToF-MS). Το φουντουκέλαιο βρέθηκε να περιέχει Λυσοφωσφατιδυλοχολίνη (LPC) (16:0/0:0), LPC (18:1/0:0) και LPC (18:2/0:0), τα οποία στη συνέχεια χρησιμοποιήθηκαν ως δείκτες για ανίχνευση νοθείας του EVOO με φουντουκέλαιο σε επίπεδο 5%. Η ταυτοποίηση αυτών των πολικών ενώσεων διεξήχθη χρησιμοποιώντας τριχοειδή υγρή χρωματογραφία-ESI-QqTOF-MS. Αυτή η μελέτη παρέχει μια αποτελεσματική μέθοδο για την ανίχνευση νοθείας του EVOO με λάδι φουντουκιού και βοηθά στη διασφάλιση της γνησιότητας και της καθαρότητας των προϊόντων ελαιολάδου (Calvano et al., 2010).

3.4.2. Η χρήση της Αέριας Χρωματογραφίας (GC) για τον εντοπισμό νοθείας στο Εξαιρετικό Παρθένο Ελαιόλαδο (EVOO) και στο Παρθένο Ελαιόλαδο (VOO)

Πολλοί ερευνητές χρησιμοποιούν τη μικροεκχύλιση στερεάς φάσης (SPME) σε συνδυασμό με την αέρια χρωματογραφία για να αναλύσουν την πτητική σύνθεση του ελαιολάδου. Η SPME

είναι μια οικονομικά αποδοτική, απλή και αποδοτική τεχνική που αναπτύχθηκε από τους Arthur & Pawlczyn (1990). Αυτή η τεχνική περιλαμβάνει τη χρήση μιας εξειδικευμένης ίνας που καλύπτεται σε μια φάση εκχύλισης, η οποία μπορεί να είναι στερεή ή υγρή. Η ίνα χρησιμοποιείται για την εξαγωγή πτητικών και ημι-πτητικών ενώσεων από ένα δείγμα εκθέτοντας το στο δείγμα υπό σταθερή θερμοκρασία και αναδεύοντάς το για καθορισμένο χρόνο. Μόλις η ίνα απορροφήσει τη μέγιστη ποσότητα εξαγόμενων ενώσεων, μπορεί να εγχυθεί απευθείας στο σύστημα GC. Το ήλιο χρησιμοποιείται για τη μεταφορά των πτητικών ενώσεων στην τριχοειδή στήλη, όπου στη συνέχεια αναλύεται το δείγμα.

Οι Flores et al. (2006) διεξήγαγαν μια μελέτη σχετικά με τον τρόπο ανίχνευσης της νοθείας του έξτρα παρθένου ελαιολάδου (EVOO) με φουντουκέλαιο. Η μελέτη χρησιμοποίησε διάφορες τεχνικές που βασίζονται στο πτητικό κλάσμα των ελαίων, συμπεριλαμβανομένης της πολυδιάστατης αέριας χρωματογραφίας με χρήση μικροεκχύλισης στερεάς φάσης (SPME-MDGC) με ίνα διβινυλοβενζολίου/πολυδιμεθυλοσιλοξανίου (PDMS/DVB). Οι συγγραφείς θεώρησαν ένα EVOO ως νοθευμένο μόνο εάν ανιχνεύτηκαν στην ανάλυση και τα δύο εναντιομερή R και S του filbertone. Η μελέτη μπόρεσε να ανιχνεύσει νοθεία στο εύρος 7-25% για το φουντουκέλαιο. Ένα σημαντικό εύρημα της μελέτης ήταν ότι το φουντουκέλαιο που χρησιμοποιήθηκε προερχόταν από μη καβουρδισμένη πρώτη ύλη, η οποία περιέχει χαμηλότερα επίπεδα filbertone από τα καβουρδισμένα έλαια φουντουκιού (Ruiz del Castillo et al., 2003). Οι Mildner-Szkudlarz et al. (2008), διεξήγαγαν μια μελέτη χρησιμοποιώντας SPME/αέρια χρωματογραφία και φασματομετρία μάζας για την ανίχνευση νοθείας έξτρα παρθένου ελαιολάδου με φουντουκέλαιο. Μέσω της χρήσης της ανάλυσης κύριου συστατικού, διαπίστωσαν ότι η αέρια χρωματογραφία ήταν σε θέση να ανιχνεύσει νοθεία σε αναλογία όγκου 5%. Τα χημικά προφίλ των δύο ελαίων διαφέρουν σημαντικά, με το εξαιρετικό παρθένο ελαιόλαδο να περιέχει υψηλό ποσοστό αλδεϋδων (68%) σε σύγκριση με ελαιόλαδα χαμηλότερης ποιότητας (38%) που περιέχουν χαμηλότερο ποσοστό αλδεϋδων και υψηλότερο ποσοστό κετόνων και οξέων. Η μελέτη διαπίστωσε ότι ορισμένες ενώσεις, ειδικά εκείνες που ανήκουν στην οικογένεια των αλδεϋδων, μαζί με άλλες ενώσεις, ήταν χρήσιμες στη διάκριση μεταξύ του έξτρα παρθένου ελαιολάδου (EVOO) και του φουντουκέλαιου. Αυτές οι ενώσεις περιελάμβαναν E-2-εξενάλη, εξανάλη, πεντανάλη, οξικό οξύ, 2-οκτανόνη και 2-επτανόνη. Από την άλλη πλευρά, το φουντουκέλαιο περιείχε μοναδικές ενώσεις όπως προπανικό οξύ, τολουόλιο και βουτανικό οξύ που δεν υπήρχαν στο EVOO. Αναλύοντας τις ποσοτικές και ποιοτικές διαφορές στο χημικό προφίλ των δύο ελαίων με τη χρήση χημειομετρικών, κατέστη δυνατό να εντοπιστεί οποιαδήποτε νοθεία.

Η χρήση της αέριας χρωματογραφίας (GC) για την ανάλυση του πτητικού προφίλ του έξτρα παρθένου ελαιολάδου (EVOO) και του παρθένου ελαιολάδου (VOO) για τον προσδιορισμό της γνησιότητάς τους με βάση τη γεωγραφική τους προέλευση.

Οι Cajka et al. (2004), διεξήγαγαν μια μελέτη για να διαφοροποιήσουν τα EVOO από διάφορες γεωγραφικές περιοχές με βάση το ευμετάβλητο προφίλ τους. Χρησιμοποίησαν το headspace (HS)-SPME σε συνδυασμό με φασματομετρία μάζας αέριας χρωματογραφίας-ιόντων παγίδας (GC-ITMS) μαζί με χημειομετρικές τεχνικές όπως η Principal Component Analysis (PCA), η Linear Discriminant Analysis (LDA) και το τεχνητό νευρωνικό δίκτυο (ANN- MLP). Οι συγγραφείς πειραματίστηκαν με διαφορετικούς τύπους ιών και κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι η ίνα DVB/CAR/PDMS (50/30 μm) ήταν η πιο αποτελεσματική. Αν και χρησιμοποιήθηκε GC-ITMS για την ανάλυση των δειγμάτων, οι συγγραφείς πρότειναν τη Δισδιάστατη Αέρια Χρωματογραφία και τη Φασματομετρία Μάζας Χρόνου Πτήσης (GCXGC-TOFMS) για ενώσεις με ασαφή χρωματογραφήματα. Η ποιότητα των φασμάτων βελτιώθηκε σημαντικά με αυτή την τεχνική. Για την κατασκευή του χημειομετρικού μοντέλου, επιλέχθηκαν χαρακτηριστικές ενώσεις όπως αλκοόλες, αλδεΐδες και εστέρες. Πρώτον, πραγματοποιήθηκε ανάλυση PCA, ακολουθούμενη από ανάλυση LDA, η οποία βρέθηκε να μην είναι ικανοποιητική για την ταξινόμηση του δείγματος. Ως εκ τούτου, πραγματοποιήθηκε ανάλυση ANN-MLP η οποία προέβλεψε με ακρίβεια την τιμή ταξινόμησης.

Οι García-González et al. (2010), διεξήγαγαν μια μελέτη για τη διαφοροποίηση των μονοποικιλιακών VOO που παράγονται σε διαφορετικές περιοχές της Χιλής με βάση την πτητική και φαινολική τους σύνθεση. Οι πτητικές ενώσεις συλλέχθηκαν χρησιμοποιώντας τη μέθοδο SPME και μια ίνα 50/30 μm DVB/CAR/PDMS και διαχωρίστηκαν με GC. Τα δεδομένα αναλύθηκαν χρησιμοποιώντας PCA και ANOVA και η επιτυχής ταξινόμηση των δειγμάτων έδειξε ότι οι κλιματικές συνθήκες, οι ποικιλιακές και εδαφικές συνθήκες είναι σημαντικοί παράμετροι για τη διάκριση μεταξύ μονοποικιλιακών ελαιολάδων και τον προσδιορισμό της γεωγραφικής προέλευσής τους. Οι συγγραφείς συνέκριναν επίσης δύο ποικιλίες της Χιλής με τις αντίστοιχες ποικιλίες που παράγονται στην Ισπανία και διαπίστωσαν ότι το πτητικό προφίλ μπορεί να χρησιμοποιηθεί για τη διάκριση της χώρας προέλευσης με βάση ποσοτικούς υπολογισμούς.

Οι Berlioz et al. (2006) διεξήγαγαν μια ανάλυση στα ΠΟΠ γαλλικά εξαιρετικά παρθένα ελαιόλαδα για να επαληθεύσουν τη γνησιότητά τους. Η μελέτη περιελάμβανε σύγκριση του προφίλ πτητικών αυτών των ελαίων με αυτό του εμπορικού EVOO. Τα πτητικά

απορροφήθηκαν σε ένα 50/30 μm Διβινυλοβενζόλιο/Καρβοξέν/Πολυδιμεθυλοσιλοξάνιο (DVB/CAR/PDMS) και στη συνέχεια διαχωρίστηκαν με την τεχνική (Αέρια χρωματογραφία-Ανιχνευτή Ιονισμού Φλόγας - GC-FID). Τα δεδομένα που λήφθηκαν από το πείραμα αναλύθηκαν χρησιμοποιώντας PCA, το οποίο αποκάλυψε αξιοσημείωτες παραλλαγές μεταξύ του ΠΟΠ και των ελαίων ελέγχου. Ένα σημαντικό εύρημα ήταν η σημαντική μείωση των επιπέδων E-2-hexenal στο εμπορικά διαθέσιμο EVOO, το οποίο χρησίμευσε ως κρίσιμος παράγοντας για τη διαφοροποίηση μεταξύ των δύο τύπων ελαίων. Επιπλέον, η ανάλυση SIMCA παρήγαγε ένα ικανοποιητικό μοντέλο ταξινόμησης που βασιζόταν στην ταυτοποίηση ορισμένων ενώσεων, που αναφέρονται ως ενώσεις δεικτών.

Σε μια μελέτη που διεξήχθη από τους Pizarro et al. (2011), το ασταθές προφίλ των EVOO από διάφορες ισπανικές περιοχές συσχετίστηκε με τη γεωγραφική τους προέλευση. Οι ερευνητές χρησιμοποίησαν την τεχνική HS-SPME/GC-MS και χρησιμοποίησαν χημειομετρικές αναλύσεις όπως PCA και Stepwise Linear Discriminant Analysis (SLDA) για να εξηγήσουν τα αποτελέσματα και να ταξινομήσουν τα δείγματα. Αν και η ταξινόμηση των δειγμάτων με ανάλυση PCA δεν ήταν απολύτως ικανοποιητική, παρείχε ορισμένες προκαταρκτικές πληροφορίες σχετικά με τη διαμόρφωση του μοντέλου ταξινόμησης. Αντίθετα, η ανάλυση SLDA βασίστηκε σε έξι χαρακτηριστικές ενώσεις και απέδωσε ποσοστό διάκρισης 100% μεταξύ των διαφορετικών ποικιλιών. Σε μια πρόσφατη μελέτη, οι ερευνητές εξέτασαν τα EVOO από διάφορες χώρες και προσπάθησαν να προσδιορίσουν τη γεωγραφική τους προέλευση χρησιμοποιώντας τα σεσκιτερπένια ως δείκτη. Για να επιτευχθεί αυτό, τα δείγματα αναλύθηκαν χρησιμοποιώντας την τεχνική HS-SPME-GC-MS με ένα DVB/CAR/PDMS 50/30 μm και υποβλήθηκαν σε ανάλυση PCA. Οι ερευνητές κατασκεύασαν ένα μοντέλο ταξινόμησης χρησιμοποιώντας ανάλυση PLS-DA και αξιολόγησαν τα αποτελέσματα χρησιμοποιώντας αναλυτικές προσεγγίσεις προφίλ και δακτυλικών αποτυπωμάτων. Η μη στοχευμένη προσέγγιση απέδωσε πιο ακριβή ποσοστά ταξινόμησης, με όλα τα δείγματα να ταξινομούνται σωστά και η στοχευμένη προσέγγιση να κυμαίνεται από 46 έως 100% ακρίβεια (Quintanilla-Casas et al., 2020).

Ομοίως, μελετήθηκε η γεωγραφική και η ποικιλία διαφοροποίησης των VOOs σχετικά με τα ιταλικά VOO. Προκειμένου να ληφθούν λεπτομερείς πληροφορίες σχετικά με τη χημική σύνθεση των δειγμάτων, χρησιμοποιήθηκαν τρεις διαφορετικές αναλυτικές τεχνικές: μικροεκχύλιση στερεάς φάσης (SPME), αέρια χρωματογραφία-φασματομετρία μάζας (GC-MS) και αέρια χρωματογραφία με ανίχνευση ιονισμού φλόγας (GC-ΜΟΥΡΕΛΛΟ). Αυτές οι τεχνικές επέτρεψαν τη συλλογή, την ταυτοποίηση και τον ποσοτικό προσδιορισμό των

διαφόρων ενώσεων που υπάρχουν στα δείγματα, με ιδιαίτερη έμφαση στις ενώσεις C5 και C6. Επιπλέον, ενώσεις όπως το cis copraene και το cis farnesene βρέθηκε να παρουσιάζουν σημαντικές διαφορές στην ποσότητα μεταξύ των διαφορετικών ποικιλιών του δείγματος. Για την καλύτερη κατανόηση αυτών των παραλλαγών, διεξήχθησαν στατιστικές αναλύσεις, συμπεριλαμβανομένης της ANOVA για τη σύγκριση των διαφορών μεταξύ των ποικιλιών και του DA σε συνδυασμό με PCA για την ταξινόμηση των δειγμάτων με βάση τη γεωγραφική τους προέλευση. Εντυπωσιακά, η ακρίβεια ταξινόμησης ήταν 100% (Vichi et al., 2003).

Η χρήση αέριας χρωματογραφίας για την ανάλυση του πτητικού προφίλ του έξτρα παρθένου ελαιολάδου (EVOO) και του παρθένου ελαιολάδου (VOO) με βάση την ποικιλία ή τη βοτανική προέλευσή τους

Σε μια μελέτη που διεξήχθη από τους Kaftan & Elmaci (2011), οι διαφορές στις πτητικές ενώσεις μεταξύ δύο τύπων ποικιλιών τουρκικού παρθένου ελαιολάδου (VOO), Ayvalik και Memecik, εξετάστηκαν με την τεχνική SPME/GC/MS. Για την ανάλυση χρησιμοποιήθηκε μια ίνα PDMS/DVB/CAR 50/30 μm. Τα αποτελέσματα μοντελοποιήθηκαν χρησιμοποιώντας ανάλυση συστάδων και PCA. Η μελέτη αποκάλυψε ότι υπήρχαν σημαντικές ποιοτικές και ποσοτικές διαφορές μεταξύ των δύο ποικιλιών με βάση την παρουσία συγκεκριμένων πτητικών ενώσεων. Αυτές οι διαφορές μπορούν να χρησιμοποιηθούν για τη διάκριση μεταξύ των δύο τύπων VOO. Ειδικότερα, για την ποικιλία Ayvalik, η εξανάλη, η 3-εξεν-1-όλη, η cis-3-εξενόλη και το 9-οκταδεκενοϊκό οξύ ήταν οι ενώσεις που διακρίνονταν, ενώ, για την ποικιλία Memecik, η 2-εξεν-1-όλη και η 3-εξεν-1-όλη το οξικό ήταν οι πιο χαρακτηριστικές ενώσεις.

Οι Kosma et al. (2016) διεξήγαγαν μια μελέτη σε έξι ποικιλίες έξτρα παρθένου ελαιολάδου που παράγονται στην Ελλάδα, εστιάζοντας στο προφίλ των πτητικών και λιπαρών οξέων τους. Χρησιμοποίησαν τη μέθοδο HS-SPME-GC/MS με έναν συγκεκριμένο τύπο ίνας και εντόπισαν διάφορες ενώσεις, συμπεριλαμβανομένων των ενώσεων C6 και C5, εστέρων, υδρογονανθράκων και τερπενίων. Αφού διεξήγαγαν μια Πολυμεταβλητή Ανάλυση Διακύμανσης και επέλεξαν 34 δείγματα, κατάφεραν να διαφοροποιήσουν με επιτυχία τις ποικιλίες με υψηλό ποσοστό ταξινόμησης 83%.

Σε μια μελέτη που διεξήχθη από τους Lukic et al. (2019), τα κροατικά VOO αναλύθηκαν για τη διάκρισή τους με βάση τη γεωγραφική κατανομή και την ποικιλία τους. Οι ερευνητές χρησιμοποίησαν την τεχνική HS-SPME για τη συλλογή πτητικών ενώσεων, χρησιμοποιώντας μια ίνα DVB/CAR/PBMS. Για να διαχωριστούν αυτές οι ενώσεις, χρησιμοποίησαν παραδοσιακό μονοδιάστατο GC-MS σε συνδυασμό με GC-TOF-MS. Καθώς το TOF-MS είναι

γνωστό για την ανώτερη επιλεκτικότητα και την ακρίβειά του, επέτρεψε την αναγνώριση περισσότερων ενώσεων που θα έλειπαν από το απλό GC-MS. Με την ενσωμάτωση τεχνικών χημειομετρικής ανάλυσης όπως ANOVA, PCA και SLDA, τα δείγματα διαφοροποιήθηκαν επιτυχώς, με την παρουσία μονοτερπενίων, σεσκιτερπενίων και τερπενίων να παίζει βασικό ρόλο στην ταξινόμησή τους.

Οι Nigri et al. (2012) διεξήγαγαν μια μελέτη σχετικά με το πτητικό προφίλ έξι αλγερινών ποικιλιών VOO χρησιμοποιώντας HS-SPME (ίνα DVB/CAR/PBMS 50/30 μm) ακολουθούμενη από GC-MS για τον προσδιορισμό των ενώσεων που υπάρχουν. Δεν χρησιμοποίησαν καμία χημειομετρική ανάλυση και βασίστηκαν σε ποσοτικές διαφορές μεταξύ των δειγμάτων για να διαφοροποιήσουν κάθε ποικιλία με βάση τη γεωγραφική τους προέλευση.

Οι Vichi et al. (2006) διεξήγαγαν μια μελέτη σχετικά με τα μονο- και τα σεσκιτερπενικά προφίλ των VOO από διάφορες ποικιλίες που βρέθηκαν στην Ισπανία και την Ιταλία με στόχο τον εντοπισμό των διαφορών που θα μπορούσαν να οδηγήσουν στη διάκρισή τους. Για να επιτευχθεί αυτός ο στόχος, οι ερευνητές εξέτασαν διάφορες παραμέτρους που σχετίζονται με τη μέθοδο HS-SPME, όπως ο τύπος ίνας, ο χρόνος εκχύλισης και η θερμοκρασία. Χρησιμοποίησαν την τεχνική GC-MS για να αποκτήσουν το καλύτερο χρωματογραφικό προφίλ. Το αποτέλεσμα της μελέτης αποκάλυψε ότι η επιλογή μιας ίνας DVB/CAR/PDMS και η θερμοκρασία εκχύλισης είχαν σημαντική επίδραση στα αποτελέσματα που προέκυψαν, ενώ ο χρόνος εκχύλισης δεν έπαιξε σημαντικό ρόλο. Οι ποσοτικές διαφορές των ενώσεων που μελετήθηκαν ήταν πιο εμφανείς όσον αφορά τα σεσκιτερπένια, παρόλο που ανιχνεύθηκαν μικρές διαφορές στο προφίλ των μονοτερπενίων μεταξύ ορισμένων ποικιλιών. Οι συγγραφείς της μελέτης υποστήριξαν ότι λαμβάνοντας υπόψη αποκλειστικά τις μετρήσιμες παραλλαγές στα μονο- και σεσκιτερπένια, είναι δυνατό να διαφοροποιηθούν αποτελεσματικά τα παρθένα ελαιόλαδα με βάση την ποικιλία και την προέλευσή τους. Αυτό υποδηλώνει ότι αυτές οι ενώσεις μπορεί να χρησιμεύσουν ως αξιόπιστοι δείκτες για τη διάκριση μεταξύ διαφορετικών τύπων ελαιόλαδου.

Οι Blasi et al. (2019) διεξήγαγαν μια μελέτη το 2019 όπου κατηγοριοποίησαν διάφορους τύπους εξαιρετικά παρθένων ελαιόλαδων με βάση τα λιπαρά οξέα και τις πτητικές συνθέσεις τους. Για να αναλύσουν το πτητικό κλάσμα, χρησιμοποίησαν τη μέθοδο SPME/GC-MS, η οποία τους επέτρεψε να αναγνωρίσουν και να ποσοτικοποιήσουν τις ενώσεις που υπήρχαν. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι η E-2-εξενάλη ήταν η πιο διαδεδομένη ένωση σε όλες τις ποικιλίες

που εξετάστηκαν, ακολουθούμενη από την trans-2-εξεν-1-όλη. Λαμβάνοντας υπόψη τις ποσοτικές διακρίσεις μεταξύ αυτών των δύο ενώσεων, οι ερευνητές μπόρεσαν να διαφοροποιήσουν επιτυχώς τα δείγματα με βάση την ποικιλία τους χρησιμοποιώντας ανάλυση LDA.

Οι Rouliarekou et al. (2011) διεξήγαγαν μια μελέτη για το παρθένο ελαιόλαδο (VOO) που προέρχεται από τη Δυτική Ελλάδα. Χρησιμοποίησαν μικροεκχύλιση στερεάς φάσης (SPME) με ίνες DVB/CAR/PBMS 30/50 μm και τεχνικές αέριας χρωματογραφίας-φασματομετρίας μάζας (GC/MS) για την απομόνωση και τον διαχωρισμό πτητικών ενώσεων. Η πλειονότητα των ταυτοποιημένων ενώσεων ήταν από τις οικογένειες C6 και C5. Οι ερευνητές χρησιμοποίησαν αναλύσεις ANOVA και LDA για να κατηγοριοποιήσουν τα αποτελέσματα με βάση την ποικιλία και τους γεωγραφικούς παράγοντες και έλαβαν σωστό ποσοστό ταξινόμησης 74% και 87,2%, αντίστοιχα. Χρησιμοποιώντας σταδιακά το SPME GC/MS με τους αλγόριθμους LDA και QDA, η ομάδα μπόρεσε να διακρίνει τις τρεις πιο εμπορικές ελληνικές ποικιλίες ελαιολάδου με σωστό ποσοστό ταξινόμησης 97,4% και 100%, αντίστοιχα. Οι βασικές πτητικές ενώσεις που επιλέχθηκαν για τη διαφοροποίηση των δειγμάτων ήταν τερπενοειδής υδρογονάνθρακες (Revelou et al., 2021).

3.4.3 Συνδυασμένη χρήση υγρής χρωματογραφίας υψηλής απόδοσης (HPLC) και αέριας χρωματογραφίας (GC)

Τα λιπαρά οξέα και τα τριγλυκερίδια παίζουν καθοριστικό ρόλο στον εντοπισμό της παρουσίας φυτικών ελαίων χαμηλού κόστους στο εξαιρετικό παρθένο ελαιόλαδο (EVOO) έως και 5% μέσω νοθείας. Για την ανάλυση των λιπαρών οξέων, χρησιμοποιείται Αέρια Χρωματογραφία (GC) και για τον προσδιορισμό της περιεκτικότητας σε τριγλυκερίδια, χρησιμοποιείται υγρή χρωματογραφία υψηλής απόδοσης (HPLC). Για τον υπολογισμό του ΔECN42 χρησιμοποιείται ένα πρόγραμμα υπολογιστή της μεθόδου του Κανονισμού ΕΚ 2568/91. Η ανίχνευση νοθείας του EVOO με έξι και εννέα φυτικά έλαια ολοκληρώθηκε με επιτυχία με τη χρήση συγκεκριμένων ορίων περιεκτικότητας σε λιπαρά οξέα και ΔECN42, αντίστοιχα (Christopoulou et al., 2004).

Η σύνθεση λιπαρών οξέων ενός δείγματος αναλύθηκε χρησιμοποιώντας μια τεχνική που ονομάζεται αέρια χρωματογραφία τριχοειδούς στήλης με ανιχνευτή ιονισμού φλόγας. Τα τριγλυκερίδια αναλύθηκαν με μια τεχνική που ονομάζεται υγρή χρωματογραφία υψηλής απόδοσης με ανιχνευτή διαφορικού διαθλασίμετρου. Οι στερόλες αναλύθηκαν με αέρια χρωματογραφία και ανιχνευτή ιονισμού φλόγας. Η παρουσία λινολενικού οξέος βρέθηκε να

είναι δείκτης πιθανής νοθείας του έξτρα παρθένου ελαιολάδου με έως και 5% σογιέλαιο. Εάν προστεθούν 4% ηλιέλαιο, 3% σογιέλαιο και 2% αραβοσιτέλαιο σε εξαιρετικό παρθένο ελαιόλαδο, η περιεκτικότητα σε trans λιπαρά οξέα του προκύπτοντος μείγματος αυξάνεται. Μια μέθοδος που ονομάζεται ΔECN42 χρησιμοποιήθηκε για την ανίχνευση της παρουσίας ηλιέλαιου (σε επίπεδο 1%), καλαμποκέλαιου (σε επίπεδο 3%) και σογιέλαιου (σε επίπεδο 3%) σε εξαιρετικό παρθένο ελαιόλαδο. Το ένα τοις εκατό του ηλιελαίου οδηγεί σε αύξηση της περιεκτικότητας σε Δ7-στιγμαστενόλη, ενώ το 4% του αραβοσιτέλαιου προκάλεσε αύξηση της περιεκτικότητας σε καμπεστερόλη. Τα αποτελέσματα της εφαρμογής LDA για την ταξινόμηση και την πρόβλεψη καθαρού και νοθευμένου EVOO οδήγησαν σε ένα αξιοσημείωτο ποσοστό ακρίβειας 100%. Αυτό σημαίνει ότι ο αλγόριθμος ήταν σε θέση να διακρίνει με ακρίβεια τα αυθεντικά και τα νοθευμένα δείγματα EVOO με απόλυτη ακρίβεια. Επιπλέον, το ποσοστό ακρίβειας πρόβλεψης εκτιμήθηκε επίσης ότι είναι σχεδόν 100%, υποδεικνύοντας ότι ο αλγόριθμος ήταν εξαιρετικά επιτυχημένος στην πρόβλεψη της αυθεντικότητας των δειγμάτων EVOO (Jabeur et al., 2014).

Πρόσφατη έρευνα έδειξε ότι μια διαδικασία μαλακής απόσπησης παρθένου ελαιολάδου (VOO) στους 100°C για 60 λεπτά μπορεί να αφαιρέσει αποτελεσματικά το ανεπιθύμητο πτητικό συστατικό, όπως προσδιορίζεται μέσω ανάλυσης μικροεκχύλισης στερεάς φάσης-GC. Αυτή η διαδικασία δεν οδηγεί σε σημαντική απώλεια αιθυλεστέρων λιπαρών οξέων (FAEEs) ή πυροφωφοφυτινών, όπως επιβεβαιώνεται μέσω των GC-FID και RP-HPLC με φωτομετρικό ανιχνευτή, αντίστοιχα. Αυτά τα ευρήματα επέτρεψαν τον επιτυχή προσδιορισμό του 50% VOO σε εξαιρετικό παρθένο ελαιόλαδο (EVOO), το οποίο δεν ήταν δυνατό να επιτευχθεί με προηγούμενες μεθόδους (Aparicio-Ruiz et al., 2017).

Η υγρή χρωματογραφία υψηλής απόδοσης (HPLC) και η αέρια χρωματογραφία (GC) είναι αναλυτικές μέθοδοι υψηλής ακρίβειας που προσφέρουν εξαιρετική ευαισθησία για την ανίχνευση ακόμη και μικροποσοτήτων ουσιών. Αυτές οι τεχνικές είναι ικανές να αναλύσουν μια ποικιλία ενώσεων και είναι ιδιαίτερα χρήσιμες για τον εντοπισμό νοθείας σε εξαιρετικά παρθένο ελαιόλαδο (EVOO). Ως αποτέλεσμα, οι HPLC και GC χρησιμοποιούνται ευρέως στη βιομηχανία τροφίμων για να διασφαλιστεί η καθαρότητα και η αυθεντικότητα του EVOO. Όλες οι μεθοδολογίες που βασίζονται σε HPLC και GC περιλαμβάνουν δαπανηρά όργανα, εκπαιδευμένο προσωπικό, πολλές χημικές ουσίες και βήματα για την προετοιμασία και την ανάλυση δειγμάτων. Οι προαναφερθείσες τεχνικές είναι αναποτελεσματικές από άποψη χρόνου, εργασίας και πόρων. Λόγω αυτών των μειονεκτημάτων, δεν είναι ιδανικές για γρήγορο έλεγχο χρησιμοποιώντας φορητές συσκευές.

3.5 Μέθοδοι θερμικής ανάλυσης ανίχνευσης νοθείας εξαιρετικού παρθένου ελαιολάδου

Η θερμιδομετρία διαφορικής σάρωσης (DSC) είναι μια χρήσιμη μέθοδος για την ανίχνευση της νοθείας του έξτρα παρθένου ελαιολάδου (EVOO) με έλαια χαμηλότερου κόστους, όπως το εξευγενισμένο φουντουκέλαιο και το ηλιέλαιο υψηλής περιεκτικότητας σε ελαϊκά. Αυτό επιτυγχάνεται με την ανάλυση των προφίλ θέρμανσης και ψύξης των ελαίων, με μελέτες που δείχνουν ότι η προσθήκη αυτών των ελαίων στο EVOO σε επίπεδα 20-40% μπορεί εύκολα να ανιχνευθεί μέσω των θερμικών προφίλ DSC. Μια άλλη μελέτη διαπίστωσε ότι η χρήση ταχείας DSC θα μπορούσε να ανιχνεύσει την παρουσία ηλιελαίου στο EVOO, με τις καμπύλες θέρμανσης του EVOO να δείχνουν μια ψυχρή ενδόθερμη κορυφή που απουσίαζε στο σογιέλαιο. Με την ανάμειξη σογιέλαιου στο EVOO, αυτή η κορυφή μειώθηκε γρήγορα, επιτρέποντας την ανίχνευση 2-10% νοθείας (Wetten et al., 2015). Το DSC σε συνδυασμό με τους συντελεστές αυτοσυσχέτισης lag-k έχει επίσης αποδειχθεί ότι είναι μια αποτελεσματική μέθοδος για την πρόβλεψη νοθείας EVOO με λάδια χαμηλής ποιότητας, με υψηλά επίπεδα ακρίβειας και χαμηλό μέσο τετραγωνικό σφάλμα ρίζας (Torrecilla et al., 2011a).

Μια άλλη μελέτη ανέφερε τη χρήση θερμοβαρυσμικού αναλυτή σε συνδυασμό με συντελεστές αυτοσυσχέτισης lag-k για την ανίχνευση και ποσοτικοποίηση EVOO νοθευμένων με ελαιόλαδο χαμηλής αξίας μικρότερο από 14% με υψηλό μέσο συντελεστή συσχέτισης > 0,90 και μέσο τετραγωνικό σφάλμα < 4,9% (Torrecilla et al., 2011b).

3.6. Άλλες τεχνικές ανίχνευσης νοθείας εξαιρετικού παρθένου ελαιολάδου

Η χρήση ηλεκτρονικής μύτης, σε συνδυασμό με διάφορες χημειομετρικές μεθόδους, όπως LDA, της τετραγωνικής διακριτικής ανάλυσης και των τεχνητών νευρωνικών δικτύων, έχει αποδειχθεί αποτελεσματικές στην ανίχνευση και τη μέτρηση της παρουσίας OPO και ηλιελαίου στο EVOO. Τα μοντέλα που δημιουργήθηκαν με βάση τη διακριτική ανάλυση έχουν δώσει ικανοποιητικά αποτελέσματα, με ποσοστά πρόβλεψης που κυμαίνονται από 95 έως 100% (Oliveros et al., 2002). Επιπλέον, μια βολταμετρική ηλεκτρονική γλώσσα, σε συνδυασμό με χημειομετρικές μεθόδους, χρησιμοποιήθηκε για την ανίχνευση νοθείας στο EVOO. Η παλινδρόμηση PLS έδειξε μια ισχυρή συσχέτιση μεταξύ του πολυφαινολικού περιεχομένου και των βολταμετρικών σημάτων των αναλυόμενων δειγμάτων. Η παλινδρόμηση PLS-DA και PLS ήταν και οι δύο επιτυχείς στον εντοπισμό της παρουσίας περισσότερο από 10% ελαίων ηλιάνθου, σόγιας και καλαμποκιού στο EVOO (Apretrei & Apretrei, 2014).

Μια διαφορετική προσέγγιση για την κατηγοριοποίηση διαφόρων εμπορικών σημάτων EVOO και τον εντοπισμό της παρουσίας σογιέλαιου στο EVOO περιλάμβανε ψηφιακή απεικόνιση και εποπτευόμενη αναγνώριση προτύπων. Η χρήση των τεχνικών LDA και PLS-DA είχε ως αποτέλεσμα την επιτυχή ταξινόμηση διαφορετικών εμπορικών σημάτων EVOO με 100% ακρίβεια. Επιπλέον, τα μοντέλα Sequential Projection Algorithm-LDA και PLS-DA μπόρεσαν να αναγνωρίσουν με ακρίβεια δείγματα EVOO αναμειγμένα με σογιέλαιο με ποσοστό ακρίβειας 88% και 94% (De Melo Milanez & Pontes, 2015).

Η μη θερμική επεξεργασία πλάσματος (NTP) έχει βρεθεί ότι είναι αποτελεσματική στην έναρξη ειδικών αντιδράσεων οξείδωσης λιπιδίων σε δείγματα EVOO σόγιας που περιέχουν 1-3%. Μέσω αυτής της ιδιότητας, η ανάλυση GC-MS της σύνθεσης λιπαρών οξέων και οι τεχνικές PCA έχουν οδηγήσει σε μια εξαιρετικά ακριβή ταξινόμηση των δειγμάτων που έχουν υποστεί επεξεργασία με NTP. Επιπλέον, αυτή η μέθοδος είναι ικανή να ανιχνεύσει ακόμη και τα παραμικρά επίπεδα νοθείας, με όριο ευαισθησίας μικρότερο από 1% (Durme & Vandamme, 2016). Σε μια μελέτη που έγινε από τους Harzalli et al. (2018) αναπτύχθηκε μια μέθοδος για τον εντοπισμό νοθείας του Εξαιρετικού Παρθένου Ελαιόλαδου (EVOO) με υποβαθμισμένο ελαιόλαδο. Η μέθοδος περιλάμβανε τη χρήση ηλεκτρονικής γλώσσας για την απόκτηση ποτενσιομετρικών δακτυλικών αποτυπωμάτων, τα οποία στη συνέχεια αναλύθηκαν χρησιμοποιώντας έναν συνδυασμό Γραμμικής Διακριτικής Ανάλυσης (LDA) και ενός προσομοιωμένου μετα-ευρετικού αλγόριθμου ανόπτησης. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι η μέθοδος ήταν ικανή να ανιχνεύσει την περιεκτικότητα σε ταγγισμένο ελαιόλαδο και κρασί-ξίδι στο EVOO σε επίπεδα άνω του 2,5% και 5%, αντίστοιχα.

Μια άλλη μέθοδος περιελάμβανε τη χημειομετρική απασχόληση και την άμεση βολταμετρική ανάλυση δειγμάτων αραιωμένων και μεθανολικών εκχυλισμάτων ελαίων για την ανίχνευση νοθείας του EVOO με OPO και άλλα σπορέλαια. Τα αποτελέσματα που προέκυψαν από την κυκλική βολταμετρική μελέτη χρησιμοποιήθηκαν για την ταξινόμηση του δείγματος λαδιού μέσω της εφαρμογής PLS-DA και SIMCA. Ωστόσο, η αποτελεσματικότητα και των δύο μεθόδων διέφερε ανάλογα με την κατάσταση του δείγματος. Ο ποσοτικός προσδιορισμός των νοθευτών πραγματοποιήθηκε με τη χρήση PLS, το οποίο οδήγησε σε μια επιτυχημένη ανάπτυξη μοντέλου με γραμμικό εύρος έως και 33% (v/v) και όριο ανίχνευσης χαμηλότερο από 2%, ανεξάρτητα από τον τύπο του νοθεύματος που χρησιμοποιείται (Tsopeles et al. , 2018). Μια άλλη μέθοδος που χρησιμοποιήθηκε για την ανίχνευση της νοθείας του EVOO με άλλα φυτικά έλαια περιελάμβανε τη χρήση PCR σε πραγματικό χρόνο σε συνδυασμό με ανάλυση τήξης υψηλής ανάλυσης. Συγκρίνοντας τα προφίλ τήξης του DNA, μπορεί να

προσδιοριστεί η παρουσία νοθευτών (Vietina et al., 2013). Η ανάλυση DNA είναι η μόνη τεχνική που μπορεί να ανιχνεύσει διαφορές σε επίπεδο γονιδιώματος, επομένως αναφέρεται ότι δεν επηρεάζεται από τη χημική σύσταση του EVOO και των νοθευτών. Η ομοιότητα στη χημική σύνθεση μεταξύ του έξτρα παρθένου ελαιολάδου (EVOO) και των νοθευτών μπορεί να επηρεάσει την ακρίβεια των διαφόρων αναλυτικών τεχνικών. Ωστόσο, η ανάλυση DNA έχει αποδειχθεί εξαιρετικά κατατοπιστική και αποτελεσματική για την ανίχνευση των συγκεκριμένων ποικιλιών ελιάς που χρησιμοποιούνται για την παραγωγή του EVOO, καθώς και για τον εντοπισμό αναμειγμένων ελαιολάδων από διαφορετικές ποικιλίες. Η ανάλυση DNA έχει επίσης χρησιμοποιηθεί για να επιβεβαιωθεί η αυθεντικότητα ακριβότερων ελαίων που προστατεύονται με ετικέτες όπως Προστατευόμενη Ονομασία Προέλευσης και Προστατευόμενη Γεωγραφική Ένδειξη, καθώς αυτά τα λάδια στοχοποιούνται συχνά από νοθευτές λόγω της υψηλότερης αγοραίας αξίας τους σε σύγκριση με τα συμβατικά EVOO (Agrimonti & Marmiroli, 2019).

3.7. Σύγκριση μεθόδων ανίχνευσης νοθείας

Στον Πίνακα 5, παρουσιάζεται μια ολοκληρωμένη ανάλυση σχετικά με τα πλεονεκτήματα και τα μειονεκτήματα των διαφόρων τεχνικών που χρησιμοποιούνται για τον προσδιορισμό και τον ποσοτικό προσδιορισμό του νοθευμένου έξτρα παρθένου ελαιολάδου (EVOO).

Πίνακας 5. Σύγκριση μεθόδων ανίχνευσης και ποσοτικοποίησης του νοθευμένου και μη έξτρα παρθένου ελαιολάδου.

Μέθοδοι ανίχνευσης	Συνθήκες ανίχνευσης	Πλεονεκτήματα	Μειονεκτήματα
GC	1. Τριχοειδής στήλη υψηλής πολικότητας 2. Θερμοκρασία φούρνου: 40–350 °C 3. Αέριο μεταφοράς: Ήλιο, υδρογόνο, άζωτο 4. Ανιχνευτής: Φασματοόμετρο μάζας και ανιχνευτές ιονισμού φλόγας	1. Σταθερές και παραδοσιακές μέθοδοι διάκρισης νοθείας του EVOO 2. Επιδεικνύουν υψηλότερη ευαισθησία και αποτελεσματικότητα 3. Ακριβής και ακριβής 4. Γρήγορος διαχωρισμός και ανάλυση 5. Απαιτείται λιγότερο δείγμα	1. Χρονοβόρα εξαγωγή δείγματος 2. Η υψηλότερη θερμοκρασία του φούρνου μπορεί να υποβαθμίσει το δείγμα δοκιμής, επομένως θα πρέπει να επιλεγεί προσεκτικά
IR	1. Φασματοσκοπία εγγύς υπέρυθρη ή	1. Ελάχιστη ή καθόλου	1. Χρονοβόρα ανάλυση δεδομένων

	<p>φασματοσκοπία μεσαίου υπέρυθρου</p> <p>2. Υποδοχή δείγματος/εξασθενημένο εξάρτημα δειγματοληψίας ολικής ανάκλασης</p> <p>3. Ανιχνευτής: Ανιχνευτής δευτεριωμένης θειικής τριγλυκίνης, ανιχνευτής αρσενιδίου γαλλίου ινδίου</p> <p>4. Χημειομετρικό λογισμικό</p>	<p>προετοιμασία δείγματος</p> <p>2. Μη καταστροφικός και γρήγορος προσδιορισμός</p> <p>3. Υψηλή αναπαραγωγιμότητα</p>	<p>και κατασκευή μοντέλων βαθμονόμησης</p>
Φασματοσκοπία Raman	<p>1. Υποδοχή δειγμάτων: Κυψελίδα χαλαζία</p> <p>2. Πηγή λέιζερ: Λείζερ ιόντων αργού, λέιζερ Nd:YAG</p> <p>3. Μήκος κύματος λέιζερ: 785, 514,5, 1064 nm</p> <p>4. Ισχύς λέιζερ: 10–540 Mw</p> <p>5. Ανιχνευτής: Συσκευή σύζευξης φορτίου, ανιχνευτής γερμανίου με ψύξη αζώτου</p>	<p>1. Μη καταστροφικό</p> <p>2. Καμία προετοιμασία δείγματος</p> <p>3. Απαιτείται μικρότερη ποσότητα δείγματος</p> <p>4. Το συσκευασμένο δείγμα μπορεί να αναλυθεί</p> <p>5. Ταχεία μέθοδος</p>	<p>1. Ο φθορισμός δείγματος ή νοθείας μπορεί να επηρεάσει τα φάσματα Raman</p> <p>2. Το λέιζερ υψηλής έντασης μπορεί να προκαλέσει θερμική υποβάθμιση του δείγματος</p>
HPLC	<p>1. Στήλη C-18</p> <p>2. Κατάλληλη κινητή φάση</p> <p>3. Αντλία υψηλής πίεσης</p> <p>4. Θερμοκρασία στήλης: 25–42 °C</p> <p>5. Ανιχνευτής: Συστοιχία διόδων, φωτομετρική, αμπερομετρική, φθορισμός, δείκτης διάθλασης, διάταξη φωτοδιόδων.</p>	<p>1. Εύκολο στη χρήση</p> <p>2. Εξαιρετικά ακριβές και αναπαραγωγίμο</p> <p>3. Γρήγορη και υψηλή ανάλυση</p>	<p>1. Ακριβή τεχνική</p> <p>2. Χρονοβόρα εξαγωγή δείγματος</p> <p>3. Επίπονη ανάπτυξη νέων μεθόδων</p> <p>4. Δύσχρονη η αντιμετώπιση του προβλήματος</p>
NMR	<p>1. Σωλήνας NMR</p> <p>2. Υπεραγωγίμος μαγνήτης</p>	<p>1. Σύντομος χρόνος ανάλυσης</p>	<p>1. Ακριβή</p> <p>2. Χαμηλή ευαισθησία και απαιτείται μεγάλη</p>

	<ul style="list-style-type: none"> 3. Γεννήτρια συχνοτήτων 4. Cryoprobe 5. Δευτεροιωμένο χλωροφόρμιο 	<ul style="list-style-type: none"> 2. Ευκολότερη προετοιμασία δείγματος 3. Αμερόληπτη, μη καταστροφική ανάλυση 	<p>ποσότητα δείγματος για ανάλυση</p>
DSC	<ul style="list-style-type: none"> 1. Θερμοστάτης 2. Παροχή αζώτου 3. 30 °C έως -80 °C και -80 °C-30 °C 	<ul style="list-style-type: none"> 1. Εύκολο στη λειτουργία 2. Υψηλή ταχύτητα ανάλυσης 3. Λιγότερες αρνητικές επιπτώσεις στο περιβάλλον 	<ul style="list-style-type: none"> 1. Μόνο για ποιοτική ανάλυση, παρά για ποσοτική ανάλυση 2. Χρονοβόρα εξαγωγή δείγματος 3. Αδύνατη η ανίχνευση των νοθευτών φυτικών ελαίων με υψηλή περιεκτικότητα σε ελαϊκά με ανάλυση αποσυνέλιξης

Κεφάλαιο 4^ο FT-IR Υλικά και Μέθοδοι πειραματικής διαδικασίας

4.1 Σκοπός Πειραματικής Διαδικασίας

Σε ευρωπαϊκό και παγκόσμιο επίπεδο υπάρχει απαίτηση για αυθεντικότητα των αγροτικών προϊόντων και τροφίμων που διατίθενται στην αγορά, δηλαδή η δήλωση της ετικέτας πρέπει να ταιριάζει απόλυτα με το περιεχόμενο του προϊόντος συμπεριλαμβανομένων τόσο της σύνθεσης. Στην Περιφέρεια Πελοποννήσου το Π.Ο.Π ελαιόλαδο Καλαμάτας έχει μακρά ιστορία παραγωγής και κατανάλωσης καθώς η ποιότητα και τα χαρακτηριστικά του ξεχωρίζουν (προέρχεται κυρίως από ελαιόκαρπους της ποικιλίας Κορωνέϊκη και κατά μέγιστο 5% από ελαιόκαρπους της ποικιλίας Μαστοειδής). Αυτό οφείλεται κυρίως ή αποκλειστικά στο ιδιαίτερο γεωγραφικό περιβάλλον που συμπεριλαμβάνει τους εγγενείς φυσικούς αλλά και τους ανθρώπινους παράγοντες. Έχει περίοπτη θέση στην εγχώρια και διεθνή αγορά και γίνεται στόχος νοθείας από άλλα προϊόντα κατώτερης ποιότητας όπως τα σπορέλαια. Στα πλαίσια της ανάγκης για βελτίωσης της ανταγωνιστικότητας στο παρελθόν έχουν προταθεί παρεμβάσεις για τη διασφάλιση της αυθεντικότητας του ελαιόλαδου Π.Ο.Π Καλαμάτας, ωστόσο τα πραγματικά εργαλεία των ελεγκτικών μηχανισμών για την πιστοποίηση της αυθεντικότητας των προϊόντων αυτών υπολείπονται των πραγματικών αναγκών για την προστασία των παραγωγών και τον έλεγχο της νοθείας με αντικειμενικές μεθόδους.

Όλα τα παραπάνω δημιουργούν την ανάγκη για δημιουργία μιας ολοκληρωμένης πρότασης με μεθοδολογίες γρήγορες, ακριβείς, εύκολες στην εφαρμογή και με χαμηλό κόστος, έτσι ώστε να μπορεί να ελέγχεται η αυθεντικότητα των προϊόντων σε όλα τα στάδια των διαδικασιών παραγωγής και διακίνησής τους. Στόχος της μελέτης αυτής είναι ο διαχωρισμός του Π.Ο.Π ελαιόλαδου Καλαμάτας από νοθευμένα δείγματα ελαιόλαδων με ηλιέλαιο σε διαφορετικές αναλογίες.

Για την ανάπτυξη της αναλυτικής μεθόδου, με σκοπό την ανίχνευση νοθείας του ελαιόλαδου, αρχικά ένας μεγάλος αριθμός εξαιρετικά παρθένων ελαιόλαδων από διαφορετικές περιοχές του νομού Μεσσηνίας θα συλλεχθεί και κατόπιν μέρος τους θα νοθευτεί με ηλιέλαιο σε διαφορετικές αναλογίες. Όλα τα παραπάνω δείγματα θα μελετηθούν με φασματοσκοπία FTIR και στην συνέχεια τα ληφθέντα φάσματα θα επεξεργαστούν με χημειομετρικές τεχνικές όπως την μη εποπτευόμενη μέθοδο ανάλυσης κύριων συνιστωσών (PCA) για την δημιουργία διαγραμμάτων διασποράς (Score plot) που θα εντοπίζουν μοτίβα στο σύνολο των δεδομένων που είναι ενδεικτικά της νοθείας. Η μέθοδος αυτή θα επικυρωθεί με τον επεξηγημένο λόγο διακύμανσης (Explained Variance ratio) για κάθε κύριο συστατικό. Έπειτα θα χρησιμοποιηθεί

η Γραμμική παλινδρόμηση (Linear regression) για να δημιουργηθεί μοντέλο που προβλέπει εάν ένα δεδομένο δείγμα είναι νοθευμένο ή όχι με βάση το φάσμα FTIR του. Η απόδοση του μοντέλου αυτού θα αξιολογηθεί με τον συντελεστή προσδιορισμού R-squared. Τέλος, θα χρησιμοποιηθούν τυφλά δείγματα ως τρόπος επικύρωσης της ικανότητας των μοντέλων να διακρίνει αξιόπιστα διαφορετικές κατηγορίες δειγμάτων.

4.2. Έλαια που χρησιμοποιήθηκαν

Για την παρούσα μελέτη χρησιμοποιήθηκαν 69 δείγματα Π.Ο.Π ελαιόλαδου Καλαμάτας από διαφορετικές περιοχές της Μεσσηνίας (3 διαφορετικά αγροτεμάχια από κάθε περιοχή). Έπειτα πάρθηκαν τα 44 από αυτά και νοθευτήκαν σε διαφορετικές αναλογίες. Πιο συγκεκριμένα έγιναν νοθείες με τις εξής αναλογίες ηλιέλαιου 5%, 10%, 20%, 25%, 30%, 50%, 55%, 60%, 75%, 80%, 90% (4 δείγματα για κάθε ποσοστό νοθείας). Το ηλιέλαιο αγοράστηκε από τοπικό κατάστημα της περιοχής (επωνυμία Sanola). Τα δείγματα αυτά χρησιμοποιήθηκαν στην συνέχεια για την εκπαίδευση του αλγορίθμου της PCA. Για την επικύρωση του συλλέχθηκαν άλλα 30 δείγματα από διαφορετικές περιοχές της Μεσσηνίας (3 διαφορετικά αγροτεμάχια από κάθε περιοχή), νοθευτήκαν με ηλιέλαιο 10%, 20%, 25%, 30%, 50%, 55%, 60%, 75%, 80%, 90% (3 δείγματα για κάθε ποσοστό νοθείας) και αποθηκεύτηκαν σε σκουρόχρωμα μπουκαλάκια χωρίς κάποια κωδικοποίηση-ονομασία έτσι ώστε να εξασφαλιστεί η τυχαιότητα. Όλα τα δείγματα τοποθετήθηκαν σε σκουρόχρωμα ημιδιαφανή μπουκαλάκια των 100ml και αποθηκεύτηκαν σε σκιερό και δροσερό μέρος (22-24°C) όπως έχει προταθεί και από τους Filoda et al. (2018).



Εικόνα 9. Ημιδιαφανές μπουκαλάκι, 100ml

Στον παρακάτω πίνακα παρατίθενται τα δείγματα Π.Ο.Π Ελαιόλαδου Μεσσηνίας που συλλέχθηκαν για την εκπαίδευση του αλγόριθμου (όπου Α,Β,Γ τα διαφορετικά αγροτεμάχια της ίδιας περιοχής).

Πίνακας 6. Δείγματα Π.Ο.Π ελαιόλαδου Καλαμάτα που χρησιμοποιήθηκαν για την εκπαίδευση του αλγόριθμου της PCA

1.	Τρίκορφο Μεσσηνίας	A
2.	Τρίκορφο Μεσσηνίας	B
3.	Τρίκορφο Μεσσηνίας	Γ
4.	Κορώνη Μεσσηνίας	A
5.	Κορώνη Μεσσηνίας	B
6.	Κορώνη Μεσσηνίας	Γ
7.	Πεταλίδι Μεσσηνίας	A
8.	Πεταλίδι Μεσσηνίας	B
9.	Πεταλίδι Μεσσηνίας	Γ
10.	Γαργαλιάνοι Μεσσηνίας	A
11.	Γαργαλιάνοι Μεσσηνίας	B
12.	Γαργαλιάνοι Μεσσηνίας	Γ
13.	Φιλιατρά Μεσσηνίας	A
14.	Φιλιατρά Μεσσηνίας	B
15.	Φιλιατρά Μεσσηνίας	Γ
16.	Αριστομένης Μεσσηνίας	A
17.	Αριστομένης Μεσσηνίας	B
18.	Αριστομένης Μεσσηνίας	Γ
19.	Κρεμμύδια Μεσσηνίας	A
20.	Κρεμμύδια Μεσσηνίας	B
21.	Κρεμμύδια Μεσσηνίας	Γ
22.	Μάνεση Μεσσηνίας	A
23.	Μάνεση Μεσσηνίας	B
24.	Μάνεση Μεσσηνίας	Γ
25.	Αετοφωλιά Μεσσηνίας	A
26.	Αετοφωλιά Μεσσηνίας	B
27.	Αετοφωλιά Μεσσηνίας	Γ

28.	Ανδρούσα Μεσσηνίας	A
29.	Ανδρούσα Μεσσηνίας	B
30.	Ανδρούσα Μεσσηνίας	Γ
31.	Αρφαρά Μεσσηνίας	A
32.	Αρφαρά Μεσσηνίας	B
33.	Αρφαρά Μεσσηνίας	Γ
34.	Άμφεια Μεσσηνίας	A
35.	Άμφεια Μεσσηνίας	B
36.	Άμφεια Μεσσηνίας	Γ
37.	Μελιγαλάς Μεσσηνίας	A
38.	Μελιγαλάς Μεσσηνίας	B
39.	Μελιγαλάς Μεσσηνίας	Γ
40.	Θουρία Μεσσηνίας	A
41.	Θουρία Μεσσηνίας	B
42.	Θουρία Μεσσηνίας	Γ
43.	Περιβολάκια Μεσσηνίας	A
44.	Περιβολάκια Μεσσηνίας	B
45.	Περιβολάκια Μεσσηνίας	Γ
46.	Κάμπος Μεσσηνίας	A
47.	Κάμπος Μεσσηνίας	B
48.	Κάμπος Μεσσηνίας	Γ
49.	Αλτομιρά Μεσσηνίας	A
50.	Αλτομιρά Μεσσηνίας	B
51.	Αλτομιρά Μεσσηνίας	Γ
52.	Στέρνα Μεσσηνίας	A
53.	Στέρνα Μεσσηνίας	B
54.	Στέρνα Μεσσηνίας	Γ
55.	Βελίκα Μεσσηνίας	A
56.	Βελίκα Μεσσηνίας	B
57.	Βελίκα Μεσσηνίας	Γ
58.	Έυα Μεσσηνίας	A
59.	Έυα Μεσσηνίας	B

60.	Έυα Μεσσηνίας	Γ
61.	Διάσελλα Μεσσηνίας	A
62.	Διάσελλα Μεσσηνίας	B
63.	Διάσελλα Μεσσηνίας	Γ
64.	Σπερχογεία Μεσσηνίας	A
65.	Σπερχογεία Μεσσηνίας	B
66.	Σπερχογεία Μεσσηνίας	Γ
67.	Κιτριές Μεσσηνίας	A
68.	Κιτριές Μεσσηνίας	B
69.	Κιτριές Μεσσηνίας	Γ

Στον παρακάτω πίνακα παρατίθενται τα δείγματα Π.Ο.Π Ελαιόλαδου Μεσσηνίας που συλλέχθηκαν για την επικύρωση του αλγόριθμου (όπου Α,Β,Γ τα διαφορετικά αγροτεμάχια της ίδιας περιοχής).

Πίνακας 7. Δείγματα Π.Ο.Π ελαιόλαδου Καλαμάτα που χρησιμοποιήθηκαν για την επικύρωση της εκπαίδευσης του αλγόριθμου της PCA

1.	Στενωσιά Μεσσηνίας	A
2.	Στενωσιά Μεσσηνίας	B
3.	Στενωσιά Μεσσηνίας	Γ
4.	Στρέφι Μεσσηνίας	A
5.	Στρέφι Μεσσηνίας	B
6.	Στρέφι Μεσσηνίας	Γ
7.	Κυνηγός Μεσσηνίας	A
8.	Κυνηγός Μεσσηνίας	B
9.	Κυνηγός Μεσσηνίας	Γ
10.	Φλόκα Μεσσηνίας	A
11.	Φλόκα Μεσσηνίας	B
12.	Φλόκα Μεσσηνίας	Γ
13.	Διαβολίτσι Μεσσηνίας	A
14.	Διαβολίτσι Μεσσηνίας	B
15.	Διαβολίτσι Μεσσηνίας	Γ

16.	Πεύκο Μεσσηνίας	A
17.	Πεύκο Μεσσηνίας	B
18.	Πεύκο Μεσσηνίας	Γ
19.	Δένδρα Μεσσηνίας	A
20.	Δένδρα Μεσσηνίας	B
21.	Δένδρα Μεσσηνίας	Γ
22.	Βόρειο Μεσσηνίας	A
23.	Βόρειο Μεσσηνίας	B
24.	Βόρειο Μεσσηνίας	Γ
25.	Προσήλιο Μεσσηνίας	A
26.	Προσήλιο Μεσσηνίας	B
27.	Προσήλιο Μεσσηνίας	Γ
28.	Λέικα Μεσσηνίας	A
29.	Λέικα Μεσσηνίας	B
30.	Λέικα Μεσσηνίας	Γ

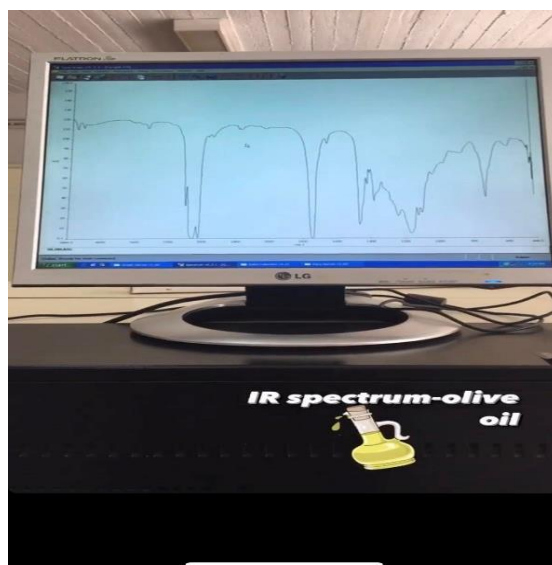
4.3 Οργανολογία

Το όργανο που χρησιμοποιήθηκε για την δημιουργία βάσης δεδομένων στο FT-IR (2500-16000nm) είναι το Perkin Elmer Spectrum Bxii LX185255 με ανιχνευτή DTGS(deuterated triglycine sulfate) σταθεροποιημένης θερμοκρασίας και διακριτική ικανότητα 4cm^{-1} , μέθοδος που δίνει υψηλής ποιότητας φάσματα σε σύντομο χρονικό διάστημα. Διαθέτει μία δέσμη ακτινοβολίας τόσο για το δείγμα όσο και για τις μετρήσεις αναφοράς σε μια φασματοσκοπική ανάλυση. Σε αυτή τη ρύθμιση, το δείγμα και η αναφορά τοποθετούνται εναλλάξ στην διαδρομή της δέσμης και τα σήματα που προκύπτουν συγκρίνονται για τον προσδιορισμό των ιδιοτήτων του δείγματος. Επίσης φέρει υψηλής συχνότητας “black body cavity source” που διασφαλίζει την σταθερή και ομοιόμορφη παροχή υπέρυθρης ακτινοβολίας. Τέλος διαθέτει το DynaScan-Michelson συμβολόμετρο στο οποίο μια δέσμη υπέρυθρης ακτινοβολίας χωρίζεται σε δύο διαδρομές από έναν διαχωριστή δέσμης, με τη μία διαδρομή να κατευθύνεται σε ένα σταθερό κάτοπτρο και την άλλη διαδρομή να κατευθύνεται σε ένα κινητό κάτοπτρο. Στην συνέχεια, οι δύο δέσμες ανασυνδυάζονται στον διαχωριστή δέσμης και κατευθύνονται σε έναν ανιχνευτή, ο οποίος μετρά το σχέδιο παρεμβολής μεταξύ των δύο δεσμών. Η χρήση του επιτρέπει την γρήγορη και ακριβή μέτρηση των φασμάτων (<https://www.labplanet.com/perkin-elmer->

[spectrum-bxii-lx185255.html](https://www.perkinelmer.com/Products/FTIR/Spectrum-BXII); Duque et al., 2022). Στις παρακάτω εικόνες φαίνεται το όργανο που χρησιμοποιήθηκε στο εργαστήριο Χημείας του πανεπιστημίου(εικόνα 10) καθώς και ένα τυπικό φάσμα διαπερατότητας ελαιόλαδου (εικόνα 11).



Εικόνα 10. FTIR Perkin Elmer Spectrum Bxii



Εικόνα 11. Φάσμα ελαιόλαδου

4.4 Δειγματοληψία

Το κάθε δείγμα σαρώθηκε 20 φορές στα $4000-400\text{ cm}^{-1}$, η διαδικασία επαναλήφθηκε τρεις φορές για κάθε δείγμα από την αρχή και πριν από κάθε μέτρηση πάρθηκε φάσμα αναφοράς. (Hirri et al., 2015). Το φάσμα αναφοράς βοηθά στην εξάλειψη τυχών διακυμάνσεων στην

ένταση της πηγής καθώς και οποιεσδήποτε άλλες πηγές θορύβου ή παρεμβολών. (<https://www.newport.com/n/ft-ir-spectroscopy-definitions-of-characteristics>).

Όλα τα δείγματα είχαν σταθερή ποσότητα ~2 μL και τοποθετούνταν σε σφαιρικά πλακίδια NaCl δημιουργώντας ένα λεπτό φιλμ και τοποθετούταν στην ειδική βάση του φασματοφωτόμετρου με προσοχή(holder) (εικόνα 13). Η σταθερή ποσότητα επιτεύχθηκε χρησιμοποιώντας πιπέτα Gilson των 2-20 μL . Τα πλακίδια NaCl (εικόνα 12) καθαρίζονταν με Διχλωρομεθάνιο στον απαγωγό, όπως φαίνεται στις παρακάτω φωτογραφίες που τραβήχτηκαν στο εργαστήριο Χημείας του πανεπιστημίου (εικόνα 14).



Εικόνα 12. Πλακίδια NaCl



Εικόνα 13. Holder φασματοφωτόμετρου που τοποθετούνται τα πλακίδια NaCl με το δείγμα



Εικόνα 14. Πλύση πλακιδίων NaCl

4.5 Χημειομετρία- Ανάλυση Κύριων Συνιστωσών PCA

PCA ή ανάλυση κύριων συνιστωσών είναι μια τεχνική που χρησιμοποιείται για την ανάλυση πολυμεταβλητών δεδομένων και πραγματοποιήθηκε στο Unscrambler, ένα πακέτο λογισμικού χημειομετρίας που χρησιμοποιείται ευρέως για ανάλυση και μοντελοποίηση δεδομένων. Έχοντας ένα νέφος τιμών με πάρα πολλές πληροφορίες και n -διάστατους παράγοντες γίνεται προσπάθεια να βρεθεί μια οπτική γωνία που επιτρέπει την ομαδοποίηση τους. Ο σκοπός είναι να μεγιστοποιηθεί η διασπορά των σημείων και να εντοπιστεί ο άξονας που δίνει την μεγαλύτερη διασπορά. Όταν βρεθεί κρατείται σταθερός και περιστρέφεται ένας άλλος άξονας κάθετος προς αυτόν με αποτέλεσμα η διασπορά να μεγαλώσει στο μέγιστο δυνατό. Με αυτό τον τρόπο εμφανίζονται παραπάνω από ένα νέφη σημείων που φανερώνουν ότι η μείωση της διαστασιμότητας σε δυο διαστάσεις πιο ευδιάκριτες (low dimensional) δίνει καλύτερη οπτική των δεδομένων. Πιο συγκεκριμένα ο αλγόριθμος της PCA εντοπίζει πρότυπα-μοτίβα που είναι ενδεικτικά της νοθείας σε ένα σύνολο δεδομένων με πολλές διαστάσεις. Δημιουργεί ένα νέο σύνολο μεταβλητών που ονομάζονται Κύρια στοιχεία, το οποίο αποτελείται από γραμμικούς συνδυασμούς των αρχικών μεταβλητών που καταγράφουν το μεγαλύτερο μέρος της μεταβλητότητας στα δεδομένα. Η οπτικοποίηση της ποιοτικής αυτής αξιολόγησης γίνεται με το διάγραμμα διασποράς (Score Plot) όπου εμφανίζει την κατανομή των δειγμάτων με βάση τις τιμές των δύο ή τριών πρώτων κύριων συνιστωσών. Κάθε τελεία αντιπροσωπεύει και ένα δείγμα.

Η αξιολόγηση της αποτελεσματικότητας του αλγόριθμου μετρήθηκε με το ποσοστό της συνολικής διακύμανσης (>70-80%) που εξηγείται από κάθε κύριο στοιχείο δηλαδή τον λόγο Διακύμανσης που είναι ίσος με την ιδιοτιμή προς το άθροισμα όλων των ιδιοτιμών (Explained Variance).

Ο αλγόριθμος PCA αξιολογήθηκε επίσης με τυφλά δείγματα προκειμένου να δοκιμαστεί η ικανότητα του να ανταποκρίνεται σε νέα δεδομένα. Τα δείγματα αυτά δεν χρησιμοποιήθηκαν στην εκπαίδευση του-διατηρήθηκαν ξεχωριστά μέχρι το στάδιο της αξιολόγησης (Jolliffe, 2010; Abdi, & Williams, 2010; Jolliffe & Cadima, 2016).

4.6 Χημειομετρία – Γραμμική Παλινδρόμηση (Linear Regression)

Η Γραμμική Παλινδρόμηση είναι μια στατιστική τεχνική που περιλαμβάνει την εξέταση της σύνδεσης μεταξύ μιας ή περισσότερων ανεξάρτητων μεταβλητών και μιας εξαρτημένης μεταβλητής. Η διαδικασία συνεπάγεται την κατασκευή μιας ευθείας γραμμής μέσω μιας συλλογής σημείων δεδομένων για την πρόβλεψη της τιμής της εξαρτημένης μεταβλητής με βάση την ανεξάρτητη μεταβλητή. Η θεμελιώδης αρχή της γραμμικής παλινδρόμησης είναι ο προσδιορισμός της εξίσωσης μιας ευθείας γραμμής που αντιστοιχεί με την μεγαλύτερη ακρίβεια σε ένα σύνολο σημείων δεδομένων. Η εξίσωση της γραμμής μπορεί να εκφραστεί ως: $Y = \beta_0 + \beta_1 \cdot \chi_1 + \beta_2 \cdot \chi_2 + \dots + \beta_n \cdot \chi_n + \varepsilon$. Όπου y είναι η εξαρτημένη μεταβλητή $\chi_1, \chi_2, \dots, \chi_n$ είναι οι ανεξάρτητες μεταβλητές, $\beta_0, \beta_1, \beta_2, \dots, \beta_n$ είναι οι συντελεστές και ε είναι ο όρος σφάλματος. Οι συντελεστές ($\beta_0, \beta_1, \beta_2, \dots, \beta_n$) αντιπροσωπεύουν την κλίση της ευθείας και υπολογίζονται χρησιμοποιώντας μια μέθοδο που ονομάζεται μέθοδος ελαχίστων τετραγώνων. Αυτή η μέθοδος ελαχιστοποιεί το άθροισμα των τετραγωνικών διαφορών μεταξύ των πραγματικών τιμών της εξαρτημένης μεταβλητής και των προβλεπόμενων τιμών από την γραμμή παλινδρόμησης. Η γραμμική παλινδρόμηση μπορεί να χρησιμοποιηθεί τόσο για απλή όσο και για πολλαπλή ανάλυση παλινδρόμησης. Η απλή γραμμική παλινδρόμηση περιλαμβάνει μόνο μία ανεξάρτητη μεταβλητή, ενώ η πολλαπλή περιλαμβάνει δύο ή περισσότερες ανεξάρτητες μεταβλητές. Μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την πρόβλεψη, τον έλεγχο υποθέσεων και μοντελοποίηση της σχέσης μεταξύ των μεταβλητών και να εντοπίσει ακραία ή σημαντικά σημεία δεδομένων που μπορούν να επηρεάσουν την ακρίβεια του μοντέλου.

Η αξιολόγηση της καλής προσαρμογής του μοντέλου γραμμικής παλινδρόμησης που δημιουργήθηκε για τον διαχωρισμό νοθευμένων ελαιόλαδων και μη έγινε με το R-square που αντιπροσωπεύει την αναλογία διακύμανσης στην εξαρτημένη μεταβλητή που εξηγείται από

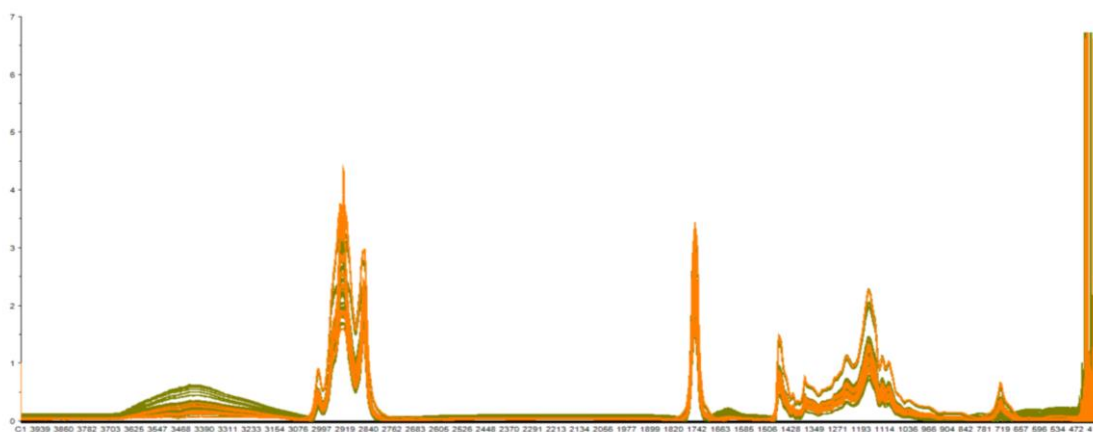
τις ανεξάρτητες μεταβλητές στο μοντέλο. Υπολογίζεται ως εξής $R^2=1- (SS_{res}/SS_{tot})$. Όπου SS_{res} είναι η διαφορά μεταξύ των πραγματικών τιμών και των προβλεπόμενων τιμών και SS_{tot} η διαφορά μεταξύ πραγματικών τιμών και της μέσης τιμής της εξαρτημένης μεταβλητής. Η στατιστική R-square είναι ένας αριθμητικός δείκτης που κυμαίνεται μεταξύ 0 και 1. Οι υψηλότερες τιμές του R-square υποδηλώνουν ότι το μοντέλο ταιριάζει καλύτερα στα δεδομένα. Όταν το R-τετράγωνο ισούται με 1, σημαίνει ότι το μοντέλο αντιπροσωπεύει όλη τη διακύμανση της εξαρτημένης μεταβλητής. Αντίθετα, μια τιμή R-τετράγωνο 0 υποδεικνύει ότι το μοντέλο αποτυγχάνει να εξηγήσει οποιαδήποτε από τις μεταβλητές στην εξαρτημένη μεταβλητή.

Σε συνέχεια της επικύρωσης της μεθόδου και εφόσον η απόδοση του μοντέλου Γραμμικής παλινδρόμησης ήταν ικανοποιητικό αξιολογήθηκε χρησιμοποιώντας τυφλά δείγματα. Αυτό έδωσε μια πιο ολοκληρωμένη κατανόηση της απόδοσης και των δυνατοτήτων του για πραγματικές εφαρμογές (Yan & Su, 2009; Uyanik & Güler, 2013; Kumari & Yadav, 2018; Hayes & Montoya, 2017).

Κεφάλαιο 5^ο Αποτελέσματα

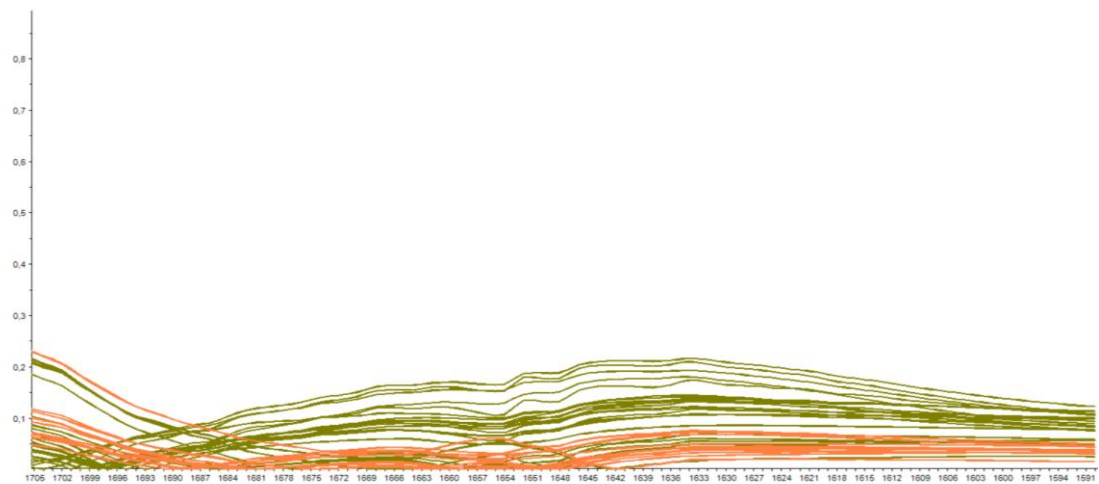
5.1 Αποτελέσματα FT-IR Φασματοσκοπίας

Το εύρος του μήκους κύματος που μετρήθηκαν τα δείγματα ήταν $4000-400\text{cm}^{-1}$. Σε συνέχεια του πειράματος διερευνήθηκαν οι κατάλληλες ζώνες που ανίχνευσαν τα Π.Ο.Π ελαιόλαδα Καλαμάτας από τα νοθευμένα ελαιόλαδα μέσα από τα φασματογραφήματα που προέκυψαν. Η βάση δεδομένων που δημιουργήθηκε δεν επεξεργάστηκε περαιτέρω και τα φάσματα απορρόφησης χρησιμοποιήθηκαν στην αρχική τους μορφή (raw data). Στον παρακάτω πίνακα βλέπουμε τα φάσματα των 113 δειγμάτων (69 ΠΟΠ ελαιόλαδα Καλαμάτας και 44 νοθευμένα με ηλιέλαιο).

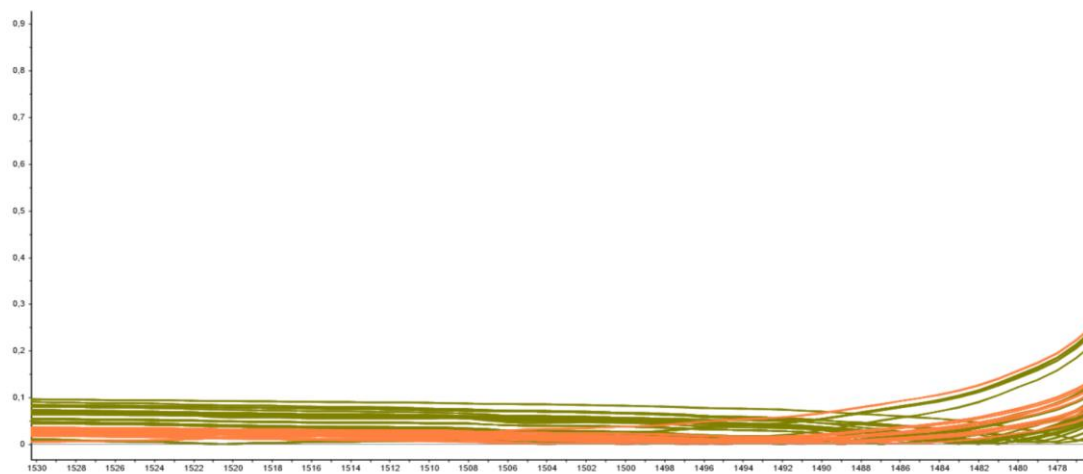


Όπως είναι εμφανές από τα παραπάνω διαγράμματα οι διαφορές μεταξύ των ελαιολάδων δεν είναι ιδιαίτερα έντονες, καθώς σχεδόν όλες οι κορυφές που εμφανίζονται είναι όμοιες. Παρόλα αυτά, αν συγκρίνουμε τα φάσματα τοποθετώντας το ένα πάνω στο άλλο (overlay) αρχίζουν να γίνονται εμφανείς κάποιες διαφορές. Βρέθηκε ότι οι καλύτερες ζώνες διαχωρισμού είναι $1711-1590\text{cm}^{-1}$, $1531-1476\text{cm}^{-1}$, $2386-2330\text{cm}^{-1}$. Καλή διασπορά επίσης έδωσαν και οι ζώνες $1500-600\text{cm}^{-1}$ και $3200-2700\text{cm}^{-1}$ με τον αλγόριθμο της PCA παρόλο που δεν έδωσαν ιδιαίτερη διαφοροποίηση κατά την σύγκριση των φασμάτων τους οπτικά με overlay.

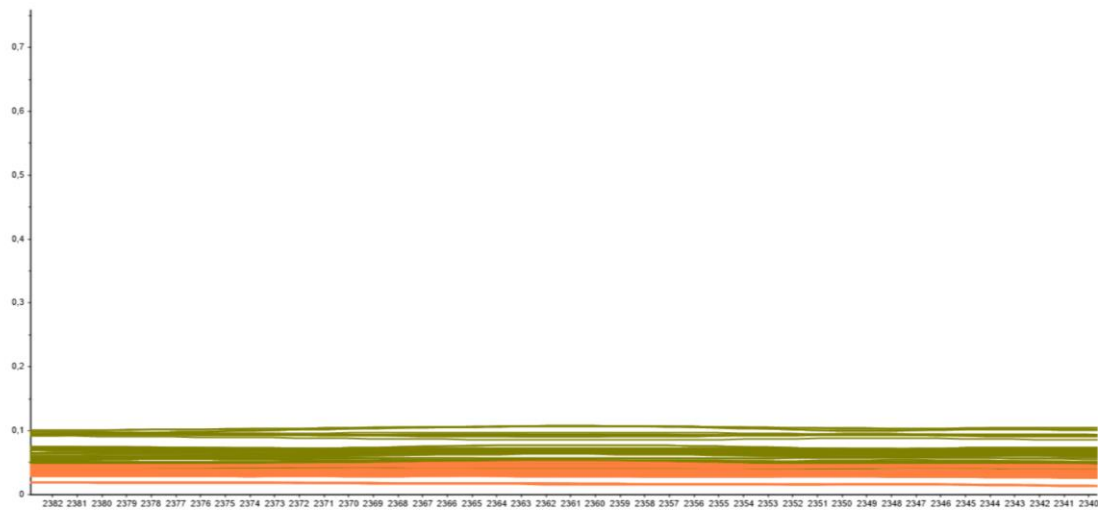
Παρακάτω δίνονται τα φάσματα απορρόφησης στα $1711-1590\text{cm}^{-1}$ (εικόνα 15), $1531-1476\text{cm}^{-1}$ (εικόνα 16), $2386-2330\text{cm}^{-1}$ (εικόνα 17), $1500-600\text{cm}^{-1}$ (εικόνα 18) και $3200-2700\text{cm}^{-1}$ (εικόνα 19) όπου με πορτοκαλί χρώμα παρουσιάζονται τα νοθευμένα με ηλιέλαιο δείγματα ελαιολάδου και με πράσινο τα Π.Ο.Π δείγματα ελαιολάδου.



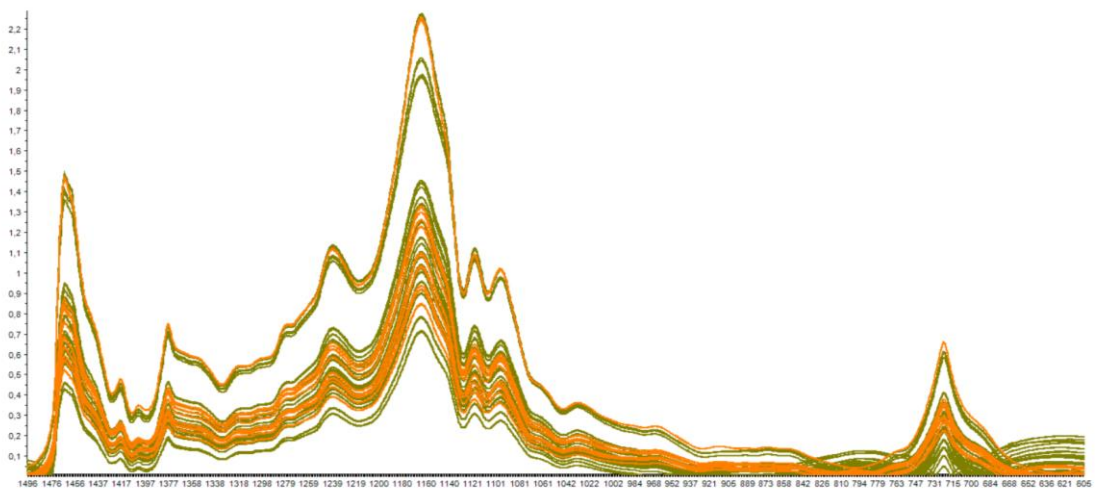
Εικόνα 15. Διαφοροποίηση νοθευμένων δειγμάτων από παρθένα στα $1711-1590\text{cm}^{-1}$



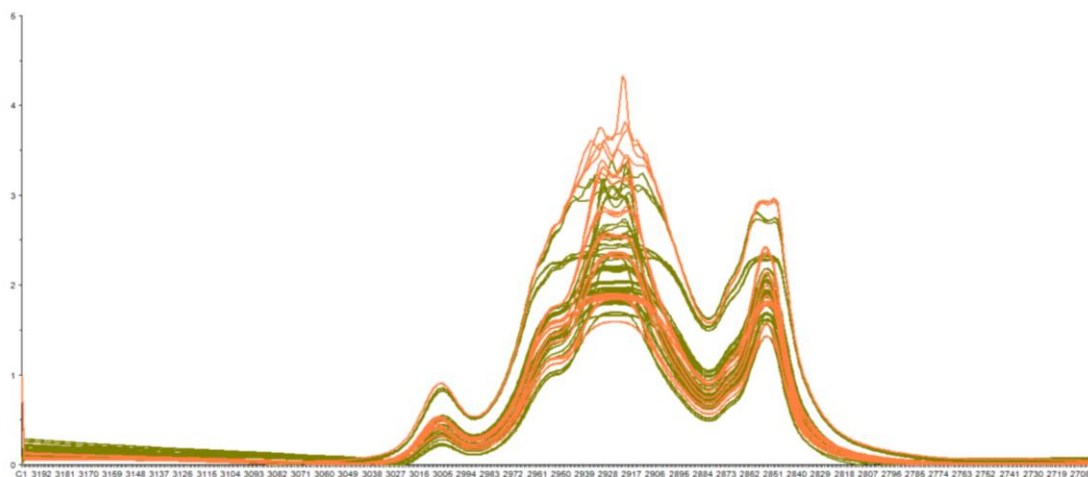
Εικόνα 16. Διαφοροποίηση νοθευμένων δειγμάτων από παρθένα στα $1531-1476\text{cm}^{-1}$



Εικόνα 16. Διαφοροποίηση νοθευμένων δειγμάτων από παρθένα στα 2386-2330cm⁻¹



Εικόνα 17. Διαφοροποίηση νοθευμένων δειγμάτων από παρθένα στα 1500-600cm⁻¹

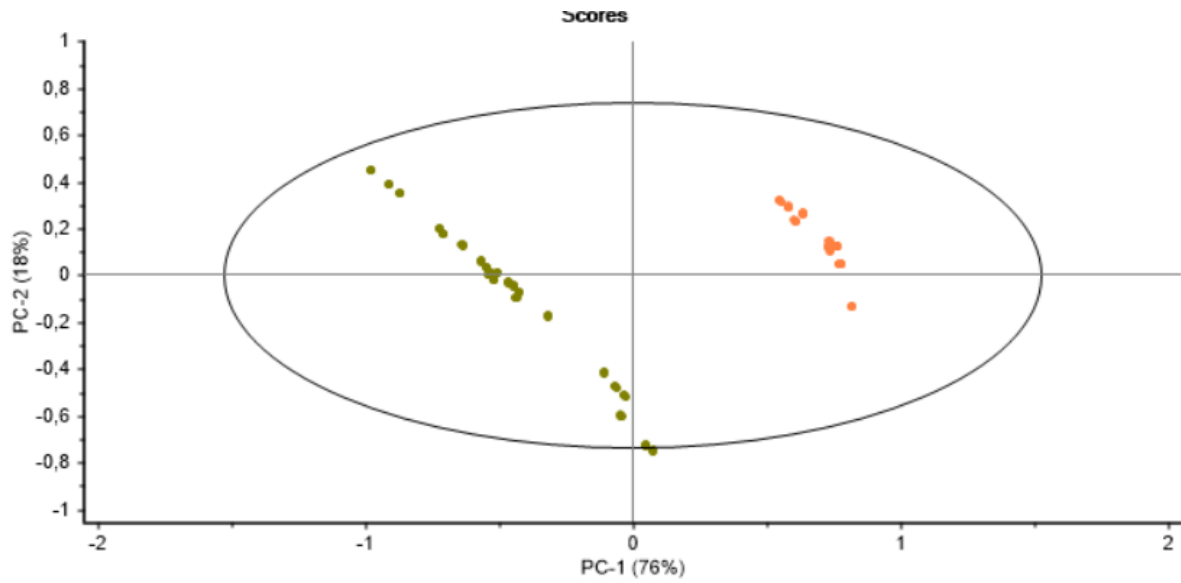


Εικόνα 18. Διαφοροποίηση νοθευμένων δειγμάτων από παρθένα στα $3200-2700\text{cm}^{-1}$

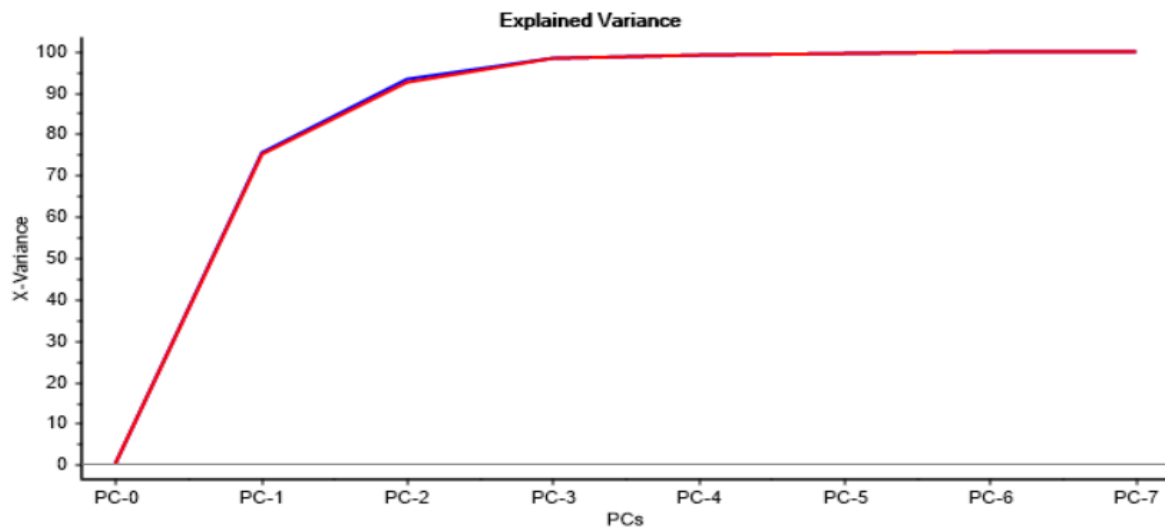
5.2 Αποτελέσματα PCA

Κατά την ανάλυση PCA, η οποία οδήγησε σε μοντέλο με 7 κύριες συνιστώσες από τις παραπάνω ζώνες προέκυψαν score plots στα οποία φαίνεται εμφανώς η διαφοροποίηση. Παρακάτω παρουσιάζονται τα διαγράμματα διασποράς (Score plot) κατά την εκπαίδευση του αλγορίθμου. Οι κλάσεις που δημιουργήθηκαν ήταν δύο (νοθευμένα δείγματα και μη).

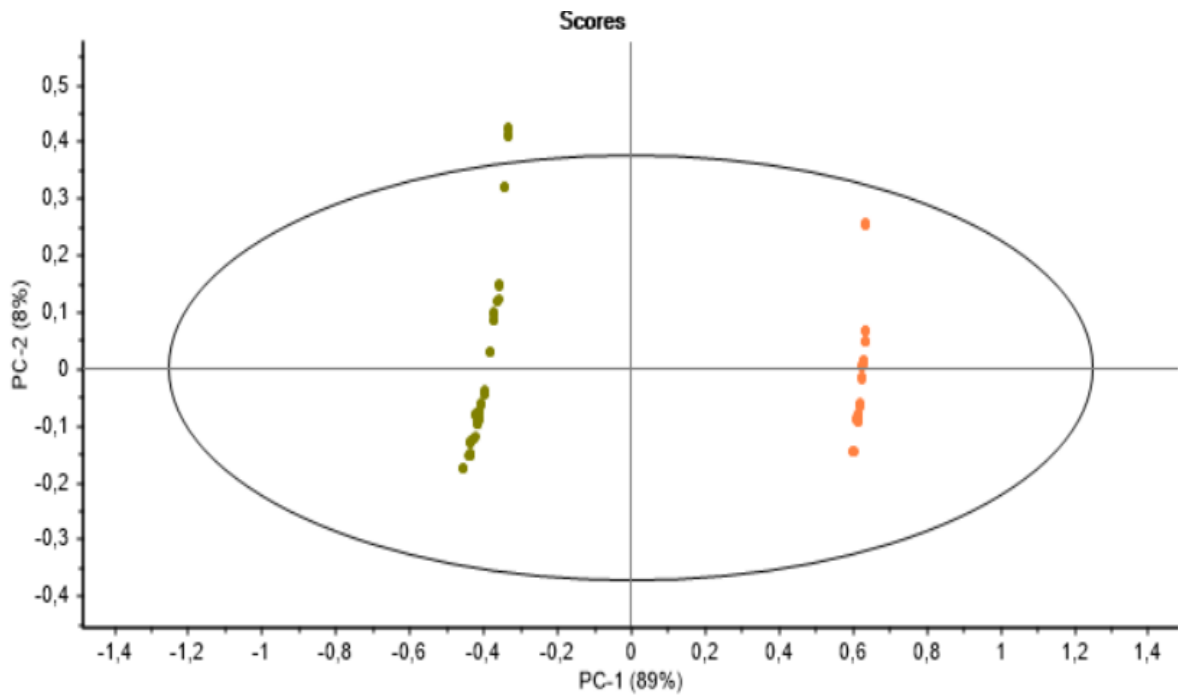
Ακολούθως παρουσιάζεται η κατανομή των δειγμάτων με βάση τις τιμές των δύο πρώτων συνιστωσών για τον αλγόριθμο της PCA στα $1711-1590\text{cm}^{-1}$ (εικόνα 19), στα $1531-1476\text{cm}^{-1}$ (εικόνα 21), $2386-2330\text{cm}^{-1}$ (εικόνα 23), $1500-600\text{cm}^{-1}$ (εικόνα 25) και $3200-2700\text{cm}^{-1}$ (εικόνα 27). Στην συνέχεια κάτω από κάθε Score plot PCA παρατίθεται το διάγραμμα της συνολικής διακύμανσης για κάθε ζώνη διαχωρισμού $171500-600\text{cm}^{-1}$ (εικόνα 20), $11-1590\text{cm}^{-1}$ (εικόνα 22), $1531-1476\text{cm}^{-1}$ (εικόνα 24), $2386-2330\text{cm}^{-1}$ (εικόνα 26) $1500-600\text{cm}^{-1}$ (εικόνα 28) $3200-2700\text{cm}^{-1}$ (εικόνα 30) όπου ο άξονας τον χ αντιπροσωπεύει τον αριθμό των κύριων συνιστωσών και ο άξονας ψ τη διακύμανση που εξηγείται από κάθε κύρια συνιστώσα.



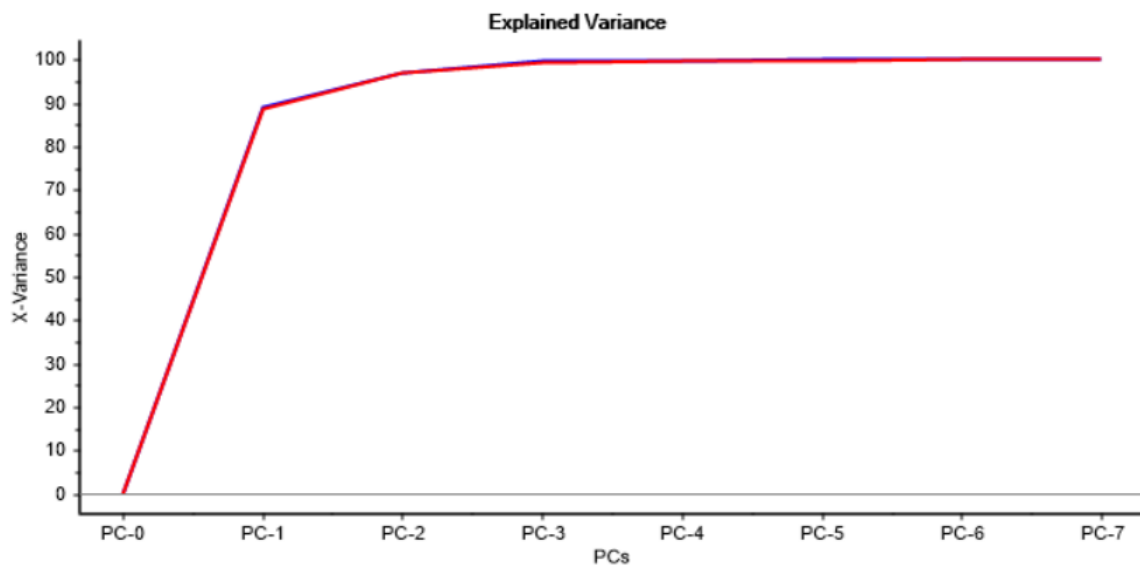
Εικόνα 19. Διάγραμμα διασποράς της μεθόδου PCA για την ανάλυση με φασματομετρία υπέρυθρου στα $1711-1590\text{cm}^{-1}$.



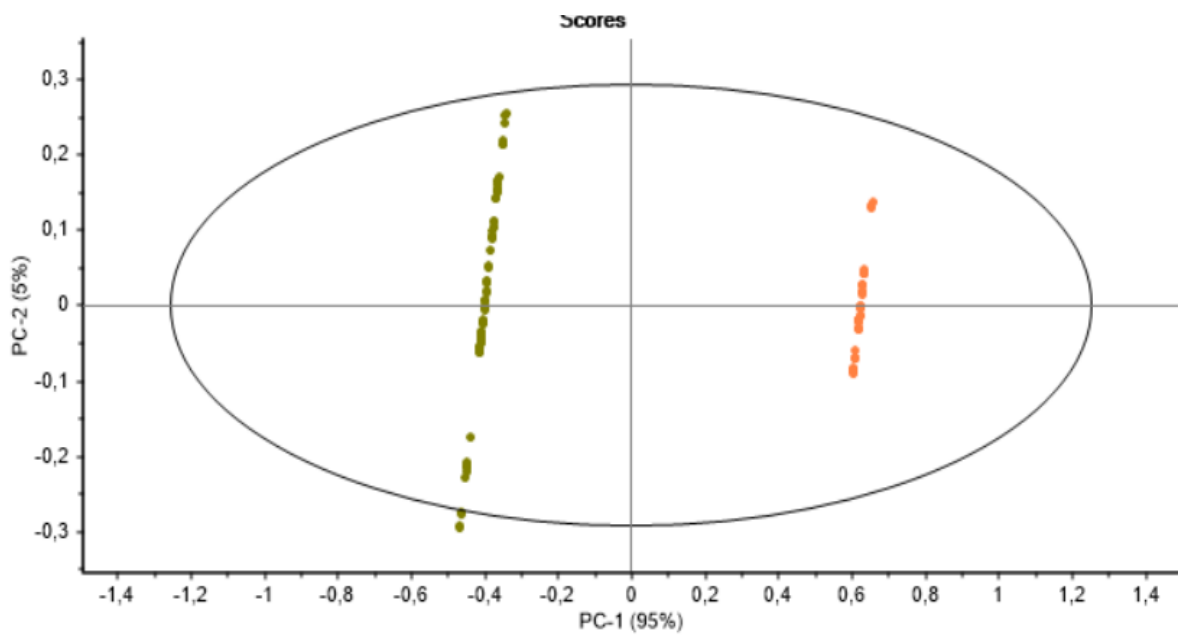
Εικόνα 20. Συνολική διακύμανση για τον αλγόριθμο της PCA στα $1711-1590\text{cm}^{-1}$



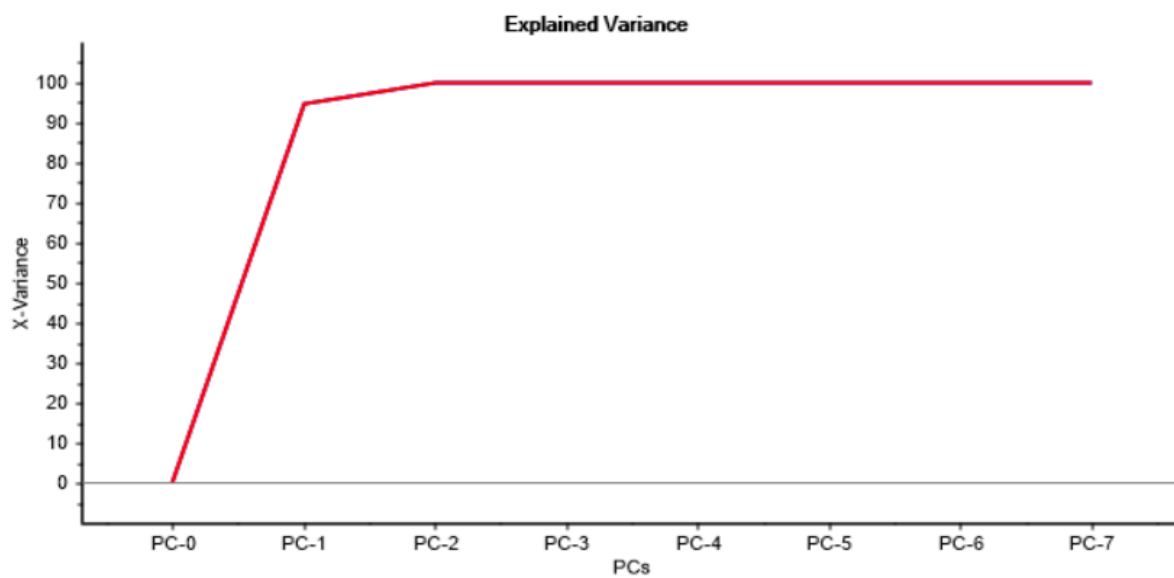
Εικόνα 21. Διάγραμμα διασποράς της μεθόδου PCA για την ανάλυση με φασματομετρία υπέρυθρου στα $1531-1476\text{cm}^{-1}$



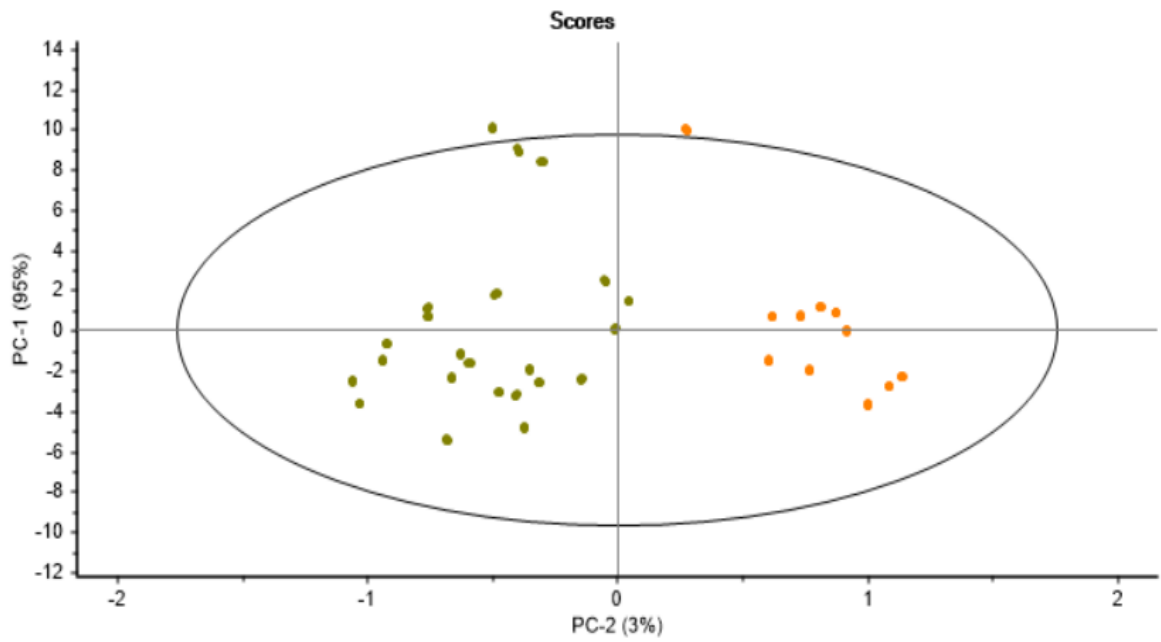
Εικόνα 22. Συνολική διακύμανση για τον αλγόριθμο της PCA στα $1531-1476\text{cm}^{-1}$



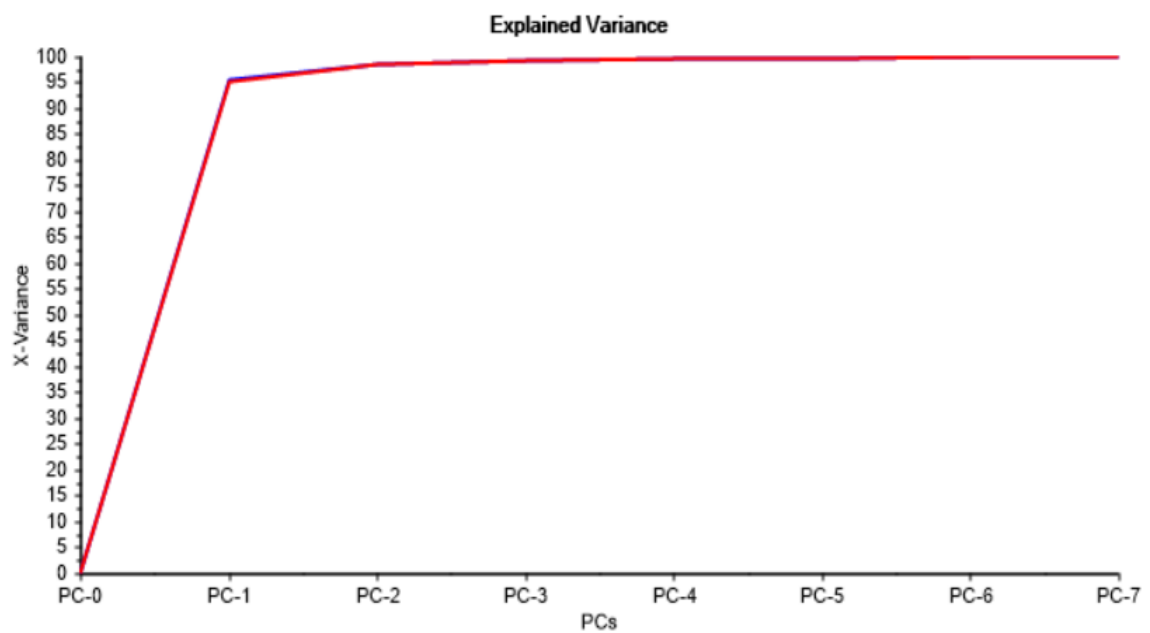
Εικόνα 23. Διάγραμμα διασποράς της μεθόδου PCA για την ανάλυση με φασματομετρία υπέρυθρου στα $2386-2330\text{cm}^{-1}$



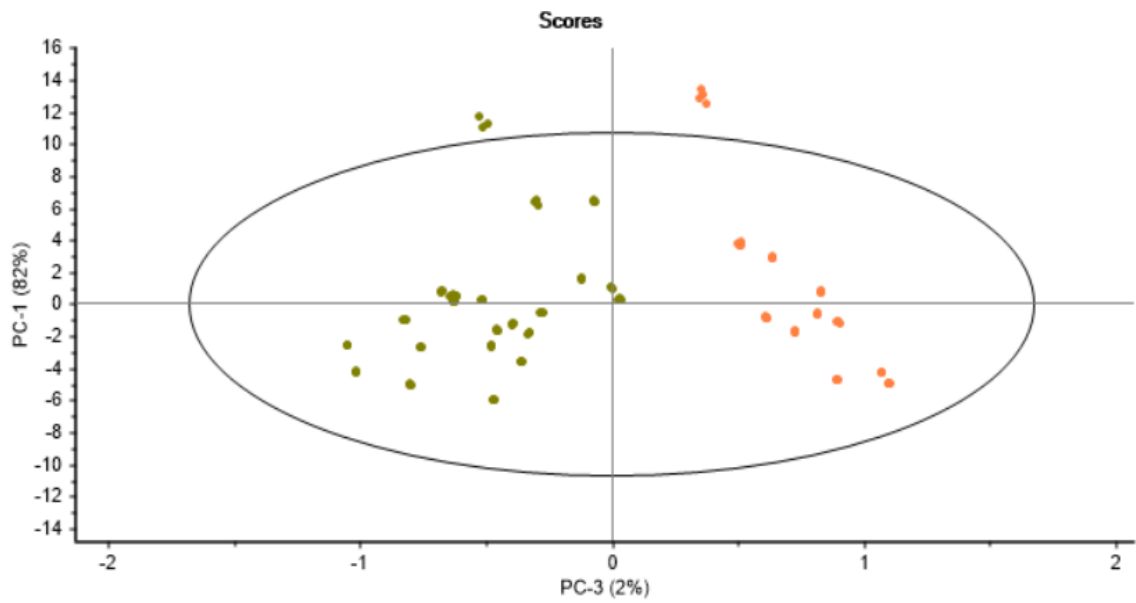
Εικόνα 24. Συνολική διακύμανση για τον αλγόριθμο της PCA στα $2386-2330\text{cm}^{-1}$



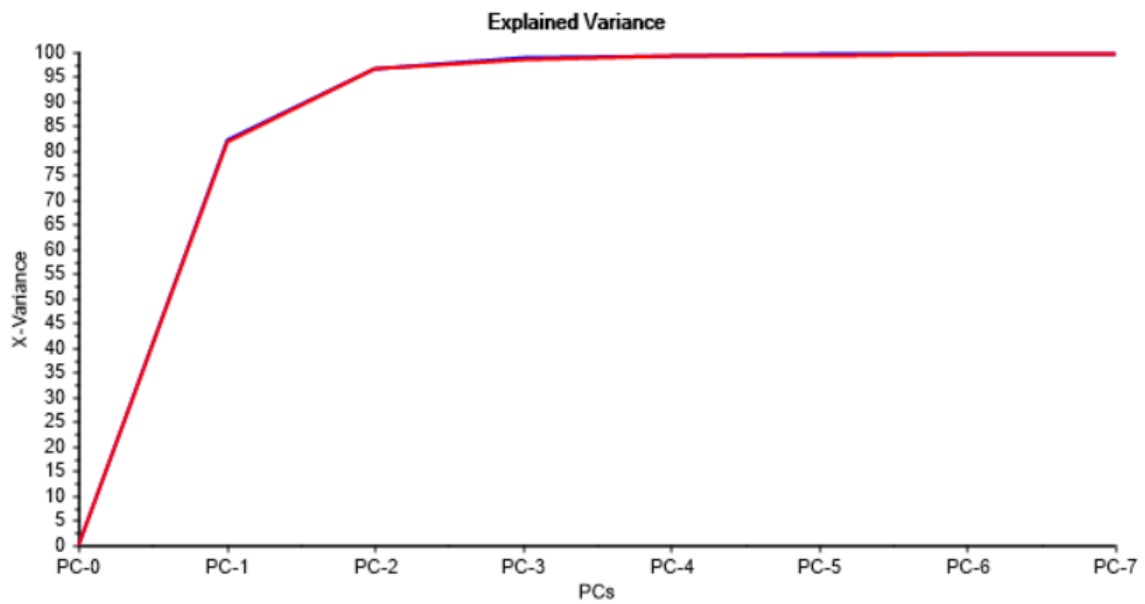
Εικόνα 25. Διάγραμμα διασποράς της μεθόδου PCA για την ανάλυση με φασματομετρία υπέρυθρου στα $1500-600\text{cm}^{-1}$



Εικόνα 26. Συνολική διακύμανση για τον αλγόριθμο της PCA στα $1500-600\text{cm}^{-1}$



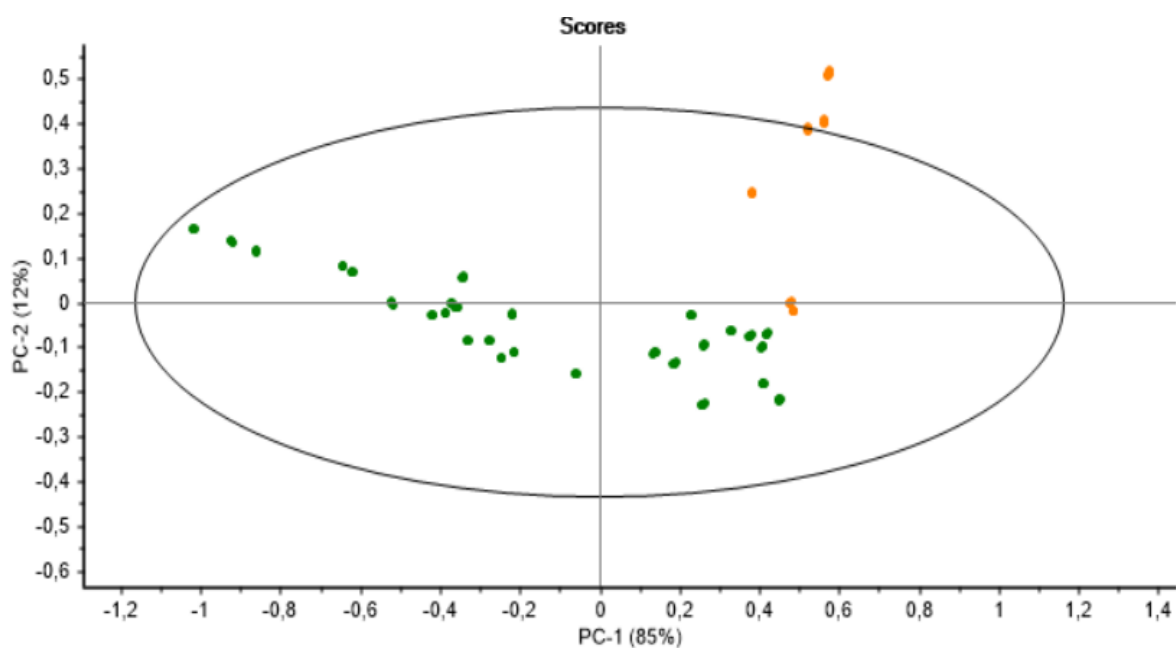
Εικόνα 27. Διάγραμμα διασποράς της μεθόδου PCA για την ανάλυση με φασματομετρία υπέρυθρου στα $3200-2700\text{cm}^{-1}$



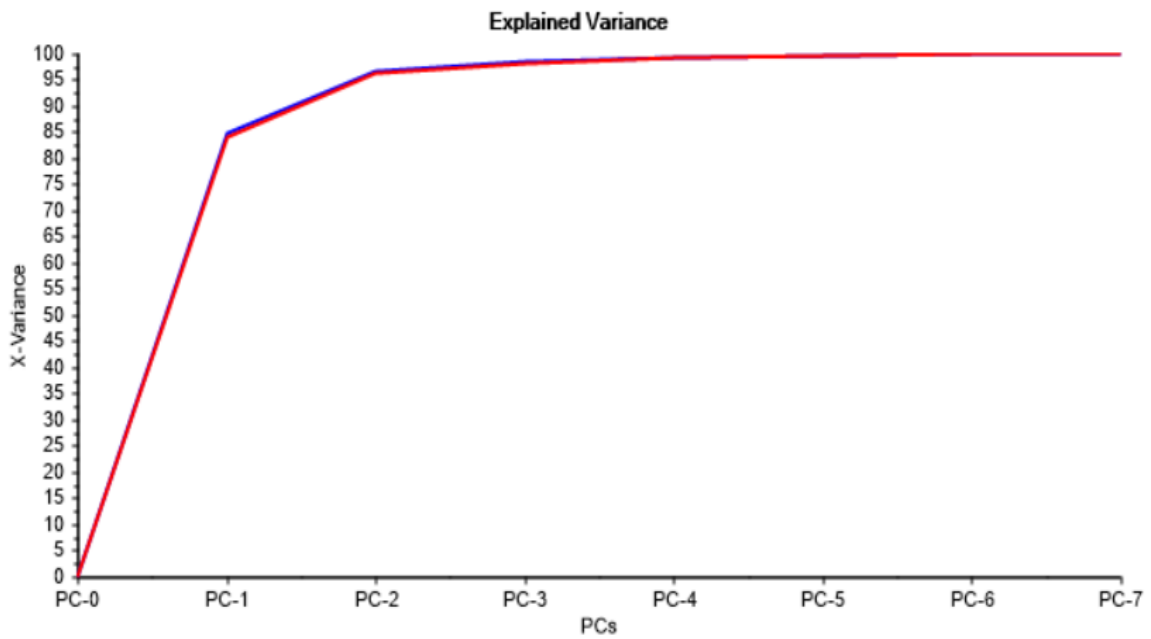
Εικόνα 28. Συνολική διακύμανση για τον αλγόριθμο της PCA στα $3200-2700\text{cm}^{-1}$

5.3 Επικύρωση Αλγόριθμου PCA

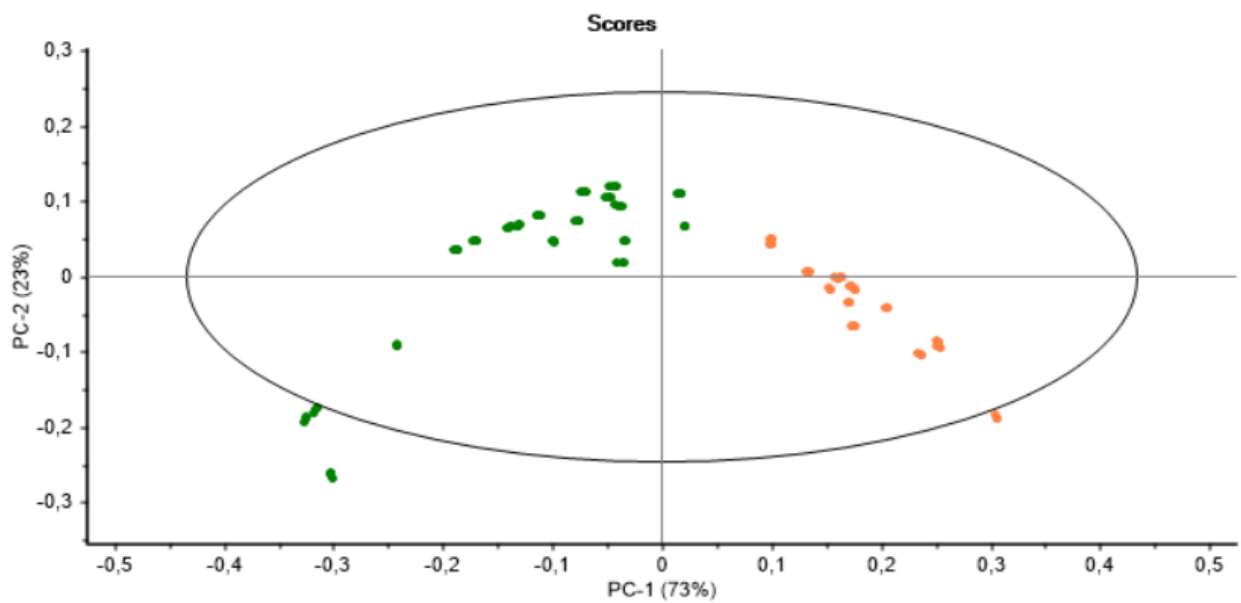
Παρακάτω παρουσιάζονται τα αποτελέσματα του εκπεδευμένου μοντέλου της PCA για τα τυφλά δείγματα για συγκεκριμένες ζώνες απορρόφησης $1711-1590\text{cm}^{-1}$ (εικόνα 29), στα $1531-1476\text{cm}^{-1}$ (εικόνα 31), $2386-2330\text{cm}^{-1}$ (εικόνα 33), $1500-600\text{cm}^{-1}$ (εικόνα 35) και $3200-2700\text{cm}^{-1}$ (εικόνα 37). Στην συνέχεια κάτω από κάθε Score plot PCA παρατείνεται το διάγραμμα της συνολικής διακύμανσης για κάθε ζώνη διαχωρισμού $171500-600\text{cm}^{-1}$ (εικόνα 30), $11-1590\text{cm}^{-1}$ (εικόνα 32), $1531-1476\text{cm}^{-1}$ (εικόνα 34), $2386-2330\text{cm}^{-1}$ (εικόνα 36) $1500-600\text{cm}^{-1}$ (εικόνα 38) όπου ο άξονας τον χ αντιπροσωπεύει τον αριθμό των κύριων συνιστωσών και ο άξονας ψ τη διακύμανση που εξηγείται από κάθε κύρια συνιστώσα.



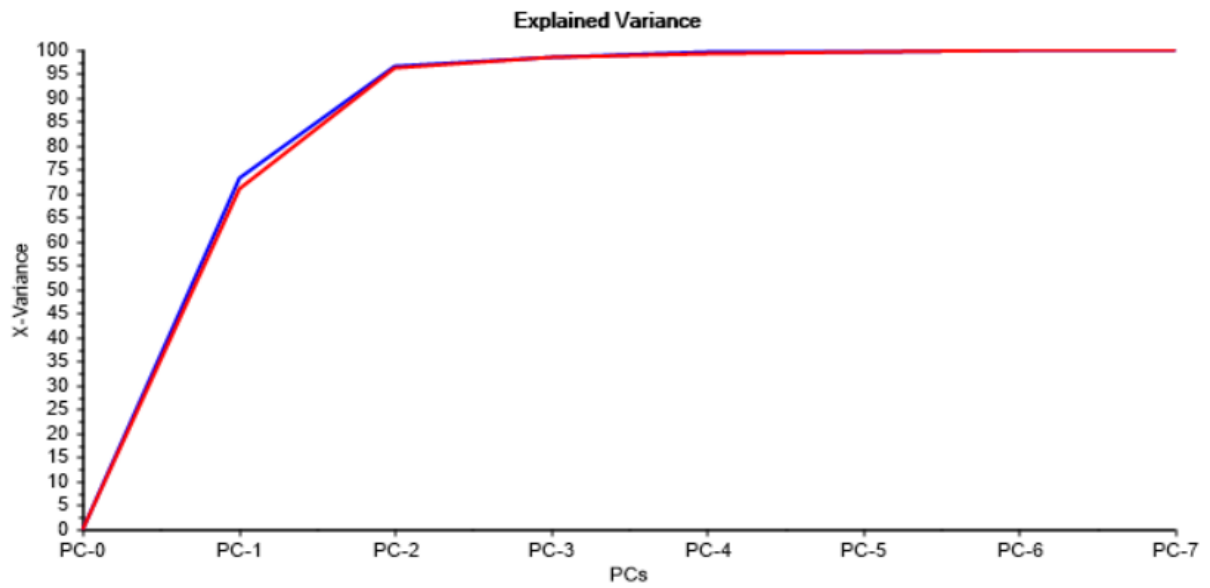
Εικόνα 29. Διάγραμμα διασποράς της μεθόδου PCA για την ανάλυση με φασματομετρία υπέρυθρου στα $1711-1590\text{cm}^{-1}$



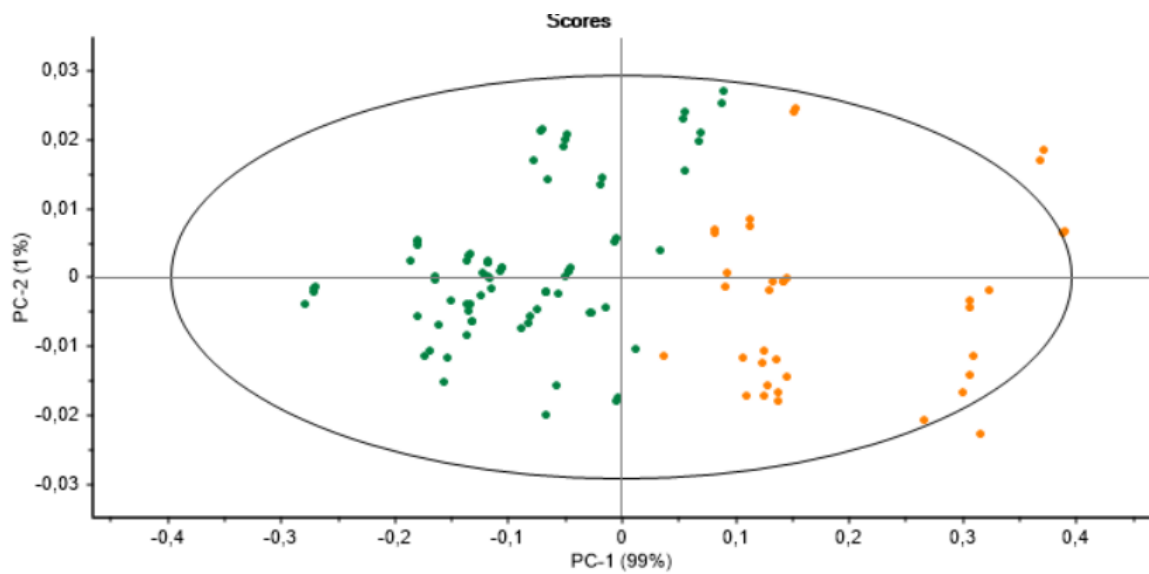
Εικόνα 30. Συνολική διακύμανση για τον αλγόριθμο της PCA στα 1711-1590cm⁻¹



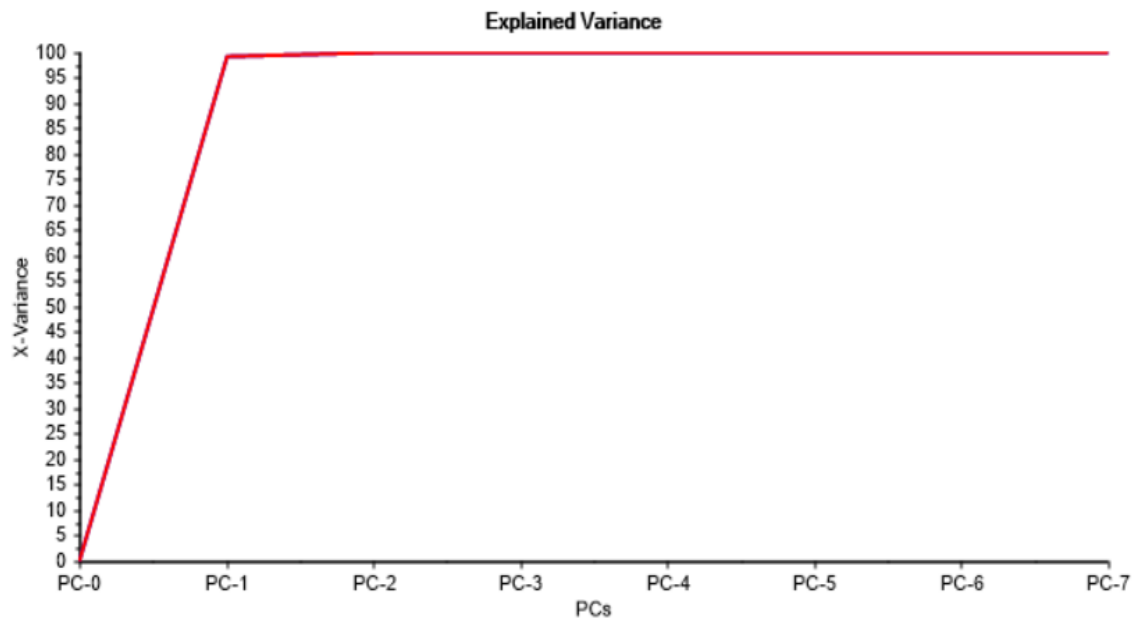
Εικόνα 31. Διάγραμμα διασποράς της μεθόδου PCA για την ανάλυση με φασματομετρία υπέρυθρου στα 1531-1476cm⁻¹



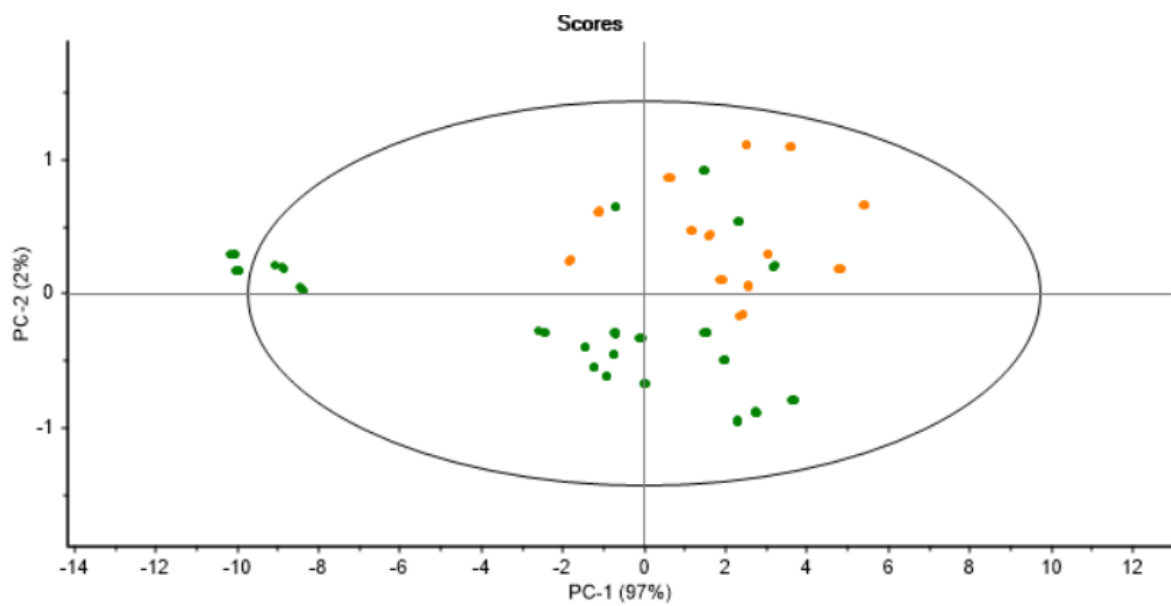
Εικόνα 32. Συνολική διακύμανση για τον αλγόριθμο της PCA στα 1531-1476cm⁻¹



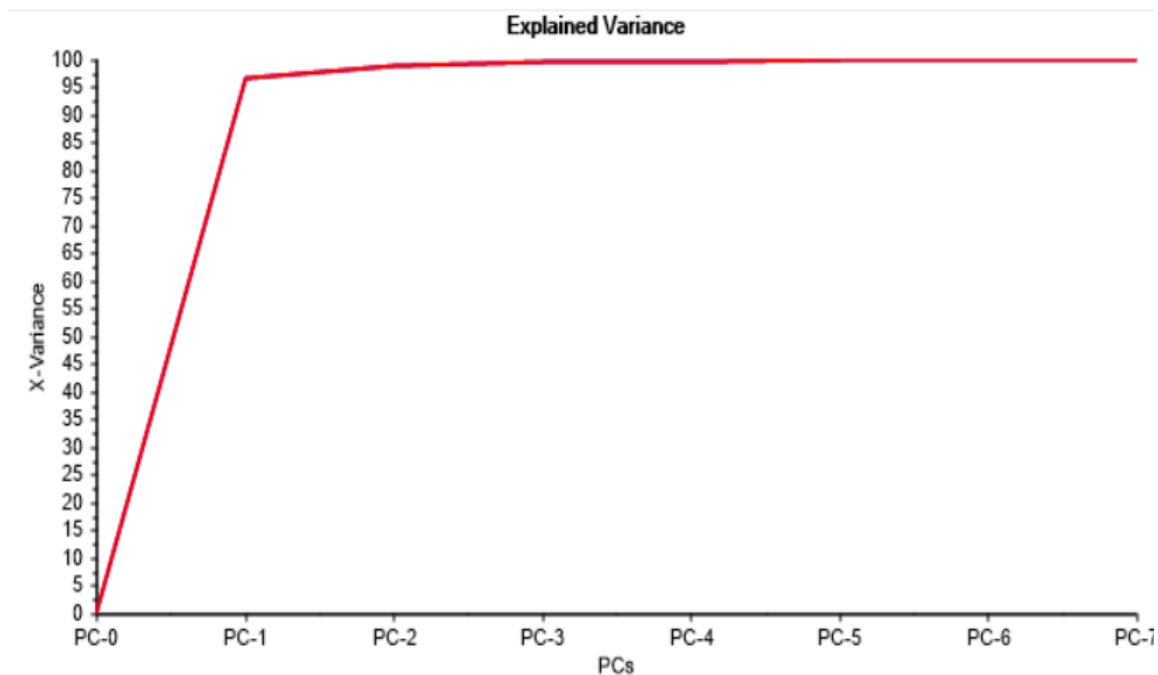
Εικόνα 33. Διάγραμμα διασποράς της μεθόδου PCA για την ανάλυση με φασματομετρία υπέρυθρου στα 2386-2330cm⁻¹



Εικόνα 34. Συνολική διακύμανση για τον αλγόριθμο της PCA στα $2386-2330\text{cm}^{-1}$



Εικόνα 35. Διάγραμμα διασποράς της μεθόδου PCA για την ανάλυση με φασματομετρία υπέρυθρου στα $1500-600\text{cm}^{-1}$



Εικόνα 36. Συνολική διακύμανση για τον αλγόριθμο της PCA στα 1500-600cm⁻¹

5.4. Στατιστική Ανάλυση

Όπως αναφέρθηκε προηγουμένως για την αξιολόγηση της καλής προσαρμογής του μοντέλου γραμμικής παλινδρόμησης που δημιουργήθηκε για την ανίχνευση του Π.Ο.Π ελαιολάδου Καλαμάτας από νοθευμένα δείγματα έγινε με το R^2 που αντιπροσωπεύει την αναλογία διακύμανσης στην εξαρτημένη μεταβλητή που εξηγείται από τις ανεξάρτητες μεταβλητές στο μοντέλο. Η γραμμική παλινδρόμηση πραγματοποιήθηκε για τις παρακάτω ζώνες απορρόφησης υπέρυθρης ακτινοβολίας: 1711-1590cm⁻¹, 1531-1476cm⁻¹, 2386-2330cm⁻¹, 1500-600cm⁻¹ και 3200-2700cm⁻¹. Η διεξαγωγή της γραμμικής παλινδρόμησης έλαβε χώρα μέσω του προγράμματος SPSS. Το μοντέλο γραμμικής παλινδρόμησης έχει τις παρακάτω παραμέτρους:

- Το R είναι η συσχέτιση μεταξύ των προβλεπόμενων και των παρατηρούμενων τιμών της εξαρτημένης μεταβλητής, που είναι η τετραγωνική ρίζα του R^2 .
- Το R^2 είναι ο συντελεστής προσδιορισμού, ο οποίος καθορίζει την αναλογία διακύμανσης στην εξαρτημένη μεταβλητή που μπορεί να προβλεφθεί από τις ανεξάρτητες μεταβλητές. Αυτές οι ανεξάρτητες μεταβλητές είναι οι τιμές του νοθευμένου και ανόθευτου ελαιολάδου.

- Το προσαρμοσμένο τετράγωνο R είναι ένα στατιστικό μέτρο που λαμβάνει υπόψη την πιθανότητα να επηρεάσει τη σχέση μεταξύ των προγνωστικών παραγόντων και της εξαρτημένης μεταβλητής. Καθώς προστίθενται περισσότεροι προγνωστικοί παράγοντες στο μοντέλο, μπορεί να εξηγήσουν κάποια από τη διακύμανση στην εξαρτημένη μεταβλητή κατά τύχη. Αν και η προσθήκη περισσότερων προγνωστικών μπορεί να βελτιώσει την ικανότητα εξήγησης της εξαρτημένης μεταβλητής, μέρος της αύξησης στο R^2 μπορεί να οφείλεται σε τυχαία διακύμανση στο δείγμα. Το προσαρμοσμένο τετράγωνο R επιχειρεί να παρέχει μια πιο ακριβή εκτίμηση της τιμής στο τετράγωνο R του πληθυσμού. Για τον υπολογισμό της προσαρμοσμένης τιμής στο τετράγωνο R, χρησιμοποιείται ο τύπος $1 - ((1 - R^2)(N - 1) / (N - k - 1))$. Αυτός ο τύπος δείχνει ότι όταν υπάρχουν λίγες παρατηρήσεις και πολλές προβλέψεις, η διαφορά μεταξύ του R-τετράγωνου και του προσαρμοσμένου R-τετράγωνου θα είναι μεγαλύτερη από όταν υπάρχουν πολλές παρατηρήσεις και λίγες προβλέψεις. Οι τιμές του R-τετράγωνου και του προσαρμοσμένου R-τετράγωνου θα είναι πιο κοντά όταν ο αριθμός των παρατηρήσεων είναι πολύ μεγαλύτερος από τον αριθμό των προβλέψεων, επειδή ο λόγος $(N - 1)/(N - k - 1)$ θα πλησιάσει το 1.
- Το Root Mean Square Error (RMSE), γνωστό και ως το τυπικό σφάλμα της εκτίμησης, είναι ένα μέτρο της μεταβλητότητας μεταξύ της προβλεπόμενης τιμής που λαμβάνεται από ένα μοντέλο και της πραγματικής τιμής. Υπολογίζεται ως η τετραγωνική ρίζα του ριζικού μέσου τετραγώνου υπολειπόμενου (ή σφάλματος), το οποίο αντιπροσωπεύει τη μέση απόκλιση μεταξύ των προβλεπόμενων και των πραγματικών τιμών. Ουσιαστικά, το RMSE είναι η τυπική απόκλιση του όρου σφάλματος σε ένα μοντέλο και ποσοτικοποιεί πόσο είναι πιθανό να διαφέρουν οι προβλέψεις από το μοντέλο από τις πραγματικές τιμές.
- Το "df" αναφέρεται στους βαθμούς ελευθερίας που συνδέονται με τις διαφορετικές πηγές παραλλαγής. Η συνολική διακύμανση έχει βαθμό ελευθερίας N-1.
- Το μέσο τετράγωνο αναφέρεται στον μέσο όρο των τετραγώνων ενός συνόλου τιμών, ο οποίος προκύπτει διαιρώντας το άθροισμα των τετραγώνων με τους αντίστοιχους βαθμούς ελευθερίας. Με άλλα λόγια, είναι ένα στατιστικό μέτρο που βοηθά στην αξιολόγηση της μεταβλητότητας ή της διασποράς ενός συνόλου δεδομένων, λαμβάνοντας υπόψη το μέγεθος των επιμέρους τιμών και τις αποκλίσεις τους από τον μέσο όρο. Το μέσο τετράγωνο χρησιμοποιείται συχνά στην ανάλυση διακύμανσης

(ANOVA) και σε άλλες στατιστικές δοκιμές για τον προσδιορισμό της σημασίας των διαφορών μεταξύ ομάδων ή θεραπειών. Συγκρίνοντας τα μέσα τετράγωνα των παρατηρούμενων δεδομένων με τις αναμενόμενες τιμές, οι ερευνητές μπορούν να συμπεράνουν εάν οι παρατηρούμενες διαφορές οφείλονται σε τύχη ή σε πραγματικό αποτέλεσμα.

- Οι τιμές F και Sig είναι σημαντικοί δείκτες για τον προσδιορισμό του εάν οι ανεξάρτητες μεταβλητές μπορούν να προβλέψουν αξιόπιστα την εξαρτημένη μεταβλητή. Η τιμή F υπολογίζεται διαιρώντας τη μέση τετραγωνική παλινδρόμηση με τη μέση τετραγωνική υπολειμματική, ενώ η σχετική τιμή p είναι συνήθως πολύ μικρή (0,0000). Οι ερευνητές συγκρίνουν αυτήν την τιμή p με το επίπεδο εμπιστοσύνης (συνήθως 0,05) για να προσδιορίσουν εάν υπάρχει στατιστικά σημαντική σχέση μεταξύ των ανεξάρτητων και των εξαρτημένων μεταβλητών. Εάν η τιμή p είναι μικρότερη από 0,05, συμπεραίνεται ότι οι ανεξάρτητες μεταβλητές μπορούν να προβλέψουν αξιόπιστα την εξαρτημένη μεταβλητή. Ωστόσο, εάν η τιμή p είναι μεγαλύτερη από 0,05, συμπεραίνεται ότι η ανεξάρτητη μεταβλητή δεν εμφανίζει στατιστικά σημαντική σχέση με την εξαρτημένη μεταβλητή ή ότι δεν μπορεί να προβλέψει αξιόπιστα την εξαρτημένη μεταβλητή.

5.4.1. Προσαρμογή Γραμμικού μοντέλου για την περιοχή απορρόφησης υπέρυθρης ακτινοβολίας 1711-1590cm⁻¹

Μη νοθευμένα ελαιόλαδα

Σύμφωνα με τα αποτελέσματα της γραμμικής παλινδρόμησης στην περιοχή 1711-1590cm⁻¹ έδειξε ότι η περιοχή αυτή προβλέπει αξιόπιστα τα μη νοθευμένα ελαιόλαδα δεδομένου ότι το sig.<0.05. Επίσης το R² μας δείχνει ότι μπορεί να προβλεφθεί το 48,9% της διακύμανσης. Η τιμή RMSE μας λέει ότι η μέση απόκλιση μεταξύ της προβλεπόμενης τιμής που προκύπτει από το μοντέλο και της πραγματικής τιμής είναι 25,39.

Νοθευμένα ελαιόλαδα

Σύμφωνα με τα αποτελέσματα της γραμμικής παλινδρόμησης στην περιοχή 1711-1590cm⁻¹ έδειξε ότι η περιοχή αυτή προβλέπει αξιόπιστα τα μη νοθευμένα ελαιόλαδα δεδομένου ότι το sig.<0.05. Επίσης το R² μας δείχνει ότι μπορεί να προβλεφθεί το 4,9% της διακύμανσης. Η τιμή RMSE μας λέει ότι η μέση απόκλιση μεταξύ της προβλεπόμενης τιμής που προκύπτει από το μοντέλο και της πραγματικής τιμής είναι 34,63. Ωστόσο η τιμή του R² είναι πολύ χαμηλή

γεγονός που δείχνει ότι η περιοχή αυτή δεν θεωρείται η ιδανική για την πρόβλεψη των νοθευμένων ελαιόλαδων.

5.4.2. Προσαρμογή Γραμμικού μοντέλου για την περιοχή απορρόφησης υπέρυθρης ακτινοβολίας 1531-1476 cm^{-1}

Μη νοθευμένα ελαιόλαδα

Σύμφωνα με τα αποτελέσματα της γραμμικής παλινδρόμησης στην περιοχή 1531-1476 cm^{-1} έδειξε ότι η περιοχή αυτή προβλέπει αξιόπιστα τα μη νοθευμένα ελαιόλαδα δεδομένου ότι το $\text{sig.} < 0.05$. Επίσης το R^2 μας δείχνει ότι μπορεί να προβλεφθεί το 19,1% της διακύμανσης. Η τιμή RMSE μας λέει ότι η μέση απόκλιση μεταξύ της προβλεπόμενης τιμής που προκύπτει από το μοντέλο και της πραγματικής τιμής είναι 14,806.

Νοθευμένα ελαιόλαδα

Σύμφωνα με τα αποτελέσματα της γραμμικής παλινδρόμησης στην περιοχή 1531-1476 cm^{-1} έδειξε ότι η περιοχή αυτή προβλέπει αξιόπιστα τα μη νοθευμένα ελαιόλαδα δεδομένου ότι το $\text{sig.} < 0.05$. Επίσης το R^2 μας δείχνει ότι μπορεί να προβλεφθεί το 22,6% της διακύμανσης. Η τιμή RMSE μας λέει ότι η μέση απόκλιση μεταξύ της προβλεπόμενης τιμής που προκύπτει από το μοντέλο και της πραγματικής τιμής είναι 14,484.

5.4.3. Προσαρμογή Γραμμικού μοντέλου για την περιοχή απορρόφησης υπέρυθρης ακτινοβολίας 2386-2330 cm^{-1}

Μη νοθευμένα ελαιόλαδα

Σύμφωνα με τα αποτελέσματα της γραμμικής παλινδρόμησης στην περιοχή 2386-2330 cm^{-1} έδειξε ότι η περιοχή αυτή προβλέπει αξιόπιστα τα μη νοθευμένα ελαιόλαδα δεδομένου ότι το $\text{sig.} < 0.05$. Επίσης το R^2 μας δείχνει ότι μπορεί να προβλεφθεί το 45,2% της διακύμανσης. Η τιμή RMSE μας λέει ότι η μέση απόκλιση μεταξύ της προβλεπόμενης τιμής που προκύπτει από το μοντέλο και της πραγματικής τιμής είναι 12,395.

Νοθευμένα ελαιόλαδα

Σύμφωνα με τα αποτελέσματα της γραμμικής παλινδρόμησης στην περιοχή 2386-2330 cm^{-1} έδειξε ότι η περιοχή αυτή προβλέπει αξιόπιστα τα μη νοθευμένα ελαιόλαδα δεδομένου ότι το $\text{sig.} < 0.05$. Επίσης το R^2 μας δείχνει ότι μπορεί να προβλεφθεί το 80,2% της διακύμανσης. Η

τιμή RMSE μας λέει ότι η μέση απόκλιση μεταξύ της προβλεπόμενης τιμής που προκύπτει από το μοντέλο και της πραγματικής τιμής είναι 7,453.

5.4.4. Προσαρμογή Γραμμικού μοντέλου για την περιοχή απορρόφησης υπέρυθρης ακτινοβολίας 1500-600cm⁻¹

Μη νοθευμένα ελαιόλαδα

Σύμφωνα με τα αποτελέσματα της γραμμικής παλινδρόμησης στην περιοχή 1500-600 cm⁻¹ έδειξε ότι η περιοχή αυτή προβλέπει αξιόπιστα τα μη νοθευμένα ελαιόλαδα δεδομένου ότι το sig.<0.05. Επίσης το R² μας δείχνει ότι μπορεί να προβλεφθεί το 21,2% της διακύμανσης. Η τιμή RMSE μας λέει ότι η μέση απόκλιση μεταξύ της προβλεπόμενης τιμής που προκύπτει από το μοντέλο και της πραγματικής τιμής είναι 231,085.

Νοθευμένα ελαιόλαδα

Σύμφωνα με τα αποτελέσματα της γραμμικής παλινδρόμησης στην περιοχή 1500-600 cm⁻¹ έδειξε ότι η περιοχή αυτή προβλέπει αξιόπιστα τα μη νοθευμένα ελαιόλαδα δεδομένου ότι το sig.<0.05. Επίσης το R² μας δείχνει ότι μπορεί να προβλεφθεί το 23,9% της διακύμανσης. Η τιμή RMSE μας λέει ότι η μέση απόκλιση μεταξύ της προβλεπόμενης τιμής που προκύπτει από το μοντέλο και της πραγματικής τιμής είναι 227,174. Ωστόσο η τιμή του RMSE είναι πολύ υψηλό γεγονός που δείχνει ότι η περιοχή αυτή δεν θεωρείται η ιδανική για την πρόβλεψη των νοθευμένων ελαιόλαδων.

5.4.5. Προσαρμογή Γραμμικού μοντέλου για την περιοχή απορρόφησης υπέρυθρης ακτινοβολίας 3200-2700cm⁻¹.

Μη Νοθευμένα ελαιόλαδα

Σύμφωνα με τα αποτελέσματα της γραμμικής παλινδρόμησης στην περιοχή 3200-2700 cm⁻¹ έδειξε ότι η περιοχή αυτή προβλέπει αξιόπιστα τα μη νοθευμένα ελαιόλαδα δεδομένου ότι το sig.<0.05. Επίσης το R² μας δείχνει ότι μπορεί να προβλεφθεί το 1,7 % της διακύμανσης. Η τιμή RMSE μας λέει ότι η μέση απόκλιση μεταξύ της προβλεπόμενης τιμής που προκύπτει από το μοντέλο και της πραγματικής τιμής είναι 143,708. Ωστόσο η τιμή του R² είναι πολύ χαμηλή και η τιμή RMSE υψηλή, γεγονός που δείχνει ότι η περιοχή αυτή δεν θεωρείται η ιδανική για την πρόβλεψη των νοθευμένων ελαιόλαδων.

Νοθευμένα ελαιόλαδα

Σύμφωνα με τα αποτελέσματα της γραμμικής παλινδρόμησης στην περιοχή 3200-2700 cm^{-1} έδειξε ότι η περιοχή αυτή προβλέπει αξιόπιστα τα μη νοθευμένα ελαιόλαδα δεδομένου ότι το $\text{sig.} < 0.05$. Επίσης το R^2 μας δείχνει ότι μπορεί να προβλεφθεί το 2,2% της διακύμανσης. Η τιμή RMSE μας λέει ότι η μέση απόκλιση μεταξύ της προβλεπόμενης τιμής που προκύπτει από το μοντέλο και της πραγματικής τιμής είναι 143,289. Ωστόσο η τιμή του R^2 είναι πολύ χαμηλή και η τιμή RMSE υψηλή, γεγονός που δείχνει ότι η περιοχή αυτή δεν θεωρείται η ιδανική για την πρόβλεψη των νοθευμένων ελαιόλαδων.

Στον Πίνακα που ακολουθεί παρουσιάζονται συνοπτικά τα αποτελέσματα της γραμμικής παλινδρόμησης για τις 5 ζώνες και για τα νοθευμένα και μη ελαιόλαδα.

Πίνακας 8. Αποτελέσματα Γραμμικής Παλινδρόμησης

	Μη νοθευμένα		Νοθευμένα	
	R^2	RMSE	R^2	RMSE
1711-1590 cm^{-1}	48,9	25,39	4,9	34,63
1531-1476 cm^{-1}	19,1	14,806	22,6	14,484
2386-2330 cm^{-1}	45,2	12,395	80,2	7,453
1500-600 cm^{-1}	21,2	231,085	23,9	227,174
3200-2700 cm^{-1}	1,7	143,709	2,2	143,289

Συμπερασματικά σύμφωνα με τα αποτελέσματα της στατιστικής ανάλυσης η περιοχή απορρόφησης υπέρυθρης ακτινοβολίας 2386-2330 cm^{-1} συνιστά την πλέον κατάλληλη για την πρόβλεψη των νοθευμένων και μη νοθευμένων ελαιόλαδων δεδομένου ότι παρουσιάζει τις υψηλότερες τιμές R^2 και τις χαμηλότερες RMSE.

Κεφάλαιο 6^ο Συζήτηση Αποτελεσμάτων

Αναφορικά με τα παραπάνω αποτελέσματα αξίζει να σημειωθεί ότι τέσσερις ζώνες απορρόφησης υπέρυθρης ακτινοβολίας συνείσφεραν στην ανίχνευση του ελαιόλαδου Π.Ο.Π Καλαμάτας από αντίστοιχα νοθευμένα δείγματα με ηλιέλαιο :

1. $1711-1590\text{cm}^{-1}$: Αυτή είναι η περιοχή δόνησης C=O (stretching vibration) των ακόρεστων λιπαρών οξέων και εστέρων τα οποία είναι άφθονα τόσο στο ελαιόλαδο όσο και στο ηλιέλαιο. Ωστόσο, η ένταση και η θέση κορυφής μπορεί να ποικίλουν ανάλογα με τον αριθμό διπλών δεσμών των ατόμων άνθρακα και το μήκος και το είδος των ανθράκων στις αλυσίδες, όπως εάν είναι κορεσμένες ή ακόρεστες. Επομένως αυτή η περιοχή μπορεί να είναι χρήσιμη για την διάκριση μεταξύ διαφορετικών τύπων λιπαρών οξέων που υπάρχουν στα έλαια.
2. $1531-1476\text{cm}^{-1}$: Αυτή η περιοχή σχετίζεται με τις δονήσεις των δεσμών C-H (bending vibrations) σε ακόρεστα λιπαρά οξέα και τριγλυκερίδια. Η θέση κορυφής και η ένταση μπορεί να διαφέρουν ανάλογα με τον βαθμό κορεσμού και το μήκος της αλυσίδας των λιπαρών οξέων. Αυτή η περιοχή μπορεί να επηρεαστεί επίσης και από την παρουσία άλλων λειτουργικών ομάδων όπως αλδεΐδες και κετόνες.
3. $2386-2330\text{cm}^{-1}$: Αυτή η περιοχή σχετίζεται με την δόνηση του διοξειδίου του άνθρακα (CO_2). Ωστόσο, σε αυτή την περίπτωση μπορεί να αποδοθεί στην παρουσία κορεσμένων μεθυλεστέρων και ακόρεστων λιπαρών οξέων που υπάρχουν σε αφθονία στο ελαιόλαδο και στο ηλιέλαιο. Η θέση κορυφής εξαρτάται και εδώ από τον βαθμό κορεσμού και το μήκος της αλυσίδας των λιπαρών οξέων. Επίσης η περιοχή αυτή έδειξε να έχει την μεγαλύτερη στατιστική σημαντικότητα καθώς είχε υψηλές τιμές R^2 και χαμηλές RMSE.
4. $1500-600\text{cm}^{-1}$: Αυτή η περιοχή είναι γνωστή ως περιοχή δακτυλικών αποτυπωμάτων και συνήθως σχετίζεται με συνδυασμό διαφορετικών μοριακών δονήσεων. Οι ζώνες σε αυτή την περιοχή δεν αποδίδονται εύκολα σε μεμονωμένες λειτουργικές ομάδες, αλλά αντικατοπτρίζουν τη συνολική σύνθεση και δομή του μορίου. Είναι πιθανό ότι οι παρατηρούμενες διαφορές σε αυτή την περιοχή οφείλονται σε διακυμάνσεις στη

συνολική σύνθεση των ελαίων, συμπεριλαμβανομένης της παρουσίας δευτερευόντων συστατικών όπως στερόλες, τοκοφερόλες και χρωστικές.

Οι παραπάνω ζώνες έδωσαν καλή διασπορά κατά την εκπαίδευση της PCA καθώς και υψηλό ποσοστό της συνολικής διακύμανσης που εξηγείται από κάθε κύριο στοιχείο και επικυρώθηκαν επιτυχώς με άγνωστα δείγματα. Ωστόσο δεν μπόρεσε να γίνει διαχωρισμός με βάση τα ποσοστά νοθείας με ηλιέλαιο και πιθανώς να χρειάζεται διαφορετική προσέγγιση εκπαίδευσης του αλγόριθμου της PCA το οποίο δίνει έναυσμα για μελλοντική έρευνα.

Τέλος αξίζει να σημειωθεί ότι τα νέφη διασποράς παρόλο που ήταν ξεκάθαρα διαχωρισμένα δεν ήταν τόσο πυκνά και αυτό θα μπορούσε να οφείλεται στο ότι τα δείγματα προέρχονται από διαφορετικές περιοχές του Νομού στις οποίες το μικροκλίμα διαφέρει σημαντικά για τον νομό της Μεσσηνίας. Μελλοντικά θα μπορούσε να διερευνηθεί το πως η γεωγραφική προέλευση του κάθε δείγματος επηρεάζει το αποτέλεσμα.

Κεφάλαιο 7^ο Συμπεράσματα

Συμπερασματικά η εφαρμογή φασματοσκοπίας υπέρυθρης ακτινοβολίας μετασχηματισμού Fourier (FTIR) μπορεί να χρησιμοποιηθεί αποτελεσματικά για την ανίχνευση νοθευμένου εξαιρετικού παρθένου ελαιόλαδου και να οδηγήσει σε εξασφάλιση της ποιότητας του Π.Ο.Π ελαιόλαδου Καλαμάτας.

BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Abamba Omwange, K., Al Riza, D. F., Saito, Y., Suzuki, T., Ogawa, Y., Shiraga, K., Giametta, F., & Kondo, N. (2021). Potential of front face fluorescence spectroscopy and fluorescence imaging in discriminating adulterated extra-virgin olive oil with Virgin Olive Oil. *Food Control*, *124*, 107906. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2021.107906>
- Abdi, H., & Williams, L. J. (2010). Principal component analysis. *Wiley Interdisciplinary Reviews: Computational Statistics*, *2*(4), 433–459. <https://doi.org/10.1002/wics.101>
- Agrimonti, C., & Marmiroli, N. (2019). Food genomics for the characterization of PDO and PGI virgin olive oils. *European Journal of Lipid Science and Technology*. <https://doi.org/10.1002/ejlt.201800132>.
- Al-Bachir, M., & Sahloul, H. (2017). Fatty acid profile of olive oil extracted from irradiated and non-irradiated olive fruits. *International Journal of Food Properties*, *20*(11), 2550–2558. <https://doi.org/10.1080/10942912.2016.1243557>
- Ali, H., Iqbal, M. A., Atta, B. M., Ullah, R., & Khan, M. B. (2020). Phenolic Profile and Thermal Stability of Monovarietal Extra Virgin Olive Oils Based on Synchronous Fluorescence Spectroscopy. *Journal of fluorescence*, *30*(4), 939–947. <https://doi.org/10.1007/s10895-020-02538-7>
- Al-Ismail, K. M., Alsaed, A. K., Ahmad, R., & Al-Dabbas, M. (2010). Detection of olive oil adulteration with some plant oils by GLC analysis of sterols using Polar Column. *Food Chemistry*, *121*(4), 1255–1259. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.01.016>
- Allam, M. A., & Hamed, S. F. (2007). Application of FTIR spectroscopy in the assessment of olive oil adulteration. *Journal of Applied Sciences Research*, *3*(2), 102–108
- Alves, E., Domingues, M. R. M., & Domingues, P. (2018). Polar Lipids from Olives and Olive Oil: A Review on Their Identification, Significance and Potential Biotechnological Applications. *Foods (Basel, Switzerland)*, *7*(7), 109. <https://doi.org/10.3390/foods7070109>
- Alves, M. R., Cunha, S. C., Amaral, J. S., Pereira, J. A., & Oliveira, M. B. (2005). Classification of PDO olive oils on the basis of their sterol composition by multivariate analysis. *Analytica Chimica Acta*, *549*(1-2), 166–178. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2005.06.033>
- Angerosa, F., Campestre, C., & Giansante, L. (2006). Analysis and authentication. *Olive Oil*. <https://doi.org/10.1201/9781439832028.ch7>
- Antonelli, M., Benedetti, B., Cavaliere, C., Cerrato, A., Montone, C. M., Piovesana, S., Lagana, A., & Capriotti, A. L. (2020). Phospholipidome of extra virgin olive oil: Development of a solid phase extraction protocol followed by liquid chromatography-high resolution mass spectrometry for its software-assisted identification. *Food chemistry*, *310*, 125860. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.125860>

- Aparicio-Ruiz, R., Romero, I., García-González, D. L., Oliver-Pozo, C., & Aparicio, R. (2017). Soft-deodorization of virgin olive oil: Study of the changes of quality and chemical composition. *Food Chemistry*, *220*, 42–50
- Apetrei, I. M., & Apetrei, C. (2014). Detection of virgin olive oil adulteration using a voltammetric e-tongue. *Computers and Electronics in Agriculture*, *108*, 148–154. <https://doi.org/10.1016/j.compag.2014.08.002>
- Arlorio, M., Coisson, J. D., Bordiga, M., Travaglia, F., Garino, C., Zuidmeer, L., Van Ree, R., Giuffrida, M. G., Conti, A., & Martelli, A. (2010). Olive oil adulterated with hazelnut oils: simulation to identify possible risks to allergic consumers. *Food additives & contaminants. Part A, Chemistry, analysis, control, exposure & risk assessment*, *27*(1), 11–18. <https://doi.org/10.1080/02652030903225799>
- Aroca-Santos, R., Cancilla, J. C., Matute, G., & Torrecilla, J. S. (2015). Identifying and quantifying adulterants in extra virgin olive oil of the picual varietal by absorption spectroscopy and nonlinear modeling. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *63*(23), 5646–5652
- Arthur, C. L., & Pawliszyn, J. (1990). Solid phase microextraction with thermal desorption using fused silica optical fibers. *Analytical Chemistry*, *62*(19), 2145–2148. <https://doi.org/10.1021/ac00218a019>
- Avramidou, E. V., Doulis, A. G., & Petrakis, P. V. (2018). Chemometrical and molecular methods in olive oil analysis: A review. *Journal of Food Processing and Preservation*, *42*(11), e13770
- Aykas, D. P., Karaman, A. D., Keser, B., & Rodriguez-Saona, L. (2020). Non-Targeted Authentication Approach for Extra Virgin Olive Oil. *Foods (Basel, Switzerland)*, *9*(2), 221. <https://doi.org/10.3390/foods9020221>
- Azadmard-Damirchi, S., & Torbati, M. (2015). Adulterations in some edible oils and fats and their detection methods. *Journal of Food Quality and Hazards Control*, *2*, 38–44
- Azizian, H., Mossoba, M. M., Fardin-Kia, A. R., Karunathilaka, S. R., & Kramer, J. K. (2016). Developing FT-NIR and PLS1 Methodology for Predicting Adulteration in Representative Varieties/Blends of Extra Virgin Olive Oils. *Lipids*, *51*(11), 1309–1321. <https://doi.org/10.1007/s11745-016-4195-0>
- Bajoub, A., Carrasco-Pancorbo, A., Ajal, E. A., Ouazzani, N., & Fernández-Gutiérrez, A. (2015). Potential of LC–ms phenolic profiling combined with multivariate analysis as an approach for the determination of the geographical origin of North Moroccan virgin olive oils. *Food Chemistry*, *166*, 292–300. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.05.153>
- Banilas, G., Korkas, E., Kaldis, P., & Hatzopoulos, P. (2009). Olive and grapevine biodiversity in Greece and cyprus – A Review. *Climate Change, Intercropping, Pest Control and Beneficial Microorganisms*, 401–428. https://doi.org/10.1007/978-90-481-2716-0_14

- Bansal, S., Singh, A., Mangal, M., Mangal, A. K., & Kumar, S. (2017). Food adulteration: Sources, health risks, and detection methods. *Critical reviews in food science and nutrition*, 57(6), 1174–1189. <https://doi.org/10.1080/10408398.2014.967834>
- Barison, A., da Silva, C. W., Campos, F. R., Simonelli, F., Lenz, C. A., & Ferreira, A. G. (2010). A simple methodology for the determination of fatty acid composition in edible oils through ¹H NMR spectroscopy. *Magnetic resonance in chemistry : MRC*, 48(8), 642–650. <https://doi.org/10.1002/mrc.2629>
- Barranco D., Trujillo I., Rallo L. (2005) Elaiografía Hispanica. In: Rallo L., Barranco D., Caballero J.M., Del Río C., Martín A., Tous J., Trujillo I. (Eds.), Variedades de olivo en España, Libro I, Junta de Andalucía, MAPA y Ediciones Mundi-Prensa
- Bartolini, G., Messeri, C., & Prevost, G. (1994). Olive tree germplasm: Descriptor lists of cultivated varieties in the world. *Acta Horticulturae*, (356), 116–118. <https://doi.org/10.17660/actahortic.1994.356.25>
- Ben-Ayed, R., Kamoun-Grati, N., & Rebai, A. (2013). An overview of the authentication of olive tree and oil. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 12(2), 218–227
- Berlioz, B., Cordella, C., Cavalli, J. F., Lizzani-Cuvelier, L., Loiseau, A. M., & Fernandez, X. (2006). Comparison of the amounts of volatile compounds in French protected designation of origin virgin olive oils. *Journal of agricultural and food chemistry*, 54(26), 10092–10101. <https://doi.org/10.1021/jf061796>
- Blasi, F., Pollini, L., & Cossignani, L. (2019). Varietal Authentication of Extra Virgin Olive Oils by Triacylglycerols and Volatiles Analysis. *Foods (Basel, Switzerland)*, 8(2), 58. <https://doi.org/10.3390/foods8020058>
- Borello, E., & Domenici, V. (2019). Determination of Pigments in Virgin and Extra-Virgin Olive Oils: A Comparison between Two Near UV-Vis Spectroscopic Techniques. *Foods (Basel, Switzerland)*, 8(1), 18. <https://doi.org/10.3390/foods8010018>
- Breton, C., Médail, F., Pinatel, C., & Bervillé, A. (2006). De l'olivier à l'oléastre : origine et domestication de l'Olea europaea L. dans le Bassin méditerranéen. *Cahiers Agricultures*, 15(4), 329–336 (1). Consulté à l'adresse <https://revues.cirad.fr/index.php/cahiers-agricultures/article/view/30592>
- Cajka, T., Riddelova, K., Klimankova, E., Cerna, M., Pudil, F., & Hajslova, J. (2010). Traceability of olive oil based on volatiles pattern and multivariate analysis. *Food Chemistry*, 121(1), 282–289. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.12.011>
- Calvano, C. D., Aresta, A., & Zambonin, C. G. (2010). Detection of hazelnut oil in extra virgin olive oil by analysis of polar components by micro-solid phase extraction based on hydrophilic liquid chromatography and MALDI-ToF mass spectrometry. *Journal of Mass Spectrometry*, 45(9), 981–988

- Calvano, C. D., Ceglie, C. D., D'Accolti, L., & Zambonin, C. G. (2012). MALDI-TOF mass spectrometry detection of extra-virgin olive oil adulteration with hazelnut oil by analysis of phospholipids using an ionic liquid as matrix and extraction solvent. *Food chemistry*, 134(2), 1192–1198. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.02.154>
- Calvano, C. D., De Ceglie, C., D'Accolti, L., & Zambonin, C. G. (2012). MALDI-TOF mass spectrometry detection of extra-virgin olive oil adulteration with hazelnut oil by analysis of phospholipids using an ionic liquid as matrix and extraction solvent. *Food Chemistry*, 134(2), 1192–1198
- Campmajó, G., Saurina, J., & Núñez, O. (2022). FIA-HRMS fingerprinting subjected to chemometrics as a valuable tool to address food classification and authentication: Application to red wine, paprika, and vegetable oil samples. *Food chemistry*, 373(Pt B), 131491. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.131491>
- Carranco, N., Farrés-Cebrián, M., Saurina, J., & Núñez, O. (2018). Authentication and Quantitation of Fraud in Extra Virgin Olive Oils Based on HPLC-UV Fingerprinting and Multivariate Calibration. *Foods (Basel, Switzerland)*, 7(4), 44. <https://doi.org/10.3390/foods7040044>
- Casale, M., Armanino, C., Casolino, C., & Forina, M. (2007). Combining information from headspace mass spectrometry and visible spectroscopy in the classification of the Ligurian olive oils. *Analytica chimica acta*, 589(1), 89–95. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2007.02.043>
- Casale, M., Oliveri, P., Casolino, C., Sinelli, N., Zunin, P., Armanino, C., Forina, M., & Lanteri, S. (2012). Characterisation of PDO olive oil Chianti Classico by non-selective (UV-visible, NIR and MIR spectroscopy) and selective (fatty acid composition) analytical techniques. *Analytica chimica acta*, 712, 56–63. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2011.11.015>
- Castillo-Luna, A., Criado-Navarro, I., Ledesma-Escobar, C. A., López-Bascón, M. A., & Priego-Capote, F. (2021). The decrease in the health benefits of extra virgin olive oil during storage is conditioned by the initial phenolic profile. *Food chemistry*, 336, 127730. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.127730>
- Castro-Barquero, S., Tresserra-Rimbau, A., Vitelli-Storelli, F., Doménech, M., Salas-Salvadó, J., Martín-Sánchez, V., Rubín-García, M., Buil-Cosiales, P., Corella, D., Fitó, M., Romaguera, D., Vioque, J., Alonso-Gómez, Á. M., Wärnberg, J., Martínez, J. A., Serra-Majem, L., Tinahones, F. J., Lapetra, J., Pintó, X., ... Fitó, M. (2020). Dietary polyphenol intake is associated with HDL-cholesterol and a better profile of other components of the metabolic syndrome: A PREDIMED-plus sub-study. *Nutrients*, 12(3), 689.
- Catharino, R. R., Haddad, R., Cabrini, L. G., Cunha, I. B. S., Sawaya, A. C. H. F., & Eberlin, M. N. (2005). Characterization of vegetable oils by electrospray ionization mass spectrometry fingerprinting: Classification, quality, adulteration, and aging. *Analytical Chemistry*, 77(22), 7429–7433

- Cecchi, L., Migliorini, M., & Mulinacci, N. (2021). Virgin Olive Oil Volatile Compounds: Composition, Sensory Characteristics, Analytical Approaches, Quality Control, and Authentication. *Journal of agricultural and food chemistry*, *69*(7), 2013–2040. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.0c07744>
- Chen, H., Angiuli, M., Ferrari, C., Tombari, E., Salvetti, G., & Bramanti, E. (2011). Tocopherol speciation as first screening for the assessment of extra virgin olive oil quality by reversed-phase high-performance liquid chromatography/fluorescence detector. *Food Chemistry*, *125*(4), 1423–1429. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.10.026>
- Chiavaro, E., Vittadini, E., Rodriguez-Estrada, M. T., Cerretani, L., Capelli, L., & Bendini, A. (2009). Differential scanning calorimetry detection of high oleic sunflower oil as an adulterant in extra-virgin olive oil. *Journal of Food Lipids*, *16*, 227–244.
- Christopoulou, E., Lazaraki, M., Komaitis, M., & Kaselimis, K. (2004). Effectiveness of determinations of fatty acids and triglycerides for the detection of adulteration of olive oils with vegetable oils. *Food Chemistry*, *84*(3), 463–474.
- Cipriani, G., Marrazzo, M. T., Marconi, R., Cimato, A., & Testolin, R. (2002). Microsatellite markers isolated in Olive (*olea europaea* L.) are suitable for individual fingerprinting and reveal polymorphism within ancient cultivars. *Theoretical and Applied Genetics*, *104*(2), 223–228. <https://doi.org/10.1007/s001220100685>
- Conte, L., Bendini, A., Valli, E., Lucci, P., Moret, S., Maquet, A., Lacoste, F., Brereton, P., García-González, D. L., Moreda, W., & Gallina Toschi, T. (2020). Olive oil quality and authenticity: A review of current EU legislation, standards, relevant methods of analyses, their drawbacks and recommendations for the future. *Trends in Food Science & Technology*, *105*, 483–493. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2019.02.025>
- Craig, A. P., Franca, A. S., & Irudayaraj, J. (2015). *Chapter 7 - Vibrational spectroscopy for food quality and safety screening. High throughput screening for food safety assessment*. UK: Woodhead Publishing.
- Crews, C., Pye, C., & Macarthur, R. (2014). An improved rapid stigmastadiene test to detect addition of refined oil to extra virgin olive oil. *Food Research International*, *60*, 117–122. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2013.11.023>
- Creydt, M., & Fischer, M. (2018). Omics approaches for food authentication. *Electrophoresis*, *39*(13), 1569–1581. <https://doi.org/10.1002/elps.201800004>
- Criado-Navarro, I., Ledesma-Escobar, C. A., Olmo-Peinado, J. M., Parrado-Martínez, M. J., Vílchez-García, P. J., Espejo-Calvo, J. A., & Priego-Capote, F. (2021). Influence of fruit destoning on bioactive compounds of virgin olive oil. *LWT*, *145*, 111354. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.111354>
- Cucurachi, A. (1975). *Final operations. In Olive Oil Technology*. Moreno Martinez, J.M. Editor FAO, Rome.

- da Silva, M. D. R., Costa Freitas, A. M., B. Cabrita, M. J., & Garci, R. (2012). Olive oil composition: Volatile compounds. *Olive Oil - Constituents, Quality, Health Properties and Bioconversions*. <https://doi.org/10.5772/28512>
- da Silveira, R., Vágula, J. M., de Lima Figueiredo, I., Claus, T., Galuch, M. B., Santos Junior, O. O., & Visentainer, J. V. (2017). Rapid methodology via mass spectrometry to quantify addition of soybean oil in extra virgin olive oil: A comparison with traditional methods adopted by food industry to identify fraud. *Food Research International*, *102*, 43–50. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2017.09.076>
- Dabbou, S., Issaoui, M., Esposto, S., Sifi, S., Taticchi, A., Servili, M., Montedoro, G. F., & Hammami, M. (2009). Cultivar and growing area effects on minor compounds of olive oil from autochthonous and European introduced cultivars in Tunisia. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, *89*(8), 1314–1325. <https://doi.org/10.1002/jsfa.3588>
- Dais, P., & Spyros, A. (2007). ³¹P NMR spectroscopy in the quality control and authentication of extra-virgin olive oil: a review of recent progress. *Magnetic resonance in chemistry : MRC*, *45*(5), 367–377. <https://doi.org/10.1002/mrc.1985>
- Damiani, T., Cavanna, D., Serani, A., Dall'Asta, C., & Suman, M. (2020). GC-IMS and FGC-Enose fingerprint as screening tools for revealing extra virgin olive oil blending with soft-refined olive oils: A feasibility study. *Microchemical Journal*, *159*, 105374. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2020.105374>
- Dankowska, A., & Małecka, M. (2009). Application of synchronous fluorescence spectroscopy for determination of extra virgin olive oil adulteration. *European Journal of Lipid Science and Technology*, *111*(12), 1233–1239
- de la Mata, P., Dominguez-Vidal, A., Bosque-Sendra, J. M., Ruiz-Medina, A., CuadrosRodríguez, L., & Ayora-Cañada, M. J. (2012). Olive oil assessment in edible oil blends by means of ATR-FTIR and chemometrics. *Food Control*, *23*(2), 449–455
- De Melo Milanez, K. D. T., & Pontes, M. J. C. (2015). Classification of extra virgin olive oil and verification of adulteration using digital images and discriminant analysis. *Analytical Methods*, *7*(20), 8839–8846.
- Del Coco, L., De Pascali, S. A., Iacovelli, V., Cesari, G., Schena, F. P., & Fanizzi, F. P. (2014). Following the olive oil production chain: 1D and 2D NMR study of olive paste, pomace, and oil. *European Journal of Lipid Science and Technology*, *116*(11), 1513–1521. <https://doi.org/10.1002/ejlt.201400139>
- Delfino, I., Cavella, S., & Lepore, M. (2018). Scattering-based optical techniques for olive oil characterization and quality control. *Journal of Food Measurement and Characterization*, *13*, 196–212
- Di Girolamo, F., Masotti, A., Lante, I., Scapatucci, M., Calvano, C. D., Zambonin, C., Muraca, M., & Putignani, L. (2015). A Simple and Effective Mass Spectrometric Approach to Identify the Adulteration of the Mediterranean Diet Component Extra-Virgin Olive Oil with Corn Oil. *International journal of molecular sciences*, *16*(9), 20896–20912. <https://doi.org/10.3390/ijms160920896>

- D'Imperio, M., Gobbino, M., Picanza, A., Costanzo, S., Della Corte, A., & Mannina, L. (2010). Influence of harvest method and period on olive oil composition: an NMR and statistical study. *Journal of agricultural and food chemistry*, *58*(20), 11043–11051. <https://doi.org/10.1021/jf1026982>
- Dionisi, F., Prodoliet, J., & Tagliaferri, E. (1995). Assessment of olive oil adulteration by reversed-phase high-performance liquid chromatography/amperometric detection of tocopherols and tocotrienols. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, *72*(12), 1505–1511.
- Downey, G., McIntyre, P., & Davies, A. N. (2002). Detecting and quantifying sunflower oil adulteration in extra virgin olive oil from the eastern mediterranean by visible and near-infrared spectroscopy. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *50*, 5520–5525.
- Drira, M., Guclu, G., Portolés, T., Jabeur, H., Kelebek, H., Selli, S., & Bouaziz, M. (2021). Safe and fast fingerprint aroma detection in adulterated extra virgin olive oil using gas chromatography–olfactometry–mass spectrometry combined with Chemometrics. *Food Analytical Methods*, *14*(10), 2121–2135. <https://doi.org/10.1007/s12161-021-02034-z>
- Drira, M., Kelebek, H., Guclu, G., Jabeur, H., Selli, S., & Bouaziz, M. (2020). Targeted analysis for detection the adulteration in extra virgin olive oil's using LC-dad/ESI–MS/MS and combined with Chemometrics Tools. *European Food Research and Technology*, *246*(8), 1661–1677. <https://doi.org/10.1007/s00217-020-03522-y>
- Duque, W. S., Rodríguez Díaz, C. A., Leal-Junior, A. G., & Frizera, A. (2022). Fiber-optic hydrophone based on Michelson's interferometer with active stabilization for Liquid Volume Measurement. *Sensors*, *22*(12), 4404. <https://doi.org/10.3390/s22124404>
- Durán Merás, I., Domínguez Manzano, J., Airado Rodríguez, D., & Muñoz de la Peña, A. (2018). Detection and quantification of extra virgin olive oil adulteration by means of autofluorescence excitation-emission profiles combined with multi-way classification. *Talanta*, *178*, 751–762. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2017.09.095>
- Durme, J. V., & Vandamme, J. (2016). Non-thermal plasma as preparative technique to evaluate olive oil adulteration. *Food Chemistry*, *208*, 185–191
- El Orche, A., Bouatia, M., & Mbarki, M. (2020). Rapid Analytical Method to Characterize the Freshness of Olive Oils Using Fluorescence Spectroscopy and Chemometric Algorithms. *Journal of analytical methods in chemistry*, *2020*, 8860161. <https://doi.org/10.1155/2020/8860161>
- El-Abassy, R. M., Donfack, P., & Materny, A. (2009). Visible Raman spectroscopy for the discrimination of olive oils from different vegetable oils and the detection of adulteration. *Journal of Raman Spectroscopy*, *40*(9), 1284–1289.
- European Union. (2013). Commission Implementing Regulation (EU) No 1348/2013 of 16 December 2013 amending Regulation (EEC) No 2568/91 on the characteristics of olive oil and olive-residue oil and on the relevant methods of analysis. *Official Journal of the European Union*. <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/PDF/?uri=CELEX:32013R1348&from=ES>

- Farley, C., Kassu, A., Bose, N., Jackson-Davis, A., Boateng, J., Ruffin, P., et al. (2017). Short distance standoff Raman detection of extra virgin olive oil adulterated with canola and grapeseed oils. *Applied Spectroscopy*, *71*(6), 1340–1347
- Farley, C., Kassu, A., Bose, N., Jackson-Davis, A., Boateng, J., Ruffin, P., et al. (2017). Short distance standoff Raman detection of extra virgin olive oil adulterated with canola and grapeseed oils. *Applied Spectroscopy*, *71*(6), 1340–1347.
- Fasciotti, M., & Netto, A. D. P. (2010). Optimization and application of methods of triacylglycerol evaluation for characterization of olive oil adulteration by soybean oil with HPLC-APCI-MS-MS. *Talanta*, *81*(3), 1116–1125
- Fauhl, C., Reniero, F., & Guillou, C. (2000). ¹H NMR as a tool for the analysis of mixtures of virgin olive oil with oils of different botanical origin. *Magnetic Resonance in Chemistry*, *38*(6), 436–443. [https://doi.org/10.1002/1097-458x\(200006\)38:6<436::aid-mrc672>3.0.co;2-x](https://doi.org/10.1002/1097-458x(200006)38:6<436::aid-mrc672>3.0.co;2-x)
- Favier, J. P., Bicanic, D., Cozijnsen, J., van Veldhuizen, B., & Helander, P. (1998). CO₂ laser infrared optothermal spectroscopy for quantitative adulteration studies in binary mixtures of extra-virgin olive oil. *Journal of the American Oil Chemists Society*, *75*(3), 359–362
- Ferreiro-González, M., Barbero, G. F., Álvarez, J. A., Ruiz, A., Palma, M., & Ayuso, J. (2017). Authentication of virgin olive oil by a novel curve resolution approach combined with visible spectroscopy. *Food Chemistry*, *220*, 331–336. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.10.015>
- Filoda, P. F., Fetter, L. F., Fornasier, F., Schneider, R. de, Helfer, G. A., Tischer, B., Teichmann, A., & da Costa, A. B. (2018). FAST methodology for identification of olive oil adulterated with a mix of different vegetable oils. *Food Analytical Methods*, *12*(1), 293–304. <https://doi.org/10.1007/s12161-018-1360-5>
- Fiorini, D., Boarelli, M. C., Conti, P., Alfei, B., Caprioli, G., Ricciutelli, M., Sagratini, G., Fedeli, D., Gabbianelli, R., & Pacetti, D. (2018). Chemical and sensory differences between high price and low price extra virgin olive oils. *Food research international (Ottawa, Ont.)*, *105*, 65–75. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2017.11.005>
- Flores, G., Ruiz del Castillo, M. L., Blanch, G. P., & Herraiz, M. (2006). Detection of the adulteration of olive oils by solid phase microextraction and Multidimensional Gas Chromatography. *Food Chemistry*, *97*(2), 336–342. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.04.021>
- Flori, L., Donnini, S., Calderone, V., Zinnai, A., Taglieri, I., Venturi, F., & Testai, L. (2019). The nutraceutical value of olive oil and its bioactive constituents on the cardiovascular system. focusing on main strategies to slow down its quality decay during production and storage. *Nutrients*, *11*(9), 1962.
- Fragaki, G., Spyros, A., Siragakis, G., Salivaras, E., & Dais, P. (2005). Detection of extra virgin olive oil adulteration with lampante olive oil and refined olive oil using nuclear magnetic

- resonance spectroscopy and multivariate statistical analysis. *Journal of agricultural and food chemistry*, 53(8), 2810–2816. <https://doi.org/10.1021/jf040279t>
- Fragaki, G., Spyros, A., Siragakis, G., Salivaras, E., & Dais, P. (2005). Detection of extra virgin olive oil adulteration with lampante olive oil and refined olive oil using nuclear magnetic resonance spectroscopy and multivariate statistical analysis. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(8), 2810–2816
- Frezotti, G. & Manni, M. (1956). *Olive processing in rural mills*. FAO, Rome, Agricultural Development paper No. 58.
- García Martín, J. F. (2022). Potential of near-infrared spectroscopy for the determination of olive oil quality. *Sensors*, 22(8), 2831. <https://doi.org/10.3390/s22082831>
- García Martínez, EM. (2020). *Detección de fraudes en aceites vegetales mediante identificación y cuantificación de ácidos grasos*. <http://hdl.handle.net/10251/145905>
- Garcia, R., Martins, N., & Cabrita, M. J. (2013). Putative markers of adulteration of extra virgin olive oil with refined olive oil: Prospects and limitations. *Food Research International*, 54(2), 2039–2044. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2013.05.008>
- García-González, D. L., Romero, N., & Aparicio, R. (2010). Comparative study of virgin olive oil quality from single varieties cultivated in Chile and Spain. *Journal of agricultural and food chemistry*, 58(24), 12899–12905. <https://doi.org/10.1021/jf1031313>
- Garrido-Delgado, R., Eugenia Muñoz-Pérez, M., & Arce, L. (2018). Detection of adulteration in extra virgin olive oils by using UV-IMS and chemometric analysis. *Food Control*, 85, 292–299
- Gemas, V. J., Rijo-Johansen, M. J., Tenreiro, R., & Fevereiro, P. (2000). Inter- and intra-varietal analysis of three *olea europaea* L. cultivars using the RAPD technique. *The Journal of Horticultural Science and Biotechnology*, 75(3), 312–319. <https://doi.org/10.1080/14620316.2000.11511243>
- Georgouli, K., Rincon, J. M. D., & Koidis, A. (2017). Continuous statistical modelling for rapid detection of adulteration of extra virgin olive oil using mid infrared and Raman spectroscopic data. *Food Chemistry*, 217, 735–742
- Girelli, C. R., Coco, L. D., Zelasco, S., Salimonti, A., Conforti, F. L., Biagiante, A., Barbini, D., & Fanizzi, F. P. (2018). Traceability of "Tuscan PGI" Extra Virgin Olive Oils by ¹H NMR Metabolic Profiles Collection and Analysis. *Metabolites*, 8(4), 60. <https://doi.org/10.3390/metabo8040060>
- Giuffrida, D., Salvo, F., Salvo, A., Pera, L. L., & Dugo, G. (2007). Pigments composition in monovarietal virgin olive oils from various Sicilian olive varieties. *Food Chemistry*, 101(2), 833–837. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.12.030>

- Gómez-Ariza, J. L., Arias-Borrego, A., García-Barrera, T., & Beltran, R. (2006). Comparative study of electrospray and photospray ionization sources coupled to quadrupole time-of-flight mass spectrometer for olive oil authentication. *Talanta*, *70*(4), 859–869
- Gómez-Coca, R. B., Pérez-Camino, M. C., Bendini, A., Gallina Toschi, T., & Moreda, W. (2020). Olive oil mixtures. Part two: Detection of soft deodorized oil in extra virgin olive oil through diacylglycerol determination. Relationship with free acidity. *Food chemistry*, *330*, 127226. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.127226>
- Gonçalves, R. P., Março, P. H., & Valderrama, P. (2014). Thermal edible oil evaluation by UV-Vis spectroscopy and chemometrics. *Food chemistry*, *163*, 83–86. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.04.109>
- González-Domínguez, R., Sayago, A., Morales, M. T., & Fernández-Recamales, Á. (2019). Assessment of virgin olive oil adulteration by a rapid luminescent method. *Foods*, *8*(8), 287.
- Gordon, M. H., & Firman, C. (2001). Effects of heating and bleaching on formation of Stigmastadienes in olive oil. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, *81*(15), 1530–1532. <https://doi.org/10.1002/jsfa.986>
- Grego, S. (2022). The Olive Tree: A symbol. *Olive Cultivation*. <https://doi.org/10.5772/intechopen.102827>
- Guimet, F., Ferré, J., & Boqué, R. (2005). Rapid detection of olive–pomace oil adulteration in extra virgin olive oils from the protected denomination of origin “Siurana” using excitation–emission fluorescence spectroscopy and three-way methods of analysis. *Analytica Chimica Acta*, *544*(1-2), 143–152. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2005.02.013>
- Gurdeniz, G., & Ozen, B. (2009). Detection of adulteration of extra-virgin olive oil by chemometric analysis of mid-infrared spectral data. *Food Chemistry*, *116*(2), 519–525.
- Harzalli, U., Rodrigues, N., Veloso, A. C. A., Dias, L. G., Pereira, J. A., Oueslati, S., et al. (2018). A taste sensor device for unmasking admixing of rancid or winey-vinegary olive oil to extra virgin olive oil. *Computers and Electronics in Agriculture*, *144*, 222–231
- Hayakawa, T., Yanagawa, M., Yamamoto, A., Aizawa, S. I., Taga, A., Mochizuki, N., Itabashi, Y., Uchida, H., Ishihara, Y., & Kodama, S. (2020). A Simple Screening Method for Extra Virgin Olive Oil Adulteration by Determining Squalene and Tyrosol. *Journal of oleo science*, *69*(7), 677–684. <https://doi.org/10.5650/jos.ess20033>
- Hayes, A. F., & Montoya, A. K. (2017). A tutorial on testing, visualizing, and probing an interaction involving a multicategorical variable in linear regression analysis. *Communication Methods and Measures*, *11*(1), 1–30. <https://doi.org/10.1080/19312458.2016.1271116>
- Heise, H. M., Damm, U., Lampen, P. H., Davies, A. N., & McIntyre, P. S. (2005). Spectral variable selection for partial least squares calibration applied to authentication and quantification of extra virgin olive oils using Fourier transform Raman spectroscopy. *Applied Spectroscopy*, *59*(10), 1286–1294

- Hirri, A., Bassbasi, M., Platikanov, S., Tauler, R., & Oussama, A. (2015). FTIR spectroscopy and PLS-DA classification and prediction of four commercial grade Virgin Olive Oils from Morocco. *Food Analytical Methods*, 9(4), 974–981. <https://doi.org/10.1007/s12161-015-0255-y>
- International Olive Council. (2021). Trade standard applying to olive oils and olive pomace oils. Διαθέσιμο στο: https://www.internationaloliveoil.org/wp-content/uploads/2021/07/COI-T15-NC3-REV-16-2021-_ENG.pdf
- IOC (2013). Trade standard applying to olive oil and olive-pomace oil. Madrid, 2013. (COI/T.15/NC No 3/Rev.7) International Olive Council
- Jabeur, H., Zribi, A., & Bouaziz, M. (2016). Extra-virgin olive oil and cheap vegetable oils: Distinction and detection of adulteration as determined by GC and chemometrics. *Food Analytical Methods*, 9(3), 712–723
- Jabeur, H., Zribi, A., Makni, J., Rebai, A., Abdelhedi, R., & Bouaziz, M. (2014). Detection of Chemlali extra-virgin olive oil adulteration mixed with soybean oil, corn oil, and sunflower oil by using GC and HPLC. *Journal of agricultural and food chemistry*, 62(21), 4893–4904. <https://doi.org/10.1021/jf500571n>
- Jabeur, H., Zribi, A., Makni, J., Rebai, A., Abdelhedi, R., & Bouaziz, M. (2014). Detection of chemlali extra-virgin olive oil adulteration mixed with soybean oil, corn oil, and sunflower oil by using GC and HPLC. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 62(21), 4893–4904
- Jimenez-Lopez, C., Carpena, M., Lourenço-Lopes, C., Gallardo-Gomez, M., Lorenzo, J. M., Barba, F. J., Prieto, M. A., & Simal-Gandara, J. (2020). Bioactive compounds and quality of extra virgin olive oil. *Foods*, 9(8), 1014.
- Jiménez-Sanchidrián, C., & Ruiz, J. R. (2016). Use of Raman spectroscopy for analyzing edible vegetable oils. *Applied Spectroscopy Reviews*, 51(5), 417–430. <https://doi.org/10.1080/05704928.2016.1141292>
- Jolliffe, I. T. (2010). *Principal component analysis*. Springer Science+Business Media, LLC.
- Jolliffe, I. T., & Cadima, J. (2016). Principal component analysis: a review and recent developments. *Philosophical transactions. Series A, Mathematical, physical, and engineering sciences*, 374(2065), 20150202. <https://doi.org/10.1098/rsta.2015.0202>
- Kaftan, A., & Elmaci, Y. (2011). Aroma characterization of virgin olive oil from two Turkish olive varieties by SPME/GC/MS. *International Journal of Food Properties*, 14(5), 1160–1169. <https://doi.org/10.1080/10942910903453371>
- Kapellakis, I. E., Tsagarakis, K. P., & Crowther, J. C. (2007). Olive oil history, production and by-product management. *Reviews in Environmental Science and Bio/Technology*, 7(1), 1–26. <https://doi.org/10.1007/s11157-007-9120-9>
- Kesen, S. (2019). Monitoring fatty acid and sterol profile of Nizip Yaglik olive oil adulterated by cotton and sunflower oil. *Journal of Oleo Science*, 68(9), 817–826. <https://doi.org/10.5650/jos.ess19130>

- Kosma, I., Badeka, A., Vatavali, K., Kontakos, S., & Kontominas, M. (2015). Differentiation of greek extra virgin olive oils according to cultivar based on volatile compound analysis and fatty acid composition. *European Journal of Lipid Science and Technology*, *118*(6), 849–861. <https://doi.org/10.1002/ejlt.201500293>
- Kumari, K., & Yadav, S. (2018). Linear Regression Analysis Study. *Journal of the Practice of Cardiovascular Sciences*, *4*(1), 33. https://doi.org/10.4103/jpcs.jpcs_8_18
- Kupper, L., Heise, H. M., Lampen, P., Davies, A. N., McIntyre, P., & Küpper, L. (2001). Authentication and quantification of extra virgin olive oils by attenuated total reflectance infrared spectroscopy using silver halide fiber probes and partial leastsquares calibration. *Applied Spectroscopy*, *55*(5), 563–570
- Lai, Y. W., Kemsley, E. K., & Wilson, R. H. (1995). Quantitative analysis of potential adulterants of extra virgin olive oil using infrared spectroscopy. *Food Chemistry*, *53*, 95–98.
- Lazzerini, C., & Domenici, V. (2017). Pigments in Extra-Virgin Olive Oils Produced in Tuscany (Italy) in Different Years. *Foods (Basel, Switzerland)*, *6*(4), 25. <https://doi.org/10.3390/foods6040025>
- Lazzerini, C., Cifelli, M., & Domenici, V. (2017). Pigments in extra virgin olive oils produced in different Mediterranean countries in 2014: Near UV-Vis Spectroscopy versus HPLC-dad. *LWT*, *84*, 586–594. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.06.025>
- Lerma-García, M. J., Ramis-Ramos, G., Herrero-Martínez, J. M., & Simó-Alfonso, E. F. (2010). Authentication of extra virgin olive oils by Fourier-transform infrared spectroscopy. *Food Chemistry*, *118*(1), 78–83
- Li, Y., Fang, T., Zhu, S., Huang, F., Chen, Z., & Wang, Y. (2018). Detection of olive oil adulteration with waste cooking oil via Raman spectroscopy combined with iPLS and SiPLS. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, *189*, 37–43.
- Lia, F., Morote Castellano, A., Zammit-Mangion, M., & Farrugia, C. (2018). Application of fluorescence spectroscopy and chemometric models for the detection of vegetable oil adulterants in Maltese virgin olive oils. *Journal of food science and technology*, *55*(6), 2143–2151. <https://doi.org/10.1007/s13197-018-3131-0>
- Lizhi, H., Toyoda, K., & Ihara, I. (2010). Discrimination of olive oil adulterated with vegetable oils using dielectric spectroscopy. *Journal of Food Engineering*, *96*(2), 167–171.
- Lopez-Diez, E. C., Bianchi, G., & Goodacre, R. (2003). Rapid quantitative assessment of the adulteration of virgin olive oils with hazelnut oils using Raman spectroscopy and chemometrics. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *51*, 6145–6150
- López-Yerena, A., Lozano-Castellón, J., Olmo-Cunillera, A., Tresserra-Rimbau, A., Quifer-Rada, P., Jiménez, B., Pérez, M., & Vallverdú-Queralt, A. (2019). Effects of Organic and Conventional Growing Systems on the Phenolic Profile of Extra-Virgin Olive

- López-Yerena, A., Ninot, A., Jiménez-Ruiz, N., Lozano-Castellón, J., Pérez, M., Escribano-Ferrer, E., Romero-Aroca, A., Lamuela-Raventós, R. M., & Vallverdú-Queralt, A. (2021). Influence of the ripening stage and extraction conditions on the phenolic fingerprint of ‘Corbella’ extra-virgin olive oil. *Antioxidants*, 10(6), 877.
- Lorenzo, I. M., Pavón, J. L. P., Laespada, M. E. F., Pinto, C. G., & Cordero, B. M. (2002). Detection of adulterants in olive oil by headspace-mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 945(1–2), 221–230.
- Lozano-Castellón, J., López-Yerena, A., Domínguez-López, I., Siscart-Serra, A., Fraga, N., Sámano, S., López-Sabater, C., Lamuela-Raventós, R. M., Vallverdú-Queralt, A., & Pérez, M. (2022). Extra virgin olive oil: A comprehensive review of efforts to ensure its authenticity, traceability, and safety. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 21(3), 2639–2664. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12949>
- Lukić, I., Carlin, S., Horvat, I., & Vrhovsek, U. (2019). Combined targeted and untargeted profiling of volatile aroma compounds with comprehensive two-dimensional gas chromatography for differentiation of virgin olive oils according to variety and geographical origin. *Food chemistry*, 270, 403–414. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.07.133>
- Mabood, F., Boqué, R., Folcarelli, R., Busto, O., Al-Harrasi, A., & Hussain, J. (2015). Thermal oxidation process accelerates degradation of the olive oil mixed with sunflower oil and enables its discrimination using synchronous fluorescence spectroscopy and chemometric analysis. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 143, 298–303
- Maggio, R. M., Cerretani, L., Chiavaro, E., Kaufman, T. S., & Bendini, A. (2010). A novel chemometric strategy for the estimation of extra virgin olive oil adulteration with edible oils. *Food Control*, 21(6), 890–895.
- Maggio, R. M., Cerretani, L., Chiavaro, E., Kaufman, T. S., & Bendini, A. (2010). A novel chemometric strategy for the estimation of extra virgin olive oil adulteration with edible oils. *Food Control*, 21(6), 890–895
- Manai-Djebali, H., Oueslati, I., Baccouri, B., Harzalli, Z., Martínez-Cañas, M. A., & Sánchez-Casas, J. (2021). Importance of phytosterols in the classification of Tunisian olive cultivars: Discrimination between varieties, hybrids and Oleasters. *Recent Advances in Environmental Science from the Euro-Mediterranean and Surrounding Regions (2nd Edition)*, 1109–1113. https://doi.org/10.1007/978-3-030-51210-1_174
- Manai-Djebali, H., Oueslati, I., Martínez-Cañas, M. A., Zarrouk, M., & Sánchez-Casas, J. (2018). Improvement of the sterol and triacylglycerol compositions of Chemlali Virgin Olive Oils through controlled crossing with Mediterranean cultivars. *Journal of Oleo Science*, 67(4), 379–388. <https://doi.org/10.5650/jos.ess17105>

- Manjunatha Reddy, G. N., Mannina, L., Sobolev, A. P., & Caldarelli, S. (2017). Polyphenols fingerprinting in Olive Oils through maximum-quantum NMR spectroscopy. *Food Analytical Methods*, *11*(4), 1012–1020. <https://doi.org/10.1007/s12161-017-1069-x>
- Marie, C., Warnock, P., & Jean, A. (2012). Origin and history of the olive. *Olive Germplasm - The Olive Cultivation, Table Olive and Olive Oil Industry in Italy*. <https://doi.org/10.5772/51933>
- Marigheto, N. A., Kemsley, E. K., Defernez, M., & Wilson, R. H. (1998). A comparison of mid-infrared and Raman spectroscopies for the authentication of edible oils. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, *75*(8), 987–992.
- Marquez, A. J., Díaz, A. M., & Reguera, M. I. P. (2005). Using optical NIR sensor for on-line virgin olive oils characterization. *Sensors and Actuators B: Chemical*, *107*(1), 64–68. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2004.11.103>
- Mathison, B., & Holstege, D. (2013). A rapid method to determine sterol, erythrodiol, and uvaol concentrations in olive oil. *Journal of agricultural and food chemistry*, *61*(19), 4506–4513. <https://doi.org/10.1021/jf400254k>
- Mavromoustakos, T., Zervou, M., Bonas, G., Kolocouris, A., & Petrakis, P. (2000). A novel analytical method to detect adulteration of virgin olive oil by other oils. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, *77*(4), 405–411.
- Mavromoustakos, T., Zervou, M., Bonas, G., Kolocouris, A., & Petrakis, P. (2000). A novel analytical method to detect adulteration of virgin olive oil by other oils. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, *77*(4), 405–411.
- Medeiros, R. M. L., Villa, F., Silva, D. F., & Júlio, L. R. C. (2016). Destinação e reaproveitamento de Subprodutos da Extração Olivícola. *Scientia Agraria Paranaensis*, *15*(2), 100–108. <https://doi.org/10.18188/1983-1471/sap.v15n2p100-108>
- Medina, S., Pereira, J. A., Silva, P., Perestrelo, R., & Câmara, J. S. (2019). Food fingerprints – a valuable tool to monitor food authenticity and safety. *Food Chemistry*, *278*, 144–162. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.11.046>
- Meenu, M., Cai, Q., & Xu, B. (2019). A critical review on analytical techniques to detect adulteration of extra virgin olive oil. *Trends in Food Science & Technology*, *91*, 391–408. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2019.07.045>
- Meenu, M., Kamboj, U., Sharma, A., Guha, P., & Mishra, S. (2016). Green method for determination of phenolic compounds in mung bean (*Vigna radiata* L.) based on near-infrared spectroscopy and chemometrics. *International Journal of Food Science and Technology*, *51*, 2520–2527
- Mekuria, G. T., Collins, G. G., & Sedgley, M. (1999). Genetic variability between different accessions of some common commercial olive cultivars. *The Journal of Horticultural Science and Biotechnology*, *74*(3), 309–314. <https://doi.org/10.1080/14620316.1999.11511114>

- Melucci, D., Bendini, A., Tesini, F., Barbieri, S., Zappi, A., Vichi, S., Conte, L., & Gallina Toschi, T. (2016). Rapid direct analysis to discriminate geographic origin of extra virgin olive oils by flash gas chromatography electronic nose and Chemometrics. *Food Chemistry*, 204, 263–273. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.02.131>
- Mendes, T. O., da Rocha, R. A., Porto, B. L. S., de Oliveira, M. A. L., dos Anjos, V. de C., & Bell, M. J. V. (2015). Quantification of extra-virgin olive oil adulteration with soybean oil: A comparative study of NIR, MIR, and Raman spectroscopy associated with chemometric approaches. *Food Analytical Methods*, 8(9), 2339–2346.
- Mendes, T. O., da Rocha, R. A., Porto, B. L. S., de Oliveira, M. A. L., dos Anjos, V. de C., & Bell, M. J. V. (2015). Quantification of extra-virgin olive oil adulteration with soybean oil: A comparative study of NIR, MIR, and Raman spectroscopy associated with chemometric approaches. *Food Analytical Methods*, 8(9), 2339–2346
- Mignani, A. G., Ciaccheri, L., Ottevaere, H., Thienpont, H., Conte, L., Marega, M., et al. (2011). Visible and near-infrared absorption spectroscopy by an integrating sphere and optical fibers for quantifying and discriminating the adulteration of extra virgin olive oil from Tuscany. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 399(3), 1315–1324.
- Mikrou, T., Pantelidou, E., Parasyri, N., Papaioannou, A., Kapsokefalou, M., Gardeli, C., & Mallouchos, A. (2020). Varietal and geographical discrimination of Greek monovarietal extra virgin olive oils based on squalene, tocopherol, and fatty acid composition. *Molecules*, 25(17), 3818. <https://doi.org/10.3390/molecules25173818>
- Milanez, K. D., Nóbrega, T. C., Nascimento, D. S., Insausti, M., Band, B. S., & Pontes, M. J. (2017). Multivariate modeling for detecting adulteration of extra virgin olive oil with soybean oil using fluorescence and UV–vis spectroscopies: A preliminary approach. *LWT - Food Science and Technology*, 85, 9–15. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.06.060>
- Mildner-Szkudlarz, S., & Jeleń, H. H. (2008). The potential of different techniques for volatile compounds analysis coupled with PCA for the detection of the adulteration of olive oil with hazelnut oil. *Food Chemistry*, 110(3), 751–761. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.02.053>
- Moore, J. C., Spink, J., & Lipp, M. (2012). Development and application of a database of food ingredient fraud and economically motivated adulteration from 1980 to 2010. *Journal of food science*, 77(4), R118–R126. <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2012.02657.x>
- Morford, M., Lenardon, R. & Sham, M. (2015). *Classical mythology*. Oxford University Press.
- Nenadis, N., & Tsimidou, M. Z. (2016). Perspective of vibrational spectroscopy analytical methods in on-field/official control of olives and virgin olive oil. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 119(1), 1600148
- Nigri S., Oumeddour R., Fernandez X. (2012). Analysis of some Algerian virgin olive oil by headspace solid phase microextraction coupled to gas chromatography/mass spectrometry. *Riv. Ital. Sostanze Grasse*. 2012;84:54–61.

- Nikoloudakis, N., Banilas, G., Gazis, F., Hatzopoulos, P., & Metzidakis, J. (2003). Discrimination and genetic diversity among cultivated olives of Greece using RAPD markers. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, *128*(5), 741–746. <https://doi.org/10.21273/jashs.128.5.0741>
- Nikou, T., Witt, M., Stathopoulos, P., Barsch, A., & Halabalaki, M. (2020). Olive Oil Quality and Authenticity Assessment Aspects Employing FIA-MRMS and LC-Orbitrap MS Metabolomic Approaches. *Frontiers in public health*, *8*, 558226. <https://doi.org/10.3389/fpubh.2020.558226>
- Oliveros, M. C. C., Pavón, J. L. P., Pinto, C. G., Laespada, M. E. F., Cordero, B. M., & Forina, M. (2002). Electronic nose based on metal oxide semiconductor sensors as a fast alternative for the detection of adulteration of virgin olive oils. *Analytica Chimica Acta*, *459*(2), 219–228.
- Olmo-Cunillera, A., López-Yerena, A., Lozano-Castellón, J., Tresserra-Rimbau, A., Vallverdú-Queralt, A., & Pérez, M. (2020). NMR spectroscopy: a powerful tool for the analysis of polyphenols in extra virgin olive oil. *Journal of the science of food and agriculture*, *100*(5), 1842–1851. <https://doi.org/10.1002/jsfa.10173>
- Ouazzani, N., Lumaret, R., Villemur, P., & Giusto, F. D. (1993). Leaf allozyme variation in cultivated and wild olive trees (*Olea europaea* L.). *Journal of Heredity*, *84*(1), 34–42. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.jhered.a111274>
- Oussama, A., Elabadi, F., Platikanov, S., Kzaiber, F., & Tauler, R. (2012). Detection of olive oil adulteration using FT-IR spectroscopy and PLS with variable importance of projection (VIP) scores. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, *89*(10), 1807–1812.
- Owen, C. A., Bitá, E.-C., Banilas, G., Hajjar, S. E., Sellianakis, V., Aksoy, U., Hepaksoy, S., Chamoun, R., Talhook, S. N., Metzidakis, I., Hatzopoulos, P., & Kalaitzis, P. (2004). AFLP reveals structural details of genetic diversity within cultivated olive germplasm from the Eastern Mediterranean. *Theoretical and Applied Genetics*, *110*(7), 1169–1176. <https://doi.org/10.1007/s00122-004-1861-z>
- Ozcan-Sinir, G. (2020). Detection of adulteration in extra virgin olive oil by selected ion flow tube mass spectrometry (SIFT-MS) and Chemometrics. *Food Control*, *118*, 107433. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2020.107433>
- Papadopoulos, K., Triantis, T., Tzikis, C. H., Nikokavoura, A., & Dimotikali, D. (2002). Investigations of the adulteration of extra virgin olive oils with seed oils using their weak chemiluminescence. *Analytica Chimica Acta*, *464*(1), 135–140.
- Parker, T., Limer, E., Watson, A. D., Defernez, M., Williamson, D., & Kemsley, E. K. (2014). 60MHz 1H NMR spectroscopy for the analysis of edible oils. *TRAC Trends in Analytical Chemistry*, *57*, 147–158.
- Patra, D., & Mishra, A. K. (2002). Total synchronous fluorescence scan spectra of petroleum products. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, *373*(4–5), 304–309.

- Pereira, A. G., Otero, P., Fraga-Corral, M., Garcia-Oliveira, P., Carpena, M., Prieto, M. A., & Simal-Gandara, J. (2021). State-of-the-Art of Analytical Techniques to Determine Food Fraud in Olive Oils. *Foods (Basel, Switzerland)*, 10(3), 484. <https://doi.org/10.3390/foods10030484>
- Perez, M., Lopez-Yerena, A., & Vallverdú-Queralt, A. (2020). Traceability, authenticity and sustainability of cocoa and chocolate products: A challenge for the chocolate industry. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 1–15. <https://doi.org/10.1080/10408398.2020.1819769>
- Pérez-Trujillo, M., Gómez-Caravaca, A. M., Segura-Carretero, A., Fernández-Gutiérrez, A., & Parella, T. (2010). Separation and identification of phenolic compounds of extra virgin olive oil from *Olea europaea* L. by HPLC-DAD-SPE-NMR/MS. Identification of a new diastereoisomer of the aldehydic form of oleuropein aglycone. *Journal of agricultural and food chemistry*, 58(16), 9129–9136. <https://doi.org/10.1021/jf101847e>
- Perri, E., Palopoli, A., & Pellegrino, M. (2002). The use of RAPD markers for the study of Olive Germplasm from Apulia and Basilicata. *Acta Horticulturae*, (586), 87–90. <https://doi.org/10.17660/actahortic.2002.586.9>
- Philippidis, A., Poulakis, E., Papadaki, A., & Velegrakis, M. (2017). Comparative study using Raman and visible spectroscopy of Cretan extra virgin olive oil adulteration with sunflower oil. *Analytical Letters*, 50(7), 1182–1195
- Philippidis, A., Poulakis, E., Papadaki, A., & Velegrakis, M. (2017). Comparative study using Raman and visible spectroscopy of Cretan extra virgin olive oil adulteration with sunflower oil. *Analytical Letters*, 50(7), 1182–1195.
- Pouliarekou, E., Badeka, A., Tasioula-Margari, M., Kontakos, S., Longobardi, F., & Kontominas, M. G. (2011). Characterization and classification of Western Greek olive oils according to cultivar and geographical origin based on volatile compounds. *Journal of chromatography. A*, 1218(42), 7534–7542. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2011.07.081>
- Poulli, K. I., Mousdis, G. A., & Georgiou, C. A. (2006). Synchronous fluorescence spectroscopy for quantitative determination of virgin olive oil adulteration with sunflower oil. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 386(5), 1571–15
- Quintanilla-Casas, B., Bertin, S., Leik, K., Bustamante, J., Guardiola, F., Valli, E., Bendini, A., Toschi, T. G., Tres, A., & Vichi, S. (2020). Profiling versus fingerprinting analysis of sesquiterpene hydrocarbons for the geographical authentication of extra virgin olive oils. *Food chemistry*, 307, 125556. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.125556>
- Quintanilla-Casas, B., Strocchi, G., Bustamante, J., Torres-Cobos, B., Guardiola, F., Moreda, W., Martínez-Rivas, J. M., Valli, E., Bendini, A., Toschi, T. G., Tres, A., & Vichi, S. (2021). Large-scale evaluation of shotgun triacylglycerol profiling for the fast detection of olive oil adulteration. *Food Control*, 123, 107851. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2020.107851>

- Revelou, P. K., Pappa, C., Kakouri, E., Kanakis, C. D., Papadopoulos, G. K., Pappas, C. S., & Tarantilis, P. A. (2021). Discrimination of botanical origin of olive oil from selected Greek cultivars by SPME-GC-MS and ATR-FTIR spectroscopy combined with chemometrics. *Journal of the science of food and agriculture*, *101*(7), 2994–3002. <https://doi.org/10.1002/jsfa.10932>
- Rhizopoulou, S. (2007). *Olea europaea* L. A Botanical Contribution to Culture. *American-Eurasian Journal of Agricultural and Environmental Science*, *2*, 382-387.
- Rodriguez-Saona, L. E., & Allendorf, M. E. (2011). Use of FTIR for rapid authentication and detection of adulteration of food. *Annual Review of food science and technology: Vol. 2*, (pp. 467–483)
- Rohman, A., & Man, Y. B. C. (2010). Fourier transform infrared (FTIR) spectroscopy for analysis of extra virgin olive oil adulterated with palm oil. *Food Research International*, *43*(3), 886–892
- Rohman, A., & Man, Y. B. C. (2011). Determination of extra virgin olive oil in quaternary mixture using FTIR spectroscopy and multivariate calibration. *Spectroscopy*, *26*, 203–211
- Rohman, A., & Man, Y. B. C. (2012a). Authentication of extra virgin olive oil from sesame oil using FTIR spectroscopy and gas chromatography. *International Journal of Food Properties*, *15*(6), 1309–1318.
- Rohman, A., & Man, Y. B. C. (2012b). Quantification and classification of corn and sunflower oils as adulterants in olive oil using chemometrics and FTIR spectra. *Science World Journal*, 2012, 1–6.
- Rohman, A., & Man, Y. B. C. (2012c). The chemometrics approach applied to FTIR spectral data for the analysis of rice bran oil in extra virgin olive oil. *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems*, *110*(1), 129–134
- Rohman, A., Ghazali, M. A. I., Windarsih, A., Irnawati, I., Riyanto, S., Yusof, F. M., & Mustafa, S. (2020). Comprehensive review on application of FTIR spectroscopy coupled with chemometrics for authentication analysis of fats and oils in the food products. *Molecules*, *25*(22), 5485. <https://doi.org/10.3390/molecules25225485>
- Rohman, A., Man, Y. B. C., & Yusof, F. M. (2014). The use of FTIR spectroscopy and chemometrics for rapid authentication of extra virgin olive oil. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, *91*(2), 207–213
- Romero, N., Saavedra, J., Tapia, F., Sepúlveda, B., & Aparicio, R. (2015). Influence of agroclimatic parameters on phenolic and volatile compounds of Chilean virgin olive oils and characterization based on geographical origin, cultivar and ripening stage. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, *96*(2), 583–592. <https://doi.org/10.1002/jsfa.7127>
- Ruiz del Castillo, M. L., Flores, G., Herraiz, M., & Blanch, G. P. (2003). Solid-phase microextraction for studies on the enantiomeric composition of filbertone in hazelnut

oils. *Journal of agricultural and food chemistry*, 51(9), 2496–2500.
<https://doi.org/10.1021/jf026247s>

- Ruiz-Aracama, A., Goicoechea, E., & Guillén, M. D. (2017). Direct study of minor extra-virgin olive oil components without any sample modification. 1H NMR multisuppression experiment: A powerful tool. *Food Chemistry*, 228, 301–314.
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.02.009>
- Ryoo, D., Hwang, J., & Chung, H. (2017). Probing temperature able to improve Raman spectroscopic discrimination of adulterated olive oils. *Microchemical Journal*, 134, 224–229.
- Salivaras, E., & McCurdy, A. R. (1992). Detection of olive oil adulteration with canola oil from triacylglycerol analysis by reversed-phase high-performance liquid chromatography. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 69(9), 935–938.
<https://doi.org/10.1007/bf02636347>
- Sánchez Moral, P., & Ruiz Méndez, M. V. (2006). Production of pomace olive oil. *Grasas y Aceites*, 57(1). <https://doi.org/10.3989/gya.2006.v57.i1.21>
- Sánchez-López, E., Sánchez-Rodríguez, M. I., Marinas, A., Marinas, J. M., Urbano, F. J., Caridad, J. M., & Moalem, M. (2016). Chemometric study of Andalusian extra virgin olive oils Raman spectra: Qualitative and quantitative information. *Talanta*, 156–157, 180–190. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2016.05.014>
- Sanmartin, C., Venturi, F., Sgherri, C., Nari, A., Macaluso, M., Flamini, G., Quartacci, M. F., Taglieri, I., Andrich, G., & Zinnai, A. (2018). The effects of packaging and storage temperature on the shelf-life of extra virgin olive oil. *Heliyon*, 4(11).
<https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2018.e00888>
- Schicchi, R., Speciale, C., Amato, F., Bazan, G., Di Noto, G., Marino, P., Ricciardo, P., & Geraci, A. (2021). The monumental olive trees as biocultural heritage of Mediterranean landscapes: The case study of sicily. *Sustainability*, 13(12), 6767.
<https://doi.org/10.3390/su13126767>
- Schneider, S. (2016). Quality analysis of virgin olive oils—Part 1 Thermal treatment analysis—Determination of 3,5-stigmastadienes in olive oil using the Agilent Infinity 1220 LC System with diode array detector. *Agilent Technologies*, 5991-1894EN.
- Šmejkalová, D., & Piccolo, A. (2010). High-power gradient diffusion NMR spectroscopy for the rapid assessment of extra-virgin olive oil adulteration. *Food Chemistry*, 118(1), 153–158.
- Souilem, S., El-Abbassi, A., Kiai, H., Hafidi, A., Sayadi, S., & Galanakis, C. M. (2017). Olive oil production sector: Environmental effects and sustainability challenges. *Olive Mill Waste*, 1–28. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-805314-0.00001-7>
- Srigley, C. T., Oles, C. J., Kia, A. R., & Mossoba, M. M. (2015). Authenticity assessment of Extra Virgin Olive Oil: Evaluation of Desmethylsterols and triterpene dialcohols.

Journal of the American Oil Chemists' Society, 93(2), 171–181.
<https://doi.org/10.1007/s11746-015-2759-4>

- Stadler, R. H., Tran, L. A., Cavin, C., Zbinden, P., & Konings, E. J. (2016). Analytical Approaches to Verify Food Integrity: Needs and Challenges. *Journal of AOAC International*, 99(5), 1135–1144. <https://doi.org/10.5740/jaoacint.16-0231>
- Sun, X., Lin, W., Li, X., Shen, Q., & Luo, H. (2015). Detection and quantification of extra virgin olive oil adulteration with edible oils by FT-IR spectroscopy and chemometrics. *Analytical Methods*, 7(9), 3939–3945
- Tay, A., Singh, R. K., Krishnan, S. S., & Gore, J. P. (2002). Authentication of olive oil adulterated with vegetable oils using Fourier transform infrared spectroscopy. *Lebensmittel-Wissenschaft und -Technologie- Food Science and Technology*, 35(1), 99–103.
- Teixeira, A. M., & Sousa, C. (2019). A review on the application of vibrational spectroscopy to the chemistry of nuts. *Food Chemistry*, 277, 713–724
- Tena, N., Wang, S. C., Aparicio-Ruiz, R., García-González, D. L., & Aparicio, R. (2015). In-depth assessment of analytical methods for olive oil purity, safety, and quality characterization. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 63(18), 4509–4526. <https://doi.org/10.1021/jf5062265>
- Terral J.-F., Breton C., Newton C., Ivorra S. & Bervillé A. (2010). Les apports décisifs de la morphométrie (éco-anatomie et morphométrie géométrique) et de génétique (marqueurs moléculaires microsattellites) dans la reconstruction de l'histoire de la culture et de la domestication de l'olivier. Le origini dell'olivicoltura in Toscana: nuovi percorsi di ricerca tra archeologia, botanica e biologia molecolare. In book: Eleiva, Oleum, Olio. DonChisciotte.
- Torrecilla, J. S., Cancilla, J. C., Matute, G., Díaz-Rodríguez, P., & Flores, A. I. (2013). Selforganizing maps based on chaotic parameters to detect adulterations of extra virgin olive oil with inferior edible oils. *Journal of Food Engineering*, 118(4), 400–405
- Torrecilla, J. S., García, J., García, S., & Rodríguez, F. (2011a). Quantification of adulterant agents in extra virgin olive oil by models based on its thermophysical properties. *Journal of Food Engineering*, 103(2), 211–218.
- Torrecilla, J. S., García, J., García, S., & Rodríguez, F. (2011b). Application of lag-k autocorrelation coefficient and the TGA signals approach to detecting and quantifying adulterations of extra virgin olive oil with inferior edible oils. *Analytica Chimica Acta*, 688(2), 140–145.
- Torrecilla, J. S., Rojo, E., Domínguez, J. C., & Rodríguez, F. (2010). A novel method to quantify the adulteration of extra virgin olive oil with low-grade olive oils by UV-vis. *Journal of agricultural and food chemistry*, 58(3), 1679–1684. <https://doi.org/10.1021/jf903308u>

- Torres, M., Pierantozzi, P., Searles, P., Rousseaux, M. C., García-Inza, G., Miserere, A., Bodoira, R., Contreras, C., & Maestri, D. (2017). Olive Cultivation in the Southern Hemisphere: Flowering, Water Requirements and Oil Quality Responses to New Crop Environments. *Frontiers in plant science*, 8, 1830. <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.01830>
- Tsopelas, F., Konstantopoulos, D., & Kakoulidou, A. T. (2018). Voltammetric fingerprinting of oils and its combination with chemometrics for the detection of extra virgin olive oil adulteration. *Analytica chimica acta*, 1015, 8–19. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2018.02.042>
- Tsopelas, F., Konstantopoulos, D., & Kakoulidou, A. T. (2018). Voltammetric fingerprinting of oils and its combination with chemometrics for the detection of extra virgin olive oil adulteration. *Analytica Chimica Acta*, 1015, 8–19
- Uncu, O., & Ozen, B. (2019). A comparative study of mid-infrared, UV–visible and fluorescence spectroscopy in combination with chemometrics for the detection of adulteration of fresh olive oils with old olive oils. *Food Control*, 105, 209–218. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2019.06.013>
- Uncu, O., & Ozen, B. (2020). Importance of some minor compounds in olive oil authenticity and quality. *Trends in Food Science & Technology*, 100, 164–176. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2020.04.013>
- Uyanık, G. K., & Güler, N. (2013). A study on multiple linear regression analysis. *Procedia - Social and Behavioral Sciences*, 106, 234–240. <https://doi.org/10.1016/j.sbspro.2013.12.027>
- Valli, E., Milani, A., Srbínovska, A., Moret, E., Moret, S., Bendini, A., Moreda, W., Toschi, T. G., & Lucci, P. (2021). In-house validation of an SPE-GC-FID method for the detection of free and esterified hydroxylated minor compounds in virgin olive oils. *Foods*, 10(6), 1260. <https://doi.org/10.3390/foods10061260>
- Van Durme, J., & Vandamme, J. (2016). Non-thermal plasma as preparative technique to evaluate olive oil adulteration. *Food Chemistry*, 208, 185–191. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.04.007>
- Varona, E., Tres, A., Rafecas, M., Vichi, S., Barroeta, A. C., & Guardiola, F. (2021). Composition and Nutritional Value of Acid Oils and Fatty Acid Distillates Used in Animal Feeding. *Animals : an open access journal from MDPI*, 11(1), 196. <https://doi.org/10.3390/ani11010196>
- Vera, D. N., Jiménez-Carvelo, A. M., Cuadros-Rodríguez, L., Ruisánchez, I., & Callao, M. P. (2019). Authentication of the geographical origin of extra-virgin olive oil of the Arbequina cultivar by chromatographic fingerprinting and chemometrics. *Talanta*, 203, 194–202. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2019.05.064>
- Vichi, S., Guadayol, J. M., Caixach, J., López-Tamames, E., & Buxaderas, S. (2006). Monoterpene and sesquiterpene hydrocarbons of virgin olive oil by headspace solid-

- phase microextraction coupled to gas chromatography/mass spectrometry. *Journal of chromatography. A*, 1125(1), 117–123. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2006.05.029>
- Vichi, S., Pizzale, L., Conte, L. S., Buxaderas, S., & López-Tamames, E. (2003). Solid-phase microextraction in the analysis of virgin olive oil volatile fraction: characterization of virgin olive oils from two distinct geographical areas of northern Italy. *Journal of agricultural and food chemistry*, 51(22), 6572–6577. <https://doi.org/10.1021/jf030269c>
- Vietina, M., Agrimonti, C., & Marmiroli, N. (2013). Detection of plant oil DNA using high resolution melting (HRM) post PCR analysis: A tool for disclosure of olive oil adulteration. *Food Chemistry*, 141(4), 3820–3826
- Violino, S., Benincasa, C., Taiti, C., Ortenzi, L., Pallottino, F., Marone, E., Mancuso, S., & Costa, C. (2021). Ai-based hyperspectral and VOCS Assessment Approach to identify adulterated extra virgin olive oil. *European Food Research and Technology*, 247(4), 1013–1022. <https://doi.org/10.1007/s00217-021-03683-4>
- Vlachos, N., Skopelitis, Y., Psaroudaki, M., Konstantinidou, V., Chatzilazarou, A., & Tegou, E. (2006). Applications of fourier transform-infrared spectroscopy to edible oils. *Analytica Chimica Acta*, 573-574, 459–465. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2006.05.034>
- Webster, L., Simpson, P., Shanks, A. M., & Moffat, C. F. (2000). The authentication of olive oil on the basis of hydrocarbon concentration and composition. *Analyst*, 125(3), 97–10
- Wesley, I. J., Barnes, R. J., & McGill, A. E. J. (1995). Measurement of adulteration of olive oils by near-infrared spectroscopy. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 72(3), 289–292.
- Wesley, I. J., Pacheco, F., & McGill, A. E. J. (1996). Identification of adulterants in olive oils. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 73(4), 515–518
- Wetten, I. A. V., Herwaarden, A. W. V., Splinter, R., Boerrigter-Eenling, R., & Ruth, S. M. V. (2015). Detection of sunflower oil in extra virgin olive oil by fast differential scanning calorimetry. *Thermochimica Acta*, 603, 237–243
- Xu, Z., Morris, R. H., Bencsik, M., & Newton, M. I. (2014). Detection of virgin olive oil adulteration using low field unilateral NMR. *Sensors (Switzerland)*, 14(2), 2028–2035
- Yan, X., & Su, X. G. (2009). Linear regression analysis. <https://doi.org/10.1142/6986>
- Yildiz Tiryaki, G., & Ayvaz, H. (2016). Quantification of soybean oil adulteration in extra virgin olive oil using portable Raman spectroscopy. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 11(2), 523–529. <https://doi.org/10.1007/s11694-016-9419-8>
- Youseff, R., Soubh, L., & Alassaf, Z. (2014). Detection of vegetable oils adulteration using desmethylsterols composition. *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research*, 28(2), 229–233.
- Zabaras, D., & Gordon, M. H. (2004). Detection of pressed hazelnut oil in virgin olive oil by analysis of polar components: Improvement and validation of the method. *Food Chemistry*, 84(3), 475–483.

- Zhou, X., Zhang, Q., Chen, X., Li, X., & Han, C. (2021). In-situ assessment of olive oil adulteration with soybean oil based on thermogravimetric-gas chromatography/mass spectrometry combined with Chemometrics. *Food Control*, 130, 108251. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2021.108251>
- Zou, M. Q., Zhang, X. F., Qi, X. H., Ma, H. L., Dong, Y., Liu, C. W., et al. (2009). Rapid authentication of olive oil adulteration by Raman spectrometry. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57(14), 6001–6006.
- Ευρωπαϊκή Ένωση (1991). Κανονισμός 2568/91 της Ευρωπαϊκής Επιτροπής για τα χαρακτηριστικά του ελαιολάδου και των υπολειμμάτων ελαιολάδου και για τις σχετικές μεθόδους ανάλυσης και μεταγενέστερες τροποποιήσεις. Επίσημη Εφημερίδα της Ευρωπαϊκής Κοινότητας.
- Ευρωπαϊκή Ένωση. (2013). Εκτελεστικός κανονισμός (ΕΕ) αριθ. 1348/2013 της Επιτροπής, της 16ης Δεκεμβρίου 2013, για την τροποποίηση του κανονισμού (ΕΟΚ) αριθ. Επίσημη Εφημερίδα της Ευρωπαϊκής Ένωσης. <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EL/TXT/PDF/?uri=CELEX:32013R1348&from=EL>
- ΕΦΕΤ (2015). Κανόνες Εμπορίας & Επισήμανσης ελαιολάδου. Διαθέσιμο στο: https://www.efet.gr/files/F3406_odel.pdf
- Κυριτσάκης Α., (2007). *Ελαιόλαδο: Συμβατικό και βιολογικό, βρώσιμη ελιά και πάστα ελιάς*. Θεσσαλονίκη