



Πανεπιστήμιο Κύπρου
Τμήμα Χημείας

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

**Χημειομετρική διάκριση του κυπριακού
παραδοσιακού κρασιού Κουμανδαρία**

Έλενα Ιωάννου Παπαγιάννη

ΛΕΥΚΩΣΙΑ

ΜΑΙΟΣ 2012



Πανεπιστήμιο Κύπρου
Τμήμα Χημείας

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

Χημειομετρική διάκριση του κυπριακού παραδοσιακού κρασιού Κουμανδαρία

Έλενα Ιωάννου Παπαγιάννη

Ερευνητικός Σύμβουλος:

Χάρης Ρ. Θεοχάρης, Καθηγητής

Εξεταστική Επιτροπή:

Ιωάννης Πασχαλίδης, Αναπληρωτής Καθηγητής (Πρόεδρος)

Κωνσταντίνα Καπνίση-Χριστοδούλου, Επίκουρη Καθηγήτρια

Γάσος Χριστοφίδης, Καθηγητής- Τμήμα Μαθηματικών και Στατιστικής

Χρυσούλα Δρούζα, Λέκτορας, Τμήμα Γεωπονικών Επιστημών, Βιοτεχνολογίας και
Επιστήμης Τροφίμων, ΤΕΠΑΚ

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

Ευχαριστίες	i
Περίληψη	iii
Abstract	v
Περιεχόμενα	vii
Κεφάλαιο 1 :Εισαγωγή	1
1.1 Ιστορική αναδρομή	1
1.2 Νομοθετικό πλαίσιο	3
1.3 Παρασκευή Κουμανδαρίας	4
1.4 Αυθεντικότητα τροφίμων και ποτών.....	6
1.5 Μεθοδολογία για τον καθορισμό της αυθεντικότητας τροφίμων και ποτών.....	7
1.6 Μεθοδολογία για το χαρακτηρισμό και καθορισμό της αυθεντικότητας της Κουμανδαρίας	8
1.7 Βιβλιογραφία.....	11
Κεφάλαιο 2: Χημειομετρία	13
2.1 Δημιουργία περιγραφικών μεταβλητών.....	16
2.2 Προ-επεξεργασία των περιγραφικών μεταβλητών για ανάλυση	16
2.3 Ανάλυση Κύριων Συνιστωσών (Principal Component Analysis, PCA).....	18
2.4 Εξαγωγή Κύριων Συνιστωσών	19
2.5 Υπολογισμός Κύριων Συνιστωσών	21
2.6 Ανάλυση μερικών ελάχιστων τετραγώνων (Partial Least Squares Analysis, PLS).....	26
2.7 Διακριτική (Διαχωριστική) Ανάλυση (Discriminant Analysis, DA).....	26
2.8 Γραμμική, Τετραγωνική και Ομαλοποιημένη Διακριτική Ανάλυση (Linear, Quadratic and Regularized, LDA,QDA,RDA)	27

2.9	Ιεραρχική Ανάλυση κατά Συστάδες (Hierarchical Cluster Analysis, HCA)	31
2.10	Δένδρα Ταξινόμησης και Παλινδρόμησης (Classification and Regression Trees, CARDS)	33
2.11	Λογισμικά	34
2.12	Εφαρμογές Χημειομετρίας	34
2.12.1	Χημειομετρικός χαρακτηρισμός του κυπριακού ποτού <i>Ζιβανία</i>	34
2.12.2	Ταξινόμηση του <i>εδώδιμου</i> ελαιόλαδου και του <i>λαμπάντε</i>	37
2.13	Βιβλιογραφία	39
Κεφάλαιο 3 : Αναλυτικές Μέθοδοι		41
3.1	Υπέρυθρη Φασματοσκοπία, FTIR	41
3.2	Φασματοσκοπία Πυρηνικού Μαγνητικού Συντονισμού, NMR	44
3.3	Προ-κατεργασία δειγμάτων	47
3.3.1	Συμπύκνωση με Λυοφιλίωση (Freeze Drying)	47
3.3.2	Συμπύκνωση με Ροή Αζώτου	50
3.4	Βιβλιογραφία	51
Κεφάλαιο 4 : Πειραματικό Μέρος		56
4.1	Δειγματοληψία	56
4.2	Συμπύκνωση δειγμάτων με Λυοφιλίωση	59
4.3	Συμπύκνωση δειγμάτων με Ροή Αζώτου	60
4.4	Λήψη φασμάτων με χρήση Φασματοσκοπίας Υπερύθρου με μετασχηματισμό Fourier, FTIR	61

4.5 Λήψη φασμάτων με χρήση Φασματοσκοπίας Πυρηνικού Μαγνητικού Συντονισμού, NMR	63
4.6 Χημειομετρική Ανάλυση των φασματοσκοπικών δεδομένων.....	65
4.7 Βιβλιογραφία.....	66
Κεφάλαιο 5 : Χημειομετρική Ανάλυση Φασματοσκοπικών Δεδομένων, FTIR	68
5.1 Χημειομετρική Ανάλυση Φασματοσκοπικών Δεδομένων FTIR Λυοφιλιωμένων Δειγμάτων	68
5.2 Χημειομετρική Ανάλυση Φασματοσκοπικών Δεδομένων FTIR σε Δείγματα μετά από Ροή Αζώτου	86
5.3 Σύγκριση των τεχνικών συμπύκνωσης (λυοφιλίωσης και ροής αζώτου) δειγμάτων μετά από Χημειομετρική Ανάλυση των Φασμασματοσκοπικών Δεδομένων FTIR	95
5.3.1 Λυοφιλιωμένα Δείγματα	95
5.3.1.α Ταξινόμηση με Ανάλυση Κύριων Συνιστωσών	95
5.3.1.β Ταξινόμηση με Δένδρα Ταξινόμησης και Παλινδρόμησης	97
5.3.1.γ Ταξινόμηση με Ιεραρχική Ανάλυση κατά Συστάδες.....	101
5.3.2 Δείγματα μετά από Ροή Αζώτου	103
5.3.2.α Ταξινόμηση με Ιεραρχική Ανάλυση κατά Συστάδες	103
5.3.2.β Ταξινόμηση με Ανάλυση Κύριων Συνιστωσών	105
5.3.2.γ Ταξινόμηση με Δένδρα Ταξινόμησης και Παλινδρόμησης.....	106
5.3.2.δ Ταξινόμηση με Ομαλοποιημένη Διακριτική Ανάλυση	109
5.4 Βιβλιογραφία	112

Κεφάλαιο 6 : Χημειομετρική Ανάλυση Φασματοσκοπικών Δεδομένων, $^1\text{H-NMR}$.....	115
6.1 Χημειομετρική Ανάλυση Φασματοσκοπικών Δεδομένων $^1\text{H-NMR}$	115
6.2 Χημειομετρική Ανάλυση Φασματοσκοπικών Δεδομένων $^1\text{H-NMR}$ σε Λυοφιλωμένα Δείγματα	124
6.3 Χημειομετρική Ανάλυση Φασματοσκοπικών Δεδομένων $^1\text{H-NMR}$ σε Δείγματα μετά από Ροή Αζώτου	138
6.4 Βιβλιογραφία	151
Κεφάλαιο 7 : Συμπεράσματα	154
Συνοπτομογραφίες	xi

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Η μελέτη των παραδοσιακών προϊόντων της Κύπρου είναι ένας νέος τομέας που έμεινε για πολύ καιρό ανεξερεύνητος. Με την παρούσα διατριβή επιχειρήθηκε μια προσπάθεια για τη μελέτη μεθόδων χαρακτηρισμού του κυπριακού ποτού Κουμανδάρια. Η πειραματική εργασία πραγματοποιήθηκε στο εργαστήριο της ομάδας των Πορωδών Υλικών του Τμήματος Χημείας του Πανεπιστημίου Κύπρου.

Η εκπόνηση της διατριβής μου στάθηκε δυνατή χάρη στον ερευνητικό μου σύμβουλο Καθηγητή, Χάρη Ρ. Θεοχάρη γι' αυτό και τον ευχαριστώ εκ των προτέρων για τη σημαντική συμβολή του στην έρευνά μου καθώς και την εμπιστοσύνη, τη στήριξη και την υπομονή που επέδειξε στο πρόσωπό μου.

Πάνω από όλους, θα ήθελα να ευχαριστήσω τη δρ. Ρεβέκκα Κοκκινόφτα Διογένους, υπεύθυνη του Εργαστηρίου Πυρηνικού Μαγνητικού Συντονισμού του Γενικού Χημείου του Κράτους, η οποία και με παρότρυνε στην εκπόνηση της εργασίας αυτής, στην επιλογή του θέματος καθώς και στην εξασφάλιση των απαραίτητων βάσεων, ώστε να ασχοληθώ απερίσπαστα με το καινούριο, σε εμένα, αντικείμενο, αυτό της Χημειομετρίας. Με βοήθησε ταυτόχρονα, στην εκμάθηση του στατιστικού προγράμματος WinDAS, μοιράστηκε μαζί μου τις πολύτιμες γνώσεις της στη Χημειομετρία και όχι μόνο, κάνοντας σημαντικές υποδείξεις. Επίσης, την ευχαριστώ για τη χημειομετρική ανάλυση των φασματοσκοπικών δεδομένων των δειγμάτων με το στατιστικό πρόγραμμα SCAN. Τα χρόνια αυτά που διέθεσα στην εξερεύνηση της Επιστήμης βρισκόταν πάντα δίπλα μου, να με καθοδηγεί και να με παροτρύνει, ώστε να ανακαλύψω τις δυνατότητές και τις αντοχές μου.

Θερμό ευχαριστώ οφείλω παράλληλα, προς τη δρ. Χριστοθέα Ατσιπά, η οποία «ανέλαβε» να με εισαγάγει ξανά στον πανεπιστημιακό χώρο, μετά από αρκετά χρόνια απουσίας μου, όπως και για τις υποδείξεις της στη χρήση του φασματοφωτόμετρου FTIR. Ιδιαίτερα εύστοχες ήταν οι παρατηρήσεις της και οι συμβουλές της κατά τη συγγραφή των μεταπτυχιακών εργασιών μου.

Δεν παραλείπω να ευχαριστήσω τον Αναπληρωτή Καθηγητή κ. Ιωάννη Πασχαλίδη για τις επισημάνσεις και τις εύστοχες παρατηρήσεις του και τον δρ. Νίκο Αραμπατζή, του *Ερευνητικού Εργαστηρίου Ανόργανης Χημείας*, στον οποίο χρωστώ τα

πρώτα βήματά μου στο χειρισμό του φασματοφωτόμετρου NMR και στην επεξεργασία των φασμάτων.

Τέλος, επιθυμώ να ευχαριστήσω τους συναδέλφους μου στο Γενικό Χημείο του Κράτους και ιδιαίτερα τη διευθύντρια δρ. Πόπη Νικολαΐδου-Κανάρη και την Ανώτερη Χημικό, Μηλίτσα Χατζηγεωργίου, που μου έδωσαν την άδεια να χρησιμοποιήσω τη συσκευή εξάτμισης του εργαστηρίου Υπολειμμάτων Κτηνιατρικών Φαρμάκων μέσω της οποίας έγινε η συμπύκνωση των δειγμάτων με ροή αζώτου.

Τα χρόνια αυτά, εκτός από γνώσεις και εμπειρίες, απέκτησα και νέους φίλους τους οποίους ευχαριστώ γιατί ήταν εκεί στην αγωνία και τη χαρά μου· μία από αυτούς είναι η Αντωνία Παναγιώτου, της ομάδας Πορωδών Υλικών.

Αφήνω τελευταία την οικογένειά μου και τους γονείς μου για να εκφράσω ένα ελάχιστο δείγμα ευγνωμοσύνης για την υπομονή, την ανεκτικότητα που επέδειξαν, το κουράγιο και την ενθάρρυνση που μου προσέφεραν. Η θετική τους στάση και η αμέριστη συμπαράσταση καθώς και η παρότρυνση σε στιγμές κούρασης ήταν καθοριστική, ώστε να ολοκληρωθεί η έρευνα αυτή.

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η Κουμανδάρια είναι οίνος λικέρ κυπριακής καταγωγής. Η ιστορία του είναι πολύ παλιά, με αναφορές από τον Ησίοδο στα 734 π.Χ.. Το γλυκό κρασί της Κύπρου, έγινε γνωστό σε όλη την Ευρώπη ως *Κουμανδάρια* με μεγάλο οικονομικό ενδιαφέρον και το όνομά του συμβολίζει τη γεωγραφική του προέλευση, αφού παραγόταν στην περιοχή *Commanderie* της Λεμεσού.

Παράγεται από λιαστά σταφύλια (τοπικών ποικιλιών), ενδυναμώνεται με τη χρήση αλκοόλης, οινικής προέλευσης και παλαιώνει σε δρύινα βαρέλια με τη μέθοδο της *μάνας*. Η παραγωγή του γίνεται σε δεκατέσσερα χωριά της επαρχίας Λεμεσού. Είναι το πρώτο κυπριακό κρασί, το οποίο καθιερώθηκε ως κρασί ελεγχόμενης περιοχής προέλευσης, με Προστατευόμενη Ονομασία Προέλευσης στο πλαίσιο του νέου κανονισμού της Ε.Ε. (1429/2004), έτσι η παραγωγή του ρυθμίζεται και ελέγχεται βάση κανονισμών που εκδίδονται από το Υπουργικό Συμβούλιο.

Στόχος της διδακτορικής εργασίας είναι η ανάπτυξη μεθόδων προσδιορισμού ικανών να εντοπίσουν τα ιδιαίτερα χαρακτηριστικά ώστε να διακρίνουν το παραδοσιακό κρασί Κουμανδάρια από άλλα εγχώρια κόκκινα κρασιά αλλά και από γλυκά κρασιά άλλων χωρών, που παράγονται με παρόμοια διαδικασία (Vinsanto, Port, Madeira) και πιθανόν να έχουν κοινά συστατικά.

Για το χαρακτηρισμό της Κουμανδαρίας λήφθηκαν φάσματα με τη χρήση Φασματοσκοπίας Υπερύθρου με Μετασχηματισμό Fourier, FTIR και Φασματοσκοπίας Πυρηνικού Μαγνητικού Συντονισμού, $^1\text{H-NMR}$ σε συμπυκνωμένα δείγματα. Η συμπύκνωση των δειγμάτων έγινε με δύο τεχνικές: *λυοφιλίωση* και *ροή αζώτου*.

Η χημειομετρική ανάλυση των πειραματικών αποτελεσμάτων των φασματοσκοπικών δεδομένων των συμπυκνωμένων δειγμάτων είναι το κλειδί στην εξαγωγή πολύτιμων συμπερασμάτων για διάκριση της Κουμανδαρίας. Με τη βοήθεια του στατιστικού προγράμματος WinDAS έγινε Ανάλυση Κύριας Συνιστώσας (PCA) και η Γραμμική Διακριτική Ανάλυση (LDA), ενώ με το στατιστικό πρόγραμμα SCAN έγινε Ομαλοποιημένη Διακριτική Ανάλυση (RDA), Ιεραρχική Ανάλυση κατά Συστάδες (HCA) και ακολούθως, με τη βοήθεια των Δένδρων Ταξινόμησης και Παλινδρόμησης (CART) τα δείγματα ταξινομηθήκαν σε ομάδες.

Με τη βοήθεια της 2^{ης} κύριας συνιστώσας κατά την Ανάλυση των Κυρίων Συνιστωσών στα φάσματα FTIR των συμπυκνωμένων δειγμάτων με την τεχνική της *λνοφιλιώσης*, η ομάδα των Κουμανδαριών αποτελεί ξεχωριστή ομάδα με επιτυχία αφού το αθροιστικό ποσοστό διακύμανσης είναι 88.7% σε ολόκληρη την περιοχή φάσματος και στα φάσματα FTIR των συμπυκνωμένων μετά από *ροή αζώτου*, η 1^η κύρια συνιστώσα ταξινόμησε επιτυχώς την ομάδα των Κουμανδαριών σε ξεχωριστή ομάδα με ποσοστό διακύμανσης 85.0% σε ολόκληρη την περιοχή φάσματος και με κύριο χαρακτηριστικό διάκρισης την ομάδα των σακχάρων.

Η χημειομετρική επεξεργασία των φασμάτων Πυρηνικού Μαγνητικού Συντονισμού (¹H-NMR) δεν έφτασε την επιτυχία των φασμάτων Υπερύθρου (FTIR). Χρειάστηκαν τρεις κύριες συνιστώσες σε περιοχή 0-6 ppm για να δώσουν αθροιστικό ποσοστό διακύμανσης, στις *λνοφιλιωμένες* Κουμανδαρίες 78.5% και 83.0% στις Κουμανδαρίες μετά από *ροή αζώτου*.

Το στατιστικό πρόγραμμα SCAN διέκρινε ως καλύτερη τεχνική συμπίκνωσης των δειγμάτων τη *ροή αζώτου* αφού κατά τη δόμηση του μοντέλου με Δένδρα Ταξινόμησης και Παλινδρόμησης (CART) το ποσοστό ορθής πρόβλεψης ήταν 100.0% για την ομάδα των Κουμανδαριών και 88.9% για την ομάδα των Κουμανδαριών του εμπορίου, ενώ τα ποσοστά κατά τη διασταυρωτική επιβεβαίωση (cross-validation) του μοντέλου ήταν 72.0% και 77.8%, αντίστοιχα. Με τη βοήθεια της Ομαλοποιημένης Διακριτικής Ανάλυσης (RDA) η δόμηση του μοντέλου είχε ποσοστό ορθής πρόβλεψης 92.0% για την ομάδα των Κουμανδαριών και 88.9% για την ομάδα των Κουμανδαριών του εμπορίου, ενώ τα ποσοστά κατά την διασταυρωτική επιβεβαίωση (cross-validation) του μοντέλου ήταν 80.0% και 55.6%, αντίστοιχα.

Η χημειομετρική μελέτη των φασμάτων Υπερύθρου (FTIR) έδωσε καλύτερα αποτελέσματα διάκρισης της Κουμανδαρίας από τα άλλα κρασιά (κυπριακά και ξένα) σε σχέση με τα φάσματα Πυρηνικού Μαγνητικού Συντονισμού (¹H-NMR) σε συμπυκνωμένα δείγματα. Η τεχνική συμπίκνωσης των δειγμάτων με *ροή αζώτου* υπερέχει στην περίπτωση αυτή της *λνοφιλιώσης*.

ABSTRACT

Commandaria is a liqueur wine, which has originated in Cyprus. Its origin is very old, with references from Isiodos in 734 B.C. The sweet wine of Cyprus became known throughout Europe as *Commandaria* with a significant economic interest in. Its name symbolizes its geographical origin, since it is produced in the region *Commanderie* in the district of Limassol.

Commandaria is exclusively produced by the fermenting of sun-dried grapes (exclusively local varieties), and the addition of wine alcohol to a precise alcoholic strength. Then Commandaria is aged in oak barrels with the method of *mana*, in order to develop its unique flavor and taste. The production of Commandaria is carried out in the specific area of 14 villages on the foothills of the Troodos mountains. It is the first Cyprus wine which was patented as wine of Controlled Originated Area, with a Protected Designation of origin under the new regulation of E.E. (1429/2004), so the production of Commandaria is regulated and controlled by regulations issued by the Cabinet Council (Council of Ministers).

The aim of this doctoral work is the development of methods, capable for determining and identifying the specific characteristics of the traditional wine, Commandaria that distinguishes it from other domestic red wines but also from other sweet wines of other countries, produced through similar processes (Vinsanto, Port, Madeira) that may have common ingredients.

For the differentiation and uniqueness of Commandaria, a lot of spectra were taken using Infrared Spectroscopy with Fourier Transform (FTIR) and Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy ($^1\text{H-NMR}$) in concentrated samples. The concentration of the samples was done by two techniques: lyophilization (freeze-drying) and nitrogen flow.

The statistical analysis of experimental results of spectroscopic data of the concentrated sample is very important for the distinction of Commandaria. The spectra were analyzed statistically with WinDAS using multivariate chemometric techniques, involving Principal Component Analysis (PCA) and Linear Discriminant Analysis (LDA). Also the statistical program SCAN involving Regularized Discriminant Analysis (RDA), Hierarchical Cluster Analysis (HCA) and Classification and Regression trees (CART) was used to classify samples into groups.

The Principal Component Analysis in FTIR spectra has discriminated *freeze-drying Commandaria* in separate group using PC2, with covariance accounting to 88.7%, in the region 400-4000 cm^{-1} . On the other hand, the FTIR spectra of the concentrated samples with the *nitrogen flow* technique, has discriminated the group of Commandaria in a separate group using only PC1, with covariance accounting to 85.0 %, in the same region, with the group of Sugars to be the main characteristic.

The statistical program SCAN singled out the *nitrogen flow* method as the best method for the technical concentration of the samples, since in the structuring of the model with Classification and Regression Trees (CART), the correct recognition for the group of Commandaria was 100% and for the group of commercial wines type Commandaria was 88.9%, while the correct prediction in cross-validation class assignments was 72.0% and 77.8 % respectively.

In addition, using Regularized Discriminant Analysis (RDA) method, the correct recognition of Commandaria samples was highly satisfactory at 92.0% and 88.9% for commercial Commandaria samples, while the correct prediction in cross-validation class assignments was 80.0% and 55.6%, respectively.

The Principal Component Analysis in Nuclear Magnetic Resonance spectra ($^1\text{H-NMR}$) didn't reach the same good results as those of Infrared spectra (FTIR). Three principal components were used in the area of 0-6ppm in order to give covariance of 78.5% for *freeze-drying Commandaria* samples and 83.0% for concentrate Commandaria samples via *nitrogen flow*.

The chemometric study of Infrared spectra (FTIR) gave better results for the discrimination - in concentrated samples - of Commandaria than other wine (Cypriot and foreign) compared with the Nuclear Magnetic Resonance spectra ($^1\text{H-NMR}$). The technique of concentrate samples with *nitrogen flow* prevails in case of *freeze drying*.

1. Εισαγωγή

1.1 Ιστορική αναδρομή

Το νησί της Κύπρου με επιφάνεια 9.250 τετραγωνικών χιλιομέτρων και πληθυσμό μόλις 750.000 κατοίκους θα μπορούσε να χαρακτηριστεί ως η πιο αντιπροσωπευτική αμπελουργική χώρα στον κόσμο, αφού η καλλιεργήσιμη έκταση αμπελιών όλων των ειδών είναι περίπου 143.000 δεκαρίων [1-3]. Στην Κύπρο η καλλιέργεια αμπελώνων και η παραγωγή κρασιού ανάγεται στα πανάρχαια χρόνια, καθώς μαρτυρείται από αρχαιολογικά ευρήματα, διάφορες επιγραφικές μαρτυρίες και αναφορές γεωγράφων και φιλοσόφων της αρχαιότητας. Και αυτό επειδή το νησί είναι ιδανικός τόπος ανάπτυξης του αμπελιού, αφού το φυτό προτιμά τα θερμά και ξηρά κλίματα [1-3]. Το κρασί είναι βαθιά συνδεδεμένο με την ελληνοκυπριακή παράδοση, τα ήθη και έθιμα του νησιού αλλά και την ιστορία του λαού της Κύπρου. Το καλό κρασί φυλαγόταν για τα πιο σημαντικά γεγονότα της οικογένειας, το γάμο, τη γέννηση αλλά και το θάνατο. Κρασί επίσης χρησιμοποιείται και σε θρησκευτικές τελετουργίες και έθιμα. Η Εκκλησία της Κύπρου στο μυστήριο της Θείας Κοινωνίας προσφέρει στους χριστιανούς Κουμανδαρία (Νάμα) [1-3].

Ο Όμηρος, που έζησε τον 8^ο αιώνα π.Χ. αναφέρει και υμνεί στα Έπη του τα κρασιά της Κύπρου αλλά και άλλοι αρχαίοι συγγραφείς όπως ο Στράβων, ο Συνέσιος και ο Πλίνιος εξυμνούν την ποιότητα των κυπριακών κρασιών. Επιπλέον, το κυπριακό κρασί κοσμούσε και τα συμπόσια των Φαραώ και των άλλων βασιλιάδων της Μεσογείου [4,5]. Κατά τη Βυζαντινή περίοδο, το νησί δέχθηκε επιθέσεις Αράβων και για το λόγο αυτό ελάχιστες αναφορές για το κρασί υπάρχουν.

Η αξία της Κουμανδαρίας αναδεικνύεται όταν εγκαθίστανται στο νησί οι Ιωαννίτες Ιππότες. Το 12^ο αιώνα ο Ριχάρδος ο Λεοντόκαρδος, πλέοντας για τους Αγίους Τόπους μαζί με τον Φίλιππο της Γαλλίας κατά την Γ΄ Σταυροφορία, λόγω μεγάλης κακοκαιρίας βρίσκει καταφύγιο στη Λεμεσό. Δεν αργεί να έρθει σε ρήξη με τον Ισαάκιο Κομνηνό, βασιλιά της Κύπρου και το 1191 γίνεται ο πρώτος Άγγλος κατακτητής του νησιού.



Σχήμα 1.1: Γραμματόσημο του 1964

Αφού παντρεύτηκε τη Βερεγγάρια, φεύγει από το νησί παίρνοντας μαζί του όλο τον πλούτο του νησιού τον οποίο και πουλάει στους Ναΐτες (Templiers), ένα εκκλησιαστικό ιπποτικό τάγμα που είχε ιδρυθεί το 1118 από Φράγκους Σταυροφόρους με σκοπό την ένοπλη υπεράσπιση του Αγίου Τάφου από τους Σαρακηνούς του Σαλαδίνου.

Οι Ναΐτες διαπίστωσαν γρήγορα ότι δεν ήταν δυνατόν να κρατήσουν υπό την εξουσία τους την Κύπρο, γι' αυτό ακύρωσαν τη συμφωνία και αποχώρησαν. Έτσι, ο Ριχάρδος εκχώρησε το νησί στον Γάλλο Guy de Lusignan, έκπτωτο βασιλιά της Ιερουσαλήμ", ο οποίος έγινε γενάρχης μιας δυναστείας που βασίλευε στην Κύπρο επί τρεις αιώνες (1192-1489). Το 1192 είναι η απαρχή μιας νέας περιόδου της πολιτικής και κοινωνικής ιστορίας της Κύπρου που, σε συνδυασμό με τη βενετική κυριαρχία (1489-1570), αποτελούν την περίοδο της Φραγκοκρατίας.

Επί βασιλείας των Λουζινιανών εγκαταστάθηκαν στο νησί έποικοι, κυρίως καθολικοί σταυροφορικής προέλευσης, στους οποίους δόθηκαν εκτάσεις και προνόμια, ώστε να δομηθεί το φεουδαρχικό βασίλειο. Μεταξύ αυτών ήταν και οι Ιωαννίτες Ιππότες, το εκκλησιαστικό πολεμικό τάγμα του Αγίου Ιωάννη του Βαπτιστή της Ιερουσαλήμ, που είχε ιδρυθεί στα τέλη του 6^{ου} αιώνα από τον Πάπα Γρηγόριο. Το τάγμα αυτό είχε τη στρατιωτική διοίκηση του *Commanderie* ή *Commandaria* σε ένα κάστρο δυτικά της Λεμεσού, γνωστό σήμερα ως *Πύργος Κολοσσίου*. Γύρω από το κάστρο, απλωνόταν μια μεγάλη και εύφορη περιοχή που περιλάμβανε εκτεταμένες φυτείες από σιτάρι, βαμβάκι, ζαχαροκάλαμο και αμπέλια.

Η τεράστια περιουσία των Ιωαννιτών στην Κύπρο διοικητικά ήταν χωρισμένη σε τρεις περιφέρειες με αντίστοιχες διοικήσεις «κομμανταρίες» και ο διοικητής της κάθε περιφέρειας ονομαζόταν *κομμαντατόρ*. Οι τρεις κομμανταρίες της Κύπρου ήταν: α) η *La Grande Commanderie* με έδρα το κάστρο του Κολοσσίου της Λεμεσού β) η *Κομμανταρία του Φοίνικα* με έδρα το χωριό Φοίνικας της Πάφου και γ) η *Κομμανταρία του Τέμπλους* με έδρα το χωριό Τέμπλος της Κερύνειας. Στην περιοχή *La Grande Commanderie* οφείλει το όνομά της η Κουμανδαρία. Αυτό που δεν είναι γνωστό αφορά τις ποικιλίες των κρασιών που χρησιμοποιούσαν για την παρασκευή της Κουμανδαρίας την εποχή εκείνη [1-7]. Οι Ιωαννίτες Ιππότες, οι οποίοι κατείχαν τα μυστικά του καλού κρασιού αλλά και την τέχνη της παραγωγής του, ανέδειξαν και τελειοποίησαν την Κουμανδαρία, προωθώντας το εμπόριό της στα σημαντικότερα εμπορικά κέντρα της Μεσογείου (Γένοβα, Τριέστη, Κωνσταντινούπολη, Σμύρνη, Συρία, Αίγυπτο). Στη Βενετία για παράδειγμα, η Κουμανδαρία απαλλασσόταν από τον εισαγωγικό δασμό, γιατί θεωρείτο τονωτικό ποτό, ενώ στη Βιέννη απαγορευόταν, για τον ίδιο λόγο, η πόση της εν ώρα δουλειάς [1,3-7].

Τέτοια ήταν η φήμη που απέκτησε η Κουμανδαρία, που ώθησε τους Πορτογάλους εμπόρους της εποχής να μεταφέρουν μοσχεύματα κυπριακών ποικιλιών στα νησιά Madeira, όπου τα φύτεψαν, και αφού αυτά ευδοκίμησαν και καρποφόρησαν έδωσαν το γλυκό και πολύ γνωστό σήμερα κρασί Madeira.

Κατά την περίοδο της Τουρκοκρατίας 1571-1878, οι οινοβιομηχανίες είχαν μια κατακόρυφη πτώση της παραγωγής λόγω της υψηλής φορολογίας των κρασιών, η Κουμανδαρία όμως, διατήρησε αναλλοίωτα τα χαρακτηριστικά της, την περιοχή προέλευσής της αλλά και τη μέθοδο παρασκευής της.

Το εξαγωγικό εμπόριο των κυπριακών κρασιών αυξήθηκε περισσότερο κατά την περίοδο της Αγγλοκρατίας 1878-1960. Το 1950 τέθηκαν σε εφαρμογή τα προστατευτικά μέτρα, της ονομασίας των κρασιών, με το αποικιακό νομοθέτημα περί *appellation protection law* και έτσι, δημιουργήθηκαν κίνητρα για εμπορία της Κουμανδαρίας σε επαγγελματικό επίπεδο. Οι οινοπαραγωγοί σύναψαν μακρόχρονες συμφωνίες με τις οινοβιομηχανίες και η παραγωγή Κουμανδαρίας αυξήθηκε 10 φορές από το 1951 έως το 1961. Η Κουμανδαρία αποκτά φήμη ανάμεσα στα *επιδόρπια* κρασιά, όταν σερβίρεται σε καλοφαγάδες και σε ξακουσμένους λογίους, στο Παρίσι. Αιτία είναι η καταστροφή πολλών αμπελώνων στη Γαλλία και σε άλλες ευρωπαϊκές πόλεις από φυλλοξήρα [3].

Η συστηματική βελτίωση της παραγωγής της Κουμανδαρίας μεγαλώνει με μικρές διακυμάνσεις με την εγκαθίδρυση της Κυπριακής Δημοκρατίας. Μεγάλη πτώση παρατηρείται κατά την περίοδο 1973-1974, λόγω της μεγάλης ανομβρίας αλλά και της Τουρκικής εισβολής στο νησί [3-7].

1.2 Νομοθετικό πλαίσιο

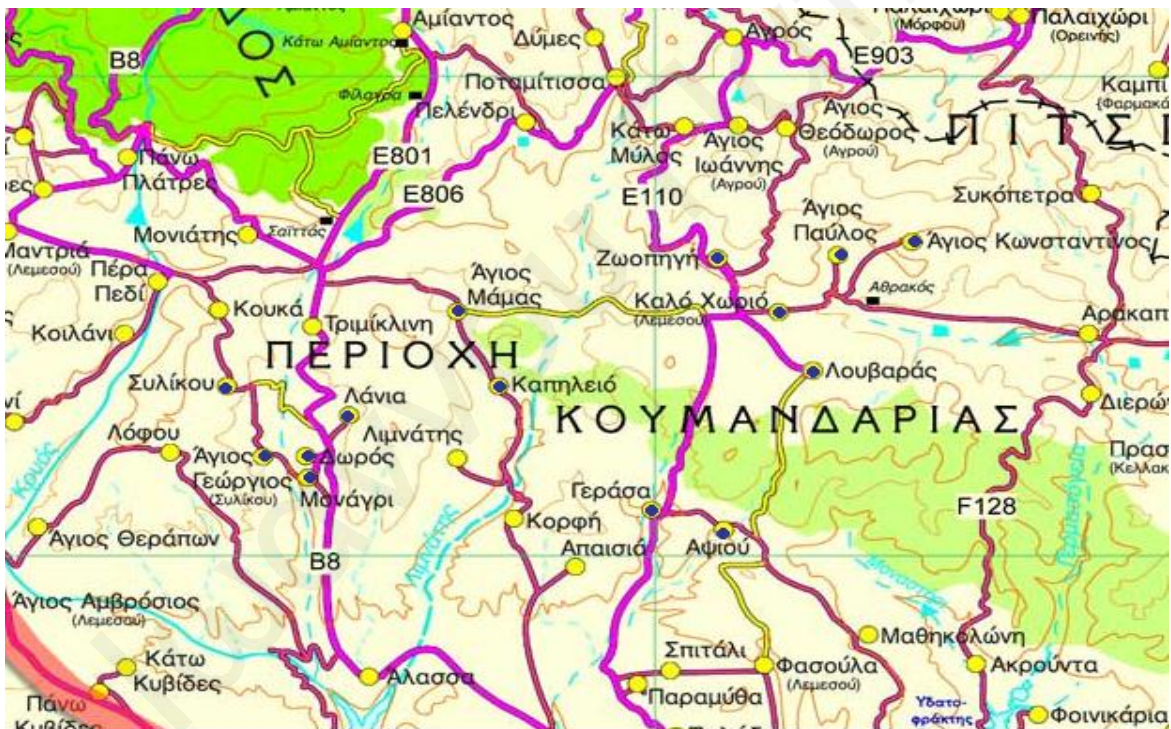
Η παραγωγή της Κουμανδαρίας, του μοναδικού οίνου ελεγχόμενης ονομασίας προέλευσης που διαθέτει σήμερα η Κύπρος, ρυθμίστηκε με νομοθεσία από το 1973 με τους περί Ρυθμίσεως και Ελέγχου της Βιομηχανίας Αμπελουργικών Προϊόντων- Ονομασία Προελεύσεως Οίνων, Κανονισμούς του 1973 (Κ.Δ.Π. 196/73). Το 1990 το Υπουργικό Συμβούλιο εξέδωσε διάταγμα (Κ.Δ.Π. 41/90) που καθόριζε την περιοχή της Κουμανδαρίας, τις προϋποθέσεις και τα κριτήρια παραγωγής του οίνου [8-10].

Το διάταγμα αυτό καταργήθηκε με την έκδοση του νέου διατάγματος από τον Υπουργό Γεωργίας, Φυσικών Πόρων και Περιβάλλοντος, *Των Περί Συμβουλίου Αμπελοοινικών Προϊόντων Νόμων του 2004* (Κ.Δ.Π. 214/2005).

Είναι το πρώτο κυπριακό κρασί που καθιερώθηκε ως κρασί ελεγχόμενης περιοχής προέλευσης με Προστατευόμενη Ονομασία Προέλευσης και οριοθετείται γεωγραφικά στις

ακόλουθες 14 κοινότητες της επαρχίας Λεμεσού (σχήμα 1.2) που αποτελούν την περιοχή της Κουμανδαρίας: Άγιος Γεώργιος, Άγιος Κωνσταντίνος, Άγιος Μάμας, Άγιος Παύλος, Αψιού, Γεράσα, Δωρός, Ζωοπηγή, Καλό Χωριό, Καπηλιό, Λάνια, Λουβαράς, Μονάγρι και Συλικού. Με υψόμετρο που κυμαίνεται από 350 μέχρι 1250 μέτρα, η έκταση του αμπελώνα είναι σήμερα περίπου 9.000 στρέμματα και η ποικιλιακή του σύνθεση είναι οι δύο πιο διαδεδομένες γηγενείς ποικιλίες: η ερυθρή, το ντόπιο μαύρο και η λευκή, το Ξυνιστέρη [8-10].

Η Κουμανδαρία έχει πλήρη κατοχύρωση με τον Κοινοτικό Κανονισμό της Ε.Ε.(1429/2004) ως Οίνος Ελεγχόμενης Ονομασίας Προέλευσης (Ο.Ε.Ο.Π.) η οποία μπορεί να επισημαίνεται χωρίς τη συνοδεία της ένδειξης ονομασίας προέλευσης. Η κατοχύρωση αυτή επεκτείνεται στις Ηνωμένες Πολιτείες, τον Καναδά και άλλες χώρες που διατηρούν διμερείς συμφωνίες με την Ευρωπαϊκή Ένωση [8].



Σχήμα 1.2: Περιοχή Κουμανδαρίας, επαρχία Λεμεσού

1.3 Παρασκευή Κουμανδαρίας

Ο Ησίοδος γύρω στα 734 π.Χ. (8^{ος} αιώνας π.Χ.) στο βιβλίο του «Έργα και Ημέρες» (στίχοι 609-617) αναφέρεται στον τρόπο παρασκευής του κυπριακού κρασιού της εποχής εκείνης: «Όταν ο Ωρίωνας και ο Σείριος φτάσουν στη μέση τ' ουρανού και τον Αρκτούρο κοιτάζει η ροδοδάκτυλη Ηώς, Πέρση, τότε τρύγα και φέρε στο σπίτι όλα τα σταφύλια. Δείξ' τα στον ήλιο δέκα μέρες και δέκα νύχτες, πέντε μέρες στη σκιά και την έκτη άδειασέ τα σε

αγγεία τα δώρα του πολυεύφραντου Διονύσου». Η μέθοδος αυτή δε διαφέρει πολύ από την παρασκευή της Κουμανδαρίας σήμερα. Επίσης παρόμοια μέθοδο παραγωγής της Κουμανδαρίας κατά τον Μεσαίωνα περιγράφει ο Estienne de Lusignan, το 1580 στο βιβλίο του *Περιγραφή της νήσου Κύπρου* [1,3-7].

Αρχικά η Κουμανδαρία παραγόταν μεμονωμένα ή με τη συμμετοχή δύο-τριών αμπελουργών της ίδιας κοινότητας. Με την εμφάνιση και την ανάπτυξη του Συνεργατισμού (1920-1925) η διαδικασία παραγωγής τέθηκε κάτω από Συνεργατικές Οινοποιητικές Εταιρείες [8]. Τα χωριά αυτά βρίσκονται σε ορεινές και ημιορεινές περιοχές της Πιτσιλιάς, στις νότιες προσβάσεις του Τροόδους σε υψόμετρο 1000 μέτρων πάνω από τη θάλασσα. Οι περιοχές αυτές έχουν ασβεστούχα εδάφη, περιορισμένη βροχόπτωση και ξηρές συνθήκες, αφού οι αμπελώνες ποτίζονται μόνο από τη βροχή [1,4]. Οι κλιματικές συνθήκες της υψηλής ηλιοφάνειας, της μειωμένης υγρασίας κατά τους θερινούς μήνες σε συνδυασμό με το υψόμετρο, το έδαφος και τον ιδιαίτερο τρόπο επεξεργασίας των σταφυλιών, προσδίδουν στην Κουμανδαρία ιδιαίτερη γεύση και ξεχωριστό άρωμα [4].

Η Κουμανδαρία παράγεται, όπως προαναφέρθηκε, από δύο παραδοσιακές τοπικές ποικιλίες σταφυλιών το *Ντόπιο Μαύρο* και το *Ξυνιστέρι* ή *Ξενιστέρι* (λευκό) ενώ οι αμπελώνες πρέπει να είναι ηλικίας τεσσάρων ετών και άνω. Νομοθετικά επίσης καθορίζεται η μέγιστη απόδοση των αμπελιών ανά στρέμμα σε 450 κιλά ή 1,7εκατόλιτρων οίνου [9,10].

Τα σταφύλια παραμένουν στο αμπέλι μέχρι να υπερωριμάσουν, για τα άσπρα μέχρι 13Baume και για τα μαύρα 14Baume. Μετά τον τρύγο, τα σταφύλια απλώνονται στον ήλιο, πάνω σε λινάτσες, ώστε μεγάλο μέρος της περιεκτικότητάς τους σε νερό να εξατμιστεί και η περιεκτικότητά τους σε σάκχαρα να φτάσει στα 19-23Baume. Αυτή η διαδικασία διαρκεί περίπου 10 ημέρες και στο στάδιο αυτό δημιουργούνται οι αρωματικές ενώσεις. Το νομικό πλαίσιο καθορίζει επίσης ότι η εξαγωγή του χυμού γίνεται με τη χρήση πιεστηρίων συνεχούς λειτουργίας. Ο χυμός οδηγείται στις δεξαμενές ζύμωσης. Λόγω της υψηλής περιεκτικότητας σε σάκχαρα η ζύμωση διαρκεί περίπου δύο έως τρεις μήνες. Το κρασί που παράγεται στο τέλος της ζύμωσης έχει αλκοολικό τίτλο 10% vol και 13Baume, γιατί οι μύκητες δεν έχουν τη δύναμη να ζυμώσουν περισσότερα σάκχαρα. Γι' αυτό επιτρέπεται η ενδυνάμωση με οινική αλκοόλη 95-96% vol ή με απόσταγμα οίνου 70-80% vol και καθορίζεται ότι η ενδυνάμωση γίνεται πριν την παλαίωση [9,10].

Κατόπιν αποθηκεύεται σε δρύινα βαρέλια για παλαίωση, με ελάχιστη περίοδο ωρίμανσης δύο ετών. Ουσιαστικά, η παλαίωση σε βαρέλια γίνεται παραδοσιακά με το σύστημα της *μάνας*, δηλαδή δεν αδειάζουν ποτέ τα βαρέλια, αλλά γίνονται αναμιξείς πολύ πεπαλαιωμένης Κουμανδαρίας με λιγότερο πεπαλαιωμένη [1,2]. Η παλαίωση είναι το

τελευταίο και σημαντικότερο στάδιο δημιουργίας των αρωματικών ουσιών που βασίζονται σε αντιδράσεις οξείδωσης που λαμβάνουν χώρα μέσα στο ξύλινο βαρέλι. Μετά τα δύο χρόνια το κρασί τυποποιείται και εμφιαλώνεται. Η Κουμανδαρία ως τελικό προϊόν έχει αλκοολικό τίτλο 15% vol και 8-10Baume [9,10].

1.4 Αυθεντικότητα τροφίμων και ποτών

Αυθεντικό είναι το προϊόν που ανταποκρίνεται πλήρως στην περιγραφή που του παρέχεται από τον παραγωγό ή τον επεξεργαστή. Σημαντικές πτυχές της εν λόγω περιγραφής μπορεί να σχετίζονται με τη διαδικασία παραγωγής ενός προϊόντος (π.χ. νωπού κρέατος, σε αντίθεση με το κρέας που έχει καταψυχθεί και αποψυχθεί στη συνέχεια) τη γεωγραφική προέλευση (π.χ. ελληνικό ελαιόλαδο πρέπει να παράγεται μόνο από ελιές που καλλιεργούνται στην Ελλάδα) το είδος ή την ποικιλία των συστατικών (στιγμαίος καφές με επισήμανση ως 100% Arabica, δεν πρέπει να περιέχει κάθε άλλη ποικιλία κόκκων καφέ, προϊόντα που φέρουν σήμανση βοδινού κρέατος κατά 100% δεν πρέπει να περιέχουν κρέας που προέρχεται από οποιαδήποτε άλλα είδη ζώων) [11-12].

Η αυθεντικότητα των τροφίμων και ειδικότερα του κρασιού έχει ερευνηθεί εκτενώς. Το κρασί μπορεί εύκολα να νοθευθεί λόγω της ισχυρής χημικής του βάσης (υψηλή περιεκτικότητα σε αλκοόλ, χαμηλό pH) και της μεγάλης διαθεσιμότητάς του σε ολόκληρο τον κόσμο [13]. Σχολαστικοί και συνεχείς έλεγχοι απαιτούνται για τη διατήρηση της ποιότητας του κρασιού. Η αυθεντικότητα του κρασιού διασφαλίζεται με αυστηρές κατευθυντήριες γραμμές που καθορίζονται από τις αρμόδιες εθνικές αρχές (π.χ. Institut National des Appellations d' Origine στη Γαλλία) τα οποία περιλαμβάνουν επίσημη οργανοληπτική εξέταση, χημικές αναλύσεις και εξέταση του μητρώου που τηρείται από τον παραγωγό κρασιού. Επίσης είναι ελεγχόμενη η διακίνηση του κρασιού *χύμα* σε εμπορευματοκιβώτια, μέσα στην Ευρωπαϊκή Κοινότητα, από έγγραφα που απαιτούνται για τη μεταφορά αυτή αλλά και πιστοποιητικά που βεβαιώνουν την αυθεντικότητα βάση της ευρωπαϊκής οδηγίας [13,14].

Η τιμή των καλών κρασιών ποιότητας βασίζεται συχνά σε μεγάλο βαθμό στην περιοχή από την οποία προέρχονται και το ίδιο ισχύει και για τα τυριά, τα αλλαντικά, το ελαιόλαδο και άλλα προϊόντα. Η ευρωπαϊκή νομοθεσία (2010/C 341/03) βρίσκει εφαρμογή στην προστασία των γεωγραφικών ενδείξεων και των ονομασιών προέλευσης των γεωργικών προϊόντων των τροφίμων και ποτών [15].

Οι καταναλωτές σε όλο τον κόσμο απαιτούν διαρκώς περισσότερη ενημέρωση και διαβεβαιώσεις σχετικά με την προέλευση και το περιεχόμενο της διατροφής τους. Η

διαδικασία η οποία επαληθεύει ότι το τρόφιμο συμμορφώνεται με την ετικέτα του, καλείται *αυθεντικότητα* των τροφίμων. Επιπλέον, οι κατασκευαστές τροφίμων πρέπει να παρέχουν, αλλά και να επιβεβαιώνουν την αυθεντικότητα ως προς το σημείο προέλευσης των προϊόντων διατροφής και των συστατικών τους. Οι αυξημένες απαιτήσεις έρχονται εν μέσω νομοθετικών και κανονιστικών διαδικασιών αυξάνοντας έτσι, την πολυπλοκότητα και το επίπεδο των κανονιστικών ρυθμίσεων που επιβάλλονται στην προμήθεια τροφίμων και ποτών σε παγκόσμιο επίπεδο. Η προστασία των δικαιωμάτων των καταναλωτών και η πρόληψη της απάτης ή των δόλιων πρακτικών, όπως η νοθεία τροφίμων και ποτών, είναι από τα πιο δύσκολα θέματα που αντιμετωπίζει η βιομηχανία τροφίμων [12,16].

1.5 Μεθοδολογία για τον καθορισμό της αυθεντικότητας τροφίμων και ποτών

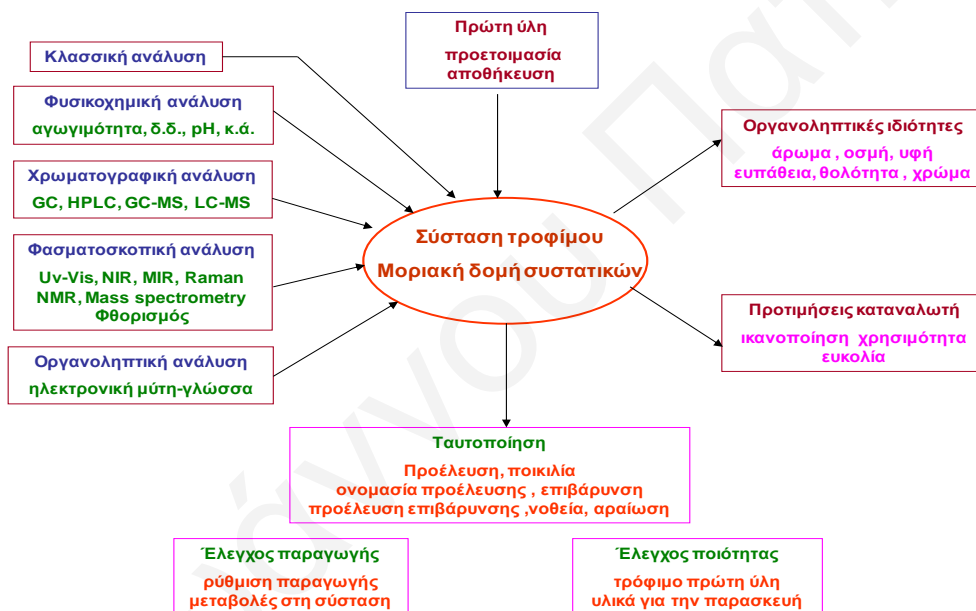
Η ανάπτυξη νέων και πιο εξελιγμένων τεχνικών για την εξακρίβωση της γνησιότητας των προϊόντων διατροφής συνεχίζεται με γοργούς ρυθμούς με την αυξανόμενη ευαισθητοποίηση των καταναλωτών σε θέματα ασφάλειας και αυθεντικότητας/ γνησιότητας τροφίμων. Η αυθεντικότητα των τροφίμων προκαλεί επίσης, ανησυχία και στους κατασκευαστές τροφίμων που δεν επιθυμούν να υποβληθούν σε αθέμιτο ανταγωνισμό με αδίστακτους κατασκευαστές, οι οποίοι θα αποκτήσουν οικονομικό πλεονέκτημα από την παραπλανητική παρουσίαση των τροφίμων που πωλούν [17]. Αρχικά, εξετάστηκαν μεταποιημένα γεωργικά προϊόντα, όπως κρασί, μέλι, τσάι, ελαιόλαδο και χυμός πορτοκαλιού, ενώ αργότερα μελέτες εξέτασαν τα νωπά προϊόντα, όπως πατάτες, κρεμμύδια, φιστίκια, και σκόρδο, κυρίως επειδή σε παγκόσμιο επίπεδο οι συναλλαγές των νωπών γεωργικών προϊόντων έχει αυξηθεί από έτος σε έτος και ο νόμος επιβάλλει τώρα την επισήμανση της γεωγραφικής τους προέλευσης [18]. Τα δικαιώματα των καταναλωτών και των πραγματικών παρασκευαστών τροφίμων, τα θέματα νοθείας των τροφίμων και οι δόλιες ή παραπλανητικές πρακτικές στον τομέα της μεταποίησης των τροφίμων έχουν τεθεί σε πρόσφατο κανονισμό της Ευρωπαϊκής Ένωσης.

Για να εξασφαλιστεί η αυθεντικότητα/ γνησιότητα των τροφίμων και ποτών, απαιτείται η χρήση πολύ εξελιγμένων τεχνικών ανάλυσης, καθώς οι δράστες αυτής της απάτης χρησιμοποιούν μεθόδους νοθείας και ψευδείς δηλώσεις, που είναι όλο και πιο δύσκολο να ανιχνευθούν. Οι κυριότερες τεχνικές, που έχουν εφαρμοστεί επιτυχώς στον έλεγχο ταυτότητας των τροφίμων από το 2001 είναι η Φασματοσκοπία UV, NIR, MIR, ορατού και Raman, η Ανάλυση Ισοτόπων, η Χρωματογραφία, η Ηλεκτρονική Μύτη, η Αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης, Ένζυμο- ανοσοαπορροφητικός προσδιορισμός και Θερμική Ανάλυση [17]. Επιπλέον, οι σχετικές απαιτήσεις των χημειομετρικών τεχνικών

έχουν αναθεωρηθεί. Η χημειομετρική επεξεργασία των στοιχείων ενός δείγματος έχει τη δυνατότητα να προσδιορίσει περισσότερα από ένα στοιχεία για ένα δείγμα και έτσι μπορεί να ενισχύσει την προέλευση του δείγματος. Εάν τα στοιχεία αυτά (συνιστώσες) έχουν επαρκή διακριτική ικανότητα, τότε το σύνολο των συγκεντρώσεών τους θα αποτελεί ένα χαρακτηριστικό μοτίβο, ένα *δακτυλικό αποτύπωμα* σχετικά με τη γεωγραφική προέλευση του δείγματος (τροφίμου ή ποτού) [18,19].

Στο σχήμα 1.3 δίνονται οι τεχνικές που μπορούν να εφαρμοστούν στον καθορισμό της αυθεντικότητας των τροφίμων και ποτών.

Στην επιλογή της τεχνικής πρέπει συμπεριληφθεί η προετοιμασία του δείγματος, η απόδοση της μεθόδου, τα όρια ανίχνευσής της. Ταυτόχρονα η ανάλυση πρέπει να είναι γρήγορη, μη καταστροφική αλλά και όσο γίνεται, πιο ανέξοδη.



Σχήμα 1.3: Αναλυτικές τεχνικές για τον καθορισμό της σύστασης και της αυθεντικότητας/ γνησιότητας τροφίμων και ποτών

1.6 Μεθοδολογία για το χαρακτηρισμό και τον καθορισμό της αυθεντικότητας Κουμανδαρίας

Η Κουμανδαρία μελετήθηκε στο πλαίσιο του τριετούς προγράμματος «ΥΓΕΙΑ/0603/11» (2005-2007) με ανάδοχο φορέα το Γενικό Χημείο του Κράτους (Εργαστήρια NMR και Πρόσθετων Ουσιών και Ειδικών Αναλύσεων Τροφίμων) και συνεργαζόμενους φορείς: την ομάδα Πορωδών Υλικών, Τμήματος Χημείας του Πανεπιστημίου Κύπρου, τον Κλάδο Αμπελουργίας- Οινολογίας και το Υπουργείο Γεωργίας [21-24].

Σκοπός του προγράμματος ήταν η μελέτη της αυθεντικότητας της Κουμανδαρίας και ο καθορισμός της τυπικής της σύστασης, με σκοπό τη διατύπωση πρότασης για κατοχύρωσή της, τον έλεγχο του προϊόντος και τη σταθεροποίηση της αγοράς για την τόνωση των παραγωγών.

Στα 239 δείγματα (Κουμανδαρίες ενδυναμωμένες με αλκοόλη οινικής προέλευσης, μη ενδυναμωμένες, παλαιωμένες κάτω από ελεγχόμενες συνθήκες, ελλαδικούς οίνους από λιαστά σταφύλια και γλυκούς οίνους από ευρωπαϊκές και τρίτες χώρες) προσδιορίστηκαν διάφορες φυσικοχημικές, χημικές και φασματοσκοπικές παράμετροι, με σκοπό τον εντοπισμό των ιδιαίτερων χαρακτηριστικών της Κουμανδαρίας. Τα δείγματα μελετήθηκαν χωρίς να υποβληθούν σε καμία προ-κατεργασία και τα αποτελέσματα υποβλήθηκαν σε στατιστική ανάλυση με τη χρήση διαφόρων χημειομετρικών τεχνικών.

Όλες οι Κουμανδαρίες βρέθηκαν ν' ανήκουν στην ίδια ομάδα, χωρίς όμως τη δυνατότητα διάκρισης των μη ενδυναμωμένων από τις ενδυναμωμένες ή τις παλαιωμένες. Από τις κλασικές παραμέτρους, μεγαλύτερη διακριτική ικανότητα παρουσίασαν η φρουκτόζη, η χρωματομετρική ένταση στα 420 nm και τα μέταλλα κάλλιο, μαγνήσιο, νάτριο και ασβέστιο. Από τα πτητικά συστατικά ξεχώρισε το κουμαρικό οξύ, το βαννιλικό οξύ, η ακεταλδεΐδη και η προπανόλη.

Η διαφοροποίηση της Κουμανδαρίας από τους άλλους γλυκούς οίνους επιβεβαιώθηκε και από την ισοτοπική τεχνική SNIF-NMR η οποία στηρίζεται στο φυσικό διαχωρισμό του ισοτόπου του δευτερίου ως συνάρτηση του μεταβολισμού των φυτών και του γεωκλιματικού περιβάλλοντός τους [21].

Στην παρούσα ερευνητική μελέτη η προσπάθεια καθορισμού της αυθεντικότητας της Κουμανδαρίας στηρίχθηκε στο χημικό της χαρακτηρισμό συγκρίνοντάς την με άλλα κόκκινα κρασιά της Κύπρου αλλά και κρασιά (κυρίως γλυκά) από άλλες χώρες. Έγινε προσπάθεια συλλογής κρασιών από άλλες χώρες που να έχουν παρόμοια διαδικασία παραγωγής με την Κουμανδαρία.

Με σκοπό να αποφευχθεί η παρουσία του νερού και της αιθανόλης στην Κουμανδαρία και τα άλλα κρασιά, έγινε προ-κατεργασία των δειγμάτων [19,20]. Στην Κουμανδαρία υπάρχουν συστατικά και ενώσεις σε πολύ μικρές ποσότητες (π.χ. ανθοκυάνες, αμινοξέα) που μετά από την προ-κατεργασία των δειγμάτων γίνεται πιο εύκολος ο διαχωρισμός της από τα άλλα κρασιά [13,19].

Εφαρμόστηκε συμπύκνωση των δειγμάτων με λυοφιλίωση, τεχνική που εφαρμόστηκε και στη μελέτη αυθεντικότητας της *Ζιβανίας* και είχε πολύ καλά αποτελέσματα στη διάκρισή της [20]. Επίσης, δοκιμάστηκε και μία νέα τεχνική, συμπύκνωση των δειγμάτων με ροή αζώτου [19].

Τα συμπυκνωμένα δείγματα εξετάστηκαν με **Φασματοσκοπία Υπερύθρου, FTIR** με σκοπό την εύρεση χαρακτηριστικών ομάδων ώστε να διακριθεί η Κουμανδαρία από τα άλλα κρασιά εγχώρια και ξένα. Με τη χρήση της **Φασματοσκοπίας Πυρηνικού Μαγνητικού Συντονισμού, $^1\text{H-NMR}$** εξετάστηκαν δείγματα ως είχαν, χωρίς καμία προκατεργασία αλλά και συμπυκνωμένα δείγματα μέσω των πιο πάνω τεχνικών συμπύκνωσης.

Η αξιοποίηση του μεγάλου αριθμού των πειραματικών δεδομένων έγινε με τη χρήση **χημειομετρικών** μεθόδων, με στόχο την εξαγωγή χρήσιμων συμπερασμάτων για το διαχωρισμό της Κουμανδαρίας από τα άλλα κρασιά.

1.7 Βιβλιογραφία

- [1] Αικατερίνη Χ. Αριστείδου, Κρασί (σελ.318-321) & Κουμανδαρία (σελ.271-273), Μεγάλη Κυπριακή Εγκυκλοπαίδεια, Φιλόκυπρος, 7^{ος} Τόμος, Λευκωσία 1986
- [2] Κ.Κοκκινόφτας, «Η Αμπελοοινική Παράδοση στην Ιερά Μονή Κύκκου», Κέντρο Μελετών Ιεράς Μονής Κύκκου, Λευκωσία 2003
- [3] «Κομμανδαρία, Το Πατροπαράδοτο Κρασί της Κύπρου», Λαογραφική Κύπρος, Τεύχος 21, Λευκωσία 1977
- [4] Κ.Δ. Παπαδόπουλος, «Το κρασί θρύλος Κουμανδαρία», Λευκωσία 2004
- [5] Π.Ψαράς, «Κουμανδαρία, ο απόστολος των κρασιών», Λεμεσός 1993
- [6] Α.Φράγκος, Φ.Κυθραιώτου, «Το Βιβλίο του Κυπριακού Κρασιού», Λευκωσία 2003
- [7] K.Papadopoulos, N.Tsapatsoulis, A.Lanitis, A. Kounoudes, «The History of Commandaria: Digital Journeys back to time», Cyprus University of Technology, 14^ο Διεθνές Συνέδριο για την Virtual Systems and Multimedia VSMM 2008
- [8] Γ.Γεωργιάδης «Διαχρονική αξία της Κουμανδαρίας», Χάρτης των Γεύσεων, Θεσσαλονίκη Δεκέμβριος 2009
- [9] «Οι Περί Συμβουλίου Αμπελοοινικών Προϊόντων Νόμοι του 2004» Επίσημη Εφημερίδα Κυπριακής Δημοκρατίας
- [10] Συμβούλιο Αμπελοοινικών Προϊόντων «ΚΟΥΜΑΝΔΑΡΙΑ, Ο Μπροστάρης των κυπριακών οίνων»
- [11] N.Dean, T.B.Murphy, G. Downey, Using unlabelled data to update classification rules with applications in food authenticity studies, Applied Statistics, 2006, 55, Part 1, 1–14
- [12] E.Anklam, R.Battaglia Douglas, Food analysis and consumer protection, Trends in Food Science & Technology, 2001, 12, 197-202
- [13] I.S.Arvanitoyannis, M.N.Katsota, E.P.Psarra, E.H. Soufleros, S.Kallithraka, Application of quality control methods for assessing wine authenticity: Use of multivariate analysis (chemometrics), Trends in Food Science & Technology, 1999, 10, 321-336
- [14] Επίσημη Εφημερίδα των Ευρωπαϊκών Κοινοτήτων, Οδηγία 2000/13/EK του Ευρωπαϊκού Κοινοβουλίου και του Συμβουλίου, Για προσέγγιση των νομοθεσιών των κρατών μελών σχετικά με την επισήμανση, την παρουσίαση και τη διαφήμιση των τροφίμων, 20 Μαρτίου 2000
- [15] Επίσημη Εφημερίδα της Ευρωπαϊκής Ένωσης, Ανακοίνωση της Επιτροπής, Κατευθυντήριες γραμμές σχετικά με την επισήμανση των τροφίμων στα οποία χρησιμοποιούνται ως συστατικά προϊόντα με προστατευόμενες ονομασίες

- προέλευσης (ΠΟΠ) ή προστατευόμενες γεωγραφικές ενδείξεις (ΠΓΕ), (2010/C 314/03)
- [16] E.Dimara, D.Scuras, Consumer demand for informative labelling of quality food and drink products: a European Union case study, *Journal of Consumer Marketing*, 2005, 22/2, 90-100
- [17] L.M. Reida, C.P.O'Donnellb,G. Downey, Recent technological advances for the determination of food authenticity, *Trends in Food Science & Technology*, 2006, 17, 344-353
- [18] Dion M.A.M. Luykx, S.M. van Ruth, An overview of analytical methods for determining the geographical origin of food products, *Food Chemistry*, 2008, 107, 897-911
- [19] F.M.Amaral, M.S.b.Caro, Investigation of different pre-concentration methods for NMR analyses of Brazilian white wine, *Food Chemistry*, 2005, 93, 507-510
- [20] Ρ.Κοκκινόφτα Διογένους «Αυθεντικότητα του Παραδοσιακού Κυπριακού Ποτού Ζιβανία», Διδακτορική Διατριβή, Πανεπιστήμιο Κύπρου, Λευκωσία 2003
- [21] R. Kokkinofta, The Isotopic Approach to the Authenticity of Cypriot Traditional Spirit “Zivania” and Sweet Wine “Commandaria”, IWABA 2007, Stresa, Italy, 14/11/2007
- [22] Ρ.Κοκκινόφτα, Ε.Χαπέση, Ρ.Αργυρίδης, Κ.Μιχαήλ, Χ.Ρ.Θεοχάρης, Η χρήση της Φασματοσκοπίας Υπερύθρου και της Χημειομετρίας στη μελέτη της Αυθεντικότητας του Παραδοσιακού κρασιού Κουμανδάρια, 9^ο Συνέδριο Χημείας Κύπρου –Ελλάδας, Λάρνακα, 27-30/04/2007
- [23] R. Kokkinofta, “Authenticity of the Cypriot Traditional Sweet Wine Commandaria, from Grape to Wine”, 2nd International Junior Researchers’ Meeting, Athens, 10-12/7/2008
- [24] R. Kokkinofta, “Authenticity Testing of Cypriot products: The example of the Traditional Wine Commandaria”, 3rd SNIF-NMR user’s meeting, Prague, 6/5/2009

2. Χημειομετρία

Η Χημειομετρία είναι επιστημονικός κλάδος με στόχο την άντληση πληροφοριών από τα δεδομένα διαφόρων χημικών συστημάτων. Η Χημειομετρία εφαρμόζεται για την επίλυση τόσο περιγραφικών όσο και προβλέψιμων προβλημάτων στις πειραματικές επιστήμες ζωής και ειδικά στη Χημεία. Στις περιγραφικές εφαρμογές, οι ιδιότητες των χημικών συστημάτων διαμορφώθηκαν με πρόθεση την εκμάθηση των σχέσεων και τη δομή του συστήματος, δηλαδή την κατανόηση και αναγνώριση του μοντέλου. Στις προβλέψιμες εφαρμογές, οι ιδιότητες των χημικών συστημάτων διαμορφώθηκαν με πρόθεση πρόβλεψης νέων ιδιοτήτων ή συμπεριφορών που είχαν ενδιαφέρον. Και στις δύο περιπτώσεις, το σύνολο των δεδομένων συχνά είναι πολύ μεγάλο και ιδιαίτερα πολύπλοκο, περιλαμβάνοντας εκατοντάδες χιλιάδες μεταβλητές, καθώς και εκατοντάδες έως και χιλιάδες παρατηρήσεις. Οι χημειομετρικές τεχνικές βρίσκουν μεγάλο ενδιαφέρον στην Αναλυτική Χημεία και ενώ οι πρότυπες χημειομετρικές τεχνικές χρησιμοποιούνται ευρέως στη βιομηχανία, στον ακαδημαϊκό τομέα συνεχίζεται η ανάπτυξη των χημειομετρικών θεωριών, μεθόδων και εφαρμογών [1,2].

Η ανάπτυξη της Χημειομετρίας έχει άμεση σχέση με τη χρήση των ηλεκτρονικών υπολογιστών στη Χημεία. Ορισμένες αναλυτικές ομάδες τη δεκαετία του 1970 είχαν ήδη χρησιμοποιήσει στατιστικές και μαθηματικές μεθόδους που σήμερα αποδίδονται ως χημειομετρικές μέθοδοι. Οι εν λόγω αρχικές έρευνες ήταν συνδεδεμένες με τη χρήση των κεντρικών υπολογιστών. Η ονομασία *Χημειομετρία* εισήχθη το 1972 από το Σουηδό Svante Wold και τον Αμερικανό Bruce R. Kowalski. Η ίδρυση της Διεθνούς Εταιρείας Χημειομετρίας (International Chemometrics Society) το 1974 οδήγησε στην πρώτη περιγραφή του επιστημονικού αυτού κλάδου.

Η άφιξη των ηλεκτρονικών υπολογιστών σε κάθε χημικό εργαστήριο έκανε δυνατή τη χρήση στατιστικών πολυπαραμετρικών μεθόδων ανάλυσης και μαθηματικών στην ανάλυση χημικών δεδομένων [1,2].

Η Χημειομετρία είναι η επιστήμη της Χημείας που χρησιμοποιεί Μαθηματικά, Στατιστική και Πληροφορική για δύο λόγους:

α) Για την επιλογή των βέλτιστων διαδικασιών και των πειραμάτων β) για τη συγκέντρωση των μέγιστων χρήσιμων πληροφοριών από τα πειραματικά χημικά δεδομένα. Στη Χημεία Τροφίμων, τα αποτελέσματα από τις χημειομετρικές τεχνικές είναι περισσότερο απαραίτητα και πολλά υποσχόμενα, πρώτον διότι τα συστήματα χημικής έρευνας που ερευνώνται στη Χημεία Τροφίμων είναι πολύ σύνθετα και αποτελούνται από πολλά χημικά είδη που είναι συχνά πολύ σημαντικά ακόμα και σε επίπεδο ιχνοστοιχείων.

Η αντίληψη και η εμπειρία των ερευνητών δεν είναι επαρκείς για να ξεχωρίσουν τις πραγματικές σημαντικές πληροφορίες, εάν αυτές δεν αξιοποιηθούν και δεν επιβεβαιωθούν επαρκώς. Δεύτερον, η μελέτη της χημικής σύστασης των τροφίμων και οι αλλαγές στην παραγωγή τους δεν είναι ο μόνος σκοπός -εκτός από τον αναλυτικό έλεγχο: το διάστημα των χημικών ποσοτήτων είναι ενδιάμεσο μεταξύ του διαστήματος της *αιτίας*, το οποίο περιλαμβάνει κάθε παράμετρο που αφορά τη σύσταση των τροφίμων, και του διαστήματος του *αποτελέσματος*, στο οποίο βρίσκουμε σχετικές ιδιότητες των τροφίμων όπως την ποιότητα, τις αισθητήριες εκτιμήσεις, τη θρεπτική αξία και τις δυνατότητες αποθήκευσης. Γενικά το χημικό διάστημα περιγράφεται με ακρίβεια και περιεκτικότητα.

Η καλύτερη χρήση των πληροφοριών της Χημειομετρίας είναι η ουσιώδης προσπάθεια για κατανόηση της σχέσης *αιτίας* και *αποτελέσματος*. Αυτή η στενή σύνδεση και η αμοιβαία αναγκαιότητα της Χημειομετρίας και της Χημείας Τροφίμων φαίνεται σε πολλές χημειομετρικές μεθόδους που έχουν σχεδιαστεί ή αναπτύσσονται για το σκοπό αυτό ή έχουν δοκιμαστεί σε προβλήματα της Χημείας Τροφίμων.

Εκτός από τα στοιχεία γενικού ενδιαφέροντος, στη Χημεία τροφίμων υπάρχει έλλειψη στοιχειωδών γνώσεων της Στατιστικής, επιβεβαιώνοντας πόσο έδαφος πρέπει να καλυφθεί στη διάχυση των χημειομετρικών μεθόδων και στη σωστή εφαρμογή τους.

Συχνά δεν υπάρχει διάγραμμα ή περιγραφή του πειράματος και πολλές φορές τα δείγματα είναι με τα βίαια αντιπροσωπευτικά καθώς σε μερικές μελέτες η δειγματοληψία που γίνεται είναι μάλλον η πιο εύκολη παρά η ελεγχόμενη ή η τυχαία. Σε πολλές περιπτώσεις η συλλογή των δειγμάτων που αντιπροσωπεύουν κατάλληλα το σύστημα μπορεί να είναι δύσκολη ή να κοστίζει. Οι περιορισμένοι παράγοντες του πειραματικού σχεδιασμού πρέπει να δηλώνονται ώστε να παρέχουν πληροφορίες και εισηγήσεις για περαιτέρω έρευνα. Με έναν κατάλληλο πειραματικό σχεδιασμό και μια χημειομετρική αξιολόγηση, η διακύμανση των αναλυτικών δεδομένων ως προς τα φαινόμενα που μελετούνται - όχι λόγω της διακύμανσης της μεθόδου ή του εργαστηρίου - παρέχουν χρήσιμα αποτελέσματα [1,2].

Κατά τη χρήση της Χημειομετρίας γίνεται:

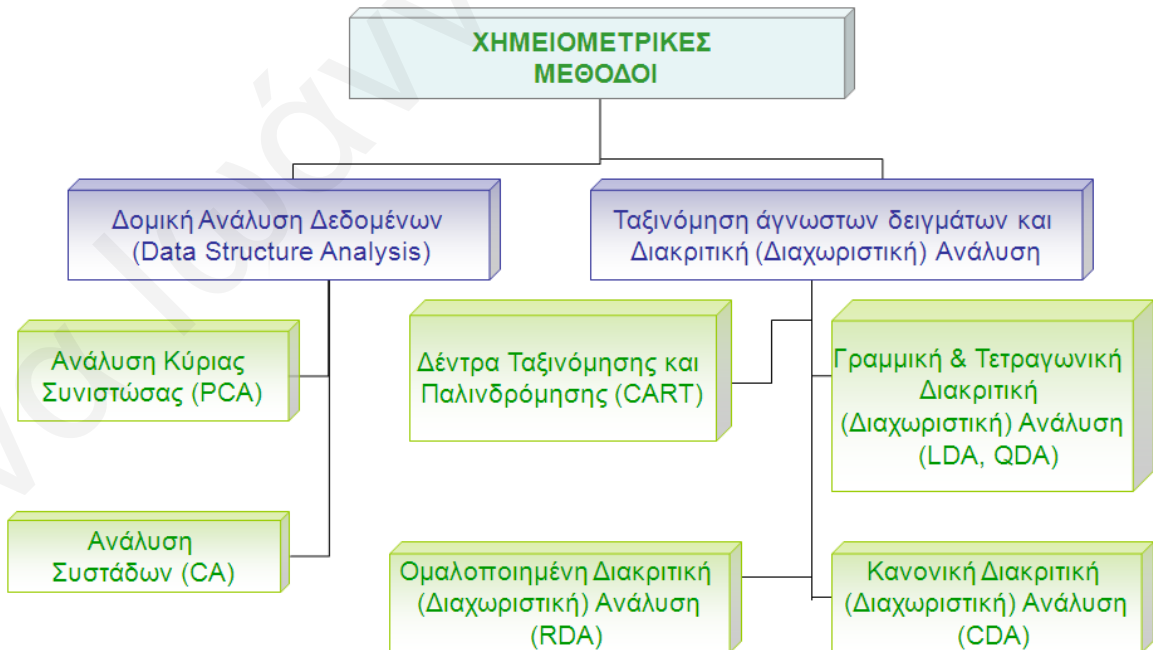
- Χρήση ενόργανων αναλύσεων για την εξαγωγή της μέγιστης φυσικής ή/και χημικής πληροφορίας.
- Χτίσιμο μοντέλων για ποσοτική ανάλυση και πρόβλεψη (πρόγνωση). Τα μοντέλα δημιουργούνται είτε από συγκεκριμένη φυσική/χημική πληροφορία είτε από το χημικό αποτύπωμα (π.χ. φάσμα). Στην τελευταία περίπτωση χάνεται μεγάλο μέρος της ερμηνείας των αποτελεσμάτων.

- Μελέτη της σχέσης: σύσταση/ιδιότητες τροφίμου με σκοπό την πρόβλεψη και ορισμένες φορές την βελτίωση ιδιοτήτων.
- Μελέτη της σχέσης: σύσταση/βιολογική ή/και φυσιολογική συμπεριφορά τροφίμου
- Γεωγραφική ή βοτανική προέλευση του τροφίμου.
- Μελέτη φυσικοχημικών μεταβολών στο τρόφιμο (αποθήκευση, ωρίμανση).
- Έλεγχος νοθείας.

Τα περισσότερα προβλήματα που λύνονται με τις χημειομετρικές μεθόδους είναι:

- Η περιγραφή
- Η ταξινόμηση και το μοντέλο
- Η συσχέτιση
- Η ομαδοποίηση
- Η μελλοντική συλλογή και
- Η βελτιστοποίηση

Οι χημειομετρικές μέθοδοι μπορούν ταξινομηθούν σε δύο κύριες ομάδες (Σχήμα 2.1): α) τη Δομική Ανάλυση Δεδομένων στην οποία περιλαμβάνονται η Ανάλυση Κύριας Συνιστώσας και η Ανάλυση Συστάδων και β) στην ταξινόμηση αγνώστων δειγμάτων και Διακριτική (Διαχωριστική) Ανάλυση στην οποία περιλαμβάνονται τεχνικές όπως η Κανονική Ανάλυση, η Γραμμική Διακριτική (Διαχωριστική) Ανάλυση, η Ομαλοποιημένη Διακριτική (Διαχωριστική) Ανάλυση και τα Δέντρα Κατάταξης και Παλινδρόμησης[3,4].



Σχήμα 2.1: Χημειομετρικές Μέθοδοι

2.1 Δημιουργία περιγραφικών μεταβλητών

Πριν την εφαρμογή των πολυπαραμετρικών μεθόδων απαιτείται η μετατροπή φασμάτων (FTIR, NMR....) σε περιγραφικές μεταβλητές, έτσι ώστε να είναι δυνατή η ταξινόμησή τους. Η μετατροπή του φάσματος σε μια σειρά από μεταβλητές ώστε να είναι δυνατή η εξαγωγή κύριων συνιστωσών μπορεί να γίνει με χρήση [5,6]:

- α) της έντασης κορυφής κάθε σημείου του φάσματος και
- β) της έντασης μιας κορυφής αναφοράς.

Η διαδικασία μπορεί να γίνει με τη χρήση κάποιου λογισμικού προγράμματος. Στην παρούσα έρευνα χρησιμοποιήθηκαν το WinDAS και το SCAN. Η βάση των δεδομένων μεταφέρεται αρχικά στο πρόγραμμα Excel για να πάρει την κατάλληλη μορφή (συνήθως fxf) ώστε να εισαχθεί στο λογισμικό WinDAS. Κάθε φάσμα χωρίζεται σε υπο-περιοχές με συγκεκριμένο εύρος. Το εύρος κάθε υπο-περιοχής επιλέγεται έτσι ώστε να μην είναι πολύ μεγάλο ούτε ευαίσθητο σε μικρές αλλαγές ούτε πολύ μικρό.

Αποκλείεται η κορυφή που αντιστοιχεί στην κορυφή συντονισμού του νερού στα φάσματα NMR (4.82 ppm) και η ευρεία κορυφή που αντιστοιχεί στην απορρόφηση δόνησης τάσης του -OH νερού στα φάσματα FTIR ($3000-3700\text{ cm}^{-1}$). Ακολούθως γίνεται κανονικοποίηση και διόρθωση της βασικής γραμμής έτσι ώστε τα φάσματα να είναι συγκρίσιμα μεταξύ τους. Κατά τη διαδικασία αυτή, όλες οι τιμές των εντάσεων κάθε κορυφής διαιρούνται είτε με την ολική ένταση του φάσματος είτε με την ένταση μιας κορυφής αναφοράς. Μετά το τέλος της επεξεργασίας δημιουργείται πίνακας X (mxn) (Σχήμα 2.6) όπου m ο αριθμός των φασμάτων-δειγμάτων (παρατηρήσεις) και n οι περιγραφικές μεταβλητές, δηλαδή οι τιμές ολοκλήρωσης των κορυφών που αντιστοιχούν στις υπο-περιοχές [5,6].

2.2 Προ- επεξεργασία των περιγραφικών μεταβλητών για ανάλυση

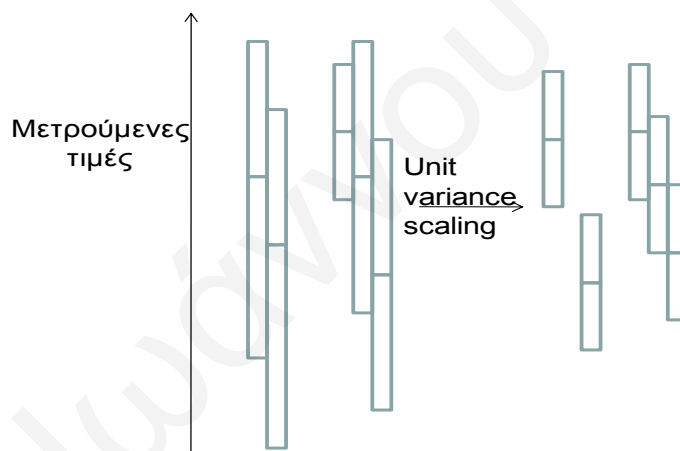
Ο πίνακας X (mxn) (Σχήμα 2.6) αποτελεί τη βάση δεδομένων και γεωμετρικά απεικονίζεται με ένα πολυδιάστατο χώρο όπου οι μεταβλητές προσδιορίζουν τους άξονες και οι παρατηρήσεις παρουσιάζονται ως σημεία (ανύσματα, vectors). Πριν την εφαρμογή της μεθόδου ταξινόμησης στη βάση δεδομένων εφαρμόζεται προ-επεξεργασία με σκοπό τη μετατροπή της βάσης δεδομένων σε κατάλληλη μορφή για ανάλυση.

Γίνεται κανονικοποίηση, έτσι ώστε όλες οι μεταβλητές να θεωρούνται ίσης σημασίας. Στη συνέχεια υπολογίζεται η μέση τιμή κάθε μεταβλητής και αφαιρείται από τις τιμές της βάσης δεδομένων, επιτυγχάνοντας με τον τρόπο αυτό την επικέντρωση (mean centering)

στο μέσο της βάσης δεδομένων [5,6]. Η ακριβής αφαίρεση του μέσου όρου από τις τιμές της βάσης δεδομένων έχει ως αποτέλεσμα την αλλαγή στη θέση του συστήματος των συντεταγμένων έτσι ώστε η αρχή των αξόνων των συντεταγμένων να περνά από το σημείο των μέσων όρων των μεταβλητών, των οποίων το άνυσμα αποτελεί ένα σημείο στο χώρο. Μ' αυτή τη διαδικασία όλες οι μεταβλητές γίνονται ισοδύναμες, έτσι ώστε και αυτές που προέρχονται από κορυφές μικρής και μεγάλης έντασης να τυγχάνουν επεξεργασίας κατά τον ίδιο τρόπο. Η βαθμονόμηση των μεταβλητών καθορίζει το μήκος των αξόνων στο χώρο.

Κατά τη μέθοδο της κανονικοποίησης γίνεται διαίρεση των τιμών μιας μεταβλητής με την τυπική απόκλιση των τιμών της ίδιας μεταβλητής. Βρίσκει εφαρμογή, όταν υπάρχει μεγάλη διαφορά στην περιοχή των τιμών ορισμένων μεταβλητών και θεωρεί ότι όλα τα ανύσματα-σημεία έχουν το ίδιο μήκος, την ίδια βαρύτητα (Unit Variance scaling, UV ή autoscaling) (Σχήμα 2.2) [5,6].

Μπορεί επίσης, να γίνει και ταυτόχρονη εφαρμογή των πιο πάνω με αποτέλεσμα οι τιμές κάθε μεταβλητής να έχουν μέσο όρο 0 και τυπική απόκλιση 1. Η μέθοδος αυτή ονομάζεται τυποποίηση (standardization).



Σχήμα 2.2: Σχηματική απεικόνιση της τεχνικής *Unit Variance scaling*

Στην περίπτωση που ο πίνακας X περιλαμβάνει φασματικά δεδομένα -οι περιγραφικές μεταβλητές είναι η ένταση των κορυφών από φάσματα FTIR, NMR- είναι δυνατό να μετασχηματιστεί στη βάση κυματοειδών συναρτήσεων και να προκύψει μια νέα βάση δεδομένων, που κανονικοποιείται στη συνέχεια είτε με επικέντρωση στο μέσο (Σχήμα 2.8) είτε με Unit Variance [5,6].

2.3 Ανάλυση Κύριων Συνιστωσών (Principal Component Analysis, PCA)

Η Ανάλυση Κύριων Συνιστωσών θεωρείται η πιο εύκολη και εύχρηστη τεχνική αναγνώρισης προτύπων (Pattern Recognition). Μπορεί να χρησιμοποιηθεί για εξαγωγή των αντιπροσωπευτικών περιγραφικών μεταβλητών σε μια βάση δεδομένων και για τη μείωση των διαστάσεων. Είναι μια τεχνική συμπίεσης των αρχικών δεδομένων [7-12].

Οι κύριες συνιστώσες (PCs) είναι ιδιοτιμές που δημιουργούνται από τη διαγωνοποίηση του πίνακα διακύμανσης (dxd) ο οποίος προέρχεται από τον πίνακα δεδομένων X(mxn) (n περιγραφικές μεταβλητές για κάθε ένα από τα m δείγματα).

Για τον πίνακα δεδομένων X(mxn) με στοιχεία x_{ij} όπου m ο αριθμός των δειγμάτων, n ο αριθμός των περιγραφικών μεταβλητών και μ_k η μέση τιμή της περιγραφικής μεταβλητής k, ο πίνακας διακύμανσης (nxn) είναι:

$$C_{jk} = (m-1) \sum_{i=1}^m (x_{ik} - \mu_k)(x_{ij} - \mu_j) \quad j, k = 1, \dots, m \quad (2.1)$$

Οι κύριες συνιστώσες αντιστοιχούν σε λανθάνουσες μεταβλητές. Η προβολή των σημείων (δειγμάτων) στις καινούριες αυτές μεταβλητές δημιουργεί τον πίνακα T των νέων συντεταγμένων (scores), η δε γωνία (διεύθυνση) των λανθανουσών μεταβλητών ως προς τις αρχικές μεταβλητές τον πίνακα των φορτίων (loadings) L [3,7,8].

Ο πίνακας δεδομένων X αποτελείται από τον πίνακα των προβολών των παρατηρήσεων (score matrix) T και ένα πίνακα φορτίων (loadings matrix) L (Σχήμα2.3) όπου t υποδηλώνει την αντιμετάθεση ώστε:

$$X = TL^t \quad (2.2)$$

Πίνακας δεδομένων (Data table)	Μεταβλητές κυρίων συνιστωσών (PC variance)
	Βαθμός συσχέτισης δείγματος (Object Scores)
	Φορτία κυρίων συνιστωσών (PC loadings)

Σχήμα 2.3: Διάσπαση του πίνακα δεδομένων κατά την Ανάλυση Κύριων Συνιστωσών.

Για ένα σύνολο n περιγραφικών μεταβλητών υπάρχουν οι κύριες συνιστώσες, ωστόσο η απεικόνιση των συντεταγμένων (προβολών) των δύο πρώτων κύριων συνιστωσών (t₁, t₂, scores plot) παρέχει τη μέγιστη πληροφορία των δεδομένων στις δύο διαστάσεις. Τέτοιες γραφικές απεικονίσεις μπορούν να χρησιμοποιηθούν για την εκτίμηση της ταξινόμησης

των σημείων (δειγμάτων). Οι κύριες συνιστώσες, PCs προκύπτουν από τους γραμμικούς συνδυασμούς των αρχικών περιγραφικών μεταβλητών με κατάλληλους συντελεστές βαρύτητας, έτσι ώστε η κάθε κύρια συνιστώσα, PC να έχει ορθογώνια σχέση ως προς τις υπόλοιπες. Οι κύριες συνιστώσες, PCs είναι γραμμικός συνδυασμός των αρχικών μεταβλητών και περιγράφει τη μέγιστη διακύμανση των δεδομένων. Η δεύτερη κύρια συνιστώσα είναι ορθογώνια ως προς την πρώτη και περιέχει την επόμενη και πιο πλήρη περιγραφή των δεδομένων. Οι επόμενες κύριες συνιστώσες περιγράφουν όλο και λιγότερο ποσοστό της διακύμανσης των δεδομένων και μετά από κάποιο σημείο θα περιλαμβάνουν το θόρυβο (data noise).

Ο αριθμός των κύριων συνιστωσών που απαιτείται, για να περιγράψει τα δεδομένα, αξιολογείται με το συντελεστή συσχέτισης, η δε αξιοπιστία του μοντέλου που προκύπτει ελέγχεται με τη διαδικασία της διασταυρωτικής επιβεβαίωσης (cross validation). Σύμφωνα με αυτή τη διαδικασία, το μοντέλο που προκύπτει από την Ανάλυση των Κύριων Συνιστωσών αξιολογείται στη βάση των στατιστικών στοιχείων.

2.4 Εξαγωγή Κύριων Συνιστωσών

Το πλήθος των δεδομένων που προκύπτει από την εφαρμογή μιας αναλυτικής μεθόδου συχνά είναι τεράστιο, ειδικά στις περιπτώσεις εκείνες που για κάθε δείγμα καταγράφονται οι τιμές περισσότερων από δύο μεταβλητές. Το δείγμα χαρακτηρίζεται από πολλές μεταβλητές και ο χειρισμός ενός τεράστιου όγκου δεδομένων είναι δύσκολος καθώς και ο εντοπισμός συγκεκριμένων τάσεων μέσα από αυτό. Στην απλούστερη περίπτωση που τα δείγματα χαρακτηρίζονται από δύο μεταβλητές, θα μπορούσε να γίνει μια γραφική απεικόνιση των δειγμάτων σε ένα σύστημα αξόνων που αντιπροσωπεύουν τις δύο μεταβλητές. Κάθε σημείο (δείγμα) θα χαρακτηρίζεται από ένα ζεύγος συντεταγμένων. Μια τέτοια γραφική απεικόνιση δεν είναι δυνατή, όταν υπάρχουν πολλές μεταβλητές.

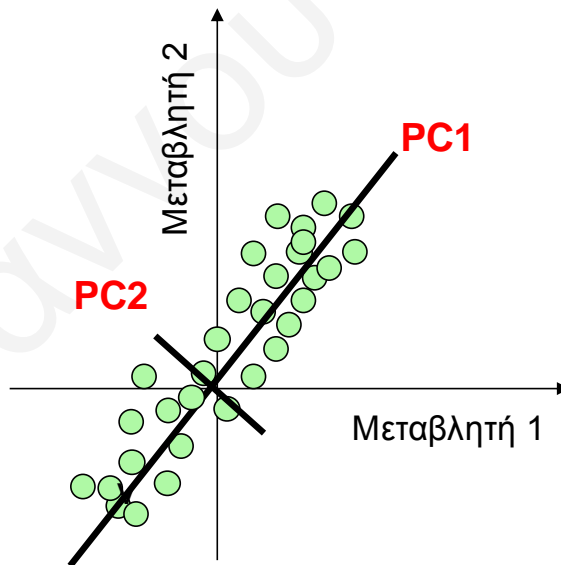
Η Ανάλυση Κύριων Συνιστωσών (Principal Component Analysis, PCA) είναι μια μέθοδος που χρησιμοποιείται για να αντιμετωπίσει το μεγάλο όγκο των δεδομένων που προκύπτει από μια ανάλυση. Προϋπόθεση είναι να παρατηρείται συσχέτιση μεταξύ ορισμένων μεταβλητών, για να μπορεί να μειωθεί ο αρχικός αριθμός των μεταβλητών λόγω του ότι οι πληροφορίες για την τάση των δεδομένων παραμένουν αμετάβλητες.

Η Ανάλυση Κύριων Συνιστωσών είναι ένα στατιστικό εργαλείο -αναγνώριση προτύπων χωρίς επιτήρηση- για την επεξεργασία των δεδομένων ενός συνόλου δειγμάτων με σκοπό την περιγραφή της διακύμανσης ή της διασποράς ή της μεταβλητότητας

(variation) των τιμών πολλών μεταβλητών χρησιμοποιώντας ένα μικρό αριθμό νέων αξόνων (factors or principal components) [3,5,7-12].

Δημιουργείται ένα νέο σύστημα αξόνων (principal components) οι οποίοι και είναι γραμμικοί συνδυασμοί των αρχικών αξόνων (μεταβλητών). Οι νέοι άξονες επιτρέπουν στον ερευνητή ν' αναγνωρίσει με ευκολότερο και ασφαλέστερο τρόπο τη δομή και τις τάσεις των προτύπων:

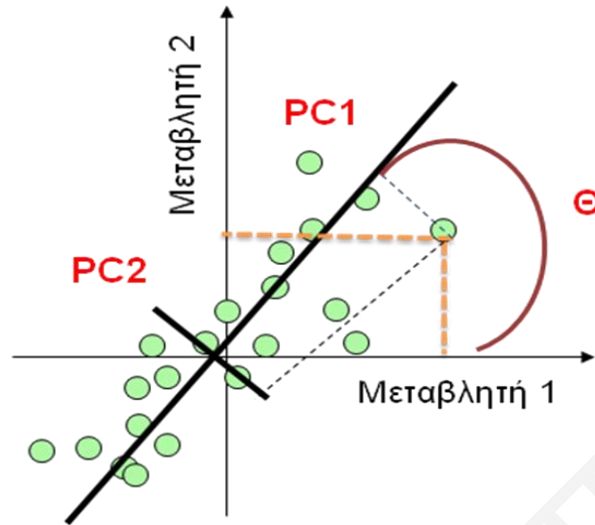
1. Ο πρώτος άξονας κύριας συνιστώσας, PC1 περιγράφει τη μέγιστη δυνατή διακύμανση ή την έκταση των δεδομένων προς μία κατεύθυνση. Διαδοχικοί PCs περιγράφουν διαδοχικά μικρότερες μεταβολές (Σχήμα 2.4: PC1: 98%, PC2: 2%).
2. Μη σημαντικές PCs περιγράφουν περισσότερο θόρυβο παρά δεδομένα. Επομένως η αφαίρεσή τους από το σύνολο των PCs φιλτράρει το θόρυβο από τα δεδομένα.
3. Ο μέγιστος αριθμός των PCs είναι πάντα μικρότερος από τον αριθμό των μεταβλητών.
4. Όλες οι PCs είναι πάντα κάθετες μεταξύ τους.
5. Οι συντεταγμένες των σημείων (δεδομένων) στο διάγραμμα ως προς τους PCs ονομάζονται scores (βαθμοί συσχέτισης).



Σχήμα 2.4: Δύο μεταβλητές, 30 δείγματα, PC1: 98% PC2: 2%

6. Η συνεισφορά των μεταβλητών σε κάθε PC αποδίδεται μαθηματικά με το συνημίτονο της γωνίας θ που σχηματίζει ο PC με τον άξονα μιας μεταβλητής (Σχήμα 2.5). Η τιμή του ονομάζεται loading, l (φορτίο).
 - (i) $\cos\theta = 0$, $\theta = 90^\circ$, τότε οι άξονες PC και μεταβλητής είναι κάθετοι μεταξύ τους. Ο PC δεν περιγράφει καμιά διακύμανση της συγκεκριμένης μεταβλητής.

(ii) $\cos\theta = +1$, $\theta = 0^\circ$, τότε οι άξονες PC και μεταβλητής είναι παράλληλοι. Ο PC, περιγράφει ολόκληρη τη διακύμανση της συγκεκριμένης μεταβλητής.



Σχήμα 2.5: Η συνεισφορά ενός σημείου σε σχέση με τους αρχικούς άξονες (κίτρινη στικτή γραμμή) και τους άξονες της Ανάλυσης Κύριων Συνιστωσών (μαύρη στικτή γραμμή)

7. Ο αριθμός των PC ορίζει την ήδη υπάρχουσα διαστασικότητα (dimensionality) του μοντέλου.

Τα κύρια βήματα της Ανάλυσης Κύριων Συνιστωσών είναι:

- Προ-επεξεργασία (συμπύεση) των δεδομένων.
- Υπολογισμός του πίνακα συνδιακύμανσης.
- Υπολογισμός ιδιοτιμών και ιδιοδιανυσμάτων του πίνακα συνδιακύμανσης.
- Υπολογισμός των βαθμών συσχέτισης (scores).

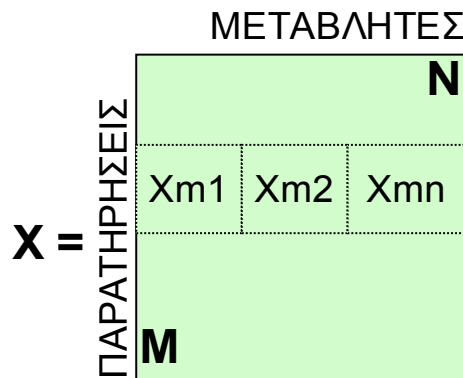
Οι χρήσεις της Ανάλυσης Κύριων Συνιστωσών είναι:

- Η ταξινόμηση των προτύπων σε ομάδες (χωρίς επιτήρηση).
- Η ανίχνευση των ακραίων τιμών (outliers) σε ένα σύνολο δεδομένων.
- Η επιλογή μεταβλητών για ταξινόμηση ή μοντελοποίηση.

2.5 Υπολογισμός Κύριων Συνιστωσών

Αρχικά ο πίνακας X (Σχήμα 2.6) με δεδομένα αποτελείται από M γραμμές (παρατηρήσεις, observations) και N στήλες (μεταβλητές, variables). Οι παρατηρήσεις μπορούν να είναι αναλυτικά δείγματα, χημικές ενώσεις ή αντιδράσεις, σημεία σε συνεχή διαδικασία, παρτίδες από κάποια διαδικασία κ.ά.. Για να χαρακτηρίσει τις ιδιότητες των παρατηρήσεων κάποιος, μετρά τις μεταβλητές. Οι μεταβλητές αυτές μπορεί να είναι

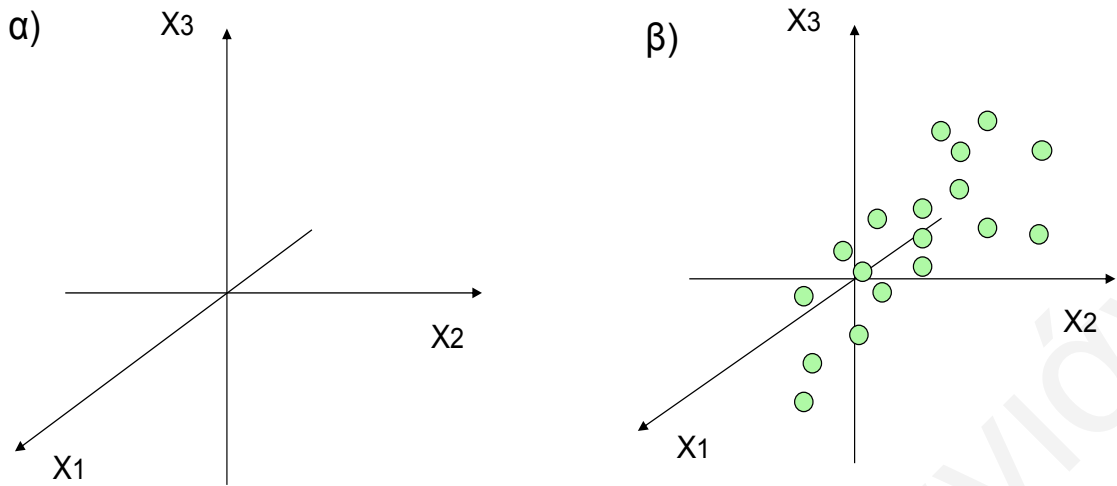
φασματικής προέλευσης (NIR, IR, UV, NMR, X-ray...), χρωματογραφικής προέλευσης (HPLC, GC, TLC...) ή μετρήσεις από διάφορες διαδικασίες (θερμοκρασία, ροή, πίεση, καμπύλες.....) [3,7-12].



Σχήμα 2.6: Πίνακας X, αρχικών δεδομένων: M γραμμές (παρατηρήσεις), N στήλες (μεταβλητές)

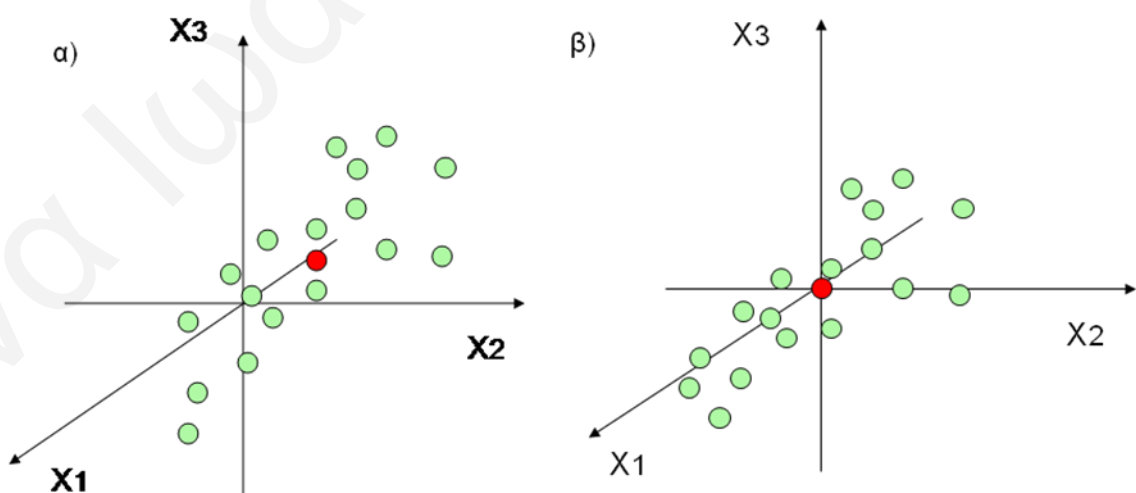
Ο κύριος στόχος της Ανάλυσης Κύριων Συνιστωσών είναι η αντιπροσώπευση του πολυπαραγοντικού πίνακα των αρχικών δεδομένων σε ένα επίπεδο μικρότερων διαστάσεων, συνήθως αποτελούμενο από 2 έως 5 διαστάσεις, έτσι ώστε να επιτευχθεί μια επισκόπηση των δεδομένων. Η επισκόπηση αυτή μπορεί ν' αποκαλύψει ομάδες των δεδομένων, τάσεις αλλά και ακραίες τιμές (outliers). Η επισκόπηση επίσης ξεσκεπάζει τη σχέση μεταξύ των παρατηρήσεων και των μεταβλητών αλλά και μεταξύ των μεταβλητών. Στατιστικά η Ανάλυση Κύριων Συνιστωσών βρίσκει γραμμές και επίπεδα σε ένα χώρο N-διαστάσεων. Είναι εύκολο να φανεί ότι μια γραμμή ή ένα επίπεδο που είναι η προσέγγιση των ελάχιστων τετραγώνων ενός συνόλου σημείων δεδομένων, καθιστά τη διακύμανση των συντεταγμένων της γραμμής και του επιπέδου όσο το δυνατόν πιο μεγάλη.

Θεωρούμε τον πίνακα X (Σχήμα 2.6) με M παρατηρήσεις (observations) και N μεταβλητές (variables). Για αυτό τον πίνακα των δεδομένων έχει δημιουργηθεί ένας χώρος μεταβλητών με διαστάσεις όσες και οι μεταβλητές (Σχήμα 2.7α). Κάθε μεταβλητή αντιπροσωπεύει μια συντεταγμένη. Στο επόμενο στάδιο, κάθε παρατήρηση (γραμμή) του αρχικού πίνακα τοποθετείται στο χώρο των μεταβλητών με N-διαστάσεις (Σχήμα 2.7β). Κατά συνέπεια, οι σειρές του πίνακα δεδομένων είναι σμήνος από σημεία στο χώρο αυτό.



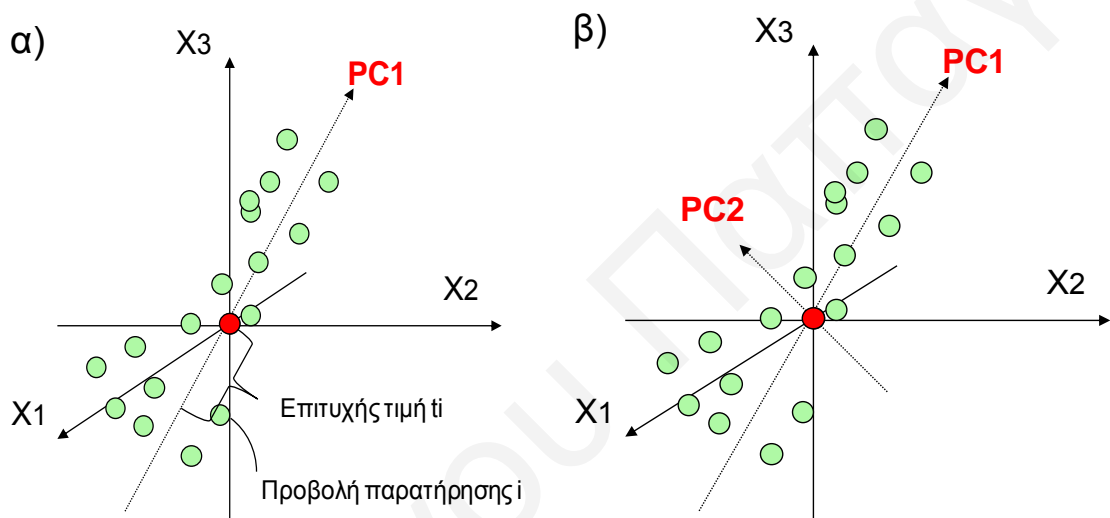
Σχήμα 2.7: α) Χώρος μεταβλητών 3^{ων} διαστάσεων, β) οι παρατηρήσεις του αρχικού πίνακα X στον N -χώρο

Ένας τρόπος επεξεργασίας είναι η κανονικοποίηση κατά την οποία όλες οι μεταβλητές θεωρούνται ισοδύναμες. Αφαιρείται από τις τιμές των δεδομένων ο μέσος όρος των μεταβλητών, ώστε να επιτυγχάνεται η επικέντρωση στο μέσο (mean centering) της βάσης δεδομένων. Το άνυσμα των μέσων όρων αντιστοιχεί σε ένα σημείο του N -χώρου (Σχήμα 2.8α). Με την αφαίρεση αυτή γίνεται αλλαγή στη θέση του συστήματος των συντεταγμένων και η αρχή των συντεταγμένων τώρα περνά από το σημείο των μέσων όρων των μεταβλητών των οποίων το άνυσμα αποτελεί ένα σημείο στον N -διάστατο χώρο (Σχήμα 2.8 β).



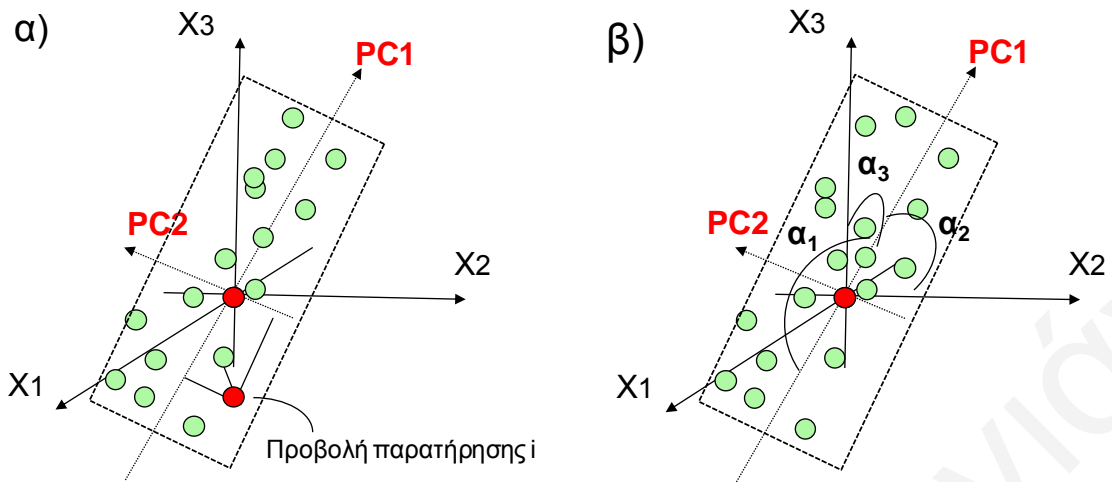
Σχήμα 2.8: α) Το άνυσμα του μέσου όρου παρίσταται με ένα σημείο (κόκκινο) στο μέσο του σμήνους των δεδομένων β) Νέο σύστημα συντεταγμένων, με κέντρο το σημείο των μέσων όρων

Αφού επιτευχθεί η κέντρωση και η κλιμάκωση της μεταβλητής, υπολογίζεται η πρώτη κύρια συνιστώσα στο σύνολο των δεδομένων (PC1). Αυτό το στοιχείο είναι μια γραμμή στο N-διάστατο χώρο, το οποίο προσεγγίζεται καλύτερα με ελάχιστα τετράγωνα. Αυτή η γραμμή περνά από το σημείο των μέσων όρων (Σχήμα 2.9α) και κάθε παρατήρηση προβάλλεται πάνω στη γραμμή αυτή, ώστε να συνεισφέρει στη γραμμή των κύριων συνιστωσών. Συνήθως μία κύρια συνιστώσα είναι ανεπαρκής στη μοντελοποίηση της συστηματικής μεταβολής των δεδομένων γι' αυτό υπολογίζεται και η δεύτερη κύρια συνιστώσα, η οποία είναι γραμμή και περνά και αυτή από το σημείο των μέσων όρων (Σχήμα 2.9β).



Σχήμα 2.9:α) Υπολογισμός της 1^{ης} κύριας συνιστώσας (PC1), β) Η 1^η και 2^η κύρια συνιστώσα σε ορθοκανονική σχέση.

Όταν οι δύο κύριες συνιστώσες έχουν παραγοντοποιηθεί ορίζουν ένα επίπεδο στο N-διάστατο χώρο μεταβλητών (Σχήμα 2.10 α). Προβάλλοντας όλες τις παρατηρήσεις στο, μικρών διαστάσεων, χώρο και κάνοντας το διάγραμμα των αποτελεσμάτων, είναι δυνατόν να παρουσιαστεί η δομή των προς μελέτη δεδομένων. Οι τιμές που συνεισφέρουν στο επίπεδο αυτό ονομάζονται βαθμοί συσχέτισης (scores). Γεωμετρικά, τα φορτία (loadings) της ανάλυσης των κύριων συνιστωσών εκφράζουν τη θέση του επιπέδου στον N-διάστατο χώρο (Σχήμα 2.10 β). Η κατεύθυνση της PC1 σε σχέση με τις αρχικές μεταβλητές δίνεται από το συνημίτονο των γωνιών α_1, α_2 και α_3 (Σχήμα 2.10β). Αυτές οι τιμές υποδεικνύουν πως οι αρχικές μεταβλητές x_1, x_2 και x_3 συμβάλλουν (load) στον PC1: έτσι ονομάζονται φορτία (loadings). Η δεύτερη ομάδα των φορτίων που συμβάλλουν, εκφράζουν τη διεύθυνση του PC2 σε σχέση με τις αρχικές μεταβλητές. Άρα, χρειάζονται δύο κύριες συνιστώσες και τρεις αρχικές μεταβλητές, έξι φορτία (συνημίτονα γωνιών) για να καθοριστεί η θέση του επιπέδου στο N-διάστατο χώρο [3,7-10].

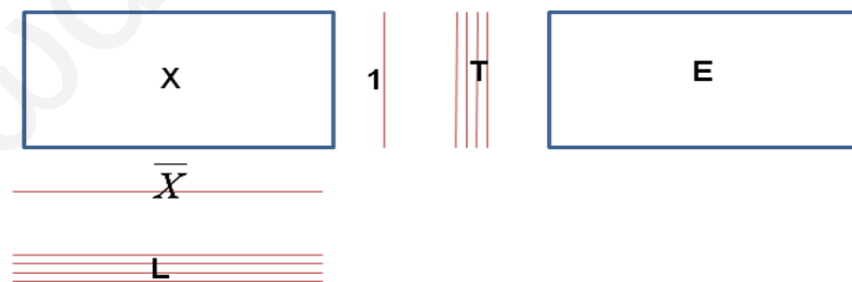


Σχήμα 2.10: Γραφική απεικόνιση PCA: α) Προβολή των σημείων στο επίπεδο των δύο πρώτων συνιστωσών (ορισμός των scores) β) ορισμός των loadings.

Κατά τη μετατροπή του αρχικού πίνακα X για την εξαγωγή των κύριων συνιστωσών προκύπτει το γινόμενο των πινάκων T (scores) και L (loadings) και ο πίνακας των υπολοίπων E (Σχήμα 2.11)

$$X = 1 \bar{X} + TL + E \quad (2.3)$$

όπου $1 \bar{X}$ η μέση τιμή των μεταβλητών όπως δημιουργήθηκε από την προ-επεξεργασία,
 T ο πίνακας που περιλαμβάνει τις τιμές των προβολών των παρατηρήσεων,
 L ο πίνακας που περιλαμβάνει τα φορτία των μεταβλητών,
 E ο πίνακας των υπολοίπων μεταξύ των αρχικών τιμών και προβολών.



Σχήμα 2.11: Αναπαράσταση του αρχικού πίνακα δεδομένων X κατά την ανάλυση κύριων συνιστωσών

Με τη μέθοδο PCA είναι δυνατή η ανακάλυψη ισχυρών και μέτριων έκτροπων (outliers) δειγμάτων-σημείων. Έκτροπα δείγματα (σημεία) είναι οι παρατηρήσεις με τιμές που δεν προσαρμόζονται στο μοντέλο. Η αναγνώριση ισχυρά έκτροπων σημείων (δειγμάτων) είναι σημαντική για την αξιολόγηση της βάσης δεδομένων [3-10].

2.6 Ανάλυση Μερικών Ελάχιστων Τετραγώνων (Partial Least Squares Analysis, PLS)

Η μέθοδος Ανάλυση Μερικών Ελάχιστων Τετραγώνων, PLS είναι προέκταση της μεθόδου Ανάλυσης Κύριων Συνιστωσών, PCA και εφαρμόζεται, όταν είναι αναγκαία η σύνδεση της πληροφορίας ενός πίνακα Y που αποτελείται από αποκρίσεις (εξαρτημένες μεταβλητές) και του πίνακα X των περιγραφικών μεταβλητών [3,5,6,8-20].

Η ανάλυση στηρίζεται στη μέθοδο των προβολών και στην εξαγωγή κύριων συνιστωσών και για τους δύο πίνακες με στόχο την επίτευξη της καλύτερης δυνατής συσχέτισης μεταξύ των προβολών X και Y .

Ισχύουν οι σχέσεις:

$$X = 1 \bar{X} + TL + E \quad (2.4)$$

$$Y = 1 \bar{Y} + UC + F = 1 \bar{Y} + TC + G \quad (2.5)$$

$$\text{και } U = T + H \quad (2.6)$$

$$\text{όπου } E, G, H \text{ είναι οι πίνακες των υπολοίπων και } C = M \times A \quad (2.7)$$

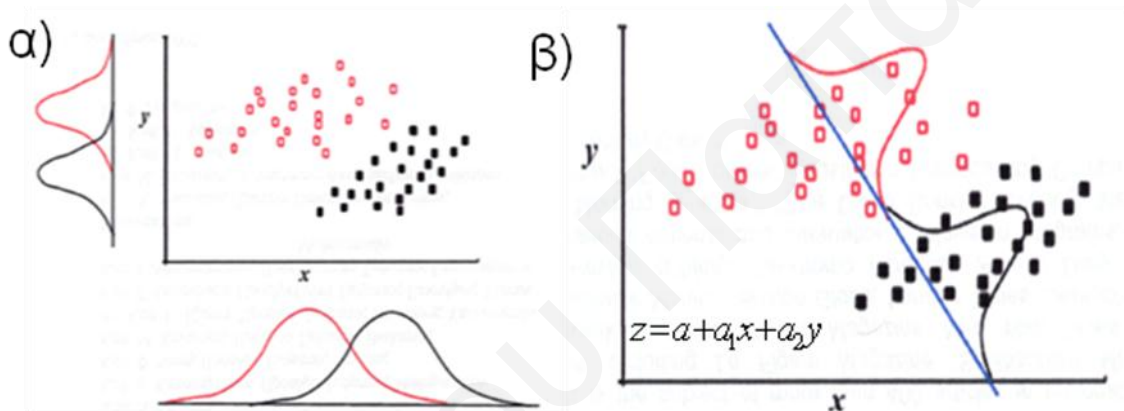
όπου M ο αριθμός των αποκρίσεων και A ο αριθμός των συνιστωσών της ανάλυσης PLS.

2.7 Διακριτική (Διαχωριστική) Ανάλυση (Discriminant Analysis, DA)

Η Διακριτική Ανάλυση εφαρμόζεται στην περίπτωση που θέλουμε να προβλέψουμε την ομάδα ή την τάξη στην οποία ανήκει ένα σύνολο δειγμάτων, με βάση ορισμένες πειραματικές μεταβλητές διαχωρισμού ή πρόγνωσης (predictors) (Σχήμα 2.12). Οι ομάδες είναι γνωστές από πριν (αναγνώριση με επιτήρηση) και έχουν δημιουργηθεί με κριτήριο τις μεταβλητές ομαδοποίησης (grouping variables). Στο σύνολο των παρατηρήσεων έχει εφαρμοστεί η Ανάλυση Κύριων Συνιστωσών και η Διακριτική Ανάλυση περιγράφει την κατάταξη σε συγκεκριμένη ομάδα, ώστε οι μελλοντικές παρατηρήσεις άγνωστων δειγμάτων να ενταχθούν στην ομάδα με μεγαλύτερη πιθανότητα [3,5-18].

Σε σύγκριση με άλλες μεθόδους ανάλυσης, η Διαχωριστική Ανάλυση:

- Ασχολείται με τα δείγματα των πρωταρχικών ομάδων.
- Είναι μέθοδος κατάταξης που περιλαμβάνει δοκιμές για τον προσδιορισμό της διάστασης.
- Στηρίζεται στην επιλογή των μεταβλητών σύμφωνα με τη διαχωριστική τους ικανότητα να περιγράφουν το διαχωρισμό όχι μόνο των ομάδων αλλά και τη διάταξη των δειγμάτων στις ομάδες.
- Διαμορφώνει κάποιο αλγόριθμο ή ένα σύνολο από γραμμικές διεργασίες των αρχικών μεταβλητών, ικανές να προβλέψουν την κατάταξη των δειγμάτων, με βάση το κριτήριο λάμδα (Wilk's) [3,13,14].



Σχήμα 2.12: Σχηματική απεικόνιση της Διακριτικής Ανάλυσης με α) μέτριο διαχωρισμό και β) πολύ καλό διαχωρισμό

2.8 Γραμμική, Τετραγωνική και Ομαλοποιημένη Διακριτική Ανάλυση (Linear, Quadratic and Regularized Discriminant Analysis, LDA, QDA, RDA)

Στα προβλήματα ταξινόμησης η Γραμμική, Τετραγωνική και Ομαλοποιημένη Διακριτική Ανάλυση (LDA, QDA, RDA) στηρίζεται στην υπόθεση ότι το μοντέλο κάθε κατηγορίας είναι σημείο του χώρου p -διάστασεων.

Στη Διακριτική Ανάλυση υποτίθεται ότι ισχύει κανονική κατανομή για το χαρακτηριστικό διάνυσμα X_k για κάθε k και στον p -διάστατο χώρο

$$X_k \sim N(\mu_k, \Sigma_k), \quad k = 1, \dots, K$$

όπου μ_k , το μέσο του συνόλου και Σ_k , ο πίνακας συνδιακύμανσης. Η δεσμευμένη κατανομή του X δεδομένου ότι $Y=k$, μπορεί να δοθεί από την πυκνότητα της κανονικής κατανομής.

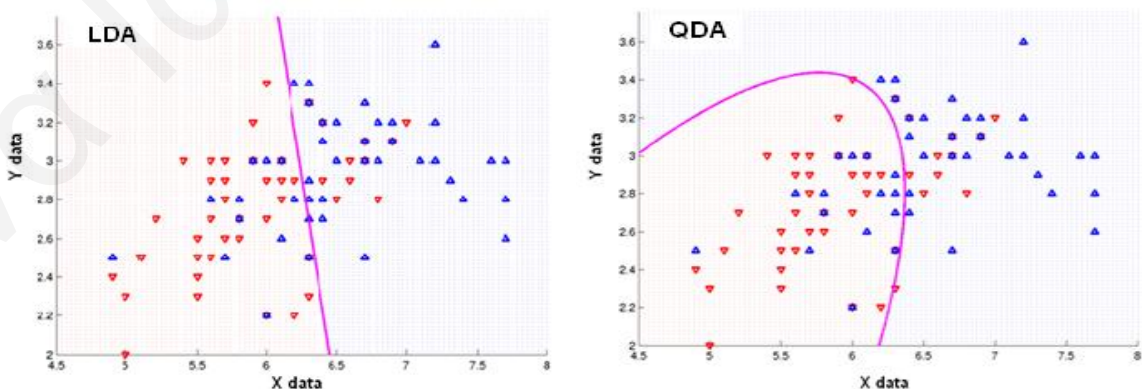
$$f_k(X) = f\left(\frac{X}{k}\right) = \frac{1}{(2\pi)^{p/2} |\Sigma_k|^{1/2}} e^{-\frac{1}{2}(x-\mu_k)^T \Sigma_k^{-1} (x-\mu_k)} \quad k = 1, \dots, K \quad (2.8)$$

Αντικαθιστώντας στην εξίσωση (2.8) $d_k(x) = f\left(\frac{X}{k}\right) p_k$ και παίρνοντας το λογάριθμο, οδηγούμαστε σε συντελεστή διάκρισης με την πιο κάτω μορφή

$$d_k(x) = -\frac{1}{2}((x - \mu_k)^T \Sigma_k^{-1} (x - \mu_k) + \log|\Sigma_k|) + \log p_k \quad k = 1, \dots, K \quad (2.9)$$

Χρησιμοποιώντας την κατανομή $d_k(x) > d_j(x)$, $j = 1, \dots, K$ (όπου $d_j(x)$ ονομάζονται συντελεστές διάκρισης) στην εξίσωση (2.9) ελαχιστοποιείται ο κίνδυνος εσφαλμένης κατάταξης και ονομάζεται Τετραγωνική Διακριτική Ανάλυση (Quadratic Discriminant Analysis, QDA) εφόσον διαχωρίζει τις περιοχές, που δεν είχαν κανένα κοινό σημείο από το χαρακτηριστικό χώρο και αντιστοιχεί τα μέλη σε κάθε σύνολο, βάση τετραγωνικών ορίων (Σχήμα 2.13).

Η Γραμμική Διακριτική Ανάλυση, Linear Discriminant Analysis (LDA) χρησιμοποιείται αν οι πίνακες συνδιακύμανσης είναι ίδιοι, π.χ. $\Sigma_k = \Sigma, \forall k$. Σε αυτή την περίπτωση, ο κανόνας που ελαχιστοποιεί τον κίνδυνο εσφαλμένης κατάταξης οδηγεί σε γραμμικό διαχωρισμό των ομάδων. Ο τετραγωνικός όρος στη Διακριτική Ανάλυση για όλες τις ομάδες είναι ο ίδιος και μπορεί να εξαλειφθεί. Οι LDA ή QDA χρησιμοποιούνται ανάλογα με τη δομή των δεδομένων. Εάν αναλογιστούμε πραγματικά δεδομένα, οι παράμετροι μ_k και Σ_k πρέπει να εκτιμηθούν $(\bar{\Sigma}_k, \hat{\mu}_k)$ από ένα εκπαιδευτικό δείγμα (training sample). Στην πράξη, συχνά η LDA οδηγεί σε καλύτερα ταξινομημένα αποτελέσματα από την QDA, ακόμη και όταν οι πραγματικοί πίνακες συνδιακύμανσης δεν είναι ίσοι διότι πρέπει να εκτιμηθούν λιγότερες παράμετροι μοντέλου και η LDA είναι πιο ισχυρή έναντι των αποκλίσεων από τα βασικά κριτήρια.



Σχήμα 2.13: Σχηματική απεικόνιση γραμμικών και τετραγωνικών ορίων

Οι τεχνικές ομαλοποίησης χρησιμοποιούνται επιτυχώς σε περιπτώσεις/προβλήματα χωρίς επαρκείς πληροφορίες που να οδηγούν σε λύση. Όταν ο αριθμός των

παραμέτρων που πρέπει να εκτιμηθούν είναι συγκριτικά μεγαλύτερος από το μέγεθος του δείγματος, οι εκτιμήσεις είναι πολύ ασταθείς. Εισάγεται η απόκλιση διπλού τύπου στην εκτίμηση του πίνακα συνδιακύμανσης για κάθε ταξινόμηση, με σκοπό να σταθεροποιήσει την πρόβλεψη στην περίπτωση της ανεπαρκούς εκτίμησης των στοιχείων.

Προτείνεται η Ομαλοποιημένη Διακριτική Ανάλυση (Regularized Discriminant Analysis, RDA) [13] ως συμβιβασμός μεταξύ γραμμικής και τετραγωνικής ανάλυσης. Προτείνονται δύο βήματα για ομαλοποίηση. Πρώτον, το σύνολο των πινάκων συνδιακύμανσης $\widehat{\Sigma}_k$ πρέπει να ομαλοποιηθεί με την πιο κάτω εξίσωση

$$\widehat{\Sigma}_k(\lambda) = (1 - \lambda)\widehat{\Sigma}_k + \lambda\widehat{\Sigma} = \frac{(1-\lambda)(n_k-1)S_k + \lambda(n-K)S}{(1-\lambda)(n_k-1) + \lambda(n-K)} \quad (2.10)$$

όπου S_k πίνακας συνδιακύμανσης και S ορίζεται ως $S = \frac{(n_1-1)S_1 + \dots + (n_k-1)S_k}{n_1 + \dots + n_k - 1}$ και n_k και

n το αντίστοιχο μέγεθος του δείγματος. Η παράμετρος ομαλοποίησης $\lambda \in [0,1]$ ελέγχει το βαθμό της συρρίκνωσης του πίνακα συνδιακύμανσης των εκτιμήσεων προς τη συγκεντρωτική εκτίμηση. Εάν n είναι μικρότερη από ή συγκρίσιμη με p , τότε η εκτίμηση του Σ_k πρέπει να ομαλοποιηθεί περαιτέρω από την πιο κάτω εξίσωση,

$$\overline{\Sigma}_k(\lambda, \gamma) = (1 - \gamma)\widehat{\Sigma}_k(\lambda) + \gamma c_k I_p \quad (2.11)$$

όπου I_p είναι ο ταυτοτικός πίνακας ταυτότητας $p \times p$, και $c_k = \text{tr}(\widehat{\Sigma}_k(\lambda))/p$. Για μια δεδομένη τιμή $\lambda \in [0,1]$, η επιπρόσθετη παράμετρος ομαλοποίησης $\gamma \in [0,1]$ ελέγχει τη συρρίκνωση προς ένα πολλαπλάσιο του ταυτοτικού πίνακα. Ο πολλαπλασιαστής c_k είναι η μέση τιμή των ιδιοτιμών του $\widehat{\Sigma}_k(\lambda)$. Αυτή η συρρίκνωση έχει ως αποτέλεσμα τη μείωση των μεγάλων ιδιοτιμών και αύξηση των μικρότερων του $\widehat{\Sigma}_k(\lambda)$, αντισταθμίζοντας έτσι την απόκλιση των εκτιμήσεων. Οι πίνακες συνδιακύμανσης σταθεροποιούνται από μία παράμετρο α , π.χ.

$$\overline{\Sigma}_k(\alpha) = \alpha \overline{\Sigma}_k + (1 - \alpha)\widehat{\Sigma} \quad (2.12)$$

Η παράμετρος $\alpha \in [0,1]$ αντιστοιχεί στο πιο πάνω $(1 - \lambda)$. Οι περιορισμένες περιπτώσεις αντιστοιχούν σε LDA($\alpha=0$) και QDA($\alpha=1$). Για τον καθορισμό της καλύτερης τιμής αυτής της παραμέτρου α , το ποσοστό σφάλματος της εκτίμησης πρέπει να ελαχιστοποιείται κατά τη διαδικασία δόμησης του προτύπου [3,4,6,8,11-18].

Ο πιο απλός τρόπος κατάταξης γίνεται μέσω του υπολογισμού της μικρότερης απόστασης από το μέσο όρο της ομάδας. Αφού βρεθεί η μέση παρατήρηση για την ομάδα, υπολογίζεται η απόσταση όλων των παρατηρήσεων από τη μέση παρατήρηση. Οι παρατηρήσεις επαναπροσδιορίζονται με σημείο αναφοράς τη μέση τιμή. Υπολογίζεται το

σφάλμα της κατάταξης που αντιπροσωπεύει και την αποτελεσματικότητα πιθανής κατάταξης μελλοντικών παρατηρήσεων.

Αρχικά μπορεί να υπολογιστεί η **Ευκλείδεια απόσταση**, D_E των παρατηρήσεων από το κέντρο της ομάδας -πολύ εύκολα με τη βοήθεια ενός χάρακα (Σχήμα 2.14).

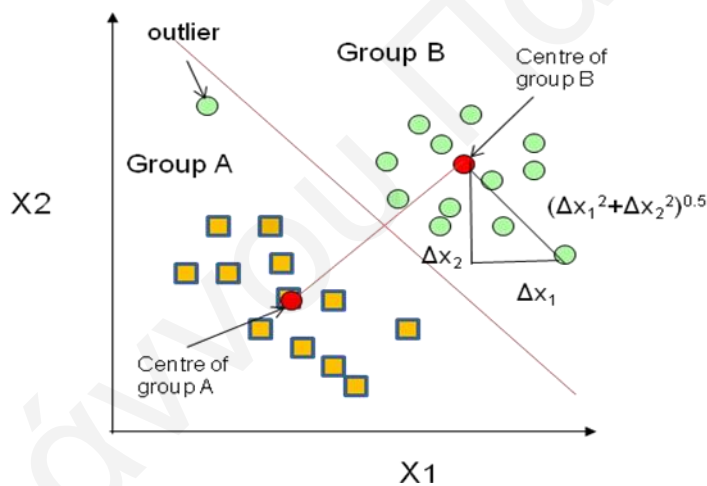
$$D_E = [(\Delta x_1)^2 + (\Delta x_2)^2]^{0.5} \quad (2.13)$$

όπου Δx_1 και Δx_2 είναι οι διαφορές μεταξύ των συντεταγμένων x_1 και x_2 από τις αντίστοιχες τιμές του κέντρου της ομάδας [6].

Σε γενικές περιπτώσεις για r μεταβλητές η σχέση 2.10 γίνεται:

$$D_E = \left(\sum_{i=1}^r \Delta x_i^2 \right)^{0.5} \quad (2.14)$$

όπου Δx_i είναι οι διαφορά των τιμών i μεταβλητών από την παρατήρηση και το κέντρο της ομάδας.



Σχήμα 2.14: Γραμμική Διακριτική Ανάλυση, LDA με τη βοήθεια της Ευκλείδειας απόστασης για δύο ομάδες

Μπορεί επίσης να υπολογιστεί και η απόσταση **Manhattan City Block**, D_C στην οποία υπολογίζεται το άθροισμα των απόλυτων τιμών των διαφορών [6]:

$$D_C = \sum_{i=1}^r |\Delta x_i| \quad (2.15)$$

Η τρίτη απόσταση είναι η απόσταση **Mahalanobis**, D_M . Η απόσταση Mahalanobis μεταξύ της παρατήρησης x_j και της k ομάδας με κέντρο μ_k δίνεται:

$$D_M = ((x_j - \mu_k)^T W^{-1} (x_j - \mu_k))^{0.5} \quad (2.16)$$

όπου x_j και μ_k είναι $(1 \times r)$ ανύσματα και W είναι ο πίνακας συνδιακύμανσης.

Αν υπάρχουν g ομάδες τότε το W δίνεται από τη σχέση [6]:

$$W = \frac{\sum_{k=1}^g (n_k - 1) S_k}{n - g} \quad (2.17)$$

όπου n_k είναι ο αριθμός των παρατηρήσεων και S_k ο πίνακας συνδιακύμανσης της k ομάδας.

Ο υπολογισμός της Ευκλείδειας απόστασης και της απόστασης Manhattan City Block γίνεται σε ομάδες οποιουδήποτε μεγέθους ενώ για τον υπολογισμό της απόστασης Mahalanobis το r δεν πρέπει να υπερβαίνει το $n-g$ [6].

Το τετράγωνο της απόστασης **Mahalanobis**, D^2_M δίνεται από τη σχέση:

$$D^2_M = (x_j - \mu_k)^T W^{-1} (x_j - \mu_k) \quad (2.18)$$

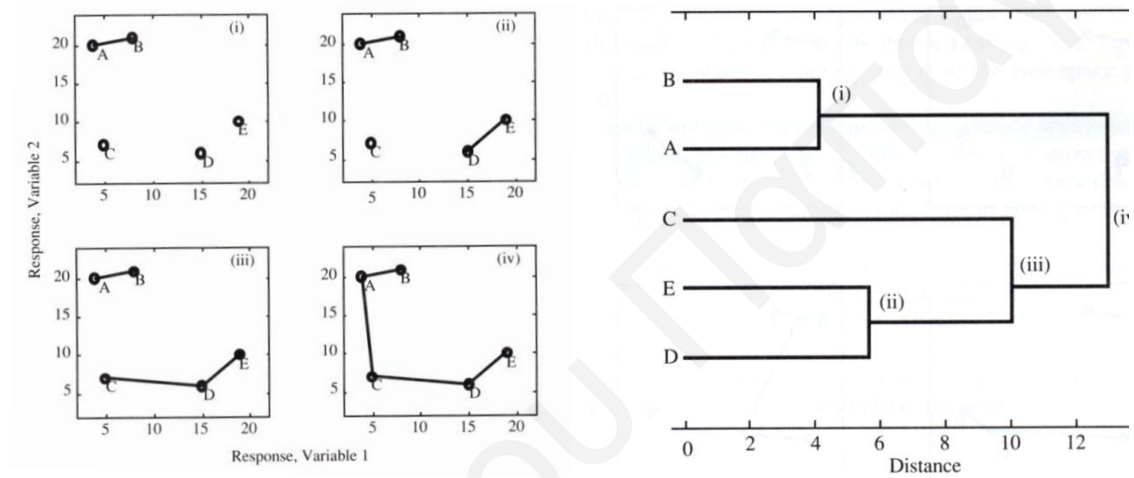
2.9 Ιεραρχική Ανάλυση κατά Συστάδες (Hierarchical Cluster Analysis, HCA)

Η Ιεραρχική Ανάλυση κατά Συστάδες είναι η δομική ανάλυση των δεδομένων με σκοπό τον εντοπισμό των τάξεων/ συστάδων (clusters) ανάμεσα στα δεδομένα, χωρίς να απαιτείται οποιαδήποτε προηγούμενη πληροφορία σχετικά με τις πιθανές τάξεις. Αυτή είναι και η κυριότερη διαφορά μεταξύ της Ανάλυσης Συστάδων (Cluster Analysis) και της Διακριτικής Ανάλυσης (Discriminant Analysis) όπου απαιτείται να είναι γνωστή η ομάδα κατάταξης εκ των προτέρων και να χαρακτηρίζεται από κάποιο κριτήριο [3,4,7,12].

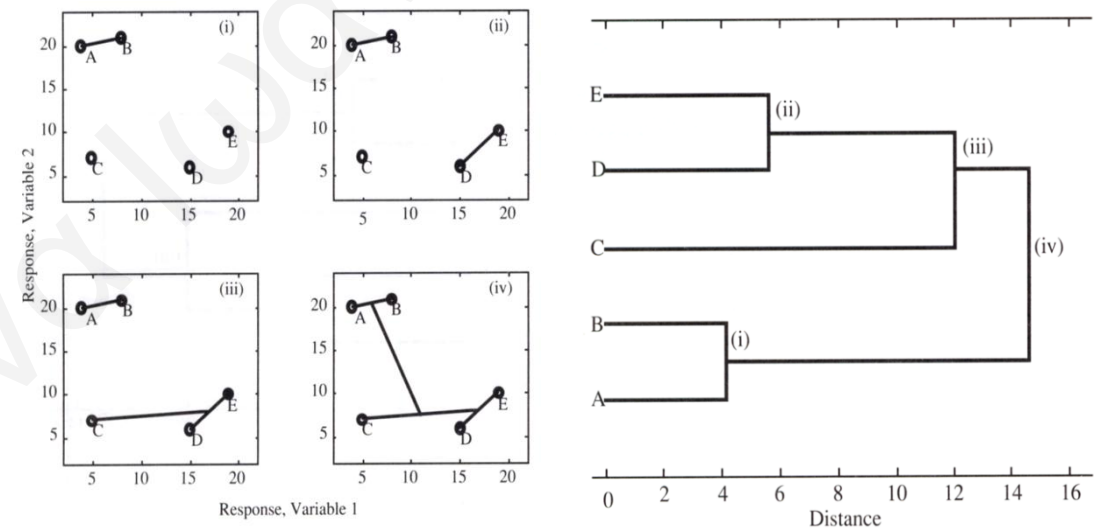
Η Ανάλυση Συστάδων είναι πολύ χρήσιμη στην αρχή της χημειομετρικής ανάλυσης όταν δεν υπάρχει αρκετή γνώση για τα δεδομένα, ενώ απαιτείται η δημιουργία μοντέλου και δόμησης του. Εφαρμόζοντας την Ανάλυση Συστάδων δίνεται η δυνατότητα δημιουργίας τάξεων και η πιθανότητα της ύπαρξης απομακρυσμένων δειγμάτων. Η διαφορά των τάξεων από τις ομάδες είναι η ύπαρξη κριτηρίου: *όταν μπορεί να δοθεί κριτήριο διαχωρισμού τότε η ομάδα (group) γίνεται τάξη (class)*.

Η Ιεραρχική Ανάλυση κατά Συστάδες στηρίζεται μόνο στην απόσταση μεταξύ των δειγμάτων, που αποτελεί και κριτήριο αξιολόγησης των τάξεων, σχετικά με το διαχωρισμό τους. Μπορεί να χρησιμοποιηθεί οποιαδήποτε απόσταση, συνήθως όμως χρησιμοποιείται η Ευκλείδεια ή η απόσταση Mahalanobis. Στην περίπτωση των φασματοσκοπικών δεδομένων -όπου τα φάσματα είναι πανομοιότυπα- εφαρμόζεται στις κύριες συνιστώσες που προκύπτουν από την Ανάλυση των Κύριων Συνιστωσών.

Αρχίζοντας με ένα πίνακα που περιλαμβάνει τις αποστάσεις όλων των δειγμάτων και N τάξεις και με τη χρήση αλγόριθμου δημιουργείται μια ξεχωριστή τάξη για εκείνα τα δείγματα που έχουν τις πιο κοντινές αποστάσεις. Προκύπτει τώρα ένας νέος πίνακας όπου δίνονται οι αποστάσεις των δειγμάτων από τα δείγματα στη νέα τάξη. Στη συνέχεια εντοπίζονται τα δείγματα με τις μικρότερες αποστάσεις και που θα αποτελέσουν τη νέα τάξη. Γίνεται γραφική απεικόνιση της σχέσης μεταξύ των μεταβλητών και των δειγμάτων και των μεταβλητών μεταξύ τους. Τα αποτελέσματα παριστάνονται με δενδρόγραμμα στο οποίο φαίνεται δομή των τάξεων.



Σχήμα 2.15: Απλή σύνδεση για τη δημιουργία συστάδων και το αντίστοιχο Δενδρόγραμμα



Σχήμα 2.16: Κεντροειδής σύνδεση για τη δημιουργία συστάδων και το αντίστοιχο Δενδρόγραμμα

2.10 Δένδρα Ταξινόμησης και Παλινδρόμησης (Classification and Regression Trees, CART)

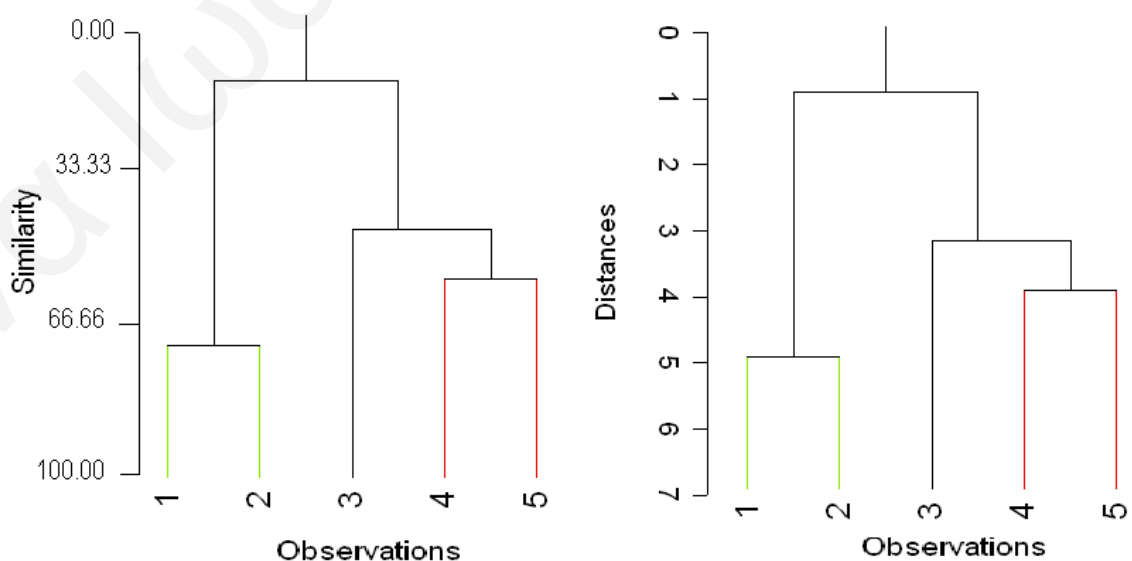
Τα Δένδρα Ταξινόμησης και Παλινδρόμησης (κατηγοριοποίησης) πρόκειται για μια μη παραμετρική μεθοδολογία για θέματα ταξινόμησης, από συνεχείς ή κατηγοριοποιημένες εξαρτώμενες μεταβλητές. Και στις δύο αυτές περιπτώσεις κύριος είναι να δοθεί ένα ακριβές σύνολο από καταναμημένα –τακτοποιημένα δεδομένα. Βοηθάει στην κατανόηση των μεταβλητών ή των αλληλεπιδράσεων των μεταβλητών οι οποίες είναι υπεύθυνες για ένα συγκεκριμένο φαινόμενο το οποίο παρατηρείται [3,24-26].

Τα Δένδρα Ταξινόμησης είναι δένδρα πολυριζικά με ποικίλους τρόπους διάσπασης σε άλλα και διαγραμματική απεικόνιση των τάξεων που προκύπτουν λόγω αλγόριθμων μετασχηματισμού ή λόγω περιστροφής. Στην περίπτωση που υπάρχουν περισσότερες από μια μεταβλητές παλινδρόμησης, τα δένδρα κατάταξης είναι ιδιαίτερα χρήσιμα τόσο για την κατάταξη όσο και για τον εντοπισμό των κυριότερων παραμέτρων που ευθύνονται για αυτή. Ακολουθώντας λογικά διαγράμματα μελετάται η συμπεριφορά κάθε δείγματος.

Συνήθως τα δενδρογράμματα παριστάνονται ορθογώνια και άνισα μεταξύ τους (Σχήμα 2.17) στα οποία ο κάθετος άξονας αντιπροσωπεύει την απόσταση d_{ij} μεταξύ δύο σημείων i και j όταν αυτά ενώνονται ή την ομοιότητα s_{ij} , η οποία δίνεται από τη σχέση $s_{ij}=100(1-d_{ij}/d_{max})$

$$(2.19)$$

Όπου d_{max} είναι ο μεγαλύτερος διαχωρισμός μεταξύ δύο σημείων. Τα δενδρογράμματα είναι τα ίδια εκτός από τον κάθετο άξονα.



Σχήμα 2.17: Δενδρογράμματα ομοιότητας/μεταβλητών και απόστασης/μεταβλητών

Στα Δέντρα Ταξινόμησης και Παλινδρόμησης πρέπει να οριστεί πως ακριβώς θα γίνεται ο διαχωρισμός και τα κριτήρια για την επιλογή ενός βέλτιστου ή ενός τελικού δέντρου για ανάλυση σε αντίθεση με την Ανάλυση Κύριων Συνιστωσών που η εφαρμογή της δεν μπορεί να παρέχει συγκεκριμένες πληροφορίες όταν υπάρχουν πολλές μεταβλητές πρόβλεψης.

2.11 Λογισμικά

Για τη χημειομετρική επεξεργασία των πειραματικών δεδομένων μπορούν να χρησιμοποιηθούν διάφορα λογισμικά πακέτα όπως: SAS, SPSS, MINITAB, Win-DAS (Windows Discriminant Analysis Software), SCAN (Software for Chemometrics ANalysis), MATLAB. Αφού διαμορφωθεί κατάλληλα ο αρχικός πίνακας δεδομένων εισάγεται στα λογισμικά στα οποία εφαρμόζεται Ανάλυση Κύριων Συνιστωσών (PCA), Ανάλυση Μερικών Ελάχιστων Τετραγώνων (PLS), Διακριτική (Διαχωριστική) Ανάλυση (DA) και Γραμμική Διακριτική Ανάλυση (LDA).

Επίσης εφαρμόζονται και μέθοδοι μοντελοποίησης όπως: UNEQ (UNEQUAL dispersed classes), SIMCA (Soft Independent Modeling of Class Analogy), Δένδρα Ταξινόμησης και Παλινδρόμησης (Classification and Regression Trees, CART), Ιεραρχική Ανάλυση κατά Συστάδες (Hierarchical Cluster Analysis, HCA) και Ομαλοποιημένη Διαχωριστική Ανάλυση (Regularized Discriminant Analysis, RDA).

2.12 Εφαρμογές Χημειομετρίας

2.12.1 Χημειομετρικός χαρακτηρισμός του κυπριακού ποτού Ζιβανία

Η Ζιβανία είναι παραδοσιακό αλκοολούχο ποτό της Κύπρου που συνεχίζει να παράγεται μέχρι και σήμερα με τις ίδιες μεθόδους και συνταγές που χρησιμοποιούνταν παραδοσιακά εδώ και πολλά χρόνια.

Η Ζιβανία ή Ζιβάνα είναι το απόσταγμα οίνου ή στέμφυλων (ζιβανα) που παράγεται σε ειδικά καζάνια με τη μέθοδο της απόσταξης και αποτελεί μια επιπλέον διέξοδο για την απορρόφηση των ποσοτήτων των σταφυλιών που πλεονάζουν. Χρησιμοποιούνται ποικιλίες κρασιών όπως το *Ξυνιστέρι* (άσπρα σταφύλια), το *Όφθαλμον* (μαύρα σταφύλια) και το *Μαραθεύτικο* (μαύρα σταφύλια).

Η περιεκτικότητά της σε αιθανόλη κυμαίνεται από 47 έως 52%. Η παραγωγή της επιτυγχάνεται με την πρακτική εφαρμογή της τεχνολογίας των ζυμώσεων. Παρόμοια προϊόντα παράγονται και σε άλλες χώρες και παίρνουν το όνομά τους από την ονομασία

των στέμφυλων, τέτοια είναι το *tsípouro* και η *tsikoudiá* στην Ελλάδα, το *arak* στις Αραβικές Χώρες, το *rakea* στη Βουλγαρία, το *tsuica* στη Ρουμανία, το *grappa* στην Ιταλία κ.ά..

Η αυθεντικότητα της Ζιβανίας οφείλεται στη γεωγραφική της προέλευση, τις κλιματολογικές συνθήκες της Κύπρου, τα χαρακτηριστικά του πρωτογενούς υλικού, τη διαδικασία παραγωγής κ.ά.. Η ιδιαίτερη γεύση της και το άρωμά της οφείλονται στην πολύπλοκη χημική της σύσταση και αυτό ενισχύεται από την ύπαρξη πτητικών ενώσεων οι οποίες μεταφέρθηκαν μέσω της απόσταξης από τα στέμφυλα [3,21,22].

Σε σαράντα δύο αλκοολούχα ποτά της Κύπρου αλλά και άλλων χωρών (πίνακας 2.1) προσδιορίστηκαν 26 χημικές και φυσικοχημικές παράμετροι με τις τεχνικές HPLC, GC, ¹H NMR και ICP αλλά και με άλλες τεχνικές.

Πίνακας 2.1: Χαρακτηρισμός των δειγμάτων που χρησιμοποιήθηκαν

Table 1. Identification and Provenance of Samples Used

S/n	sample label	provenance	group	S/n of grouping	S/n	sample label	provenance	group	S/n of grouping
1	S1	Kykkotiki	zivanja	1	22	S23	Vodka Russian	various distillings	3
2	S2	Kyk. Cabernet	zivanja	1	23	S6	Grappa	various distillings	3
3	S8	Pachna	zivanja	1	24	S12	Tsuica	various distillings	3
4	S19	Kaminaria	zivanja	1	25	S26	Rakea	various distillings	3
5	S20	Kellaki 1	zivanja	1	26	S56	Barberino	various distillings	3
6	S21	Chrysoroyiatissa	zivanja	1	27	S57	Segrel	Various distillings	3
7	S22	Omodos	zivanja	1	28	S58	Becherovka	various distillings	3
8	S31	Ag. Varvara	zivanja	1	29	S15	ARAK al bustan	various distillings	3
9	S33	Lofou	zivanja	1	30	S90	Gantous & Abou Raad	various distillings	3
10	S45	LOEL	zivanja	1	31	S7	Tsipouro Agioritiko	Greek distillings	4
11	S46	SODAP	zivanja	1	32	S16	Tsipouro Makedoniko 1	Greek distillings	4
12	S51	Hjpvliou	zivanja	1	33	S25	Tsipouro Timavou	Greek distillings	4
13	S59	Yeni Raki	zivanja	1	34	S9	Tsikoudia Varvaki	Greek distillings	4
14	S66	KEO	zivanja	1	35	S52	Tsipouro Makedoniko 2	Greek distillings	4
15	S3	Kykkotiki dry	zivanja red	2	36	S97	Tsipouro AMVYX	Greek distillings	4
16	S4	Kykkotiki sweet	zivanja red	2	37	S11	Vat4 (6 years)	eau de vie	5
17	S93	Kykkotiki dry	zivanja red	2	38	S18	Vat17 (1 year)	eau de vie	5
18	S94	Kykkotiki sweet	zivanja red	2	39	S98	EDV ETKO	eau de vie	5
19	S95	Kykkotiki dry	zivanja red	2	40	S99	EDV SODAP	eau de vie	5
20	S96	Kykkotiki sweet	zivanja red	2	41	S100	EDV LOEL1	eau de vie	5
21	S5	Vodka Absolute	various distillings	3	42	S101	EDV LOEL2	eau de vie	5

Η επεξεργασία των δεδομένων έγινε με τη χρήση χημειομετρικών μεθόδων όπως την Ανάλυση Κύριων Συνιστωσών (PCA), την Ανάλυση Συστάδων (CA), τη Διακριτική (Διαχωριστική) Ανάλυση (DA) και Δένδρα Ταξινόμησης και Παλινδρόμησης (CART).

Η Ζιβανία μπορεί να διαφοροποιηθεί από τα αλκοολούχα ποτά των άλλων χωρών με τη χρήση των χημικών και φυσικοχημικών παραμέτρων (κλασικούς προσδιορισμούς, ίχνη μετάλλων, σάκχαρα και πολλές πτητικές και αρωματικές ουσίες).

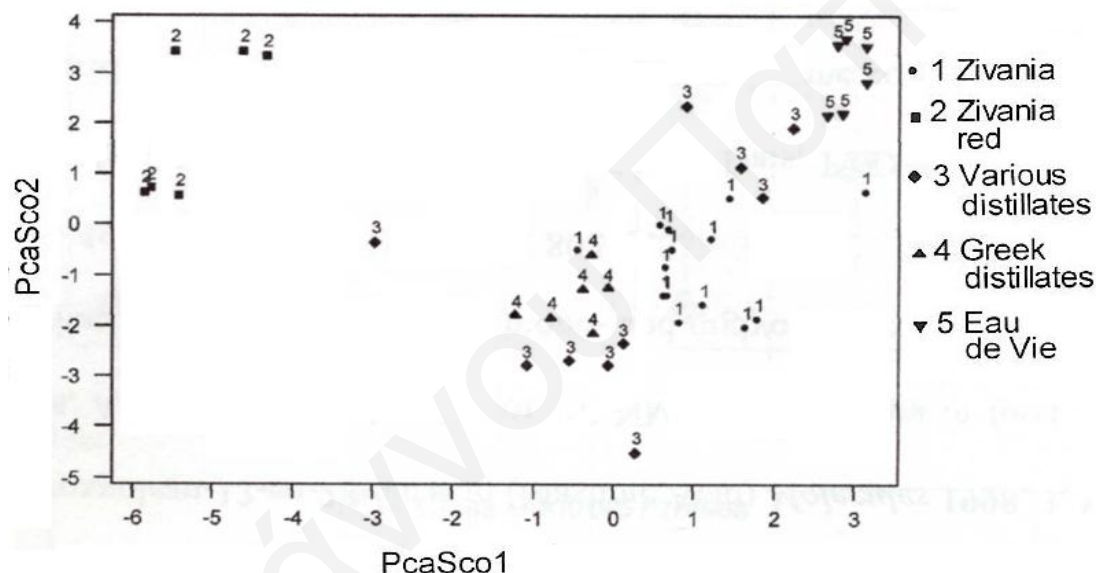
Η Ανάλυση Κύριων Συνιστωσών έγινε με τη χρήση του λογισμικού προγράμματος SCAN, και στον πιο κάτω πίνακα συνδιακύμανσης (πίνακας 2.1) δίνεται η συνδιακύμανση των κύριων συνιστωσών.

Πίνακας 2.2: Αθροιστική Διακύμανση κατά την Ανάλυση Κύριων Συνιστωσών

Component	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Cumulative	25.0	42.5	56.3	64.1	71.0	77.2	82.4	86.7	89.4	91.9

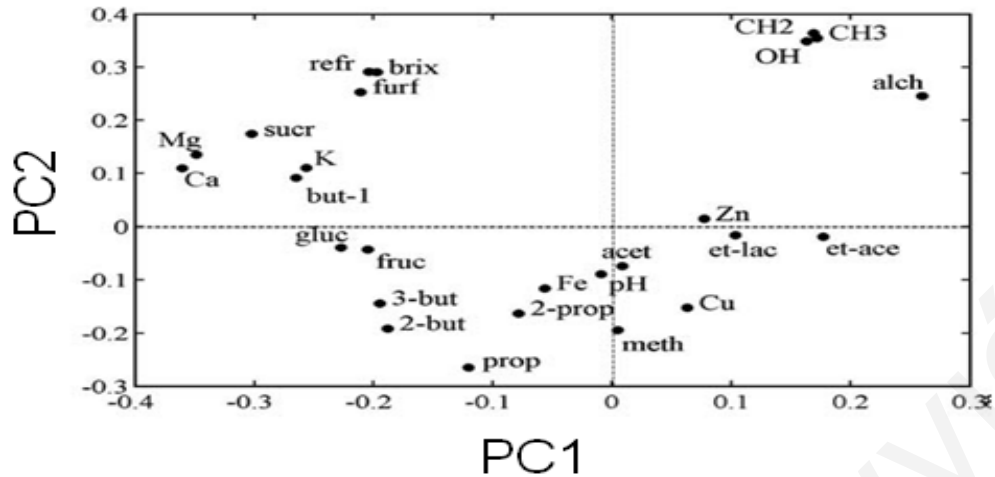
Η συνεισφορά των τριών πρώτων κύριων συνιστωσών αντιπροσωπεύει μικρό ποσοστό της πληροφορίας, μόνο το 56.3%, ενώ το 71.0% της πληροφορίας δίνεται από τις πέντε πρώτες κύριες συνιστώσες.

Αυτό μπορεί να εξηγηθεί από τη μεγάλη διασπορά της ομάδας των *Διαφόρων αλκοολούχων* (Various distillates), όπως φαίνεται και στο διάγραμμα σκέδασης της πρώτης και δεύτερης κύριας συνιστώσας (Σχήμα 2.18) [3,21,22].



Σχήμα 2.18: Διάγραμμα Σκέδασης ως προς την πρώτη και δεύτερη κύρια συνιστώσα που προέκυψαν μετά από PCA 42 δειγμάτων

Η πρώτη κύρια συνιστώσα (Σχήμα 2.19) διακρίνει τα αλκοολούχα ποτά με υψηλό αλκοολικό βαθμό έναντι των δειγμάτων με ψηλή περιεκτικότητα σε ασβέστιο, μαγνήσιο, βουτανόλη-1 και 2-και 3- μεθυλ-βουτανόλη. Η δεύτερη κύρια συνιστώσα διακρίνει ποτά με ψηλό Brix, δείκτη διάθλασης, σουκρόζη και φουρφουράλη έναντι δειγμάτων με ψηλή προπανόλη. Στην τρίτη το pH έρχεται σε αντίθεση με τις ψηλές χημικές μετατοπίσεις των $-OH$, $-CH_2-$ και $-CH_3$ και του αλκοολικού βαθμού. Στην τέταρτη, η βουτανόλη και η αιθυλική λακτόζη έρχεται σε αντίθεση με το pH και το δείκτη διάθλασης.



Σχήμα 2.19: Διάγραμμα φορτίων της 1^{ης} και 2^{ης} κύριας συνιστώσας 42 δειγμάτων

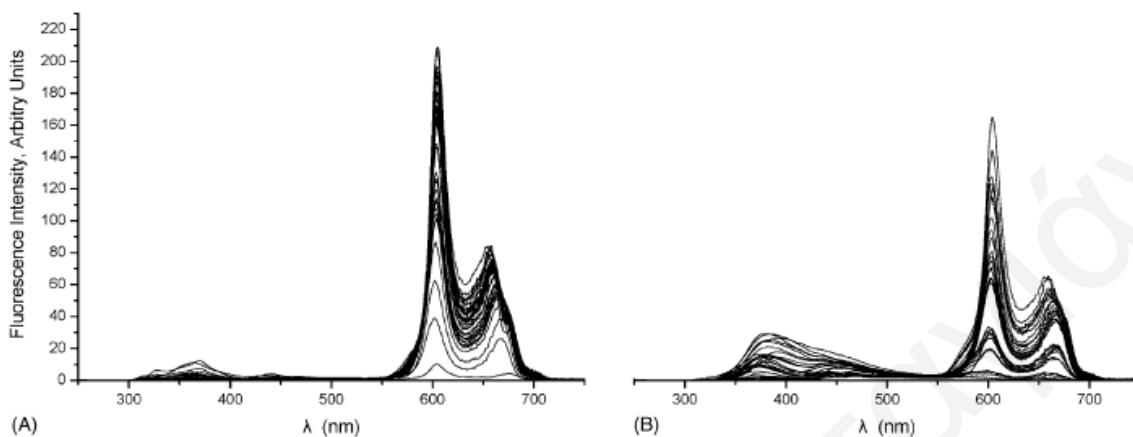
Στο διάγραμμα σκέδασης (Σχήμα 2.18) των δύο κύριων συνιστωσών παρατηρείται ένας καλός διαχωρισμός των *Κόκκινων Ζιβανιών* (σε δύο ομάδες: γλυκές και ξηρές), των *Eau de vie* και των *Ελληνικών Αλκοολούχων* αλλά και η ομάδα των *Ζιβανιών* έχει ξεχωρίσει από τις άλλες ομάδες εκτός από δύο δείγματα. Το ένα από αυτά ήταν *Ζιβανία* διπλής απόσταξης (πίνακας 2.1: S/n 4) και το δεύτερο ήταν *Yeni Raki* προέλευσης από το βόρειο τμήμα της κατεχόμενης Κύπρου (πίνακας 2.1: S/n 13).

Η ομάδα των *Κόκκινων Ζιβανιών* αποτελεί ξεχωριστή ομάδα από αυτή των *Ζιβανιών* αφού περιέχει κανέλλα και άλλα πρόσθετα τα οποία δεν περιέχονται στη *Ζιβανία* και στα άλλα αλκοολούχα ποτά. Η ίδια ομάδα περιγράφεται από τις μεταβλητές (Ca, Mg, K, furfural, sucrose, Brix, Refractive Index) που βρίσκονται στην πάνω αριστερή μεριά του Σχήματος 2.19 και είναι οι μεταβλητές που σχετίζονται με την κανέλλα και τα άλλα εκχυλίσματα που προστίθενται στην κόκκινη *Ζιβανία*[22].

2.12.2 Ταξινόμηση του εδώδιμου ελαιόλαδου και του λαμπάντε

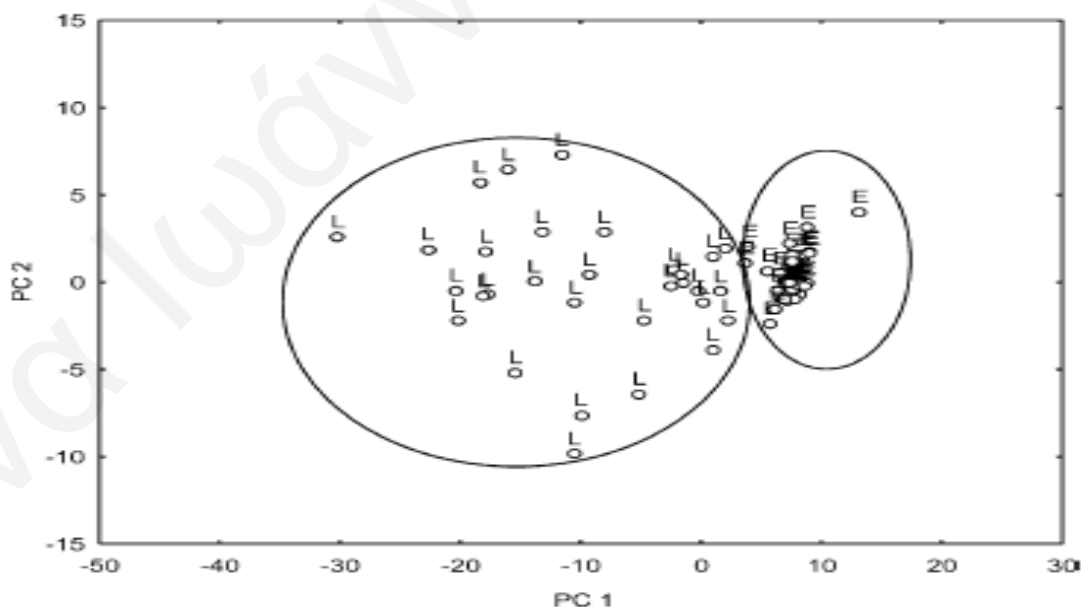
Το παρθένο ελαιόλαδο διαχωρίζεται και κοστολογείται βάση της οξύτητάς του. Παρθένο ελαιόλαδο με οξύτητα μικρότερη των 3.3 βαθμών είναι κατάλληλο για βρώση χωρίς καμία επεξεργασία. Παρθένο ελαιόλαδο με οξύτητα μεγαλύτερη καλείται ελαιόλαδο λαμπάντε και απαιτεί ραφινάρισμα, για να γίνει εδώδιμο. Η κύρια παράμετρος ποιότητας για το παρθένο ελαιόλαδο είναι η οξύτητα η οποία σχετίζεται με τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά του λαδιού αλλά και την τιμή του. Η τιμή του παρθένου ελαιόλαδου αυξάνεται αναλογικά για κάθε 0.1% αύξησης της οξύτητας.

Η διαφοροποίηση των ελαιόλαδων έγινε σε 41 δείγματα εδώδιμου και 32 λαμπάντε ελαιόλαδου και στηρίχθηκε στα φάσματα Φθορισμομετρίας σύγχρονης σάρωσης (Σχήμα 2.20) σε περιοχή 250-750 nm [23].



Σχήμα 2.20: Φάσματα Φθορισμομετρίας σύγχρονης σάρωσης για εδώδιμα (A) και λαμπάντε (B) ελαιόλαδα σε περιοχή 250-750 nm

Η Ανάλυση Κύριων Συνιστωσών επιτρέπει την απεικόνιση των πληροφοριών των στοιχείων σε λίγες κύριες συνιστώσες διατηρώντας τη μέγιστη δυνατή μεταβλητότητα. Η επιτυχία για κάθε δείγμα σε δύο κύριες συνιστώσες είχε ποσοστό 99.3% της πληροφορίας. Στο Σχήμα 2.21 φαίνεται καθαρά ο διαχωρισμός των λαμπάντε από τα εδώδιμα ελαιόλαδα χωρίς λάθος στην ταξινόμηση [23].



Σχήμα 2.21: Διαχωρισμός των λαμπάντε (L) από τα εδώδιμα ελαιόλαδα (E) σε δύο κύριες συνιστώσες, PCA

2.13 Βιβλιογραφία

- [1] R. Kramer, Chemometric Techniques for Quantitative analysis, New York, 1998
- [2] M.Forina, S.Lanteri, C. Armanino, Chemometrics in Food Chemistry, Topics in Current Chemistry, 1987, Vol.141
- [3] Ρ.Κοκκινόφτα Διογένους «Αυθεντικότητα του Παραδοσιακού Κυπριακού Ποτού Ζιβανία», Διδακτορική Διατριβή, Πανεπιστήμιο Κύπρου, Λευκωσία 2003
- [4] C.R.Theocharis, «Use of Chemometric Analysis in the Characterization of the Adsorption Properties of the nanoporous solids»
- [5] Μ.Α.Κωνσταντίνου, «Εφαρμογή Φασματοσκοπίας Πυρηνικού Μαγνητικού Συντονισμού (NMR) στην Αναγνώριση Προτύπων σε Βιολογικά Υγρά», Διδακτορική Διατριβή, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Αθήνα 2003
- [6] E.K.Kemsley, «Discriminant Analysis and Class Modeling of Spectroscopy Data», J.Wiley & Sons, 1998
- [7] J.N.Miller & J.C. Miller, «Statistics and Chemometrics for Analytical Chemistry», Fourth Edition 2000
- [8] E.K. Kemsley, Discriminant analysis of high-dimensional data: a comparison of principal components analysis and partial least squares data reduction methods, Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems, 1996, 33, 47-61
- [9] L.Eriksson, E.Johansson, N. Kettaneh-Wold, S.Wold, «Multi- and Megavariate Data Analysis, Principles and Applications», Umetrics Academy 2001
- [10] V.Wold, Principal Component Analysis, Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems, 1987, 2, 37-52
- [11] L.A.Berruets, R.M.Alonso-Salces, K.Heberger, Supervised pattern recognition in food analysis, Journal of Chromatography A , 2007, 1158, 196-214
- [12] J.C.Lindon, E.Holmes, J.K.Nicolson, Pattern recognition methods and applications in biomedical magnetic resonance, Progress in Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy, 2001, 39, 1-40
- [13] J.H. Friedman, Regularized Discriminant Analysis, Journal of the American Statistical Association, 1989, 84, 165-175
- [14] H.Bensmail, G. Celeux, Regularized Gaussian Discriminant Analysis Through Eigenvalue Decomposition, Journal of the American Statistical Association, 1996, 91, 1743-1748
- [15] M.S. Sanchez, L.A. Sarabia, Efficiency of multi-layered feed-forward neural networks on classification in relation to linear discriminant analysis, quadratic

- discriminant analysis and regularized discriminant analysis, *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems*, 1995, 28, 287-303
- [16] W. Wu, Y. Mallet, B. Walczaka, W. Penninckx, D.L. Massarta, S. Heuerdingb, F. Ernib, Comparison of regularized discriminant analysis, linear discriminant analysis and quadratic discriminant analysis, applied to NIR data, *Analytica Chimica Acta*, 1990, 329,257-265
- [17] U. Römisch, D.Vandev, K. Zur, Application of Interactive Regularized Discriminant Analysis to Wine Data, *Austrian Journal of Statistics*, 2006, 35, 45–55
- [18] U. Römisch, H. Jäger, X. Capron, S. Lanteri, M. Forina, Characterization and determination of the geographical origin of wines. Part III: multivariate discrimination and classification methods, *European Food Research Technology*, 2009, 230, 31-45
- [19] S.Wold, M.Sjöström, L.Eriksson, PLS-regration: a basic tool of chemometrics, *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems*, 2001, 58, 109-130
- [20] R.Rosipal, N.Krämer, Overview and recent Advances in Partial Least Squares, Subspace, Latent Structure and Feature Selection: Statistical and Optimization Perspectives Workshop (SLSFS 2005), Revised Selected Papers (Lecture Notes in Computer Science 3940) Springer-Verlag, Berlin 2006, pp. 34–51
- [21] R. I. Kokkinofta, C. R. Theocharis, Chemometric Characterization of the Cypriot Spirit «Zivania», *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 2005, 53, 5067-5073
- [22] D. Ballabio, R. Kokkinofta, R. Todeschini , C. R. Theocharis, Characterization of the traditional Cypriot spirit Zivania by means of Counterpropagation Artificial Neural Networks, *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems* 2007, 87, 52–58
- [23] K. I. Poulli, G. A. Mousdis, C.A. Georgiou, Classification of edible and lampante virgin olive oil based on synchronous fluorescence and total luminescence spectroscopy, *Analytica Chimica Acta*, 2005, 542, 151–156
- [24] L. Breiman, J.H. Friedman, R.A. Olshen, C.J. Stone, *Classification and Regression Trees*, Wadsworth, Belmont, California, 1984
- [25] F. Questier, R. Put, D. Coomans, B. Walczak, Y. Vander Heyden, The use of CARD and multivariate regression trees for supervised and unsupervised feature selection, *Chemometrics and Intelligent laboratory systems*, 2005, 76, 45-54
- [26] U. Romisch, H. Jager, X. Capron, S. Lanteri, M. Forina, J. Smeyers-Verbek, Characterization and determination of the geographical origin of wines. Part III: multivariate discrimination and classification Methods, *European Food Research and Technology*, 2009, 230, 31–45

3. Αναλυτικές Μέθοδοι

3.1 Υπέρυθρη Φασματοσκοπία, FT-IR

Η Υπέρυθρη Φασματοσκοπία, πρόδρομος της Ενόργανης Ανάλυσης, αναπτύχθηκε τη δεκαετία 1850 από τους Γερμανούς Kirchoff και Bunsen. Η αρχή λειτουργίας του φασματοσκοπίου βασίζεται στην ανάλυση της εκπεμπόμενης ακτινοβολίας από το δείγμα, όταν αυτό θερμαίνεται. Το λαμβανόμενο φάσμα αποτελεί ένα δακτυλικό αποτύπωμα του υπό ανάλυση δείγματος, καθώς κάθε στοιχείο κατά τη διέγερσή του με θέρμανση εκπέμπει ακτινοβολία ορισμένου κύματος. Με την ανάπτυξη της Ηλεκτρονικής το 1930 έγινε συσχέτιση της εκπεμπόμενης ακτινοβολίας με την ποσότητα του δείγματος. Αυτό αποτέλεσε και τη γέννηση των οπτικών τεχνικών ανάλυσης, Φασματοφωτομετρία, Φθορισμομετρία, Νεφελομετρία, Φασματοσκοπία ακτίνων Χ, Φλογοφασματοφωτομετρία, Φασματοσκοπία Πυρηνικού Μαγνητικού Συντονισμού και Φωτοηλεκτρική Φασματοσκοπία. Στις οπτικές τεχνικές ανάλυσης μετράται η ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία που πηγάζει από την ύλη (άτομα, μόρια, ιόντα) ή αλληλεπιδρά με αυτή [1,2].

Η ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία είναι μία μορφή ενέργειας που έχει ιδιότητες σωματιδίου και κύματος. Χαρακτηρίζεται από το μήκος κύματος λ που ορίζεται ως η απόσταση μεταξύ δύο γειτονικών κορυφών. Η συχνότητα ν είναι ο αριθμός των κυμάτων που διέρχονται από ένα σημείο στη μονάδα του χρόνου.

Η συχνότητα και το μήκος κύματος συνδέονται με τη σχέση [1,2]:

$$\nu = \frac{c}{\lambda} \quad (3.1)$$

όπου c η ταχύτητα του φωτός στο κενό που είναι $3 \cdot 10^{10} \text{ cm s}^{-1}$.

$$\text{Ο κυματαριθμός, } \bar{\nu}, \text{ ορίζεται: } \bar{\nu} = \frac{1}{\lambda} \quad (3.2)$$

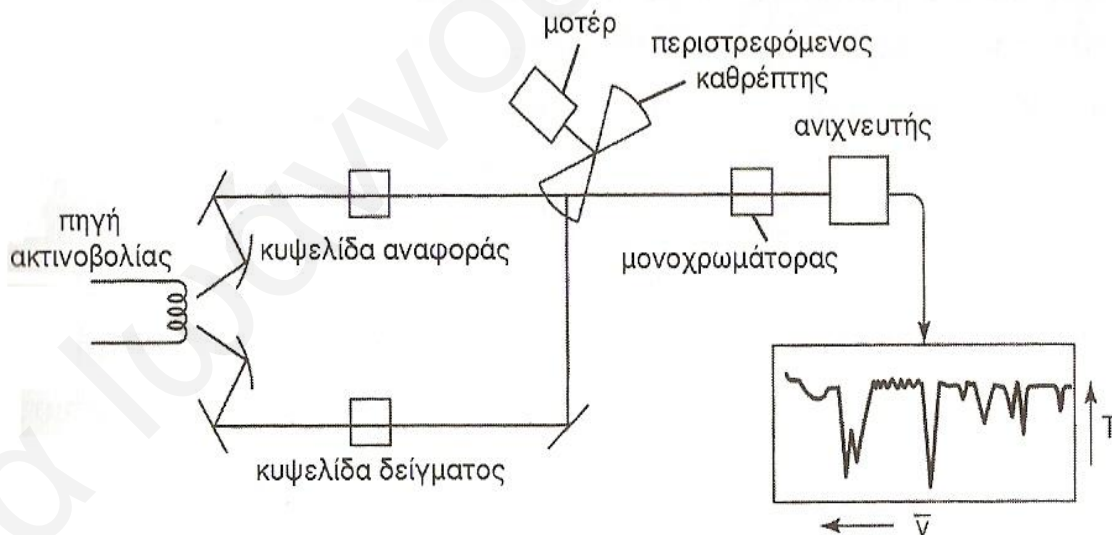
Η Υπέρυθρη Φασματοσκοπία μαζί με τη Φασματοσκοπία Raman, τη NMR και τη Χρωματογραφία μας δίνουν πληροφορίες για τη μοριακή δομή μιας ένωσης. Η Υπέρυθρη Φασματοσκοπία και η Raman είναι φασματοσκοπικές τεχνικές μοριακής δόνησης (ή περιστροφής), καθώς η ακτινοβολία προκαλεί διέγερση των μορίων σε ψηλότερες στάθμες δόνησης ή περιστροφής [3].

Τα φάσματα υπέρυθρου απεικονίζονται γραφικά ως μεταβολές Απορρόφησης (A) ή της Διαπερατότητας (T%) σε σχέση με το μήκος κύματος. Η υπέρυθη ακτινοβολία καλύπτει την περιοχή σε κυματαριθμούς $4000\text{-}400 \text{ cm}^{-1}$ ή μήκους κύματος $2,5\text{-}25 \text{ }\mu\text{m}$. Ένα μόριο απορροφά ακτινοβολία, όταν η διπολική ροπή του μεταβάλλεται κατά τη διάρκεια δόνησης, διαφορετικά η δόνηση θεωρείται ανενεργή στο υπέρυθρο. Όσο μεγαλύτερη είναι

η μεταβολή της διπολικής ροπής, τόσο ισχυρότερη είναι η απορρόφηση. Η υπέρυθη περιοχή μπορεί να διαιρεθεί σε μικρότερες περιοχές, ανάλογα με το ενδιαφέρον που παρουσιάζει στη χημική ανάλυση και τα όργανα που χρησιμοποιούνται για την καταγραφή και μελέτη των φασμάτων:

- Α) *Εγγύς υπέρυθρο*: $10000-4000\text{ cm}^{-1}$, οι απορροφήσεις προέρχονται από δονήσεις τάσεως ατόμων υδρογόνου και είναι πολύ ασθενείς.
- Β) $4000-1600\text{ cm}^{-1}$, οι απορροφήσεις αποδίδονται σε δονήσεις τάσεων διαφόρων ομάδων και χαρακτηρίζεται ως *περιοχή χαρακτηριστικών συχνοτήτων*.
- Γ) *Περιοχή Αποτυπώματος* (fingerprint region): $1660-650\text{ cm}^{-1}$, οι απορροφήσεις δεν είναι χαρακτηριστικές ομάδων αλλά ειδικές για το μόριο ως σύνολο.
- Δ) *Άπω υπέρυθρο*: κάτω των 650 cm^{-1} , οι απορροφήσεις είναι απορροφήσεις σκελετού. Η περιοχή αυτή καλύπτεται από ειδικά φασματοφωτόμετρα μετασχηματισμού Fourier [3-6].

Ένας από τους τελειότερους τύπους φασματοφωτόμετρων υπέρυθρου είναι αυτός που χρησιμοποιεί το συμβολόμετρο του Albert Michelson (Σχήμα 3.1) για την απομόνωση μονοχρωματικής δέσμης και μετασχηματισμούς Fourier για την επεξεργασία των σημάτων [2,5].



Σχήμα 3.1: Σχηματικό διάγραμμα φασματοφωτόμετρου IR διπλής δέσμης

Η δέσμη φωτός που εκπέμπεται από την πηγή ακτινοβολίας προσπίπτει στο διαχωριστή δέσμης. Ένα μέρος της ανακλάται στο σταθερό κάτοπτρο και ένα μέρος στο κινητό κάτοπτρο. Οι ακτίνες που ανακαλούνται επιστρέφουν στο διαχωριστή, όπου το μισό κάθε ακτίνας μεταδίδεται και μισό ανακλάται. Μία επανενωμένη δέσμη διέρχεται στη διεύθυνση του ανιχνευτή και μια άλλη επανέρχεται πίσω στην πηγή. Τα παραγόμενα

σήματα γίνονται αντικείμενο επεξεργασίας με τη βοήθεια των μετασχηματισμών Fourier [2,5]. Τα πλεονεκτήματα ενός οργάνου FTIR σε σχέση με τα κλασικά φασματοφωτόμετρα υπέρυθρου καλύπτουν μεγάλη περιοχή φάσματος, έχουν μεγάλη διακριτική ικανότητα και είναι σταθερή σε όλη την περιοχή του φάσματος, πετυχαίνουν ταχεία σάρωση και καταγραφή φασμάτων, έχουν βελτιωμένη αναλογία σήματος/θορύβου και μεγαλύτερη ευαισθησία η οποία καταγράφεται αυτόματα και είναι το άθροισμα πολλών σαρώσεων σε μικρό χρονικό διάστημα [2,5].

Η Φασματοσκοπία Υπερύθρου είναι γρήγορη, σχετικά φθηνή και μπορεί να εφαρμοστεί εύκολα στη βασική έρευνα, σε εργαστήρια ελέγχου καθώς και σε γραμμές ελέγχου στο εργοστάσιο για την ανάλυση των προϊόντων διατροφής [7]. Η εισαγωγή του μετασχηματισμού Fourier στην τεχνική της υπέρυθρης φασματοσκοπίας (FTIR) έχει αυξήσει τη χρήση της στην ανάλυση των τροφίμων. Με το φασματόμετρο FTIR λαμβάνονται φάσματα υπέρυθρου, μετρώντας το σύνολο των υπέρυθρων συχνοτήτων ταυτόχρονα. Με τον τρόπο αυτό, η τεχνική επιτρέπει ένα πολύ γρήγορο διαχωρισμό και ποσοτικοποίηση των στοιχείων. Ως εκ τούτου, υψηλή απόδοση των δειγμάτων. Η υπέρυθρη φασματοσκοπία δεν μπορεί να εξαλείψει την ανάγκη για λεπτομερείς εργαστηριακές αναλύσεις αλλά μπορεί να βοηθήσει στη διαλογή των δειγμάτων που απαιτούν περαιτέρω εξέταση. Ιδιαίτερη προσοχή απαιτείται όσον αφορά τις πιθανές παρεμβολές μεταξύ των στοιχείων που έχουν παρόμοιες φασματικές περιοχές, κάτι το οποίο συμβαίνει συχνά όταν αναλύονται προϊόντα διατροφής [42].

Όσον αφορά τη χρήση της Φασματοσκοπίας Υπερύθρου, έχουν διαφοροποιηθεί διάφορα κρασιά [8-10] και αλκοολούχα ποτά [43,12], τυριά [13], ελαιόλαδα [14-17] μέλι [18], τσάι [19], καφές [20,21] και διάφοροι χυμοί φρούτων [22-24] με βάση τη γεωγραφική τους προέλευση και παράλληλα γίνεται και ανίχνευση νοθείας στα προϊόντα αυτά. Τα συμπεράσματα προκύπτουν μετά από την επεξεργασία των δεδομένων υπέρυθρης φασματοσκοπίας με χημειομετρικές μεθόδους. Τα περισσότερα από τα φασματικά δεδομένα είναι μεγάλων διαστάσεων, με ένα ενιαίο φάσμα που περιέχει πολλές εκατοντάδες ή και χιλιάδες μεταβλητές. Για το λόγο αυτό, και οι μέθοδοι συμπίεσης γρήγορα έχουν καθιερωθεί ως πολύτιμα εργαλεία για τη φασματοσκοπική ανάλυση των δεδομένων. Τα τελευταία χρόνια, έγινε σημαντική προσπάθεια στην αξιοποίηση των μεθόδων συμπίεσης των δεδομένων: στην Ανάλυση των Κυρίων Συνιστωσών (PCA) και Μερικών Ελάχιστων Τετραγώνων (PLS) [25].

3.2 Φασματοσκοπία Πυρηνικού Μαγνητικού Συντονισμού, NMR

Η φασματοσκοπική ανάλυση μπορεί να γίνει και με ακτινοβολία σε μεγαλύτερα μήκη κύματος, χαμηλή ενέργεια, στην περιοχή των ραδιοσυχνοτήτων. Η τεχνική αυτή ανάλυσης ονομάζεται Φασματοσκοπία Πυρηνικού Μαγνητικού Συντονισμού, NMR.

Ένας διαφορετικός τύπος αλληλεπιδράσεων μεταξύ μάζας και ηλεκτρομαγνητικών δυνάμεων παρατηρείται, όταν το δείγμα εκτίθεται ταυτόχρονα σε δύο μαγνητικά πεδία, ένα στατικό και ένα που να διαφέρει σε κάποια ραδιοσυχνότητα, RF. Σε συγκεκριμένους συνδυασμούς πεδίων το δείγμα απορροφά ενέργεια, οπότε παρατηρείται μεταβολή του σήματος που αναπτύσσεται από έναν ενισχυτή ραδιοσυχνοτήτων και έναν ανιχνευτή [2-4].

Η απορρόφηση της ενέργειας μπορεί να συσχετιστεί με τη φύση του μαγνητικού δίπολου του περιστρεφόμενου πυρήνα. Οι περιστρεφόμενοι πυρήνες προσομοιάζουν με μικρούς μαγνήτες και έτσι, αλληλεπιδρούν με εξωτερικά εφαρμοζόμενο μαγνητικό πεδίο, H.

Σύμφωνα με την κβαντομηχανική θα υπάρχουν $2I+1$ ενεργειακά επίπεδα, όπου I_0 κβαντικός αριθμός spin και η διαφορά ενέργειας μεταξύ τους θα είναι:

$$\Delta E = \frac{\mu H}{I}, \text{ όπου } \mu \text{ η μαγνητική ροπή του περιστρεφόμενου πυρήνα.} \quad (3.3)$$

Εάν πληρείται η συνθήκη $h\nu = \Delta E$, τότε απορροφάται ενέργεια από ένα πεδίο ραδιοσυχνοτήτων, συχνότητας ν . Η συχνότητα είναι χαρακτηριστική και ονομάζεται Larmor.

$$\text{Θέτοντας } \omega = 2\pi\nu \quad (3.4)$$

$$\text{η σχέση (3.3) γράφεται } \frac{\omega}{H} = \frac{2\pi\mu}{hI} = \frac{\mu}{hI} = \gamma \quad (3.5)$$

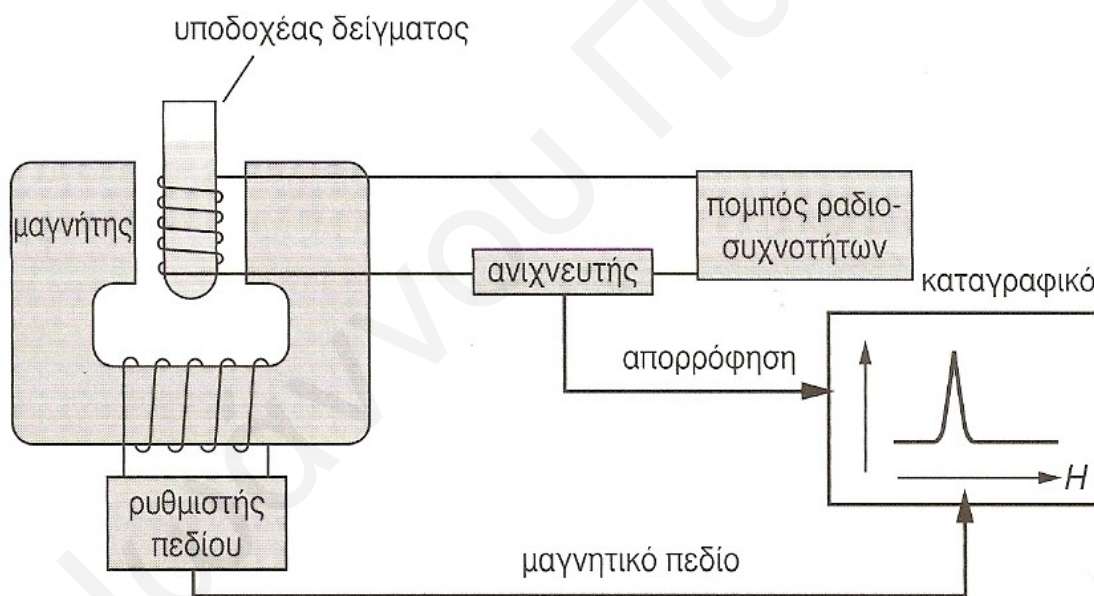
όπου γ , γυρομαγνητικός λόγος.

Σε μια συχνότητα 100MHz η ενεργειακή διαφορά είναι $10^{-2} \text{ cal mol}^{-1}$. Αυτό σημαίνει ότι ο ανιχνευτής θα είναι αρκετά ευαίσθητος. Υπάρχουν δύο τύποι φασματοφωτομέτρου για την παρατήρηση και μέτρηση του πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού. Στον πρώτο μετριέται η απορρόφηση της ενέργειας ή η εκπομπή συντονισμένης ακτινοβολίας. Στο δεύτερο γίνεται εφαρμογή της τεχνικής μετασχηματισμού Fourier.

Η τεχνική της φασματοσκοπίας NMR μπορεί να εφαρμοστεί τόσο για ταυτοποίηση ενώσεων όσο και για ποσοτικούς προσδιορισμούς με ολοκλήρωση των κορυφών.

Το φασματοφωτόμετρο NMR όπως φαίνεται στο σχήμα 3.2, αποτελείται βασικά από τα εξής μέρη [1]:

1. Ένα μαγνήτη για τη δημιουργία ισχυρού ομογενούς μαγνητικού πεδίου, με μεγάλη σταθερότητα στην περιοχή του δείγματος. Για το σκοπό αυτό, χρησιμοποιείται είτε μόνιμος μαγνήτης που εξασφαλίζει εξαιρετική σταθερότητα και ομοιογένεια αλλά χωρίς δυνατότητα μεταβολής της έντασης είτε ηλεκτρομαγνήτης που απαιτεί ακριβή συστήματα σταθεροποίησης αλλά με δυνατότητα μεταβολής της έντασης. Ο μαγνήτης επιτυγχάνει ως γνωστό το διαχωρισμό των πυρήνων σε ενεργειακές καταστάσεις, την α -spin και β -spin.
2. Τον πομπό ραδιοσυχνοτήτων (RF transmitter) που ακτινοβολεί το δείγμα σε διεύθυνση κάθετη προς το μαγνητικό πεδίο.
3. Τον υποδοχέα του δείγματος, που είναι συνήθως ένας γυάλινος σωλήνας, ο οποίος περιστρέφεται γύρω από τον άξονά του, ώστε να διασφαλίζεται ισοκατανομή μαγνητικού πεδίου στο δείγμα προς όλες τις διευθύνσεις. Ο υποδοχέας συνδέεται με το πηνίο, τόσο με την πηγή ακτινοβολίας, όσο και με το σύστημα ανίχνευσης.



Σχήμα 3.2: Σχηματικό διάγραμμα φασματοφωτομέτρου NMR

4. Έναν ανιχνευτή, που είναι δέκτης ραδιοσυχνοτήτων (RF receiver) και ο οποίος μετρά την απορροφημένη από το δείγμα ενέργεια συντονισμού, σε συνάρτηση με την ένταση του μαγνητικού πεδίου ή τη ραδιοσυχνότητα της ακτινοβολίας.
5. Το σύστημα καταγραφής του φάσματος και ολοκλήρωσης των κορυφών του.

Οι κατασκευαστές οργάνων διαθέτουν δύο τύπους φασματοφωτομέτρων NMR: φασματομέτρα χαμηλής διακριτικής ικανότητας, LR-NMR, με εφαρμογές στην ανάλυση των τροφίμων από το 1950 και φασματομέτρα υψηλής διακριτικής ικανότητας, HR-NMR

με εφαρμογές στην ανάλυση τροφίμων από το 1962 [3]. Τα όργανα χαμηλής διακριτικής ικανότητας, LR-NMR, χρησιμοποιούν μικρές συχνότητες των 10-40 MHz. Είναι εύκολα στη χρήση, σχετικά φθηνά και κατάλληλα στην ταχεία εκτέλεση και στην αναπαραγωγιμότητα των μετρήσεων. Ωστόσο η διεξαγωγή ποσοτικής ανάλυσης στα όργανα χαμηλής διακριτικής ικανότητας, LR-NMR, απαιτεί μεθόδους αναφοράς και σε πολλές περιπτώσεις η ακρίβεια της συγκεκριμένης είναι περιοριστικός παράγοντας. Τα φασματόμετρα υψηλής διακριτικής ικανότητας, HR-NMR είναι εξοπλισμένα με μαγνήτες έντασης που ποικίλουν από 1,4-14T, αντιστοιχούν σε πρωτονιακές συχνότητες των 60-1000 MHz, βρίσκουν εφαρμογές σε πολλές μελέτες για την αυθεντικότητα/ γνησιότητα των τροφίμων. Το πλεονέκτημα του φασματόμετρου HR-NMR από το LR-NMR είναι ότι είναι δυνατόν να ληφθούν πιο λεπτομερείς πληροφορίες σχετικά με τη μοριακή δομή σε δείγμα τροφίμου. Το σημαντικότερο μειονέκτημα είναι όμως ότι είναι μία πιο τις πιο ακριβές αναλυτικές τεχνικές, τόσο στο κόστος της αρχικής δαπάνης κεφαλαίου, όσο και στο κόστος λειτουργίας [41,42].

Ο συνδυασμός των $^1\text{H-NMR}$ ή $^{13}\text{C-NMR}$ στη λήψη δακτυλικών αποτυπωμάτων με τις προηγμένες χημειομετρικές τεχνικές παρέχει μια πρωτότυπη προσέγγιση στη μελέτη του προφίλ ενός διατροφικού προϊόντος σε σχέση με τη γεωγραφική του προέλευση. Αν και η χρήση των $^{13}\text{C-NMR}$ για το σκοπό αυτό είναι αρκετά σπάνια, τα φάσματα $^{13}\text{C-NMR}$ για ελαιόλαδα, από διάφορες περιοχές της Ιταλίας ήταν αρκετά πληροφοριακά αλλά και διαφορετικά, ώστε να επιτρέπουν τις διακρίσεις τους [26]. Ιδιαίτερα χρήσιμη είναι η εφαρμογή του $^{13}\text{C-NMR}$ στον προσδιορισμό των λιπαρών οξέων στη σύσταση του ελαιόλαδου [27]. Το $^1\text{H-NMR}$ εφαρμόζεται συχνότερα στο χαρακτηρισμό των ελαιόλαδων ανάλογα με τη γεωγραφική τους προέλευση όπως ο χαρακτηρισμός και ο έλεγχος αυθεντικότητας ιταλικών ελαιόλαδων από τέσσερις διαφορετικές περιοχές της Ιταλίας. Αυτός έγινε σε συνδυασμό με τα $^1\text{H-NMR}$ φασματικά δεδομένα, δευτερευόντων συστατικών (sterols, n-alkanals, trans-2-alkenals, other volatile compounds) και την πολυπαραγοντική ανάλυση [28] καθώς επίσης και ελληνικών παρθένων ελαιόλαδων (κορωνέϊκη) από τρεις περιοχές της Ελλάδας [29]. Εκτός από τα ελαιόλαδα, χυμός μήλου που παράγεται από διαφορετικές ποικιλίες της Αγγλίας (Spartan, Bramley, Russet) μπορεί να διακριθεί με τη βοήθεια χημειομετρικών τεχνικών, όπως Ανάλυση Κυρίων Συνιστωσών και Γραμμική Διακριτική Ανάλυση, στα $^1\text{H-NMR}$ φασματικά δεδομένα [30].

Αυθεντικοί χυμοί πορτοκαλιού είναι μόνο οι χυμοί που παράγονται αποκλειστικά από το σαρκόδες μέρος του πορτοκαλιού χωρίς να προστίθενται ζάχαρη, συντηρητικά ή άλλα συστατικά. Ωστόσο οι χυμοί πορτοκαλιού είναι ένα πολύτιμο αγαθό και η νοθεία τους αποφέρει οικονομικά κέρδη. Στην καθημερινή πρακτική είναι διαθέσιμες πολλές

διαφορετικές τεχνικές για τον έλεγχο ταυτότητας των χυμών πορτοκαλιού, μπορεί όμως να γίνει και με τη χρήση χημειομετρίας σε φάσματα $^1\text{H-NMR}$ αφού πρώτα συμπυκνωθούν τα δείγματα με την τεχνική της λυοφιλίωσης [31].

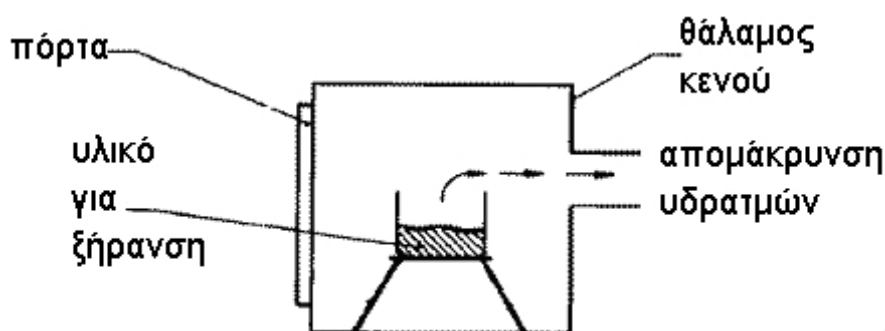
Η $^1\text{H-NMR}$ και $^{13}\text{C-NMR}$ φασματοσκοπία σε συνδυασμό με χημειομετρικές μεθόδους είναι η πιο κατάλληλη προσέγγιση για τη μελέτη της νοθείας του κρασιού όσον αφορά τις ποικιλίες κρασιού, τις περιοχές καταγωγής και το έτος συγκομιδής αλλά και την ανίχνευση της προσθήκης ανεπιθύμητων ή τοξικών ουσιών [27,32-35]. Μπορεί επίσης, να γίνει χημειομετρική ταξινόμηση των κρασιών βάσει γεωγραφικής τους προέλευσης και μελέτη της αυθεντικότητάς τους είτε αυτά προέρχονται από την Ιταλία [36], τη Σλοβενία [37], τη Βραζιλία [38] είτε από την Ισπανία [39]. Χρησιμοποιώντας $^1\text{H-NMR}$ φασματικά δεδομένα σε συνδυασμό με χημειομετρικές τεχνικές, έγινε χαρακτηρισμός και διάκριση του κυπριακού ποτού Ζιβανία από άλλα αλκοολούχα ποτά [40].

3.3 Προ-κατεργασία δειγμάτων

3.3.1 Συμπύκνωση με Λυοφιλίωση (Freeze Drying)

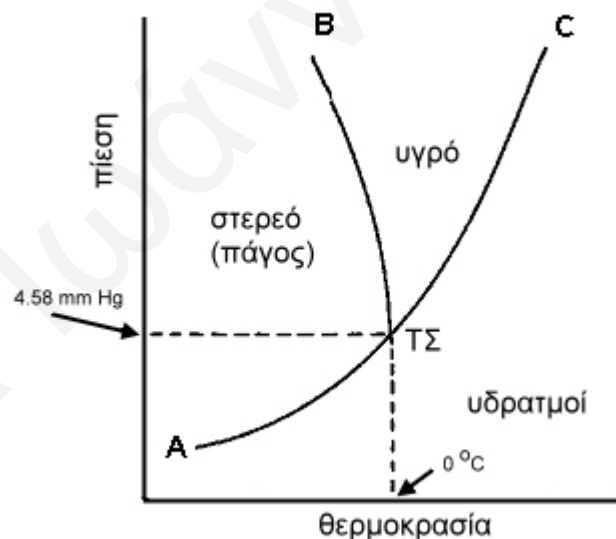
Ένας εναλλακτικός τρόπος ξήρανσης ευαίσθητων υλικών είναι να ψυχθούν σε χαμηλή θερμοκρασία, και στη συνέχεια το νερό να απομακρυνθεί από αυτά με εξάχνωση. Η διεργασία αυτή ονομάζεται κρυοξηρανση ή λυοφιλίωση (freeze-drying ή lyophilization) και βρίσκει ευρύτατη εφαρμογή σε διάφορους βιομηχανικούς κλάδους, όπως για παράδειγμα στη συντήρηση τροφίμων και την παρασκευή φαρμάκων και φαρμακευτικών ειδών (πρωτεΐνες, εμβόλια, κ.ά.). Αναφέρονται επίσης και άλλες, πιο «εξωτικές» και λιγότερο παραγωγικές εφαρμογές, όπως είναι η συντήρηση αρχαιολογικού ή/και αρχαιακού υλικού [44-46].

Κάτω από το τριπλό σημείο (T, P) μια ουσία μεταβαίνει απευθείας από τη στερεή στην αέρια φάση με εξάχνωση, χωρίς να περάσει από το στάδιο της υγρής φάσης. Συνεπώς, προκειμένου να ξηραθεί μια ουσία, ακολουθείται η εξής διαδικασία: αρχικά, ψύχεται η ουσία, οπότε το περιεχόμενο νερό σ' αυτή παγώνει. Στη συνέχεια, τοποθετείται σε αεροστεγή χώρο (σχήμα 3.3), όπου μειώνεται η πίεση σε σημείο κάτω από το τριπλό σημείο του νερού (ή γενικότερα του διαλύτη, σε περίπτωση που έχει χρησιμοποιηθεί άλλο υγρό). Στη χαμηλή αυτή πίεση, το νερό απομακρύνεται με εξάχνωση και απομακρύνεται με κατάλληλο συμπυκνωτή – παγίδα υδρατμών, ενώ ταυτόχρονα το υλικό ψύχεται, δεδομένου ότι για την εξάχνωση του νερού απαιτείται η αντίστοιχη λανθάνουσα θερμότητα εξάχνωσης. Συνήθως, για την επιτάχυνση της διεργασίας το υλικό θερμαίνεται ελαφρά.



Σχήμα 3.3: Βασική διάταξη λυοφιλίωσης

Στο σχήμα 3.4 φαίνεται ότι το τριπλό σημείο του νερού είναι σε θερμοκρασία $T_{T\Sigma} = 0^{\circ}\text{C}$ και πίεση $P_{T\Sigma} = 610.5 \text{ Pa}$ ($= 4.58 \text{ mm Hg}$). Έστω ότι μια ποσότητα νερού ψύχεται σε θερμοκρασία κάτω των 0°C και ότι η πίεσή του είναι κάτω από την πίεση $P_{T\Sigma}$, δηλαδή το νερό βρίσκεται στο χώρο αριστερά από την καμπύλη «Α-ΤΣ» του σχήματος 3.3. Θερμαίνοντας στη συνέχεια το νερό, χωρίς μεταβολή της πίεσης, προσεγγίζουμε την καμπύλη «Α-ΤΣ», οπότε το νερό περνάει από τη στερεή στην αέρια φάση (εξάχνωση) χωρίς να παρεμβληθεί η υγρή φάση [44-46].



Σχήμα 3.4: Τριπλό σημείο νερού.

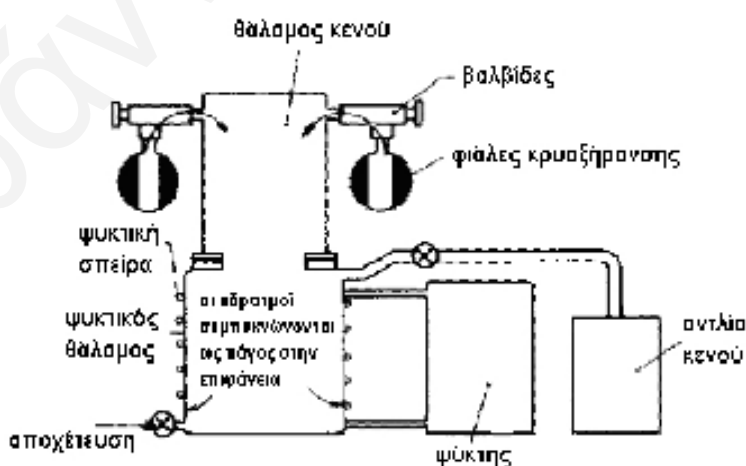
Στην πράξη, ακολουθείται ένας διαφορετικός τρόπος απομάκρυνσης της υγρασίας: ο θάλαμος, μέσα στον οποίο έχει τοποθετηθεί το υλικό, επικοινωνεί με άλλον θάλαμο,

όπου επικρατεί ακόμα χαμηλότερη θερμοκρασία, και οι υδρατμοί τείνουν να φύγουν από το υλικό υπό ξήρανση και να αποθεθούν στην πιο κρύα επιφάνεια.

Για παράδειγμα, έστω ότι διατηρούμε το υλικό στους -14°C -σ' αυτή τη θερμοκρασία, η τάση ατμών του νερού είναι $181.3\text{Pa}=1.36\text{mmHg}$ - και σε συγκοινωνούντα θάλαμο έχουμε μια επιφάνεια σε θερμοκρασία -40°C - όπου η τάση ατμών του νερού είναι $12.9\text{Pa}=0.097\text{ mmHg}$. Η διαφορά πίεσης που παρατηρείται ανάμεσα στην επιφάνεια του υλικού και στην πιο κρύα επιφάνεια είναι αρκετή, για να επιτείνει την απομάκρυνση της υγρασίας του υλικού και την ξήρανσή του.

Σημειώνεται ότι σε πολλά υλικά το νερό βρίσκεται σ' αυτά με δυο μορφές: το *ελεύθερο* και το *δεσμευμένο* ή κρυσταλλικό νερό και η λυοφιλίωση γίνεται σε δύο φάσεις. Ο στόχος της πρώτης φάσης είναι να παγώσει και να απομακρυνθεί το *ελεύθερο* νερό. Ο ρυθμός με τον οποίο ψύχεται το υλικό επηρεάζει το μέγεθος των κρυστάλλων πάγου, που σχηματίζονται: αν η ψύξη είναι ταχεία, οι κρύσταλλοι είναι μικροί, ενώ αν η ψύξη γίνει αργά και σταδιακά, οι κρύσταλλοι είναι μεγαλύτεροι. Το μέγεθος των κρυστάλλων του πάγου, επηρεάζει και τη δομή του προϊόντος, που προκύπτει από τη λυοφιλίωση: από υλικό με λεπτοκρυσταλλικό πάγο προκύπτει ξηρό υλικό με μικρούς πόρους, ενώ από μεγαλοκρυσταλλικό πάγο προκύπτει υλικό με μεγάλους πόρους.

Στο σχήμα 3.5 παρουσιάζεται η χαρακτηριστική σχηματική διάταξη της λυοφιλίωσης, που περιλαμβάνει τον κύριο θάλαμο, την ψυχόμενη ατμοπαγίδα με την ψυκτική μονάδα και την αντλία κενού.



Σχήμα 3.5: Σχηματικό διάγραμμα εργαστηριακής συσκευής λυοφιλίωσης

Η τεχνική της λυοφιλίωσης στο ερευνητικό στάδιο χρησιμοποιείται κυρίως στη συμπύκνωση υδατικών δειγμάτων, ώστε να γίνεται καλύτερη μελέτη των ουσιών που βρίσκονται σε μικρή ποσότητα [38,40,43,47-49].

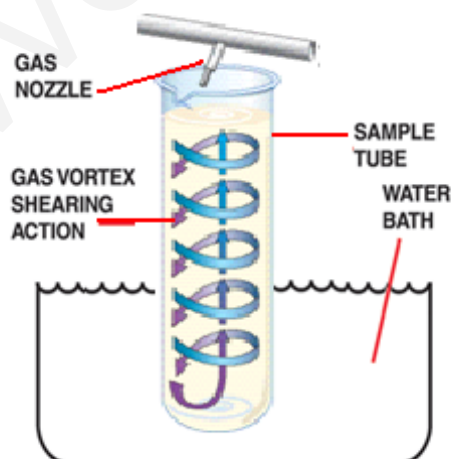
3.3.2 Συμπύκνωση με Ροή Αζώτου

Το αέριο άζωτο, εξαιτίας της αδράνειάς του, χρησιμοποιείται ευρέως από τη χημική βιομηχανία ως αδρανές κάλυμμα για την προστασία μίας ουσίας από ανεπιθύμητη επαφή με το οξυγόνο και την υγρασία. Έτσι, χρησιμοποιείται για τη διατήρηση τροφών, ως ασφαλές κάλυμμα υγρών εκρηκτικών, στην παραγωγή ολοκληρωμένων κυκλωμάτων και ανοξειδώτου χάλυβα.

Το άζωτο έχει τη δυνατότητα να συμπυκνώνει το δείγμα καθώς γίνεται γρήγορη απομάκρυνση του διαλύτη ή του νερού με σκοπό την ανίχνευση ουσιών και ενώσεων που βρίσκονται στο δείγμα σε ελάχιστες ποσότητες [38,50].

Η διαδικασία εξάτμισης πραγματοποιείται με περιδίνηση του φυσικού αερίου και ενισχύεται από την ελεγχόμενη θερμοκρασία στο υδατόλουτρο και τη ρυθμιζόμενη παροχή του αερίου.

Σε αυτού του είδους τον εξατμιστήρα η ροή του αερίου κατευθύνεται στους σωλήνες δείγματος σε μια συγκεκριμένη γωνία. Η περιδίνηση, η οποία δημιουργείται από την ανατίναξη του αζώτου που ταξιδεύει στο δοκιμαστικό σωλήνα, όπου υπάρχει το δείγμα, ξεκινώντας από την επιφάνεια προς το εσωτερικό, παρέχοντας ταχύτερη εξάτμιση από τις συμβατικές μεθόδους (σχήμα 3.6).



Σχήμα 3.6: Απεικόνιση της συμπύκνωσης με ροή αζώτου

3.4 Βιβλιογραφία

- [1] Σ.Λιοδάκης, Αναλυτική Χημεία, Θέματα και Προβλήματα, Αθήνα 2001
- [2] Ι.Παπαδογιάννης, Β.Φ. Σαμανίδου, Ενόργανη Χημική Ανάλυση, Θεσσαλονίκη 2001
- [3] D.A.Skoog, F.J. Holler, T.A.Nieman, Principles of Instrumental Analysis, 5th Edition, 1998
- [4] Ν.Αλεξάνδρου, Γενική Οργανική Χημεία, Δομή, Φάσματα, Μηχανισμοί, Θεσσαλονίκη 1985
- [5] Θ.Α. Κουϊμτζή, Ενόργανη Χημική Ανάλυση, Θεσσαλονίκη 1985
- [6] Δ.Ν.Νικολαΐδης, Μαθήματα Οργανικής Χημείας, Θεσσαλονίκη 1991
- [7] C. Cordella, I.Moussa, A.-C. Martel, N. Sbirrazzuoli, L. Lizanni-Cuvelier, Recent Developments in Food Characterization and Adulteration Detection: Technique-Oriented Perspectives, Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2002, 50, 1751-1764
- [8] L. Liu, D. Cozzolino, W.U. Cynkar , R.G. Damberg, L. Janik, B.K. O'Neill, C.B. Colby, M. Gishen, Preliminary study on the application of visible–near infrared spectroscopy and chemometrics to classify Riesling wines from different countries, Food Chemistry, 2008, 106, 781–786
- [9] M. Palma , C.G. Barroso, Application of FT-IR spectroscopy to the characterization and classification of wines, brandies and other distilled drinks, Talanta, 2002, 58, 265–271
- [10] D. Cozzolino, H. E. Smyth, M. Ginshen, Feasibility Study on the Use of Visible and Near-Infrared Spectroscopy Together with Chemometrics To Discriminate between Commercial White Wines of Different Varietal Origins, Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2003, 51, 7703-7708
- [11] M.J.C. Pontes, S.R.B. Santos, M.C.U.Araujo, L.F. Almeida, R.A.C. Lima, E.N. Gaiao, U.T.C.P. Souto, Classification of distilled alcoholic beverages and verification of adulteration by near infrared spectrometry, Food Research International, 2006, 39, 182–189
- [12] P.A. Tarantilis, V.E. Troianou , C.S. Pappas, Y.S. Kotseridis, M.G. Polissiou, Differentiation of Greek red wines on the basis of grape variety using attenuated total reflectance Fourier transform infrared spectroscopy, Food Chemistry, 2008, 111, 192–196

- [13] Karouia, J.O. Bossetb, G. Mazerollesc, A.Kulmyrzaeva, E. Dufoura, Monitoring the geographic origin of both experimental French Jura hard cheeses and Swiss Gruyere and L'Etivaz PDO cheeses using mid-infrared and fluorescence spectroscopies: a preliminary investigation, *International Dairy Journal*, 2005, 15, 275–286
- [14] A. Rohman, Y.B. Che Mana, Fourier transform infrared (FTIR) spectroscopy for analysis of extra virgin olive oil adulterated with palm oil, *Food Research International*, 2010, 43, 886–892
- [15] V. Baeten, J.A.F. Pierna, P. Dardenne, M. Meurens, D.L. Garcia-Gonzalez, R. Aparicio-Ruiz, Detection of the Presence of Hazelnut Oil in Olive Oil by FT-Raman and FT-MIR Spectroscopy, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2005, 53, 6201-6206
- [16] M.J. Lerma-Garcva , G. Ramis-Ramos, J.M. Herrero-Martvnez, E.F. Simo-Alfonso, Authentication of extra virgin olive oils by Fourier-transform infrared spectroscopy, *Food Chemistry*, 2010, 118, 78–83
- [17] M.De Luca, W.Terouzi, G. Ioele, F.Kzaiber , A. Oussama, F. Oliverio, R. Tauler, G. Ragno, Derivative FTIR spectroscopy for cluster analysis and classification of morocco olive oils, *Food Chemistry*, 2011, 124, 1113–1118
- [18] D. Bertelli, M. Plessi, A.G. Sabatini, M. Lolli, F. Grillenzoni, Classification of Italian honeys by mid-infrared diffuse reflectance spectroscopy (DRIFTS), *Food Chemistry*, 2007, 101, 1565–1570
- [19] G. Budinova, D. Vlacil, O. Mestek, K. Volka, Application of infrared spectroscopy to the assessment of authenticity of tea, *Talanta*, 1998, 47, 255–260
- [20] R.Briandet, E.K.Kemsley, R.H.Wilson, Discrimination of Arabica and Robusta in Instant Coffee by Fourier Transform Infrared Spectroscopy and Chemometrics, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 1996, 4,170-174
- [21] J.Wang, S. Jun, H.C. Bittenbender, L. Gautz, Q.X. Li, Fourier Transform Infrared Spectroscopy for Kona Coffee Authentication, *Journal of Food Science*, 2009, 74, 385-391
- [22] R. Fugel, R. Carle,A. Schieber, Quality and authenticity control of fruit purées, fruit preparations and jams—a review, *Trends in Food Science & Technology*, 2005, 16, 433–441

- [23] G. Downey , J. Daniel Kelly, Detection and Quantification of Apple Adulteration in Diluted and Sulfited Strawberry and Raspberry Purées Using Visible and Near-Infrared Spectroscopy, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 2004, 52, 204-209
- [24] H. Vardi, A. Tay, B.Ozen, L.Mauer, Authentication of pomegranate juice concentrate using FTIR spectroscopy and chemometrics, *Food Chemistry*, 2008, 108, 742–748
- [25] E.K. Kemsley, Discriminant analysis of high-dimensional data: a comparison of principal components analysis and partial least squares data reduction methods, *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems*, 1996, 33, 47-61
- [26] D. Shaw, A. di Camillo, G. Vlahov, A. Jones, G. Bianchi, J. Rowland, D. B. Kell, Discrimination of the variety and region of origin of extra virgin olive oils using ^{13}C NMR and multivariate calibration with variable reduction, *Analytica Chimica Acta* 1997, 348, 1-3, 357-374
- [27] N. Ogrinc, I. J. Košir, J. E. Spangenberg, J. Kidrič, The application of NMR and MS methods for detection of adulteration of wine, fruit juices, and olive oil. A review, *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 2003, 376, 424–430
- [28] R. Sacchi, L. Mannina, P. Fiordiponti, P. Barone, L.Paolillo, M. Patumi, A.Segre Characterization of Italian Extra Virgin Olive Oils Using ^1H -NMR Spectroscopy, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 1998, 46, 3947-3951
- [29] P. V. Petrakis, A. Agiomyrgianaki, S. Christophoridou, A. Spyros, P. Dais, Geographical Characterization of Greek Virgin Olive Oils (Cv. Koroneiki) Using ^1H and ^{31}P NMR Fingerprinting with Canonical Discriminant Analysis and Classification Binary Trees, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2008, 56, 3200–3207
- [30] P. S. Belton, I. J. Colquhoun, E. K. Kemsley, I. Delgadillo, P. Roma, M. J.Dennis, M. Sharman, E. Holmes, J. K. Nicholson, M. Spraul, Application of chemometrics to the ^1H NMR spectra of apple juices: discrimination between apple varieties, *Food Chemistry*, 1998, 61, Issues 1-2, 207-213
- [31] J. T. W. E. Vogels, L. Terwel, A. C. Tas, F. van den Berg, Fred Dukel, J. van der Greef, Detection of Adulteration in Orange Juices by a New Screening Method

- Using Proton NMR Spectroscopy in Combination with Pattern Recognition Techniques, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 1996, 44, 175-180
- [32] I. J. Košir, J. Kidrič, Identification of Amino Acids in Wines by One- and Two-Dimensional Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2001, 49, 50-56
- [33] H. S. Son, K. M. Kim, F. Van Den Berg, G. S. Hwang, W. M. Park, C.H. Lee, Y. S. Hong, ¹H Nuclear Magnetic Resonance-Based Metabolomic Characterization of Wines by Grape Varieties and Production Areas, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2008, 56, 8007–8016
- [34] G. E. Pereira, J.P. Gaudillere, C.Van Leeuwen, G.Hilbert, M. Maucourt, C. Deborde, A. Moing, D. Rollin ¹H-NMR metabolic profiling of wines from three cultivars, three soil types and two contrasting vintages, *International Journal of vine and wine Science*, 2007, 41, N0 2, 103-109
- [35] G E. Pereira, J. P. Gaudillere, C. van Leeuwen, G. Hilbert, M. Maucourt, C. Deborde, A. Moing, D. Rolin, ¹H NMR metabolite fingerprints of grape berry: Comparison of vintage and soil effects in Bordeaux grapevine growing areas, *Analytica Chimica Acta*, 2006, 563, 346-352
- [36] M.A. Brescia, V. Caldarola, A. De Giglio, D. Benedetti, F.P. Fanizzi, A. Sacco, Characterization of the geographical origin of Italian red wines based on traditional and nuclear magnetic resonance spectrometric determinations, *Analytica Chimica Acta*, 2002, 458, 177–186
- [37] M. A. Brecia, I.J. Košir, V. Caldarola, J. Kidrič, A. Sacco, Chemometric Classification of Apulian and Slovenian Wines Using ¹H NMR and ICP-OES Together with HPICE Data, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2003, 51, 21-26
- [38] F. M. Amaral, M. S.B. Caro, Investigation of different pre-concentration methods for NMR analyses of Brazilian white wine, *Food Chemistry*, 2005, 93, 507-510
- [39] J.E. Gimenez-Miralles, D. M. Salazar, I. Solana, Regional Origin Assignment of Red Wines from Valencia (Spain) by ²H NMR and ¹³C IRMS Stable Isotope Analysis of Fermentative Ethanol, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 1999, 47, 2645-2652

- [40] R. I. Kokkinofta, C. R. Theocharis, Chemometrics Characterization of the Cypriot Spirit “Zivania”, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2005, 53, 5067-5073
- [41] L.M. Reida, C.P.O'Donnellb,G. Downey, Recent technological advances for the determination of food authenticity, *Trends in Food Science & Technology*, 2006, 17, 344-353
- [42] Dion M.A.M. Luykx, S.M. van Ruth, An overview of analytical methods for determining the geographical origin of food products, *Food Chemistry*, 2008, 107, 897-911
- [43] Ρ.Κοκκινόφτα Διογένους «Αυθεντικότητα του Παραδοσιακού Κυπριακού Ποτού Ζιβανία», Διδακτορική Διατριβή, Πανεπιστήμιο Κύπρου, Λευκωσία 2003
- [44] Θ. Καραπάντσιος, Α.Ζουμπούλης, Κ.Μάτης, Π. Μαύρος, «Στοιχεία φυσικών διεργασιών», Εκδόσεις ΤΖΙΟΛΑ , 2009
- [45] Δ.Μπόσκου, «Χημεία Τροφίμων με στοιχεία Τεχνολογίας Τροφίμων» Θεσσαλονίκη 1986
- [46] Ι.Τσαγκατάκης, «Χημεία Τροφίμων», Πανεπιστήμιο Κρήτης, Κρήτη 2008
- [47] J.T.W.E. Vogels, L. Terwel, A. C. Tas, F. van den Berg, F. Dukel, J.van der Greef, Detection of Adulteration in Orange Juices by a New Screening Method Using Proton NMR Spectroscopy in Combination with Pattern Recognition Techniques, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 1996, 44, 175-180
- [48] G. E. Pereira, J.-P. Gaudillere, C. van Leeuwen, G. Hillbert, M. Maucourt, C. Deborde, A. Moing, D. Rolin, 1H-NMR metabolic profiling of wines from three cultivars, three soil types and two contrasting vintages, Vith International Terroir Congress 2006
- [49] G. E. Pereira, J.-P. Gaudillere, C. van Leeuwen, G. Hillbert, O. Laviail, M. Maucourt, C. Deborde, A. Moing, D. Rolin, 1H-NMR and Chemometrics to characterize mature grape berries in four wine- growing areas in Bordeaux, France, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2005, 53, 6382-6389
- [50] E. Schievano, E. Peggion, S. Mammi, 1H Nuclear magnetic Resonance Spectra of chloroform extract of honey for chemometric determination of its botanical origin, *Agricultural and Food Chemistry*, 2010, 58, 57-65

4. Πειραματικά Μέρος

4.1 Δειγματοληψία

Η παρούσα έρευνα περιλαμβάνει τη μελέτη εξήντα τεσσάρων (64) δειγμάτων, από τα οποία τα τριάντα τέσσερα (34) ήταν Κουμανδαρίες και τα τριάντα (30) ήταν διάφορα άλλα κρασιά. Η ομάδα των Κουμανδαριών περιλάμβανε δείγματα ενδυναμωμένα με οινική αλκοόλη και μη ενδυναμωμένα, από διάφορους παραγωγούς και διαφορετική χρονιά παραγωγής. Τα δείγματα αυτά είχαν συλλεγεί στο πλαίσιο του τριετούς προγράμματος «ΥΓΕΙΑ/0603/11» (2005-2007). Επίσης, αγοράστηκαν και Κουμανδαρίες από την αγορά. Έγινε προσπάθεια συλλογής κρασιών από άλλες χώρες που να έχουν παρόμοια διαδικασία παραγωγής με την Κουμανδαρία.

Οι κατηγορίες κρασιών περιλάμβαναν:

- A. Το *Βισάντο Σαντορίνης*: Ένα παραδοσιακό γλυκό κρασί που ανήκει στην κατηγορία των Οίνων Ελεγχόμενης Ονομασίας Προέλευσης (Ο.Ε.Ο.Π.) και παράγεται από λιαστά σταφύλια που καλλιεργούνται στην Θήρα και Θηρασιά.
- B. Η *Μαυροδάφνη Πατρών*: Ένα γλυκό κρασί που ανήκει στην κατηγορία των Οίνων Ελεγχόμενης Ονομασίας Προέλευσης (Ο.Ε.Ο.Π.) και παράγεται στην Αχαΐα.
- Γ. Το *Port, Oporto, Dao, Vinho do Porto*: Γλυκό κόκκινο κρασί το οποίο σεββίρεται κατεξοχήν ως επιδόρπιο. Ανήκει στην κατηγορία των ενδυναμωμένων κρασιών και παράγεται στην κοιλάδα Douro της Πορτογαλίας και είναι Οίνος Ελεγχόμενης Ονομασίας Προέλευσης (Ο.Ε.Ο.Π.).
- Δ. Το *Madeira*: Γλυκό κόκκινο κρασί το οποίο ανήκει στην κατηγορία των ενδυναμωμένων κρασιών και παράγεται στα νησιά Madeira της Πορτογαλίας. Η ιδιαιτερότητα στην παραγωγή του είναι ότι ζεσταίνεται στους 60°C για 90 ημέρες. Ανήκει και αυτό στην κατηγορία των Οίνων Ελεγχόμενης Ονομασίας Προέλευσης (Ο.Ε.Ο.Π.).
- E. Το *Vin Santo*: γλυκό κρασί που ανήκει στην κατηγορία των Οίνων Ελεγχόμενης Ονομασίας Προέλευσης (Ο.Ε.Ο.Π.) και παράγεται από λιαστά σταφύλια που καλλιεργούνται στην περιοχή της Τοσκάνης στην Ιταλία.

Τα δείγματα των Κουμανδαριών σημάνθηκαν τυχαία με το γράμμα Κ και επίθεμα από 1-34, ενώ τα υπόλοιπα κρασιά σημάνθηκαν επίσης τυχαία με το γράμμα W και επίθεμα από 1-30. Όλες οι πληροφορίες για τα δείγματα δίνονται στον Πίνακα 4.1α και β.

Πίνακας 4.1α: Δείγματα Κουμανδαριών

α/α	Δείγμα	Χαρακτηρισμός	Τύπος
1	K1	Αγ. Μάμας 2003 Δεξ.5	Μη ενδυναμωμένη
2	K2	Γεράσα 2003 Δεξ.1	Μη ενδυναμωμένη
3	K3	Γεράσα 2003 Δεξ.2	Μη ενδυναμωμένη
4	K4	Αγ.Κωνσταντίνος 2003 Δεξ.4	Μη ενδυναμωμένη
5	K5	Καρσεράς-Δωρός 2003 Δεξ.1	Μη ενδυναμωμένη
6	K6	Καρσεράς-Δωρός 2003 Δεξ.6	Μη ενδυναμωμένη
7	K7	Καρσεράς-Δωρός 2003 Δεξ.7	Μη ενδυναμωμένη
8	K8	Καρσεράς-Δωρός 2003 Δεξ.ΣΤ	Μη ενδυναμωμένη
9	K9	Καλό Χωριό 2003 Δεξ.7	Μη ενδυναμωμένη
10	K10	Καλό Χωριό 2003 Δεξ.9	Μη ενδυναμωμένη
11	K11	Καλό Χωριό 2003 Δεξ.10	Μη ενδυναμωμένη
12	K12	Ζωοπηγή 2003 Δεξ.4	Μη ενδυναμωμένη
13	K13	Ζωοπηγή 2003 Δεξ.2	Μη ενδυναμωμένη
14	K14	Λάνια 2003 Δεξ.ΣΤ1	Μη ενδυναμωμένη
15	K15	Λάνια 2003 Δεξ.ΣΤ2	Μη ενδυναμωμένη
16	K16	Λάνια 2003 Δεξ.8	Μη ενδυναμωμένη
17	K17	Δωρός ProtOen 2003	Μη ενδυναμωμένη
18	K18	ΣΟΔΑΠ_VarYrs Tel.16	Ενδυναμωμένη
19	K19	ΣΟΔΑΠ 1981 Tel.17	Ενδυναμωμένη
20	K20	ΕΤΚΟ 1980 C1-C2O	Ενδυναμωμένη
21	K21	ΕΤΚΟ 1999 P103-P189	Ενδυναμωμένη
22	K22	ΕΤΚΟ 2000	Ενδυναμωμένη
23	K23	Δωρός ΕΤΚΟ_Bef1979	Ενδυναμωμένη
24	K24	Αγ.Κωνσταντίνος ΣΟΔΑΠ 2000	Ενδυναμωμένη
25	K25	Αγ.Κωνσταντίνος ΣΟΔΑΠ 2002	Ενδυναμωμένη
26	K26	Crusenters Κουμανδαρία Ifadi CO	Εμπορίου
27	K27	ΕΤΚΟ Κουμανδαρία	Εμπορίου
28	K28	ΕΤΚΟ Κουμανδαρία	Εμπορίου
29	K29	ΚΕΟ Κουμανδαρία	Εμπορίου
30	K30	ΚΕΟ Κουμανδαρία	Εμπορίου
31	K31	Πλατανής Κουμανδαρία	Εμπορίου
32	K32	Αγ.Αναστασία Μοναστήρι Κύκκου	Εμπορίου
33	K33	Αλάσια ΛΟΕΛ Κουμανδαρία	Εμπορίου
34	K34	St Varnavas Κουμανδαρία ΣΟΔΑΠ	Εμπορίου

Πίνακας 4.1β(συνέχεια): Δείγματα κρασιών

α/α	Δείγμα	Χαρακτηρισμός	Προέλευση
35	W1	VINSANTO Οίνος παλαιωμένος φυσικός Γλυκός σοδειάς 1983 Κτήμα Αργυρού Σαντορίνη	Ελλάδα
36	W2	GRAHAMS TAWNY PORT , OPORTO ανωτέρας ποιότητας οίνος 20%	Πορτογαλία
37	W3	GRAHAMS MALVEDOS, OPORTO ανωτέρας ποιότητας οίνος 20% ΣΟΔΕΙΑ 1996	Πορτογαλία
38	W4	Μοσχάτος Ρίου Πατρών	Ελλάδα
39	W5	VINSANTO del Chianti Frescobald	Ιταλία
40	W6	Slovenian IceWine	Σλοβενία
41	W7	VINSANTO Οίνος λικέρ από λιαστά σταφύλια SANTO WINES ΣΑΝΤΟΡΙΝΗ	Ελλάδα
42	W8	NIKO LAZARIDI ΜΕΛΙΣΣΟΥΡΓΟΣ Οίνος επιτραπέζιος ερυθρός Φυσικός Γλυκός, Καβάλα	Ελλάδα
43	W9	MANDYS MADEIRA	Πορτογαλία
44	W10	OFFLEY RUBY PORT	Πορτογαλία
45	W11	Sandeman Port	Πορτογαλία
46	W12	1999 Vinsanto Οίνος φυσικός γλυκός λιαστός, Ονομασία Προέλευσης Σαντορίνη, Έτος εμφιάλωσης 2004, Boutari	Ελλάδα
47	W13	Antonio da Sangallo, Vinsanto di Montepulciano 2001, Fattoria del Cerro	Ιταλία
48	W14	Vinsanto Mezzo, Οίνος Παλαιωμένος φυσικός γλυκός, 2001, Ονομασία Προέλευσης Σαντορίνη, Κτήμα Αργυρού	Ελλάδα
49	W15	Visanto Κουτσογιαννόπουλος, Οίνος παλαιός φυσικός γλυκός, Santorini Volcan Wines	Ελλάδα
50	W16	Taylor's Select Port	Πορτογαλία
51	W17	Sandeman Founders Reserve Porto	Πορτογαλία
52	W18	Ramos Pinto Port LBV, 2001 late bottled Vintage, 2006	Πορτογαλία
53	W19	Offley Porto TAWNY	Πορτογαλία
54	W20	DOW'S Late bottled Vintage Port	Πορτογαλία
55	W21	Rainha Santa Port Rei	Πορτογαλία
56	W22	Cossart Gordon Good Company full rich Madeira	Πορτογαλία
57	W23	Blandy's Rich Madeira	Πορτογαλία
58	W24	Banyuls 2004 Red Wine, M.Chapoutier	Γαλλία
59	W25	Αγία Μαύρη Ερυθρός Ημίγλυκος KILANI	Κύπρος
60	W26	Μαυροδάφνη Πάτρας, Ονομασία Προέλευσης Μαυροδάφνη Πατρών, Πατραϊκή	Ελλάδα
61	W27	Μαυροδάφνη Πάτρας, Οίνος Γλυκός Φυσικός, Ονομασία Προέλευσης Μαυροδάφνη Πατρών Τσάνταλη	Ελλάδα
62	W28	Απ.Ανδρέας Εκκλησιαστικός Οίνος Γλυκό κρασί Χριστοδουλόπαις ΛΤΔ Λευκωσία	Κύπρος
63	W29	Αγ.Νεκταρία Οίνος Λικέρ Εκκλησιαστικός LOEL	Κύπρος
64	W30	Αγ.Κωνσταντίνος NAMA Liqueur wine SODAP	Κύπρος

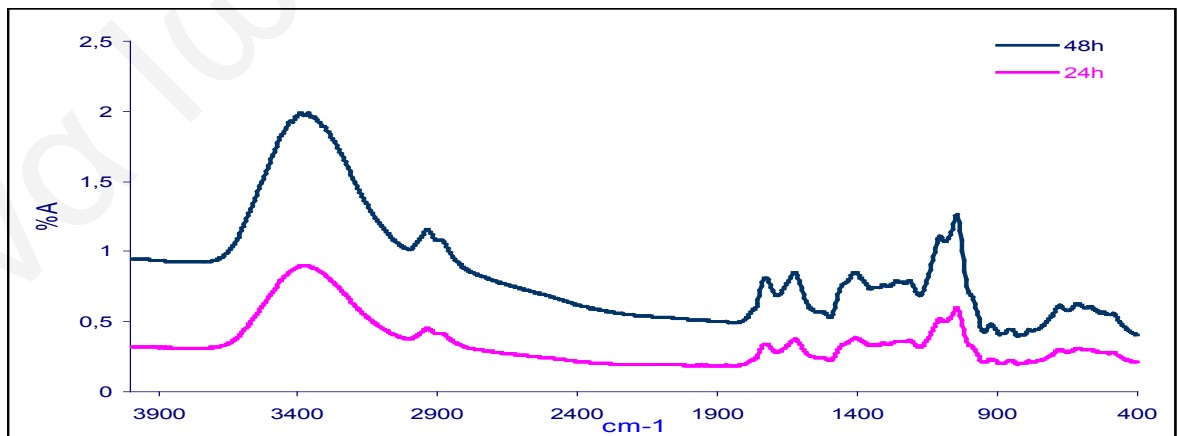
4.2 Συμπύκνωση δειγμάτων με Λυοφιλίωση

Για τη λυοφιλίωση των δειγμάτων χρησιμοποιήθηκε συσκευή λυοφιλίωσης μοντέλο Alfa 1-2, εταιρείας Christ (Εικόνα 4.1). Στις γυάλινες φιάλες, όπως φαίνεται στην εικόνα 4.1, τοποθετήθηκαν 30ml δείγματος σε σφαιρικές φιάλες για 24 h, σε θερμοκρασία $-55\text{ }^{\circ}\text{C}$ και τελική πίεση στο δοχείο ξήρανσης 2,5 mPa. Τα δείγματα συμπυκνώθηκαν 6 φορές.



Εικόνα 4.1: Λυοφιλιωτής Alfa 1-2, Christ

Έγιναν δοκιμές συμπύκνωσης αρχικά στις 24 και στη συνέχεια στις 48 ώρες, όμως δεν υπήρχαν ουσιαστικές διαφορές στα φάσματα FTIR των δειγμάτων, όπως φαίνεται και στο Σχήμα 4.1, έτσι όλα τα δείγματα συμπυκνώθηκαν για 24 ώρες [1].



Σχήμα 4.1: Σύγκριση φάσματος FTIR Κουμανδαρίας λυοφιλωμένης 24 και 48 ώρες

Η συμπύκνωση με λυοφιλίωση είχε ως αποτέλεσμα την απομάκρυνση του νερού χωρίς την αλλαγή της σύστασης του δείγματος ή τη δημιουργία άλλων ενώσεων [1]. Λόγω μεγάλης περιεκτικότητας των Κουμανδαριών και των γλυκών κρασιών σε σάκχαρα, τα δείγματα μετά τη λυοφιλίωση ήταν παχύρρευστα.

4.3 Συμπύκνωση δειγμάτων με Αζωτο

Για τη συμπύκνωση των δειγμάτων με ροή αζώτου χρησιμοποιήθηκε συσκευή εξάτμισης TurboVar LV, Concentration Evaporator, εταιρείας Caliper (εικόνα 4.2). Χρησιμοποιώντας το TurboVar LV τα υδατικά δείγματα εξατμίζονται πολύ πιο γρήγορα από ότι σε οποιαδήποτε άλλη συσκευή. Δεν απαιτείται μεγάλη ποσότητα δείγματος, τα ακροφύσια έχουν σταθερή θέση, γι' αυτό δεν είναι δυνατή η επιμόλυνση των δειγμάτων επίσης είναι ελεγχόμενη η θερμοκρασία στο υδρόλουτρο αλλά και η ροή του αζώτου.

Τοποθετήθηκαν 5ml δείγματος σε δοκιμαστικούς σωλήνες, σε θερμοκρασία 40 °C και ροή αζώτου με πίεση 15 Psi. Τα δείγματα συμπυκνώθηκαν 5 φορές για 6-7 h.



Εικόνα 4.2: Συσκευή Εξάτμισης με ροή αζώτου TurboVar LV Concentration Evaporator, εταιρείας Caliper

4.4 Λήψη φασμάτων με χρήση Φασματοσκοπίας Υπερύθρου με μετασχηματισμό Fourier, FTIR

Για την εξαγωγή πληροφοριών για τις χαρακτηριστικές ομάδες κορυφών των λυοφιλιωμένων δειγμάτων Κουμανδαρίας και διάφορων κρασιών χρησιμοποιήθηκε η Φασματοσκοπία Υπερύθρου με μετασχηματισμό Fourier, FTIR.

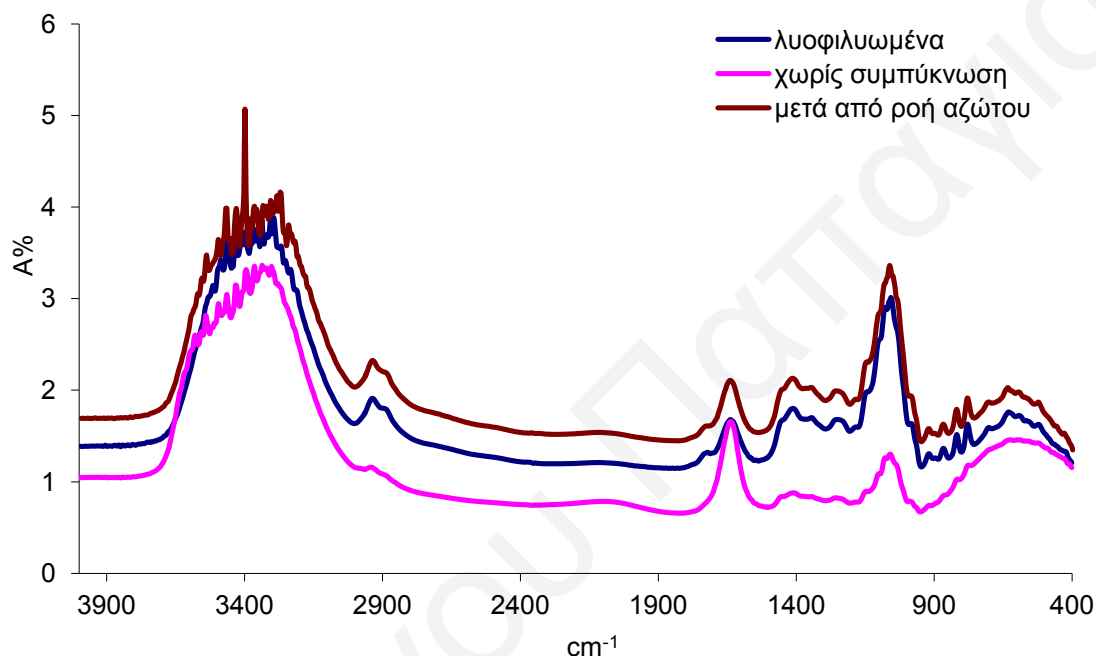
Τα φάσματα λήφθηκαν σε φασματοφωτόμετρο Shimadzu FT-8900, συνδεδεμένο με ηλεκτρονικό υπολογιστή με λογισμικό HYPER-IR. Τα φάσματα λήφθηκαν, αφού τα δείγματα έγιναν δισκίο με KBr, χρησιμοποιώντας συγκεκριμένη ποσότητα συμπυκνωμένου δείγματος -μετά από λυοφιλίωση και ροή αζώτου- στα $400\text{-}4000\text{ cm}^{-1}$, με 40 σαρώσεις (scans) και διακριτική ικανότητα (Resolution) 8 cm^{-1} (Σχήμα 4.2). Κάθε δείγμα αντιπροσωπεύεται από φάσμα 933 σημείων.

Η ανάλυση των φασμάτων FTIR Κουμανδαρίας δείχνει δονήσεις τάσης του O–H στην περιοχή $3000\text{-}3700\text{ cm}^{-1}$ (Σχήμα 4.2) που οφείλονται σε αλκοόλες και φαινόλες. Η περιοχή $900\text{-}1200\text{ cm}^{-1}$ ανήκει στη ζώνη απορρόφησης των κυριότερων συστατικών του κρασιού της αιθανόλης και των αναγωγικών σακχάρων, όπως είναι η γλυκόζη και η φρουκτόζη [1,2]. Στην ίδια περιοχή απορροφούν και τα οξέα των κρασιών, κυρίως ταρταρικό, μηλικό, γαλακτικό, ηλεκτρικό κιτρικό, σορβικό και οξικό οξύ.

Στην περιοχή του δακτυλικού αποτυπώματος της συμπυκνωμένης Κουμανδαρίας παρατηρείται εντονότερη η ένταση των κορυφών στους $2800\text{-}2950\text{ cm}^{-1}$ και $550\text{-}1800\text{ cm}^{-1}$ σε σύγκριση με μη συμπυκνωμένα δείγματα (Σχήμα 4.2).

Στα φάσματα παρατηρούνται ασύμμετρες και συμμετρικές δονήσεις τάσης του $\text{-CH}_2\text{-}$ στους 2946 cm^{-1} και 2900 cm^{-1} . Η δόνηση τάσης C=O στους 1740 cm^{-1} και στους 1640 cm^{-1} είναι δονήσεις τάσης αλδευδών, κετονών, οξέων με καρβονλική ομάδα και εστέρων [3,7]. Η ύπαρξη των οξέων και εστέρων ενισχύεται και από τη δόνηση τάσης του δεσμού C-O στους 1260 cm^{-1} . Στην Κουμανδαρία σύμφωνα με τη χημική της σύσταση υπάρχουν σορβικό οξύ, ακεταλδεύδη και οξικός αιθυλεστέρας [5].

Γενικά στην περιοχή $1680-900\text{ cm}^{-1}$ οι ζώνες οφείλονται στις φαινόλες που υπάρχουν στο κρασί [3]. Η απορρόφηση στους $1640-1630\text{ cm}^{-1}$ πιθανόν να έχει σχέση με την τάση δόνησης του αρωματικού C=C των ανθοκυανών [4,8]. Στην περιοχή του ορατού $400-700\text{ cm}^{-1}$ είναι δυνατή η απορρόφηση φαινολικών χρωστικών ουσιών που βρίσκονται στα κόκκινα κρασιά και πιο συγκεκριμένα στους 550 cm^{-1} απορροφούν οι ανθοκυάνες [11].



Σχήμα 4.2: Σύγκριση φάσματος FTIR Κουμανδαρίας, χωρίς συμπίκνωση, λυοφιλωμένης και μετά από ροή αζώτου

Οι ζώνες 1207 cm^{-1} , $1110-1100\text{ cm}^{-1}$ και $1068-1062\text{ cm}^{-1}$ ανήκουν σε δονήσεις τάσεις του δεσμού C-O και η ζώνη $1320-1420\text{ cm}^{-1}$ στη δόνηση τάσης του O-H. Οι απορροφήσεις αυτές ανήκουν είτε σε οργανικά οξέα είτε σάκχαρα (φρουκτόζη, γλυκόζη και σουκρόζη) συστατικά των γλυκών κρασιών αλλά και της Κουμανδαρίας [2,6,9,10].

Η απορρόφηση του αρωματικού δακτυλίου C=C-C βρίσκεται γύρω στα $1450-1510\text{ cm}^{-1}$ και $1580-1615\text{ cm}^{-1}$. Η ζώνη του OH που παρουσιάζεται στην περιοχή $1410-1260\text{ cm}^{-1}$ υποδεικνύει την πιθανή ύπαρξη ενώσεων όπως οι ταννίνες, υπεύθυνες για το κόκκινο χρώμα των κρασιών και της Κουμανδαρίας [11].

Η περιοχή που θα μελετηθεί χημειομετρικά είναι κυρίως η περιοχή των σακχάρων $1900-500\text{ cm}^{-1}$.

4.5 Λήψη φασμάτων με χρήση Φασματοσκοπίας Πυρηνικού Μαγνητικού Συντονισμού, NMR

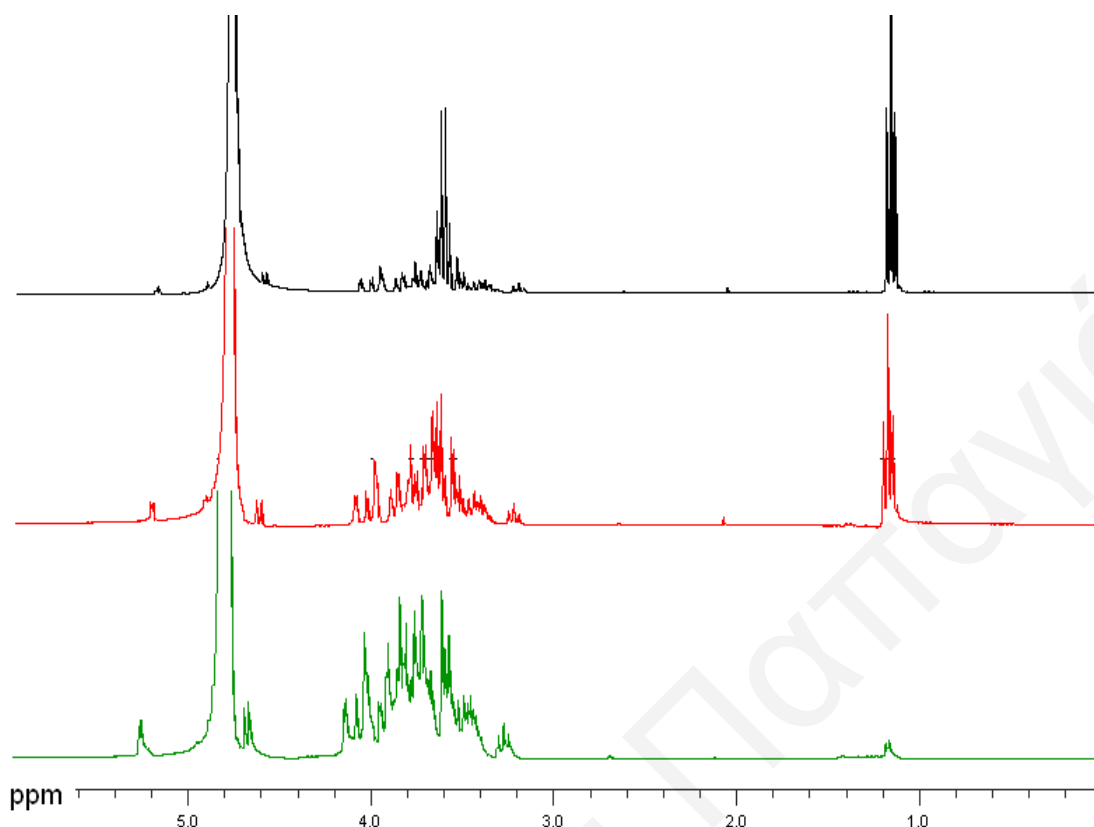
Για την εξαγωγή πληροφοριών σε δείγματα Κουμανδαρίας και κρασιών μη συμπυκνωμένων, λυοφιλιωμένων και συμπυκνωμένων μετά από ροή αζώτου χρησιμοποιήθηκε και η Φασματοσκοπία Πυρηνικού Μαγνητικού Συντονισμού, NMR.

Η λήψη των φασμάτων $^1\text{H-NMR}$ έγινε σε φασματοφωτόμετρο Bruker συχνότητας 300MHz.

Για τη λήψη των φασμάτων $^1\text{H-NMR}$ σε δείγματα χωρίς συμπύκνωση χρησιμοποιήθηκαν 0.3 ml του δείγματος και αυτή η ποσότητα διαλύθηκε σε 0.2 ml δευτεριωμένου νερού (D_2O). Χρησιμοποιήθηκαν 0.1 ml λυοφιλιωμένου δείγματος και δείγματος που συμπυκνώθηκε μετά από ροή αζώτου και διαλύθηκε σε 0.4 ml D_2O . Τα φάσματα λήφθηκαν, αφού τοποθετήθηκε μικρή ποσότητα δείγματος σε τριχοειδή σωλήνα NMR, 5 mm με 16 σαρώσεις (scans) για κάθε δείγμα. Κάθε φάσμα δείγματος αντιπροσωπεύεται από 32768 σημεία και γίνεται διόρθωση της κορυφής του ^1H του H_2O στα 4.82 ppm.

Στο Σχήμα 4.3 παρατηρούνται εντονότερες κορυφές στο φάσμα των συμπυκνωμένων δειγμάτων (λυοφιλιωμένων και συμπυκνωμένων με ροή αζώτου) σε σχέση με το φάσμα του δείγματος χωρίς προ-κατεργασία. Στην περιοχή των αλειφατικών ενώσεων 0-3 ppm οι κορυφές οφείλονται σε αλκοόλες, οργανικά οξέα (κιτρικό, οξικό κ.α.) και αμινοξέα [12]. Στη μεσαία περιοχή 3-6 ppm παρατηρούνται εντονότερες κορυφές που οφείλονται στα σάκχαρα (φρουκτόζη, γλυκόζη, σουκρόζη), ενώ στην περιοχή των αρωματικών ενώσεων 6-10 ppm δεν παρατηρείται καμία κορυφή [13].

Στα φάσματα $^1\text{H-NMR}$ της Κουμανδαρίας παρατηρούμε την τριπλή κορυφή του μεθυλίου με χημική μετατόπιση 1.15 ppm και την τετραπλή κορυφή του μεθυλενίου με χημική μετατόπιση 3.65 ppm, χαρακτηριστικές της αιθανόλης [1,12]. Οι κορυφές αυτές είναι εντονότερες στην Κουμανδαρία χωρίς καμία συμπύκνωση, σε αντίθεση με τη λυοφιλιωμένη Κουμανδαρία. Στο φάσμα της Κουμανδαρίας με συμπύκνωση μετά από ροή αζώτου οι κορυφές της αιθανόλης είναι ακόμη πιο μικρές, στοιχείο που υποδεικνύει ότι μετά από την χρήση αζώτου εξατμίστηκαν και πτητικές ενώσεις των δειγμάτων.



Σχήμα 4.3: Σύγκριση φάσματος ^1H -NMR Κουμανδαρίας

Στα φάσματα ^1H -NMR της Κουμανδαρίας, η γλυκόζη συντονίζεται με διπλή κορυφή στα 5.26 ppm και στα 4.67 ppm και τριπλή στα 3.27 ppm, η φρουκτόζη συντονίζεται στα 4.08 ppm (απλή κορυφή) και στα 3.67 ppm (απλή κορυφή) ενώ όλη η περιοχή 3.2-4 ppm είναι κορυφές γλυκόζης, φρουκτόζης και σουκρόζης [13-17].

Η κορυφή στα 2.11 ppm αναφέρεται στο συντονισμό των οξικών πρωτονίων, στον οποίο συνεισφέρουν τόσο το οξικό οξύ όσο και ο οξικός αιθυλεστέρας [15,16].

Όλα τα φάσματα λήφθηκαν κάτω από ακριβώς ίδιες συνθήκες, ώστε να είναι δυνατή η σύγκριση των κορυφών τους.

Οι περιοχές που θα μελετηθούν χημειομετρικά είναι κυρίως η περιοχή των σακχάρων 3- 4.2 ppm και 4.6-5.3 ppm και μία μικρή περιοχή 2-2.8 ppm.

4.6 Χημειομετρική Ανάλυση των φασματοσκοπικών δεδομένων

Η χημειομετρική ανάλυση των φασματοσκοπικών δεδομένων στα δείγματα έγινε με τη χρήση του λογισμικού προγράμματος WinDAS, John Wiley & Sons [18]. Το λογισμικό έχει τη δυνατότητα εισαγωγής μεγάλου αριθμού παραμέτρων, 933 σημεία (variants) για τα φάσματα FTIR και 6889 σημεία (variants) για τα φάσματα $^1\text{H-NMR}$ και πολύ ικανοποιητικά αποτελέσματα στη διάκριση της Κουμανδαρίας από τα άλλα κρασιά.

Υπάρχει δυνατότητα στο πρόγραμμα WinDAS να γίνει συμπίεση των δεδομένων, διόρθωση ως προς τη γραμμή της βάσης (baseline correction) και κανονικοποίηση (area normalization), ώστε να μειωθούν ανεπιθύμητες επιδράσεις και υπολογισμός των κύριων συνιστωσών, PCς και των φορτίων (loadings). Εφαρμόζεται Γραμμική Διακριτική Ανάλυση, LDA με δυνατότητα υπολογισμού της Ευκλείδειας απόστασης, της απόστασης Manhattan City Block και του τετραγώνου της απόστασης Mahalanobis, ώστε να γίνεται διάκριση των δειγμάτων.

Το WinDAS κυρίως προορίζεται στην εξέταση και μοντελοποίηση δεδομένων, τα οποία ομαδοποιούνται. Τα δεδομένα αυτά μπορούν να μελετηθούν, όπως έχει αναφερθεί με τις μεθόδους συμπίεσης (PCA, PLS), τη Γραμμική Διακριτική Ανάλυση (LDA) και την Κανονική Ταξινομική Ανάλυση (CVA). Αυτές οι προσεγγίσεις είναι πολύ ισχυρές στην αντιμετώπιση προβλημάτων ταξινόμησης αλλά είναι ακόμη αρκετά καλές στην αντιμετώπιση ασυνήθιστων δεδομένων κατά κάποιο τρόπο ως προς το Σχήμα ή το μέγεθος.

Με τη χρήση του στατιστικού προγράμματος SCAN ελέγχθηκε αν μια ομάδα στοιχείων περιλαμβάνει ένα μόνο είδος παρατήρησης και ελέγχθηκε κατά πόσο μια νέα παρατήρηση είναι του ίδιου τύπου. Αυτό κατορθώθηκε εφαρμόζοντας τις μεθόδους μοντελοποίησης του προγράμματος, Ιεραρχική Ανάλυση κατά Συστάδες (HCA), Δένδρα Ταξινόμησης και Παλινδρόμησης (CART) και Ομαλοποιημένη Διακριτική Ανάλυση (RDA). Οι μέθοδοι αυτές μπορούν να εφαρμοστούν στις κύριες συνιστώσες που προέκυψαν από την Ανάλυση Κύριων Συνιστωσών και όχι στα αρχικά δεδομένα [18].

4.7 Βιβλιογραφία

- [1] P. Κοκκινόφτα-Διογένους «Αυθεντικότητα του Παραδοσιακού Κυπριακού Ποτού Ζιβανία», Διδακτορική Διατριβή, Πανεπιστήμιο Κύπρου, Λευκωσία, 2003
- [2] Yan-ling Zhang, Jian-bo Chen, Yu Lei, Qun Zhou, Su-qin Sun, Isao Noda Discrimination of different red wine by Fourier-transform infrared and two-dimensional infrared correlation spectroscopy, *Journal of Molecular Structure*, 2010 , 974, 144–150
- [3] P.A. Tarantilis, V.E. Troianou, C.S. Pappas, Y.S. Kotseridis, M.G. Polissiou, Differentiation of Greek red wines on the basis of grape variety using attenuated total reflectance Fourier transform infrared spectroscopy, *Food Chemistry* , 2008,111, 192-196
- [4] C.S. Pappas, C. Takidelli, E. Tsantili, P.A. Tarantilis, M.G. Polissiou, Quantitative determination of anthocyanins in three sweet cherry varieties using diffuse reflectance infrared Fourier transform spectroscopy, *Journal of Food Composition and Analysis*, 2011, 24, 17–21
- [5] ΕΡΕΥΝΗΤΙΚΟ ΕΡΓΟ «ΥΓΕΙΑ/0603/11», Ταυτοποίηση των χαρακτηριστικών του κυπριακού κρασιού Κουμανδάρια, Γενικό Χημείο Κύπρου, 2005-2007
- [6] J.L. Moreira, L. Santos, Spectroscopic interferences in Fourier transform infrared wine analysis, *Analytica Chimica Acta*, 2004, 513, 263-268
- [7] J.L. Moreira, L. Santos, Analysis of organic acids in wines by Fourier-transform infrared spectroscopy, *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 2005, 382, 2, 421-425
- [8] D.Cozzolino, M.Parker, R.G.Damberg, M.Herderich, M.Gishen, Chemometrics and Visible-Near Infrared Spectroscopic Monitoring of red wine fermentation in a pilot scale, *Biototechnology and Bioengineering*, 2006, 95, 1101-1107
- [9] L.Liu, D.Cozzolino, W.U.Cynkar, R.G.Damberg, L Janik, B.K.O’Neill, C.B.Colby, M.Gishen, Preliminary study on the application of visible-near infrared spectroscopy and chemometrics to classify Riesling wines from different counties, *Food Chemistry*, 2008, 106, 781-786
- [10] D.Cozzolino, H.E.Smyth, M.Gishen, Feasibility study on the use of Visible and Near-Infrared spectroscopy together with chemometrics to discriminate between commercial white wines of different varietal origins, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2003, 51,7703-7708

- [11] K. Fernandez, X. Labarca, E. Boreu, A. Guesalaga, E. Agosin, Comparative Study of Wine Tannin Classification Using Fourier Transform Mid-Infrared Spectrometry and Sensory Analysis, *Applied Spectroscopy*, 2007, 61, 1163-1167
- [12] I.J. Kosir, J. Kidric, Identification of Amino Acids in Wines by One- and Two-Dimensional Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2001, 49, 50-56
- [13] I. F. Duarte, A. Barros, C. Almeida, M. Spraul, A.M. Gil, Multivariate Analysis of NMR and FTIR Data as a Potential Tool for the Quality Control of Beer, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 2004, 52, 1031-1038
- [14] G. E. Pereira, J.-P. Gaudillere, C. van Leeuwen, G. Hillbert, O. Laviell, M. Maucourt, C. Deborde, A. Moing, D. Rolin, ¹H-NMR and Chemometrics to characterize mature grape berries in four wine- growing areas in Bordeaux, France, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2005, 53, 6382-6389
- [15] M. Nilsson, I. F. Duarte, C. Almeida, I. Delgadillo, B. J. Goodfellow, A. M. Gil, G. A. Morris, High-Resolution NMR and Diffusion-Ordered Spectroscopy of Port Wine, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2004, 52, 3736-3743
- [16] H.-S. Son, K. M. Kim, F. V. D.Berg, G.-S. Hwang, W.-M. Park, C.-H. Lee, Y.-S. Honk, ¹H Nuclear Magnetic Resonance-Based Metabolomic Characterization of Wines by Grape Varieties and Production Areas, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 2008, 56, 8007–8016
- [17] J. T. W. E. Vogels, L. Terwel, A. C. Tas, F. van den Berg, F. Dukel, J. van der Greef, Detection of Adulteration in Orange Juices by a New Screening Method Using Proton NMR Spectroscopy in Combination with Pattern Recognition Techniques *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 1996, 44, 175-180
- [18] E.K. Kemsley, «Discriminant Analysis and Class Modeling of Spectroscopy Data», J.Wiley & Sons, 1998

5. Χημειομετρική Ανάλυση Φασματοσκοπικών Δεδομένων, FTIR

Στο κεφάλαιο αυτό γίνεται στατιστική επεξεργασία των φασματοσκοπικών δεδομένων που προέκυψαν από τη λήψη φασμάτων FTIR (Κεφ. 3.1) σε συμπυκνωμένα δείγματα. Όπως έχει αναφερθεί, για τη χημειομετρική ανάλυση χρησιμοποιήθηκε το λογισμικό WinDAS, το οποίο έχει τη δυνατότητα διάκρισης διαφορών σε εξαιρετικά παρόμοια δεδομένα, αλλά και την κατάταξη άγνωστων προϊόντων σε προκαθορισμένες ομάδες [1].

5.1 Χημειομετρική Ανάλυση Φασματοσκοπικών Δεδομένων FTIR Λυοφιλιωμένων δειγμάτων

Η χημειομετρική ανάλυση εφαρμόστηκε στα φάσματα υπερύθρου, FTIR των 64 δειγμάτων (Κεφ. 4.1 και Πίνακας 4.1 α) και β)) τα οποία συμπυκνώθηκαν με την τεχνική της λυοφιλίωσης (Κεφ. 3.3.1 και Κεφ. 4.2) [2-21]. Η ανάλυση των φασμάτων αφορούσε όλη την περιοχή από 400 έως 4000 cm^{-1} . Σε κάθε φάσμα δείγματος αντιστοιχούν 933 μεταβλητές/σημεία. Αρχικά τα δείγματα χωρίστηκαν σε τρεις ομάδες:

1η ομάδα : Κουμανδαρίες Ενδυναμωμένες και μη Ενδυναμωμένες (25)

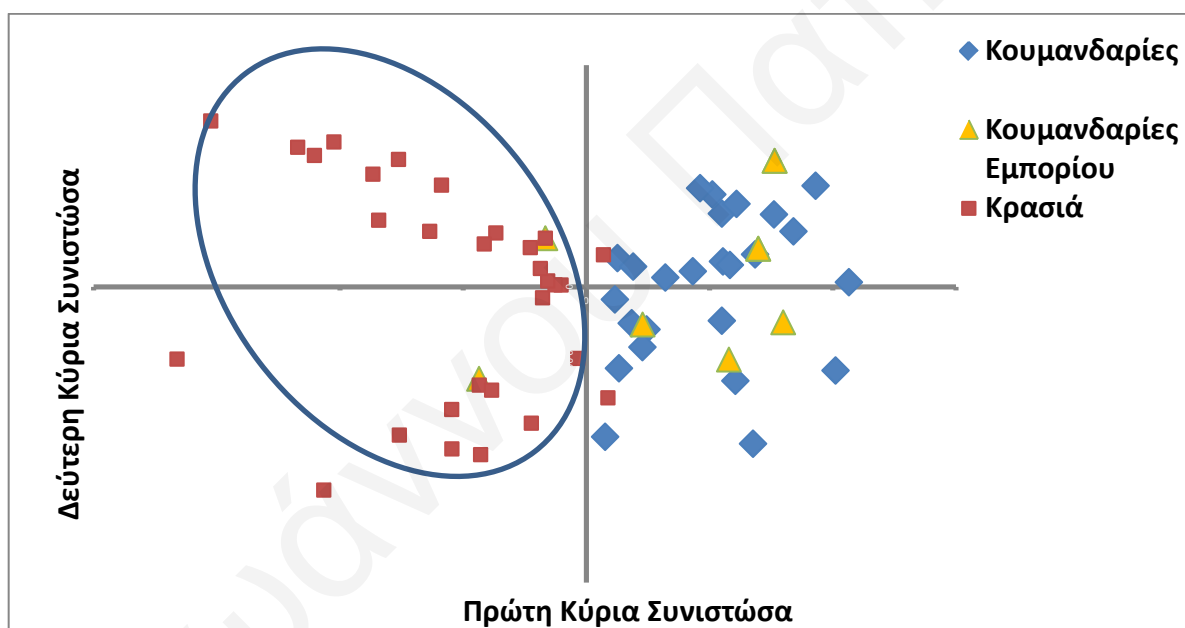
2η ομάδα : Κουμανδαρίες Εμπορίου (9)

3η ομάδα : Διάφορα Κρασιά (30)

Η Ανάλυση της Κύριας Συνιστώσας (Covariance Method) σε δύο κύριους άξονες διέκρινε τα διάφορα κρασιά σε ξεχωριστή ομάδα με επιτυχία (Σχήμα 5.1.1) και το αθροιστικό ποσοστό διακύμανσης της πρώτης και δεύτερης κύριας συνιστώσας αντιπροσωπεύει το 88.70% (46,73+41.97) της πληροφορίας σχετικά με τα αρχικά φασματοσκοπικά δεδομένα (Πίνακας 5.1.1).

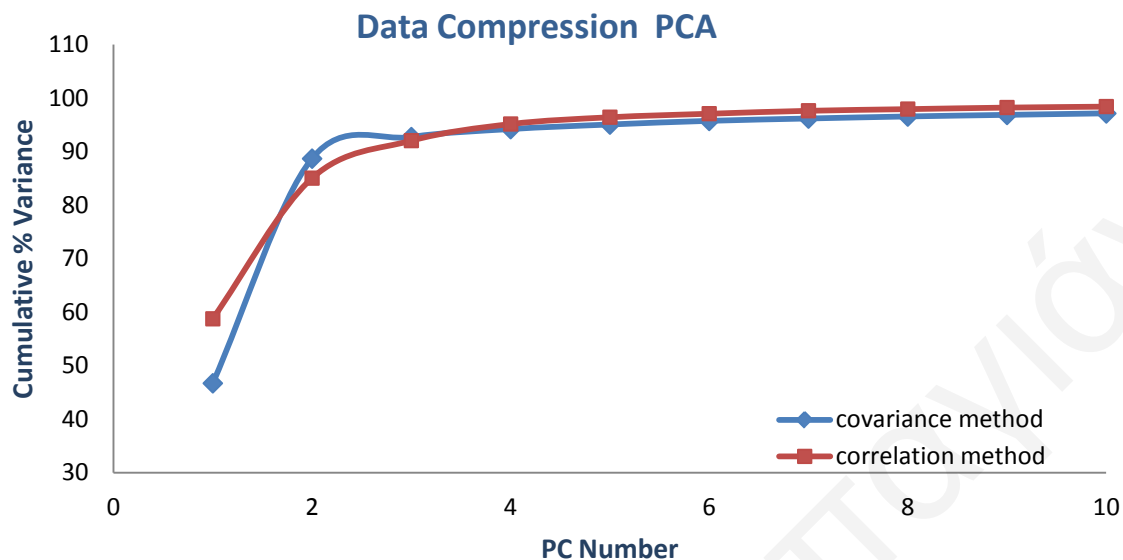
Πίνακας 5.1.1: Αθροιστική διακύμανση κύριων συνιστωσών (Covariance Method)

Κύρια Συνιστώσα	% Διακύμανση	Αθροιστικό ποσοστό διακύμανσης
1	46.73	46.73
2	41.97	88.70
3	4.02	92.73
4	1.49	94.22
5	0.85	95.07
6	0.68	95.75
7	0.44	96.19
8	0.38	96.57
9	0.29	96.87
10	0,29	97.15



Σχήμα 5.1.1: Διάγραμμα σκέδασης ως προς τον 1^ο και 2^ο κύριο άξονα που προέκυψαν από την Ανάλυση Κύριων Συνιστωσών (PCA, Covariance Method)

Η μέθοδος συνδιακύμανσης (covariance) και η μέθοδος συσχέτισης (correlation) είναι οι μέθοδοι υπολογισμού των κύριων συνιστωσών με τη χρήση του πίνακα συνδιακύμανσης και του πίνακα συσχέτισης αντίστοιχα. Στην περίπτωση αυτή το αθροιστικό ποσοστό διακύμανσης της πρώτης και δεύτερης συνιστώσας με τη μέθοδο συνδιακύμανσης είναι 88.70% ενώ με τη μέθοδο συσχέτισης είναι 85.06% (Σχήμα 5.1.2).



Σχήμα 5.1.2: Το αθροιστικό ποσοστό των μεταβλητών με τον αριθμό των κύριων συνιστωσών χρησιμοποιώντας μέθοδο συνδιακύμανσης — και μέθοδο συσχέτισης —

Η Γραμμική Διακριτική Ανάλυση με βάση την Ευκλείδεια απόσταση, έδωσε 42 ορθές προβλέψεις από τις 64, ποσοστό επιτυχίας μόνο 66% (Πίνακας 5.1.2). Η ταξινόμηση των κρασιών επιβεβαιώνεται ως ξεχωριστή ομάδα με ποσοστό 90%. Τρία κρασιά ταξινομήθηκαν στις Κουμανδαρίες εμπορίου και ήταν δύο Vinsanto (W5,W7) και ένα κυπριακό (W28).

Κεφάλαιο 5: Χημειομετρική Ανάλυση Φασματοσκοπικών Δεδομένων, FTIR

Πίνακας 5.1.2: Γραμμική Διακριτική Ανάλυση, βάση της Ευκλείδειας

α/α	Παρατήρηση	Απόσταση από 1 ^η ομάδα	Απόσταση από 2 ^η ομάδα	Απόσταση από 3 ^η ομάδα	Προβλεπόμενη ομάδα	
1	K1	1.2312E-03	9.8593E-04	2.9428E-03	2	Incorrect
2	K2	1.4416E-04	1.0114E-04	4.0299E-03	2	Incorrect
3	K3	1.6860E-03	1.4407E-03	2.4881E-03	2	Incorrect
4	K4	1.2550E-03	1.0097E-03	2.9191E-03	2	Incorrect
5	K5	4.4691E-04	6.9220E-04	4.6210E-03	1	Correct
6	K6	2.2712E-03	2.5165E-03	6.4453E-03	1	Correct
7	K7	1.5279E-03	1.2826E-03	2.6461E-03	2	Incorrect
8	K8	7.4819E-04	9.9349E-04	4.9222E-03	1	Correct
9	K9	1.0549E-03	1.3002E-03	5.2290E-03	1	Correct
10	K10	1.3712E-03	1.6165E-03	5.5452E-03	1	Correct
11	K11	1.7305E-03	1.9758E-03	5.9045E-03	1	Correct
12	K12	1.0806E-03	8.3531E-04	3.0934E-03	2	Incorrect
13	K13	2.6271E-04	1.7418E-05	3.9113E-03	2	Incorrect
14	K14	3.3960E-04	5.8489E-04	4.5136E-03	1	Correct
15	K15	4.2820E-04	6.7349E-04	4.6022E-03	1	Correct
16	K16	7.1490E-04	9.6019E-04	4.8889E-03	1	Correct
17	K17	5.4208E-05	2.9950E-04	4.2283E-03	1	Correct
18	K18	2.2665E-04	4.7195E-04	4.4007E-03	1	Correct
19	K19	1.4860E-03	1.2407E-03	2.6881E-03	2	Incorrect
20	K20	7.0890E-04	4.6360E-04	3.4651E-03	2	Incorrect
21	K21	2.0841E-04	4.5370E-04	4.3825E-03	1	Correct
22	K22	1.0139E-03	7.6857E-04	3.1602E-03	2	Incorrect
23	K23	2.0874E-04	4.5403E-04	4.3828E-03	1	Correct
24	K24	1.4618E-03	1.2165E-03	2.7123E-03	2	Incorrect
25	K25	2.0545E-03	2.2997E-03	6.2285E-03	1	Correct
26	K26	1.2049E-03	1.4502E-03	5.3790E-03	1	Incorrect
27	K27	1.0655E-03	1.3108E-03	5.2395E-03	1	Incorrect
28	K28	1.0655E-03	1.3108E-03	5.2395E-03	1	Incorrect
29	K29	8.0009E-04	1.0454E-03	4.9741E-03	1	Incorrect
30	K30	8.0009E-04	1.0454E-03	4.9741E-03	1	Incorrect
31	K31	3.2328E-04	5.6857E-04	4.4973E-03	1	Incorrect
32	K32	1.0776E-03	8.3232E-04	3.0964E-03	2	Correct
33	K33	2.6563E-03	2.4111E-03	1.5177E-03	3	Incorrect
34	K34	3.7331E-03	3.4878E-03	4.4097E-04	3	Incorrect

Κεφάλαιο 5: Χημειομετρική Ανάλυση Φασματοσκοπικών Δεδομένων, FTIR

Πίνακας 5.1.2 (Συνέχεια): Γραμμική Διακριτική Ανάλυση, βάση της Ευκλείδειας

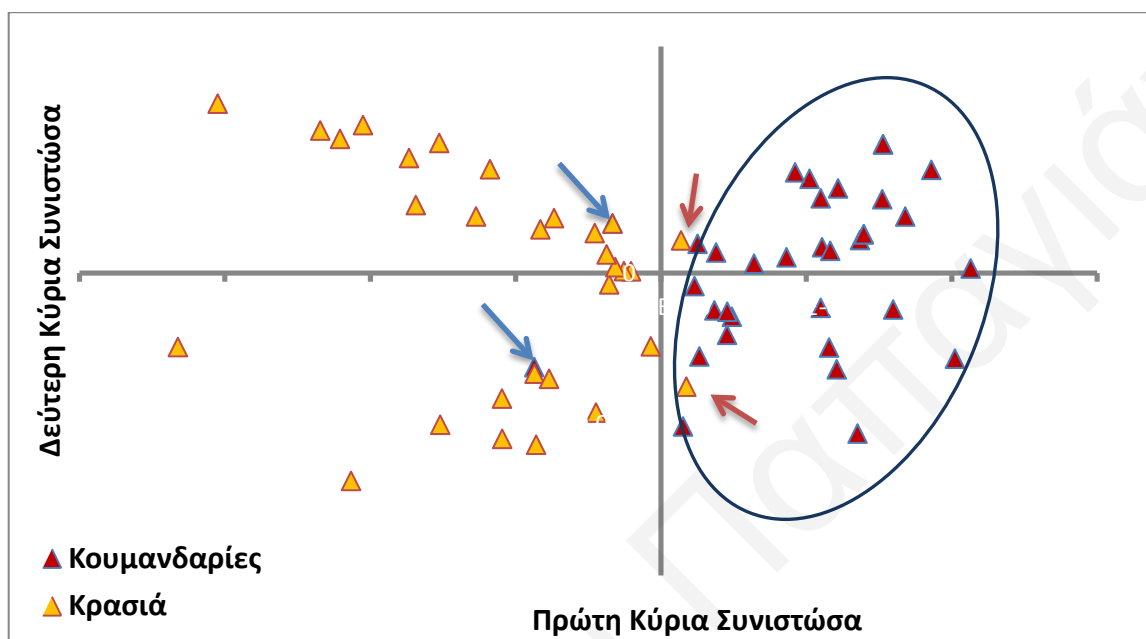
a/a	Παρατήρηση	Απόσταση από 1 ^η ομάδα	Απόσταση από 2 ^η ομάδα	Απόσταση από 3 ^η ομάδα	Προβλεπόμενη ομάδα	
35	W1	2.8838E-03	2.6385E-03	1.2902E-03	3	Correct
36	W2	3.7293E-03	3.4840E-03	4.4478E-04	3	Correct
37	W3	6.2538E-03	6.0085E-03	2.0798E-03	3	Correct
38	W4	4.1771E-03	3.9318E-03	3.0976E-06	3	Correct
39	W5	2.1294E-03	1.8841E-03	2.0446E-03	2	Incorrect
40	W6	3.7074E-03	3.4621E-03	4.6661E-04	3	Correct
41	W7	1.6407E-03	1.3954E-03	2.5333E-03	2	Incorrect
42	W8	2.4012E-03	2.1559E-03	1.7728E-03	3	Correct
43	W9	8.6360E-03	8.3907E-03	4.4619E-03	3	Correct
44	W10	4.1739E-03	3.9286E-03	1.6247E-07	3	Correct
45	W11	3.5289E-03	3.2836E-03	6.4510E-04	3	Correct
46	W12	5.4560E-03	5.2107E-03	1.2819E-03	3	Correct
47	W13	5.0267E-03	4.7814E-03	8.5261E-04	3	Correct
48	W14	2.7375E-03	2.4922E-03	1.4365E-03	3	Correct
49	W15	3.6484E-03	3.4031E-03	5.2564E-04	3	Correct
50	W16	8.0886E-03	7.8433E-03	3.9146E-03	3	Correct
51	W17	6.4055E-03	6.1602E-03	2.2315E-03	3	Correct
52	W18	6.0892E-03	5.8439E-03	1.9152E-03	3	Correct
53	W19	5.3625E-03	5.1172E-03	1.1885E-03	3	Correct
54	W20	2.9009E-03	2.6556E-03	1.2732E-03	3	Correct
55	W21	4.3424E-03	4.0971E-03	1.6839E-04	3	Correct
56	W22	2.4994E-03	2.2541E-03	1.6746E-03	3	Correct
57	W23	2.6182E-03	2.3730E-03	1.5558E-03	3	Correct
58	W24	6.6775E-03	6.4322E-03	2.5034E-03	3	Correct
59	W25	5.0403E-03	4.7950E-03	8.6628E-04	3	Correct
60	W26	3.4607E-03	3.2154E-03	7.1336E-04	3	Correct
61	W27	4.5340E-03	4.2887E-03	3.5992E-04	3	Correct
62	W28	1.7133E-03	1.4681E-03	2.4607E-03	2	Incorrect
63	W29	2.6563E-03	2.4111E-03	1.5177E-03	3	Correct
64	W30	2.7020E-03	2.4567E-03	1.4720E-03	3	Correct

Όπως φαίνεται και από το διάγραμμα σκέδασης της πρώτης και δεύτερης κύριας συνιστώσας (Σχήμα 5.1.1), οι Κουμανδαρίες ανεξαρτήτου κατηγορίας ταξινομήθηκαν σε ομάδα και αυτό επαληθεύεται με την Ανάλυση Κύριων Συνιστωσών ταξινομώντας τα 64 δείγματα σε δύο ομάδες (Σχήμα 5.1.3):

1η ομάδα : Κουμανδαρίες Ενδυναμωμένες, μη Ενδυναμωμένες και Εμπορίου (34)

2η ομάδα : Διάφορα Κρασιά (30)

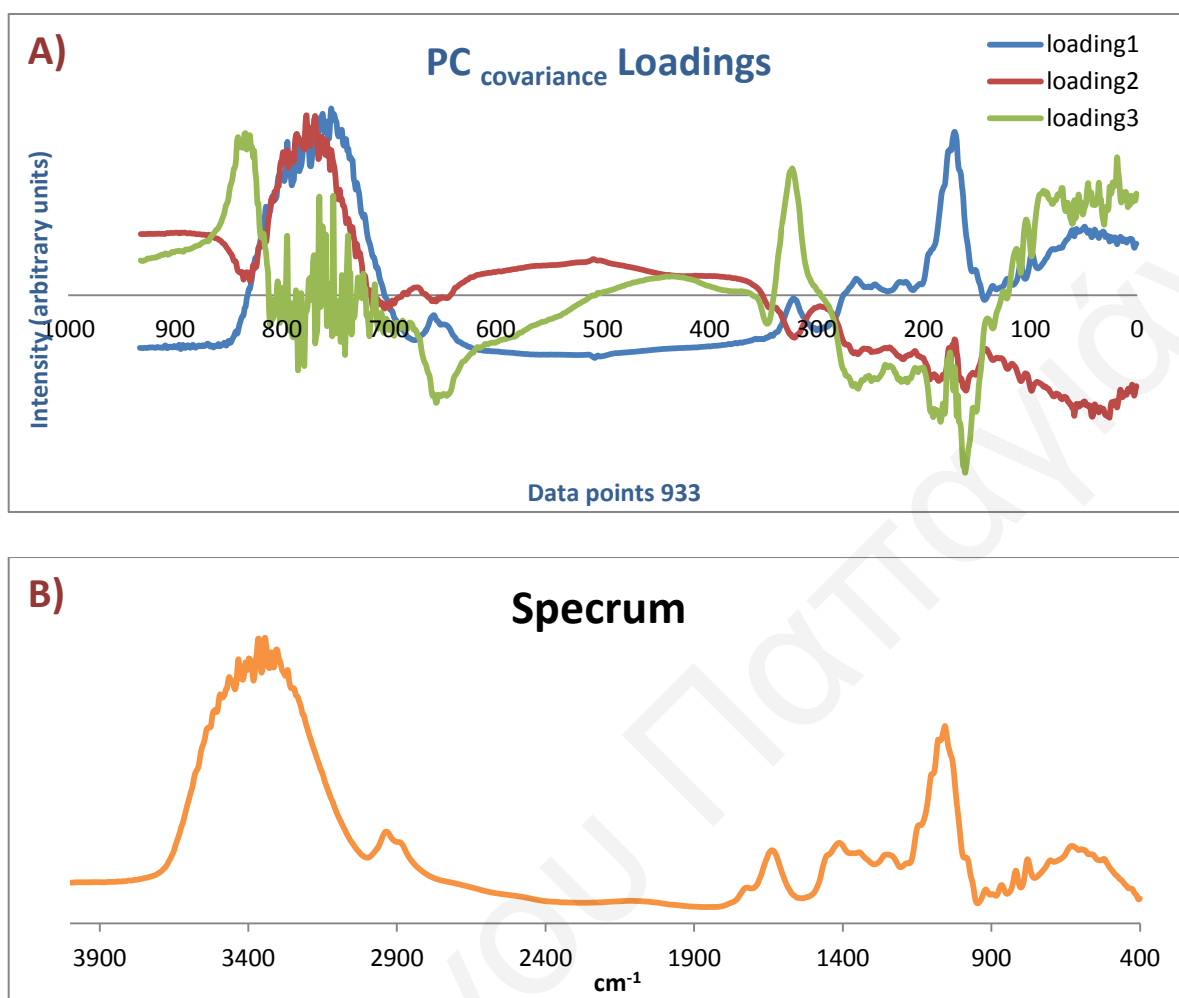
Το σύνολο της πληροφορίας για τα φασματοσκοπικά δεδομένα δίνεται από τις πέντε πρώτες κύριες συνιστώσες και το αθροιστικό ποσοστό διακύμανσης της πρώτης και της δεύτερης κύριας συνιστώσας αντιπροσωπεύει το 88.70% της αρχικής πληροφορίας.



Σχήμα 5.1.3: Διάγραμμα σκέδασης ως προς τον 1^ο και 2^ο κύριο άξονα όπως προέκυψαν από την Ανάλυση Κύριων Συνιστωσών (PCA, Covariance Method)

Τα φορτία των συνιστωσών δίνουν τη σχέση των αρχικών μεταβλητών με τις κύριες συνιστώσες που προκύπτουν και δίνονται σε διάγραμμα (Κεφ. 2.5). Τα φορτία με τις μεγαλύτερες τιμές (αρνητικές ή θετικές) είναι τα σημαντικότερα και κατά συνέπεια η μεγάλη απόσταση από το κέντρο δίνει τη σπουδαιότητα της μεταβλητής.

Στο Σχήμα 5.1.4A φαίνεται η σύγκριση των τριών φορτίων που προέκυψαν από την ανάλυση των κύριων συνιστωσών με μέθοδο συνδιακύμανσης σε ολόκληρο το φάσμα δείγματος στο οποίο αντιστοιχούν 933 μεταβλητές/ σημεία, έναντι του Σχήματος 5.1.4B, όπου δίνεται ένα συμβατικό φάσμα Κουμανδαρίας. Όσον αφορά το πρώτο φορτίο, που αναφέρεται στον πρώτο κύριο άξονα PC1, αρνητικές τιμές βρίσκονται στις θέσεις 2900 cm^{-1} και 1900 cm^{-1} . Οι θετικές τιμές, που είναι και πιο ισχυρές, βρίσκονται στις θέσεις $1400\text{-}750\text{ cm}^{-1}$. Στην περιοχή αυτή, οι ισχυρότερες απορροφήσεις $1068\text{-}1062\text{ cm}^{-1}$ ανήκουν σε οργανικά οξέα και σάκχαρα των γλυκών κρασιών (Κεφ. 4.4). Η πρώτη χαρακτηριστική διάκριση, η οποία δίνεται από το πρώτο φορτίο της ανάλυσης των κύριων συνιστωσών με τη μέθοδο συνδιακύμανσης, χαρακτηρίζει και διακρίνει την ομάδα των Κουμανδαριών από τα κρασιά.



Σχήμα 5.1.4: **A)** Διάγραμμα σύγκρισης φορτίων όπως προέκυψαν από την Ανάλυση Κύριων Συνιστωσών για 933 μεταβλητές / σημεία (PCA, Covariance Method) και **B)** τυπικό φάσμα FTIR Κουμανδαρίας 400-4000 cm^{-1} .

Η Γραμμική Διακριτική Ανάλυση στηρίζεται στους βαθμούς των κύριων συνιστωσών που έχουν ήδη προσδιοριστεί, υπολογίζεται η μέση τιμή των μετρήσεων σε κάθε μήκος κύματος για κάθε ομάδα και στη συνέχεια, υπολογίζεται η απόσταση κάθε παρατήρησης από τη μέση τιμή.

Τα αποτελέσματα της Γραμμικής Διακριτικής Ανάλυσης με βάση την Ευκλείδεια απόσταση επιβεβαιώνουν την ομάδα των Κουμανδαριών ως ξεχωριστή ομάδα με 32 ορθές προβλέψεις από τα 34 δείγματα και επιτυχία 94% (Πίνακας 5.1.3). Τα διάφορα κρασιά επίσης ξεχώρισαν ως διαφορετική ομάδα από την ομάδα των Κουμανδαριών, με 28 ορθές προβλέψεις από τα 30 δείγματα και επιτυχία 93% (Πίνακας 5.1.3 συνέχεια).

Κεφάλαιο 5: Χημειομετρική Ανάλυση Φασματοσκοπικών Δεδομένων, FTIR

Κανένα αυθεντικό δείγμα Κουμανδαρίας δεν ταξινομείται ως κρασί και τα δύο δείγματα που δεν ανήκουν στην ομάδα των Κουμανδαριών, είναι Κουμανδαρίες του εμπορίου (K33, K34) (Πίνακας 5.1.3 και Σχήμα 5.1.3).

Πίνακας 5.1.3: Γραμμική Διακριτική Ανάλυση, βάση της Ευκλείδειας απόστασης

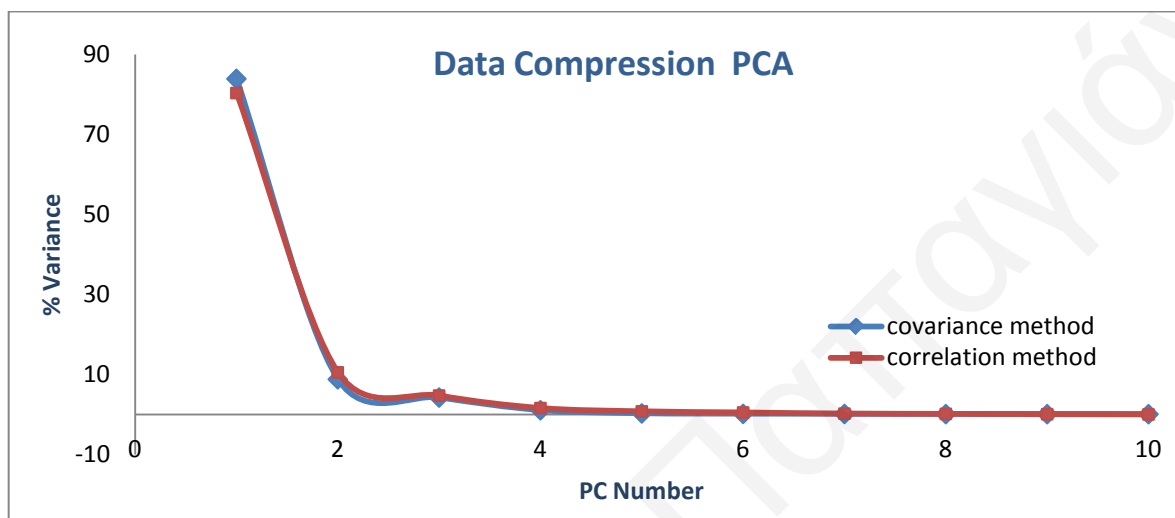
α/α	Παρατήρηση	Απόσταση από 1 ^η ομάδα	Απόσταση από 2 ^η ομάδα	Προβλεπόμενη ομάδα	
1	K1	1.17E-03	2.94E-03	1	Correct
2	K2	7.92E-05	4.03E-03	1	Correct
3	K3	1.62E-03	2.49E-03	1	Correct
4	K4	1.19E-03	2.92E-03	1	Correct
5	K5	5.12E-04	4.62E-03	1	Correct
6	K6	2.34E-03	6.45E-03	1	Correct
7	K7	1.46E-03	2.65E-03	1	Correct
8	K8	8.13E-04	4.92E-03	1	Correct
9	K9	1.12E-03	5.23E-03	1	Correct
10	K10	1.44E-03	5.55E-03	1	Correct
11	K11	1.80E-03	5.90E-03	1	Correct
12	K12	1.02E-03	3.09E-03	1	Correct
13	K13	1.98E-04	3.91E-03	1	Correct
14	K14	4.05E-04	4.51E-03	1	Correct
15	K15	4.93E-04	4.60E-03	1	Correct
16	K16	7.80E-04	4.89E-03	1	Correct
17	K17	1.19E-04	4.23E-03	1	Correct
18	K18	2.92E-04	4.40E-03	1	Correct
19	K19	1.42E-03	2.69E-03	1	Correct
20	K20	6.44E-04	3.47E-03	1	Correct
21	K21	2.73E-04	4.38E-03	1	Correct
22	K22	9.49E-04	3.16E-03	1	Correct
23	K23	2.74E-04	4.38E-03	1	Correct
24	K24	1.40E-03	2.71E-03	1	Correct
25	K25	2.12E-03	6.23E-03	1	Correct
26	K26	1.27E-03	5.38E-03	1	Correct
27	K27	1.13E-03	5.24E-03	1	Correct
28	K28	1.13E-03	5.24E-03	1	Correct
29	K29	8.65E-04	4.97E-03	1	Correct
30	K30	8.65E-04	4.97E-03	1	Correct
31	K31	3.88E-04	4.50E-03	1	Correct
32	K32	1.01E-03	3.10E-03	1	Correct
33	K33	2.59E-03	1.52E-03	2	Incorrect
34	K34	3.67E-03	4.41E-04	2	Incorrect

Πίνακας 5.1.3 (Συνέχεια): Γραμμική Διακριτική Ανάλυση, βάση της Ευκλείδειας απόστασης

α/α	Παρατήρηση	Απόσταση από 1 ^η ομάδα	Απόσταση από 2 ^η ομάδα	Προβλεπόμενη ομάδα	
35	W1	2.82E-03	1.29E-03	2	Correct
36	W2	3.66E-03	4.45E-04	2	Correct
37	W3	6.19E-03	2.08E-03	2	Correct
38	W4	4.11E-03	3.10E-06	2	Correct
39	W5	2.06E-03	2.04E-03	2	Correct
40	W6	3.64E-03	4.67E-04	2	Correct
41	W7	1.58E-03	2.53E-03	1	Incorrect
42	W8	2.34E-03	1.77E-03	2	Correct
43	W9	8.57E-03	4.46E-03	2	Correct
44	W10	4.11E-03	1.62E-07	2	Correct
45	W11	3.46E-03	6.45E-04	2	Correct
46	W12	5.39E-03	1.28E-03	2	Correct
47	W13	4.96E-03	8.53E-04	2	Correct
48	W14	2.67E-03	1.44E-03	2	Correct
49	W15	3.58E-03	5.26E-04	2	Correct
50	W16	8.02E-03	3.91E-03	2	Correct
51	W17	6.34E-03	2.23E-03	2	Correct
52	W18	6.02E-03	1.92E-03	2	Correct
53	W19	5.30E-03	1.19E-03	2	Correct
54	W20	2.84E-03	1.27E-03	2	Correct
55	W21	4.28E-03	1.68E-04	2	Correct
56	W22	2.43E-03	1.67E-03	2	Correct
57	W23	2.55E-03	1.56E-03	2	Correct
58	W24	6.61E-03	2.50E-03	2	Correct
59	W25	4.98E-03	8.66E-04	2	Correct
60	W26	3.40E-03	7.13E-04	2	Correct
61	W27	4.47E-03	3.60E-04	2	Correct
62	W28	1.65E-03	2.46E-03	1	Incorrect
63	W29	2.59E-03	1.52E-03	2	Correct
64	W30	2.64E-03	1.47E-03	2	Correct

Η χημειομετρική ανάλυση εφαρμόστηκε σε μικρότερη περιοχή φάσματος, χρησιμοποιώντας 669 μεταβλητές/ σημεία για κάθε δείγμα και η διακύμανση της πρώτης κύριας συνιστώσας με τη μέθοδο της συσχέτισης είναι 83.94% και η επιπρόσθετη συνεισφορά της δεύτερης κύριας συνιστώσας είναι 8,86%, ώστε το αθροιστικό ποσοστό διακύμανσης των δύο συνιστωσών να φτάνει το 92.80% της πληροφορίας σχετικά με τα αρχικά φασματικά δεδομένα (Σχήμα 5.1.5).

Όταν εφαρμοστεί η μέθοδος της συσχέτισης (correlation) στα ίδια δεδομένα, το αθροιστικό ποσοστό διακύμανσης των δύο συνιστωσών είναι 91% και από τη σύγκριση των αποτελεσμάτων των μεθόδων συσχέτισης και συνδιακύμανσης, φαίνεται η ταύτιση του αποτελέσματος των δύο μεθόδων (Σχήμα 5.1.5).



Σχήμα 5.1.5: Το ποσοστό της διακύμανσης των μεταβλητών σε σχέση με τον αριθμό των κύριων συνιστωσών χρησιμοποιώντας μέθοδο συνδιακύμανσης — και μέθοδο συσχέτισης —

Η χημειομετρική ανάλυση σε περιοχή φάσματος στην οποία αντιστοιχούν 346 μεταβλητές/ σημεία έγινε με σκοπό την καλύτερη διάκριση της ομάδας των Κουμανδαριών. Το αθροιστικό ποσοστό διακύμανσης με τη μέθοδο της συνδιακύμανσης για τις δέκα κύριες συνιστώσες, δίνεται στον πίνακα 5.1.4 και το αθροιστικό ποσοστό διακύμανσης της πρώτης και της δεύτερης κύριας συνιστώσας είναι 91.51%.

Πίνακας 5.1.4: Αθροιστική διακύμανση κύριων συνιστωσών (Covariance Method)

Κύρια Συνιστώσα	% Διακύμανση	Αθροιστικό ποσοστό διακύμανσης
1	79.02	79.02
2	12.48	91.51
3	5.70	97.20
4	0.54	97.75
5	0.35	98.10
6	0.32	98.43
7	0.24	98.66
8	0.23	98.89
9	0.20	99.09
10	0.15	99.24

Κεφάλαιο 5: Χημειομετρική Ανάλυση Φασματοσκοπικών Δεδομένων, FTIR

Η Γραμμική Διακριτική Ανάλυση των δειγμάτων, υπολογίζοντας την Ευκλείδεια απόσταση σε δύο κύριες συνιστώσες με τη μέθοδο συνδιακύμανσης, έδωσε 32 ορθές προβλέψεις από τις 34 Κουμανδαρίες. Η ταξινόμηση των Κουμανδαριών επιβεβαιώνεται με το ίδιο ποσοστό 94% σε ξεχωριστή ομάδα (Πίνακας 5.1.5).

Πίνακας 5.1.5: Γραμμική Διακριτική Ανάλυση, βάση της Ευκλείδειας απόστασης

a/a	Παρατήρηση	Απόσταση από 1 ^η ομάδα	Απόσταση από 2 ^η ομάδα	Προβλεπόμενη ομάδα	
1	K1	9.6733E-04	2.5731E-03	1	Correct
2	K2	2.1980E-03	1.3808E-03	2	Incorrect
3	K3	2.1833E-03	5.0941E-03	1	Correct
4	K4	2.5025E-04	3.3045E-03	1	Correct
5	K5	1.1338E-03	2.6010E-03	1	Correct
6	K6	2.1630E-03	5.6432E-03	1	Correct
7	K7	1.0017E-03	2.9031E-03	1	Correct
8	K8	5.7779E-04	3.6870E-03	1	Correct
9	K9	6.6927E-04	3.2910E-03	1	Correct
10	K10	4.1215E-04	3.9438E-03	1	Correct
11	K11	8.2025E-04	3.4638E-03	1	Correct
12	K12	4.2192E-04	3.9268E-03	1	Correct
13	K13	6.0034E-04	3.1855E-03	1	Correct
14	K14	2.0263E-04	3.5394E-03	1	Correct
15	K15	2.2163E-03	5.6807E-03	1	Correct
16	K16	3.7876E-03	7.2359E-03	1	Correct
17	K17	1.8289E-03	2.1364E-03	1	Correct
18	K18	2.8768E-04	3.4159E-03	1	Correct
19	K19	1.6472E-03	1.9905E-03	1	Correct
20	K20	8.8252E-04	2.8630E-03	1	Correct
21	K21	9.6923E-04	4.3620E-03	1	Correct
22	K22	2.7268E-04	3.5453E-03	1	Correct
23	K23	1.6854E-03	2.9133E-03	1	Correct
24	K24	7.6007E-04	3.7750E-03	1	Correct
25	K25	3.6523E-03	7.1828E-03	1	Correct
26	K26	2.9540E-03	5.7468E-03	1	Correct
27	K27	1.5255E-03	2.3157E-03	1	Correct
28	K28	1.5255E-03	2.3157E-03	1	Correct
29	K29	7.2652E-04	3.8097E-03	1	Correct
30	K30	7.2652E-04	3.8097E-03	1	Correct
31	K31	2.0485E-03	5.4187E-03	1	Correct
32	K32	3.1362E-03	4.3398E-03	1	Correct
33	K33	3.4782E-03	2.1141E-03	2	Incorrect
34	K34	1.5534E-03	1.9996E-03	1	Correct

Κεφάλαιο 5: Χημειομετρική Ανάλυση Φασματοσκοπικών Δεδομένων, FTIR

Πίνακας 5.1.5 (Συνέχεια): Γραμμική Διακριτική Ανάλυση, βάση της Ευκλείδειας απόστασης

α/α	Παρατήρηση	Απόσταση από 1 ^η ομάδα	Απόσταση από 2 ^η ομάδα	Προβλεπόμενη ομάδα	
35	W1	2.5906E-03	4.3236E-03	1	Incorrect
36	W2	2.0274E-03	2.4574E-03	1	Incorrect
37	W3	4.7707E-03	4.4550E-03	2	Correct
38	W4	1.6834E-03	2.0498E-03	1	Incorrect
39	W5	1.0093E-03	2.9244E-03	1	Incorrect
40	W6	1.7823E-03	3.1062E-03	1	Incorrect
41	W7	6.5798E-04	4.1193E-03	1	Incorrect
42	W8	1.5383E-03	2.0064E-03	1	Incorrect
43	W9	5.7828E-03	2.7994E-03	2	Correct
44	W10	1.8666E-03	2.9132E-03	1	Incorrect
45	W11	2.4764E-03	3.0077E-03	1	Incorrect
46	W12	6.9042E-03	3.5166E-03	2	Correct
47	W13	2.3866E-03	2.0779E-03	2	Correct
48	W14	2.7695E-03	7.6382E-04	2	Correct
49	W15	4.1392E-03	9.5200E-04	2	Correct
50	W16	9.6431E-03	6.1911E-03	2	Correct
51	W17	7.7821E-03	4.3560E-03	2	Correct
52	W18	7.6610E-03	4.2378E-03	2	Correct
53	W19	5.5152E-03	2.0131E-03	2	Correct
54	W20	3.3662E-03	5.7523E-04	2	Correct
55	W21	5.5165E-03	2.1075E-03	2	Correct
56	W22	2.3443E-03	1.2256E-03	2	Correct
57	W23	2.6407E-03	9.0012E-04	2	Correct
58	W24	8.0790E-03	4.6153E-03	2	Correct
59	W25	6.8877E-03	3.5032E-03	2	Correct
60	W26	3.8601E-03	7.3880E-04	2	Correct
61	W27	5.2971E-03	2.1835E-03	2	Correct
62	W28	2.3769E-03	1.2794E-03	2	Correct
63	W29	3.4782E-03	2.1141E-03	2	Correct
64	W30	2.4161E-03	1.8896E-03	2	Correct

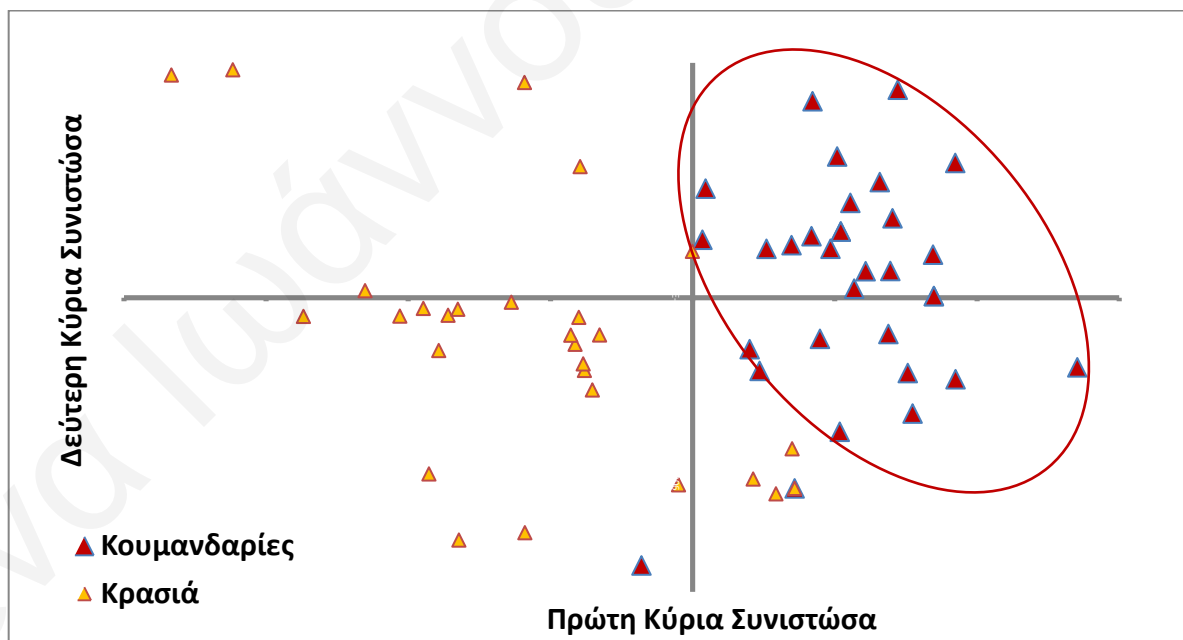
Από τις δύο Κουμανδαρίες που δεν ταξινομήθηκαν, η μια ανήκει στις Κουμανδαρίες του εμπορίου (K33) και δεν ταξινομήθηκε ούτε σε προηγούμενη χημειομετρική ανάλυση (Πίνακας 5.1.3). Η Κουμανδαρία (K2) η οποία επίσης δεν ταξινομήθηκε, είναι μη ενδυναμωμένη Κουμανδαρία. Η ομάδα των κρασιών έδωσε ποσοστό ταξινόμησης 70%, με εννέα λάθος ταξινομήσεις.

Κεφάλαιο 5: Χημειομετρική Ανάλυση Φασματοσκοπικών Δεδομένων, FTIR

Περιορίζοντας ακόμη περισσότερο την περιοχή του φάσματος και κατά συνέπεια τις μεταβλητές/ σημεία σε 141, το ποσοστό διακύμανσης της πρώτης κύριας συνιστώσας που περιγράφει το σύνολο των φασματοσκοπικών δεδομένων, κυμαίνεται στα ίδια επίπεδα, 82.77%. Το αθροιστικό ποσοστό διακύμανσης των δύο πρώτων κύριων συνιστωσών είναι 92.8% (Πίνακας 5.1.6 και Σχήμα 5.1.6).

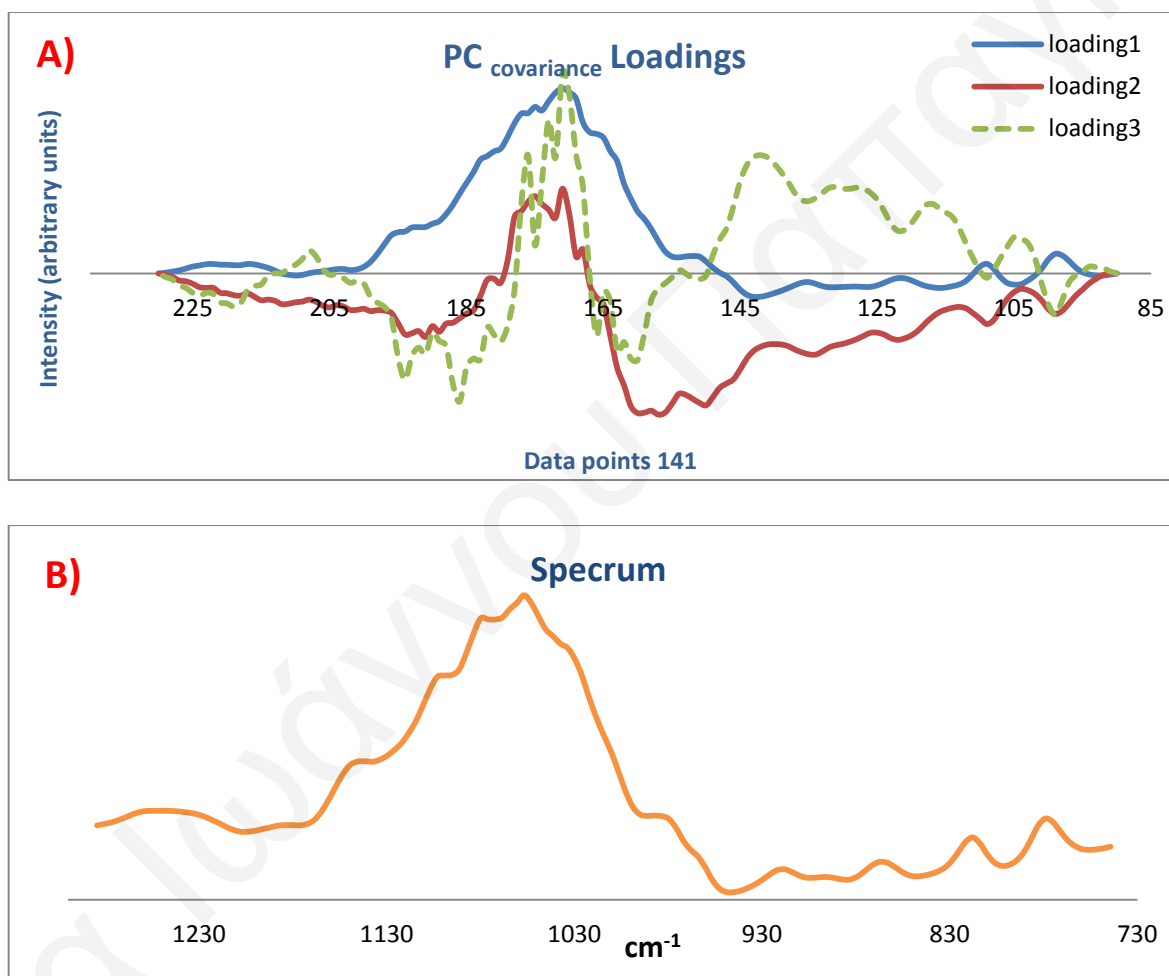
Πίνακας 5.1.6: Αθροιστική διακύμανση κύριων συνιστωσών (Covariance Method)

Κύρια Συνιστώσα	% Διακύμανση	Αθροιστικό ποσοστό διακύμανσης
1	82.77	82.77
2	10.03	92.80
3	3.26	96.06
4	0.83	96.89
5	0.64	97.53
6	0.50	98.03
7	0.38	98.41
8	0.31	98.73
9	0.27	99.00
10	0.17	99.17



Σχήμα 5.1.6: Διάγραμμα σκέδασης ως προς τον 1^ο και 2^ο κύριο άξονα που προέκυψαν από την Ανάλυση Κύριων Συνιστωσών (PCA, Covariance Method)

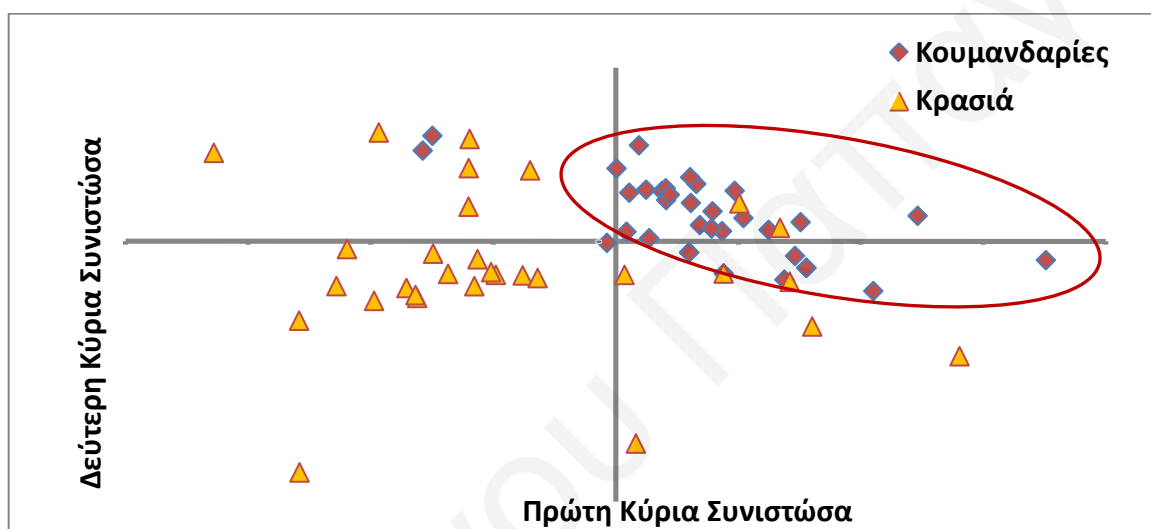
Από τη σύγκριση των τριών πρώτων φορτίων που προέκυψαν από την Ανάλυση των Κύριων Συνιστωσών με μέθοδο συνδιακύμανσης για 141 μεταβλητές/ σημεία (Σχήμα 5.1.7 Α) το πρώτο φορτίο, το οποίο αναφέρεται στον πρώτο κύριο άξονα PC1, έχει θετικές τιμές στην περιοχή $1200-750\text{ cm}^{-1}$. Ενισχύεται έτσι και πάλι, η διάκριση της ομάδας των Κουμανδαριών εξαιτίας της ύπαρξης της ομάδας των σακχάρων. Υπάρχουν και άλλες θετικές τιμές με υψηλή ένταση στους $779, 817, 867, 918, 1080$ και 1100 cm^{-1} στο τρίτο κατά σειρά φορτίο εκτός από την θετική τιμή στους 1060 cm^{-1} .



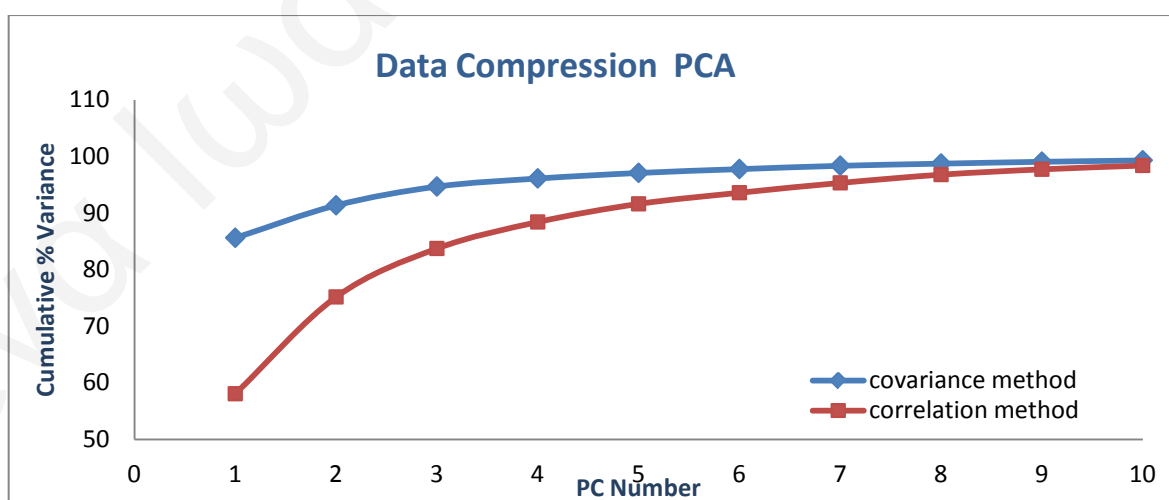
Σχήμα 5.1.7: Α) Διάγραμμα σύγκρισης φορτίων, όπως προέκυψαν από την Ανάλυση Κύριων Συνιστωσών για 141 μεταβλητές / σημεία (PCA, Covariance Method) και Β) τυπικό φάσμα FTIR Κουμανδαρίας στην περιοχή $1200-750\text{ cm}^{-1}$

Η μικρότερη περιοχή του φάσματος που λήφθηκε σε αυτή την περίπτωση για τη χημειομετρική ανάλυση είναι $744-937\text{cm}^{-1}$ και κατά συνέπεια οι μεταβλητές/ σημεία που χρησιμοποιήθηκαν είναι μόνο 50.

Μετά από την Ανάλυση των Κύριων Συνιστωσών με τη μέθοδο της συνδιακύμανσης, η πρώτη κύρια συνιστώσα περιγράφει το σύνολο των φασματοσκοπικών δεδομένων με ποσοστό 85.63%. Το αθροιστικό ποσοστό διακύμανσης των δύο πρώτων κύριων συνιστωσών είναι 91.37% (Σχήμα 5.1.8 και 5.1.9).

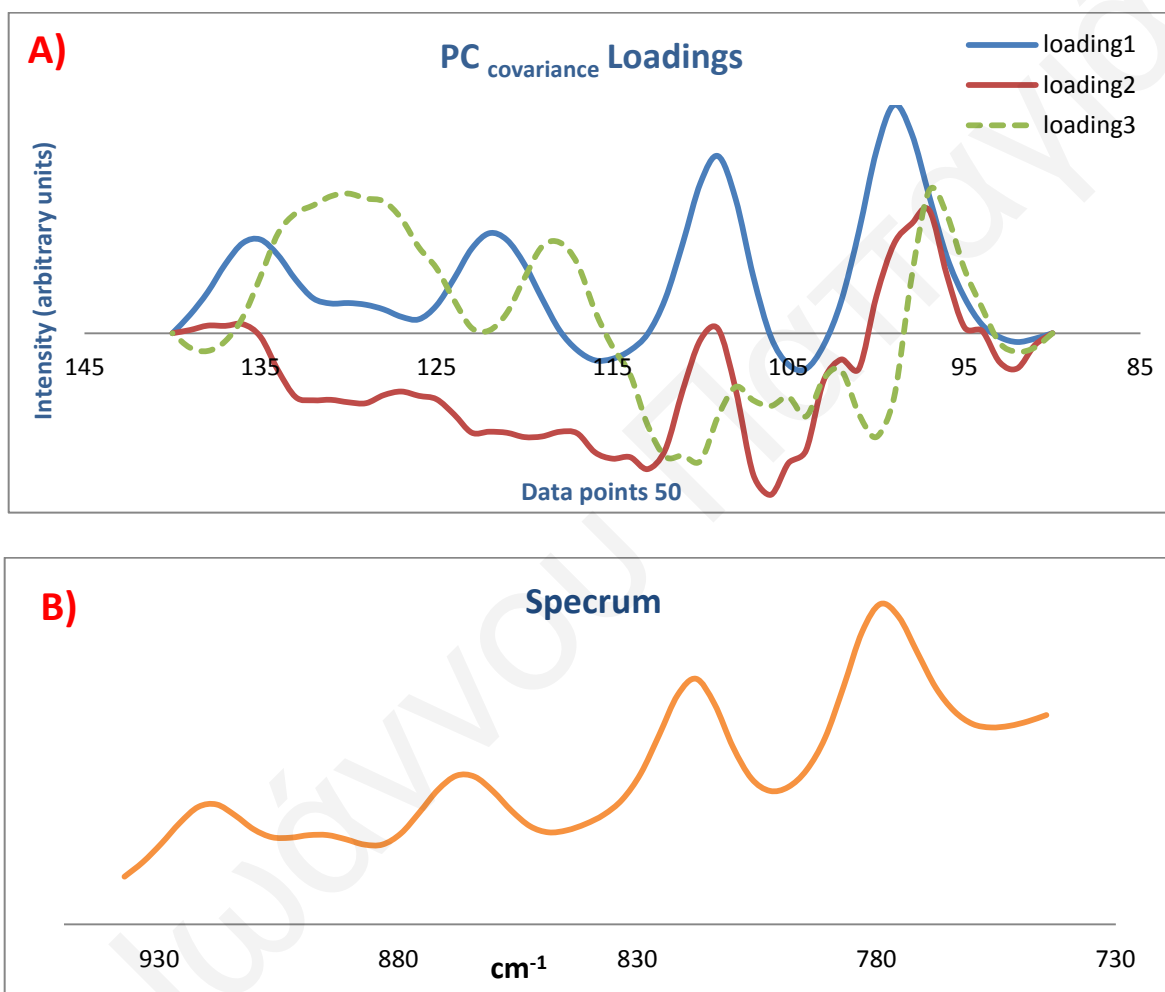


Σχήμα 5.1.8: Διάγραμμα σκέδασης ως προς τον 1^ο και 2^ο κύριο άξονα όπως προέκυψαν από την Ανάλυση Κύριων Συνιστωσών (PCA, Covariance Method)



Σχήμα 5.1.9: Το ποσοστό της διακύμανσης των μεταβλητών σε σχέση με τον αριθμό των κύριων συνιστωσών χρησιμοποιώντας μέθοδο συνδιακύμανσης — και μέθοδο συσχέτισης —

Η σύγκριση των τριών πρώτων φορτίων (Σχήμα 5.1.10A) που προέκυψαν από την ανάλυση των κύριων συνιστωσών με μέθοδο συνδιακύμανσης, για 50 μεταβλητές/ σημεία, δείχνει τη διάκριση σύμφωνα με τις θετικές τιμές στους 779, 817, 867 και 918 cm^{-1} (Σχήμα 5.1.10B). Η διάκριση γίνεται με το πρώτο φορτίο, το οποίο αναφέρεται στον πρώτο κύριο άξονα PC1.



Σχήμα 5.1.10:A) Διάγραμμα σύγκρισης φορτίων για 50 μεταβλητές/σημεία όπως προέκυψαν από την Ανάλυση Κύριων Συνιστωσών (PCA, Covariance Method) και **B)** τυπικό φάσμα FTIR Κουμανδαρίας στην περιοχή 744- 937 cm^{-1}

Κεφάλαιο 5: Χημειομετρική Ανάλυση Φασματοσκοπικών Δεδομένων, FTIR

Η Γραμμική Διακριτική Ανάλυση υπολογίζοντας την Ευκλείδεια απόσταση έδωσε 31 ορθές προβλέψεις από τις 34 και είχε ποσοστό επιτυχίας 91% (Πίνακας 5.2.7). Την ταξινόμηση δεν ακολούθησαν δύο μη ενδυναμωμένες Κουμανδαρίες (K2, K4) και μια Κουμανδαρία εμπορίου (K32)

Πίνακας 5.1.7: Γραμμική Διακριτική Ανάλυση, βάση της Ευκλείδειας

α/α	Παρατήρηση	Απόσταση από 1 ^η ομάδα	Απόσταση από 2 ^η ομάδα	Προβλεπόμενη ομάδα	
1	K1	3.8623E-06	1.6264E-04	1	Correct
2	K2	2.2401E-04	6.5228E-05	2	Incorrect
3	K3	8.6470E-06	1.5013E-04	1	Correct
4	K4	8.1538E-05	7.7240E-05	2	Incorrect
5	K5	3.3256E-05	1.2552E-04	1	Correct
6	K6	7.6492E-05	2.3527E-04	1	Correct
7	K7	3.3551E-05	1.2523E-04	1	Correct
8	K8	4.9617E-05	1.0916E-04	1	Correct
9	K9	4.5968E-06	1.6337E-04	1	Correct
10	K10	2.9856E-05	1.8863E-04	1	Correct
11	K11	2.2684E-05	1.8146E-04	1	Correct
12	K12	7.1950E-05	2.3073E-04	1	Correct
13	K13	3.0237E-05	1.2854E-04	1	Correct
14	K14	1.3063E-05	1.4571E-04	1	Correct
15	K15	1.3582E-04	2.9460E-04	1	Correct
16	K16	2.7668E-04	4.3546E-04	1	Correct
17	K17	6.3335E-05	9.5443E-05	1	Correct
18	K18	3.6690E-05	1.2209E-04	1	Correct
19	K19	6.5570E-05	9.3208E-05	1	Correct
20	K20	4.7056E-05	1.1172E-04	1	Correct
21	K21	5.0398E-05	2.0918E-04	1	Correct
22	K22	1.2385E-05	1.7116E-04	1	Correct
23	K23	5.7345E-06	1.5304E-04	1	Correct
24	K24	5.5483E-05	1.0329E-04	1	Correct
25	K25	1.7202E-04	3.3080E-04	1	Correct
26	K26	7.3723E-05	8.5055E-05	1	Correct
27	K27	1.4452E-05	1.4433E-04	1	Correct
28	K28	1.4452E-05	1.4433E-04	1	Correct
29	K29	8.1169E-05	2.3995E-04	1	Correct
30	K30	8.1169E-05	2.3995E-04	1	Correct
31	K31	1.3648E-05	1.4513E-04	1	Correct
32	K32	2.3191E-04	7.3134E-05	2	Incorrect
33	K33	1.3664E-05	1.7244E-04	1	Correct
34	K34	6.3221E-05	2.2200E-04	1	Correct

Κεφάλαιο 5: Χημειομετρική Ανάλυση Φασματοσκοπικών Δεδομένων, FTIR

Πίνακας 5.1.7 (Συνέχεια): Γραμμική Διακριτική Ανάλυση, βάση της Ευκλείδειας

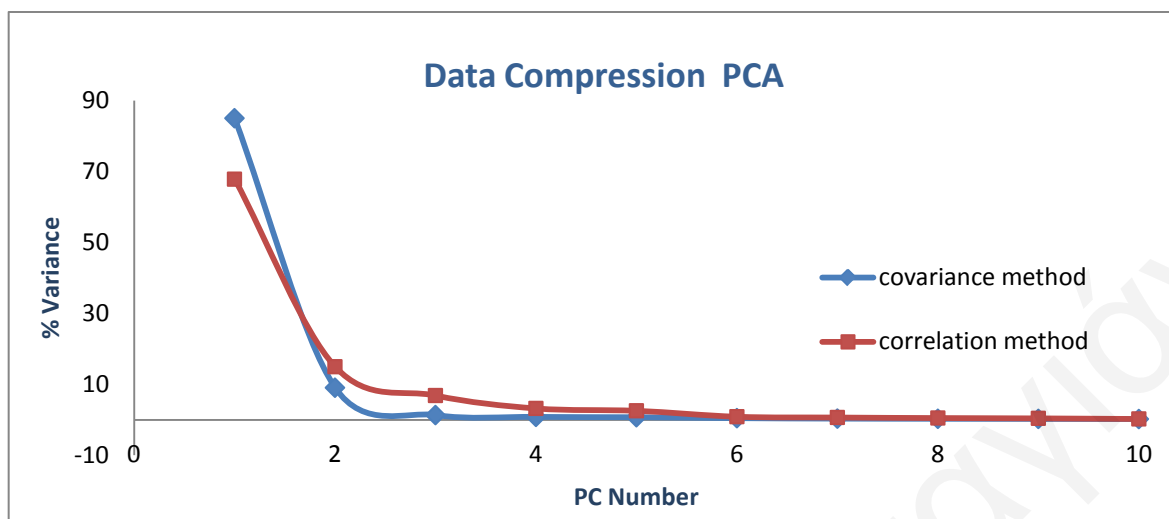
α/α	Παρατήρηση	Απόσταση από 1 ^η ομάδα	Απόσταση από 2 ^η ομάδα	Προβλεπόμενη ομάδα	
35	W1	1.9455E-04	3.5774E-05	2	Correct
36	W2	1.9367E-04	3.4890E-05	2	Correct
37	W3	3.3247E-04	1.7369E-04	2	Correct
38	W4	6.7659E-05	2.2644E-04	1	Incorrect
39	W5	1.4427E-04	1.4506E-05	2	Correct
40	W6	2.0623E-04	3.6501E-04	1	Incorrect
41	W7	5.9704E-05	2.1848E-04	1	Incorrect
42	W8	2.6512E-05	1.8529E-04	1	Incorrect
43	W9	4.0242E-04	2.4364E-04	2	Correct
44	W10	8.5981E-05	2.4476E-04	1	Incorrect
45	W11	2.6780E-04	1.0902E-04	2	Correct
46	W12	2.3641E-04	7.7633E-05	2	Correct
47	W13	5.7945E-05	1.0083E-04	1	Incorrect
48	W14	1.7612E-04	1.7341E-05	2	Correct
49	W15	1.8980E-04	3.1024E-05	2	Correct
50	W16	3.3283E-04	1.7405E-04	2	Correct
51	W17	2.7161E-04	1.1283E-04	2	Correct
52	W18	2.3783E-04	7.9049E-05	2	Correct
53	W19	2.4521E-04	8.6437E-05	2	Correct
54	W20	1.3813E-04	2.0651E-05	2	Correct
55	W21	2.1123E-04	5.2453E-05	2	Correct
56	W22	1.8718E-04	2.8405E-05	2	Correct
57	W23	1.5033E-04	8.4456E-06	2	Correct
58	W24	3.0233E-04	1.4356E-04	2	Correct
59	W25	2.9371E-04	1.3493E-04	2	Correct
60	W26	1.7224E-04	1.3460E-05	2	Correct
61	W27	2.2346E-04	6.4679E-05	2	Correct
62	W28	1.9436E-04	3.5579E-05	2	Correct
63	W29	1.3664E-05	1.7244E-04	1	Incorrect
64	W30	6.7186E-05	9.1592E-05	1	Incorrect

5.2 Χημειομετρική Ανάλυση Φασμασκοπικών Δεδομένων FTIR σε δείγματα μετά από Ροή Αζώτου (N₂)

Τα 64 δείγματα (Κεφ. 4.1 και Πίνακας 4.1) στη συνέχεια συμπεκνώθηκαν με ροή αζώτου (Κεφ. 4.3) και τα φασματοσκοπικά δεδομένα αναλύθηκαν χημειομετρικά. Η χημειομετρική Ανάλυση Κύριων Συνιστωσών σε 935 μεταβλητές/ σημεία (ολόκληρη περιοχή φάσματος) κατέταξε τις Κουμανδαρίες σε ομάδα με επιτυχία 85%, με συνεισφορά μόνο της πρώτης κύριας συνιστώσας και εφαρμόζοντας τη μέθοδο συνδιακύμανσης (Πίνακας 5.2.1 και Σχήμα 5.2.1). Οι πρώτες δύο κύριες συνιστώσες έχουν αθροιστικό ποσοστό διακύμανσης 94.06% της συνολικής πληροφορίας.

Πίνακας 5.2.1: Αθροιστική διακύμανση κύριων συνιστωσών (Covariance Method)

Κύρια Συνιστώσα	% Διακύμανση	Αθροιστικό ποσοστό διακύμανσης
1	85.00	85.00
2	9.06	94.06
3	1.35	95.41
4	0.84	96.25
5	0.74	96.98
6	0.48	97.46
7	0.35	97.81
8	0.30	98.11
9	0.27	98.38
10	0.23	98.60



Σχήμα 5.2.1: Το ποσοστό της διακύμανσης των μεταβλητών σε σχέση με τον αριθμό των κύριων συνιστωσών χρησιμοποιώντας μέθοδο συνδιακύμανσης — και μέθοδο συσχέτισης —

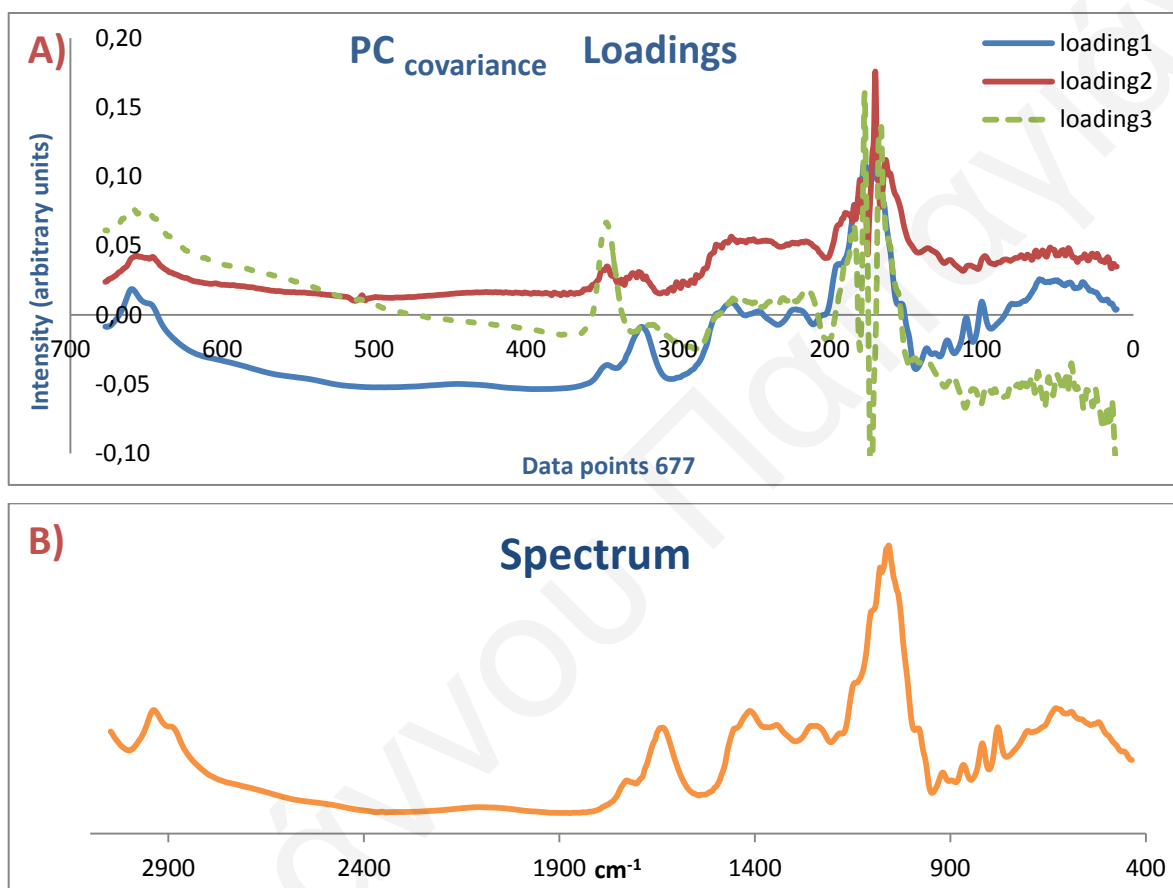
Η χημειομετρική επεξεργασία με λιγότερες μεταβλητές είχε μεγαλύτερη επιτυχία διαχωρισμού των δύο ομάδων. Στην περίπτωση που οι μεταβλητές/ σημεία είναι 677, το ποσοστό διακύμανσης της πρώτης κύριας συνιστώσας με τη μέθοδο της συνδιακύμανσης, φτάνει το 93.27%, ενώ μαζί με τη δεύτερη κύρια συνιστώσα το αθροιστικό ποσοστό διακύμανσης φτάνει το 96.81% (Πίνακας 5.2.2).

Πίνακας 5.2.2: Αθροιστική διακύμανση κύριων συνιστωσών (Covariance Method)

Κύρια Συνιστώσα	% Διακύμανση	Αθροιστικό ποσοστό διακύμανσης
1	93.27	93.27
2	3.55	96.81
3	0.93	97.75
4	0.55	98.29
5	0.43	98.72
6	0.36	99.08
7	0.24	99.32
8	0.17	99.49
9	0.13	99.62
10	0.10	99.72

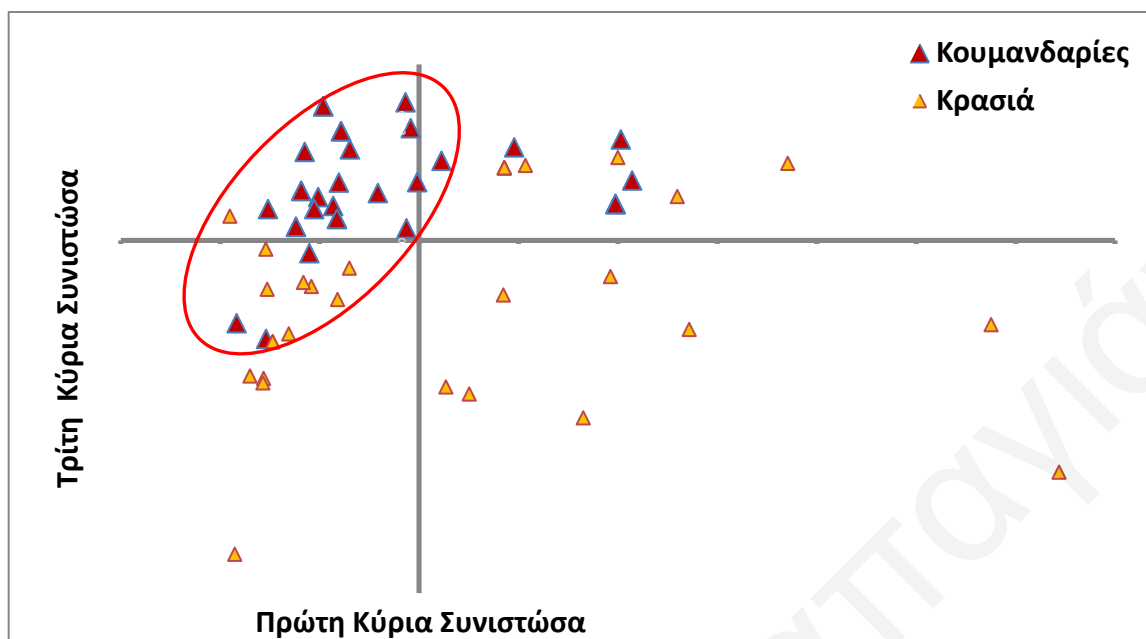
Κεφάλαιο 5: Χημειομετρική Ανάλυση Φασματοσκοπικών Δεδομένων, FTIR

Αντιπαραθέτοντας τα φορτία των τριών πρώτων κύριων αξόνων των κύριων συνιστωσών, με τη μέθοδο της διακύμανσης (Σχήμα 5.2.2Α) στο πρώτο φορτίο, παρατηρείται ψηλότερη θετική τιμή στα 1060 cm^{-1} . Όπως και κατά τη χημειομετρική ανάλυση στα φάσματα των λυοφιλομένων δειγμάτων (Κεφ.5.1) η διάκριση των Κουμανδαριών οφείλεται κατά κύριο λόγο στη φρουκτόζη, σουκρόζη και γλυκόζη.



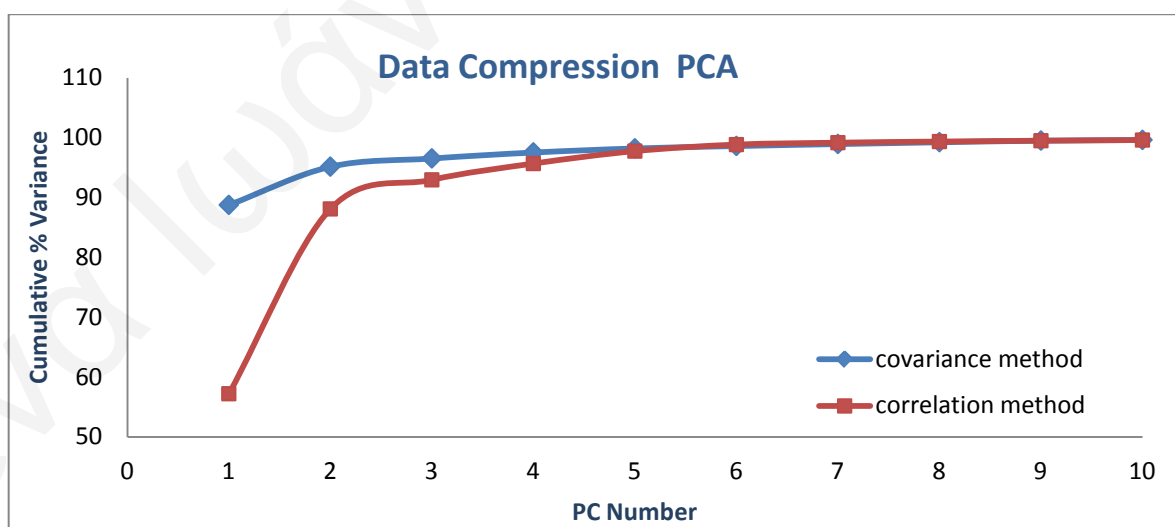
Σχήμα 5.2.2: Α) Διάγραμμα σύγκρισης φορτίων για 677 μεταβλητές όπως προέκυψαν από την Ανάλυση Κύριων Συνιστωσών (PCA, Covariance Method) και Β) τυπικό φάσμα FTIR, $463\text{-}3047\text{ cm}^{-1}$

Η μείωση της περιοχής του φάσματος των δειγμάτων, ώστε να χρησιμοποιούνται μόνο 279 μεταβλητές/σημεία συμπεριλαμβάνοντας τη χαρακτηριστική περιοχή των σακχάρων, η ταξινόμηση των Κουμανδαριών, είχε επιτυχία 95.47% ως προς την πρώτη κύρια συνιστώσα με τη μέθοδο της συνδιακύμανσης (Σχήμα 5.2.3 και 5.2.4).



Σχήμα 5.2.3: Διάγραμμα σκέδασης ως προς τον 1^ο και 3^ο κύριο άξονα που προέκυψαν από την Ανάλυση Κύριων Συνιστωσών (PCA, Covariance Method)

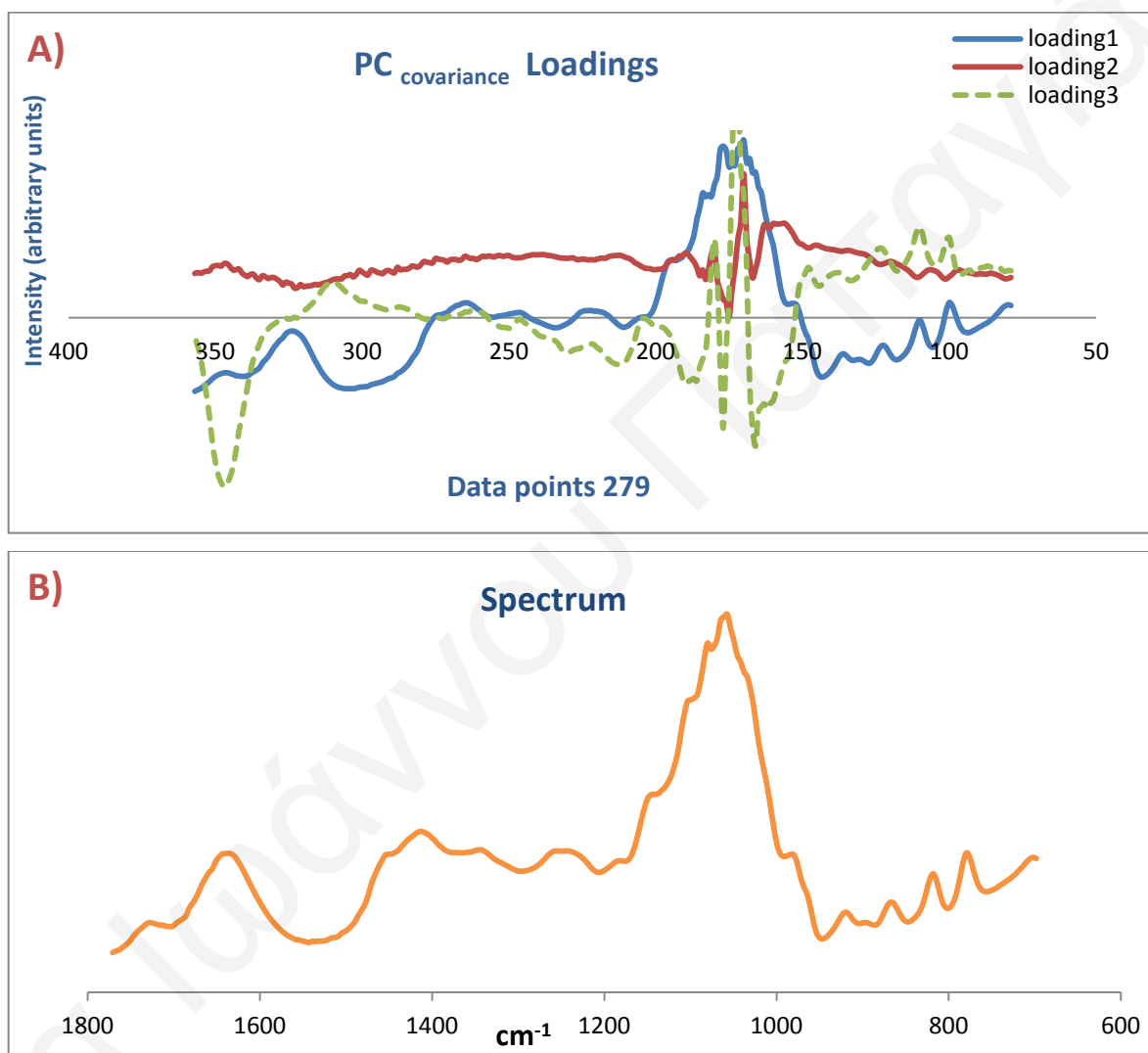
Το καλύτερο αποτέλεσμα μεταξύ των μεθόδων συνδιακύμανσης και συσχέτισης επιτυγχάνεται με τη μέθοδο της συνδιακύμανσης (Σχήμα 5.2.4) αφού με τις πέντε πρώτες κύριες συνιστώσες περιγράφεται το όλο το σύνολο των πληροφοριών.



Σχήμα 5.2.4: Το αθροιστικό ποσοστό των μεταβλητών σε σχέση με τον αριθμό των κύριων συνιστωσών χρησιμοποιώντας μέθοδο συνδιακύμανσης — και μέθοδο συσχέτισης —

Κεφάλαιο 5: Χημειομετρική Ανάλυση Φασματοσκοπικών Δεδομένων, FTIR

Το φορτίο του πρώτου και δεύτερου κύριου άξονα που προέκυψαν από την Ανάλυση των Κύριων Συνιστωσών με τη μέθοδο της συνδιακύμανσης δίνουν πληροφορίες για τη διάκριση των δειγμάτων ως προς τη χαρακτηριστική περιοχή των σακχάρων (Σχήμα 5.2.5A) ενώ το φορτίο του τρίτου άξονα δίνει θετικές τιμές στους 779, 817, 867 και 918 cm^{-1} (Σχήμα 5.2.5B).



Σχήμα 5.2.5: **A)** Διάγραμμα σύγκρισης φορτίων για 279 μεταβλητές όπως προέκυψαν από την Ανάλυση Κύριων Συνιστωσών (PCA, Covariance Method) και **B)** τυπικό φάσμα FTIR, 709-1770 cm^{-1}

Κεφάλαιο 5: Χημειομετρική Ανάλυση Φασματοσκοπικών Δεδομένων, FTIR

Η Γραμμική Διακριτική Ανάλυση των δειγμάτων βάση της Ευκλείδειας απόστασης σε δύο κύριες συνιστώσες στην μέθοδο συνδιακύμανσης, έδωσε 27 ορθές προβλέψεις από τις 34 Κουμανδαρίες. Η ταξινόμηση των Κουμανδαριών επιβεβαιώνεται με ποσοστό 79% σε ξεχωριστή ομάδα (Πίνακας 5.2.3). Στην ομάδα δεν ανήκουν τέσσερις μη ενδυναμωμένες Κουμανδαρίες (K11,K12,K13,K16) και τρεις Κουμανδαρίες εμπορίου (K26,K31,K32).

Πίνακας 5.2.3: Γραμμική Διακριτική Ανάλυση, βάση της Ευκλείδειας απόστασης

a/a	Παρατήρηση	Απόσταση από 1 ^η ομάδα	Απόσταση από 2 ^η ομάδα	Προβλεπόμενη ομάδα	
1	K1	3.1327E-03	5.9736E-03	1	Correct
2	K2	1.1668E-02	1.9878E-02	1	Correct
3	K3	5.7723E-03	1.4052E-02	1	Correct
4	K4	5.7723E-03	1.4052E-02	1	Correct
5	K5	3.0532E-03	1.1367E-02	1	Correct
6	K6	7.8174E-03	1.5985E-02	1	Correct
7	K7	3.5147E-03	5.4434E-03	1	Correct
8	K8	7.4251E-03	1.5545E-02	1	Correct
9	K9	7.4251E-03	1.5545E-02	1	Correct
10	K10	7.4251E-03	1.5545E-02	1	Correct
11	K11	2.4340E-02	1.6146E-02	2	Incorrect
12	K12	2.5343E-02	1.7046E-02	2	Incorrect
13	K13	1.3769E-02	6.0269E-03	2	Incorrect
14	K14	5.0449E-03	1.2722E-02	1	Correct
15	K15	5.0449E-03	1.2722E-02	1	Correct
16	K16	6.4222E-03	2.9919E-03	2	Incorrect
17	K17	1.4585E-02	2.2872E-02	1	Correct
18	K18	2.2153E-03	8.9011E-03	1	Correct
19	K19	1.1486E-02	1.9745E-02	1	Correct
20	K20	6.8186E-03	1.4867E-02	1	Correct
21	K21	4.6910E-03	1.2710E-02	1	Correct
22	K22	6.7758E-03	1.5039E-02	1	Correct
23	K23	4.8571E-03	1.2895E-02	1	Correct
24	K24	5.7857E-03	1.3532E-02	1	Correct
25	K25	4.8571E-03	1.2895E-02	1	Correct
26	K26	2.3785E-02	1.5499E-02	2	Incorrect
27	K27	9.8696E-03	1.7457E-02	1	Correct
28	K28	9.8696E-03	1.7457E-02	1	Correct
29	K29	8.1035E-03	1.6312E-02	1	Correct
30	K30	8.1035E-03	1.6312E-02	1	Correct
31	K31	2.3785E-02	1.5499E-02	2	Incorrect
32	K32	2.3785E-02	1.5499E-02	2	Incorrect
33	K33	2.9574E-03	5.9007E-03	1	Correct
34	K34	3.7174E-03	4.6007E-03	1	Correct

Κεφάλαιο 5: Χημειομετρική Ανάλυση Φασματοσκοπικών Δεδομένων, FTIR

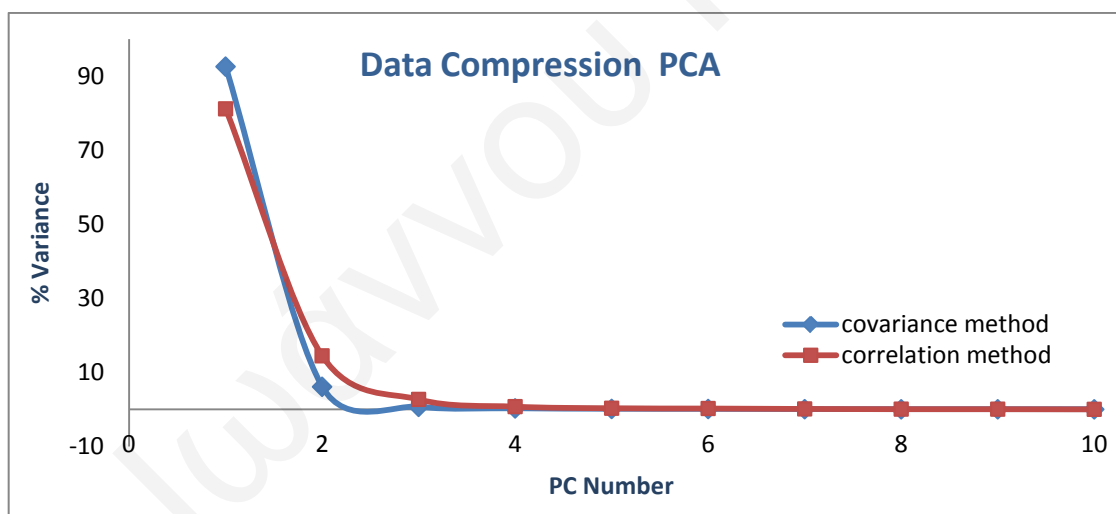
Πίνακας 5.2.3 (Συνέχεια): Γραμμική Διακριτική Ανάλυση, βάση της Ευκλείδειας απόστασης

α/α	Παρατήρηση	Απόσταση από 1 ^η ομάδα	Απόσταση από 2 ^η ομάδα	Προβλεπόμενη ομάδα	
35	W1	6.8380E-02	6.0101E-02	2	Correct
36	W2	6.1433E-02	5.3118E-02	2	Correct
37	W3	2.9892E-02	2.1574E-02	2	Correct
38	W4	1.4665E-02	6.3835E-03	2	Correct
39	W5	1.4639E-02	2.2945E-02	1	Incorrect
40	W6	1.0944E-02	1.9179E-02	1	Incorrect
41	W7	1.2666E-02	4.8357E-03	2	Correct
42	W8	7.8100E-03	1.6063E-02	1	Incorrect
43	W9	1.2666E-02	4.8357E-03	2	Correct
44	W10	1.2666E-02	4.8357E-03	2	Correct
45	W11	1.2666E-02	4.8357E-03	2	Correct
46	W12	1.0944E-02	1.9179E-02	1	Incorrect
47	W13	4.1793E-02	3.3615E-02	2	Correct
48	W14	8.9715E-03	7.2015E-04	2	Correct
49	W15	2.3996E-02	1.5700E-02	2	Correct
50	W16	1.1684E-02	1.9897E-02	1	Incorrect
51	W17	3.3242E-03	1.1453E-02	1	Incorrect
52	W18	1.5201E-02	2.3470E-02	1	Incorrect
53	W19	1.2408E-02	4.2032E-03	2	Correct
54	W20	4.6067E-03	1.2757E-02	1	Incorrect
55	W21	2.3194E-02	1.4881E-02	2	Correct
56	W22	2.0451E-02	1.2137E-02	2	Correct
57	W23	6.7147E-03	2.2666E-03	2	Correct
58	W24	1.1375E-02	1.9682E-02	1	Incorrect
59	W25	1.1734E-02	2.0042E-02	1	Incorrect
60	W26	3.1072E-02	2.2765E-02	2	Correct
61	W27	1.1957E-02	2.0233E-02	1	Incorrect
62	W28	1.3151E-02	2.1433E-02	1	Incorrect
63	W29	9.3062E-03	1.7594E-02	1	Incorrect
64	W30	6.9279E-03	1.5239E-02	1	Incorrect

Η μείωση των μεταβλητών/ σημείων σε 53 κατά τη χημειομετρική Ανάλυση Κύριων Συνιστωσών κατέταξε την ομάδα των Κουμανδαριών με επιτυχία 92.60% μέσω της μεθόδου της συνδιακύμανσης (Πίνακας 5.2.4 και Σχήμα 5.2.6). Συγκρίνοντας τη μέθοδο συνδιακύμανσης με τη μέθοδο συσχέτισης στο Σχήμα 5.2.6, παρατηρείται παρόμοιο αποτέλεσμα.

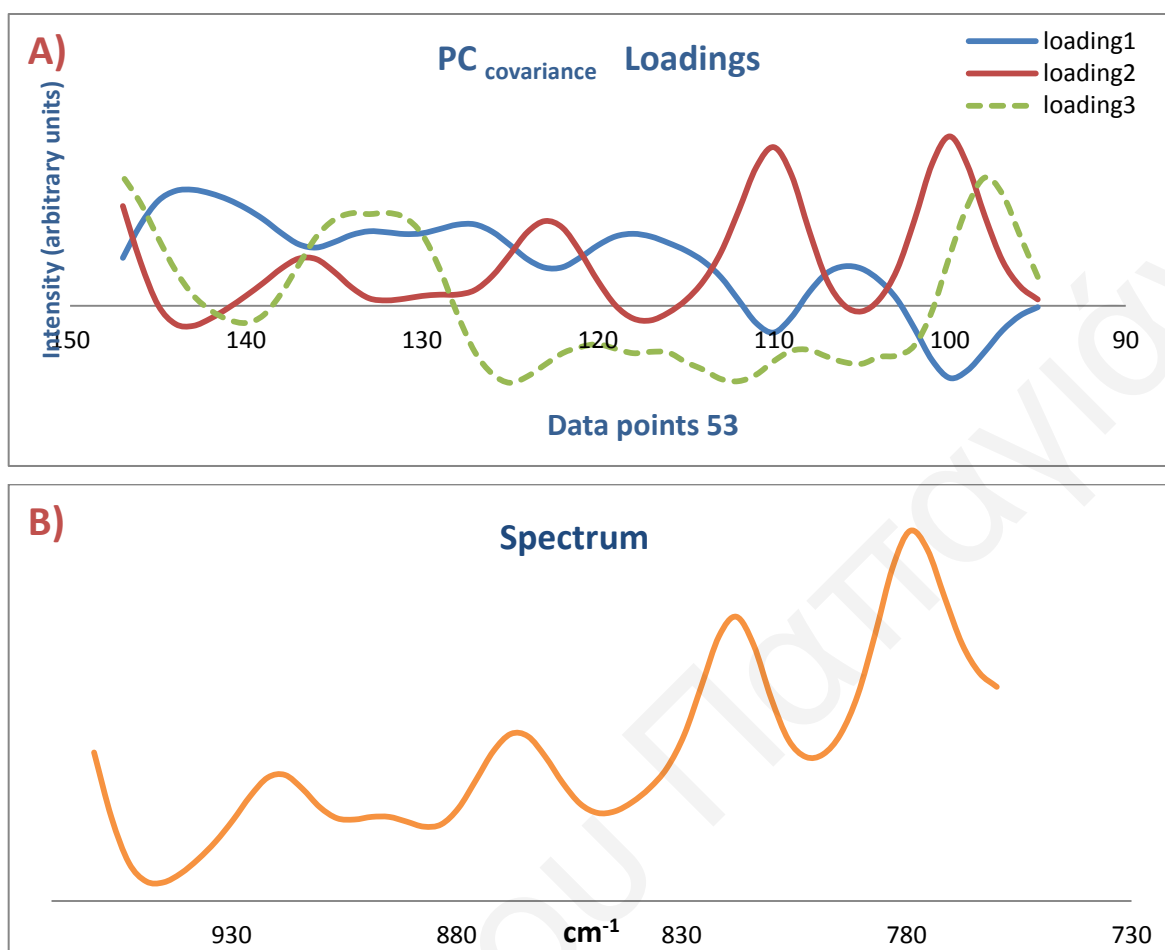
Πίνακας 5.2.4: Αθροιστική διακύμανση κύριων συνιστωσών (Covariance Method)

Κύρια Συνιστώσα	% Διακύμανση	Αθροιστικό ποσοστό διακύμανσης
1	92.6	92.60
2	6.10	98.70
3	0.68	99.38
4	0.26	99.64
5	0.12	99.77
6	0.10	99.87
7	0.05	99.92
8	0.02	99.94
9	0.02	99.96
10	0.01	99.97



Σχήμα 5.2.6: Το ποσοστό της διακύμανσης των μεταβλητών σε σχέση με τον αριθμό των κύριων συνιστωσών χρησιμοποιώντας μέθοδο συνδιακύμανσης — και μέθοδο συσχέτισης —

Κατά την Ανάλυση των Κύριων Συνιστωσών με τη μέθοδο συσχέτισης, το πρώτο φορτίο, του πρώτου κύριου άξονα, έχει υψηλότερες θετικές τιμές στους 779, 817 και πιο χαμηλή στους 867 cm^{-1} (Σχήμα 5.2.7B). Η διάκριση της ομάδας κατά κύριο λόγο γίνεται βάση των κορυφών στους 779 και 817 cm^{-1} .



Σχήμα 5.2.7: Α) Διάγραμμα σύγκρισης φορτίων για 53 μεταβλητές όπως προέκυψαν από την Ανάλυση Κύριων Συνιστωσών (PCA, Covariance Method) και Β) τυπικό φάσμα FTIR, 760-960 cm^{-1}

5.3 Σύγκριση των τεχνικών συμπύκνωσης δειγμάτων (λυοφυλίωσης και ροής αζώτου) μετά από Χημειομετρική Ανάλυση των Φασμασματοσκοπικών Δεδομένων FTIR

Στο κεφάλαιο αυτό εφαρμόστηκε στατιστική ανάλυση φασματοσκοπικών δεδομένων FTIR συμπυκνωμένων δειγμάτων μετά από λυοφυλίωση και μετά από ροή αζώτου σε περιοχή $600-1800\text{ cm}^{-1}$.

Έγινε χρήση του στατιστικού πακέτου SCAN, το οποίο παρέχει στο χρήστη τη δυνατότητα διαχείρισης μεγάλου αριθμού δεδομένων, κατάταξης και βαθμονόμησης, επικύρωσης και προεπεξεργασίας των δεδομένων [22-27]. Τα 64 δείγματα χωρίστηκαν σε τέσσερις ομάδες (Κεφ.4.1 και Πίνακας 4.1 α) και β)):

1η ομάδα : Κουμανδαρίες Ενδυναμωμένες και μη Ενδυναμωμένες (25)

2η ομάδα : Κουμανδαρίες Εμπορίου (9)

3η ομάδα : Διάφορα Ξένα Κρασιά (26)

4η ομάδα : Διάφορα Κυπριακά Κρασιά (4)

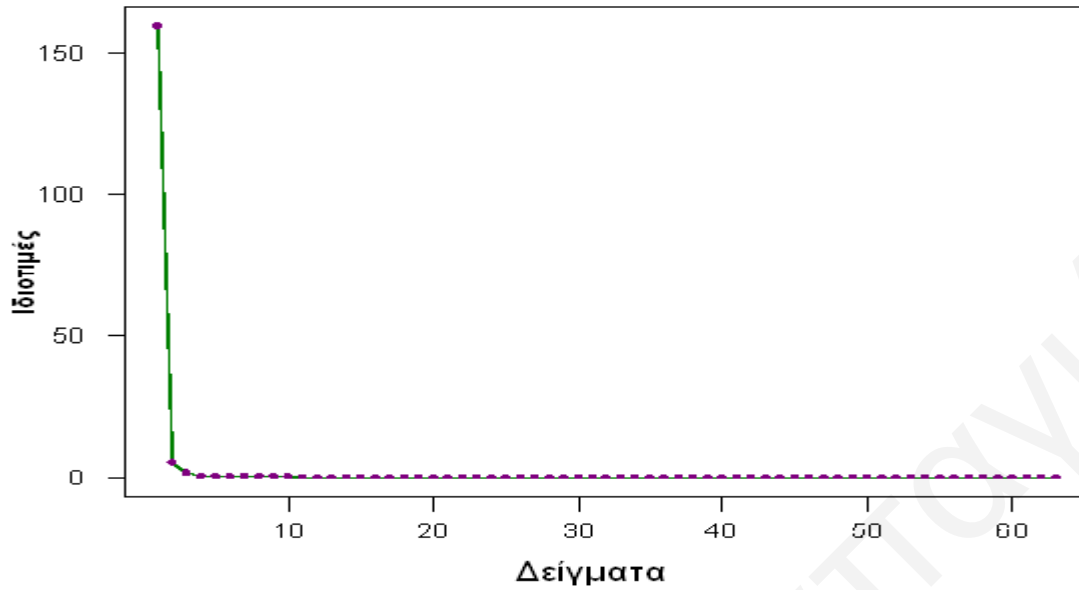
5.3.1 Λυοφυλιωμένα Δείγματα

5.3.1.α Ταξινόμηση με Ανάλυση Κύριων Συνιστωσών

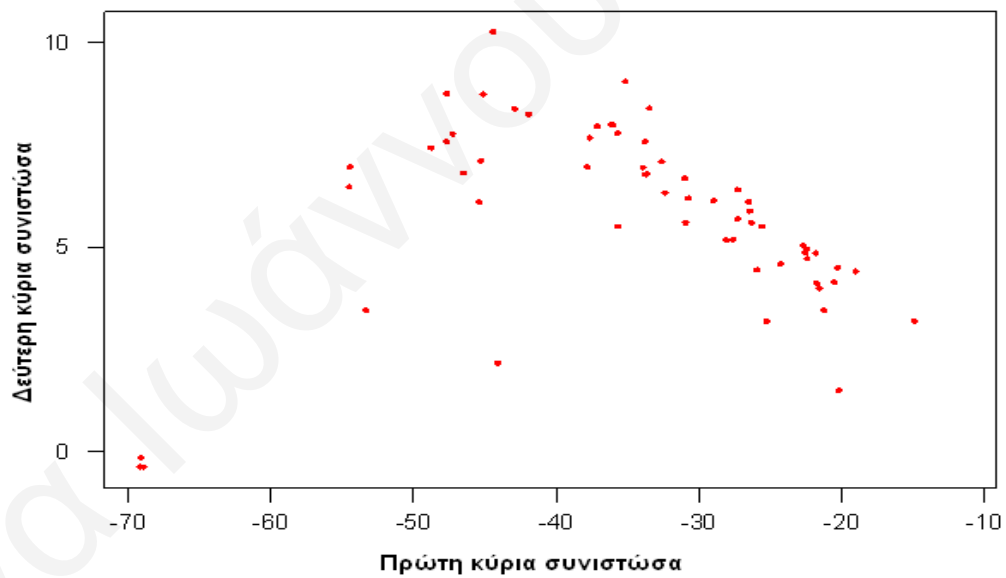
Εφαρμόστηκε Ανάλυση Κύριων Συνιστωσών (PCA) στα λυοφυλιωμένα δείγματα σε περιοχή $600-1800\text{ cm}^{-1}$. Στη συνέχεια, δίνονται οι ιδιοτιμές, η αναλογία και η συσσώρευση για κάθε μεταβλητή.

Ιδιοτιμή (Eigenvalue)	159.39	4.92	1.45	0.42	0.31	0.30
Αναλογία (Proportion)	0.953	0.029	0.009	0.003	0.002	0.002
Συσσώρευση (Cumulative)	0.953	0.983	0.991	0.994	0.996	0.997

Οι ιδιοτιμές δίνουν τη σημασία της κάθε συνιστώσας σε σχέση με τις άλλες. Η κάθε μεταβλητή ερμηνεύει τις διάφορες συνιστώσες με διαφορετικό βαθμό και η αναλογία τους δίνει την εξήγηση της αρχικής διακύμανσης: η πρώτη ερμηνεύει το 95,3%, η δεύτερη το 2,9% και η τρίτη μόνο το 0,9% (Σχήμα 5.3.1). Η συσσώρευση εξηγεί το ποσοστό της πληροφορίας που παρέχεται στα διαγράμματα των κύριων συνιστωσών. Η εξήγηση του 95,3% της πληροφορίας δίνεται από ένα μόνο διάγραμμα.



Σχήμα 5.3.1: Γράφημα ιδιοτιμών κύριων συνιστωσών που προέκυψαν μετά από Ανάλυση Κύριων Συνιστωσών 64 δειγμάτων



Σχήμα 5.3.2: Διάγραμμα συσχέτισης 64 δειγμάτων ως προς την 1η και 2^η κύρια συνιστώσα που προέκυψαν μετά από Ανάλυση Κύριων Συνιστωσών

5.3.1.β Ταξινόμηση με Δένδρα Ταξινόμησης και Παλινδρόμησης

Μετά από την Ανάλυση Κύριων Συνιστωσών τα δείγματα ταξινομήθηκαν σε τέσσερις ομάδες με τη χρήση λογισμικού SCAN και της τεχνικής των Δένδρων Ταξινόμησης και Παλινδρόμησης (CART). Τα αποτελέσματα που προκύπτουν βάση αλγόριθμων δίνονται πιο κάτω:

Παράγοντας ταξινόμησης F_k για 64 δείγματα

Τάξη	Πιθανότητα	Αρ. Δειγμάτων	Αποστάσεις κέντρων τάξεων			
1	0.391	25	0.0	1.0	1.0	1.0
2	0.141	9	1.0	0.0	1.0	1.0
3	0.406	26	1.0	1.0	0.0	1.0
4	0.063	4	1.0	1.0	1.0	0.0

Συχνότητα σφάλματος δόμησης (No-model Error Rate) : 0.5937

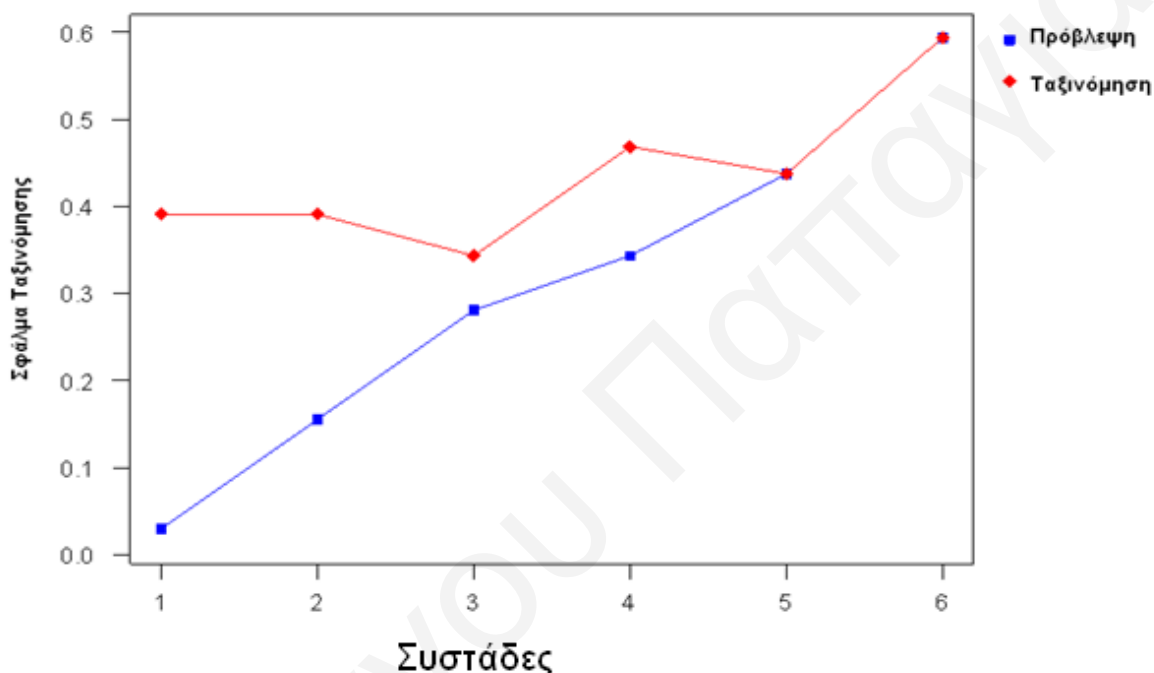
Επικινδυνότητα (No-model Risk) : 0.5937

Η ικανότητα ταξινόμησης των δειγμάτων Κουμανδαρίας στην ίδια ομάδα ήταν αρκετά υψηλή, αφού ταξινομήθηκαν 22 από τα 25 δείγματα στην ίδια ομάδα με ποσοστό ορθής πρόβλεψης 88% (Πίνακας 5.3.1) αλλά και η διασταυρωτική επιβεβαίωση της ίδιας ομάδας έχει ορθή πρόβλεψη 84%.

Πίνακας 5.3.1: Ταξινόμηση σε τέσσερις ομάδες με CART

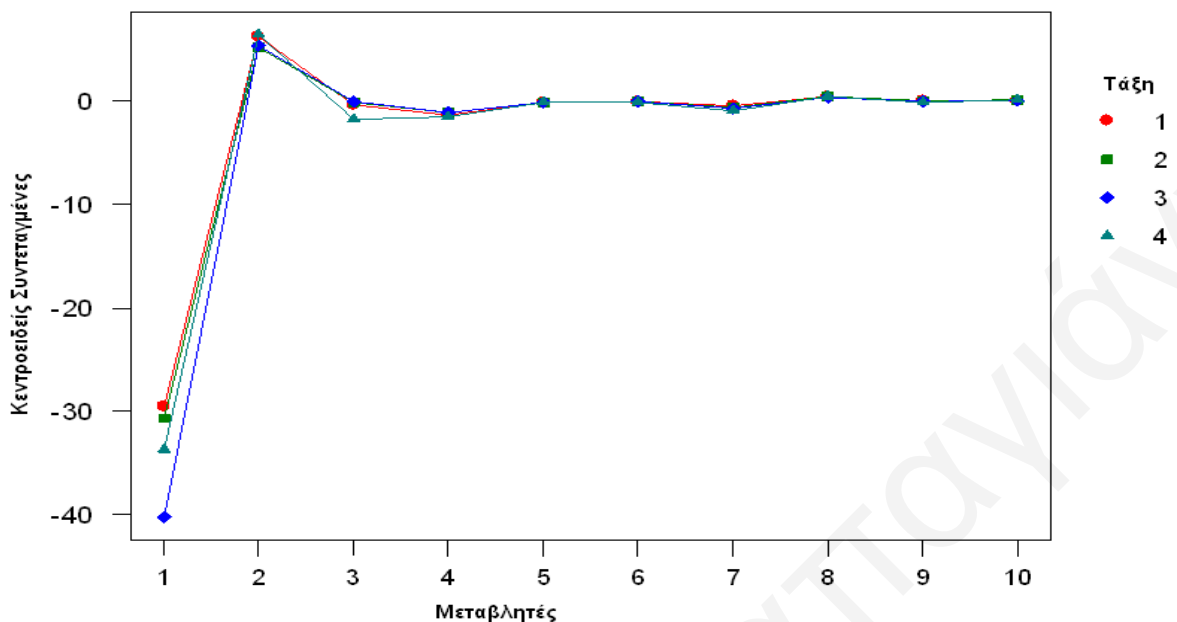
	Πραγματική Τάξη	Αρ. Δειγμάτων	Προκαθορισμένη τάξη				% ορθής πρόβλεψης
			1	2	3	4	
Κουμανδαρίες	1	25	22	0	3	0	88.0
Κουμανδαρίες εμπορίου	2	9	3	0	5	1	00.0
Άλλα κρασιά	3	26	3	0	20	3	76.9
Κυπριακά κρασιά	4	4	0	0	0	4	100.0
% ποσοστό σφάλματος = 28.1							
<i>Cross-validation</i>							% ορθής πρόβλεψης
Κουμανδαρίες	1	25	21	0	3	1	84.0
Κουμανδαρίες εμπορίου	2	9	3	0	5	1	00.0
Άλλα κρασιά	3	26	7	0	17	2	65.4
Κυπριακά κρασιά	4	4	0	0	0	4	100.0
% ποσοστό σφάλματος = 34.4							

Οι Κουμανδαρίες εμπορίου δεν ταξινομήθηκαν ως ξεχωριστή ομάδα αλλά τρεις από αυτές ταξινομήθηκαν στην ομάδα των Κουμανδαριών και μία στα κυπριακά κρασιά. Τα κυπριακά κρασιά αποτελούν ξεχωριστή ομάδα και κατά την διασταυρωτική επιβεβαίωση (cross-validation) των τάξεων με ποσοστό ορθής πρόβλεψης 100%. Στο Σχήμα 5.3.3 φαίνεται η αξιοπιστία της ταξινόμησης.



Σχήμα 5.3.3: Επιτυχία ταξινόμησης σε συστάδες 64 δειγμάτων Κουμανδαριών και άλλων κρασιών

Στο Σχήμα 5.3.4 παριστάνονται διαγραμματικά τα κέντρα των τάξεων για κάθε μεταβλητή (PC score). Κάθε σημείο αντιπροσωπεύει το μέσο όρο κάθε μεταβλητής για όλη την ομάδα. Όσο μακριά από το μηδέν εμφανίζεται μια μεταβλητή, τόσο πιο σημαντική είναι η μεταβλητή. Η πρώτη κύρια συνιστώσα είναι η κυριότερη μεταβλητή στην περίπτωση αυτή και βρέθηκε να περιέχει την πιο διακριτική πληροφορία για την ταξινόμηση των δειγμάτων σε τέσσερις ομάδες.



Σχήμα 5.3.4: Διαγραμματική απεικόνιση της συνεισφοράς των 10 μεταβλητών (PC score) στη δημιουργία 4 τάξεων για 64 δείγματα

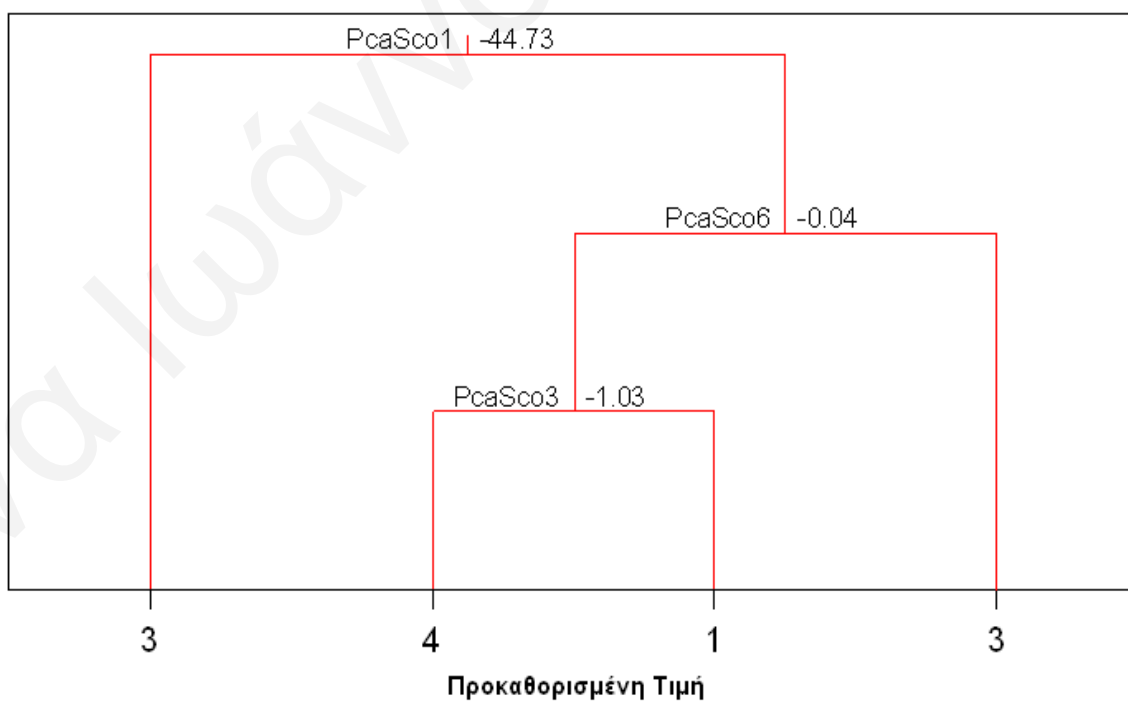
Η χημειομετρική τεχνική CART επιτρέπει στο χρήστη να διακρίνει μια λογική ομαδοποίηση των μεταβλητών και ένα διαφανόμενο διαχωρισμό της ομάδας των Κουμανδαριών. Κατά το διαχωρισμό που έγινε βάση κριτηρίου Gini επιλέγηκαν μόνο έξι κύριες συνιστώσες οι οποίες επιτρέπουν την ακριβή ταξινόμηση των δειγμάτων.

Η δομή της ταξινόμησης δίνεται στον πίνακα 5.3.2 και στο δενδρόγραμμα του Σχήματος 5.3.5 και περιέχει τέσσερις τερματικούς κόμβους. Για την ταξινόμηση της 1^{ης} και 4^{ης} ομάδας η κύρια μεταβλητή είναι η τρίτη κύρια συνιστώσα, η οποία και διαχωρίζει τα κυπριακά κρασιά από τα διάφορα άλλα κρασιά. Η ταξινόμηση της 1^{ης} ομάδας έγινε με πιθανότητα 78.6%.

Κεφάλαιο 5: Χημειομετρική Ανάλυση Φασματοσκοπικών Δεδομένων, FTIR

Πίνακας 5.3.2: Στοιχεία δόμησης του μοντέλου με CART

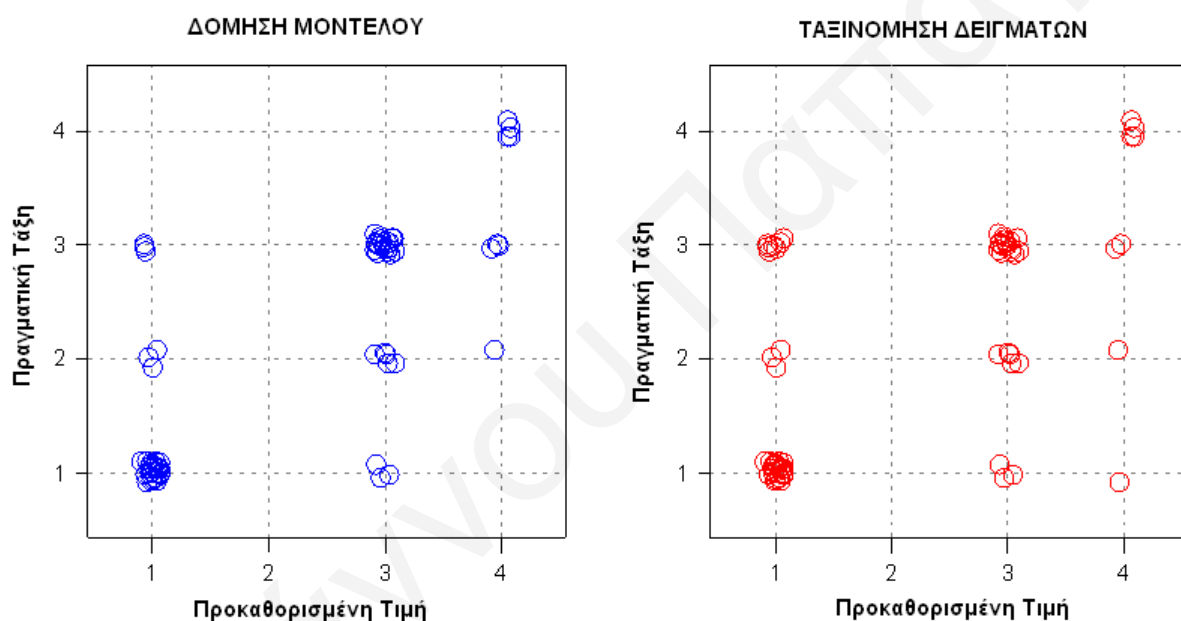
Μη Τερματικοί Κόμβοι	Αρ. παραμέτρων	Πιθανότητα	Τερματικοί Κόμβοι	Σφάλμα	Τάξη	Αρ. παραμέτρων	Πιθανότητα
1	14	0.2187	3	0.0313	1	1	0.071
					2	1	0.071
					3	12	0.857
					4	0	0.000
2	8	0.1250	4	0.0625	1	0	0.000
					2	1	0.125
					3	3	0.375
					4	4	0.500
3	28	0.4375	1	0.0937	1	22	0.786
					2	3	0.107
					3	3	0.107
					4	0	0.000
4	14	0.2187	3	0.0937	1	2	0.143
					2	4	0.286
					3	8	0.571
					4	0	0.000



Σχήμα 5.3.5: Δένδρο ταξινόμησης των 64 δειγμάτων σε 4 τάξεις με βάση 10 μεταβλητές (PC score)

Η επιτυχία της δόμησης του μοντέλου δίνεται και στο Σχήμα 5.3.6 σύμφωνα με τη μέθοδο *Leave one out*, δηλαδή ένα-ένα τα δείγματα ξεχωρίζουν από το σύνολο των 64 δειγμάτων, που αποτελούν το «Training set», στο οποίο στηρίζεται η δόμηση του μοντέλου και χρησιμοποιείται ως «Test set» για έλεγχο/ εξακρίβωση της ταξινόμησής τους. Αυτό επαναλαμβάνεται για όλα τα δείγματα μέχρι τη δόμηση του μοντέλου και την ταξινόμηση των δειγμάτων σε αυτό.

Παρατηρείται συσσώρευση των δειγμάτων στην 1^η και 3^η ομάδα τόσο κατά τη δόμηση του μοντέλου όσο και κατά την εξακρίβωση του.



Σχήμα 5.3.6: Σχηματική συμπεριφορά των 64 δειγμάτων με CARD

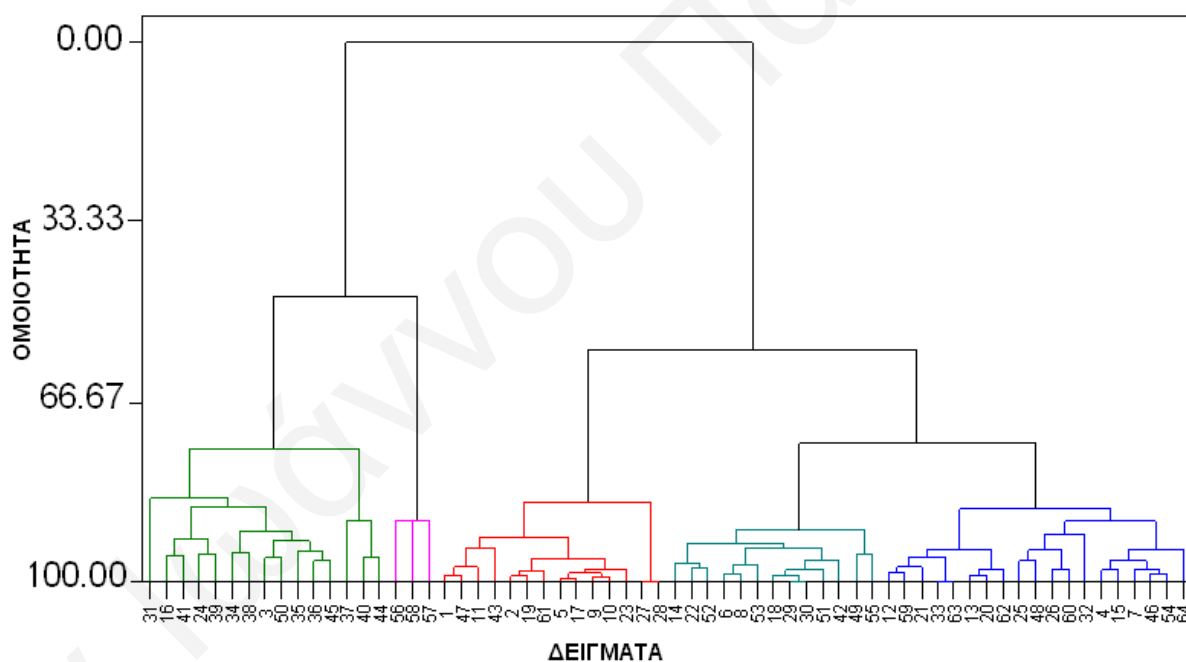
5.3.1.γ Ταξινόμηση με Ιεραρχική Ανάλυση κατά Συστάδες

Η Ιεραρχική Ανάλυση κατά Συστάδες γίνεται με σκοπό τον εντοπισμό συστάδων (ομάδων) χωρίς να απαιτείται οποιοδήποτε κριτήριο που να χαρακτηρίζει κάθε συστάδα ή τη δημιουργία μοντέλου. Στηρίζεται μόνο στην απόσταση μεταξύ των δειγμάτων που αποτελεί και το κριτήριο διαχωρισμού τους.

Κεφάλαιο 5: Χημειομετρική Ανάλυση Φασματοσκοπικών Δεδομένων, FTIR

Για το σκοπό αυτό έγινε διόρθωση στην κλίμακα των μεταβλητών και υπολογίστηκε η Ευκλείδεια απόσταση για τέσσερις τάξεις. Η δομή των τάξεων παριστάνεται με το δενδρόγραμμα του Σχήματος 5.3.7.

Στο δενδρόγραμμα 5.3.7 διακρίνονται πέντε συστάδες με ομοιότητα μεγαλύτερη του 75%. Η πρώτη αποτελείται από 15 δείγματα διάφορα κρασιά, και σε αυτά έχουν ταξινομηθεί πέντε δείγματα Κουμανδαριών (3:K3, 16:K16, 24:K24, 31:K31, 34:K34). Η δεύτερη ομάδα είναι η μικρότερη από τις πέντε και αποτελείται εξολοκλήρου από 3 ξένα κρασιά. Η τρίτη ομάδα αποτελείται από 11 Κουμανδαρίες και 2 ξένα κρασιά (43:W9, 47:W13) και μια Μαυροδάφνη Πατρών (61:W27). Στην τέταρτη ομάδα ανήκουν 7 Κουμανδαρίες και 6 ξένα κρασιά. Στην τελευταία ομάδα ταξινομήθηκαν τα περισσότερα κυπριακά κρασιά (15) μία Μαυροδάφνη Πατρών (60: W26), δύο Vinsanto (46 :W12, 48 :W14) και ένα Port (54 :W20).

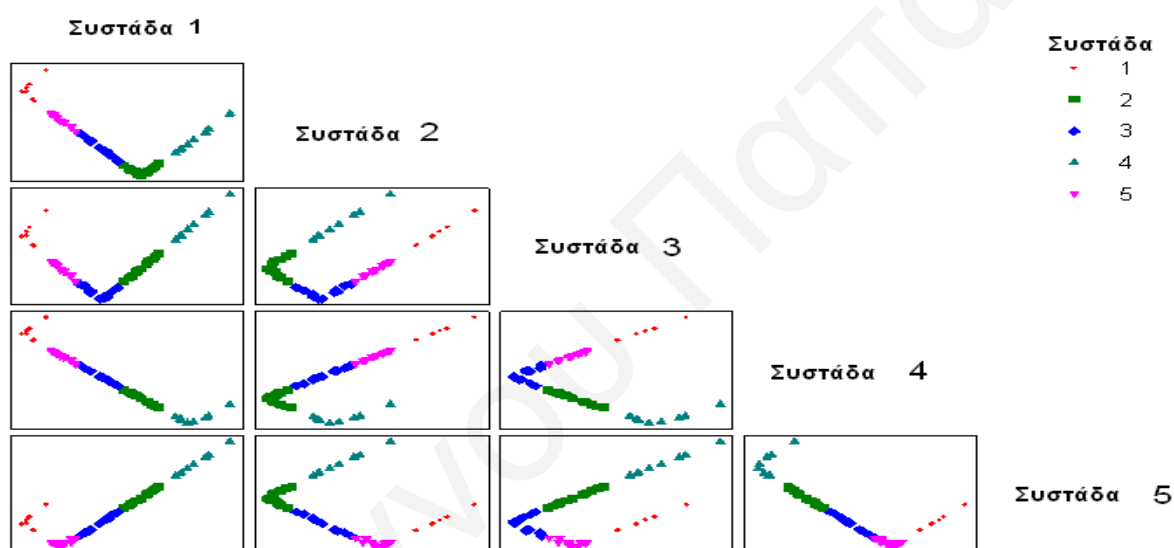


Σχήμα 5.3.7: Δενδρόγραμμα από Ιεραρχική Ανάλυση κατά Συστάδες 64 δειγμάτων

5.3.2 Δείγματα μετά από Ροή Αζώτου

5.3.2.α Ταξινόμηση με Ιεραρχική Ανάλυση κατά Συστάδες

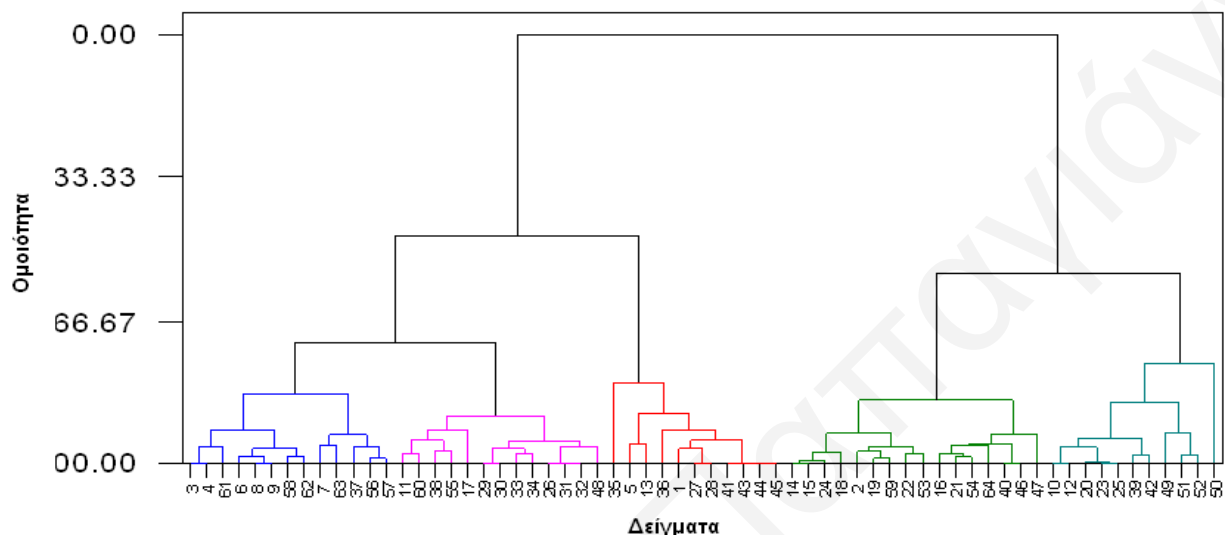
Η Ιεραρχική Ανάλυση κατά Συστάδες εφαρμόστηκε σε συμπυκνωμένα δείγματα μετά από Ροή Αζώτου, σε περιοχή $600-1800\text{ cm}^{-1}$, με σκοπό τον εντοπισμό συστάδων οι οποίες δεν προαποφασίζονται. Για το χαρακτηρισμό της κάθε συστάδας δεν απαιτείται οποιοδήποτε κριτήριο εκτός από την απόσταση των δειγμάτων μεταξύ τους. Στο Σχήμα 5.3.8 παριστάνεται η συμπεριφορά των 64 δειγμάτων στις συστάδες σύμφωνα με την Ευκλείδεια απόσταση κάθε ομάδας. Οι συστάδες διαφοροποιούνται μεταξύ τους σύμφωνα με την απόστασή τους.



Σχήμα 5.3.8: Διαγραμματική απεικόνιση της συμπεριφοράς 64 δειγμάτων στις 5 συστάδες

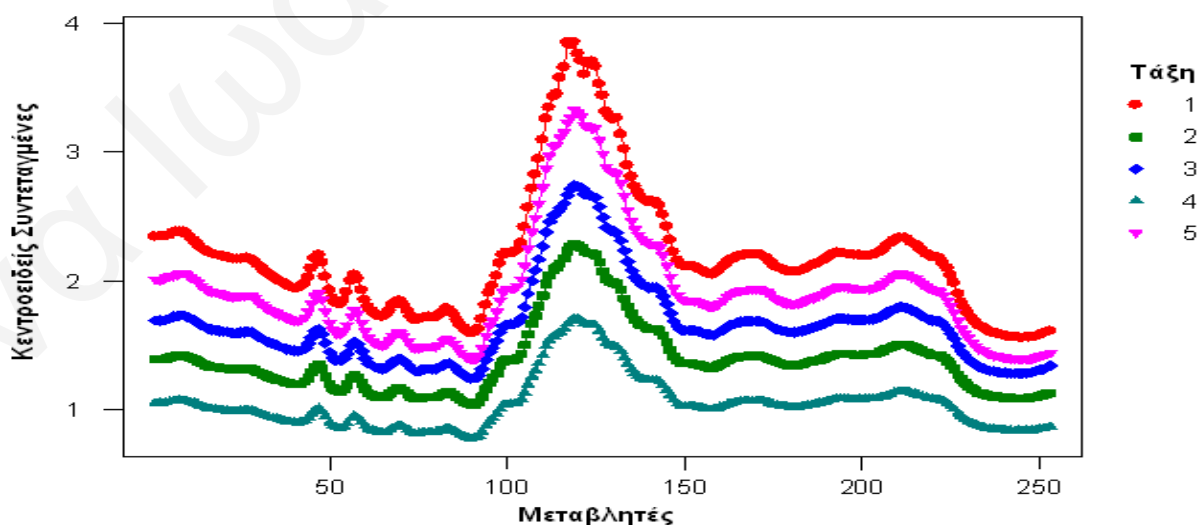
Στο Σχήμα 5.3.9 δίνεται δενδρόγραμμα για τα 64 δείγματα Κουμανδαριών και άλλων κρασιών βάση των φασματοσκοπικών δεδομένων. Διακρίνονται πέντε συστάδες με ομοιότητα μεγαλύτερη του 75%. Η πρώτη αποτελείται από 13 δείγματα και από αυτά μόνο τα 5 δεν είναι κυπριακά: μία ελληνική Μαυροδάφνη (61:W27) και τρία πορτογαλικά Port (37:W3, 56:W22, 57:W23) και από τη Γαλλία το (58:W24). Η δεύτερη συστάδα αποτελείται επίσης από 13 δείγματα από τα οποία το (60:W26) είναι ελληνική Μαυροδάφνη, το (38:W4) ελληνικό Μοσχάτο, το (48:W14) Vinsanto από τη Σαντορίνη και το (55:W21) Port Πορτογαλίας. Στην τρίτη συστάδα είναι ταξινομημένα 11 δείγματα από τα οποία τα δύο είναι Vinsanto (35:W1,41:W7), τρία είναι Port (36:W2,44:W10,45:W11) και ένα είναι Madeira (43:W9). Η τέταρτη συστάδα περιλαμβάνει τα πιο πολλά δείγματα 17 στον αριθμό και από αυτά δύο είναι Port (53:W19,54:W20) τα δύο είναι Vinsanto (46:W13, 47:W13) και ένα Ice Wine

από τη Σλοβενία (40:W6). Η μικρότερη συστάδα είναι η πέμπτη με 10 δείγματα, από τα οποία δύο είναι είναι Vinsanto (39:W5, 49:W15), τρία Port (50:W16, 51:W17, 52:W18) και ένα ελληνικό (42:W8).



Σχήμα 5.3.9: Δενδρόγραμμα από Ιεραρχική Ανάλυση κατά Συστάδες 64 δειγμάτων

Στο Σχήμα 5.3.10 παριστάνονται διαγραμματικά τα κέντρα των συστάδων για κάθε μεταβλητή. Κάθε σημείο αντιπροσωπεύει το μέσο όρο κάθε μεταβλητής για όλη τη συστάδα. Όσο μακρύτερα από το μηδέν εμφανίζεται μια μεταβλητή, τόσο πιο σημαντική είναι. Στο πιο κάτω σχήμα η πιο σημαντική μεταβλητή αντιστοιχεί στους 1060 cm^{-1} του φάσματος FTIR, η οποία και αντιστοιχεί σε δονήσεις τάσεις C-O (Κεφ.4.4)



Σχήμα 5.3.10: Διαγραμματική απεικόνιση της συνεισφοράς των 253 μεταβλητών στη δημιουργία 5 τάξεων για 64 δείγματα

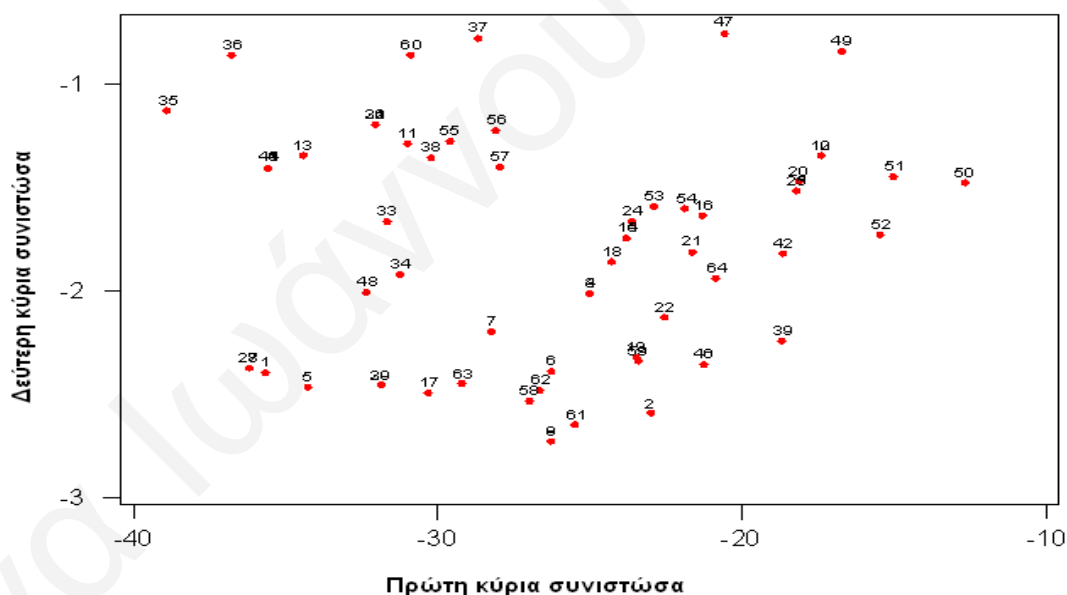
5.3.2.β Ταξινόμηση με Ανάλυση Κύριων Συνιστωσών

Η Ανάλυση Κύριων Συνιστωσών (PCA) στα 64 δείγματα υπολογισμένη από τον πίνακα συνδιακύμανσης, έδωσε τις πιο κάτω ιδιοτιμές, την αναλογία και τη συσσώρευση για κάθε μεταβλητή.

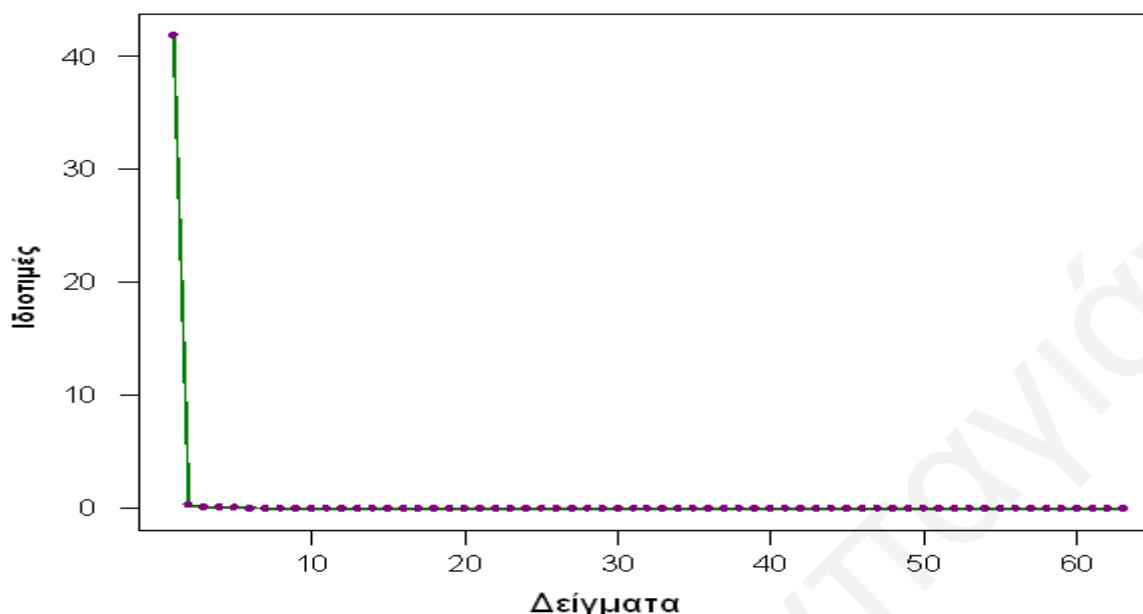
Ιδιοτιμή (Eigenvalue)	41.847	0.301	0.068	0.026	0.018	0.008
Αναλογία (Proportion)	0.990	0.007	0.002	0.001	0.000	0.000
Συσσώρευση (Cumulative)	0.990	0.997	0.998	0.999	0.999	0.999

Οι ιδιοτιμές εξηγούν την αρχική διακύμανση 99% από την πρώτη συνιστώσα και μόνο 0.7% από τη δεύτερη. Επομένως, σε ένα μόνο διάγραμμα κύριων συνιστωσών παρέχεται το 99% της πληροφορίας.

Δίνονται το διάγραμμα συσχέτισης για τις δύο πρώτες κύριες συνιστώσες (Σχήμα 5.3.11) και το γράφημα ιδιοτιμών των κύριων συνιστωσών (Σχήμα 5.3.12) στο οποίο φαίνεται η σημαντικότητα της πρώτης κύριας συνιστώσας, ενώ οι υπόλοιπες παρέχουν πληροφορία λιγότερο από 0.7%.



Σχήμα 5.3.11: Διάγραμμα συσχέτισης 64 δειγμάτων ως προς την 1^η και 2^η κύρια συνιστώσα που προέκυψαν μετά από Ανάλυση Κύριων Συνιστωσών. Τα δείγματα δίνονται με τους χαρακτηριστικούς τους αριθμούς (Πίνακας 4.1)



Σχήμα 5.3.12: Γράφημα ιδιοτιμών κύριων συνιστωσών που προέκυψαν μετά από Ανάλυση Κύριων Συνιστωσών 64 δειγμάτων

5.3.2.γ Ταξινόμηση με Δένδρα Ταξινόμησης και Παλινδρόμησης

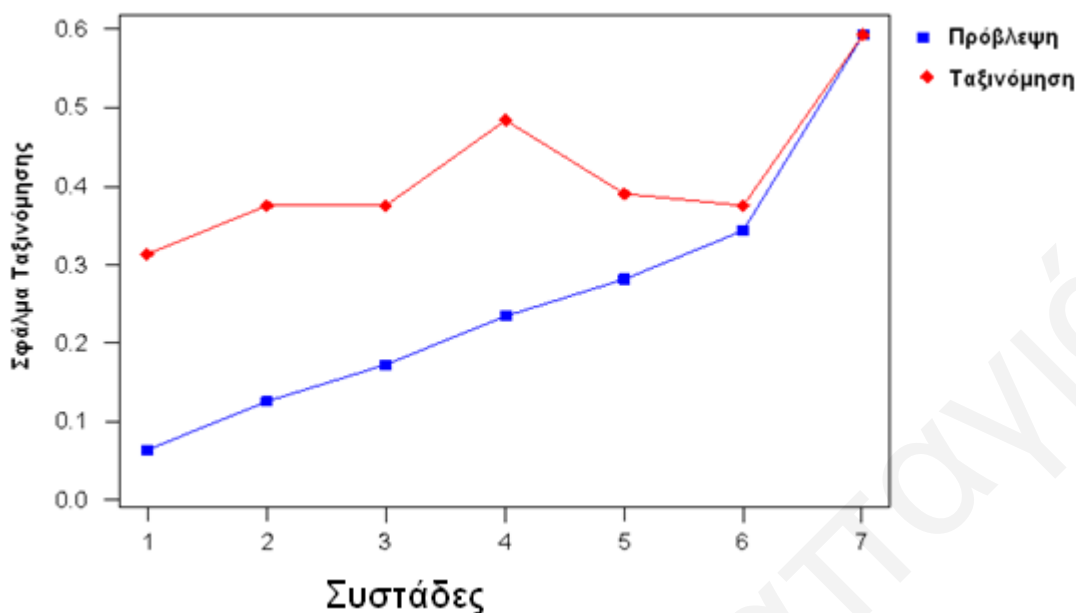
Η χημειομετρική τεχνική CART επιτρέπει στο χρήστη να διακρίνει μια λογική ομαδοποίηση των μεταβλητών και ένα διαφανό διαχωρισμό της ομάδας των Κουμανδαριών. Ο διαχωρισμός σε τέσσερις τάξεις έγινε βάση του κριτηρίου Gini (Gini Splitting Criterion) με σφάλμα δόμησης του μοντέλου 59%.

Τάξη	Πιθανότητα	Αρ. Δειγμάτων	Αποστάσεις κέντρων τάξεων			
1	0.391	25	0.0	1.0	1.0	1.0
2	0.141	9	1.0	0.0	1.0	1.0
3	0.406	26	1.0	1.0	0.0	1.0
4	0.063	4	1.0	1.0	1.0	0.0

Συχνότητα σφάλματος δόμησης (No-model Error Rate) : 0.5937

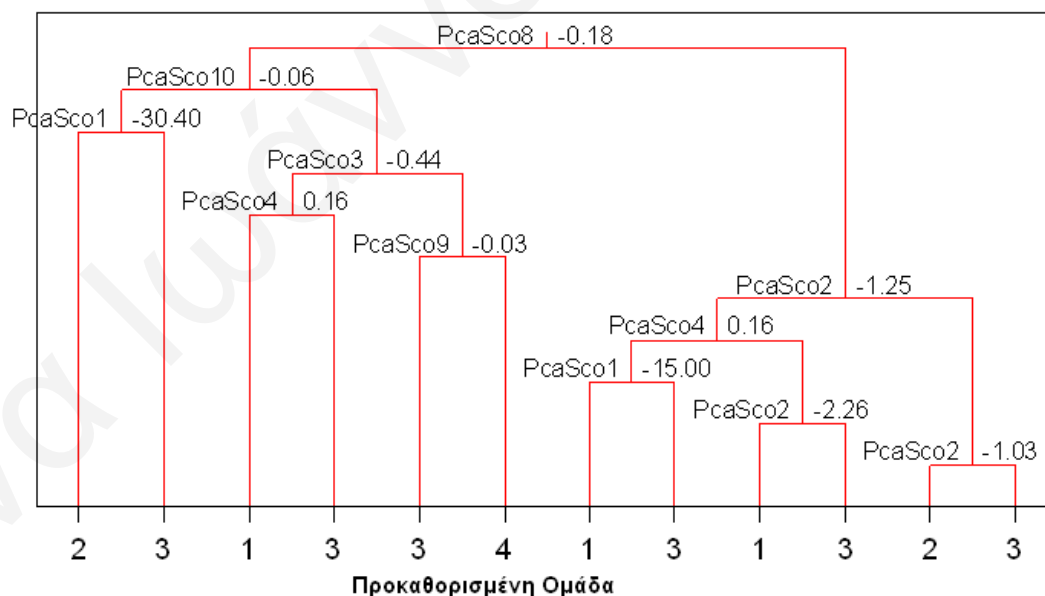
Επικινδυνότητα (No-model Risk) : 0.5937

Η αξιοπιστία της ταξινόμησης φαίνεται στο Σχήμα 5.3.13 με τη δημιουργία συστάδων ενώ στο Σχήμα 5.3.14 παριστάνεται η συνεισφορά κάθε άγνωστου δείγματος που εισέρχεται στο δένδρο με 4 ομάδες ταξινόμησης.



Σχήμα 5.3.13: Διαγραμματική απεικόνιση της συνεισφοράς των 10 μεταβλητών (PC score) στη δημιουργία συστάδων για 64 δείγματα

Από τις 253 αρχικές μεταβλητές μόνο οι 10 είναι αρκετές, για να καθορίσουν τα κριτήρια ταξινόμησης των δειγμάτων σε τέσσερις τάξεις.



Σχήμα 5.3.14: Δένδρο ταξινόμησης των 64 δειγμάτων σε 4 τάξεις με βάση 10 μεταβλητές (PC score)

Κεφάλαιο 5: Χημειομετρική Ανάλυση Φασματοσκοπικών Δεδομένων, FTIR

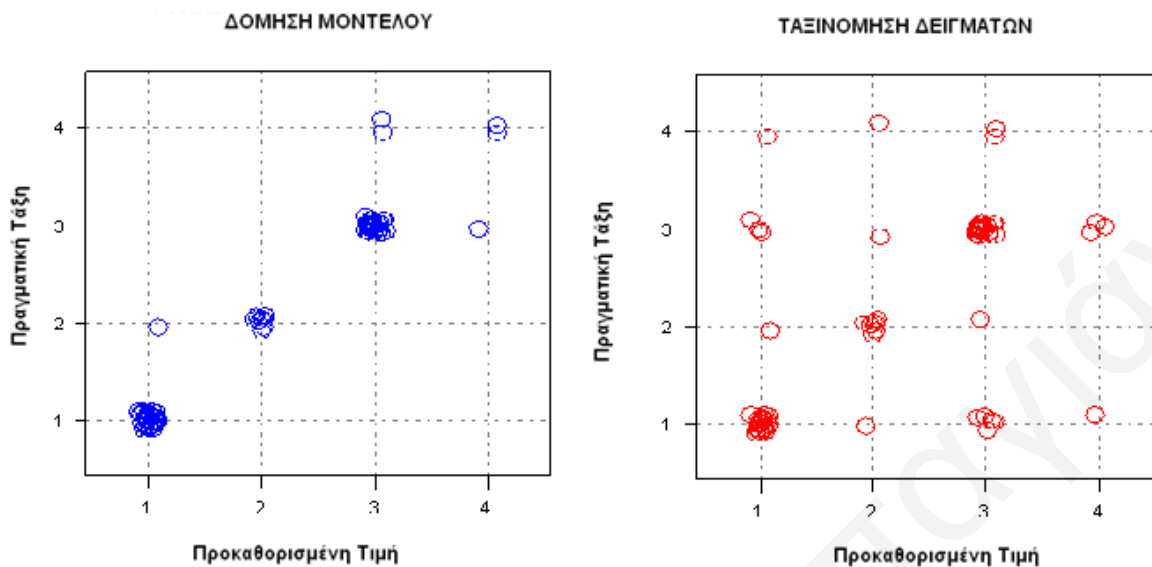
Η τελική ταξινόμηση του δείγματος στην 1^η και 2^η ομάδα γίνεται με τη συνεισφορά τριών κύριων συνιστωσών, για την ταξινόμηση στην 3^η ομάδα απαιτούνται έξι κύριες συνιστώσες, ενώ για την 4^η ομάδα απαιτείται μόνο μία.

Η επιτυχία δόμησης του μοντέλου των 64 δειγμάτων Κουμανδαρίας και άλλων κρασιών σε τέσσερις ομάδες καθώς και εξακρίβωση της επιτυχούς ταξινόμησης του μοντέλου δίνονται στον πίνακα 5.3.3 και διάγραμμα 5.3.15.

Η συνεισφορά όλων των δειγμάτων στη δόμηση του μοντέλου γίνεται με σφάλμα 6.25%, δηλαδή 4 δείγματα από τα 64 ταξινομούνται λανθασμένα. Στην ομάδα των Κουμανδαριών ταξινομηθήκαν και τα 25 δείγματα με ποσοστό 100%, στην ομάδα των Κουμανδαριών του Εμπορίου ταξινομήθηκαν 8 από τα 9 δείγματα με ποσοστό ταξινόμησης 88.9%, ενώ το ένα δείγμα ταξινομήθηκε στην ομάδα των Κουμανδαριών. Η ομάδα των άλλων κρασιών αποτελεί ξεχωριστή ομάδα με ποσοστό επιτυχίας 96.2%. Κατά την διασταυρωτική επιβεβαίωση του μοντέλου (cross-validation) στην ομάδα των Κουμανδαριών ταξινομηθήκαν οι 18 Κουμανδαρίες με ποσοστό 72%, στην ομάδα των Κουμανδαριών του εμπορίου ταξινομήθηκαν 7 από τα 9 δείγματα με ποσοστό ταξινόμησης 77.8% από τα οποία το ένα δείγμα ταξινομήθηκε και πάλι στην 1^η ομάδα.

Πίνακας 5.3.3: Ταξινόμηση σε τέσσερις ομάδες με CART

	Πραγματική Τάξη	Αρ. Δειγμάτων	Προκαθορισμένη τάξη				% ορθής πρόβλεψης
			1	2	3	4	
Κουμανδαρίες	1	25	25	0	0	0	100.0
Κουμανδαρίες εμπορίου	2	9	1	8	0	0	88.9
Άλλα κρασιά	3	26	0	0	25	1	96.2
Κυπριακά κρασιά	4	4	0	0	2	2	50.0
% ποσοστό σφάλματος = 6.25							
Cross-validation							% ορθής πρόβλεψης
Κουμανδαρίες	1	25	18	1	5	1	72.0
Κουμανδαρίες εμπορίου	2	9	1	7	1	0	77.8
Άλλα κρασιά	3	26	3	1	19	3	73.1
Κυπριακά κρασιά	4	4	1	0	2	0	00.0
% ποσοστό σφάλματος = 31.25							



Σχήμα 5.3.15: Σχηματική συμπεριφορά των 64 δειγμάτων με CART στη δόμηση μοντέλου και στην ταξινόμηση άγνωστων δειγμάτων σε τέσσερις ομάδες

5.3.2.δ Ταξινόμηση με Ομαλοποιημένη Διακριτική Ανάλυση

Η Ομαλοποιημένη Διακριτική Ανάλυση (RDA) είναι μέθοδος ταξινόμησης που στηρίζεται σε πιθανότητες, απορρίπτοντας τα απομακρυσμένα δείγματα οριστικά. Για τη δόμηση του μοντέλου χρησιμοποιείται η μέθοδος «Leave one out». Αφού έχουν οριστεί οι ομάδες μελετάται η συμπεριφορά κάθε άγνωστου δείγματος ως προς τις μεταβλητές που έχουν ήδη διακρίνει το μοντέλο και κατά πόσο είναι ικανές να το κατατάξουν. Αυτό επαναλαμβάνεται για όλα τα δείγματα μέχρι τη δόμηση του μοντέλου και την ταξινόμηση των δειγμάτων σε αυτό.

Κεντροειδείς μεταβλητές

5 λ-τιμές μεταξύ 0.00 και 1.00

5 γ-τιμές μεταξύ 0.00 και 1.00

Τάξη	Πιθανότητα	Αρ. Δειγμάτων	Αποστάσεις κέντρων τάξεων			
1	0.391	25	0.0	1.0	1.0	1.0
2	0.141	9	1.0	0.0	1.0	1.0
3	0.406	26	1.0	1.0	0.0	1.0
4	0.063	4	1.0	1.0	1.0	0.0

Συχνότητα σφάλματος δόμησης (No-model Error Rate) : 0.5937

Επικινδυνότητα (No-model Risk) : 0.5937

Κεφάλαιο 5: Χημειομετρική Ανάλυση Φασματοσκοπικών Δεδομένων, FTIR

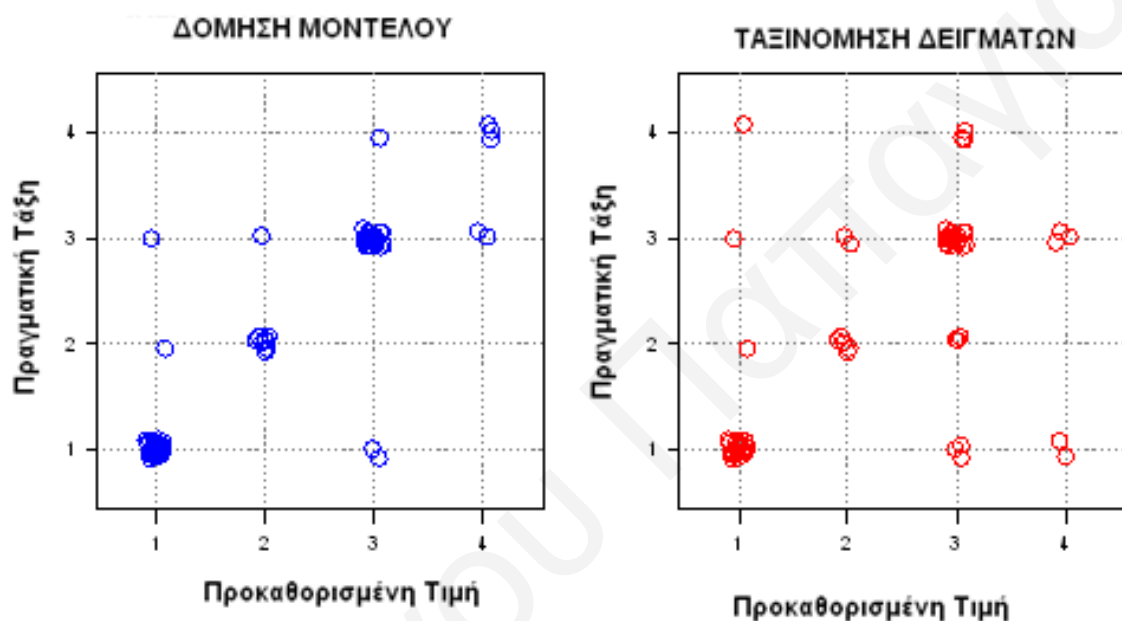
Στον πίνακα 5.3.4 και στο Σχήμα 5.3.16 περιγράφεται η επιτυχία δόμησης του μοντέλου των 64 δειγμάτων Κουμανδαρίας και άλλων κρασιών καθώς και η επιτυχία ταξινόμησης των δειγμάτων. Στο σχετικό πίνακα δίνεται το ποσοστό ορθής πρόβλεψης στη δόμηση του μοντέλου και για την ομάδα των Κουμανδαριών είναι 92.0% -μόνο 2 δείγματα αδυνατούν να υπακούσουν το μοντέλο. Στην ομάδα των Κουμανδαριών του εμπορίου που είχε ποσοστό επιτυχίας 88.9%, μόνο ένα από τα δείγματα δεν υπακούει στο μοντέλο και το ίδιο συνέβη στην 3^η ομάδα με ποσοστό επιτυχίας 75%. Το σφάλμα της δόμησης του μοντέλου είναι 12.25%.

Πίνακας 5.3.4: Ταξινόμηση σε τέσσερις ομάδες με RDA

	Πραγματική Τάξη	Αρ. Δειγμάτων	Προκαθορισμένη τάξη				% ορθής πρόβλεψης
			1	2	3	4	
Κουμανδαρίες	1	25	23	0	2	0	92.0
Κουμανδαρίες εμπορίου	2	9	1	8	0	0	88.9
Άλλα κρασιά	3	26	1	1	22	2	84.6
Κυπριακά κρασιά	4	4	0	0	1	3	75.0
% ποσοστό σφάλματος = 12.25							
Cross-validation							% ορθής πρόβλεψης
Κουμανδαρίες	1	25	20	0	3	2	80.0
Κουμανδαρίες εμπορίου	2	9	1	5	3	0	55.6
Άλλα κρασιά	3	26	1	2	20	3	76.9
Κυπριακά κρασιά	4	4	1	0	3	0	00.0
% ποσοστό σφάλματος = 29.69							

Διαγραμματικά τα αποτελέσματα του πιο πάνω πίνακα δίνονται στο Σχήμα 5.3.16. Η ταξινόμηση των άγνωστων δειγμάτων στο υφιστάμενο μοντέλο γίνεται με σφάλμα 29.69%, δηλαδή 19 από τα 64 δείγματα ταξινομούνται λανθασμένα. Από το σύνολο των 25 Κουμανδαριών μόνο οι 20 ταξινομούνται στην 1^η ομάδα και 2 ταξινομούνται στην 4^η που αποτελεί την ομάδα των κυπριακών κρασιών.

Στην ομάδα των Κουμανδαριών εμπορίου ταξινομούνται 5 από τις 9 και μία ταξινομείται στην 1^η ομάδα. Από τα 4 κυπριακά κρασιά κανένα δεν ταξινομείται στην ομάδα του, ένα χαρακτηρίζεται ως Κουμανδαρία και τα υπόλοιπα ως άλλα κρασιά. Στην 3^η ομάδα που είχε ποσοστό επιτυχίας ταξινόμησης 76.9%, τέσσερα δείγματα δεν ακολούθησαν την ταξινόμηση.



Σχήμα 5.3.16: Σχηματική συμπεριφορά των 64 δειγμάτων με CARD

ΓΕΝΙΚΟ ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑ

Τα φασματοσκοπικά δεδομένα που προέκυψαν από τη λήψη φασμάτων FTIR μέσω των δύο τεχνικών συμπύκνωσης των δειγμάτων δίνουν πολύ καλή διάκριση της ομάδας των Κουμανδαριών με την τεχνική της συμπύκνωσης με τη χρήση αζώτου να υπερिशύει της λυοφιλίωσης. Η ομάδα των Κουμανδαριών διαχωρίζεται από τα άλλα κυπριακά κρασιά και ξένα, βάση των χαρακτηριστικών απορροφήσεων της ομάδας των σακχάρων στα φάσματα FTIR. Στο επόμενο κεφάλαιο θα διερευνηθεί αν ισχύει η διάκριση αυτή και στα φασματοσκοπικά δεδομένα που προέκυψαν από τη λήψη φασμάτων ¹H-NMR.

5.4 Βιβλιογραφία

- [1] E.K. Kemsley, «Discriminant Analysis and Class Modeling of Spectroscopy Data», J.Wiley & Sons, 1998
- [2] J.N.Miller & J.C. Miller, «Statistics and Chemometrics for Analytical Chemistry», Fourth Edition 2000
- [3] E.K. Kemsley, Discriminant analysis of high-dimensional data: a comparison of principal components analysis and partial least squares data reduction methods, Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems, 1996, 33, 47-61
- [4] L.Eriksson, E.Johansson, N. Kettaneh-Wold, S.Wold, «Multi- and Megavariate Data Analysis, Principles and Applications», Umetrics Academy 2001
- [5] V.Wold, Principal Component Analysis, Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems, 1987, 2, 37-52
- [6] Ρ.Κοκκινόφτα Διογένους «Αυθεντικότητα του Παραδοσιακού Κυπριακού Ποτού Ζιβανία», Διδακτορική Διατριβή, Πανεπιστήμιο Κύπρου, Λευκωσία 2003
- [7] E. Ioannou-Papayianni, R. I. Kokkinofta, C. R. Theocharis, Authenticity of Cypriot Sweet Wine Commandaria Using FT-IR and Chemometrics, Journal of Food Science, 2011, 76, Issue 3, C420-C427
- [8] D.Cozzolino, M.Parker, R.G.Damberg, M.Herderich, M.Gishen, Chemometrics and Visible-Near Infrared Spectroscopic Monitoring of red wine fermentation in a pilot scale, Biotechnology and Bioengineering, 2006, 95, 1101-1107
- [9] L.Liu, D.Cozzolino, W.U.Cynkar, R.G.Damberg, L Janik, B.K.O'Neill, C.B.Colby, M.Gishen, Preliminary study on the application of visible-near infrared spectroscopy and chemometrics to classify Riesling wines from different counties, Food Chemistry, 2008, 106, 781-786
- [10] D.Cozzolino, H.E.Smyth, M.Gishen, Feasibility study on the use of Visible and Near-Infrared spectroscopy together with chemometrics to discriminate between commercial white wines of different varietal origins, Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2003, 51,7703-7708
- [11] I.J. Kosir, J. Kidric, Identification of Amino Acids in Wines by One- and Two-Dimensional Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy, Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2001, 49, 50-56

- [12] E.H. Soufleros, E. Bouloumpasi, C. Tsarchopoulos, C.G. Biliaderis, Primary amino acid profiles of Greek white wines and their use in classification according to variety, origin and vintage, *Food Chemistry*, 2003, 80, 261–273
- [13] E.H. Soufleros, I. Pissa, D. Petridis, M. Lygerakis, K. Mermelas, G. Boukouvalas, E. Tsimitakis, Food Instrumental analysis of volatile and other compounds of Greek kiwi wine; sensory evaluation and optimisation of its composition, *Chemistry*, 2001, 75, 487–500
- [14] D. Granato, F.C.U. Katayama, I.A. Castro, Assessing the association between phenolic compounds and the antioxidant activity of Brazilian red wines using chemometrics, *Food Science and Technology*, 2010, 43, 1542-1549
- [15] A. de Villiers, P. Majek, F. Lynen, A. Crouch, H. Lauer, P. Sandra, Classification of South African red and white wines according to grape variety based on the non-coloured phenolic content, *European Food Research and Technology*, 2005, 221, 520–528
- [16] M. Korenovska, M. Suhaj, Identification of some Slovakian and European wines origin by the use of factor analysis of elemental data, *European Food Research and Technology*, 2005, 221, 550–558
- [17] K. Heberger, E. Csomos, L. Simon-Sarkadi, Principal Component and Linear Discriminant Analyses of Free Amino Acids and Biogenic Amines in Hungarian Wines, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2003, 51, 8055-8060
- [18] T. Woodcock, G. Downey, J. Daniel Kelly, C. O'Donnell, Geographical Classification of Honey Samples by Near-Infrared Spectroscopy: A Feasibility Study *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2007, 55, 9128–9134
- [19] J.D.Kelly, C. Petisco, G. Downey, Application of the Fourier Transform Midinfrared Spectroscopy to the Discrimination between Irish Artisanal Honey and Such Honey Adulterated with Various Sugar Syrups, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2006, 54, 6166-6171
- [20] E. K. Kemsley, J. K. Holland, M. Defernez, and R. H. Wilson Detection of Adulteration of Raspberry Purees Using Infrared Spectroscopy and Chemometrics, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 1996, 44,3864-3870
- [21] Yan-ling Zhang, Jian-bo Chen, Yu Lei, Qun Zhou, Su-qin Sun, Isao Noda Discrimination of different red wine by Fourier-transform infrared and two-dimensional infrared correlation spectroscopy, *Journal of Molecular Structure*, 2010 , 974, 144–150

- [22] I.E Frank and Todeschini, *The Data Analysis Handbook*, Elsevier, 1994
- [23] L. Breiman, J.H. Friedman, R.A. Olshen, C.J. Stone, *Classification and Regression Trees*, Wadsworth, Belmont, California, 1984
- [24] F. Questier, R. Put, D. Coomans, B. Walczak, Y. Vander Heyden, The use of CARD and multivariate regression trees for supervised and unsupervised feature selection, *Chemometrics and Intelligent laboratory systems*, 2005, 76, 45-54
- [25] U. Romisch, H. Jager, X. Capron, S. Lanteri, M. Forina, J. Smeyers-Verbek, Characterization and determination of the geographical origin of wines. Part III: multivariate discrimination and classification Methods, *European Food Research and Technology*, 2009, 230, 31–45
- [26] B. Weckerle, E. Richling, S. Heinrich, P. Schreier, Origin assessment of green coffee (*Coffea arabica*) by multi-element stable isotope analysis of caffeine, *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 2002, 374, 886–890
- [27] M. Del Mar Castineira Gomez, I. Feldmann, N. Jakubowski, J. T. Andersson, Classification of German White Wines with Certified Brand of Origin by Multielement Quantitation and Pattern Recognition Techniques, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2004, 52, 2962-2974

6. Χημειομετρική Ανάλυση Φασματοσκοπικών Δεδομένων, ^1H -NMR

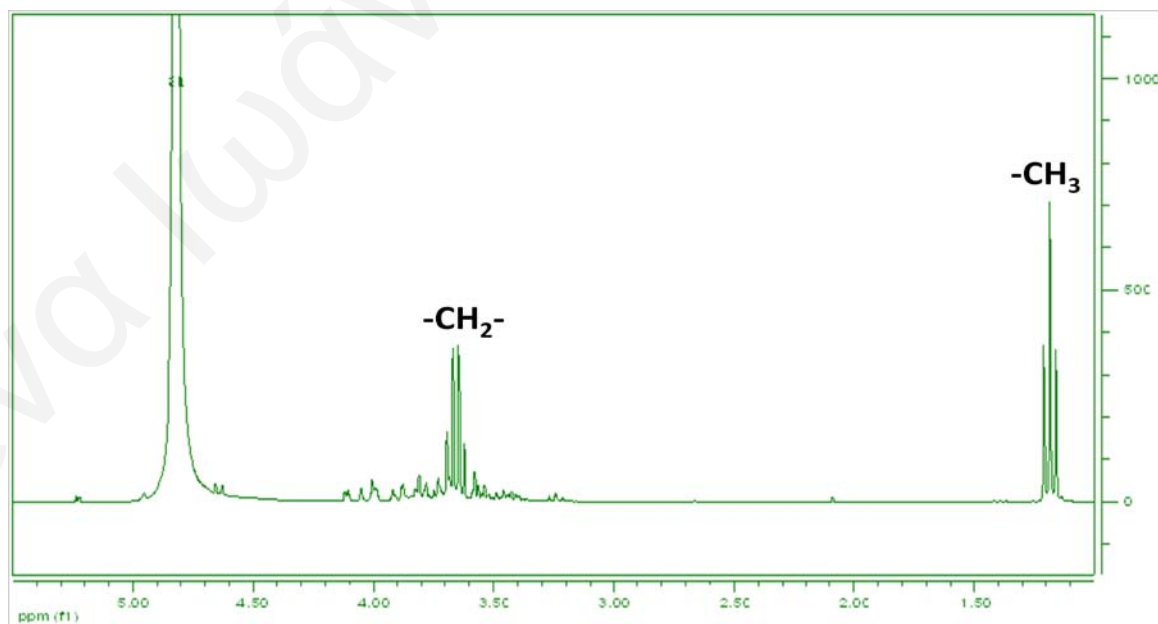
Στο κεφάλαιο αυτό γίνεται στατιστική επεξεργασία των φασματοσκοπικών δεδομένων που προέκυψαν από τη λήψη φασμάτων ^1H NMR (Κεφ. 3.2), τόσο σε συμπυκνωμένα δείγματα, όσο και σε δείγματα χωρίς καμία κατεργασία συμπύκνωσης. Το βασικό εργαλείο για τη χημειομετρική ανάλυση των δεδομένων είναι το λογισμικό WinDAS [1] με σκοπό την καλύτερη δυνατή διάκριση των Κουμανδαριών από τα διάφορα άλλα κρασιά.

6.1 Χημειομετρική Ανάλυση Φασματοσκοπικών Δεδομένων, ^1H -NMR σε δείγματα χωρίς καμία προ-κατεργασία συμπύκνωσης

Η χημειομετρική ανάλυση εφαρμόστηκε σε 64 δείγματα (Κεφ. 4.1 και Πίνακας 4.1 α) και β)) χωρίς αυτά να τύχουν καμίας επεξεργασίας συμπύκνωσης, λυοφιλίωση ή συμπύκνωση με ροή αζώτου [2-33]. Η χημειομετρική ανάλυση αφορούσε μετρήσεις της χημικής μετατόπισης σε όλη την περιοχή, από 0 έως 6 ppm (Σχήμα 6.1.1) και σε κάθε φάσμα δείγματος αντιστοιχούν 6959 μεταβλητές/ σημεία. Τα δείγματα, όπως και κατά τη χημειομετρική ανάλυση των φασματοσκοπικών δεδομένων FTIR (Κεφ. 5), μελετήθηκαν ως δύο ομάδες:

1η ομάδα : Κουμανδαρίες Ενδυναμωμένες, μη Ενδυναμωμένες και Εμπορίου (34)

2η ομάδα : Διάφορα Κρασιά (30)



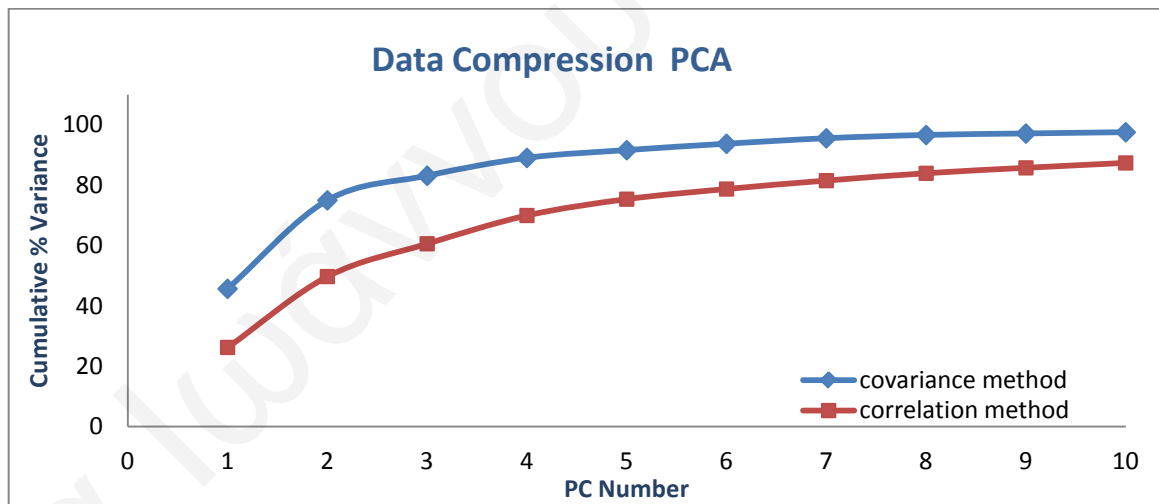
Σχήμα 6.1.1: Τυπικό φάσμα ^1H NMR Κουμανδαρίας, χωρίς καμία συμπύκνωση, 0-6 ppm

Κεφάλαιο 6: Χημειομετρική Ανάλυση Φασματοσκοπικών Δεδομένων, ¹H -NMR

Η Ανάλυση της Κύριας Συνιστώσας, με τη μέθοδο συνδιακύμανσης (Covariance) έδωσε συνεισφορά της πρώτης και δεύτερης κύριας συνιστώσας 75.01% (45.68+29.33%) της πληροφορίας σχετικά με τα αρχικά φασματοσκοπικά δεδομένα (Πίνακας 6.1.1 και Σχήμα 6.1.2).

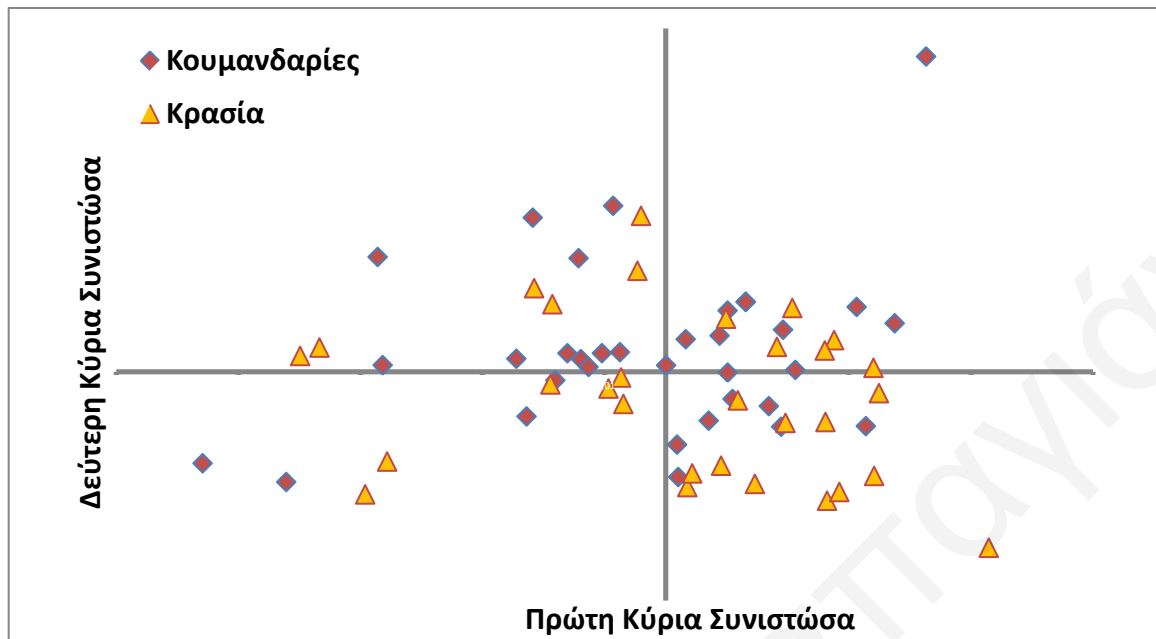
Πίνακας 6.1.1: Αθροιστική διακύμανση κύριων συνιστωσών (Covariance Method)

Κύρια Συνιστώσα	% Διακύμανση	Αθροιστικό ποσοστό διακύμανσης
1	45.68	45.68
2	29.33	75.01
3	8.14	83.15
4	5.93	89.07
5	2.56	91.64
6	2.11	93.75
7	1.82	95.57
8	1.09	96.66
9	0.49	97.15
10	0.43	97.58



Σχήμα 6.1.2: Το αθροιστικό ποσοστό των μεταβλητών με τον αριθμό των κύριων συνιστωσών χρησιμοποιώντας μέθοδο συνδιακύμανσης — και μέθοδο συσχέτισης —

Κατά την ανάλυση των κύριων συνιστωσών, αν και οι ιδιοτιμές για τις κύριες συνιστώσες ήταν καλές, δε διαχωρίστηκε καμία ομάδα (Σχήμα 6.1.3).



Σχήμα 6.1.3: Διάγραμμα σκέδασης ως προς τον 1^ο και 2^ο κύριο άξονα που προέκυψαν από την ανάλυση κύριων συνιστωσών (PCA, Covariance Method)

Η Γραμμική Διακριτική Ανάλυση των δειγμάτων, υπολογίζοντας την Ευκλείδεια απόσταση σε δύο κύριες συνιστώσες με τη μέθοδο συνδιακύμανσης, έδωσε 24 ορθές προβλέψεις από τις 34 Κουμανδαρίες. Η ταξινόμηση των Κουμανδαριών ως ομάδα επιβεβαιώνεται με ποσοστό 71% (Πίνακας 6.1.2). Την κατάταξη δεν ακολουθούν επτά μη ενδυναμωμένες Κουμανδαρίες (K1, K2, K7, K10, K13, K15, K16), δύο ενδυναμωμένες (K18, K23) και μία Κουμανδαρία του εμπορίου (K29).

Κεφάλαιο 6: Χημειομετρική Ανάλυση Φασματοσκοπικών Δεδομένων, ¹H -NMR

Πίνακας 6.1.2: Γραμμική Διακριτική Ανάλυση, βάση της Ευκλείδειας απόστασης

α/α	Παρατήρηση	Απόσταση από 1 ^η ομάδα	Απόσταση από 2 ^η ομάδα	Προβλεπόμενη ομάδα	
1	K1	2.1048E-02	7.3904E-03	2	Incorrect
2	K2	2.4710E-02	1.3807E-02	2	Incorrect
3	K3	5.0181E-03	8.7590E-03	1	Correct
4	K4	2.1611E-02	2.9489E-02	1	Correct
5	K5	1.7064E-02	2.1813E-02	1	Correct
6	K6	7.5185E-03	1.7826E-02	1	Correct
7	K7	2.9714E-02	1.7504E-02	2	Incorrect
8	K8	4.3566E-02	5.0355E-02	1	Correct
9	K9	2.6370E-02	2.6643E-02	1	Correct
10	K10	2.4752E-02	1.9196E-02	2	Incorrect
11	K11	1.3146E-02	2.2463E-02	1	Correct
12	K12	1.0622E-02	1.7722E-02	1	Correct
13	K13	3.3672E-02	2.1211E-02	2	Incorrect
14	K14	4.5554E-03	1.5848E-02	1	Correct
15	K15	2.5258E-02	1.2752E-02	2	Incorrect
16	K16	1.8915E-02	7.6475E-03	2	Incorrect
17	K17	2.2826E-02	2.3612E-02	1	Correct
18	K18	4.0942E-02	3.0476E-02	2	Incorrect
19	K19	7.8695E-02	8.1105E-02	1	Correct
20	K20	6.8701E-03	1.4972E-02	1	Correct
21	K21	1.1176E-02	1.9793E-02	1	Correct
22	K22	1.2396E-02	1.6838E-02	1	Correct
23	K23	4.1091E-02	3.9187E-02	2	Incorrect
24	K24	6.8559E-02	6.9237E-02	1	Correct
25	K25	1.6702E-02	2.3482E-02	1	Correct
26	K26	8.9502E-02	9.7414E-02	1	Correct
27	K27	2.0459E-02	2.6633E-02	1	Correct
28	K28	2.0459E-02	2.6633E-02	1	Correct
29	K29	1.4387E-02	9.2299E-03	2	Incorrect
30	K30	2.6620E-02	4.0276E-02	1	Correct
31	K31	5.0513E-02	6.2351E-02	1	Correct
32	K32	3.8254E-02	5.1366E-02	1	Correct
33	K33	3.9495E-02	5.3157E-02	1	Correct
34	K34	3.6073E-02	3.6477E-02	1	Correct

Κεφάλαιο 6: Χημειομετρική Ανάλυση Φασματοσκοπικών Δεδομένων, ¹H -NMR

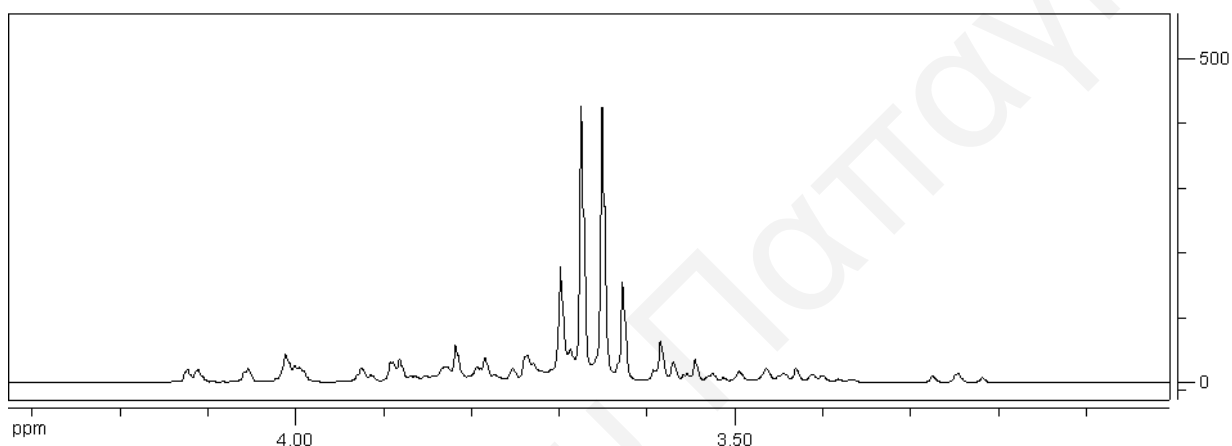
Πίνακας 6.1.2 (Συνέχεια): Γραμμική Διακριτική Ανάλυση, βάση της Ευκλείδειας απόστασης

α/α	Παρατήρηση	Απόσταση από 1 ^η ομάδα	Απόσταση από 2 ^η ομάδα	Προβλεπόμενη ομάδα	
35	W1	2.04E-03	2.18E-03	1	Incorrect
36	W2	2.03E-03	1.56E-03	2	Correct
37	W3	9.51E-04	2.16E-03	1	Incorrect
38	W4	1.89E-04	1.39E-03	1	Incorrect
39	W5	3.34E-03	2.18E-03	2	Correct
40	W6	4.87E-04	1.71E-03	1	Incorrect
41	W7	7.38E-04	1.05E-03	1	Incorrect
42	W8	3.04E-03	1.93E-03	2	Correct
43	W9	1.31E-03	8.72E-04	2	Correct
44	W10	1.05E-03	4.42E-04	2	Correct
45	W11	2.81E-03	1.57E-03	2	Correct
46	W12	1.94E-03	1.45E-03	2	Correct
47	W13	2.20E-03	1.76E-03	2	Correct
48	W14	1.56E-03	2.70E-03	1	Incorrect
49	W15	1.63E-03	1.46E-03	2	Correct
50	W16	5.39E-03	4.16E-03	2	Correct
51	W17	4.87E-03	4.24E-03	2	Correct
52	W18	5.65E-03	4.45E-03	2	Correct
53	W19	4.67E-03	4.56E-03	2	Correct
54	W20	3.73E-03	3.76E-03	1	Incorrect
55	W21	5.92E-04	1.80E-03	1	Incorrect
56	W22	1.25E-03	2.45E-03	1	Incorrect
57	W23	2.06E-03	1.79E-03	2	Correct
58	W24	1.65E-03	2.06E-03	1	Incorrect
59	W25	1.15E-03	2.78E-04	2	Correct
60	W26	2.17E-03	1.54E-03	2	Correct
61	W27	9.46E-04	3.05E-04	2	Correct
62	W28	1.17E-03	5.28E-04	2	Correct
63	W29	2.87E-03	2.07E-03	2	Correct
64	W30	2.42E-03	1.37E-03	2	Correct

Κεφάλαιο 6: Χημειομετρική Ανάλυση Φασματοσκοπικών Δεδομένων, ^1H -NMR

Η χημειομετρική ανάλυση στην περιοχή των σακχάρων αφορούσε τις μετρήσεις της χημικής μετατόπισης σε περιοχή από 3.2 έως 4.2 ppm (Σχήμα 6.1.4). Σε κάθε φάσμα δείγματος αντιστοιχούν 1307 μεταβλητές/ σημεία.

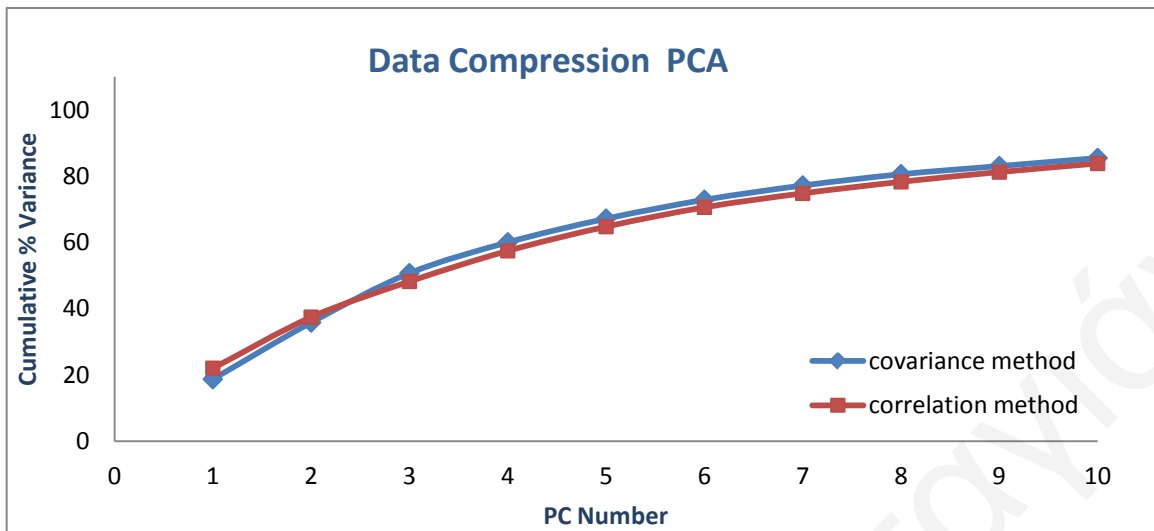
Η Ανάλυση της Κύριας Συνιστώσας, με τη μέθοδο συνδιακύμανσης (Covariance) έδωσε πολύ μικρή συνεισφορά της πρώτης και δεύτερης κύριας συνιστώσας 35.88% της πληροφορίας σχετικά με τα αρχικά φασματοσκοπικά δεδομένα (Πίνακας 6.1.3 και Σχήμα 6.1.5).



Σχήμα 6.1.4: Τυπικό φάσμα ^1H -NMR Κουμανδαρίας, χωρίς καμία συμπίκνωση, 3- 4.2 ppm

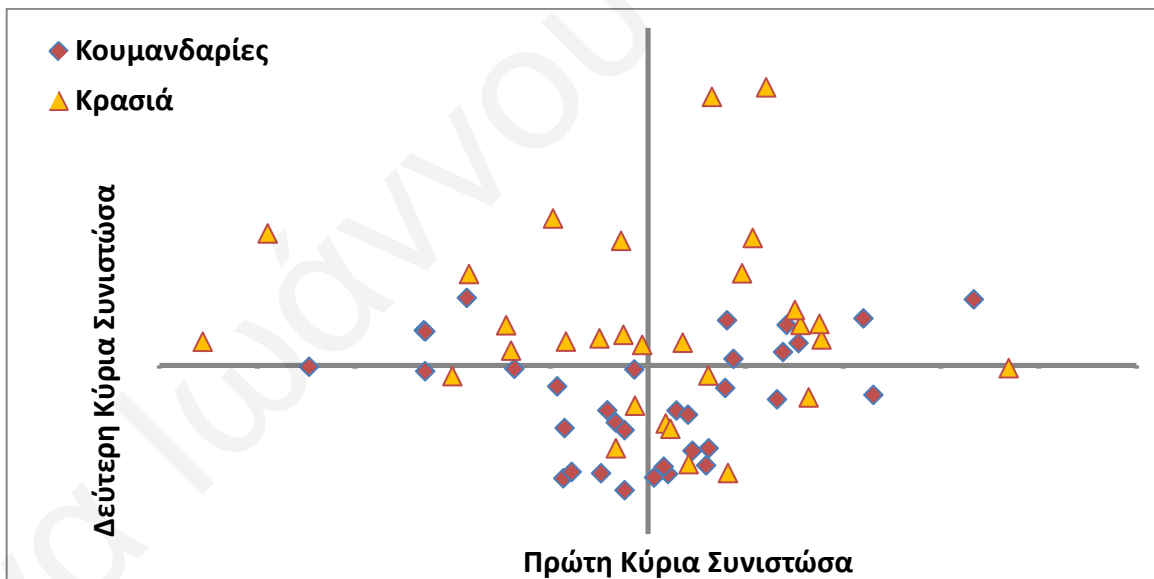
Πίνακας 6.1.3: Αθροιστική διακύμανση κύριων συνιστωσών (Covariance Method)

Κύρια Συνιστώσα	% Διακύμανση	Αθροιστικό ποσοστό διακύμανσης
1	18.78	18.78
2	17.10	35.88
3	14.86	50.74
4	9.31	60.05
5	7.14	67.20
6	5.70	72.89
7	4.32	77.21
8	3.40	80.61
9	2.46	83.07
10	2.43	85.50



Σχήμα 6.1.5: Το αθροιστικό ποσοστό των μεταβλητών με τον αριθμό των κύριων συνιστωσών χρησιμοποιώντας μέθοδο συνδιακύμανσης — και μέθοδο συσχέτισης —

Η διάκριση των δύο ομάδων μετά την ανάλυση των κύριων συνιστωσών δεν είναι ικανοποιητική (Σχήμα 6.1.6).



Σχήμα 6.1.6: Διάγραμμα σκέδασης ως προς τον 1^ο και 2^ο κύριο άξονα που προέκυψαν από την ανάλυση κύριων συνιστωσών (PCA, Covariance Method)

Η Γραμμική Διακριτική Ανάλυση υπολογίζοντας την Ευκλείδεια απόσταση σε δύο κύριες συνιστώσες με τη μέθοδο της συνδιακύμανσης, ταξινόμησε τις Koumandaries σε ομάδα με ποσοστό 74% (Πίνακας 6.1.4).

Κεφάλαιο 6: Χημειομετρική Ανάλυση Φασματοσκοπικών Δεδομένων, ¹H -NMR

Στα δείγματα που δεν ακολούθησαν την ομάδα των Κουμανδαριών είναι τέσσερις μη ενδυναμωμένες Κουμανδαρίες (K4,K8,K14,K17), δύο ενδυναμωμένες (K21,K25) και δύο Κουμανδαρίες του εμπορίου (K33,K34).

Πίνακας 6.1.4: Γραμμική Διακριτική Ανάλυση, βάση της Ευκλείδειας απόστασης

α/α	Παρατήρηση	Απόσταση από 1 ^η ομάδα	Απόσταση από 2 ^η ομάδα	Προβλεπόμενη ομάδα	
1	K1	9.52E-04	1.39E-03	1	Correct
2	K2	1.01E-03	1.97E-03	1	Correct
3	K3	1.09E-03	2.23E-03	1	Correct
4	K4	1.93E-03	1.42E-03	2	Incorrect
5	K5	4.69E-04	1.52E-03	1	Correct
6	K6	1.65E-03	2.89E-03	1	Correct
7	K7	2.62E-03	2.21E-03	2	Incorrect
8	K8	1.12E-03	1.03E-03	2	Incorrect
9	K9	5.06E-04	1.59E-03	1	Correct
10	K10	1.23E-03	2.47E-03	1	Correct
11	K11	3.67E-04	1.49E-03	1	Correct
12	K12	1.32E-03	1.83E-03	1	Correct
13	K13	1.37E-03	2.60E-03	1	Correct
14	K14	1.61E-03	1.45E-03	2	Incorrect
15	K15	8.12E-04	1.33E-03	1	Correct
16	K16	1.41E-03	2.66E-03	1	Correct
17	K17	1.83E-03	1.57E-03	2	Incorrect
18	K18	1.67E-03	2.81E-03	1	Correct
19	K19	1.04E-03	2.23E-03	1	Correct
20	K20	5.27E-04	7.49E-04	1	Correct
21	K21	1.60E-03	8.22E-04	2	Incorrect
22	K22	1.46E-03	1.55E-03	1	Correct
23	K23	2.33E-03	2.41E-03	1	Correct
24	K24	2.31E-03	2.60E-03	1	Correct
25	K25	2.59E-03	2.29E-03	2	Incorrect
26	K26	2.57E-03	2.28E-03	2	Incorrect
27	K27	1.53E-03	2.67E-03	1	Correct
28	K28	5.45E-04	1.71E-03	1	Correct
29	K29	1.42E-03	2.62E-03	1	Correct
30	K30	6.17E-04	1.83E-03	1	Correct
31	K31	1.34E-03	2.51E-03	1	Correct
32	K32	3.51E-03	3.54E-03	1	Correct
33	K33	3.77E-03	3.38E-03	2	Incorrect
34	K34	2.57E-03	1.93E-03	2	Incorrect

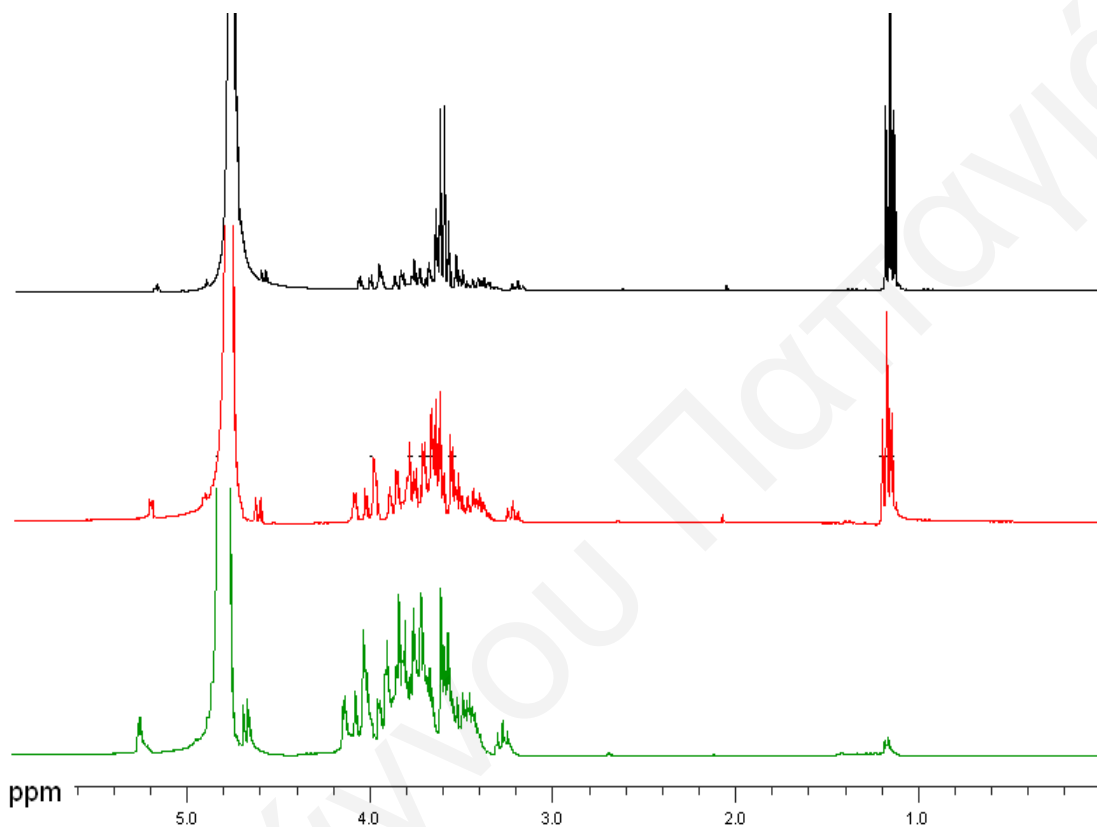
Πίνακας 6.1.4 (Συνέχεια): Γραμμική Διακριτική Ανάλυση, βάση της Ευκλείδειας απόστασης

α/α	Παρατήρηση	Απόσταση από 1 ^η ομάδα	Απόσταση από 2 ^η ομάδα	Προβλεπόμενη ομάδα	
35	W1	2.04E-03	2.18E-03	1	Incorrect
36	W2	2.03E-03	1.56E-03	2	Correct
37	W3	9.51E-04	2.16E-03	1	Incorrect
38	W4	1.89E-04	1.39E-03	1	Incorrect
39	W5	3.34E-03	2.18E-03	2	Correct
40	W6	4.87E-04	1.71E-03	1	Incorrect
41	W7	7.38E-04	1.05E-03	1	Incorrect
42	W8	3.04E-03	1.93E-03	2	Correct
43	W9	1.31E-03	8.72E-04	2	Correct
44	W10	1.05E-03	4.42E-04	2	Correct
45	W11	2.81E-03	1.57E-03	2	Correct
46	W12	1.94E-03	1.45E-03	2	Correct
47	W13	2.20E-03	1.76E-03	2	Correct
48	W14	1.56E-03	2.70E-03	1	Incorrect
49	W15	1.63E-03	1.46E-03	2	Correct
50	W16	5.39E-03	4.16E-03	2	Correct
51	W17	4.87E-03	4.24E-03	2	Correct
52	W18	5.65E-03	4.45E-03	2	Correct
53	W19	4.67E-03	4.56E-03	2	Correct
54	W20	3.73E-03	3.76E-03	1	Incorrect
55	W21	5.92E-04	1.80E-03	1	Incorrect
56	W22	1.25E-03	2.45E-03	1	Incorrect
57	W23	2.06E-03	1.79E-03	2	Correct
58	W24	1.65E-03	2.06E-03	1	Incorrect
59	W25	1.15E-03	2.78E-04	2	Correct
60	W26	2.17E-03	1.54E-03	2	Correct
61	W27	9.46E-04	3.05E-04	2	Correct
62	W28	1.17E-03	5.28E-04	2	Correct
63	W29	2.87E-03	2.07E-03	2	Correct
64	W30	2.42E-03	1.37E-03	2	Correct

Τα αποτελέσματα της χημειομετρικής ανάλυσης σε δείγματα χωρίς καμία συμπύκνωση δεν έδωσαν καμία σημαντική πληροφορία. Όπως φαίνεται και στα φάσματα ¹H-NMR (Σχήμα 6.1.1), η παρουσία της αιθανόλης η οποία δεν έχει ακόμη απομακρυνθεί είναι έντονη, με αποτέλεσμα η αναγνώριση άλλων χαρακτηριστικών χημικών μετατοπίσεων στα δείγματα να είναι δύσκολη.

6.2 Χημειομετρική Ανάλυση Φασματοσκοπικών Δεδομένων, ^1H -NMR
Λυοφιλωμένων δειγμάτων

Η χημειομετρική ανάλυση εφαρμόστηκε σε 64 δείγματα (Κεφ. 4.1 και Πίνακας 4.1 α) και β) τα οποία συμπυκνώθηκαν με την τεχνική της λυοφιλίωσης (Κεφ.3.3. και Κεφ.4.2).



Σχήμα 6.2.1: Σύγκριση φάσματος ^1H -NMR δειγμάτων Κουμανδαρίας: χωρίς συμπύκνωση, μετά από λυοφιλίωση και μετά από ροή αζώτου, σε περιοχή 0-6 ppm

Η χημειομετρική ανάλυση αφορούσε μετρήσεις χημικών μετατοπίσεων σε όλη την περιοχή, από 0 έως 6 ppm (Σχήμα 6.2.1). Σε κάθε φάσμα δείγματος αντιστοιχούν 6889 μεταβλητές/ σημεία. Τα δείγματα όπως και κατά τη χημειομετρική ανάλυση των φασματοσκοπικών δεδομένων FTIR (Κεφ. 5) χωρίστηκαν σε δύο ομάδες:

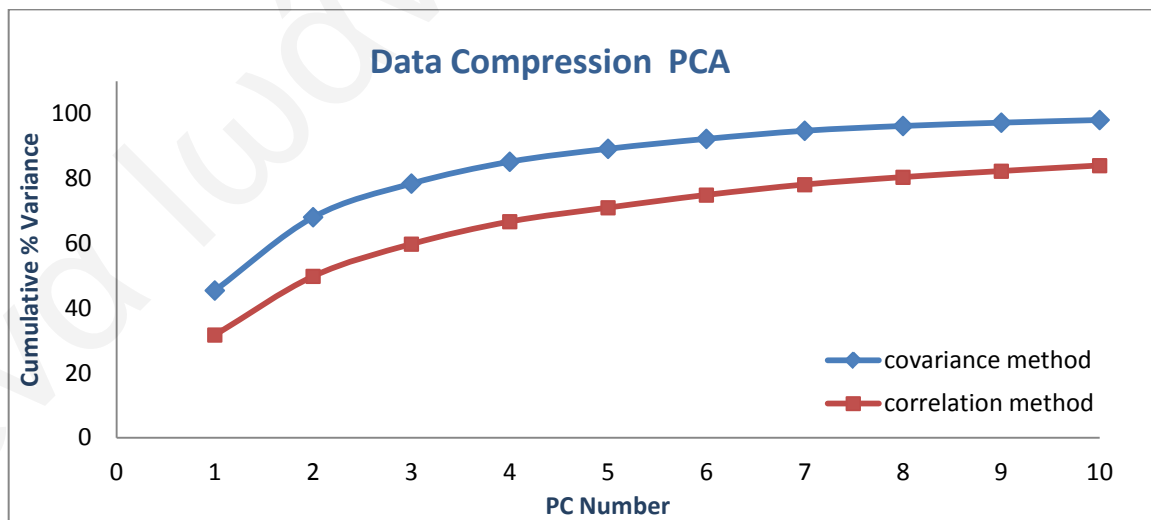
1η ομάδα : Κουμανδαρίες Ενδυναμωμένες, μη Ενδυναμωμένες και Εμπορίου (34)

2η ομάδα : Διάφορα Κρασιά (30)

Η Ανάλυση της Κύριας Συνιστώσας (Covariance Method) σε δύο κύριους άξονες δεν είχε καλή διάκριση για την ομάδα των Κουμανδαριών. Το αθροιστικό ποσοστό διακύμανσης της πρώτης και δεύτερης κύριας συνιστώσας αντιπροσωπεύει το 68.10% της πληροφορίας σχετικά με τα αρχικά φασματοσκοπικά δεδομένα (Πίνακας 6.2.1 και Σχήμα 6.2.2). Χρειάστηκαν τρεις κύριες συνιστώσες ώστε το αθροιστικό ποσοστό διακύμανσης να φτάσει το 78.48%.

Πίνακας 6.2.1: Αθροιστική διακύμανση κύριων συνιστωσών (Covariance Method)

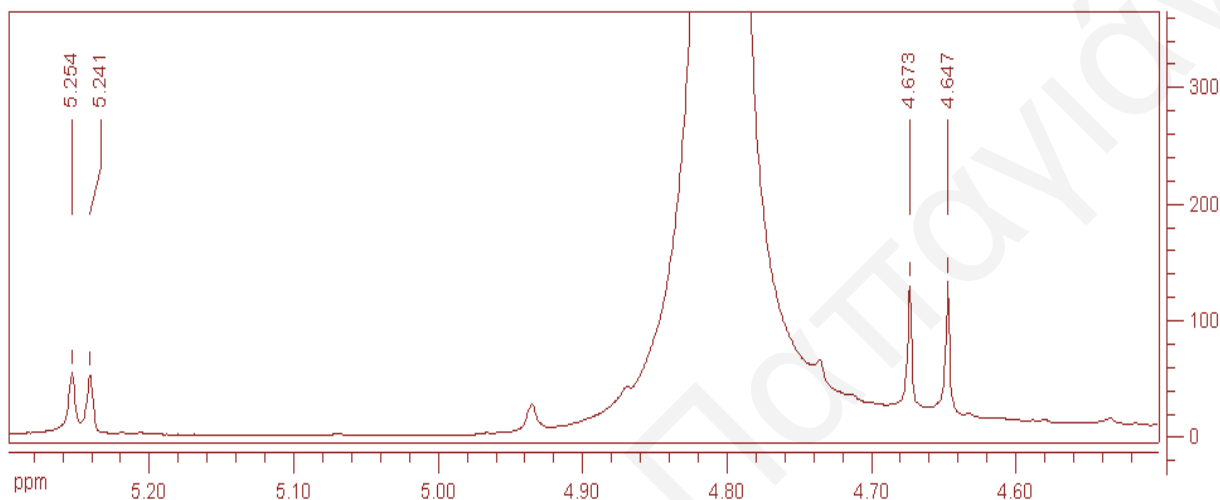
Κύρια Συνιστώσα	% Διακύμανση	Αθροιστικό ποσοστό διακύμανσης
1	45.46	45.46
2	22.63	68.10
3	10.39	78.48
4	6.74	85.22
5	4.00	89.22
6	3.06	92.28
7	2.51	94.79
8	1.48	96.27
9	1.02	97.29
10	0.82	98.11



Σχήμα 6.2.2: Το αθροιστικό ποσοστό των μεταβλητών με τον αριθμό των κύριων συνιστωσών χρησιμοποιώντας μέθοδο συνδιακύμανσης — και μέθοδο συσχέτισης —

Κεφάλαιο 6: Χημειομετρική Ανάλυση Φασματοσκοπικών Δεδομένων, ^1H -NMR

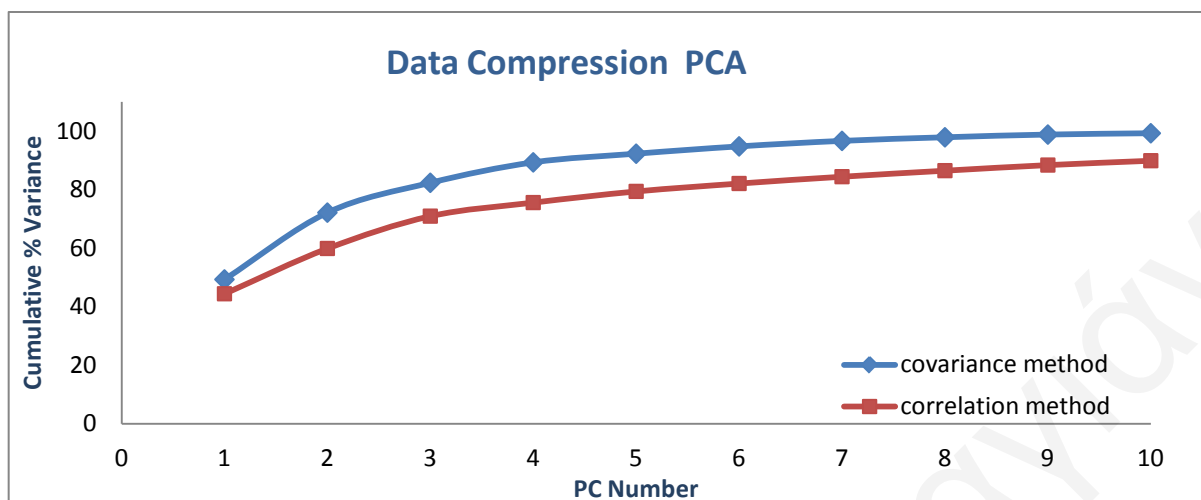
Η εφαρμογή χημειομετρικής Ανάλυσης Κύριων Συνιστωσών σε περιοχή φάσματος ^1H -NMR 4.6- 5.3ppm, με 1160 μεταβλητές/ σημεία (Σχήμα 6.2.4) ερμήνευσε τις πληροφορίες σε δύο κύριες συνιστώσες με αθροιστικό ποσοστό διακύμανσης 72.18%, όπως δίνεται στον πίνακα 6.2.2 και στο Σχήμα 6.2.5.



Σχήμα 6.2.4: Τυπικό φάσμα ^1H - NMR συμπυκνωμένου δείγματος Κουμανδαρίας με την τεχνική της λυοφιλίωσης, σε περιοχή 4.5-5.1 ppm

Πίνακας 6.2.2: Αθροιστική διακύμανση η κύριων συνιστωσών (Covariance Method)

Κύρια Συνιστώσα	% Διακύμανση	Αθροιστικό ποσοστό διακύμανσης
1	49.34	49.34
2	22.84	72.18
3	10.20	82.38
4	6.98	89.36
5	2.96	92.32
6	2.50	94.82
7	1.88	96.70
8	1.23	97.93
9	0.94	98.86
10	0.45	99.31

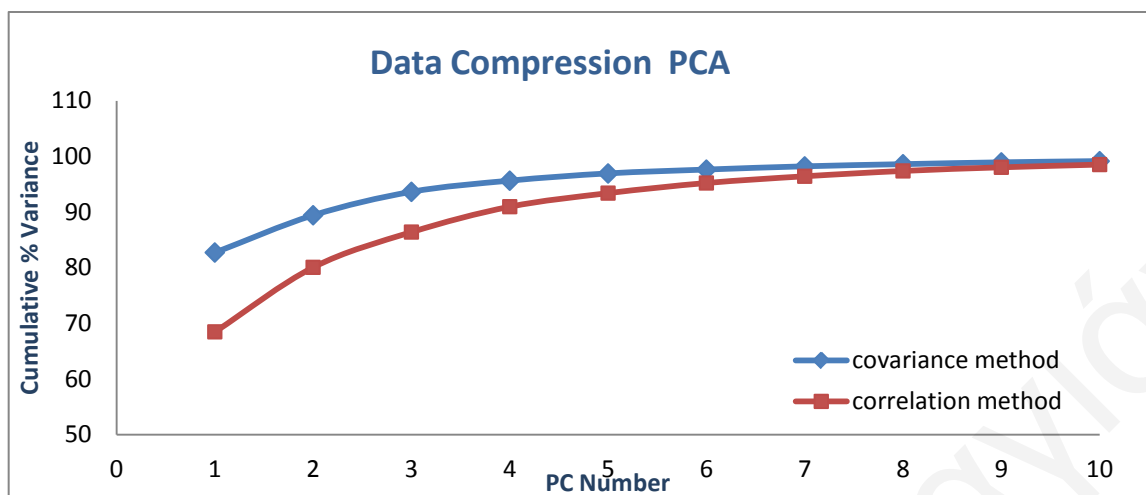


Σχήμα 6.2.5: Το αθροιστικό ποσοστό των μεταβλητών με τον αριθμό των κύριων συνιστωσών χρησιμοποιώντας μέθοδο συνδιακύμανσης — και μέθοδο συσχέτισης —

Όταν η χημειομετρική Ανάλυση Κύριων Συνιστωσών γίνει σε περιοχή φάσματος ¹H-NMR 4.6- 4.7 ppm, στην οποία αναλογούν λιγότερες μεταβλητές/ σημεία περίπου 200 (Σχήμα 6.2.4), η εξήγηση των πληροφοριών από τα φασματοσκοπικά δεδομένα δίνεται με μία κύρια συνιστώσα και έχει μεγαλύτερο ποσοστό επιτυχίας που φτάνει το 82.74% (Πίνακας 6.2.3 και Σχήμα 6.2.6).

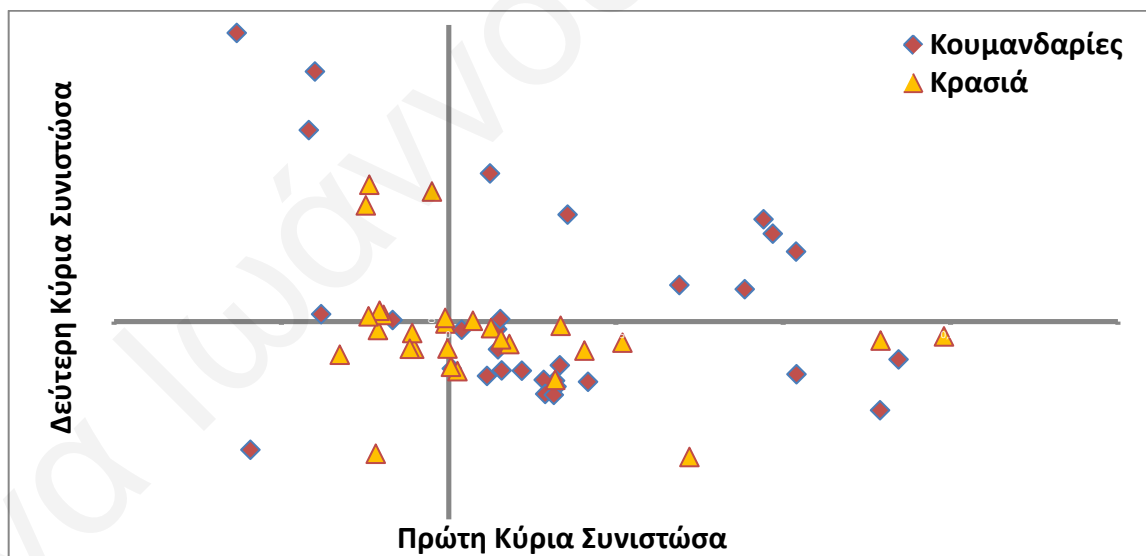
Πίνακας 6.2.3: Αθροιστική διακύμανση κύριων συνιστωσών (Covariance Method)

Κύρια Συνιστώσα	% Διακύμανση	Αθροιστικό ποσοστό διακύμανσης
1	82.74	82.74
2	6.71	89.44
3	4.21	93.65
4	2.00	95.65
5	1.30	96.95
6	0.69	97.64
7	0.58	98.22
8	0.39	98.61
9	0.32	98.94
10	0.22	99.16



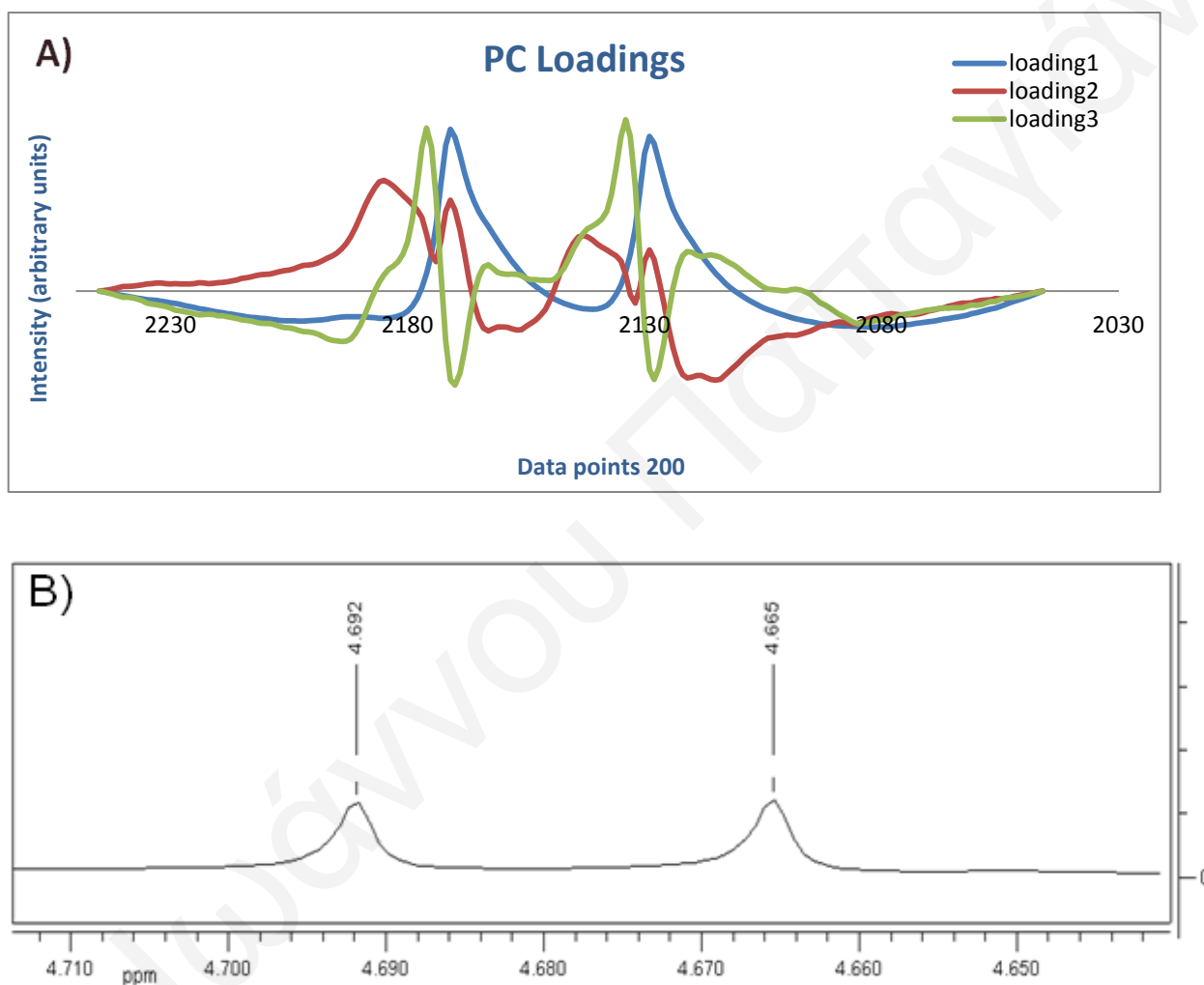
Σχήμα 6.2.6: Το αθροιστικό ποσοστό των μεταβλητών με τον αριθμό των κύριων συνιστωσών χρησιμοποιώντας μέθοδο συνδιακύμανσης — και μέθοδο συσχέτισης —

Στο διάγραμμα σκέδασης της πρώτης κύριας συνιστώσας ως προς τη δεύτερη, δε γίνεται ευδιάκριτος διαχωρισμός των δύο ομάδων παρά το υψηλό ποσοστό διακύμανσης της πρώτης κύριας συνιστώσας που προέκυψε από τη μέθοδο συνδιακύμανσης (Σχήμα 6.2.7).



Σχήμα 6.2.7: Διάγραμμα σκέδασης ως προς τον 1^ο και 2^ο κύριο άξονα που προέκυψαν από την ανάλυση κύριων συνιστωσών (PCA, Covariance Method)

Από το διάγραμμα σύγκρισης των τριών φορτίων τα οποία προκύπτουν από την Ανάλυση των Κύριων Συνιστωσών με τη μέθοδο συνδιακύμανσης, σε περιοχή φασματικών δεδομένων 4.6- 4.7ppm, τον κύριο λόγο διάκρισης των ομάδων έχουν οι χημικές μετατοπίσεις 4,67 και 4.64 ppm (Σχήμα 6.2.4A) οι οποίες οφείλονται σε β-γλυκόζη.



Σχήμα 6.2.8: A) Διάγραμμα σύγκρισης φορτίων, όπως προέκυψαν από την ανάλυση κύριων συνιστωσών για 200 μεταβλητές / σημεία (PCA, Covariance Method) B) Τυπικό φάσμα ^1H -NMR Κουμανδαρίας, σε περιοχή 4.6- 4.7 ppm

Η Γραμμική Διάκριση των ομάδων μετά την Ανάλυση των Κύριων Συνιστωσών κατέταξε την ομάδα των Κουμανδαριών σε ξεχωριστή ομάδα με επιτυχία 82%, δίνοντας μόνο έξι δείγματα σε λάθος κατάταξη από σύνολο 34 Κουμανδαριών.

Κεφάλαιο 6: Χημειομετρική Ανάλυση Φασματοσκοπικών Δεδομένων, ¹H -NMR

Στα δείγματα αυτά ανήκουν τέσσερις μη ενδυναμωμένες Κουμανδαρίες (Κ3,Κ7,Κ9,Κ15) και δύο Κουμανδαρίες του εμπορίου (Κ30,Κ33).

Πίνακας 6.2.4: Γραμμική Διακριτική Ανάλυση, βάση της Ευκλείδειας απόστασης

α/α	Παρατήρηση	Απόσταση από 1 ^η ομάδα	Απόσταση από 2 ^η ομάδα	Προβλεπόμενη ομάδα	
1	K1	5.37E-02	2.32E-01	1	Correct
2	K2	8.60E-02	2.38E-01	1	Correct
3	K3	3.18E-01	3.15E-01	2	Incorrect
4	K4	3.11E-01	4.11E-01	1	Correct
5	K5	1.12E-01	2.49E-01	1	Correct
6	K6	7.03E-01	7.83E-01	1	Correct
7	K7	1.35E-01	7.67E-02	2	Incorrect
8	K8	1.03E-01	1.44E-01	1	Correct
9	K9	2.24E-01	2.24E-01	2	Incorrect
10	K10	1.12E-01	1.26E-01	1	Correct
11	K11	8.87E-02	1.45E-01	1	Correct
12	K12	1.01E-01	1.35E-01	1	Correct
13	K13	2.72E-01	2.81E-01	1	Correct
14	K14	6.73E-02	2.45E-01	1	Correct
15	K15	1.16E-01	1.14E-01	2	Incorrect
16	K16	9.40E-02	1.25E-01	1	Correct
17	K17	1.05E-01	1.29E-01	1	Correct
18	K18	9.65E-02	1.14E-01	1	Correct
19	K19	7.12E-02	2.17E-01	1	Correct
20	K20	8.62E-02	1.25E-01	1	Correct
21	K21	1.74E-02	2.05E-01	1	Correct
22	K22	1.01E-01	1.47E-01	1	Correct
23	K23	1.09E-01	1.93E-01	1	Correct
24	K24	8.29E-02	1.27E-01	1	Correct
25	K25	1.57E-01	2.09E-01	1	Correct
26	K26	1.13E-01	1.49E-01	1	Correct
27	K27	1.05E-01	1.49E-01	1	Correct
28	K28	3.40E-02	1.88E-01	1	Correct
29	K29	2.16E+00	2.34E+00	1	Correct
30	K30	7.13E-02	2.33E-01	1	Correct
31	K31	2.15E-01	1.21E-01	2	Incorrect
32	K32	9.60E-02	1.57E-01	1	Correct
33	K33	1.15E-01	9.55E-02	2	Incorrect
34	K34	1.13E-01	1.52E-01	1	Correct

Κεφάλαιο 6: Χημειομετρική Ανάλυση Φασματοσκοπικών Δεδομένων, ¹H -NMR

Πίνακας 6.2.4 (Συνέχεια): Γραμμική Διακριτική Ανάλυση, βάση της Ευκλείδειας απόστασης

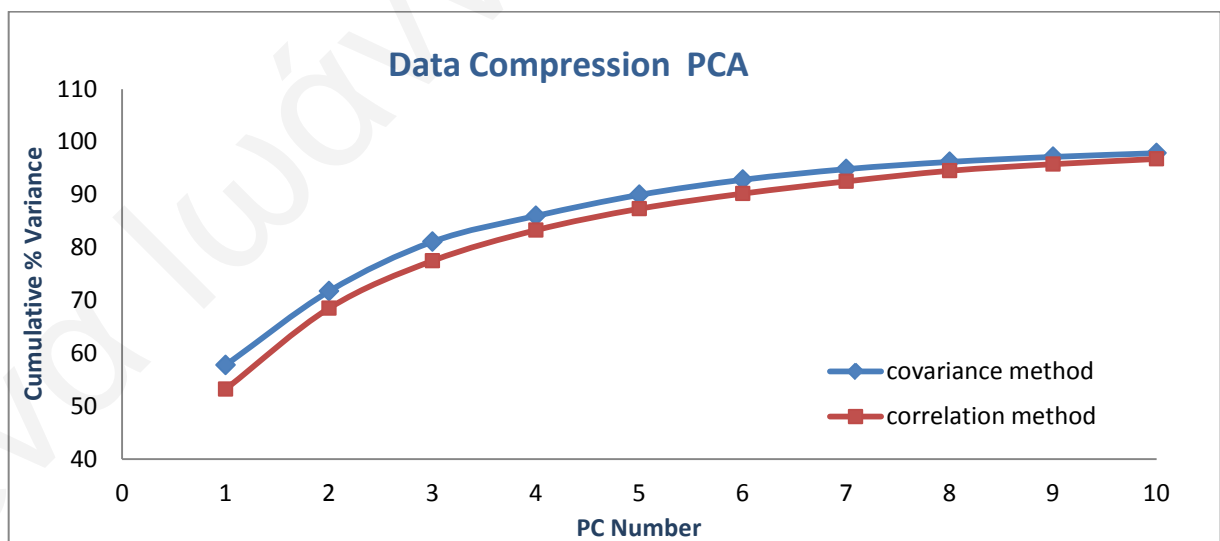
α/α	Παρατήρηση	Απόσταση από 1 ^η ομάδα	Απόσταση από 2 ^η ομάδα	Προβλεπόμενη ομάδα	
35	W1	1.39E-01	7.86E-02	2	Correct
36	W2	1.71E-01	1.80E-01	1	Incorrect
37	W3	4.30E+00	4.09E+00	2	Correct
38	W4	1.21E-01	8.95E-02	2	Correct
39	W5	8.76E-02	1.23E-01	1	Incorrect
40	W6	1.57E-01	2.17E-01	1	Incorrect
41	W7	1.92E-01	1.44E-01	2	Correct
42	W8	1.16E-01	9.99E-02	2	Correct
43	W9	1.16E-01	1.17E-01	1	Incorrect
44	W10	1.57E-01	1.61E-01	1	Incorrect
45	W11	6.71E-02	1.44E-01	1	Incorrect
46	W12	8.85E-02	1.28E-01	1	Incorrect
47	W13	1.18E-01	9.43E-02	2	Correct
48	W14	4.88E-02	2.39E-01	1	Incorrect
49	W15	1.21E-01	8.95E-02	2	Correct
50	W16	5.94E-02	1.62E-01	1	Incorrect
51	W17	1.07E-01	1.10E-01	1	Incorrect
52	W18	9.98E-02	1.10E-01	1	Incorrect
53	W19	9.89E-02	1.11E-01	1	Incorrect
54	W20	1.17E-01	9.86E-02	2	Correct
55	W21	7.33E-02	1.51E-01	1	Incorrect
56	W22	9.12E-02	1.19E-01	1	Incorrect
57	W23	1.00E-01	1.47E-01	1	Incorrect
58	W24	4.57E-01	6.67E-01	1	Incorrect
59	W25	8.87E-02	1.26E-01	1	Incorrect
60	W26	1.17E-01	9.42E-02	2	Correct
61	W27	1.53E-01	1.84E-01	1	Incorrect
62	W28	6.06E-02	2.58E-01	1	Incorrect
63	W29	1.12E-01	9.93E-02	2	Correct
64	W30	1.15E-01	1.14E-01	2	Correct

Κεφάλαιο 6: Χημειομετρική Ανάλυση Φασματοσκοπικών Δεδομένων, ¹H-NMR

Η χημειομετρική ανάλυση κύριων συνιστωσών, σε περιοχή φάσματος ¹H-NMR 5.2-5.3 ppm, που αφορά 209 μεταβλητές/ σημεία (Σχήμα 6.2.4), εξήγησε το σύνολο της πληροφορίας σε δύο κύριες συνιστώσες με ποσοστό επιτυχίας 71.79%, όπως δίνεται στον πίνακα 6.2.5 και στο Σχήμα 6.2.9.

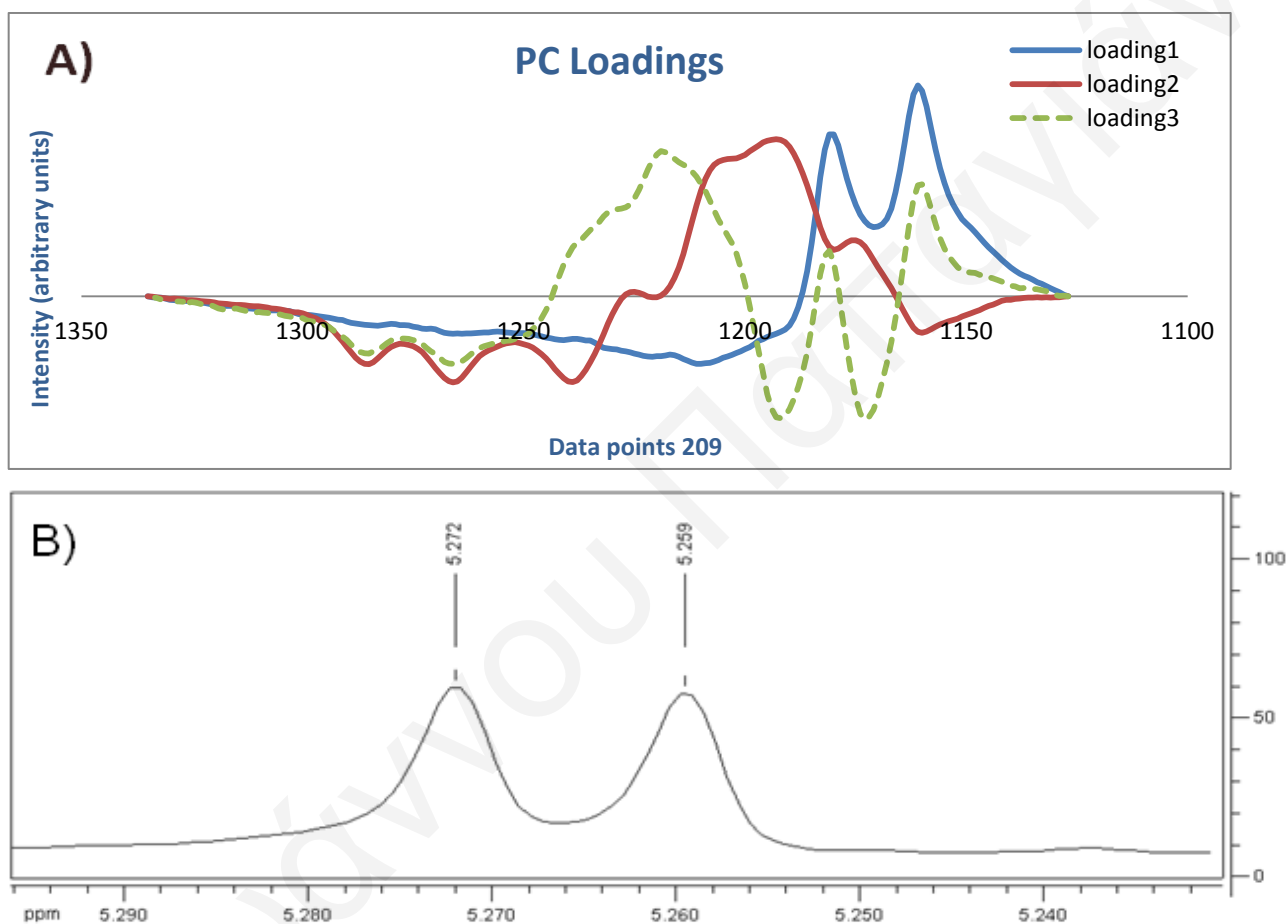
Πίνακας 6.2.5: Αθροιστική διακύμανση κύριων συνιστωσών (Covariance Method)

Κύρια Συνιστώσα	% Διακύμανση	Αθροιστικό ποσοστό διακύμανσης
1	57.81	57.81
2	13.98	71.79
3	9.35	81.15
4	4.88	86.03
5	3.98	90.02
6	2.86	92.88
7	2.01	94.89
8	1.37	96.26
9	0.95	97.21
10	0.70	97.91



Σχήμα 6.2.9: Το αθροιστικό ποσοστό των μεταβλητών με τον αριθμό των κύριων συνιστωσών χρησιμοποιώντας μέθοδο συνδιακύμανσης — και μέθοδο συσχέτισης —

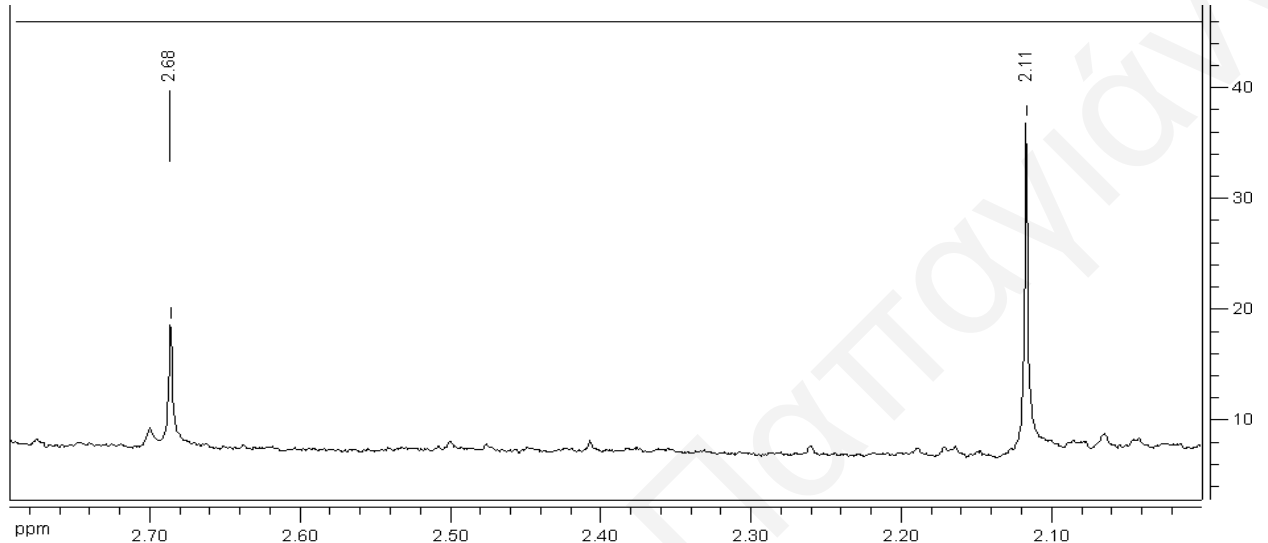
Ο λόγος διάκρισης των ομάδων, όπως προκύπτει από το διάγραμμα σύγκρισης των τριών φορτίων (Σχήμα 6.2.10A) των κύριων συνιστωσών, σε περιοχή φασματικών δεδομένων 5.2- 5.3 ppm, είναι οι χημικές μετατοπίσεις 5.25 και 5.27 ppm, οι οποίες οφείλονται σε α-γλυκόζη.



Σχήμα 6.2.10: **A)** Διάγραμμα σύγκρισης φορτίων, όπως προέκυψαν από την ανάλυση κύριων συνιστωσών για 209 μεταβλητές / σημεία (PCA, Covariance Method) **B)** Τυπικό φάσμα ^1H -NMR Κουμανδαρίας, σε περιοχή 5.2- 5.3 ppm

Κεφάλαιο 6: Χημειομετρική Ανάλυση Φασματοσκοπικών Δεδομένων, ^1H -NMR

Η χημειομετρική Ανάλυση Κύριων Συνιστωσών με τη μέθοδο συνδιακύμανσης, μιας άλλης περιοχής φάσματος ^1H -NMR 2- 2.8 ppm, η οποία αντιστοιχεί σε 1479 μεταβλητές/σημεία (Σχήμα 6.2.11) εξηγεί τις πληροφορίες, βάση της πρώτης κύριας συνιστώσας με ποσοστό επιτυχίας 70.26% (Πίνακας 6.2.6 και Σχήμα 6.2.12).

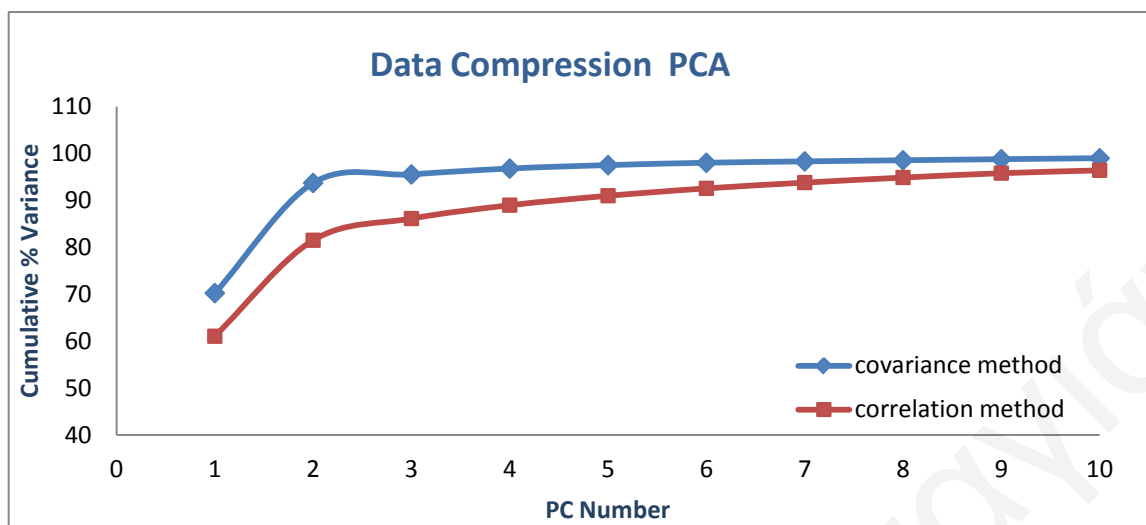


Σχήμα 6.2.11: Τυπικό φάσμα ^1H -NMR λυοφιλωμένης Κουμανδαρίας, σε περιοχή 2-2.8 ppm

Το αθροιστικό ποσοστό διακύμανσης των μεταβλητών αυξάνεται στη δεύτερη κύρια συνιστώσας σε 93.74% .

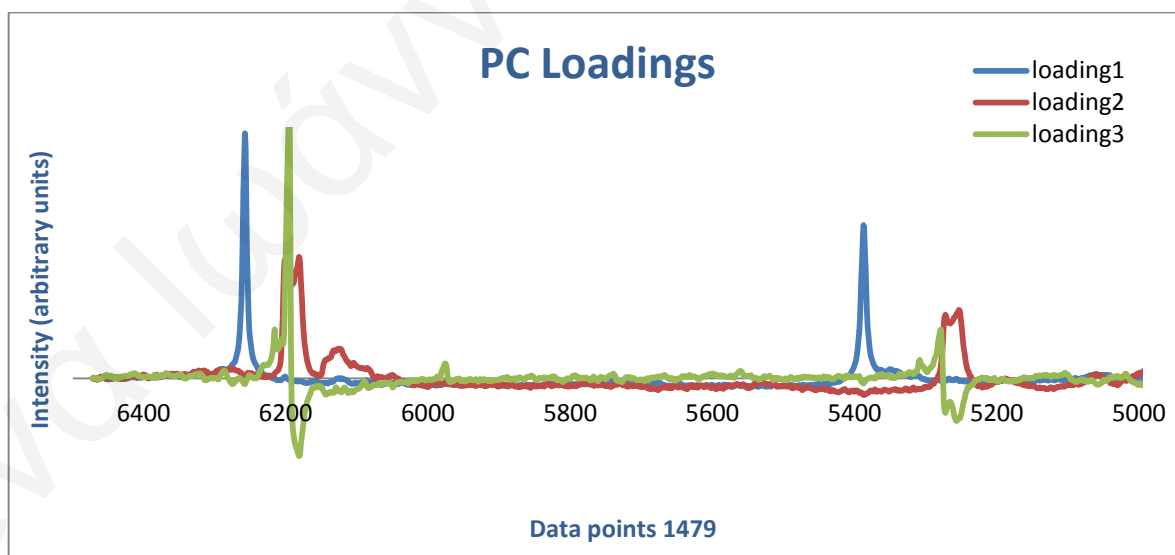
Πίνακας 6.2.6: Αθροιστική διακύμανση κύριων συνιστωσών (Covariance Method)

Κύρια Συνιστώσα	% Διακύμανση	Αθροιστικό ποσοστό διακύμανσης
1	70.26	70.26
2	23.49	93.74
3	1.82	95.56
4	1.24	96.81
5	0.73	97.54
6	0.50	98.04
7	0.29	98.33
8	0.24	98.57
9	0.22	98.80
10	0.22	99.01



Σχήμα 6.2.12: Το αθροιστικό ποσοστό των μεταβλητών με τον αριθμό των κύριων συνιστωσών χρησιμοποιώντας μέθοδο συνδιακύμανσης — και μέθοδο συσχέτισης —

Στο διάγραμμα σύγκρισης των τριών φορτίων (Σχήμα 6.2.13), τα οποία προκύπτουν από την Ανάλυση των Κύριων Συνιστωσών σε περιοχή φασματικών δεδομένων 2- 2.8 ppm, επιβεβαιώνεται ότι ο λόγος διάκρισης των ομάδων είναι οι χημικές μετατοπίσεις 2.1 και 2.6 ppm οι οποίες οφείλονται σε αλειφατικές ενώσεις (Σχήμα 6.2.11). Τα 2.1 ppm είναι η χημική μετατόπιση του οξικού οξέος και τα 2.6 ppm του ηλεκτρικού οξέος.



Σχήμα 6.2.13: Διάγραμμα σύγκρισης φορτίων όπως προέκυψαν από την ανάλυση κύριων συνιστωσών σε περιοχή 2-2.8 ppm (PCA, Covariance Method)

Κεφάλαιο 6: Χημειομετρική Ανάλυση Φασματοσκοπικών Δεδομένων, ¹H -NMR

Η Γραμμική Διάκριση των ομάδων μετά την Ανάλυση των Κύριων Συνιστωσών κατέταξε την ομάδα των Κουμανδαριών σε ξεχωριστή ομάδα με επιτυχία 79% (Πίνακας 6.2.7). Λανθασμένη κατάταξη έδωσαν πέντε μη ενδυναμωμένες Κουμανδαρίες (Κ1, Κ4, Κ9, Κ11, Κ16) και δύο Κουμανδαρίες του εμπορίου (Κ33, Κ34).

Πίνακας 6.2.7: Γραμμική Διακριτική Ανάλυση, βάση της Ευκλείδειας απόστασης

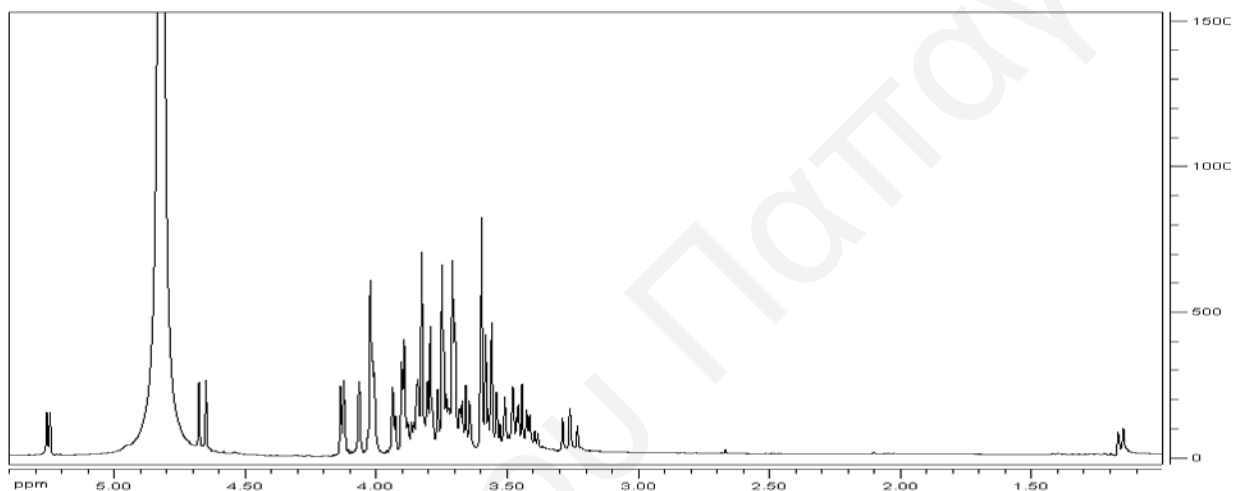
α/α	Παρατήρηση	Απόσταση από 1 ^η ομάδα	Απόσταση από 2 ^η ομάδα	Προβλεπόμενη ομάδα	
1	Κ1	1.03E+07	7.72E+06	2	Incorrect
2	Κ2	1.55E+07	1.69E+07	1	Correct
3	Κ3	9.94E+06	1.14E+07	1	Correct
4	Κ4	3.86E+06	2.84E+06	2	Incorrect
5	Κ5	5.17E+06	6.38E+06	1	Correct
6	Κ6	1.92E+06	3.67E+06	1	Correct
7	Κ7	7.72E+05	2.36E+06	1	Correct
8	Κ8	1.91E+06	3.74E+06	1	Correct
9	Κ9	6.24E+06	3.37E+06	2	Incorrect
10	Κ10	3.18E+06	5.60E+06	1	Correct
11	Κ11	1.48E+07	1.23E+07	2	Incorrect
12	Κ12	1.61E+06	1.78E+06	1	Correct
13	Κ13	1.28E+06	2.86E+06	1	Correct
14	Κ14	1.31E+06	4.00E+06	1	Correct
15	Κ15	1.07E+06	3.58E+06	1	Correct
16	Κ16	3.02E+06	1.44E+06	2	Incorrect
17	Κ17	1.25E+06	1.80E+06	1	Correct
18	Κ18	5.58E+06	7.63E+06	1	Correct
19	Κ19	4.74E+06	4.88E+06	1	Correct
20	Κ20	5.49E+06	7.50E+06	1	Correct
21	Κ21	2.54E+06	3.28E+06	1	Correct
22	Κ22	3.56E+06	5.34E+06	1	Correct
23	Κ23	5.51E+06	7.51E+06	1	Correct
24	Κ24	6.14E+06	8.25E+06	1	Correct
25	Κ25	5.36E+06	7.37E+06	1	Correct
26	Κ26	4.00E+06	6.00E+06	1	Correct
27	Κ27	4.41E+06	6.60E+06	1	Correct
28	Κ28	3.93E+06	6.23E+06	1	Correct
29	Κ29	2.65E+06	4.63E+06	1	Correct
30	Κ30	4.65E+06	6.96E+06	1	Correct
31	Κ31	4.73E+06	6.90E+06	1	Correct
32	Κ32	4.01E+06	5.64E+06	1	Correct
33	Κ33	2.49E+06	2.12E+06	2	Incorrect
34	Κ34	9.41E+06	6.90E+06	2	Incorrect

Πίνακας 6.2.7 (Συνέχεια): Γραμμική Διακριτική Ανάλυση, βάση της Ευκλείδειας απόστασης

α/α	Παρατήρηση	Απόσταση από 1 ^η ομάδα	Απόσταση από 2 ^η ομάδα	Προβλεπόμενη ομάδα	
35	W1	7.95E+06	5.34E+06	2	Correct
36	W2	3.75E+06	5.48E+06	1	Incorrect
37	W3	5.35E+06	7.42E+06	1	Incorrect
38	W4	2.56E+06	4.14E+06	1	Incorrect
39	W5	3.99E+06	5.90E+06	1	Incorrect
40	W6	2.46E+06	2.13E+06	2	Correct
41	W7	1.90E+06	3.01E+06	1	Incorrect
42	W8	1.90E+07	1.86E+07	2	Correct
43	W9	3.12E+06	4.87E+06	1	Incorrect
44	W10	5.65E+06	7.63E+06	1	Incorrect
45	W11	2.11E+06	4.19E+06	1	Incorrect
46	W12	2.29E+06	3.08E+06	1	Incorrect
47	W13	2.05E+06	2.25E+06	1	Incorrect
48	W14	1.63E+06	1.91E+06	1	Incorrect
49	W15	9.58E+06	6.99E+06	2	Correct
50	W16	3.33E+06	7.91E+05	2	Correct
51	W17	7.46E+06	4.70E+06	2	Correct
52	W18	3.38E+06	9.70E+05	2	Correct
53	W19	3.57E+06	9.44E+05	2	Correct
54	W20	5.89E+06	3.06E+06	2	Correct
55	W21	2.19E+06	3.03E+06	1	Incorrect
56	W22	3.40E+06	2.80E+06	2	Correct
57	W23	3.57E+06	2.03E+06	2	Correct
58	W24	4.59E+06	2.04E+06	2	Correct
59	W25	9.23E+06	6.32E+06	2	Correct
60	W26	2.36E+06	2.54E+06	1	Incorrect
61	W27	2.92E+07	2.68E+07	2	Correct
62	W28	4.06E+06	1.16E+06	2	Correct
63	W29	3.08E+06	8.95E+05	2	Correct
64	W30	4.18E+06	6.34E+06	1	Incorrect

6.3 Χημειομετρική Ανάλυση Φασματοσκοπικών Δεδομένων, ^1H -NMR σε δείγματα μετά από Ροή Αζώτου (N_2)

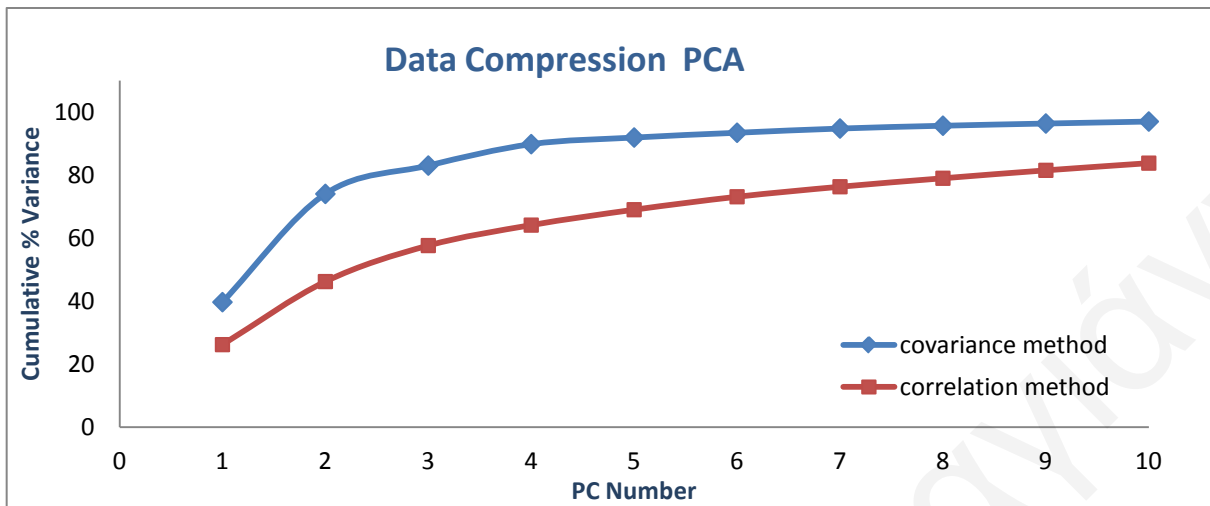
Τα ίδια 64 δείγματα (Κεφ. 4.1 και Πίνακας 4.1) συμυκνώθηκαν με ροή αζώτου (Κεφ. 4.3) και τα φασματοσκοπικά δεδομένα αναλύθηκαν χημειομετρικά. Η χημειομετρική Ανάλυση Κύριων Συνιστωσών εφαρμόστηκε σε δύο ομάδες δειγμάτων Κουμανδαρίες και κρασιά, σε περιοχή φάσματος 0-6 ppm (Σχήμα 6.3.1) με 6996 μεταβλητές/ σημεία. Οι πρώτες δύο κύριες συνιστώσες αντιπροσωπεύουν μόνο το 74% της συνολικής διακύμανσης.



Σχήμα 6.3.1: Τυπικό φάσμα ^1H -NMR συμυκνωμένου δείγματος Κουμανδαρίας μετά από ροή αζώτου σε περιοχή 0-6 ppm

Πίνακας 6.3.1: Αθροιστική διακύμανση κύριων συνιστωσών (Covariance Method)

Κύρια Συνιστώσα	% Διακύμανση	Αθροιστικό ποσοστό διακύμανσης
1	39.64	39.64
2	34.36	74.00
3	8.99	82.99
4	6.80	89.79
5	2.10	91.89
6	1.52	93.41
7	1.34	94.75
8	0.90	95.64
9	0.70	96.34
10	0.63	96.97



Σχήμα 6.3.2: Το αθροιστικό ποσοστό των μεταβλητών με τον αριθμό των κύριων συνιστωσών χρησιμοποιώντας μέθοδο συνδιακύμανσης — και μέθοδο συσχέτισης —

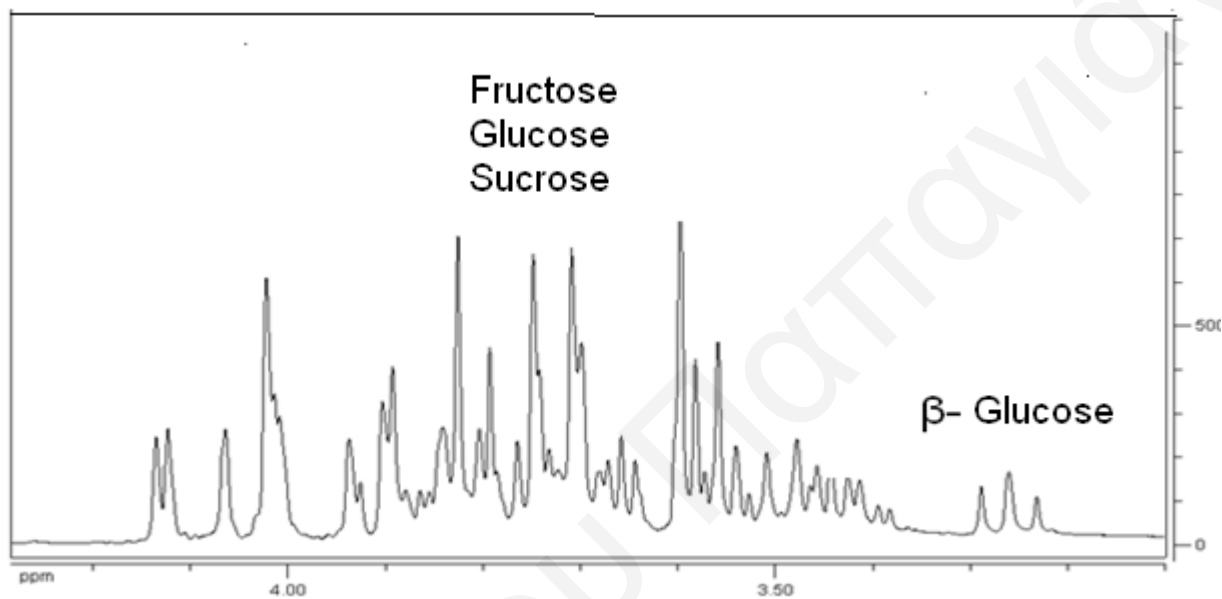
Παρόλο που, με τη βοήθεια των πέντε πρώτων κύριων συνιστωσών εξηγείται το μεγαλύτερο ποσοστό της πληροφορίας (Πίνακας 6.3.1 και Σχήμα 6.3.2), η διαχωριστική ικανότητα των δύο ομάδων δεν είναι ευδιάκριτη, όπως φαίνεται και στο διάγραμμα σκέδασης της πρώτης και δεύτερης κύριας συνιστώσας (Σχήμα 6.3.4).



Σχήμα 6.3.4: Διάγραμμα σκέδασης ως προς τον 1^ο και 2^ο κύριο άξονα που προέκυψαν από την ανάλυση κύριων συνιστωσών (PCA, Covariance Method)

Κεφάλαιο 6: Χημειομετρική Ανάλυση Φασματοσκοπικών Δεδομένων, ^1H -NMR

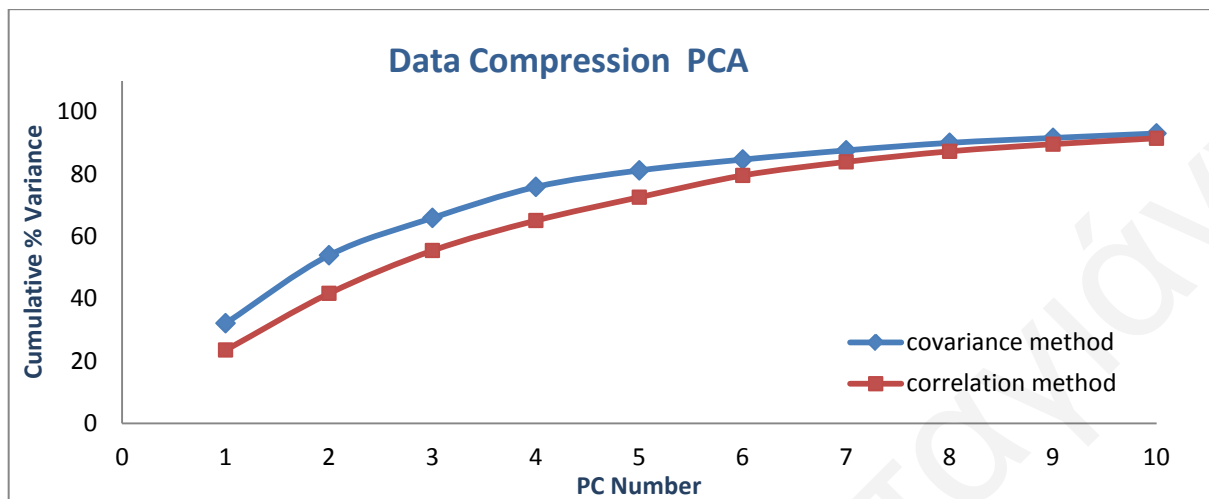
Η χημειομετρική Ανάλυση Κύριων Συνιστωσών με τη μέθοδο συνδιακύμανσης εφαρμόστηκε σε περιοχή φάσματος ^1H -NMR, 3-4.2 ppm η οποία αντιστοιχεί στην περιοχή των σακχάρων. Οι μεταβλητές/ σημεία, τα οποία επεξεργάστηκε το λογισμικό WinDAS, ήταν 1993 (Σχήμα 6.3.5) και το αθροιστικό ποσοστό διακύμανσης της πρώτης και δεύτερης κύριας συνιστώσας φτάνει μόνο στο 53.98% (Πίνακας 6.3.2 και Σχήμα 6.3.6).



Σχήμα 6.3.5: Τυπικό φάσμα ^1H - NMR συμπυκνωμένου δείγματος Κουμανδαρίας μετά από ροή αζώτου σε περιοχή 3-4.2 ppm

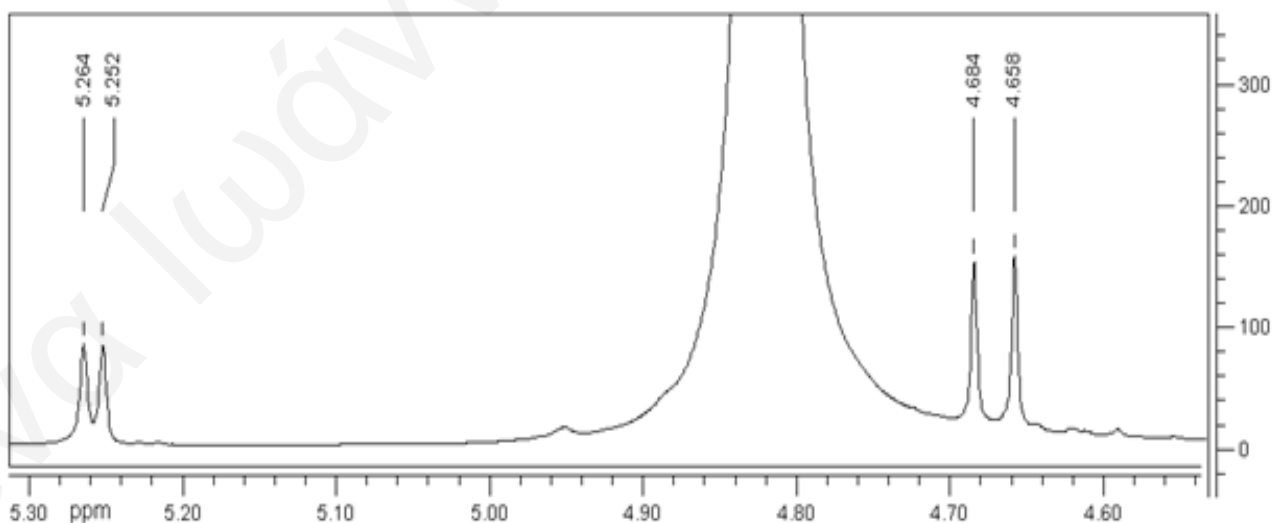
Πίνακας 6.3.2: Αθροιστική διακύμανση κύριων συνιστωσών (Covariance Method)

Κύρια Συνιστώσα	% Διακύμανση	Αθροιστικό ποσοστό διακύμανσης
1	32.14	32.14
2	21.84	53.98
3	12.00	65.98
4	9.96	75.94
5	5.30	81.24
6	3.49	84.73
7	2.95	87.68
8	2.42	90.10
9	1.57	91.68
10	1.44	93.11



Σχήμα 6.3.6: Το αθροιστικό ποσοστό των μεταβλητών με τον αριθμό των κύριων συνιστωσών χρησιμοποιώντας μέθοδο συνδιακύμανσης — και μέθοδο συσχέτισης —

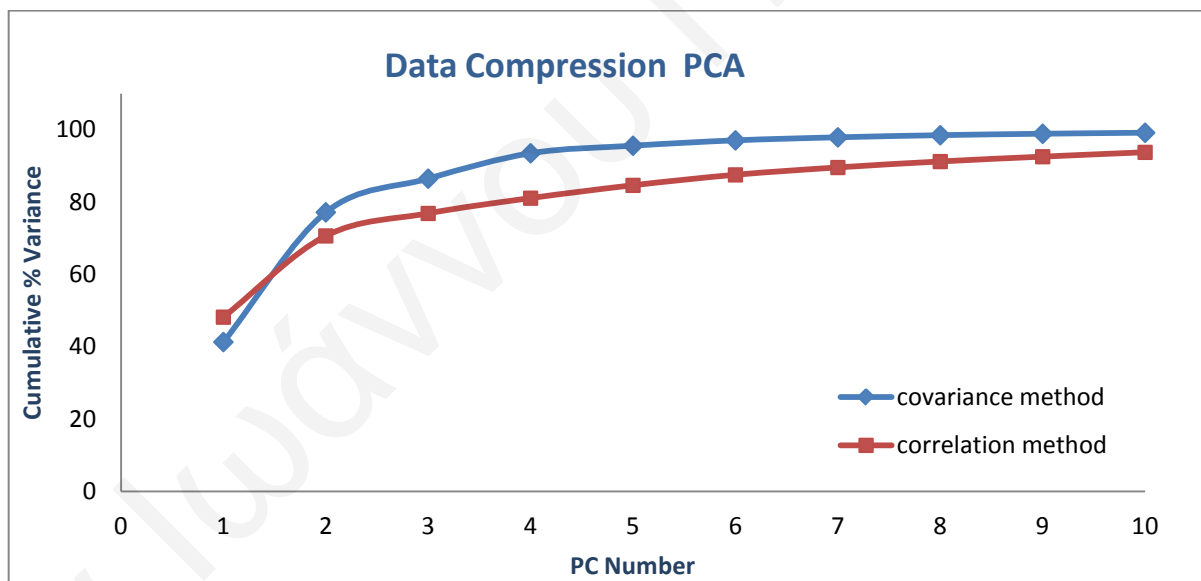
Η εφαρμογή χημειομετρικής ανάλυσης κύριων συνιστωσών σε περιοχή φάσματος ^1H -NMR 4.6-5.3 ppm, με 1136 μεταβλητές/ σημεία (Σχήμα 6.3.7) εξήγησε επιτυχώς το σύνολο των πληροφοριών των φασματοσκοπικών δεδομένων σε δύο κύριες συνιστώσες με αθροιστικό ποσοστό διακύμανσης 77.20%, όπως δίνεται στον πίνακα 6.3.3 και στο Σχήμα 6.3.8.



Σχήμα 6.3.7: Τυπικό φάσμα ^1H -NMR συμπυκνωμένου δείγματος Κουμανδαρίας μετά από ροή αζώτου σε περιοχή 4.6-5.3 ppm

Πίνακας 6.3.3: Αθροιστική διακύμανση κύριων συνιστωσών (Covariance Method)

Κύρια Συνιστώσα	% Διακύμανση	Αθροιστικό ποσοστό διακύμανσης
1	41.32	41.32
2	35.88	77.20
3	9.31	86.51
4	7.02	93.53
5	2.09	95.62
6	1.48	97.10
7	0.84	97.94
8	0.59	98.53
9	0.40	98.93
10	0.28	99.21

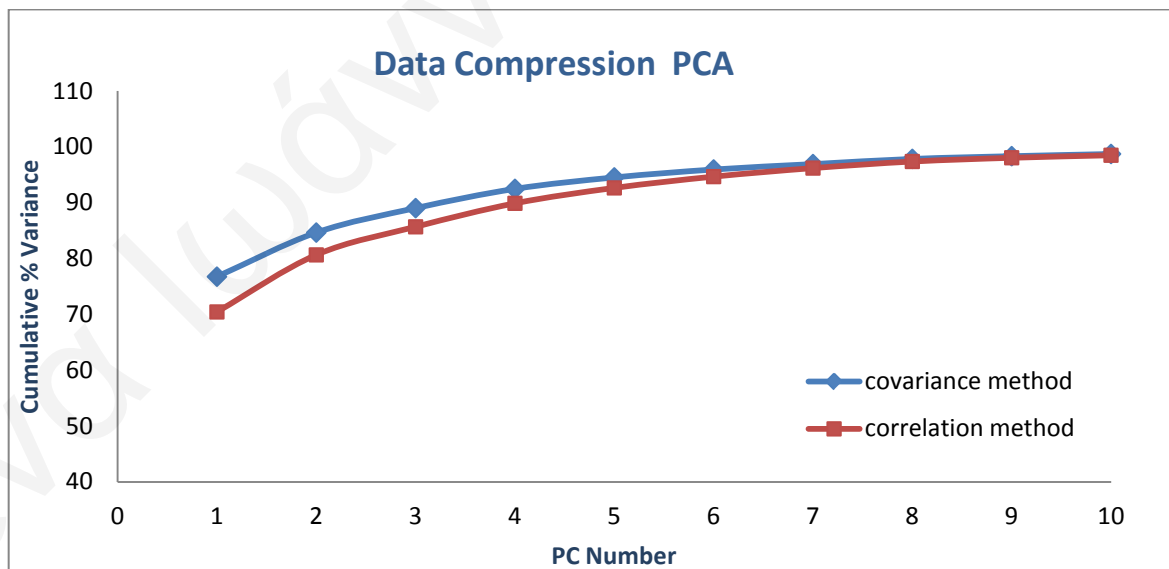


Σχήμα 6.3.8: Το αθροιστικό ποσοστό των μεταβλητών με τον αριθμό των κύριων συνιστωσών χρησιμοποιώντας μέθοδο συνδιακύμανσης — και μέθοδο συσχέτισης —

Μειώνοντας τις μεταβλητές/ σημεία σε 200 και εφαρμόζοντας Ανάλυση Κύριων Συνιστωσών στην περιοχή 4.6- 4.7 ppm (Σχήμα 6.3.7), το σύνολο της πληροφορίας δίνεται από την πρώτη συνιστώσα με ποσοστό διακύμανσης 76.77%, ενώ μετά την πέμπτη οι υπόλοιπες συνιστώσες συνεισφέρουν ελάχιστα (Πίνακας 6.3.4 και Σχήμα 6.3.9).

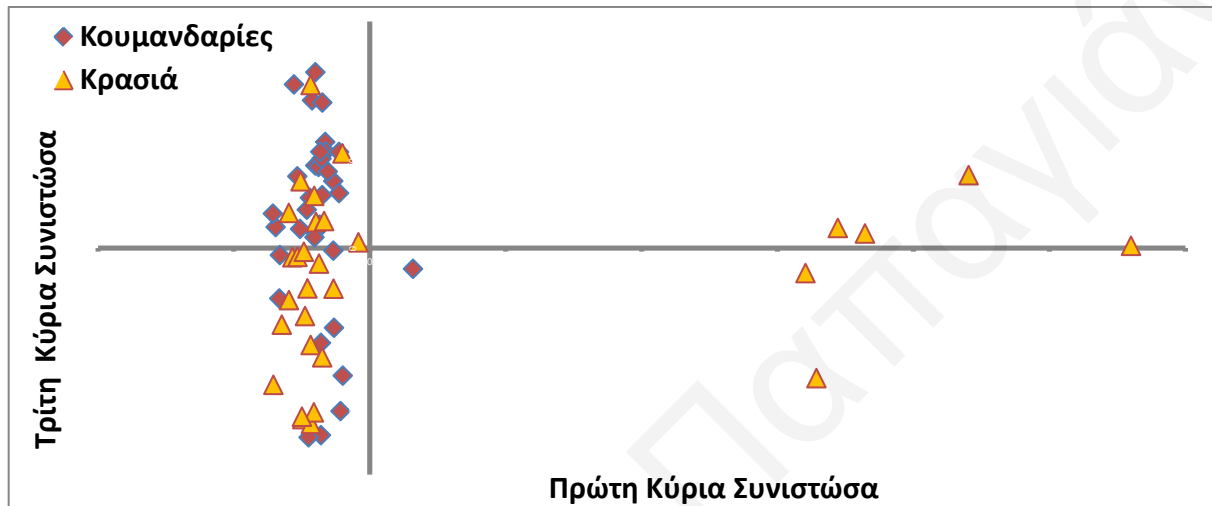
Πίνακας 6.3.4: Αθροιστική διακύμανση κύριων συνιστωσών (Covariance Method)

Κύρια Συνιστώσα	% Διακύμανση	Αθροιστικό ποσοστό διακύμανσης
1	76.77	76.77
2	7.90	84.67
3	4.38	89.05
4	3.45	92.50
5	2.05	94.55
6	1.42	95.97
7	0.98	96.94
8	0.93	97.87
9	0.49	98.36
10	0.39	98.75

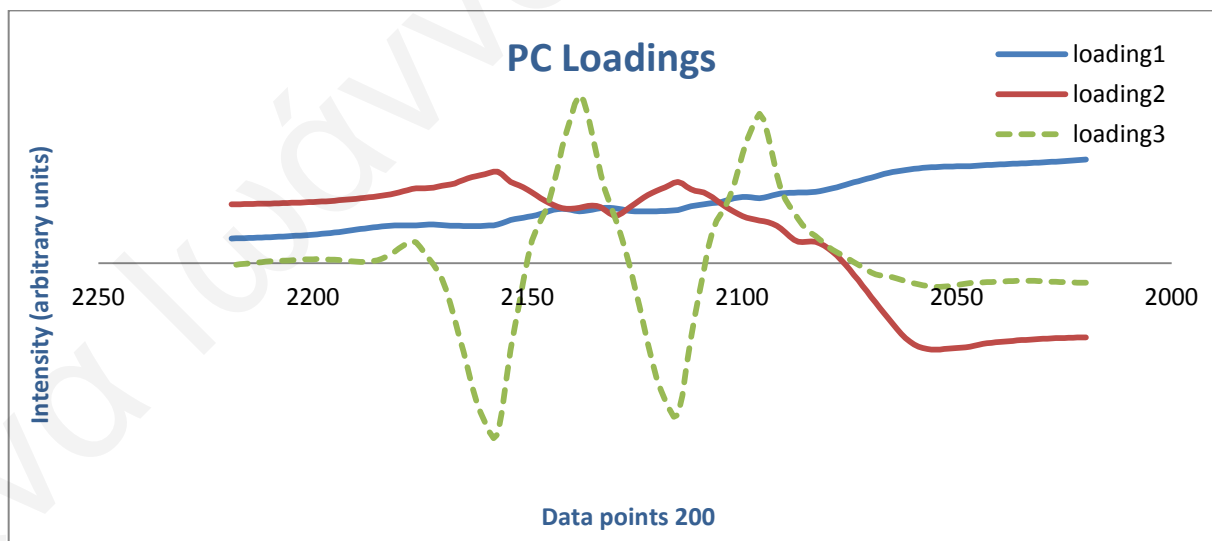


Σχήμα 6.3.9: Το αθροιστικό ποσοστό των μεταβλητών με τον αριθμό των κύριων συνιστωσών χρησιμοποιώντας μέθοδο συνδιακύμανσης — και μέθοδο συσχέτισης —

Στο διάγραμμα σκέδασης της πρώτης και τρίτης κύριας συνιστώσας (Σχήμα 6.3.10), παρατηρείται συσσώρευση της ομάδας των Κουμανδαριών. Από το διάγραμμα σύγκρισης των φορτίων (Σχήμα 6.3.11) φαίνεται στο τρίτο φορτίο ότι η διάκριση της ομάδας των Κουμανδαριών οφείλεται στις χημικές μετατοπίσεις 4.65 και 4.68 ppm (double) οι οποίες οφείλονται σε β -γλυκόζη (Σχήμα 6.3.7).



Σχήμα 6.3.10: Διάγραμμα σκέδασης ως προς τον 1^ο και 3^ο κύριο άξονα που προέκυψαν από την ανάλυση κύριων συνιστωσών (PCA,Covariance Method)



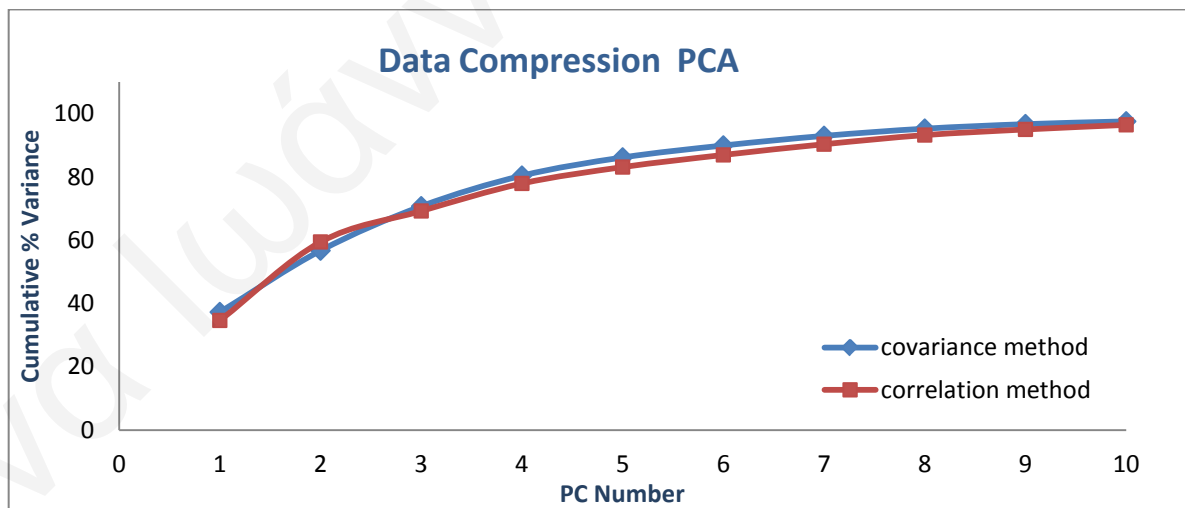
Σχήμα 6.3.11: Διάγραμμα σύγκρισης φορτίων, όπως προέκυψαν από την ανάλυση κύριων συνιστωσών για 200 μεταβλητές / σημεία (PCA,Covariance Method)

Κεφάλαιο 6: Χημειομετρική Ανάλυση Φασματοσκοπικών Δεδομένων, ¹H -NMR

Η εφαρμογή χημειομετρικής Ανάλυσης Κύριων Συνιστωσών σε περιοχή φάσματος ¹H-NMR 5.2- 5.3 ppm, με 196 μεταβλητές/ σημεία (Σχήμα 6.3.7), εξήγησε το σύνολο των πληροφοριών σε τρεις κύριες συνιστώσες και είχε επιτυχία με αθροιστικό ποσοστό διακύμανσης 70.78%, όπως δίνεται στον πίνακα 6.3.5 και στο Σχήμα 6.3.12.

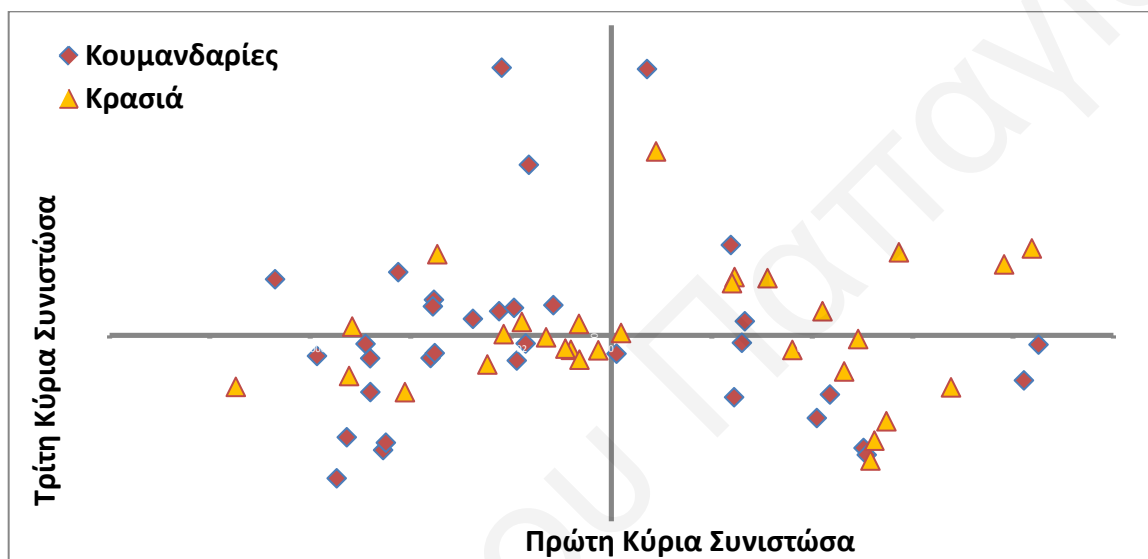
Πίνακας 6.3.5: Αθροιστική διακύμανση κύριων συνιστωσών (Covariance Method)

Κύρια Συνιστώσα	% Διακύμανση	Αθροιστικό ποσοστό διακύμανσης
1	37.33	37.33
2	19.45	56.78
3	14.00	70.78
4	9.68	80.45
5	5.76	86.21
6	3.78	89.99
7	3.04	93.03
8	2.29	95.31
9	1.42	96.74
10	0.89	97.62

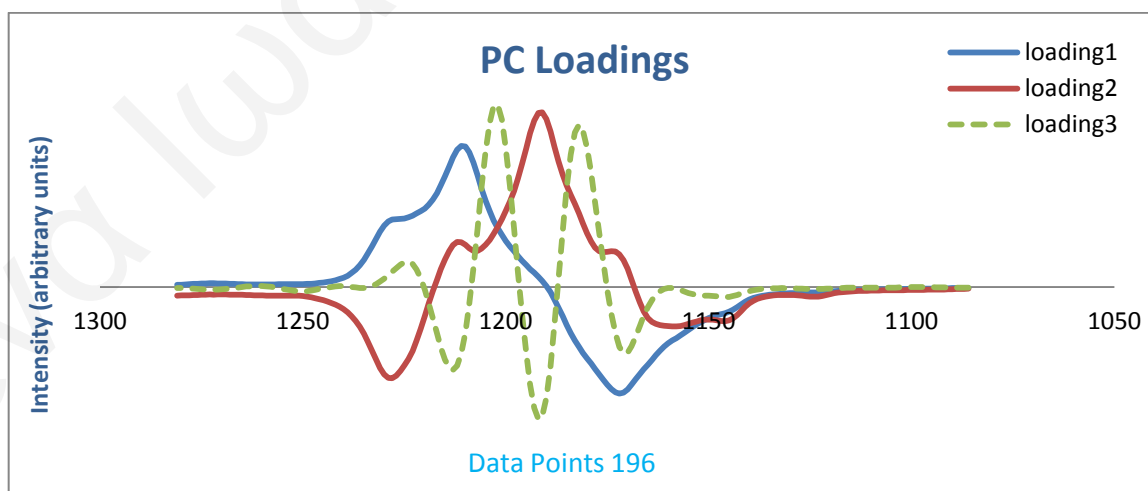


Σχήμα 6.3.12: Το αθροιστικό ποσοστό των μεταβλητών με τον αριθμό των κύριων συνιστωσών χρησιμοποιώντας μέθοδο συνδιακύμανσης — και μέθοδο συσχέτισης —

Στο διάγραμμα σκέδασης της πρώτης και τρίτης κύριας συνιστώσας δε γίνεται σωστή διάκριση της ομάδας των Κουμανδαριών από την ομάδα των κρασιών (Σχήμα 6.1.3). Στο διάγραμμα σύγκρισης των τριών φορτίων τα οποία προκύπτουν από την Ανάλυση των Κύριων Συνιστωσών, με τη μέθοδο συνδιακύμανσης, γίνεται ξεκάθαρο ότι ο λόγος διάκρισης των ομάδων στο τρίτο φορτίο είναι οι χημικές μετατοπίσεις στα 5.25 και 5.26 ppm (Σχήμα 6.3.14) οι οποίες οφείλονται σε α-γλυκόζη (double).



Σχήμα 6.3.13: Διάγραμμα σκέδασης ως προς τον 1^ο και 3^ο κύριο άξονα που προέκυψαν από την ανάλυση κύριων συνιστωσών (PCA,Covariance Method)



Σχήμα 6.3.14: Διάγραμμα σύγκρισης φορτίων όπως προέκυψαν από την ανάλυση κύριων συνιστωσών για 196 μεταβλητές / σημεία (PCA,Covariance Method)

Κεφάλαιο 6: Χημειομετρική Ανάλυση Φασματοσκοπικών Δεδομένων, ¹H -NMR

Η Γραμμική Διάκριση των ομάδων μετά την Ανάλυση των Κύριων Συνιστωσών κατέταξε την ομάδα των Κουμανδαριών σε ξεχωριστή ομάδα με επιτυχία 74% (Πίνακας 6.3.6) κατατάσσοντας σε λάθος ομάδα εννέα Κουμανδαρίες σε σύνολο 34. Οι Κουμανδαρίες που αποτυγχάνουν είναι πέντε μη ενδυναμωμένες Κουμανδαρίες (Κ4, Κ6, Κ13, Κ14, Κ15), μία ενδυναμωμένη (Κ22) και τρεις Κουμανδαρίες του εμπορίου (Κ27, Κ33, Κ34).

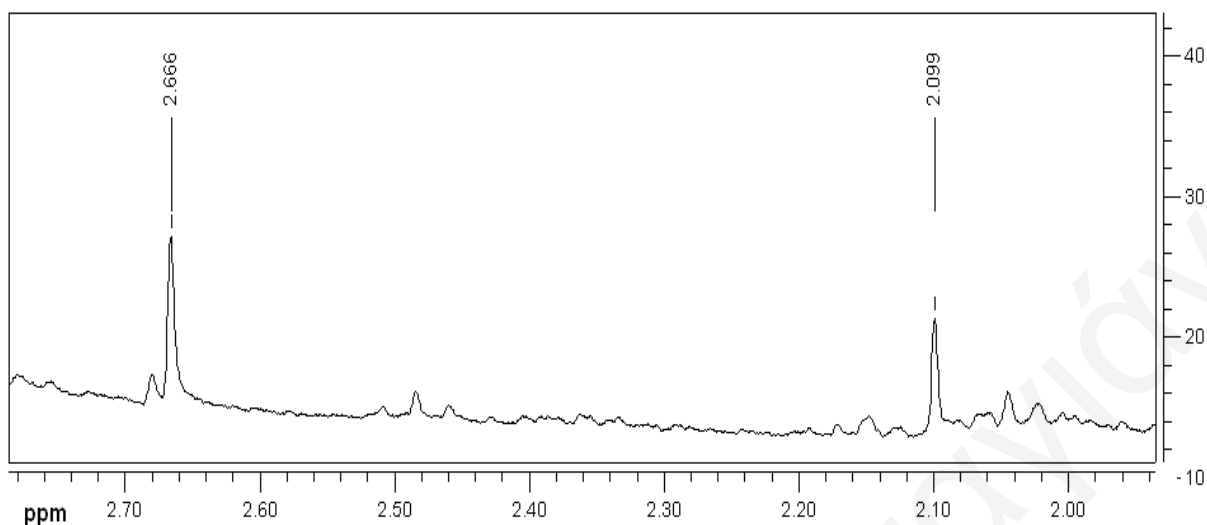
Πίνακας 6.3.6: Γραμμική Διακριτική Ανάλυση, βάση της Ευκλείδειας απόστασης

α/α	Παρατήρηση	Απόσταση από 1 ^η ομάδα	Απόσταση από 2 ^η ομάδα	Προβλεπόμενη ομάδα	
1	K1	4.00E-04	6.36E-04	1	Correct
2	K2	5.44E-04	7.18E-04	1	Correct
3	K3	2.70E-04	5.06E-04	1	Correct
4	K4	3.62E-04	2.37E-04	2	Incorrect
5	K5	2.63E-04	4.04E-04	1	Correct
6	K6	5.96E-04	4.05E-04	2	Incorrect
7	K7	4.77E-04	4.82E-04	1	Correct
8	K8	4.46E-04	5.46E-04	1	Correct
9	K9	1.59E-04	3.39E-04	1	Correct
10	K10	3.15E-04	3.57E-04	1	Correct
11	K11	3.36E-04	5.20E-04	1	Correct
12	K12	5.02E-04	7.38E-04	1	Correct
13	K13	6.37E-04	5.41E-04	2	Incorrect
14	K14	4.35E-04	3.86E-04	2	Incorrect
15	K15	5.25E-04	3.65E-04	2	Incorrect
16	K16	1.12E-04	1.45E-04	1	Correct
17	K17	4.41E-04	6.76E-04	1	Correct
18	K18	3.05E-04	4.77E-04	1	Correct
19	K19	3.81E-04	5.98E-04	1	Correct
20	K20	3.81E-04	4.37E-04	1	Correct
21	K21	3.25E-04	5.43E-04	1	Correct
22	K22	7.30E-04	6.36E-04	2	Incorrect
23	K23	3.81E-04	6.10E-04	1	Correct
24	K24	4.24E-04	6.58E-04	1	Correct
25	K25	7.40E-04	6.46E-04	2	Incorrect
26	K26	3.72E-04	5.59E-04	1	Correct
27	K27	4.00E-04	1.63E-04	2	Incorrect
28	K28	4.41E-04	6.16E-04	1	Correct
29	K29	6.34E-04	8.07E-04	1	Correct
30	K30	3.47E-04	5.18E-04	1	Correct
31	K31	2.77E-04	4.37E-04	1	Correct
32	K32	2.74E-04	5.11E-04	1	Correct
33	K33	1.13E-03	8.93E-04	2	Incorrect
34	K34	1.14E-03	9.13E-04	2	Incorrect

Πίνακας 6.3.6 (Συνέχεια): Γραμμική Διακριτική Ανάλυση, βάση της Ευκλείδειας απόστασης

α/α	Παρατήρηση	Απόσταση από 1 ^η ομάδα	Απόσταση από 2 ^η ομάδα	Προβλεπόμενη ομάδα	
35	W1	6.70E-04	5.34E-04	2	Correct
36	W2	3.45E-04	3.83E-04	1	Incorrect
37	W3	8.05E-04	6.37E-04	2	Correct
38	W4	8.06E-04	6.03E-04	2	Correct
39	W5	1.11E-04	1.80E-04	1	Incorrect
40	W6	6.49E-04	4.88E-04	2	Correct
41	W7	1.09E-03	8.54E-04	2	Correct
42	W8	4.16E-04	2.44E-04	2	Correct
43	W9	7.08E-04	4.73E-04	2	Correct
44	W10	1.06E-03	8.25E-04	2	Correct
45	W11	1.66E-04	3.31E-04	1	Incorrect
46	W12	3.47E-04	1.57E-04	2	Correct
47	W13	3.87E-04	3.02E-04	2	Correct
48	W14	2.05E-04	3.64E-04	1	Incorrect
49	W15	3.65E-04	5.89E-04	1	Incorrect
50	W16	4.04E-04	6.35E-04	1	Incorrect
51	W17	4.62E-04	2.62E-04	2	Correct
52	W18	2.94E-04	3.49E-04	1	Incorrect
53	W19	6.03E-04	3.77E-04	2	Correct
54	W20	7.45E-04	6.77E-04	2	Correct
55	W21	4.82E-04	5.14E-04	1	Incorrect
56	W22	1.95E-04	2.20E-04	1	Incorrect
57	W23	1.62E-04	1.89E-04	1	Incorrect
58	W24	3.01E-04	2.42E-04	2	Correct
59	W25	2.96E-04	2.00E-04	2	Correct
60	W26	2.51E-04	2.90E-04	1	Incorrect
61	W27	7.08E-04	5.73E-04	2	Correct
62	W28	6.29E-04	7.36E-04	1	Incorrect
63	W29	4.70E-04	6.48E-04	1	Incorrect
64	W30	8.88E-04	1.01E-03	1	Incorrect

Η χημειομετρική Ανάλυση Κύριων Συνιστωσών με τη μέθοδο της συνδιακύμανσης, μιας άλλης περιοχής φάσματος ¹H-NMR 2- 2.8 ppm, η οποία αντιστοιχεί σε 1576 μεταβλητές/σημεία (Σχήμα 6.3.15), εξηγεί τις πληροφορίες των φασματοσκοπικών δεδομένων με αθροιστικό ποσοστό διακύμανσης της πρώτης και της δεύτερης κύριας συνιστώσας 76.44% (Πίνακας 6.3.7).

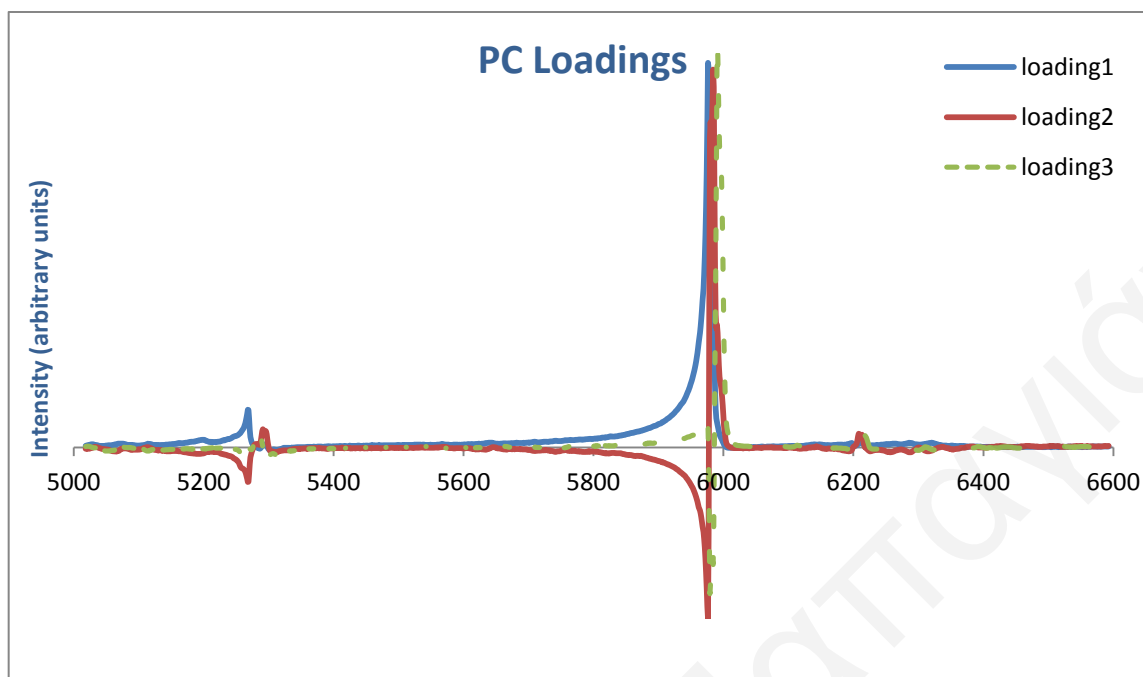


Σχήμα 6.3.15: Τυπικό φάσμα ^1H -NMR συμπυκνωμένης Κουμανδαρίας μετά από ροή αζώτου, σε περιοχή 2-2.8 ppm

Πίνακας 6.3.7: Αθροιστική διακύμανση κύριων συνιστωσών (Covariance Method)

Κύρια Συνιστώσα	% Διακύμανση	Αθροιστικό ποσοστό διακύμανσης
1	54.04	54.04
2	22.40	76.44
3	12.51	88.94
4	3.96	92.90
5	1.76	94.66
6	1.50	96.16
7	0.79	96.95
8	0.60	97.55
9	0.40	97.95
10	0.32	98.28

Στο διάγραμμα σύγκρισης των τριών φορτίων (Σχήμα 6.3.16) τα οποία προκύπτουν από την Ανάλυση των Κύριων Συνιστωσών σε περιοχή φασματικών δεδομένων 2- 2.8 ppm, ο λόγος διάκρισης των ομάδων είναι οι χημικές μετατοπίσεις 2.1 και 2.6 ppm οι οποίες οφείλονται σε αλειφατικές ενώσεις (Σχήμα 6.3.15).



Σχήμα 6.3.16: Διάγραμμα σύγκρισης φορτίων, όπως προέκυψαν από την ανάλυση κύριων συνιστωσών για 1576 μεταβλητές/ σημεία (PCA, Covariance Method)

ΓΕΝΙΚΟ ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑ

Κάθε ένωση δίνει πλήθος χημικών μετατοπίσεων στο ^1H -NMR φάσμα, έτσι σε ένα φυσικό προϊόν όπως το κρασί είναι αρκετά δύσκολο να γίνουν διακριτές όλες οι χημικές μετατοπίσεις των συστατικών του και ακόμη πιο δύσκολο να χαρακτηριστούν, αφού πολλά από αυτά επικαλύπτονται. Η διάκριση της ομάδας των Κουμανδαριών μελετώντας χημειομετρικά τα δεδομένα των φασμάτων ^1H -NMR, δεν έφτασε το ποσοστό επιτυχίας της κατάταξης των φασμάτων FTIR.

6.3 Βιβλιογραφία

- [1] E.K. Kemsley, «Discriminant Analysis and Class Modeling of Spectroscopy Data», J.Wiley & Sons, 1998
- [2] J.N.Miller & J.C. Miller, «Statistics and Chemometrics for Analytical Chemistry», Fourth Edition 2000
- [3] E.K. Kemsley, Discriminant analysis of high-dimensional data: a comparison of principal components analysis and partial least squares data reduction methods, Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems, 1996, 33, 47-61
- [4] L.Eriksson, E.Johansson, N. Kettaneh-Wold, S.Wold, «Multi- and Megavariate Data Analysis, Principles and Applications», Umetrics Academy 2001
- [5] V.Wold, Principal Component Analysis, Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems, 1987, 2, 37-52
- [6] Ρ.Κοκκινόφτα Διογένους «Αυθεντικότητα του Παραδοσιακού Κυπριακού Ποτού Ζιβανία», Διδακτορική Διατριβή, Πανεπιστήμιο Κύπρου, Λευκωσία 2003
- [7] E. Ioannou-Papayianni, R. I. Kokkinofta, C. R. Theocharis, Authenticity of Cypriot Sweet Wine Commandaria Using FT-IR and Chemometrics, Journal of Food Science, 2011, 76, Issue 3, C420-C427
- [8] I.J. Kosir, J. Kidric, Identification of Amino Acids in Wines by One- and Two-Dimensional Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy, Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2001, 49, 50-56
- [9] E.H. Soufleros, E. Bouloumpasi, C. Tsarchopoulos, C.G. Biliaderis, Primary amino acid profiles of Greek white wines and their use in classification according to variety, origin and vintage, Food Chemistry, 2003, 80, 261–273
- [10] I.J. Kosir, NMR Study of Beverages, Annual Reports on NMR Spectroscopy, 2008, 64, 161-171
- [11] J.Saurina, Characterization of wines using compositional profiles and chemometrics, Trends in Analytical Chemistry, 2010, 29, 234-245
- [12] N. Ogrinc, K.Bat, I.J. Košir, T. Golob, R. I. Kokkinofta, Characterization of Commercial Slovenian and Cypriot Fruit Juices Using Stable Isotopes, Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2009, 57, 6764-6769

- [13] N. Ogrinc, I. J. Košir, J. E. Spangenberg, J. Kidrič, The application of NMR and MS methods for detection of adulteration of wine, fruit juices, and olive oil. A review, *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 2003, 376, 424–430
- [14] S.Kallithraka, A.Mamalos, D. P. Makris, Differentiation of Young Red Wines Based on Chemometrics of Minor Polyphenolic Constituents *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2007, 55, 3233-3239
- [15] S.Kallithraka, I.S.Arvanitoyannis, P.Kefalas, A.El-Zajouli, E.Soufleros, E.Psara, Instrumental and sensory analysis of Greek wines; implementation of principal component analysis (PCA) for classification according to geographical origin, *Food Chemistry*, 2001, 73, 501-514
- [16] I.S.Arvanitoyannis, M.N.Katsota, E.P.Psarra, E.H.Soufleros, S. Kallithraka, Application of quality control methods for assessing wine authenticity: Use of multivariate analysis (chemometrics), *Trends in Food Science & Technology*, 1999, 10, 321-336
- [17] André de Villiers, P. Majek, F. Lynen, A.Crouch, H. Lauer, P. Sandra, Classification of South African red and white wines according to grape variety based on the non-coloured phenolic content, *European Food Research and Technology*, 2005, 221, 520-528
- [18] E.H. Soufleros, A. S. Mygdalia, P. Natskoulis, Characterization and safety evaluation of the traditional Greek fruit distillate “Mouro” by flavor compounds and mineral analysis, *Food Chemistry*, 2004, 86, 625-636
- [19] DU, Yuan- Yuan, BAI, Guo-Yun, ZHANG, Xu, Liu, Mai-Li, Classification of Wines Based on Combination of ¹H NMR Spectroscopy and Principal Component Analysis, *Chinese Journal of Chemistry*, 2007, 25, 930-936
- [20] D. Granato, F.C.U. Katayama, I.A. Castro, Assessing the association between phenolic compounds and the antioxidant activity of Brazilian red wines using chemometrics, *Food Science and Technology*, 2010, 43, 1542-1549
- [21] M.A.Brescia, V.Caldarola, A.De Giglio, D.Benedetti, F.P.Fanizzi, A.Sacco, Characterization of the geographical origin of Italian red wines based on traditional and nuclear magnetic resonance spectrometric determinations, *Analytica Chimica Acta*, 2002, 458, 177–186
- [22] F.M. Amaral, M. S.B. Caro, Investigation of different pre-concentration methods for NMR analyses of Brazilian white wine, *Food Chemistry*, 2005, 93, 507–510

- [23] M. Nilsson, I.F. Duarte, C. U. Almeida, I. Delgadillo, B. J. Goodfellow, A.M. Gil, G.A.Morris, High-Resolution NMR and Diffusion-Ordered Spectroscopy of Port Wine, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2004, 52, 3736-3743
- [24] I. J. Košir, J. Kidrič, Use of modern nuclear magnetic resonance spectroscopy in wine analysis: determination of minor compounds, *Analytica Chimica Acta*, 2002, 458, 77–84
- [25] J. T. W. E. Vogels, L. Terwel, A. C. Tas, Frans van den Berg, F. Dukel, Jan van der Greef, Detection of Adulteration in Orange Juices by a New Screening Method Using Proton NMR Spectroscopy in Combination with Pattern Recognition Techniques, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 1996, 44, 175-180
- [26] J. E. Gimenez- Miralles, D.M. Salazar, I. Solana, Regional Origin Assignment of Red Wines from Valencia (Spain) by ^2H NMR and ^{13}C IRMS Stable Isotope Analysis of Fermentative Ethanol, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 1999, 47, 2645-2652
- [27] G. E. Pereira, J.-P. Gaudillere, C. van Leeuwen, G. Hillbert, O. Laviell, M. Maucourt, C. Deborde, A. Moing, D. Rolin, ^1H -NMR and Chemometrics to characterize mature grape berries in four wine- growing areas in Bordeaux, France, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2005, 53, 6382-6389
- [28] G. E. Pereira, J.-P. Gaudillere, P.Pieri, G. Hillbert, M. Maucourt, C. Deborde, A. Moing, D. Rolin, Microclimate Influence on Mineral and Metabolic Profiles of Grape Berries, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2005, 54, 6765-6775
- [29] M. A. Brecia, I.J. Košir, V. Caldarola, J. Kidrič, A. Sacco, Chemometric Classification of Apulian and Slovenian Wines Using ^1H NMR and ICP-OES Together with HPICE Data, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2003, 51, 21-26
- [30] P. S. Belton, I. Delgadillo, E. Holmes, A. Nicholls, J. K. Nicholson, M. Spraul, Use of High- Field ^1H NMR Spectroscopy for the analysis of Liquid Foods, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 1996, 44, 1483-1487
- [31] R.Consonni, A.Gatti, ^1H NMR Studies on Italian Balsamic and Traditional Balsamic Vinegar, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2004, 52, 3446-3450
- [32] A.P.Sobolev, A.Segre, R.Lamanna, Proton high-field NMR study of tomato juice, *Magnetic Resonance in Chemistry*, 2003, 14, 237-245
- [33] E. Falque, E. Fernandez, D. Dubourdieu, Differentiation of white wines by their aromatic index, *Talanta*, 2001, 54, 271–281

7. Συμπεράσματα

Η Κουμανδαρία είναι το παραδοσιακό ποτό της Κύπρου, ο πρώτος οίνος με ονομασία προέλευσης και είναι από τα λίγα κρασιά που εξακολουθεί να παρασκευάζεται με τις ίδιες παραδοσιακές μεθόδους και συνταγές που άντεξαν στην πάροδο των χρόνων. Η αυθεντικότητα της Κουμανδαρίας οφείλεται στη γεωγραφική της προέλευση, τις κλιματολογικές συνθήκες, τις ποικιλίες σταφυλιών που χρησιμοποιούνται, τη διαδικασία παραγωγής και άλλα ενώ ο χαρακτηρισμός της βασίζεται στη χημική της σύσταση.

Ο στόχος της ερευνητικής αυτής εργασίας είναι η ανάπτυξη μεθόδων προσδιορισμού και αξιοποίησης στατιστικών τεχνικών ικανών στον εντοπισμό των ιδιαίτερων χαρακτηριστικών, ώστε να διαχωρίσουν την Κουμανδαρία από άλλα κρασιά κυπριακά και ξένα.

Αναπτύχθηκε η καινοτόμος μεθοδολογία της μέτρησης φασμάτων FTIR και ¹H-NMR, σε δείγματα Κουμανδαρίας και άλλων κρασιών κυπριακών και ξένων, συμπυκνωμένα μετά από λυοφιλίωση και ροή αζώτου.

Η Ανάλυση των Κύριων Συνιστωσών στα φάσματα FTIR των *λυοφιλιωμένων* δειγμάτων με χημειομετρικές τεχνικές ταξινόμησε επιτυχώς τις Κουμανδαρίες σε ξεχωριστή ομάδα με αθροιστικό ποσοστό διακύμανσης της πρώτης και δεύτερης κύριας συνιστώσας, 88.70% σε ολόκληρη την περιοχή φάσματος και 933 δεδομένα. Σε μικρότερη περιοχή φάσματος, 669 δεδομένα, το ποσοστό διακύμανσης της πρώτης κύριας συνιστώσας είναι 83.94% και το αθροιστικό ποσοστό διακύμανσης της πρώτης και δεύτερης κύριας συνιστώσας είναι 92.8%. Η χημειομετρική Ανάλυση Κύριων Συνιστωσών σε 346 φασματοσκοπικά δεδομένα έδωσε καλύτερη διάκριση της ομάδας των Κουμανδαριών με τη συνεισφορά των δύο κύριων συνιστωσών να φτάνει το 91.5%. Στα ίδια επίπεδα κυμαίνεται και η συνεισφορά των δύο κύριων συνιστωσών για μόνο 141 δεδομένα, 92.8%.

Η Γραμμική Διακριτική Ανάλυση των Κουμανδαριών, υπολογίζοντας την Ευκλείδεια απόσταση σε δύο κύριες συνιστώσες, είχε επιτυχή ταξινόμηση 94% κάνοντας χρήση 933 φασματοσκοπικών δεδομένων, με μόνο δύο δείγματα Κουμανδαρίας να μην κατατάσσονται στην ομάδα. Τα δείγματα ήταν Κουμανδαρίες εμπορίου (K33, K34).

Η διάκριση της ομάδας των Κουμανδαριών οφείλεται στις χαρακτηριστικές απορροφήσεις της ομάδας των σακχάρων, στα φάσματα FTIR, όπως καθορίζεται και από το διάγραμμα των φορτίων της Ανάλυσης των Κύριων Συνιστωσών.

Η Ανάλυση των Κύριων Συνιστωσών στα φασματοσκοπικά δεδομένα FTIR των δειγμάτων μετά από *ροή αζώτου* με χημειομετρικές τεχνικές ταξινόμησε τις Κουμανδαρίες σε ξεχωριστή ομάδα με ποσοστό επιτυχίας 85% σε ολόκληρη την περιοχή φάσματος, 935 δεδομένα, και με τη συνεισφορά μόνο της πρώτης κύριας συνιστώσας. Σε μικρότερη περιοχή φάσματος και σύνολο αρχικών δεδομένων 667, το ποσοστό διακύμανσης της πρώτης κύριας συνιστώσας είναι 93.3% με περιοχή φάσματος 500-1900 cm^{-1} ενώ 279 δεδομένα με ποσοστό διακύμανσης της πρώτης κύριας συνιστώσας 95.47%.

Η Γραμμική Διακριτική Ανάλυση των Κουμανδαριών υπολογίζοντας την Ευκλείδεια απόσταση σε δύο κύριες συνιστώσες, είχε επιτυχή ταξινόμηση 79% κάνοντας χρήση 279 από τα φασματοσκοπικά δεδομένα. Από τα 34 δείγματα Κουμανδαρίας, τα 7 που δεν κατατάχθηκαν στην ομάδα ήταν τέσσερις μη ενδυναμωμένες Κουμανδαρίες (K11, K12, K13, K16) και τρεις Κουμανδαρίες εμπορίου (K26, K31, K32).

Η διάκριση της ομάδας των Κουμανδαριών επιβεβαιώνεται ότι οφείλεται στις χαρακτηριστικές απορροφήσεις της ομάδας των σακχάρων, στα φάσματα FTIR των συμπυκνωμένων δειγμάτων μετά από *ροή αζώτου*.

Η χημειομετρική ανάλυση των φασματοσκοπικών δεδομένων (253 δεδομένα) με τη χρήση του στατιστικού λογισμικού SCAN σε *λυοφιλιωμένα* δείγματα, με την τεχνική των Δένδρων Ταξινόμησης και Παλινδρόμησης (CART) μετά από Ανάλυση Κύριων Συνιστωσών, ταξινόμησε την ομάδα των Κουμανδαριών με επιτυχία 88%. Η διασταυρωτική επιβεβαίωση (cross-validation) του μοντέλου έγινε με επιτυχία 84% για την ομάδα των Κουμανδαριών και 100% για την ομάδα των κυπριακών κρασιών.

Τα συμπυκνωμένα δείγματα με *ροή αζώτου* ταξινομήθηκαν σε συστάδες μετά από Ιεραρχική Ανάλυση Συστάδων με σημαντικότερη μεταβλητή τις χαρακτηριστικές απορροφήσεις των σακχάρων. Η δόμηση του μοντέλου με Δένδρα Ταξινόμησης και Παλινδρόμησης (CART) για την ομάδα των Κουμανδαριών είχε ποσοστό πρόβλεψης 100% και για τις Κουμανδαρίες εμπορίου 100%. Η διασταυρωτική επιβεβαίωση (cross-validation) του μοντέλου στην κατάταξη των άγνωστων δειγμάτων για την ομάδα των Κουμανδαριών

είχε ποσοστό ορθής πρόβλεψης 72% και για τις Κουμανδαρίες εμπορίου 77.8%. Η Ομαλοποιημένη Διακριτική Ανάλυση (RDA) έδωσε εξίσου ικανοποιητικά αποτελέσματα. Ταξινόμησε τις Κουμανδαρίες σε μια ομάδα με επιτυχία 92% (12.25% σφάλμα) και η διασταυρωτική επιβεβαίωση (cross-validation) του μοντέλου κατά την ταξινόμηση άγνωστων δειγμάτων είχε ορθή πρόβλεψη 80%.

Η επεξεργασία των φασματοσκοπικών δεδομένων $^1\text{H-NMR}$ των δειγμάτων με χημειομετρικές τεχνικές κατέταξε τις Κουμανδαρίες χωρίς καμία συμπύκνωση σε ομάδα με ποσοστό επιτυχίας μόνο 71% με τη βοήθεια της Ευκλείδειας απόστασης για δύο κύριες συνιστώσες. Το αθροιστικό ποσοστό διακύμανσης της 1^{ης} και 2^{ης} κύριας συνιστώσας ήταν 75%.

Το αθροιστικό ποσοστό διακύμανσης της πρώτης και δεύτερης κύριας συνιστώσας σε λλοφιλιωμένα δείγματα, σε όλη την περιοχή φάσματος και σύνολο αρχικών δεδομένων 6889 ήταν μόνο 68.1% ενώ είναι απαραίτητη και η 3^η συνιστώσα, ώστε το ποσοστό να φτάσει τελικά το 78.5%. Για λιγότερες μεταβλητές περίπου 1160, το αθροιστικό ποσοστό διακύμανσης της πρώτης και δεύτερης κύριας συνιστώσας είναι 72.2%. Οι χαρακτηριστικές χημικές μετατοπίσεις της β-γλυκόζης (4.67 και 4.64 ppm) ταξινόμησαν την ομάδα των Κουμανδαριών με ποσοστό επιτυχίας 82%. Μόνο έξι δείγματα δεν κατατάχθηκαν σωστά με τη βοήθεια της Ευκλείδειας απόστασης κατά τη Γραμμική Διακριτική Ανάλυση. Οι χαρακτηριστικές χημικές μετατοπίσεις της α-γλυκόζης (5.25 και 5.27 ppm) χρειάστηκαν τη συνεισφορά τριών κύριων συνιστωσών ώστε το σύνολο της πληροφορίας να έχει ποσοστό επιτυχίας 81.2%. Χρειάστηκε η πρώτη κύρια συνιστώσα κατά την Ανάλυση Κύριων Συνιστωσών στην περιοχή 2-2.8 ppm (1479 μεταβλητές) για να χαρακτηρίσει την ομάδα των Κουμανδαριών με επιτυχία 70.3%.

Για να φτάσει ποσοστό συνδιακύμανσης 83% σε συμπυκνωμένα δείγματα με *ροή αζώτου*, σε όλη την περιοχή φάσματος και σύνολο αρχικών δεδομένων 6996 είναι απαραίτητη η 3^η συνιστώσα. Για λιγότερες μεταβλητές, περίπου 1136, το αθροιστικό ποσοστό διακύμανσης της πρώτης και δεύτερης κύριας συνιστώσας είναι 77.2%. Οι χαρακτηριστικές χημικές μετατοπίσεις της β-γλυκόζης (4.67 και 4.64 ppm) ταξινόμησαν την ομάδα των Κουμανδαριών με ποσοστό επιτυχίας 76.8%, με απαραίτητη μόνο την πρώτη κύρια συνιστώσα. Οι χαρακτηριστικές χημικές μετατοπίσεις της α-γλυκόζης (5.25 και 5.27 ppm) χρειάστηκαν συνεισφορά από τρεις κύριες συνιστώσες ώστε το σύνολο της πληροφορίας να

έχει ποσοστό επιτυχίας 70.8%, ενώ με τη βοήθεια της Ευκλείδειας απόστασης κατά τη Γραμμική Διακριτική Ανάλυση, η ομάδα των Κουμανδαριών ταξινομήθηκε με επιτυχία 74%. Χρειάστηκε η δεύτερη κύρια συνιστώσα κατά την Ανάλυση Κύριων Συνιστωσών στην περιοχή 2-2.8 ppm (1576 μεταβλητές), για να χαρακτηρίσει την ομάδα των Κουμανδαριών με επιτυχία 76.4%.

Μέσα από την έρευνα αυτής της διατριβής αποδεικνύεται ότι η πολυπλοκότητα της σύστασης της Κουμανδαρίας απαιτεί στατιστική επεξεργασία των φασματοσκοπικών δεδομένων, ώστε να επιτευχθεί επιτυχής διάκριση της ομάδας των Κουμανδαριών από άλλα κρασιά κυπριακά και ξένα.

Καταλήγουμε σε καλύτερα συμπεράσματα, με χρήση της τεχνικής συμπίκνωσης των δειγμάτων με ροή αζώτου η οποία φαίνεται να υπερέχει της λυοφιλίωσης στα φάσματα υπερύθρου FTIR.

ΣΥΝΤΟΜΟΓΡΑΦΙΕΣ

CA	Cluster Analysis
CART	Classification and Regression Trees
CDA	Canonical Discriminant Analysis (Κανονική Διακριτική Ανάλυση)
DA	Discriminant Analysis (Διακριτική ή Διαχωριστική Ανάλυση)
FTIR	Fourier Transform Infrared Spectroscopy (Φασματοσκοπία υπερύθρου μετασχηματισμού Fourier)
GC	Gas Chromatography (Αέρια χρωματογραφία)
HCA	Hierarchical Cluster Analysis (Ιεραρχική Ανάλυση κατά Συστάδες)
HPLC	High performance liquid chromatography (Υγρή χρωματογραφία υψηλής απόδοσης)
ICP	Inductively couple plasma (Επαγωγικά συζευγμένο πλάσμα)
LDA	Linear Discriminant Analysis (Γραμμική Διακριτική Ανάλυση)
NMR	Nuclear Magnetic Resonance (Πυρηνικός μαγνητικός συντονισμός)
Ο.Ε.Ο.Π.	Όινοσ Ελεγχόμενης Ονομασίας Προέλευσης
PC	Principal Component (Κύρια Συνιστώσα)
PCA	Principal Component Analysis (Ανάλυση Κύριων Συνιστωσών)
PLS	Partial Least Squares Analysis (Ανάλυση Μερικών Ελάχιστων Τετραγώνων)
ppm	parts per million (μέρη ανά εκατομμύριο)
QDA	Quadratic Discriminant Analysis (Τετραγωνική Διακριτική Ανάλυση)
RDA	Regularized Discriminant Analysis (Ομαλοποιημένη Διακριτική Ανάλυση)
SCAN	Software for Chemometrics ANalysis
SIMCA	Soft Independent Modeling of Class Analogy
TLC	Thin layer chromatography (Χρωματογραφία λεπτής στοιβάδας)
UNEQ	UNEQual dispersed classes
UV	Ultraviolet radiation (Υπεριώδης ακτινοβολία)
WinDas	Windows Discriminant Analysis Software