

“Βιοδράσεις και πτητικές ενώσεις ελληνικών μελιών”

ΙΩΑΝΝΙΝΑ 2024

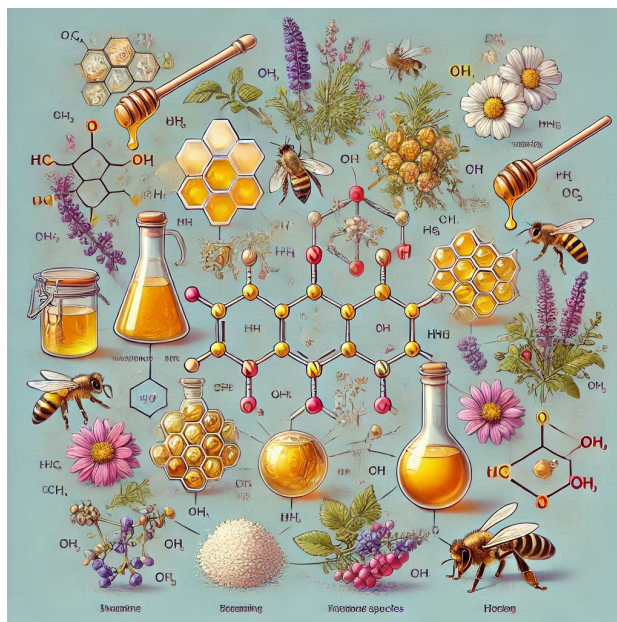


ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ
ΤΜΗΜΑ ΧΗΜΕΙΑΣ
ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΧΗΜΕΙΑΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ
ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ ΣΤΗ ΧΗΜΕΙΑ
Κατεύθυνση: Αναλυτική Χημεία, Χημεία και Τεχνολογία Περιβάλλοντος και
Τροφίμων

Μεταπτυχιακή εργασία

“Βιοδράσεις και πτητικές ενώσεις ελληνικών μελιών”

Νεφέλη Γ. Ιωάννου
Χημικός



Επιβλέπων Καθηγητής: Ιωάννης Ρούσσης

ΙΩΑΝΝΙΝΑ 2024

ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Τα τελευταία χρόνια, η έρευνα στον τομέα της αποτίμησης βιοδράσεων των τροφίμων έχει γνωρίσει αλματώδη ανάπτυξη, καθώς η επιστημονική κοινότητα αναζητά τρόπους να κατανοήσει καλύτερα τη σύνδεση μεταξύ της διατροφής και της ανθρώπινης υγείας. Το μέλι αποτελεί μία ιδιαίτερα ενδιαφέρουσα επιλογή για τέτοιου είδους μελέτες, κυρίως λόγω των σημαντικών αντιοξειδωτικών του ιδιοτήτων, οι οποίες έχουν καταγραφεί εκτενώς στη βιβλιογραφία. Ακόμα η έντονη ζήτηση του από τους καταναλωτές λόγω των ευεργετικών του ιδιοτήτων, καθιστά επιτακτική την ανάγκη ταυτοποίησης της αυθεντικότητάς του μέσω γρήγορων και ακριβών μεθόδων, όπως ο προσδιορισμός πτητικών ενώσεων-δεικτών. Έτσι η παρούσα μεταπτυχιακή εργασία επικεντρώνεται αφενός στην αποτίμηση της αντιοξειδωτικής δράσης, των βιοδράσεων εκκαθάρισης ριζών υδροξυλίου και αντιφλεγμονώδους δράσης, και τον προσδιορισμό των επιπέδων πρωτεϊνών, διαφορετικών μελιών της Ελληνικής υπαίθρου με *in vitro* μεθόδους, και αφετέρου στον ημιποσοτικό προσδιορισμό των πτητικών ενώσεων τους με την τεχνική Μικροεκχύλισης Στερεάς Φάσης (SPME) με Αέρια Χρωματογραφία Μάζας (GC-MS).

Η μεταπτυχιακή αυτή εργασία εκπονήθηκε στο Εργαστήριο Χημείας Τροφίμων του Τμήματος Χημείας του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων κατά το ακαδημαϊκό έτος 2023-2024. Η ανάθεση του θέματος και η επίβλεψη της διπλωματικής εργασίας έγινε από τον Ομότιμο Καθηγητή Ιωάννη Ρούσση τον οποίο θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά για την άψογη συνεργασία και την πολύτιμη συμβολή του στην ολοκλήρωση της, καθώς και για τις γνώσεις που μου μετέδωσε.

Ιδιαίτερα ευχαριστώ τον Αναπληρωτή Καθηγητή του Τμήματος Μαθηματικών του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων, Απόστολο Μπατσίδη για την πολύτιμη βοήθεια του σε κάθε ερώτημα μου για την στατιστική επεξεργασία των αποτελεσμάτων.

Ευχαριστώ από καρδιάς τόσο τα συσκευαστήρια μελιού “LV Natural Foods” και “Stathakis Family” όσο και τον κάθε μελισσοκόμο ξεχωριστά, την κα. Αθανασίου Ε., τον κ. Ζαφειρόπουλο Α. “Meli Honey Shop”, τον κ. Λιαντζίρη Α., τον κ. Λιαρόπουλο Χ., τον κ. Λούτσο Π., την κα. Στυλιανού Μ., τον κύριο Τσάγκα Θ. και τον κ. Φωτόπουλο Χ. «Μέλι Ταΰγετου», που παρείχαν τα δείγματα ώστε να πραγματοποιηθεί η έρευνα. Η συνεισφορά τους και το έργο τους είναι πολύτιμο όχι μόνο για την έρευνα πάνω στα προϊόντα της μέλισσας αλλά κυρίως για την φύση.

Ο προσδιορισμός της ταυτότητας των δειγμάτων και της βασικής τους σύστασης πραγματοποιήθηκε από το «Γενικό Χημείο Έρευνας και Αναλύσεων Πασιάς – Ραπτοπούλου» τους οποίους και ευχαριστώ θερμά για την συνεργασία τους και την βοήθεια τους.

Τέλος δεν θα μπορούσα να ξεχάσω την οικογένεια μου και τον φίλο μου που ήταν δίπλα μου σε κάθε στιγμή, στηρίζοντας με σε όλο αυτό το ταξίδι και η αρωγή τους αποτέλεσε κινητήρια δύναμη να ξεπεράσω κάθε εμπόδιο και να φτάσω στο τελικό αποτέλεσμα.

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Σκοπός της παρούσας μεταπτυχιακής εργασίας ήταν αφενός η αποτίμηση της αντιοξειδωτικής δράσης, των βιοδράσεων εκκαθάρισης ριζών υδροξυλίου και αντιφλεγμονώδους δράσης, και ο προσδιορισμός των επιπέδων πρωτεϊνών, διαφορετικών μελιών της Ελληνικής υπαίθρου με *in vitro* μεθόδους, και αφετέρου ο ημιποσοτικός προσδιορισμός των πτητικών ενώσεων τους με την τεχνική Μικροεκχύλισης Στερεάς Φάσης (SPME) με Αέρια Χρωματογραφία Μάζας (GC-MS). Πιο συγκεκριμένα τα είδη μελιών που επιλέχθηκαν ήταν μέλια ερείκης, θυμαρίσια μέλια, μέλια ανθέων-κουμαριάς, μέλια γκιούλμπερι, ανθόμελα (πολυανθικά ανθόμελα), μέλια ελάτης, βελανιδιάς, πεύκου, μέλια μελιτωμάτων αλλά και οι τρεις ΠΟΠ ελληνικές ποικιλίες μελιών ελάτης Μαινάλου-βανίλια, πευκο-θύμαρο Κρήτης και κισσούρι Καρυστίας. Η επιλογή των συγκεκριμένων ειδών βασίστηκε σε συστηματική ανασκόπηση της εθνικής και διεθνούς βιβλιογραφίας γύρω από τα διαφορετικά είδη μελιού ως προς την αντιοξειδωτική τους δράση, με στόχο τη σύγκριση με προϋπάρχοντα αποτελέσματα, καθώς και την παρουσίαση δεδομένων για είδη μελιού που δεν έχουν ακόμη αναφερθεί στη βιβλιογραφία.

Τα μέλια που αναλύθηκαν παρουσίασαν σημαντικά επίπεδα αντιοξειδωτικής δράσης και βιοδράσεων που αντανakλούν στα συστατικά των μελιών πλην των σακχάρων. Επιπλέον παρουσίασαν σημαντικά επίπεδα πρωτεϊνών. Για τα παραπάνω δεν παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των ανθόμελων και των μελιών μελιτωμάτων. Η περαιτέρω σύγκριση μεταξύ των τεσσάρων ειδών ανθόμελων (μέλια ερείκης, θυμαρίσια, κισσούρι και ανθέων-κουμαριάς), έδειξε ότι τα θυμαρίσια μέλια προκύπτει να έχουν μικρότερη αντιοξειδωτική δράση (μέθοδοι Folin και FRAP) από τα υπόλοιπα τρία είδη. Επιπλέον τα μέλια κισσούρι παρουσίασαν την μεγαλύτερη εκκαθάριση ριζών υδροξυλίου, ενώ δεν παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά στην αποτίμηση της αντιφλεγμονώδους δράσης και των επιπέδων πρωτεϊνών. Αντίστοιχα στην διερεύνηση των τεσσάρων ειδών μελιών μελιτώματος (μέλια βελανιδιάς, ελάτης, έλατο-βανίλια και πεύκου), παρατηρήθηκαν επί μέρους διαφορές για όλες τις παραπάνω δράσεις, με τα μέλια βελανιδιάς να παρουσιάζουν τα υψηλότερα επίπεδα αντιοξειδωτικής δράσης.

Κατά τον προσδιορισμό των πτητικών ενώσεων, τα μέλια ανθέων και μελιτωμάτων που μελετήθηκαν παρουσίασαν ομοιότητες και διαφορές στο προφίλ των πτητικών ενώσεων. Εμφάνισαν αρκετές κοινές πτητικές ενώσεις που βρίσκονται γενικά στο μέλι

όπως οι heptane, nonane και η 1,5,7-Octatrien-3-ol, 3,7-dimethyl- / Hotrienol. Τα ανθόμελα παρουσιάζουν πιο πλούσιο προφίλ πτητικών ενώσεων σε σχέση με τα μέλια μελιτωμάτων. Αρκετές ενώσεις όπως οι furfural, benzaldehyde, trans linalool oxide και benzyl nitrile, προέκυψε να παρουσιάζονται σε υψηλότερα επίπεδα στα ανθόμελα. Από την άλλη πλευρά κάποιες ενώσεις όπως οι 3-Buten-1-ol, 3-methyl-, octane και η 1-nonanol, προέκυψε να παρουσιάζονται σε υψηλότερα επίπεδα στα μέλια μελιτωμάτων από ότι στα ανθόμελα. Ο προσδιορισμός της βοτανικής προέλευσης μονοποικιλιακών μελιών μέσω πτητικών ενώσεων «δεικτών» φαίνεται να είναι ένα χρήσιμο εργαλείο, καθώς κάθε είδος μελιού παρουσιάζει υψηλότερα επίπεδα κάποιων ενώσεων. Κάποιες από τις ενώσεις που παρατηρήθηκαν σε υψηλότερα επίπεδα στα διαφορετικά είδη είναι η Phenol, 3,4,5-trimethyl-, η Isophorone και τα παράγωγα της για τα μέλια ανθέων-κουμαριάς, για τα θυμαρίσια μέλια οι Isobutyronitrile, Butanenitrile, 3-methyl-, Benzaldehyde, Benzeneacetaldehyde και η Phenylethyl alcohol. Για τα μέλια ερείκης οι ενώσεις isophorone και furfural, για τα μέλια κισσούρι η Furfural, Ethanone, 1-(2-furanyl)-, Benzeneacetaldehyde, Hotrienol, για τα μέλια βελανιδιάς οι ενώσεις 2,3-Butanediol, cis-Linalool oxide (furanoid), 1-Nonanol. Για τα μέλια ελάτης το 1-Octene, η Bicyclo[2.2.1]hept-2-ene, 2,3-dimethyl-, Bicyclo[3.1.0]hexane, 6-isopropylidene- και η Nonanal. Για τα μέλι έλατο-βανίλια οι πτητικές ενώσεις που προσδιορίστηκαν ήταν παρόμοιες με των μελιών ελάτης ενώ επίσης είχαν τις λιγότερες πτητικές ενώσεις σε σχέση με τα υπόλοιπα δείγματα και συγκεκριμένα ήταν οι 2,3-Butanedione, Bicyclo[2.2.1]hept-2-ene, 2,3-dimethyl-, Nonanal και Nonanoic acid. Τέλος για τα μέλια πεύκου ορισμένες από αυτές ήταν οι Octane, Benzaldehyde, alpha.-Pinene και η 1-Nonanol.

ΛΕΞΕΙΣ ΚΛΕΙΔΙΑ: Μέλι, Ανθόμελα, Μελιτώματα, Μονοποικιλιακά μέλια, Βιοδράσεις, Αντιοξειδωτική δράση, Αντιφλεγμονώδης δράση, Εκκαθάριση ριζών υδροξυλίου, Πτητικές ενώσεις, Μικροεκχύλιση Στερεάς Φάσης (SPME), Αέρια χρωματογραφία φασματομετρία μάζας (GC-MS).

ABSTRACT

The aim of this master's thesis was twofold: first, to evaluate the antioxidant activity, hydroxyl radical scavenging activity, and anti-inflammatory effects, as well as to determine the total protein content of different types of honey from the Greek countryside using *in vitro* methods; and second, to semi-quantitatively identify their volatile organic compounds using the Solid-Phase Microextraction (SPME) technique combined with Gas Chromatography-Mass Spectrometry (GC-MS). Specifically, the honeys selected were heather honey, thyme honey, arbutus-floral honey, gioulmperi honey, multifloral honeys, fir honey, oak honey, pine honey, honeydew honey, and three Greek PDO (Protected Designation of Origin) varieties: Mainalo fir vanilla honey, pine-thyme honey from Crete, and kissouri honey from Karystia. The selection of these samples was based on a systematic review of national and international literature on the antioxidant properties of different honey types, aiming to compare findings with existing data while also presenting novel insights on honey varieties that have not been previously reported.

The analyzed honeys exhibited significant levels of antioxidant activity and bioactivities, which reflect the components of the honeys other than sugars. Additionally, they showed considerable protein levels. No statistically significant difference was observed between blossom and honeydew honeys in the above parameters. Further comparison among the four types of floral honeys (heather, thyme, kissouri, and arbutus-floral honeys) revealed that thyme honeys exhibited lower antioxidant activity (as measured by the Folin and FRAP methods) compared to the other three types. Moreover, kissouri honeys demonstrated the highest hydroxyl radical scavenging activity, while no statistically significant difference was observed in the assessment of anti-inflammatory activity and protein content.

Similarly, in the investigation of the four types of honeydew honeys (oak, fir, fir-vanilla, and pine honeys), distinct differences were noted for all the above activities, with oak honeys presenting the highest levels of antioxidant activity.

In the determination of volatile compounds, both blossom and honeydew honeys displayed similarities and differences in their volatile profiles. They shared several common volatile compounds typically found in honey, such as heptane, nonane, and 1,5,7-Octatrien-3-ol, 3,7-dimethyl- (Hotrienol). Blossom honeys exhibited a richer volatile profile compared to honeydew honeys. Several compounds, such as furfural,

benzaldehyde, trans-linalool oxide, and benzyl nitrile, were found in higher levels in blossom honeys. On the other hand, some compounds, such as 3-Buten-1-ol, 3-methyl-, octane, and 1-nonanol, were present at higher levels in honeydew honeys compared to blossom honeys.

The identification of botanical origin through “marker” volatile compounds appears to be a useful tool, as each type of honey exhibits higher levels of certain compounds. Some of the compounds observed at elevated levels in the different honey types include Phenol, 3,4,5-trimethyl-, Isophorone, and its derivatives for arbutus-floral honey; Isobutyronitrile, Butanenitrile, 3-methyl-, Benzaldehyde, Benzeneacetaldehyde, and Phenylethyl alcohol for thyme honey; Isophorone and Furfural for heather honey; Furfural, Ethanone, 1-(2-furanyl)-, Benzeneacetaldehyde, and Hotrienol for kissouri honey; and 2,3-Butanediol, cis-Linalool oxide (furanoid), and 1-Nonanol for oak honey. For fir honey, the markers included 1-Octene, Bicyclo[2.2.1]hept-2-ene, 2,3-dimethyl-, Bicyclo[3.1.0]hexane, 6-isopropylidene-, and Nonanal, while Mainalo fir vanilla honey had a similar profile to fir honey, with fewer volatile compounds detected, specifically 2,3-Butanedione, Bicyclo[2.2.1]hept-2-ene, 2,3-dimethyl-, Nonanal, and Nonanoic acid. Finally for pine honey, some of them were Octane, Benzaldehyde, alpha-Pinene, and 1-Nonanol.

KEY WORDS: Honey, Blossom honeys, Honeydew honeys, Monofloral honeys, Bio-activites, Antioxidant activity, Anti-inflammatory activity, Hydroxyl radical scavenging, Volatile compounds, Solid Phase Microextraction (SPME), Gas chromatography mass spectrometry (GC-MS).

ΠΙΝΑΚΑΣ ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΩΝ

ΠΡΟΛΟΓΟΣ	I
ΠΕΡΙΛΗΨΗ.....	III
ABSTRACT.....	V
A. ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	1
1. ΟΡΙΣΜΟΣ ΜΕΛΙΟΥ.....	2
2. ΧΗΜΙΚΗ ΣΥΣΤΑΣΗ ΜΕΛΙΟΥ	4
2.1. Σάκχαρα	5
2.2. Νερό	6
2.3. Οξύτητα και pH.....	6
2.4. Αμινοξέα και πρωτεΐνες.....	6
2.5. Ανόργανα συστατικά.....	8
2.6. 5-υδροξυμεθυλο-2-φουρφουράλη (HMF)	8
2.7. Χρώμα	9
2.8. Αρωματικές ενώσεις	9
2.9. Λιπίδια.....	9
2.10. Βιταμίνες	10
2.11. Μικροσκοπικά χαρακτηριστικά	10
2.12. Ρύποι και τοξικές ενώσεις	10
3. ΟΙ ΔΥΟ ΒΑΣΙΚΕΣ ΚΑΤΗΓΟΡΙΕΣ ΜΕΛΙΩΝ	11
3.1. Μέλι ανθέων/νέκταρος	11
3.2. Μέλι μελιτώματος/δάσους	12
4. ΚΑΤΗΓΟΡΙΕΣ ΜΟΝΟΠΟΙΚΙΛΙΑΚΩΝ ΜΕΛΙΩΝ	13
4.1. Μέλι Ερείκης	14
4.2. Μέλι Κουμαριάς	14
4.3. Θυμαρίσιο μέλι	15
4.4. Μέλι Γκιούλμπερι ή Ροδόμελι.....	16
4.5. Μέλι Πεύκου.....	17
4.6. Μέλι Ελάτης	18
4.7. Μέλι Βελανιδιάς	19
4.8. Μέλια με Προστατευόμενη Ονομασία Προέλευσης στην Ελλάδα (ΠΟΠ) .	20
4.8.1 Μέλι ΠΟΠ Ελάτης Μαινάλου Βανίλια.....	21

4.8.2	Μέλι ΠΟΠ Πευκοθύμαρο Κρήτης.....	22
4.8.3	Μέλι ΠΟΠ Κισσούρι	24
5.	ΒΙΟΔΡΑΣΕΙΣ ΤΟΥ ΜΕΛΙΟΥ	26
5.1.	Αντιοξειδωτική δράση	27
5.1.1	Αντιοξειδωτική δράση του μελιού.....	29
5.2.	Αντιφλεγμονώδης δράση του μελιού	32
6.	ΜΕΘΟΔΟΙ ΑΠΟΤΙΜΗΣΗΣ ΒΙΟΔΡΑΣΕΩΝ ΚΑΙ ΠΡΩΤΕΪΝΩΝ ΣΤΟ ΜΕΛΙ	34
6.1.	Προσδιορισμός αντιοξειδωτικής δράσης με την μέθοδο <i>Folin-Ciocalteu</i>	37
6.2.	Προσδιορισμός αντιοξειδωτικής δύναμης αναγωγής του σιδήρου (Μέθοδος <i>FRAP</i>)	38
6.3.	Μέθοδος αποτίμησης δέσμευσης ελεύθερων ριζών υδροξυλίου με την μέθοδο φαινανθρολίνης.....	38
6.4.	Προσδιορισμός αντιφλεγμονώδους δράσης με την μέθοδο αναστολής της δράσης του ενζύμου λιποξυγενάση (<i>LOX</i>).....	39
6.5.	Προσδιορισμός ολικών πρωτεϊνών με την μέθοδο <i>Bradford</i>	40
7.	ΠΗΤΗΤΙΚΕΣ ΕΝΩΣΕΙΣ ΣΤΟ ΜΕΛΙ.....	41
7.1.	Συνεισφορά στο άρωμα	41
7.2	Συνεισφορά ως ενώσεις «δείκτες» για το προφίλ του μελιού.....	43
7.3	Συνεισφορά για τον εντοπισμό φαινομένων νοθείας	47
8.	ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΠΗΤΗΤΙΚΩΝ ΕΝΩΣΕΩΝ ΣΤΟ ΜΕΛΙ ΜΕ <i>SPME/GC-MS</i>	48
8.1	Μέθοδος εκχύλισης.....	48
8.2	Μέθοδος ανάλυσης.....	49
9.	ΣΚΟΠΟΣ	51
B.	ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ.....	52
1.	ΔΕΙΓΜΑΤΑ.....	52
2.	ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ ΚΑΙ ΥΛΙΚΑ.....	55
3.	ΌΡΓΑΝΑ ΚΑΙ ΣΥΣΚΕΥΕΣ.....	56
4.	ΜΕΘΟΔΟΙ	58
4.1	Πρότυπο μελιού (<i>model honey</i>)	58
4.2	Προσδιορισμός ολικών πρωτεϊνών με την μέθοδο <i>Bradford</i>	59
4.3	Αποτίμηση αντιοξειδωτικής δράσης με τη μέθοδο <i>Folin-Ciocalteu (FC)</i> ...	61

4.4	Προσδιορισμός αντιοξειδωτικής δύναμης αναγωγής του σιδήρου (Μέθοδος FRAP)	62
4.5	Αποτίμηση δέσμευσης ελεύθερων ριζών υδροξυλίου	63
4.6	Αποτίμηση αντιφλεγμονώδους δράσης μέσω της μεθόδου αναστολής της δράσης του ενζύμου λιποξυγενάση (LOX).....	64
4.7	Ημιποσοτικός προσδιορισμός πτητικών ενώσεων μελιού	67
4.7.1	Προετοιμασία δειγμάτων	67
4.7.2	Εκχύλιση	67
4.7.3	Μεθοδολογία ανάλυσης	67
4.7.4	Έκφραση αποτελεσμάτων.....	68
5	ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ.....	69
5.1	Στατιστική επεξεργασία για αποτίμηση βιοδράσεων και προσδιορισμό πρωτεϊνών	69
5.2	Στατιστική επεξεργασία για τον ημι-ποσοτικό προσδιορισμό των πτητικών ενώσεων	69
Γ.	ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΣΥΖΗΤΗΣΗ	70
1.	ΑΠΟΤΙΜΗΣΗ ΠΡΩΤΕΪΝΩΝ ΚΑΙ ΒΙΟΔΡΑΣΕΩΝ	70
1.1	Ανθόμελα – Μέλια Μελιτωμάτων	70
1.2	Τέσσερα είδη ανθόμελων (ερείκης – θυμάρι – κισσούρι – ανθέων-κουμαριάς).....	72
1.3	Τέσσερα είδη μελιτωμάτων (βελανιδιάς – ελάτης - έλατο-βανίλια – πεύκου)	75
1.4	Τέσσερα είδη μελιών γενικά ανθόμελα, γκιούλμπερι, γενικά μέλια μελιτωμάτων, πενκοθύμαρο.....	78
2.	ΠΗΗΤΙΚΕΣ ΕΝΩΣΕΙΣ.....	81
2.1	Ανθόμελα – Μέλια Μελιτωμάτων	81
2.2	Τέσσερα είδη ανθόμελων (ερείκης – θυμάρι – κισσούρι – ανθέων-κουμαριάς).....	98
2.3	Τέσσερα είδη μελιτωμάτων (βελανιδιάς – ελάτης - έλατο-βανίλια – πεύκου)	107
2.4	Τέσσερα είδη μελιών γενικά ανθόμελα, γκιούλμπερι, γενικά μέλια μελιτωμάτων, πενκοθύμαρο.....	113
3.	ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ	119

4. ΜΕΛΛΟΝΤΙΚΕΣ ΠΡΟΤΑΣΕΙΣ ΓΙΑ ΕΡΕΥΝΑ.....	121
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	122
ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ	

A. ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

Το μέλι είναι μια φυσική ουσία που παράγεται από τις μέλισσες (*Apis mellifera*, Οικογένεια: *Apidae*) από το νέκταρ των λουλουδιών καθώς και από μελιτώδεις εκκρίσεις. Χρησιμοποιείται από τον άνθρωπο εδώ και περίπου 5500 χρόνια, με αρχαίους πολιτισμούς όπως οι Έλληνες, οι Κινέζοι και οι Αιγύπτιοι, να το καταναλώνουν τόσο ως τρόφιμο όσο και για τις ιατρικές του ιδιότητες. Ιδιαίτερα τα τελευταία χρόνια έχει αποκτήσει μεγάλη εμπορική σημασία καθώς οι καταναλωτές το επιλέγουν όχι μόνο για την θεραπευτική του αξία αλλά και για τις βιοδράσεις που παρουσιάζει σύμφωνα με έρευνες όπως την αντιοξειδωτική του δράση. Αυτό καθιστά επίσης επιτακτική την ανάγκη για ανάπτυξη νέων μεθόδων με σκοπό την ταυτοποίηση του και την αναγνώριση της προέλευσης του.

Ως το μοναδικό φυσικό τρόφιμο που παράγεται από έντομα, το μέλι έχει μεγάλη αξία στη διατροφή, την κοσμετολογία, τη θεραπευτική και τη βιομηχανία. Θεωρείται μια ισορροπημένη διατροφική επιλογή και είναι εξίσου δημοφιλές σε άνδρες και γυναίκες όλων των ηλικιών. Το μέλι δεν χρειάζεται ψύξη, έχει αόριστη διάρκεια ζωής και μπορεί να αποθηκευτεί κλειστό σε θερμοκρασία δωματίου σε ξηρό μέρος.

Ιστορικά, το μέλι έχει χρησιμοποιηθεί ως φυσικό γλυκαντικό, λόγω της υψηλής περιεκτικότητάς του σε φρουκτόζη. Η δημοτικότητά του στα ποτά έχει επίσης αυξηθεί με την πάροδο του χρόνου. Σήμερα, σε πολλές δημοσιεύσεις, όπως σε γενικά περιοδικά, σε επιστημονικά περιοδικά και φυλλάδια φυσικών προϊόντων, αναφέρεται η χρήση του μελιού για τη θεραπεία διαφόρων ασθενειών, υποδεικνύοντας ένα ευρύ φάσμα ωφέλιμων ιδιοτήτων. Επιστημονικές έρευνες υποστηρίζουν ότι το μέλι μπορεί να προσφέρει πολλαπλά οφέλη για την υγεία, συμπεριλαμβανομένων των αντιοξειδωτικών, αντιφλεγμονωδών, αντιβακτηριακών, αντιδιαβητικών και προστατευτικών δράσεων στο αναπνευστικό, γαστρεντερικό, καρδιαγγειακό και νευρικό σύστημα (Samarghandian et al., 2017).

1. Ορισμός μελιού

Σύμφωνα με την οδηγία 110/2001 της Ευρωπαϊκής Ένωσης, μέλι είναι η φυσική γλυκιά ουσία που παράγουν οι μέλισσες του είδους *Apis mellifera* από το νέκταρ των φυτών ή από εκκρίσεις ζώντων μερών φυτών ή εκκρίματα εντόμων απομυζούντων φυτά. Οι μέλισσες συλλέγουν το μέλι, το μετατρέπουν αναμειγνύοντάς το με ειδικές ύλες του σώματός τους, το αποθέτουν, το αφυδατώνουν, το εναποθηκεύουν και το φυλάσσουν στις κηρήθρες της κυψέλης, προκειμένου να ωριμάσει .

Η νομοθεσία σχετικά με το τι μπορεί μια ουσία να ονομάζεται «μέλι» προέρχεται από δύο διεθνή πρότυπα που δημοσιεύθηκαν από δύο από τους μεγαλύτερους διεθνείς ρυθμιστικούς φορείς, δηλαδή τον Codex Alimentarius (CA) και την Οδηγία του Ευρωπαϊκού Συμβουλίου (EC) 110/2001 σχετικά με το μέλι, τα οποία είναι τα κύρια νομοθετικά πρότυπα που ισχύουν στις περισσότερες χώρες σε όλο τον κόσμο. Η εφαρμογή του AC γενικά δεν επιβάλλεται στα κράτη μέλη του ΟΗΕ, και έτσι πολλά έθνη έχουν τη δική τους νομοθεσία, αντί ή παράλληλη με του CA. Ομοίως, κάποιες χώρες της Ευρωπαϊκής Ένωσης επέλεξαν να υιοθετήσουν τις δικές τους μορφές ρύθμισης. Και τα δύο πρότυπα ταξινομούν το μέλι ως μια γλυκιά ουσία που παράγεται από τη μέλισσα, *Apis mellifera*. Και τα δύο υπογραμμίζουν τη διαφορά μεταξύ μελιού ανθέων ή μελιού νέκταρ και μελιού μελιτώματος, ενώ η νομοθεσία της ΕΕ επισημαίνει επίσης διαφορές μεταξύ της μεθόδου παραγωγής διαφορετικών μελιών. Επιπλέον, η νομοθεσία της ΕΕ απαιτεί επίσης το μέλι να φέρει ετικέτα ανά χώρα προέλευσης. Στον πίνακα 1.1 παρουσιάζονται τα κριτήρια σύστασης μελιού σύμφωνα με τα δύο διεθνή πρότυπα (Zammit Young et al., 2023).

Πίνακας 1. Κριτήρια σύστασης μελιού σύμφωνα με τον Codex Alimentarius και τους κανονισμούς της Ε.Ε (Zammit Young et al., 2023).

Criteria	Honey Type	CA	EU
Moisture content	General	≤20%	≤20%
	Heather, Clover	≤23%	≤23%
Sucrose Content	False acacia (Robinia pseudoacacia), leatherwood (Eucryphia lucida, Eucryphia milliganii), alfalfa (Medicago sativa), Banksia (Banksia menziesii), Menzies French honeysuckle (Hedysarum), Citrus spp., red gum (Eucalyptus camadulensis)	≤10%	≤10%
	Lavender	≤15%	≤15%
	Others	≤5%	≤5%
Sum of Glucose and Fructose content	Honeydew honey or blends of honeydew and blossom honey	≥45 g/100 g	≥45 g/100 g
	Others (blossom honey)	≥60 g/100 g	≥60 g/100 g
Water Insoluble Solids content	General	≤0.1 g/100 g	≤0.1 g/100 g
	Pressed Honey	≤0.5 g/100 g	≤0.5 g/100 g
Hydroxymethylfurfural content	General	N/A	≤40 mg/kg
	Tropical Honeys or Tropical Blends	N/A	≤80 mg/kg
Acidity	General	N/A	≤50 meq/kg
	Baker's Honey	N/A	≤80 meq/kg
Diastase Activity (Schade Scale)	General	N/A	≤8%
	Honeys with low natural enzyme content and an HMF ≤15 mg/kg	N/A	≤3%

2. Χημική σύσταση μελιού

Το μέλι παράγεται από τις μέλισσες (*Apis mellifera*) από εκκρίματα που περιέχουν υδατάνθρακες και παράγονται από φυτά ή έντομα. Έτσι, ορισμένα συστατικά του μελιού προέρχονται από το νέκταρ ή το μελίτωμα, άλλα προστίθενται από τις μέλισσες, και άλλα οφείλονται σε βιοχημικές αντιδράσεις κατά την ωρίμανση του μελιού. Ως εκ τούτου, το μέλι είναι ένα σύνθετο μείγμα που αποτελείται από διάφορα συστατικά, τα οποία διαφέρουν σε ποσοστιαίες συγκεντρώσεις και εξαρτώνται από πολλούς παράγοντες. Περίπου το 80% της φυσικής και χημικής σύστασης των περισσότερων μελιών είναι κοινό. Ωστόσο, η σύνθεση μπορεί να μεταβληθεί λόγω γεωγραφικών και περιβαλλοντικών συνθηκών, της ανθικής πηγής των μελισσών, και του είδους της μέλισσας που παράγει το μέλι. Σύμφωνα με τη βιβλιογραφία, σε χώρες γύρω από τη λεκάνη της Μεσογείου, υπολογίζονται περίπου 336 είδη άγριων και μη, μελισσών και 54 οικογένειες μελισσοκομικών φυτών. Η Ελλάδα κατοικείται κυρίως από τέσσερα κοινά υποείδη της *Apis mellifera* L. και συγκεκριμένα την *A.m. cecropia* στην κεντρική και νότια ελληνική ηπειρωτική χώρα, την *A.m. carnica* στα Ιόνια Νησιά, την *A.m. adami* στην Κρήτη και στο νότιο Αιγαίο, και την *A.m. macedonica* στη Μακεδονία, τη Θράκη και μέρη της Θεσσαλίας και της Ηπείρου, με την τελευταία να κυριαρχεί κυρίως λόγω των υψηλών ποσοστών υβριδισμού που υπάρχουν από τη μεταναστευτική μελισσοκομία και την εμπορική εκτροφή (Xagoraris, Revelou, *et al.*, 2021; Zampakas *et al.*, 2024). Αυτές οι διαφοροποιήσεις επηρεάζουν το χρώμα, την υφή, τη γεύση και τις ιδιότητες του μελιού και αιτιολογούν την ύπαρξη 320 διαφορετικών ειδών μελιού ανά τον κόσμο (Meo *et al.*, 2017).

Το μέλι αποτελείται κυρίως από υδατάνθρακες και νερό, ενώ περιέχει επίσης πρωτεΐνες, αμινοξέα, ένζυμα, οργανικά οξέα, πολυφαινόλες και άλλα ιχνοστοιχεία σε μικρότερα ποσοστά. Οι υδατάνθρακες αντιπροσωπεύουν περίπου το 80% της σύστασης του μελιού, με το μεγαλύτερο μέρος (75%) να αποτελείται από τους μονοσακχαρίτες γλυκόζη και φρουκτόζη στα ανθόμελα. Η φρουκτόζη υπάρχει συνήθως σε μεγαλύτερη συγκέντρωση από τη γλυκόζη, με εξαίρεση ορισμένα είδη μελιού.

Στο μέλι μπορεί να βρεθούν ίχνη βιταμινών όπως η ριβοφλαβίνη, το παντοθενικό οξύ, η νιασίνη, η θειαμίνη, η πυριδοξίνη και το ασκορβικό οξύ, καθώς και μέταλλα. Η περιεκτικότητα σε μέταλλα στο μέλι κυμαίνεται από 0,04% στα ανοιχτόχρωμα μέλια και σε ποσοστό 0,2 % στα σκουρόχρωμα μέλια. Το μέλι περιέχει μακρο- και μικρο-

μεταλλικά στοιχεία, όπως κάλιο, μαγνήσιο, ασβέστιο, σίδηρο, φώσφορο, νάτριο, μαγγάνιο, ιώδιο, ψευδάργυρο, λίθιο, κοβάλτιο, νικέλιο, κάδμιο, χαλκό, βάριο, χρώμιο, σελήνιο, αρσενικό, και άργυρο (Karabagias *et al.*, 2017b). Αυτά τα στοιχεία μπορεί να προέρχονται τόσο από φυσικές πηγές όσο και από περιβαλλοντικούς ρύπους.

Αμινοξέα ανιχνεύονται επίσης σε συγκεντρώσεις που φτάνουν περίπου στο 0,5%. Αυτά μπορεί να υπάρχουν είτε ως ελεύθερα αμινοξέα είτε ως μέρος των πρωτεϊνών. Αμινοξέα όπως η προλίνη, η αργινίνη, το γλουταμινικό οξύ, η κυστεΐνη και το ασπαρτικό οξύ μπορούν όλα να βρεθούν στο μέλι (Pita-Calvo *et al.*, 2017; Zammit Young *et al.*, 2023).

Παρακάτω αναφέρονται πιο αναλυτικά οι κύριες οικογένειες ενώσεων που υπάρχουν στο μέλι σύμφωνα με τις αναφορές των (Τανανάκη, 2006; Bogdanov, 2011; Zammit Young *et al.*, 2023).

2.1. Σάκχαρα

Τα σάκχαρα είναι τα κύρια συστατικά του μελιού, αποτελώντας περίπου το 95% του ξηρού βάρους του. Τα κύρια σάκχαρα είναι οι μονοσακχαράριτες εξόζες φρουκτόζη και γλυκόζη, που προκύπτουν από την υδρόλυση του δισακχαρίτη σουκρόζη. Εκτός από αυτά, έχουν ανιχνευθεί περίπου 25 διαφορετικά σάκχαρα τα οποία όμως δε συνυπάρχουν όλα σε ένα είδος μελιού. Οι κύριοι ολιγοσακχαράριτες στα ανθόμελα είναι οι δισακχαρίτες: σουκρόζη, μαλτόζη, τυρανόζη και ερλόζη. Τα μελιά μελιτώματος περιέχουν επίσης τρισακχαρίτες, όπως η μελεξιτόζη και η ραφινόζη. Σε ιχνοποσότητες έχουν επίσης απομονωθεί τετρασακχαρίτες και πεντασακχαρίτες. Τα σάκχαρα αποτελούν κριτήριο ελέγχου της φυσικότητας του μελιού καθώς σύμφωνα με την οδηγία 110/2001/Ε.Ε. τα μέλια νέκταρος θα πρέπει να έχουν περιεκτικότητα σε άθροισμα γλυκόζης και φρουκτόζης μεγαλύτερη από 60 %, ενώ τα μέλια μελιτωμάτων μεγαλύτερη από 45 %. Ο προσδιορισμός των σακχάρων μπορεί να γίνει με διάφορες χρωματογραφικές μεθόδους, με την πιο διαδεδομένη να είναι η υγρή χρωματογραφία υψηλής απόδοσης (HPLC).

2.2. Νερό

Η περιεκτικότητα του μελιού σε νερό εκφράζεται με τον όρο υγρασία και το ποσοστό της στο μέλι εξαρτάται πρωτίστως από το βαθμό ωρίμανσης του και δευτερευόντως από το είδος του μελιού και τις κλιματολογικές συνθήκες. Σύμφωνα με την ισχύουσα νομοθεσία το μέλι θα πρέπει να έχει υγρασία μικρότερη του 20 % με μοναδική εξαίρεση το ερεϊκόμελο για το οποίο επιτρέπεται υγρασία μέχρι και 23 %. Η ύπαρξη υψηλού ποσοστού υγρασίας συνδέεται με τις ζυμώσεις και επομένως με το χρόνο και τη θερμοκρασία διατήρησής του. Μέλια με χαμηλή περιεκτικότητα σε νερό, είναι παχύρρευστα και απαιτούν επιπρόσθετους χειρισμούς κατά το στάδιο της εξαγωγής και τυποποίησής τους. Ο προσδιορισμός της υγρασίας στο μέλι γίνεται με διαθλασίμετρο με προσδιορισμό του δείκτη διάθλασης.

2.3. Οξύτητα και pH

Η περιεκτικότητα του μελιού σε οξέα είναι σχετικά χαμηλή, αλλά είναι σημαντική για τη γεύση του. Τα περισσότερα οξέα προστίθενται από τις μέλισσες. Το κύριο οξύ είναι το γλυκονικό οξύ, ένα προϊόν οξειδωσης της γλυκόζης από την οξειδάση της γλυκόζης. Έχουν βρεθεί επίσης τα εξής οξέα σε μικρές ποσότητες: μυρμηκικό, οξικό, κιτρικό, γαλακτικό, μηλεϊνικό, μηλικό, οξαλικό, πυρογλουταμικό και ηλεκτρικό.

Όλα τα μέλια είναι όξινα, δηλαδή η τιμή του pH τους είναι μικρότερη από 7. Το pH των ανθόμελων κυμαίνεται μεταξύ 3,3 και 4,6. Εξαίρεση αποτελεί το μέλι καστανιάς, το οποίο έχει σχετικά υψηλό pH, μεταξύ 5 και 6. Τα μέλια μελιτωμάτων, λόγω της υψηλότερης περιεκτικότητάς τους σε μέταλλα, έχουν υψηλότερη τιμή pH, που κυμαίνεται μεταξύ 4,5 και 6,5. Το μέλι λειτουργεί ως ρυθμιστικό διάλυμα, δηλαδή το pH του δεν αλλάζει με την προσθήκη μικρών ποσοτήτων οξέων και βάσεων. Η ρυθμιστική ικανότητα οφείλεται στην περιεκτικότητα σε φωσφορικά, ανθρακικά και άλλα ανόργανα άλατα.

Η οξύτητα του μελιού καθορίζεται με τιτλοδότηση και εκφράζεται σε χιλιοϊσοδύναμα ανά κιλό.

2.4. Αμινοξέα και πρωτεΐνες

Η περιεκτικότητα του μελιού σε αμινοξέα και πρωτεΐνες είναι σχετικά μικρή, φτάνοντας το πολύ έως 0,7% με μοριακά βάρη που κυμαίνονται από 22 έως 75 kDa. Το κύριο αμινοξύ είναι η προλίνη, η οποία χρησιμοποιείται ως δείκτης ωρίμανσης του μελιού. Η περιεκτικότητα της προλίνης στο μέλι πρέπει να είναι πάνω από 200 mg/Kg.

Τιμές κάτω από 180 mg/Kg σημαίνουν πιθανή νοθεία του μελιού με προσθήκη ζάχαρης. Οι μέλισσες χρησιμοποιούν ένζυμα όπως η θρυψίνη, η χυμοθρυψίνη, η ελαστάση και οι εξωπεπτιδάσες, όπως η αμινοπεπτιδάση της λευκίνης, τα οποία βρίσκονται στο μεσαίο τους έντερο, για να διασπάσουν τις διαιτητικές πρωτεΐνες και έτσι να μπορέσουν να παράγουν τις πρωτεΐνες και τα ένζυμα που απαντώνται στο μέλι. Η συντριπτική πλειονότητα (90%) των πρωτεϊνών που βρίσκονται στο μέλι ανήκουν στην οικογένεια των Major Royal Jelly Proteins (MRJP), από τα οποία υπάρχουν εννέα τύποι (MRJP1-9). Επομένως, είναι αρκετά δύσκολο να ανιχνευθούν οι λιγότερο άφθονες πρωτεΐνες χαμηλού μοριακού βάρους στο μέλι. Η ακριβής λειτουργία όλων αυτών των πρωτεϊνών δεν είναι πλήρως γνωστή, αλλά θεωρείται ότι εμφανίζουν αντιοξειδωτική δράση. Τα MRJP1 και MRJP2 έχουν επίσης αποδειχθεί ότι έχουν υποχοληστερολαιμικό αποτέλεσμα, ενώ το MRJP3 έχει βρεθεί ότι έχει ανοσορρυθμιστική δράση.

Ένζυμα που σχετίζονται με τον μεταβολισμό των υδατανθράκων, όπως η διαστάση, η ιμπερτάση, η οξειδάση της γλυκόζης και η καταλάση, έχουν τεκμηριωθεί ως συστατικά του μελιού. Αν και δεν είναι ξεκάθαρο πώς παράγονται τα ένζυμα που βρίσκονται στο μέλι, πιστεύεται ότι μπορεί να προέρχονται είτε από το νέκταρ που χρησιμοποιείται από τη μέλισσα, από μικροοργανισμούς στο μέλι ή από την ίδια τη μέλισσα. Η διαστάση (αμυλάση) διασπά το άμυλο σε μαλτόζη και είναι ένας ποιοτικός δείκτης. Η ιμπερτάση (σακχαράση, α-γλυκοσιδάση) καταλύει κυρίως τη μετατροπή της σακχαρόζης σε γλυκόζη και φρουκτόζη, αλλά και πολλές άλλες μετατροπές σακχάρων. Τα δύο άλλα κύρια ένζυμα, η οξειδάση της γλυκόζης και η καταλάση, ρυθμίζουν την παραγωγή του υπεροξειδίου του υδρογόνου (H_2O_2), που είναι ένας από τους αντιβακτηριδιακούς παράγοντες του μελιού.

Η διαστάση και η ιμπερτάση παίζουν σημαντικό ρόλο στην αξιολόγηση της ποιότητας του μελιού και χρησιμοποιούνται ως δείκτες φρεσκάδας του μελιού. Ένα ελάχιστο όριο 8 μονάδων διαστάσης έχει καθοριστεί στον Κώδικα Τροφίμων (Codex Alimentarius) και την ευρωπαϊκή οδηγία για το μέλι. Η δραστηριότητά τους μειώνεται με την αποθήκευση και τη θέρμανση του μελιού. Η δραστηριότητα της διαστάσης και της ιμπερτάσης ποικίλλει σημαντικά, ανάλογα με τη βοτανική προέλευση του μελιού, και επομένως έχουν περιορισμένη δύναμη ως δείκτες φρεσκάδας. Εκτός από τα προαναφερθέντα ένζυμα, στο μέλι υπάρχουν επίσης και μια σειρά από πρωτεολυτικά ένζυμα, κυρίως πρωτεάσες σερίνης. Αυτά συνήθως προέρχονται από το νέκταρ, τη γύρη ή από τις εκκρίσεις των αδένων των ίδιων των μελισσών.

2.5. Ανόργανα συστατικά

Τα ανθόμελα έχουν περιεκτικότητα σε ανόργανα συστατικά κυρίως μεταξύ 0,1% και 0,3%, ενώ η περιεκτικότητα των μελιών μελιτωμάτων μπορεί να φτάσει το 1% του συνολικού τους βάρους. Το μέλι περιέχει ποικίλες ποσότητες ανόργανων ουσιών που κυμαίνονται από 0,02 έως 1,03 g/100 g. Το κύριο στοιχείο που βρίσκεται στο μέλι είναι το κάλιο, το οποίο αντιπροσωπεύει περίπου το ένα τρίτο του συνόλου, αλλά υπάρχει και μεγάλη ποικιλία ιχνοστοιχείων. Πολλές έρευνες έχουν δείξει ότι η περιεκτικότητα του μελιού σε ιχνοστοιχεία εξαρτάται κυρίως από τη βοτανική του προέλευση, τη σύσταση του εδάφους ανάπτυξης του φυτού, αλλά και από περιβαλλοντικούς παράγοντες, με τα ανοιχτόχρωμα ανθόμελα να έχουν χαμηλότερη περιεκτικότητα σε σύγκριση με τα σκούρα μέλια, όπως το μέλι μελιτώματος, το καστανόμελο και το μέλι από ρέικι. Τέλος, τα ανόργανα συστατικά εκτός από το ότι μεταφέρονται στο μέλι από το έδαφος μέσω των φυτών, μπορεί επίσης να είναι προϊόντα επιμόλυνσης από τους χώρους αποθήκευσης ή από το περιβάλλον. Με τον κανονισμό της (ΕΕ) 2021/1317 ορίστηκε ως μέγιστο επιτρεπτό επίπεδο Μολύβδου (Pb) στο μέλι τα 0,10 mg/Kg.

Πίνακας 2. Ιχνοστοιχεία που έχουν ανιχνευθεί στο μέλι (Bognanov, 2011).

Element	mg/100 g	Element	mg/100 g
Aluminium (Al)	0.01 - 2.4	Lead (Pb)*	0.001 - 0.03
Arsen (As)	0.014 - 0.026	Lithium (Li)	0.225 - 1.56
Barium (Ba)	0.01 - 0.08	Molybdenum (Mo)	0 - 0.004
Boron (B)	0.05 - 0.3	Nickel (Ni)	0 - 0.051
Bromine (Br)	0.4 - 1.3	Rubidium (Rb)	0.040 - 3.5
Cadmium (Cd)*	0 - 0.001	Silicium (Si)	0.05 - 24
Chlorine (Cl)	0.4 - 56	Strontium (Sr)	0.04 - 0.35
Cobalt (Co)	0.1 - 0.35	Sulfur (S)	0.7 - 26
Fluoride (F)	0.4 - 1.34	Vanadium (V)	0 - 0.013
Iodine (I)	10 - 100	Zirkonium (Zr)	0.05 - 0.08

2.6. 5-υδροξυμεθυλο-2-φουρφοουράλη (HMF)

Η υδροξυμεθυλοφουρφοουράλη (HMF) είναι ένα προϊόν αποσύνθεσης της φρουκτόζης. Στο φρέσκο μέλι υπάρχει μόνο σε ίχνη, αλλά η συγκέντρωσή της αυξάνεται με την αποθήκευση και την παρατεταμένη θέρμανση του μελιού. Η διαδικασία σχηματισμού

της HMF εξαρτάται από το pH. Στα πιο όξινα ανθόμελα, σχηματίζεται με ταχύτερο ρυθμό σε σύγκριση με τα πιο σκούρα μέλια που έχουν υψηλότερο pH. Σύμφωνα με τον Codex Alimentarius και τα πρότυπα της E.E., η μέγιστη επιτρεπόμενη ποσότητα HMF είναι 40 mg/Kg, ενώ το μέλι από τροπικές περιοχές ή τα μείγματά του δεν πρέπει να περιέχει περισσότερα από 80 mg/Kg. Σε ορισμένες χώρες, όπως η Γερμανία, η Ιταλία, η Φινλανδία και η Ελβετία, έχουν ορίσει μέγιστη συγκέντρωση HMF στα 15 mg/Kg για μέλια που φέρουν ειδική σήμανση ποιότητας.

2.7. Χρώμα

Το χρώμα του μελιού ποικίλλει από σχεδόν άσπρο (π.χ. ακακίας) έως σκούρο καφέ (π.χ. βελανιδιάς). Κυρίαρχος παράγοντας για τον καθορισμό του χρώματος είναι η βοτανική προέλευση, καθώς διάφορες χρωστικές μεταφέρονται από το φυτό στο μέλι. Επίσης, σημαντικά επιδρούν οι μελισσοκομικοί χειρισμοί και ιδιαίτερα η παλαιότητα των κηρηθρών. Προς σκούρες αποχρώσεις οδηγείται επίσης το μέλι κατά τη διάρκεια της αποθήκευσης και κυρίως όταν αυτό εκτίθεται στο φως και στο οξυγόνο.

2.8. Αρωματικές ενώσεις

Τα πτητικά και ημιπτητικά συστατικά του μελιού είναι οι ουσίες που ευθύνονται για το άρωμά του. Η έρευνα για τα πτητικά του μελιού ξεκίνησε στις αρχές της δεκαετίας του 1960. Μελετώντας τα πτητικά συστατικά που απομονώθηκαν από τα άνθη και το αντίστοιχο μονοανθικό μέλι, βρέθηκε ότι οι περισσότερες πτητικές ενώσεις προέρχονται πιθανότατα από τα φυτά, ενώ ορισμένες προστίθενται από τις μέλισσες και άλλες είναι προϊόντα διασπάσεων και συνθέσεων κατά τη διάρκεια ωρίμανσης. Τα συστατικά αυτά μπορεί να είναι αλκοόλες, αλδεΐδες, κετόνες, εστέρες, υδρογονάνθρακες, και ετεροκυκλικές ενώσεις. Μέχρι σήμερα έχουν χαρακτηριστεί περίπου 600 ενώσεις σε διάφορα μέλια. Δεδομένου ότι τα μονοανθικά μέλια διαφέρουν ως προς τις αισθητηριακές τους ιδιότητες, η ανάλυση των πτητικών ενώσεων μπορεί να επιτρέψει την ταξινόμησή τους. Πράγματι, τυπικές πτητικές ουσίες έχουν βρεθεί σε πολλά μονοανθικά μέλια και η ανάλυσή τους μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την πιστοποίηση της βοτανικής προέλευσης του μελιού.

2.9. Λιπίδια

Στο μέλι έχουν βρεθεί ελεύθερα λιπαρά οξέα, όπως το στεατικό και παλμιτικό οξύ, τριγλυκερίδια καθώς επίσης και στεροειδείς αλκοόλες με τη μορφή της ελεύθερης

χοληστερόλης και των εστέρων της. Έχουν επίσης εντοπιστεί αμφίφιλα λιπίδια όπως φωσφολιπίδια.

2.10. Βιταμίνες

Το μέλι χαρακτηρίζεται γενικά ως φτωχό σε βιταμίνες. Σε αυτό έχουν εντοπιστεί κυρίως υδατοδιαλυτές βιταμίνες τους συμπλέγματος Β, όπως θειαμίνη (Β1), ριβοφλαβίνη (Β2), πυριδοξίνη (Β6), βιοτίνη, παντοθενικό, νικοτινικό και φολικό οξύ. Η ύπαρξή τους αποδίδεται στο φυτικό χυμό από τον οποίο έχει παραχθεί το μέλι.

2.11. Μικροσκοπικά χαρακτηριστικά

Στο μέλι περιέχονται επίσης γυρεόκοκκοι μύκητες, καπνίες, ζύμες και βακτήρια. Οι γυρεόκοκκοι προέρχονται από τη γύρη που συλλέγουν οι μέλισσες ως τροφή, ή από κόκκους που επικάθονται στα τριχίδια τους κατά τη συλλογή του νέκταρος και στη συνέχεια διά επαφής μεταφέρονται στο μέλι. Τα υπόλοιπα μικροσκοπικά χαρακτηριστικά μπορεί να οφείλονται στο φυτό, στη μέλισσα, αλλά και στον μελισσοκόμο. Η παρουσία των μικροοργανισμών στο μέλι δεν επηρεάζει γενικά την ποιότητά του, εκτός και αν κάποια από τα χαρακτηριστικά του μελιού (υγρασία, οξυγόνο και pH) μεταβληθούν, οπότε και ενεργοποιείται η δράση τους με αποτέλεσμα την υποβάθμιση του τροφίμου.

2.12. Ρύποι και τοξικές ενώσεις

Το μέλι, όπως κάθε άλλο τρόφιμο, μπορεί να περιέχει περιβαλλοντικού ρύπου, όπως από βαρέα μέταλλα, φυτοφάρμακα, αντιβιοτικά κ.λπ. Συνήθως, τα επίπεδα ρύπανσης που εντοπίζονται δεν παρουσιάζουν κίνδυνο για την υγεία. Το κύριο πρόβλημα σήμερα είναι η ρύπανση από αντιβιοτικά, τα οποία χρησιμοποιούνται κατά των ασθενειών της μελισσοκομίας. Στην Ευρωπαϊκή Ένωση, η χρήση αντιβιοτικών δεν επιτρέπεται, και έτσι το μέλι που περιέχει αντιβιοτικά δεν επιτρέπεται επίσης στην αγορά.

Ορισμένα φυτά παράγουν νέκταρ που περιέχει τοξικές ουσίες. Υπάρχουν δύο βασικές ομάδες τοξινών: τα διτερπενοειδή και τα αλκαλοειδή πυρρολιζιδίνης. Ορισμένα φυτά της οικογένειας Ερικοειδή, που ανήκουν στην υποοικογένεια Ροδοδένδρων, π.χ. το *Rhododendron ponticum*, περιέχουν τοξικούς πολυδροξυλιωμένους κυκλικούς υδρογονάνθρακες ή διτερπενοειδή. Ουσίες της άλλης ομάδας τοξινών, τα αλκαλοειδή πυρρολιζιδίνης, βρίσκονται σε διάφορους τύπους μελιού και η πιθανή δηλητηρίαση από αυτές τις ουσίες έχει εξεταστεί με σκοπό να θεσπιστούν ανώτατα επιτρεπτά επίπεδα και στο μέλι.

3. Οι δύο βασικές κατηγορίες μελιών

3.1. Μέλι ανθέων/νέκταρος

Όπως αναφέρθηκε και παραπάνω το μέλι ταξινομείται σε δύο κατηγορίες, μέλι ανθέων (νέκταρ φυτών) ή μέλι μελιτώματος (εκκρίσεις ζωντανών μερών φυτών ή εκκρίσεις φυτομυζόντων εντόμων στα φυτά). Το νέκταρ είναι μια χυμώδης έκκριση που παράγεται από φυτικά αδένια, γνωστά ως νεκτάρια. Αυτά τα αδένια μπορεί να βρίσκονται είτε πάνω στα άνθη (ανθικά νεκτάρια) είτε αλλού στο φυτό (εξωανθικά). Ο βασικός στόχος αυτής της έκκρισης είναι να προσελκύσει επικονιάστους εντομοειδείς και να διατηρήσει την υγρασία εντός του φυτού. Η παραγωγή του νέκταρος ξεκινά κατά την ωρίμανση των ανθίων, αυξάνεται κατά τη διάρκεια της γονιμοποίησης και μειώνεται καθώς ο στύλος του άνθους μαραίνεται. Η ποσότητα και η σύνθεση του νέκταρος επηρεάζονται από τους κλιματικούς παράγοντες όπως η θερμοκρασία, η υγρασία και η έκθεση στον ήλιο. Περισσότερο νέκταρ παράγεται κατά τη διάρκεια ζεστών και υγρών ημερών. Η παραγωγή νέκταρος διαφέρει επίσης ανάλογα με τη γεωγραφική τοποθεσία και τις ιδιότητες του εδάφους. Επιπλέον, η ποιότητα και η ποσότητα του νέκταρος επηρεάζονται από τα χαρακτηριστικά του φυτού, όπως η ποικιλία και η ηλικία του. Συγκριτικά με άλλους χυμούς των φυτών, το νέκταρ είναι πλούσιο σε σάκχαρα, κυρίως σε γλυκόζη, φρουκτόζη και σακχαρόζη, με μικρότερες ποσότητες άλλων υδατανθράκων. Οι μέλισσες προτιμούν φυτά με υψηλή περιεκτικότητα σε σάκχαρα, ενώ άλλα έντομα, όπως οι πεταλούδες, προτιμούν φυτά με χαμηλή περιεκτικότητα σε υδατάνθρακες. Εκτός από σάκχαρα, το νέκταρ περιέχει αμινοξέα, λιπίδια, αλκαλοειδή και αντιοξειδωτικές ενώσεις, καθώς και συστατικά που συμβάλλουν στο χρώμα και την οσμή του. Πολλά αρωματικά συστατικά, όπως μονοτερπένια, υδρογονάνθρακες και αρωματικές ενώσεις, ευθύνονται για την έντονη οσμή του νέκταρ. Αυτή η οσμή είναι κρίσιμη για την επικονίαση των φυτών, καθώς ελκύει τα έντομα που επιτελούν τον ρόλο των επικονιαστών. Για παράδειγμα, η μέλισσα ανιχνεύει την οσμή για να εντοπίσει τροφή (Τανανάκη, 2006).

3.2. Μέλι μελιτώματος/δάσους

Εκτός από το νέκταρ, μια άλλη σημαντική πρώτη ύλη από την οποία παράγεται το μέλι είναι οι εκκρίσεις εντόμων (μελιτογόνα έντομα) τα οποία τρέφονται με το χυμό των φυτών. Τα έντομα αυτά ανήκουν στην τάξη των ημίπτερων και κυρίως στις υπεροικογένειες Coccoidea, Aleyrodidea, Aphidoidea, Phylloidea και Cicadoidea. Το μελίτωμα δεν αποτελεί παραπροϊόν της πέψης, αλλά συγκριτικά με το φυτικό χυμό αποτελείται από απλούστερα σάκχαρα και είναι εμπλουτισμένος με ένζυμα και βιταμίνες. Η χημική σύνθεση του μελιτώματος ποικίλει σημαντικά ανάλογα με τη φυτική και ζωική του προέλευση. Η σύσταση και η ποσότητα του μελιτώματος εξαρτάται επίσης από τις κλιματολογικές συνθήκες και ειδικότερα από τη θερμοκρασία και τον άνεμο. Σε σχετική μελέτη που πραγματοποιήθηκε στη Ν. Ζηλανδία παρατηρήθηκε ότι σε επίπεδα σχετικά χαμηλών θερμοκρασιών (5-11 °C), η αύξηση της θερμοκρασίας του αέρα συνοδευόταν με αύξηση της παραγόμενης ποσότητας μελιτώματος. Οι κλιματολογικές συνθήκες σχετίζονται, αφενός με το φαινόμενο της εξάτμισης και αφετέρου με χημικές διεργασίες, όπως η φωτοσύνθεση, οι οποίες πραγματοποιούνται στα φυτά και συνδέονται με τη χημική σύνθεση του φυτικού χυμού. Άλλοι παράγοντες που συμβάλλουν στη σύνθεση του μελιτώματος είναι η ηλικία του φυτού, το βάθος εισόδου του ρύγχους του εντόμου στο φυτό, αλλά και το στάδιο ανάπτυξης του εντόμου. Τις μελιτώδεις εκκρίσεις εντόμων αξιοποιεί η μέλισσα, συλλέγοντας και παράγοντας το μέλι από μελίτωμα (ή δασόμελο) (Τανανάκη, 2006). Το μέλι μελιτώματος χαρακτηρίζεται γενικά από υψηλότερες τιμές ηλεκτρικής αγωγιμότητας, pH, οξύτητας και περιεκτικότητας σε τέφρα, πιο σκούρο χρώμα, υψηλότερη περιεκτικότητα σε ολιγοσακχαρίτες και χαμηλότερη περιεκτικότητα σε μονοσακχαρίτες σε σύγκριση με το μέλι ανθέων (Pita-Calvo et al., 2017).

4. Κατηγορίες μονοποικιλιακών μελιών

Αν και η λεκάνη της Μεσογείου καλύπτει μόνο το 1,6% της παγκόσμιας επιφάνειας του εδάφους, αποτελεί μια από τις πλουσιότερες πηγές ποικιλότητας χλωρίδας και πανίδας στον κόσμο. Πιο συγκεκριμένα, η λεκάνη της Μεσογείου αποτελείται από 25.000 ανθοφόρα φυτά, με σχεδόν τα μισά από αυτά να είναι ενδημικά, αντιπροσωπεύοντας το 10% όλων των γνωστών φυτών παγκοσμίως. Αυτό οδήγησε στην αναγνώριση της λεκάνης της Μεσογείου ως μία από τις 25 κορυφαίες παγκόσμιες εστίες βιοποικιλότητας. Η Ελλάδα αντιπροσωπεύει μια από τις πιο πλούσιες σε χλωρίδα περιοχές της Μεσογειακής Λεκάνης, αφού έχουν αναφερθεί σχεδόν 6.000 είδη, προσφέροντας έτσι μια σειρά από πολλά κοινά και σπάνια μονοανθικά μέλια στις διεθνείς αγορές (Kyriazis *et al.*, 2021). Έτσι η περιοχή της Μεσογείου, και συγκεκριμένα η Ελλάδα προφέρει ένα σύνολο από πολλά κοινά και σπάνια μονοποικιλιακά μέλια στις διεθνείς αγορές. Παρακάτω περιγράφονται τα χαρακτηριστικά από τα 10 είδη ελληνικών μελιών που χρησιμοποιήθηκαν στην συγκεκριμένη μελέτη.

Πίνακας 3. Τα πιο διαδεδομένα βοτανικά είδη που παράγουν μονοανθικά μέλια στην Ελλάδα (Xagoraris, Revelou, *et al.*, 2021).

Scientific Name	Flowering Period	Nectar	Pollen	Honeydew	Honey Name	Commercially Widespread
Blossom Honeys						
<i>Arbutus unedo</i> L.	November–December	3 *	2	-	Strawberry tree	+ **
<i>Castanea sativa</i> Miller	June	2–3	3	1–2	Chestnut	++
<i>Ceratonia siliqua</i> L.	September–October	3	3	2	Carob	+
<i>Citrus</i> spp.	March–April	3	2	-	Citrus, orange etc.	++
<i>Erica arborea</i> L.	October–November	2–3	2–3	-	Spring Heather	++
<i>Erica manipuliflora</i> Salisb.	March	3	2–3	-	Autumn Heather	++
<i>Eucalyptus</i> spp.	May–July	2–3	2–3	-	Eucalyptus	+
<i>Gossypium hirsutum</i> L.	July–September		-	-	Cotton	++
<i>Helianthus annuus</i> L.	June–August	2–3	2–3	-	Sunflower	+
<i>Paliurus spina-christi</i> Miller	May–June	2–3	2	-	Jerusalem thorn	+
<i>Phlomis</i> spp.		2–3	-	-	Jerusalem sage	+
<i>Pimpinella anisum</i> L.		1–2	1–2	-	Anise	+
<i>Polygonum aviculare</i> L.	July–August	2	2	-	Common knotweed	+
<i>Salvia officinalis</i> L.		2–3	2	-	Sage	+
<i>Thymra capitata</i> L.	June–July	2–3	2	-	Thyme	+++
Honeydew Honeys						
<i>Abies cephalonica</i> Link.	May–July	-	-	3	Fir	++
<i>Pinus</i> spp.	March–April, June–August, September–October	-	-	3	Pine	+++
<i>Quercus</i> spp.		-	3	3	Oak	+

* Number 1: low contribution; number 2: medium contribution; number 3: high contribution; dash (-): no contribution. ** high (+++), medium (++), and low (+) commercially widespread.

4.1. Μέλι Ερείκης

Ο όρος «ερείκι» χρησιμοποιείται για είδη φυτών που ανήκουν στα γένη *Erica* και *Calluna*. Ωστόσο, αυτός ο όρος χρησιμοποιείται κυρίως για να περιγράψει το μέλι που παράγεται από το *Calluna vulgaris* (L.) Hull και λιγότερο από άλλες βοτανικές πηγές *Ericaceae*. Όσον αφορά την Ελλάδα, το ερεικόμελο παράγεται κυρίως από τη φθινοπωρινή ερείκη ή παραδοσιακά «σουσουρά» (*Erica manipuliflora*), ή πιο σπάνια από την ανοιξιιάτικη ερείκη (*Erica arborea*) καθώς η περίοδος συλλογής της συμπίπτει με την ανάπτυξη του μελισσιού, με αποτέλεσμα να καταναλώνεται άμεσα από τις ίδιες τις μέλισσες (Xagoraris, Chrysoulaki, *et al.*, 2021). Το μέλι ερείκης διακρίνεται για το κοκκινωπό του χρώμα, την ιδιαίτερη γεύση και χαρακτηριστικό του άρωμα. Εμφανίζει υψηλή περιεκτικότητα σε υγρασία και αν και ανθόμελο έχει υψηλές τιμές αγωγιμότητας (0.56-0.89 mS/cm, n-35), ενώ υψηλή είναι και η συγκέντρωση του σε γλυκόζη. Το ανοιξιιάτικο μέλι ερείκης συνήθως είναι πιο ανοιχτόχρωμο, και το μέλι ερείκης ως μία από τις οκτώ ταυτοποιημένες κατηγορίες ελληνικού μελιού, σύμφωνα με το ΦΕΚ 239/2005 για την αναγραφή της βοτανικής του προέλευσης, απαιτεί ποσοστό γυρεόκκοκων ερείκης μεγαλύτερο από 45% (Θρασυβούλου *et al.*, 2002). Στην συγκεκριμένη έρευνα εξετάστηκαν δύο δείγματα ανοιξιιάτικης ερείκης από τις περιοχές Λάβδανη Ιωαννίνων (Ηπειρος) και Καλύβια Αγρινίου (Αιτωλοακαρνανία) και ένα δείγμα φθινοπωρινής ερείκης από τον Ταΰγετο (Αρκαδία).

4.2. Μέλι Κουμαριάς

Ένα μέλι που ορισμένες φορές παράγεται στην Ελλάδα σε αμιγή μορφή είναι το μέλι κουμαριάς. Είναι ένα ανθόμελο με ιδιαίτερα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά που συλλέγεται κατά το τέλος της μελισσοκομικής χρονιάς. Το μέλι κουμαριάς παράγεται από τα άνθη της κουμαριάς, φυτό που ανήκει στο γένος *Arbutus* L. επίσης στην οικογένεια *Ericaceae*. Υπάρχουν τέσσερα είδη κουμαριάς που απαντώνται στη Μεσόγειο, ωστόσο στην Ελλάδα συναντώνται τα δύο είδη *Arbutus unedo* L. (κουμαριά) και *Arbutus andrachne* L. (γλυκοκουμαριά) καθώς και το φυσικό υβρίδιο *A. x andrachnoides*. Το μέλι της κουμαριάς πρόκειται για ένα καφέ χρώματος με γκριζωπές αποχρώσεις μέλι. Το άρωμα του είναι μέτριο έως δυνατό ενώ έχει πικρή γεύση. Όσο αφορά τα φυσικοχημικά χαρακτηριστικά του, σύμφωνα με έρευνα του Εργαστηρίου Μελισσοκομίας-Σηροτροφίας του τμήματος Γεωπονίας ΑΠΘ, αυτό παρουσιάζει υψηλή υγρασία, οξύτητα και αγωγιμότητα (0,62-0,82 mS/cm). Αντίθετα παρουσιάζει χαμηλές τιμές αθροίσματος γλυκόζης και φρουκτόζης (54,5% - 73,1%)

καθώς και χαμηλές τιμές δράσης του ενζύμου διασάση, ώστε να κατατάσσεται στην κατηγορία των φτωχών σε ένζυμα μελιών. Τέλος αναφορικά με την παρουσία αντιπροσωπευτικών γυρεόκοκκων της στο μέλι, ανήκει στην κατηγορία των φυτών με ολιγάριθμη γύρη με ποσοστό γυρεόκοκκων σε αμιγές μέλι να κυμένεται μεταξύ 10 με 20% (<https://www.melissokomikiepitheorisi.gr/meli-koumarias-022015/#>) . Στην συγκεκριμένη έρευνα εξετάστηκαν τρία δείγματα μελιού κουμαριάς από τις περιοχές Κόνιτσα (Ηπείρος), Θέρμο (Αιτωλοακαρνανία) και Πάρωνα (Λακωνία).

4.3. Θυμαρίσιο μέλι

Το θυμαρίσιο μέλι ανήκει επίσης στην κατηγορία των ανθόμελων. Στην Ελλάδα το θυμαρίσιο μέλι προέρχεται από φυτά της οικογένειας *Lamiaceae* που φύονται στη νότια και κεντρική περιοχή της χώρας, όπως και στα νησιά. Το θυμαρίσιο μέλι στην Ελλάδα προέρχεται κυρίως από το φυτό *Thymbra capitata* (L.) Cav., ενώ συνεισφέρουν επίσης και τα είδη *Satureja thymbra* L. και *Origanum vulgare* L., ενώ η παρουσία του *Thymus serpyllum* L. αναφέρεται σε μικρότερη έκταση. Ανθίζει στις αρχές του καλοκαιριού και τα άνθη δίνουν νέκταρ για περίπου 40 ημέρες. Οι κλιματολογικές συνθήκες αυτή την περίοδο κάνουν ακόμη πιο δύσκολη την παραγωγή μελιού. Το μέλι που παράγεται είναι ανοιχτόχρωμο, με ξεχωριστό και επιθυμητό άρωμα. Πάνω από το 10% της ετήσιας παραγωγής στην Ελλάδα είναι μονόανθο θυμαρίσιο μέλι. Το θυμαρίσιο μέλι θεωρείται μέλι με περιορισμένη παρουσία γυρεόκοκκων φυτών του γένους *Thymus* λόγω της σχετικά μικρής παραγωγής γυρεόκοκκων, που κατά μέσο όρο είναι 2300 γυρεόκοκκοι ανά άνθος και επίσης παρουσιάζει υψηλότερες τιμές δραστηριότητας διασάσης και προλίνης από άλλα μονοανθικά μέλια. Είναι το διασημότερο ελληνικό μέλι από την αρχαιότητα και λόγω των ιδιαίτερων οργανοληπτικών του χαρακτηριστικών είναι η σημαντικότερη κατηγορία ελληνικού μελιού. Η εξαιρετική του ποιότητα, αλλά και η υψηλή εμπορική του αξία, είναι η αιτία που εμφανίζονται περιπτώσεις νοθείας και παραπλάνησης του καταναλωτή (Alissandrakis *et al.*, 2007b; Καραμπουρνιώτη, 2008). Στην συγκεκριμένη έρευνα εξετάστηκαν τέσσερα δείγματα θυμαρίσιου μελιού από τις περιοχές Ηράκλειο (Κρήτη), Νότια Εύβοια, Καρβουνάρι Θεσπρωτίας (Ηπείρος) και Ταΰγετος (Αρκαδία).

4.4. Μέλι Γκιούλμπερι ή Ροδόμελι

Στην κατηγορία των ανθόμελων ανήκει και η ποικιλία «γκιούλμπερι» ή αλλιώς ροδόμελι. Η ονομασία του προέρχεται από το τουρκικό "Γκιούλ - Μπαλ" (μετάφραση: ρόδο - μέλι). Είναι ένα ανθόμελο που συναντάται στην Ελλάδα και κατά κύριο λόγο συλλέγεται από τις παρυφές του όρους Όχη της Ν. Καρυστίας. Το όνομα του οφείλεται στην εξαιρετική γεύση και άρωμα του, που καθώς το γεύεται κάποιος, ανασύρει στη μνήμη του το άρωμα του τριαντάφυλλου. Δεν προέρχεται όμως αποκλειστικά από άγρια τριαντάφυλλα, παράγεται με τη συλλογή νέκταρος κυρίως από το άγριο τσάι και τη ρίγανη, καθώς και από άλλα βότανα, που ανθίζουν στον τόπο κατά τους καλοκαιρινούς μήνες. Στα χρόνια της Οθωμανικής κυριαρχίας της Εύβοιας, το καρυστινό μέλι έφτανε στην αυλή του Σουλτάνου στην Κωνσταντινούπολη, ως φόρος υποτέλειας. Μάλιστα ο τοπικός Οθωμανός αξιωματούχος διατηρούσε στο όνομα του Σουλτάνου το μονοπώλιο του μελιού, με ποινή θανάτου για όσους δε συμμορφώνονταν και προσπαθούσαν να διαθέσουν το μέλι τους αλλού. Τότε είναι που έγινε φημισμένο το μέλι της Καρύστου με το όνομα "Γκιούλμπερι" δηλαδή "Ροδόμελο" ή "Ροδόμελι" στα ελληνικά (Περιοδικό «Κάρυστος», 2024). Λόγω του ότι η συγκεκριμένη ποικιλία δεν είναι κατά κύριο λόγο μονοανθική αλλά προέρχεται από ένα μείγμα γυρέοκοκκων ρίγανης, τσαγιού και άγριου τριαντάφυλλου αλλά και επειδή είναι μία ποικιλία που δεν συναντάται εύκολα σε άλλα μέρη, δεν υπάρχει νομοθεσία για απόδοση αμιγούς χαρακτήρα και κατά συνέπεια δεν υπάρχουν συγκεκριμένα στοιχεία για τα μικροσκοπικά και φυσιολογικά του χαρακτηριστικά ως μονοανθικό μέλι σε ευρωπαϊκό και εθνικό επίπεδο αλλά ούτε και βιβλιογραφικά. Τα δύο δείγματα που παραλήφθηκαν για την συγκεκριμένη έρευνα προέρχονται από τον Άγιο Μάμα (όρος Όχη) και από το Castello Rosso (πρόποδες όρους Όχη).

Πίνακας 4. Ελάχιστο ποσοστό γύρης που απαιτείται για τον χαρακτηρισμό των μονο-ανθικών μελιών σε πέντε ευρωπαϊκές χώρες σύμφωνα με την εθνική τους νομοθεσία: ή διατάξεις, αποφάσεις ή κατευθυντήριες γραμμές τους (Thrasyvoulou et al., 2018).

Pollen grains	Croatia (%)	Greece (%)	Germany (%)	Italy (%)	Serbia (%)
Arbutus unedo	10				
Brassica napus	60	-	80		
Calluna vulgaris	20	-	-		20
Castanea sativa	85	87	90		85
Citrus spp.	10 (5*)	3	20	10	
Gossypium (cotton)		3			
Erica spp.		45	45		
Eucalyptus spp.			85		
General monofloral	45	45	45		
Medicago sativa					>30
Lavandula spp.	10 (5*)				
Phacelia tanacetifolia	60				
Robinia pseudoacacia	20		-		20
Rosmarinus officinalis					20
Salvia officinalis	15 (10*)				
Satureja montana	20				
Taraxacum officinalis					20
Thymus spp.	-	18		15	
Tilia spp.	25 (10*)		20		25
Trifolium, melilotus			70		
Helianthus	-	20	50		40

*Με χαρακτηριστικές οργανοληπτικές ιδιότητες του μελιού για συγκεκριμένα είδη φυτών (άρωμα, γεύση, χρώμα).

4.5. Μέλι Πεύκου

Το πευκόμελο είναι ένα από τα μέλια μελιτωμάτων και συναντάται μόνο στην Μεσόγειο και συγκεκριμένα μόνο στην Ελλάδα και την Τουρκία. Αποτελεί το σημαντικότερο είδος μελιού που παράγεται στην Ελλάδα καθώς αποτελεί το 60-65% της ετήσιας παραγωγής μελιού (Karabagias *et al.*, 2014b). Προέρχεται από τις μελιτώδεις εκκρίσεις του εντόμου *Marchalina hellenica* το οποίο είναι ευρέως γνωστό στον μελισσοκομικό κόσμο ως «εργάτης» ή βαμβακάδα. Παρασιτεί σε τέσσερα είδη πεύκου *Pinus brutia* (τραχεία), *Pinus halepensis* (χαλέπιος), *Pinus silvestris* (δασική), *Pinus pine* (κοινή), ενώ μια μόνο αναφορά υπάρχει για την προσήλωση του και σε δέντρα ελάτης (*Abies cephalonica*). Οι μεγαλύτερες μελισσοκομικές περιφέρειες, όπως η Χαλκιδική, η Θάσος, η Εύβοια, η Κρήτη και η Ρόδος οφείλουν ένα σημαντικό ποσοστό της παραγωγής τους σ' αυτό το έντομο. Εκτός από αυτές τις περιοχές,

πευκόμελο παράγεται και σε άλλες, όπου υπάρχουν πευκοδάση, τα οποία έχουν εμβολιαστεί με τον εργάτη, όπως η Σκόπελος η Ζάκυνθος κ.α. Η παραγωγή σε κάθε περίπτωση σχετίζεται με τις μελιτώδεις εκκρίσεις και αυτές με τη σειρά τους με το βιολογικό κύκλο του εντόμου. Δύο είναι οι κύριοι περίοδοι παραγωγής μελιτώματος: i) Από τον Σεπτέμβριο έως τον Οκτώβριο, ii) Από τον Μάρτιο έως τον Απρίλιο. Η δεύτερη περίοδος μπορεί να μην οδηγήσει σε παραγωγή μελιού, λόγω των κλιματολογικών συνθηκών, αλλά και σε περιπτώσεις παραγωγής το μέλι αυτό χρησιμοποιείται για την ανάπτυξη και το δυνάμωμα του μελισσιού και σπανιότερα για εμπορία, καθώς την άνοιξη ξεκινά η νέα μελισσοκομική περίοδος (ανοιξιάτικο πευκόμελο). Το πευκόμελο έχει τα τυπικά χαρακτηριστικά μελιού μελιτώματος δηλαδή υψηλή συγκέντρωση τέφρας, υψηλό pH και αγωγιμότητα και χαμηλά ανάγοντα ζάχαρα. Το πευκόμελο που παράγεται την Άνοιξη δεν είναι εντελώς όμοιο με εκείνο του Φθινοπώρου. Είναι πιο ανοιχτόχρωμο, πιο διαυγές, έχει ιδιαίτερο άρωμα, η HMF είναι πιο χαμηλή και στο ίζημά του βρίσκονται γυρεόκοκοι πεύκου. Η θρεπτική αξία του πευκόμελου στηρίζεται στο μεγάλο αριθμό διαφορετικών ουσιών που συνυπάρχουν στη σύστασή του. Ξεχωριστή θέση έχουν τα ιχνοστοιχεία τα οποία βρίσκονται σε μεγάλες συγκεντρώσεις στα ελληνικά πευκόμελα χαρακτηρίζοντάς το έτσι ως μέλι με υψηλή θρεπτική αξία. Σύμφωνα με την ελληνική νομοθεσία η ηλεκτρική αγωγιμότητα του ελληνικού μελιού πεύκου πρέπει να είναι μεγαλύτερη από 0,9, ενώ και η παρουσία στοιχείων μελιτώματος πρέπει να είναι σημαντική (Θρασυβούλου *et al.*, 2002; Τανανάκη, 2006; Tsavea *et al.*, 2022). Στην συγκεκριμένη έρευνα εξετάστηκαν τέσσερα δείγματα πευκόμελου από τις περιοχές Χαλκδική, Εύβοια, Ηγουμενίτσα Θεσπρωτίας (Ηπειρος) και Θάσος.

4.6. Μέλι Ελάτης

Η ελάτη αποτελεί σημαντική πηγή εισοδήματος για τον Έλληνα μελισσοκόμο αφού συμβάλλει κατά 5-10% στην ετήσια συνολική παραγωγή μελιού. Στην Ελλάδα απαντάται η ελάτη η κεφαλληνιακή (*Abies cephalonica*) η οποία καλύπτει μεγάλες εκτάσεις στις ορεινές περιοχές νότια του Ολύμπου, στην Ευρυτανία, στο Περούλι, στο Καρπενήσι, στον Ταΰγετο, στην Αρκαδία, στην Πάρνηθα και αλλού. Η ευρωπαϊκή ελάτη (*Abies alba* ή *A. pectinata*) φύτευται σ' όλη την Ευρώπη μέχρι τον Καύκασο και συναντάται μόνο σε μεμονωμένα σημεία των βόρειων ελληνικών συνόρων (βορείως της οροσειράς του Ολύμπου). Στην οροσειρά της Πίνδου συναντάται η υβριδογενής ελάτη (*Abies hydrida* ή *A. borisii*) η οποία είναι προϊόν διασταύρωσης της ευρωπαϊκής

ελάτης με την ελληνική. Έξι είναι τα μελιτογόνα έντομα της ελάτης. Αυτά είναι οι αφίδες *Mindarus abietinus* Koh, *Cinara pectinatae* Nordl και *Cinara confinis* (Koch) και τα κοκκοειδή *Eulecanium sericeum* (Lindiger), *Physokermes piceae* Schrak και *Physokermes hemicryphus* (Dalman). Από τα έντομα αυτά μεγαλύτερη σημασία έχει το τελευταίο, μιας και από τις μελιτώδεις εκκρίσεις του παράγεται η μεγαλύτερη ποσότητα ελατόμελου κατά τα τέλη της άνοιξης με αρχές του καλοκαιριού. Το μέλι ελάτης είναι από τις κατηγορίες ελληνικού μελιού με ιδιαίτερα καλή γεύση και χαρακτηριστική εμφάνιση, που το ξεχωρίζει. Λόγω του χαμηλού ποσοστού γλυκόζης δεν κρυσταλλώνει, γεγονός που το κάνει περιζήτητο για ανάμιξη σε εμπορικούς τύπους. Το χρώμα και η εμφάνιση του ποικίλουν ανάλογα με την περιοχή προέλευσής του. Παρουσιάζει χαμηλό ποσοστό υγρασίας ενώ επίσης το pH του είναι υψηλότερο απ' όλα τα άλλα είδη μελιών μελιτωμάτων (Θρασυβούλου *et al.*, 2002; Τανανάκη, 2006). Στην συγκεκριμένη έρευνα εξετάστηκαν τέσσερα δείγματα από μέλι ελάτης από τις περιοχές Λαμπανίτσα Θεσπρωτίας (Ηπειρος), Αρέντα Καρπενήσι (Ευρυτανία), Ελικώνας (Βοιωτία) και Βαρδούσια Όρη (Ορεινή Φωκίδα).

4.7. Μέλι Βελανιδιάς

Οι μελιτώδεις εκκρίσεις που συλλέγουν οι μέλισσες παράγονται επίσης από δέντρα του γένους *Quercus*, τα οποία ευδοκιμούν στην Ελλάδα τόσο σε πεδινές όσο και σε ορεινές περιοχές με υψόμετρο από 0 έως 1.100 μέτρα. Από τα 500 είδη που υπάρχουν σε όλο τον κόσμο, τα έντεκα βρίσκονται στην Ελλάδα, καλύπτοντας το 25% της συνολικής έκτασης των ελληνικών δασών. Με τον όρο "βελανιδιά" αναφέρονται όλα τα είδη φυλλοβόλων δρυών, όπως η βελανιδιά και η μακεδονική δρυς. Αυτά τα δέντρα φιλοξενούν διάφορα έντομα που παράγουν μελίτωμα, αλλά για τα συγκεκριμένα έντομα στην Ελλάδα δεν υπάρχουν αναφορές ταυτοποίησης. Στα δάση της Κεντρικής Ευρώπης, της Γαλλίας και της Ρουμανίας, όπως έχει αναφερθεί ότι παρασιτούν έντομα όπως τα *Kermes quercus* (L), *Lachnus roboris* (L), *Lachnidae* L. *ilichiphillus* (del Guercio) και *Thelaxes dryophila* (Schrank). Το μέλι που παράγεται από αυτές τις εκκρίσεις είναι σκούρου χρώματος (καφέ-μαύρο) και έχει ιδιαίτερη γεύση η οποία περιλαμβάνει νότες αποξηραμένων φρούτων, μελάσας και καραμέλας. Η παραγωγή του δεν είναι εφικτή κάθε χρόνο, καθώς υπάρχουν αναφορές από περιοχές της Γαλλίας όπου η συγκομιδή μελιού πραγματοποιείται κάθε τέσσερα χρόνια. Στην Ελλάδα, οι μελισσοκόμοι αναφέρουν ότι καταφέρνουν να συλλέξουν καθαρό μέλι βελανιδιάς περίπου κάθε πέντε χρόνια (Τανανάκη, 2006). Σε αντίθεση με το μέλι πεύκου και

ελάτης, για το μέλι βελανιδιάς δεν έχουν θεσπιστεί ακόμα εθνικά νομοθετικά κριτήρια για τα φυσικοχημικά του χαρακτηριστικά και κατά συνέπεια η αξιολόγηση του γίνεται μόνο οργανοληπτικά, ενώ ακολουθεί την νομοθεσία για τα μέλια από μελιτώματα. Τα δείγματα βελανιδιάς που αναλύθηκαν ήταν από τις περιοχές Θέρμο (Αιτ/νία), Μεσολόγγι (Αιτ/νία), Φολόη (Ηλείας), Καστοριά, Δαδιά (Εύρος).



Εικόνα 1. Μελιτώδεις εκκρίσεις σε καρπούς του δέντρου Quercus Ilex (Hernanz et al., 2023).

4.8. Μέλια με Προστατευόμενη Ονομασία Προέλευσης στην Ελλάδα (ΠΟΠ)

Ο χαρακτηρισμός ενός προϊόντος μελιού ως «Π.Ο.Π.» έχει ιδιαίτερη σημασία και αξία, καθώς συμβάλλει στην αύξηση της αναγνωρισιμότητάς του, στην ενίσχυση του εισοδήματος των παραγωγών και στη διευκόλυνση της πρόσβασης σε διεθνείς αγορές, ενώ παράλληλα διασφαλίζει την ποιότητά του. Πρόσφατα, έχουν αυξηθεί οι αναφορές και οι καταγγελίες από Έλληνες παραγωγούς για την κυκλοφορία φθηνών μελιών αμφιβόλου ποιότητας στην ελληνική και ευρωπαϊκή αγορά, τα οποία παράνομα παρουσιάζονται ως ελληνικά προϊόντα. Η κοινοτική καταχώρηση και κατοχύρωση της πραγματικής γεωγραφικής προέλευσης του μελιού λειτουργεί ως «ασπίδα» προστασίας τόσο για τους παραγωγούς όσο και για τους καταναλωτές, προστατεύοντας την παραγωγική διαδικασία και την εμπορική αξιοπιστία από παράνομα προϊόντα.

Το πρώτο ελληνικό μέλι που απέκτησε την πιστοποίηση Προστατευόμενης Ονομασίας Προέλευσης (Π.Ο.Π.) είναι το «Μέλι Ελάτης Μαινάλου Βανίλια», το οποίο αναγνωρίστηκε το 1994. Αυτό το μέλι παράγεται σε μια συγκεκριμένη περιοχή του Μαινάλου στην Αρκαδία, ιδιαίτερα γύρω από την Αλωνίσταινα και τη Βυτίνα.

Το δεύτερο ελληνικό μέλι που πιστοποιήθηκε ως Π.Ο.Π. ήταν το «Πευκοθυμαρόμελο Κρήτης» το 2019.

Επιπλέον, τον Ιούνιο του 2020, υποβλήθηκε αίτηση στο αρμόδιο τμήμα του Υπουργείου Ανάπτυξης και Τροφίμων για την καταχώρηση του μελιού «Κισούρι» από τον Δήμο Καρύστου στο Μητρώο ΠΟΠ-ΠΓΕ-ΕΠΙΠ το οποίο πήρε την πιστοποίηση ΠΟΠ τον Απρίλιο του 2024.

Κάθε ομάδα παραγωγών, είτε ασχολείται με την παραγωγή είτε με τη μεταποίηση μελιού, έχει δικαίωμα να υποβάλει αίτηση για την καταχώρηση μιας ονομασίας στο κοινοτικό μητρώο Προστατευόμενων Ονομασιών Προέλευσης και Προστατευόμενων Γεωγραφικών Ενδείξεων, αρκεί να αποδείξει ότι η προτεινόμενη ονομασία συμμορφώνεται με τους Ευρωπαϊκούς Κανονισμούς. Η αιτούσα ομάδα υποβάλλει το φάκελο του αιτήματος καταχώρισης στην Διεύθυνση Συστημάτων Ποιότητας και Βιολογικής Γεωργίας. Η αξιολόγηση του φακέλου πραγματοποιείται σε δύο στάδια, εθνικό και κοινοτικό, τα οποία συνθέτουν μια σχετικά μακρόχρονη διαδικασία.

4.8.1 Μέλι ΠΟΠ Ελάτης Μαινάλου Βανίλια

Η ονομασία μελιού «Ελάτης-Μαινάλου-Βανίλια» χρησιμοποιείται για τον προσδιορισμό ποιότητας μελιού που παράγεται εντός ζώνης της ελάτης του ορεινού συμπλέγματος του Μαινάλου μετά των γειτονικών περιοχών εικοσιτεσσάρων Δήμων και Κοινοτήτων. Το μέλι αυτό προέρχεται κυρίως από έλατο σε ποσοστό τουλάχιστον 80% ενώ η υπόλοιπη συμμετοχή θα είναι από ανθόμελο (όχι ανώτερο του 20%) από άνθη της περιοχής. Όσο αφορά τις οργανοληπτικές του ιδιότητες, χαρακτηρίζεται από ιδιαίτερη καλή γεύση, έχει ξεχωριστή εμφάνιση είναι ανοιχτόχρωμο και δημιουργεί την αίσθηση αντανυγίων παρουσιάζοντας μια αδιαφάνεια γαλακτώδη – περλέ. Έχει τα φυσικοχημικά χαρακτηριστικά του ελληνικού μελιού ελάτης με τις παρακάτω διαφορές που δίνουν την δική του ταυτότητα.

-Υγρασία 15% κυμαινόμενη από 14 έως 15,5%.

- Φαινόμενη ζαχαρόζη (σακχαρόζη) άνω του 10% με όρια διακύμανσης 8-18% η οποία οφείλεται κατά βάση στον τρισακχαρίτη μελεξιτόζη που έχει σαφή παρουσία σε ποσοστό κ.μ.ο 9%. Το μέλι αυτό δεν κρυσταλλώνει (Hellenic Ministry of Agriculture, 1994).



Εικόνα 2. Δείγμα μέλι ΠΟΠ Έλατο Μαινάλου-Βανίλια.

4.8.2 Μέλι ΠΟΠ Πευκοθύμαρο Κρήτης

Το «Πευκοθυμαρόμελο Κρήτης» αποτελεί φυσική ανάμιξη θυμαρίσιου μελιού με πευκόμελο, παράγεται στη Κρήτη και προκύπτει από την ιδιαίτερη διαχείριση των μελισσιών ή και τη συνύπαρξη όψιμα ανθισμένων θυμαριών με τις μελιτοεκκρίσεις που προέρχονται από το έντομο *Marchalina hellenica* L το οποίο παρασιτεί κυρίως στην τραχεία (*Pinus brutia* Ten) και χαλέπιο πεύκη (*Pinus halepensis* Mill). Όσο αφορά τα φυσικοχημικά του χαρακτηριστικά η αγωγιμότητά είναι $\geq 0,600$ mS/cm, το άθροισμα γλυκόζης και φρουκτόζης ≥ 50 %, το ποσοστό σακχαρόζης ≤ 3 %, η σχετική υγρασία ≤ 17 %, η δράση του ενζύμου διασάση ≥ 8 DN, η υδροξυμεθυλοφουρφουράλη (HMF) ≤ 25 mg/Kg, η ελεύθερη οξύτητα 20-50 meq/Kg, οι μη υδατοδιαλυτές ουσίες $\leq 0,1$ g/100g. Το χρώμα του παρουσιάζει σταθερότητα και κυμαίνεται από 70 έως 130 mm της κλίμακας Pfund. Δεν περιέχει ανιχνεύσιμες συγκεντρώσεις υπολειμμάτων ακαρεοκτόνων και φυτοπροστατευτικών ουσιών με όριο αναλυτικού προσδιορισμού 10 μ g/Kg. Μικροσκοπικά: Το «Πευκοθυμαρόμελο Κρήτης», σύμφωνα με τα χαρακτηριστικά του κατατάσσεται στην ομάδα των μελιών μελιτωμάτων (Δασόμελα) παρουσιάζει όμως την ιδιοτυπία να εμφανίζει στο ίζημά του και γυρεόκοκκους από αριθμό νεκταρογόνων φυτών που ποικίλει και μπορεί να φτάσει ως και τα 20 διαφορετικά είδη σε κάθε δείγμα μελιού. Το κύριο και καθοριστικό είδος είναι το θυμάρι *Coridothymus capitatus* (L.) το οποίο απαντάται σε όλα τα δείγματα σε ποσοστό ≥ 10 % επί του συνόλου των γυρεοκόκκων νεκταροδοτικών ειδών. Ο λόγος στοιχεία μελιτώματος / σύνολο γυρεοκόκκων (HDE/P) κυμαίνεται από 0,5 έως και 6,5. Τα HDE αποτελούνται από σπόρια των *Cladosporium* και *Fumago* και πιο σπάνια των *Altenaria* και *Stemphylium*. Στα στοιχεία μελιτώματος δεν παρατηρούνται τα χαρακτηριστικά σπόρια με τα οξύληκτα άκρα του γένους *Coleosporium* τα οποία εμφανίζονται σ' άλλα μέλια που έχουν ανάμιξη με κάποια ποσότητα πευκόμελου.

Τέλος οργανοληπτικά διακρίνεται από χαρακτηριστικό άρωμα το οποίο οφείλεται κυρίως σε αρωματικές ουσίες οι οποίες προέρχονται από το θυμαρίσιο μέλι. Η γεύση του είναι ήπια λόγω της παρουσίας του πευκόμελου, διαρκής και έχει μέτρια διαύγεια και γλυκύτητα. Στο άρωμα του διακρίνονται τόνοι λουλουδιών, ασθενές άρωμα ξύλου και ρητίνης. Η οσμή του είναι μέτριας έντασης με ελαφρά αίσθηση φρούτων και κεριού, παραμένει ρευστό τουλάχιστο για 12 μήνες από την ημέρα τρύγου.

Η ιδιοτυπία του «Πευκοθυμαρόμελου Κρήτης» στηρίζεται σε φυσικοχημικά μικροσκοπικά και οργανοληπτικά χαρακτηριστικά.

— φυσικοχημικά χαρακτηριστικά: αγωγιμότητα ($\geq 0,600$ mS/cm), υγρασία (≤ 17 %), άθροισμα γλυκόζης και φρουκτόζης (≥ 50 %) και χρώμα (70-130 mm Pfund).

— μικροσκοπικά χαρακτηριστικά: γυρεοκόκκοι θυμαριού ≥ 10 %, απουσία σπορίων του γένους *Coleosporium*.

— οργανοληπτικά χαρακτηριστικά: διακριτό άρωμα και γεύση ευχάριστη και λιγότερο έντονα γλυκιά.

Η χαμηλή συγκέντρωση HMF (≤ 25 mg/Kg), η χαμηλή επίσης συγκέντρωσης σακχαρόζης (≤ 3 %) και οι μη ανιχνεύσιμες συγκεντρώσεις ακαρεοκτόνων και φυτοπροστατευτικών ουσιών (≤ 10 μg/Kg) διακρίνουν ποιοτικά τα προϊόν και στηρίζουν την ιδιοτυπία του (Hellenic Ministry of Agriculture, 2017).



Εικόνα 3. Δείγμα μέλι ΠΟΠ Πευκοθύμαρο Κρήτης.

4.8.3 Μέλι ΠΟΠ Κισσούρι

Το προϊόν “Μέλι Κισσούρι ” είναι μέλι ανθέων και πιο συγκεκριμένα είναι το φθινοπωρινό ερεικόμελο το οποίο παράγεται στην περιοχή της Καρυστίας από μέλισσες που τρυγούν τα άνθη της πορφυρούς ερείκης (*Erica manipuliflora* ή *Erica verticillata*) που φύεται στην περιοχή. Παρουσιάζεται σε υγρή ή κρυσταλλωμένη μορφή.

Η παραγωγή του ξεκινά αργά το καλοκαίρι αφού έχει ολοκληρωθεί ο τρύγος του θυμαρίσιου μελιού. Μετά τα μέσα Ιουλίου τα μελίσσια μεταφέρονται σε περιοχές του όρους Όχη που βρίσκονται σε μεγάλο υψόμετρο (άνω των 600 μέτρων). Στο υψόμετρο αυτό και υπό την προϋπόθεση της ύπαρξης καλοκαιρινών βροχοπτώσεων ξεκινά η ανθοφορία της ερείκης από την οποία οι μέλισσες συγκεντρώνουν νέктar και γύρη. Μέχρι τα μέσα Αυγούστου κάθε έτους πραγματοποιείται ο πρώτος τρύγος του. Στην περίπτωση που δεν υπάρξει καλοκαιρινή βροχόπτωση, καθυστερεί η ανθοφορία της ερείκης και κατ' επέκταση ο πρώτος τρύγος, ο οποίος γίνεται περί τα τέλη Σεπτεμβρίου. Οι μελισσοκόμοι μεταφέρουν σταδιακά, μέχρι το μήνα Δεκέμβριο, τα μελίσσια τους από το μεγάλο υψόμετρο σε χαμηλότερα (μέχρι και το επίπεδο της θάλασσας) ακολουθώντας τη σταδιακή άνθηση της ερείκης η οποία ολοκληρώνεται στις αρχές Δεκεμβρίου σε υψόμετρο που είναι κοντά στο επίπεδο της θάλασσας. Με τον τρόπο αυτό εκμεταλλεύονται πλήρως τη σταδιακή ανθοφορία της ερείκης και τρυγούν τα μελίσσια τους κατά διαστήματα. Μετά την ολοκλήρωση του τρύγου του, οι μελισσοκόμοι διατηρούν στα μελίσσια επαρκείς ποσότητες μελιού προκειμένου να τραφούν οι μέλισσες κατά την περίοδο διαχείμασής τους αποφεύγοντας με τον τρόπο αυτό τη χορήγηση τεχνητής τροφής.

Όσο αφορά τα φυσικοχημικά του χαρακτηριστικά, η περιεκτικότητα σε υγρασία είναι $\leq 19\%$, ο δείκτης διαστάσης (κλίμακα Schade) ≥ 9 , η ηλεκτρική αγωγιμότητα $\leq 0,8$ mS/cm. Η ελεύθερη οξύτητα ≤ 40 meq/Kg, η περιεκτικότητα σε HMF ≤ 30 mg/Kg και η περιεκτικότητα σε σακχαρόζη είναι $\leq 0,2\%$. Οι τιμές των παραπάνω παραμέτρων χαρακτηρίζουν ένα προϊόν με αυστηρά ποιοτικά κριτήρια. Ειδικότερα:

- το ποσοστό υγρασίας είναι κάτω από το όριο των αγορανομικών διατάξεων (20%) για το μέλι και κυμαίνεται κοντά στον μέσο όρο των τιμών που αναφέρει η βιβλιογραφία για τα το ελληνικό μέλι ερείκης.
- η συγκέντρωση της σακχαρόζης είναι πολύ χαμηλότερη από τη μέγιστη τιμή που ορίζουν οι αγορανομικές διατάξεις. Επίσης βρίσκεται στα χαμηλότερα επίπεδα του

εύρους τιμών που αναφέρει η σχετική βιβλιογραφία για το ελληνικό μέλι ερείκης ενώ όπως προκύπτει και από τις αναλύσεις που έχουν πραγματοποιηθεί μπορεί να κινηθεί και σε επίπεδα κάτω του ορίου ανίχνευσης. Η ιδιαίτερα χαμηλή συγκέντρωση της σακχαρόζης αποτελεί ιδιοτυπία του προϊόντος που συνδέεται με την μελισσοκομική πρακτική που εφαρμόζεται στην περιοχή και πιο συγκεκριμένα με την αποφυγή χορήγησης τροφής κατά τη διαχείριση των μελισσών οι οποίες κατά την περίοδο αυτή τρέφονται με την ποσότητα του μελιού που αφήνουν οι παραγωγοί στα μελίσσια.

- η χαμηλή συγκέντρωση της HMF συνιστά ένδειξη της φρεσκάδας αλλά και των καλών χειρισμών των μελισσοκόμων (απουσία χορήγησης τεχνητής τροφής, εξαγωγή και αποθήκευση του μελιού σε φυσικές θερμοκρασίες χωρίς θέρμανση κλπ)

Από τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά του “Μέλι Κισσούρι ” το πιο ιδιαίτερο είναι ότι διατηρεί τη ρευστή του μορφή για μικρό χρονικό διάστημα που κυμαίνεται από 1 μέχρι 3 μήνες. Εν συνεχεία κρυσταλλώνεται (λόγω της μεγάλης συγκέντρωσης γλυκόζης), οι δε κρύσταλλοι που σχηματίζονται είναι σχετικά μεγάλου μεγέθους και γίνονται αντιληπτοί κατά την κατανάλωσή του. Η γεύση του είναι ελαφρώς πικρή, το χρώμα του είναι σκούρο με κόκκινο-χάλκινες αποχρώσεις και το άρωμα του έντονο και μεγάλης διάρκειας. Γυρεοσκοπικά χαρακτηριστικά το επικρατέστερο είδος γύρης είναι γύρη από ερείκη (*Erica manipuliflora* ή *Erica verticillata*). Το ποσοστό των γυρεόκοκκων ερείκης επί του συνόλου των γυρεόκοκκων των νεκταρογόνων φυτών είναι μεγαλύτερο από 65%. Το ποσοστό αυτό είναι σημαντικά υψηλότερο από το ποσοστό που ορίζει η σχετική νομοθεσία για το μέλι ερείκης (ΦΕΚ 239/Β/23-02-2005). Το υπόλοιπο ποσοστό γύρης προέρχεται από γύρες αυτοφυών ποωδών και ημι-θαμνωδών φυτών που απαντώνται στην περιοχή ενώ από αυτό απουσιάζουν γυρεόκοκκοι καλλιεργούμενων ειδών λόγω της πολύ περιορισμένης γεωργικής δραστηριότητας στην περιοχή. Ο συνδυασμός των ανωτέρω γυρεοσκοπικών χαρακτηριστικών αποτελούν ιδιοτυπία του προϊόντος που αντανakλά αφενός τα ιδιαίτερα χαρακτηριστικά της οριοθετημένης περιοχής αφετέρου την μελισσοκομική πρακτική που έχει επικρατήσει στην περιοχή (Hellenic Ministry of Agriculture, 2024).



Εικόνα 4. Δείγμα μέλι ΠΟΠ Κισσούρι Καρυστίας.

5. Βιοδράσεις του μελιού

Ένα διαρκές ζήτημα στην επιστημονική κοινότητα είναι η ανακάλυψη μηχανισμών και εργαλείων που θα αναστείλουν τις κυτταρικές οξειδωτικές διεργασίες και ταυτόχρονα θα συμβάλλουν στην προαγωγή της υγείας. Τα βιολειτουργικά τρόφιμα κατέχουν ξεχωριστή θέση σε αυτή τη συζήτηση, καθώς μπορούν εύκολα να ενσωματωθούν στην καθημερινή μας ρουτίνα, ασκώντας τις ευεργετικές τους ιδιότητες. Ως εκ τούτου, η έρευνα για τη βελτίωση της ευεξίας έχει αυξηθεί σημαντικά τις τελευταίες δεκαετίες, ικανοποιώντας έτσι τις αυξανόμενες απαιτήσεις των καταναλωτών για έναν ισορροπημένο τρόπο ζωής. Παρόλο που η χρήση του μελιού έχει συσχετιστεί από την αρχαιότητα με την πρόληψη αρκετών ασθενειών που σχετίζονται με το οξειδωτικό στρες, μόλις πρόσφατα άρχισαν να τεκμηριώνονται οι ευεργετικές βιολειτουργικές ιδιότητες του μελιού, προσφέροντας μια ολιστική προσέγγιση για τη βιοδραστικότητά του (Kyriazis *et al.*, 2021).

Το μέλι είναι γνωστό όχι μόνο για τη γλυκιά του γεύση αλλά και για τις θετικές επιδράσεις του στην υγεία. Οι λειτουργικές του ιδιότητες το καθιστούν μια φυσική επιλογή για την υποστήριξη της συνολικής ευεξίας και της υγείας. Είναι πλούσιο σε βιοδραστικά συστατικά, όπως αντιοξειδωτικά, φαινολικές ενώσεις, ένζυμα, οργανικά οξέα, αμινοξέα και βιταμίνες, που συμβάλλουν στην υγεία. Ορισμένες από τις βασικές ιδιότητές του περιλαμβάνουν:

- **Αντιοξειδωτική δράση:** Το μέλι περιέχει φλαβονοειδή και φαινολικές ενώσεις που καταπολεμούν τις ελεύθερες ρίζες, προστατεύοντας τον οργανισμό από οξειδωτικό στρες και χρόνιες ασθένειες.

- Αντιμικροβιακή δράση: Η φυσική του οξύτητα και η παρουσία ενζύμων, όπως η γλυκοξειδάση, βοηθούν στην καταπολέμηση βακτηρίων και μικροβίων, καθιστώντας το μέλι χρήσιμο για την επούλωση πληγών και την αντιμετώπιση λοιμώξεων.
- Αντιφλεγμονώδης δράση: Το μέλι μπορεί να μειώσει τη φλεγμονή, καθιστώντας το ευεργετικό για την ανακούφιση από ερεθισμούς στο πεπτικό σύστημα και σε αναπνευστικά προβλήματα.
- Πεπτική υγεία: Το μέλι δρα ως πρεβιοτικό, ενισχύοντας την ανάπτυξη ωφέλιμων βακτηρίων στο έντερο, ενώ βοηθά στην πέψη και καταπραΰνει προβλήματα όπως η καούρα και τα έλκη.
- Επούλωση τραυμάτων και εγκαυμάτων: Η τοπική εφαρμογή μελιού έχει αποδειχθεί ότι επιταχύνει την επούλωση πληγών και εγκαυμάτων λόγω των αντιβακτηριδιακών και υγροσκοπικών του ιδιοτήτων.
- Ανακούφιση από τον βήχα και τον πονόλαιμο: Το μέλι χρησιμοποιείται συχνά ως φυσικό καταπραΰντικό για τον βήχα και τον πονόλαιμο, προσφέροντας άμεση ανακούφιση χάρη στην υγραντική του δράση.

Αλλά και άλλες όπως αντικαρκινικές (Saeed et al., 2014), στον διαβήτη (Yapucu Günes et al., 2007), στο άσθμα (Kamaruzaman *et al.*, 2014), σε καρδιαγγειακές παθήσεις (Khalil et al., 2010) αλλά και σε ορισμένες νευροεκφυλιστικές ασθένειες όπως το Alzheimer και Parkinson (Mijanur Rahman et al., 2014).

Στην συγκεκριμένη έρευνα εξετάστηκε η αντιοξειδωτική δράση και η εκκαθάριση ριζών υδροξυλίου, η αντιφλεγμονώδης δράση και τέλος ο προσδιορισμός των ολικών πρωτεϊνών.

5.1. Αντιοξειδωτική δράση

Ως ελεύθερη ρίζα ορίζεται κάθε άτομο ή μόριο στοιχείου ή χημικής ένωσης το οποίο περιέχει ένα ή περισσότερα μη συζευγμένα ηλεκτρόνια στην εξωτερική στοιβάδα σθένους (Jenkins, 1988). Οι ελεύθερες ρίζες είναι πολύ ασταθείς δομές με σύντομη διάρκεια ζωής αφού αντιδρούν άμεσα με παρακείμενα μόρια, αποσπώντας από αυτά ένα ηλεκτρόνιο με στόχο να συζευχθεί με το δικό τους. Τα μόρια αυτά έτσι μετατρέπονται τα ίδια σε ελεύθερες ρίζες, με αποτέλεσμα τη διαταραχή της μοριακής τάξης και την πυροδότηση μίας αλυσιδωτής αντίδρασης που οδηγεί σε κυτταρική βλάβη. Ωστόσο, οι ελεύθερες ρίζες μπορούν να αντιδρούν και μεταξύ τους σχηματίζοντας διμερή (ή ακόμα και πολυμερή) αν δύο ή περισσότερες από αυτές έρθουν σε επαφή μεταξύ τους. Ο σχηματισμός των ελεύθερων ριζών μπορεί να γίνει με

δυο διακριτούς τρόπους . Ο συνηθέστερος για τα βιολογικά συστήματα είναι μέσω οξειδοαναγωγικών αντιδράσεων. Εναλλακτικά, σχηματισμός ελεύθερων ριζών μπορεί να πραγματοποιηθεί μέσω ομοιοπολικής διάσπασης, κατά την οποία το ζεύγος των ηλεκτρονίων είτε θα παραμείνει στο μητρικό μόριο και θα σχηματιστούν δύο ιόντα, είτε θα διαχωριστεί και θα προκύψουν δύο ρίζες. Τα είδη των ελεύθερων ριζών είναι οι δραστικές μορφές οξυγόνου (Reactive Oxygen Species, ROS), οι δραστικές μορφές αζώτου (Reactive Nitrogen Species, RNS) και οι δραστικοί μεταβολίτες ή ενδιάμεσα (Reactive Metabolites or Intermediates). Οι δραστικές μορφές οξυγόνου είναι εξαιρετικά δραστικές και σε αυτές ανήκουν: το ανιόν σουπεροξειδίου, το υπεροξείδιο του υδρογόνου, η ρίζα υδροξυλίου (αποτελεί το πιο δραστικό είδος ελεύθερων ριζών) και το μονήρες οξυγόνο ή οξυγόνο απλής κατάστασης (Halliwell, 2003; Phaniendra et al., 2015). Οι ελεύθερες ρίζες διαδραματίζουν πολλαπλό ρόλο στον οργανισμό. Χαμηλές συγκεντρώσεις ελεύθερων ριζών έχουν ευεργετικό ρόλο στον οργανισμό διότι είναι απαραίτητες για ορισμένες θεμελιώδεις διεργασίες των κυττάρων όπως η μεταγωγή σήματος και η γονιδιακή έκφραση. Όταν όμως οι συγκεντρώσεις τους ξεπεράσουν κατά τις φυσιολογικές τιμές, σε βαθμό που δεν μπορούν να αντισταθμιστούν από τους ενδογενείς αντιοξειδωτικούς μηχανισμούς (οξειδωτικό στρες), οδηγούν σε πρόκληση σοβαρών βλαβών σε βιομόρια. Πιο συγκεκριμένα, σε αυξημένες τιμές οι ελεύθερες ρίζες έχουν αρνητικές επιδράσεις, εφόσον είναι πολύ δραστικά μόρια που αλληλοεπιδρούν με βασικά δομικά και λειτουργικά στοιχεία του οργανισμού όπως τα λιπίδια, οι πρωτεΐνες και το DNA προκαλώντας αλλοίωση ή καταστροφή τους. Βασικό χαρακτηριστικό είναι ότι σχετίζονται με αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης παθήσεων όπως ο διαβήτης, η αρτηριοσκλήρυνση, νευροεκφυλιστικές νόσοι (Alzheimer, Parkinson) και γήρανση (Halliwell, 2003), ενώ παράλληλα μπορούν να οδηγήσουν σε χρόνια φλεγμονή. Ωστόσο ο οργανισμός έχει ενσωματωμένα συστήματα άμυνας που προστατεύουν ενάντια σε αυτές. Σε αυτά ανήκουν αντιοξειδωτικά ένζυμα, αντιοξειδωτικές ουσίες και άλλοι αμυντικοί μηχανισμοί. Αντιοξειδωτικό ορίζεται κάθε ουσία, που όταν βρίσκεται σε μικρή συγκέντρωση σε σχέση με ένα προς οξείδωση υπόστρωμα μπορεί να καθυστερήσει ή να αναστείλει την οξείδωση του υποστρώματος αυτού. Ο κυριότερος και φυσιολογικός ρόλος των αντιοξειδωτικών είναι η αποφυγή της βλάβης των κυτταρικών συστατικών, ως συνέπεια των χημικών αντιδράσεων από τις οποίες προκύπτουν ελεύθερες ρίζες και η διατήρηση της οξειδοαναγωγικής ομοιόστασης. Μπορεί να παράγονται ενδογενώς από τον οργανισμό ή να είναι μόρια, που προσλαμβάνονται κυρίως μέσω της διατροφής και

συνήθως έχουν μικρό μοριακό βάρος. Ένα μόριο για να θεωρηθεί ότι δρα αντιοξειδωτικά πρέπει έχει την ικανότητα να εξουδετερώνει τις ελεύθερες ρίζες και αφετέρου να σχηματίζει σχετικά αδρανή και λιγότερο δραστικά προϊόντα από τις ρίζες που αδρανοποιεί. Οι οργανισμοί έχουν αναπτύξει μια σειρά από προστατευτικούς μηχανισμούς ούτως ώστε να προστατευτούν από τις βλαβερές επιπτώσεις των ελευθέρων ριζών. Οι μηχανισμοί δράσης των αντιοξειδωτικών μπορεί να είναι ενζυμικοί ή μη ενζυμικοί (Yiannakopoulou, 2009). Ο ενζυμικός κλάδος περιλαμβάνει ενδογενείς πρωτεΐνες, όπως η δισμουτάση του σουπεροξειδίου (SOD), η καταλάση (CAT), η υπεροξειδάση της γλουταθειόνης (GPX) και η αναγωγή της γλουταθειόνης (GR). Ο μη ενζυμικός κλάδος περιέχει μόρια εκτός από πρωτεΐνες που μπορούν να δεσμεύσουν ριζικά μόρια, όπως η βιταμίνη E, η βιταμίνη C, το β-καροτένιο, το συνένζυμο Q-10, το σελήνιο και διάφορα βιοενεργά φυτοχημικά.

Τα φυτοχημικά περιγράφουν ουσίες φυτικής προέλευσης που υπάρχουν στα τρόφιμα, με τις πολυφαινόλες να αποτελούν τις κύριες βιοενεργές ενώσεις και τις πιο μελετημένες για τις πολυδιάστατες βιολογικές τους ιδιότητες. Επιδημιολογικές μελέτες έχουν συσχετίσει την κατανάλωση φρούτων, λαχανικών και βοτάνων με ευεργετικά αποτελέσματα σε χρόνιες ασθένειες, αποδίδοντας τα οφέλη αυτά στις φυτοχημικές τους ιδιότητες. Ο όρος «πολυφαινόλες» αναφέρεται σε πλήθος οργανικών ενώσεων, με μία ή περισσότερες υδροξυλικές ομάδες που είναι άμεσα συνδεδεμένες με έναν ή περισσότερους αρωματικούς δακτυλίους. Η προστατευτική αντιοξειδωτική τους ικανότητα προκύπτει από την ικανότητα των φαινολικών ομάδων να λειτουργούν ως ισχυροί δέκτες ηλεκτρονίων, σχηματίζοντας σταθερές φαινοξυλικές ρίζες (Kyriazis *et al.*, 2021).

5.1.1 Αντιοξειδωτική δράση του μελιού

Έρευνες έχουν δείξει ότι τρόφιμα πλούσια σε αντιοξειδωτικά μπορούν να βοηθήσουν στη ρύθμιση του οξειδωτικού συστήματος και να συμβάλλουν στη βελτίωση της υγείας. Αν και αυτό δεν έχει επιβεβαιωθεί πλήρως μέσω κλινικών δοκιμών, μελέτες *in vivo* έχουν αποδείξει ότι το μέλι μειώνει το οξειδωτικό στρες σε διάφορα όργανα. Το μέλι περιέχει πληθώρα ουσιών, όπως φλαβονοειδή, γλυκοξειδάση, καταλάση, φαινολικά οξέα, ασκορβικό οξύ και καροτενοειδή, που παρουσιάζουν αντιοξειδωτική δράση τόσο *in vitro* όσο και *in vivo*. Πολλές από αυτές τις ουσίες έχουν συνεργατική δράση, γι' αυτό το μέλι θεωρείται φυσικό αντιοξειδωτικό.

Παρόλο που η επεξεργασία και ο χειρισμός του μελιού μπορεί να επηρεάσουν την αντιοξειδωτική του δράση, ο σημαντικότερος παράγοντας που επηρεάζει την ικανότητα αυτή είναι η γεωγραφική και βοτανική προέλευσή του. Αυτό σχετίζεται με την ολική φαινολική περιεκτικότητα του μελιού, με τα μέλια που περιέχουν μεγαλύτερες ποσότητες φαινολικών να παρουσιάζουν υψηλότερη αντιοξειδωτική δράση. Τα πιο σκούρα μέλια, καθώς περιέχουν περισσότερα φαινολικά, συσχετίζονται συχνά με μεγαλύτερη αντιοξειδωτική ικανότητα.

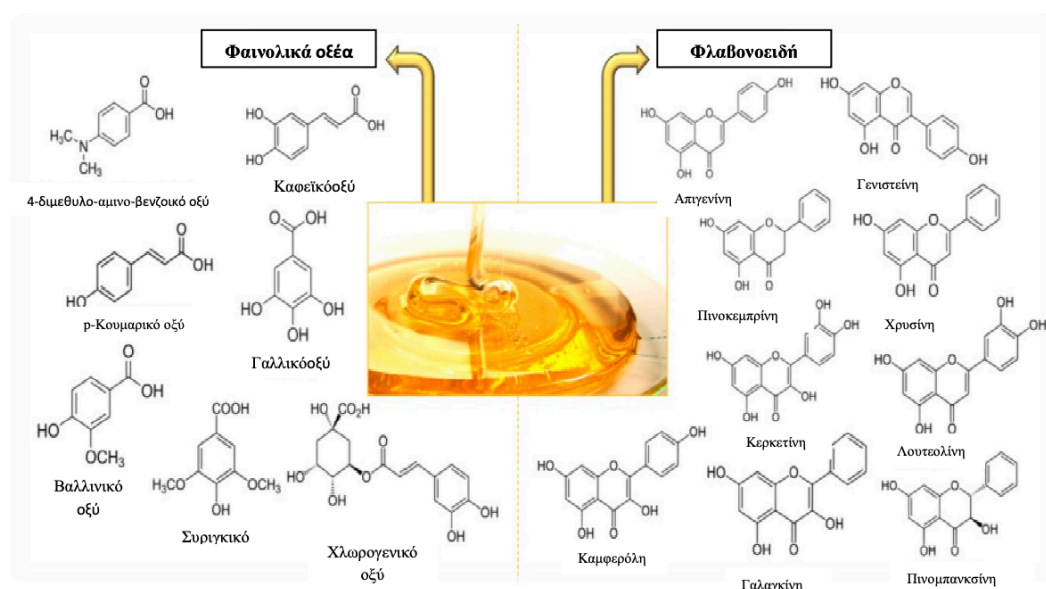
Σε αντίθεση με κλασικά αντιοξειδωτικά, όπως οι βιταμίνες C και E, που μπορούν να μετατραπούν σε προ-οξειδωτικά όταν λαμβάνονται σε μεγάλες ποσότητες, έχει αποδειχθεί ότι το μέλι δεν εμφανίζει αυτή τη συμπεριφορά ακόμα και όταν καταναλώνεται σε μεγαλύτερες δόσεις. Αυτό πιθανόν οφείλεται στο γεγονός ότι το μέλι περιέχει πολλές αντιοξειδωτικές ενώσεις, οι οποίες συνεργάζονται για να επαναφέρουν όποια ουσία μετατραπεί σε προ-οξειδωτική πίσω στην ενεργή αντιοξειδωτική της μορφή (Zammit Young et al., 2023). Σύμφωνα με την επιστημονική βιβλιογραφία, το μέλι που χρησιμοποιείται μόνο του ή σε συνδυασμό με συμβατικές θεραπείες μπορεί να αποτελέσει έναν νέο αντιοξειδωτικό παράγοντα για τον έλεγχο των καταστάσεων που σχετίζονται με το οξειδωτικό στρες (Samarghandian et al., 2017).

Όπως αναφέρθηκε και παραπάνω, οι κύριες ενώσεις που προσδίδουν την αντιοξειδωτική δράση στο μέλι είναι οι πολυφαινόλες. Πρόσφατες έρευνες έχουν δείξει την παρουσία σχεδόν τριάντα τύπων πολυφαινολών στο μέλι. Στο μέλι πολυφαινόλες είναι κυρίως τα φλαβονοειδή και τα φαινολικά οξέα και τα παράγωγά τους. Η ύπαρξη και τα επίπεδα αυτών των πολυφαινολών μπορεί να ποικίλουν ανάλογα με την ανθική προέλευση, τις κλιματικές και γεωγραφικές συνθήκες. Ορισμένες βιοδραστικές ενώσεις, όπως η γκαλανγίνη, η κερκετίνη, η καμφερόλη, η λουτεολίνη και η ισοραμνετίνη, υπάρχουν σε όλους τους τύπους μελιού, ενώ η ναρινγενίνη και η εσπεριτίνη εντοπίζονται μόνο σε συγκεκριμένες ποικιλίες.

Γενικά, οι πιο κοινές φαινολικές και φλαβονοειδείς ενώσεις που υπάρχουν στο μέλι περιλαμβάνουν το γαλλικό οξύ, το συριγγικό οξύ, το ελλαϊκό οξύ, το βενζοϊκό οξύ, το κινναμικό οξύ, το χλωρογενικό οξύ, το καφεϊκό οξύ, την ισοραμνετίνη, τα φουρουλικά οξέα, τη μυρισετίνη, τη χρυσίνη, το κουμαρικό οξύ, την απιγενίνη, την κερκετίνη, την καμφερόλη, την εσπεριτίνη, τη γκαλανγίνη, την κατεχίνη, τη λουτεολίνη και τη ναρινγενίνη.

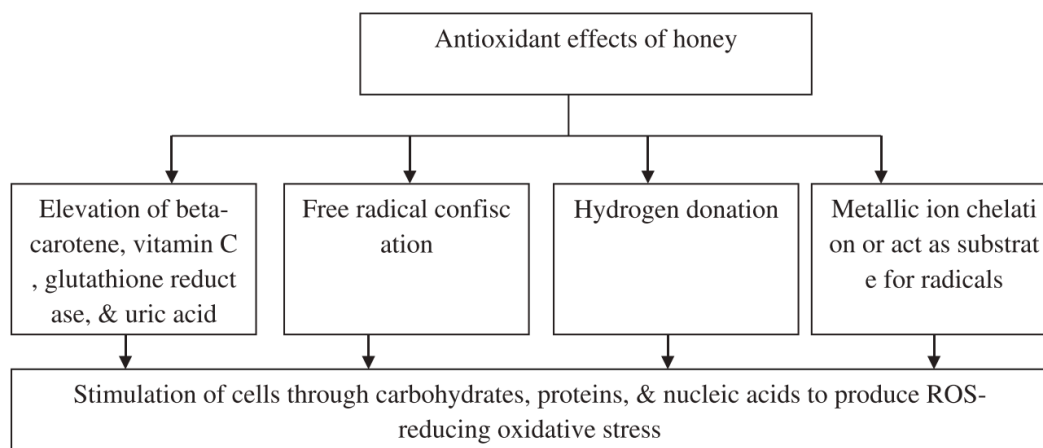
Τα φλαβονοειδή αναφέρονται σε μια ομάδα δραστικών φυσικών ενώσεων με δομή με 15 άνθρακες, αποτελούμενη από δύο βενζολικούς δακτυλίους συνδεδεμένους με έναν

ετεροκυκλικό πυρανοειδή δακτύλιο. Τα φλαβονοειδή του μελιού μπορεί να προέρχονται από την πρόπολη, τη γύρη, αλλά και το νέκταρ ή το μελίτωμα που οι μέλισσες συλλέγουν από τις εκκρίσεις των φυτών ή των εντόμων. Γενικά ταξινομούνται ως φλαβονόλες (κερκετίνη, καμφερόλη), φλαβόνες (λουτεολίνη, απιγενίνη, και χρυσίνη), φλαβανόνες (ναρινγενίνη, πινοσεμπρίνη, και εσπεριτίνη), ισοφλαβόνες (γενιστεΐνη) και ανθοκυανιδίνες. Ορισμένα φλαβονοειδή, συμπεριλαμβανομένων της γενιστεΐνης, της χρυσίνης, της λουτεολίνης και της ναρινγενίνης, έχουν αναφερθεί ότι παρουσιάζουν οιστρογονική δραστηριότητα και συχνά αναφέρονται ως φυτοοιστρογόνα (Samarghandian et al., 2017).



Εικόνα 5. Πολυφαινόλες μελιού : φαινολικά οξέα και φλαβονοειδή. Προσαρμογή από τους (Cianciosi et al., 2018).

Η αντιοξειδωτική δράση του μελιού λοιπόν είναι καλά τεκμηριωμένη, αλλά είναι επιτακτική η ανάγκη να διερευνηθούν σε βάθος οι ακριβείς μηχανισμοί που εμπλέκονται και να επεκταθούν οι μελέτες σε κλινικές δοκιμές. Ο ακριβής αντιοξειδωτικός μηχανισμός δεν είναι ακόμα γνωστός, αλλά οι προτεινόμενοι μηχανισμοί περιλαμβάνουν τη δέσμευση των ελεύθερων ριζών, την δράση ως δότες υδρογόνου, τη χηλίωση μεταλλικών ιόντων και τη δράση των φλαβονοειδών ως υποστρώματα για την εξουδετέρωση των ριζών υδροξυλίου και υπεροξειδίου (Lewoyehu et al., 2019). Στην εικόνα 6 παρουσιάζονται όλοι οι πιθανοί μηχανισμοί που εμπλέκονται στις αντιοξειδωτικές δράσεις του μελιού.



Εικόνα 6. Μηχανισμοί αντιοξειδωτικής δράσης στο μέλι (Lewoyehu et al., 2019).

5.2. Αντιφλεγμονώδης δράση του μελιού

Η φλεγμονή είναι μια προστατευτική απόκριση του ανοσοποιητικού συστήματος που μπορεί να προκληθεί από παθογόνα και μη παθογόνα ερεθίσματα, όπως βακτήρια, μύκητες, παράσιτα, τοξικές ουσίες και τραυματισμούς ιστών. Ωστόσο, η εμφάνιση ανεξέλεγκτης φλεγμονής μαζί με την παρουσία οξειδωτικού στρες θα μπορούσε να οδηγήσει στην ανάπτυξη χρόνιων φλεγμονωδών καταστάσεων. Παρόλο που υπάρχουν αρκετές επιλογές θεραπείας κατά της υποκείμενης λοίμωξης εμφανίζεται ανθεκτικότητα στα αντιβιοτικά και η ανάπτυξη νέων θεραπευτικών στρατηγικών, η αναγνώριση πιθανών υποψηφίων φαρμάκων και εναλλακτικών αντιβιοτικών, είναι απαραίτητη για την πρόληψη και την καταπολέμηση της σήψης, την επίλυση της φλεγμονής και τη διατήρηση της ομοιόστασης.

Το μέλι είναι ένα θρεπτικό υγιεινό προϊόν με γνωστή αντιφλεγμονώδη δράση που μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως εναλλακτική θεραπεία σε ένα ευρύ φάσμα ανθρώπινων οξειών ή χρόνιων φλεγμονωδών διαταραχών, συμπεριλαμβανομένης της επούλωσης πληγών, του άσθματος, του διαβήτη τύπου 2, των καρδιαγγειακών και γαστρεντερικών παθήσεων. Η σύνθεση του μελιού είναι σημαντική καθώς αντανάκλα τις αντιφλεγμονώδεις και αντιμικροβιακές του ιδιότητες. Αποτελείται από μακροθρεπτικά και μικροθρεπτικά συστατικά, τα οποία ποικίλλουν ανάλογα με τη βοτανική πηγή, τα είδη των μελισσών, τις περιβαλλοντικές συνθήκες και τη γεωγραφική προέλευση. Οι αντιφλεγμονώδεις ιδιότητες του μελιού θα μπορούσαν να αποδοθούν στις φαινολικές και φλαβονοειδή του ενώσεις. Το μέλι έχει συσχετιστεί με τις αντιφλεγμονώδεις ιδιότητές του μέσω *in vitro* μελετών (Candiracci *et al.*, 2012), μελετών σε ζώα

(Stavropoulou *et al.*, 2022) και επίσης μέσω κλινικών δοκιμών (Al-Waili, 2003). Μια πληθώρα *in vivo* και *in vitro* μελετών σκιαγραφούν τους πιθανούς αντιφλεγμονώδεις μηχανισμούς του μελιού και των συστατικών του που περιλαμβάνουν μείωση της ρύθμισης των οδών σηματοδότησης NF-κB και MAPK που οδηγούν σε μειωμένα επίπεδα προφλεγμονωδών κυτοκινών, συμπεριλαμβανομένου του παράγοντα νέκρωσης όγκου α (TNF- α), ιντερλευκίνη-6 (IL-6) και IL-1 β . Καταστέλλει επίσης την έκφραση προφλεγμονωδών ενζύμων όπως το COX, που εμπλέκονται στο μεταβολισμό του αραχιδονικού οξέος και την παραγωγή προσταγλανδινών (PG) και του iNOS, που καταλύει την παραγωγή μονοξειδίου του αζώτου (NO). Ένα ευρύ φάσμα αρνητικών και θετικών κατά Gram ευαίσθητων και ανθεκτικών στα αντιβιοτικά βακτηρίων βρέθηκε ότι είναι ευαίσθητα στο μέλι. Η αντιβακτηριακή αποτελεσματικότητα και η ισχύς του μελιού θα μπορούσε να σχετίζεται με τα φυσικοχημικά χαρακτηριστικά του. Η χαμηλή περιεκτικότητα του νερού και η υψηλή συγκέντρωση σακχάρου θα μπορούσαν να προκαλέσουν ωσμωτικό στρες στους μικροοργανισμούς και να αναστείλουν τον πολλαπλασιασμό και την ανάπτυξή τους. Η οξύτητα και το χαμηλό pH λόγω της παρουσίας οργανικών οξέων αυξάνουν την αντιμικροβιακή του αποτελεσματικότητα. Επιπλέον, ορισμένες ενώσεις του μελιού, όπως το υπεροξείδιο του υδρογόνου, τα φαινολικά οξέα και τα φλαβονοειδή, η μεθυλγλυοξάλη και η ντεφενσίνη-1 της μέλισσας βρέθηκαν να είναι ισχυροί αντιμικροβιακοί παράγοντες. Ο τρόπος δράσης του μελιού εξαρτάται από το είδος των βακτηρίων που είναι θετικά κατά Gram ή αρνητικά κατά Gram και η σύνθεσή του. Το μέλι θα μπορούσε να προκαλέσει μορφολογικές και δομικές αλλοιώσεις στο σχήμα, το μέγεθος και τα μαστίγια των βακτηρίων, αναστολή του κυτταρικού κύκλου, μεταβολική διαταραχή, απόφραξη της δραστηριότητας των αντλιών εκροής, μείωση της λοιμογόνου δράσης και αίσθησης απαρτίας και μειωμένη απόκριση των βακτηρίων στο στρες (Stavropoulou *et al.*, 2022). Με περαιτέρω έρευνα και κλινικές δοκιμές σχετικά με αυτή την ιδιότητα του μελιού, μπορεί να παραχθούν νέα φάρμακα από αυτό το φυσικό προϊόν. Αυτά τα φάρμακα ενδέχεται να διαθέτουν όλες τις απαραίτητες αντιφλεγμονώδεις ιδιότητες, μειώνοντας ή εξαλείφοντας εντελώς τις παρενέργειες που συνδέονται με τα φάρμακα που χρησιμοποιούνται για την αντιμετώπιση της χρόνιας φλεγμονής, όπως τα κορτικοστεροειδή και τα μη στεροειδή αντιφλεγμονώδη φάρμακα (Zammit Young *et al.*, 2023).

6. Μέθοδοι αποτίμησης βιοδράσεων και πρωτεϊνών στο μέλι

Λόγω της πολυπλοκότητας των χημικών αλληλεπιδράσεων, δεν είναι δυνατό να χρησιμοποιηθεί μια μοναδική δοκιμή ή μέθοδος για να γίνουν αντιληπτοί όλοι οι αντιοξειδωτικοί παράγοντες σε ένα πολύπλοκο σύστημα. Κατά τη διερεύνηση της αντιοξειδωτικής δράσης και βιοδράσεων σε πολύπλοκα χημικά συστήματα, είναι σημαντικό να χρησιμοποιηθούν διάφορες μέθοδοι που επιτρέπουν την εκτίμηση διαφορετικών πτυχών τους. Κάθε μέθοδος μπορεί να παρέχει διαφορετική πληροφορία ή να αποκαλύψει διάφορες πτυχές της αντιοξειδωτικής δράσης ή των βιοδράσεων. Αντίστοιχα υπάρχουν διάφορες αναλυτικές τεχνικές για τον προσδιορισμό της αντιοξειδωτικής δραστηριότητας σε βιολογικά δείγματα, όπως τρόφιμα και εκχυλίσματα φυτών. Οι διαφορετικές τεχνικές κατηγοριοποιούνται σε τρεις κύριες ομάδες: φασματομετρία, χρωματογραφικές τεχνικές και τεχνικές ηλεκτροχημείας. Από αυτές, οι φασματοφωτομετρικές μέθοδοι θεωρούνται οι πιο κοινές αναλυτικές τεχνικές για τον προσδιορισμό της αντιοξειδωτικής δράσης λόγω της ευαισθησίας τους, της ταχύτητάς τους, του χαμηλού κόστους και της επαναληψιμότητάς τους (Christodoulou *et al.*, 2022).

Οι πιο συχνά χρησιμοποιούμενες μέθοδοι για την εκτίμηση της αντιοξειδωτικής δράσης διαφέρουν ως προς τους μηχανισμούς αντίδρασης. Σε αυτές τις μεθόδους περιλαμβάνονται μέθοδοι που βασίζονται στη μεταφορά ενός ατόμου υδρογόνου όπως η μέθοδος ικανότητας απορρόφησης ριζών οξυγόνου (Oxygen Radical Absorption Capacity ή ORAC), η μέθοδος αντιοξειδωτικής ικανότητας ριζών υδροξυλίου (Hydroxyl Radical Antioxidant Capacity ή HORAC), η μέθοδος αντιοξειδωτικής παραμέτρου παγίδευσης ριζών ολικού υπεροξυλίου (Total Peroxyl Radical Trapping Antioxidant Parameter ή TRAP) και η μέθοδος συνολικής οξυριζικής ικανότητας σάρωσης (Total Oxyradical Scavenging Capacity ή TOSC), αλλά και οι μέθοδοι που βασίζονται στη μεταφορά ενός ηλεκτρονίου. Σε αυτές περιλαμβάνονται η μέθοδος προσδιορισμού αναγωγικής ικανότητας του χαλκού (Cupric Reducing Antioxidant Power ή CUPRAC), η μέθοδος προσδιορισμού αναγωγικής ικανότητας του σιδήρου (Ferric Reducing Antioxidant Power ή FRAP) και η μέθοδος Folin–Ciocalteu. Συνδυασμένες μεθόδους που περιλαμβάνουν τη μεταφορά τόσο ενός ατόμου υδρογόνου όσο και ενός ηλεκτρονίου, περιλαμβάνουν τις μεθόδους 2,20-Αζινοδισ-(3-αιθυλοβενζοθειαζολίνης-6-σουλφονικού οξέος (2,20-Azinobis-(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid ή ABTS) και (2,2-διφαινυλο-1-πικρυλδραζίδιο)

[2,2-di(4-tert-octylphenyl)-1-picrylhydrazyl ή DPPH]. Η μέθοδος ABTS αποτελείται από ένα ενζυματικό σύστημα που περιέχει ένα ένζυμο υπεροξειδάση, το υπόστρωμα οξείδωσής του (υπεροξειδίο του υδρογόνου) και το χρωμοφόρο (ABTS). Μια ρίζα παράγεται από το ABTS και έχει ένα χαρακτηριστικό φάσμα απορρόφησης με μέγιστο στα 414 nm. Στη μέθοδο DPPH (2,2-διφαινυλο-1-πικρυλυδραζίδιο), μετριέται η ικανότητα του αντιοξειδωτικού να αντιδρά με τις ελεύθερες ρίζες του αντιδραστήριου DPPH. Αυτή η ανάλυση στηρίζεται στην αναστολή της δράσης της ελεύθερης ρίζας DPPH• με την προσθήκη ενός ηλεκτρονίου ή της ρίζας H• από ένα αντιοξειδωτικό. Η ρίζα DPPH απορροφά φως στα 515 nm, και με τη μείωση της απορρόφησης λόγω του σχηματισμού του ανηγμένου προϊόντος, υπολογίζεται η αντιοξειδωτική δράση του δείγματος.

Όλες αυτές οι μέθοδοι βασίζονται σε χημικές αντιδράσεις και η αξιολόγηση των κινητικών ή της επίτευξης της κατάστασης ισορροπίας εξαρτάται από τη φασματοφωτομετρία, υποθέτοντας την εμφάνιση χαρακτηριστικών χρωμάτων ή τον αποχρωματισμό των διαλυμάτων που πρόκειται να αναλυθούν. Οι μέθοδοι αυτοί εφαρμόστηκαν με επιτυχία στην αντιοξειδωτική ανάλυση ή στον προσδιορισμό της αντιοξειδωτικής ικανότητας σύνθετων δειγμάτων (Lewoyehu et al., 2019; Christodoulou et al., 2022).

Assay	nm	Principle of Method	Determination	Color Shifting	
				From	To
DPP	515–520	Antioxidant reaction with free organic radicals	Colorimetry		
Folin–Ciocalteu	760–765	The reductive capacity of antioxidants to determine the total phenolic content	Colorimetry		
CUPRAC	450–490	Measures TAC of the reduction of Cu (II) to Cu (I) by antioxidants	Colorimetry		
FRAP	593	Measures the antioxidant potential through the reduction of Fe (III) to Fe (II) by antioxidants	Colorimetry		
ABTS	414, 645–650, 734, 815–820	Measures the relative ability of antioxidants to scavenge the ABTS generated in the aqueous phase	Colorimetry		
ORAC and HORAC	485–525 and 485–535	Antioxidant reaction with peroxy radicals and quench OH radicals generated by a Co(II)-based Fenton-like system	Loss of fluorescence of fluorescein		
TBA-TBARS	532–535	Based on the reactivity of malondialdehyde (MDA) with TBA to produce a red color	Colorimetry		
FOX	550–560	Measure the levels of hydrogen peroxide in biological systems by the oxidation of Fe(II) to Fe(III)	Colorimetry		
FTC	500	Measure the levels of hydrogen peroxide as the ferric ion is converted by an oxidant from a ferrous ion	Colorimetry		
β-Carotene Bleaching Assay	440	Measure the levels of peroxy radicals as β-carotene bleached	Colorimetry		
Hydrogen peroxide scavenging	460	Total oxidant scavenging capacity of antioxidants	Fluorescence		

Εικόνα 7. Φασματοφωτομετρικές παράμετροι κάθε μεθόδου (Christodoulou et al., 2022).

Παρακάτω περιγράφονται αναλυτικότερα οι αρχές των μεθόδων που χρησιμοποιήθηκαν στην παρούσα μελέτη για τον προσδιορισμό της αντιοξειδωτικής δράσης, εκκαθάρισης ριζών υδροξυλίου, αντιφλεγμονώδους δράση και προσδιορισμό ολικών πρωτεϊνών.

6.1. Προσδιορισμός αντιοξειδωτικής δράσης με την μέθοδο Folin-Ciocalteu

Η μέθοδος Folin-Ciocalteu (FC) είναι μια χρωματομετρική δοκιμασία και βασίζεται σε μια αντίδραση οξειδοαναγωγής ενός συγκεκριμένου αντιδραστήριου (αντιδραστήριο FC), ενός διαλύματος ετεροπολυμερικών οξέων φωσφοβολφραμίου-φωσφομολυβδαινίου. Τα φαινολικά ιόντα (αντιοξειδωτικά) στα εκχυλίσματα οξειδώνονται σε αλκαλικό διάλυμα FC, ενώ τα ετεροπολυμερή οξέα ανάγονται όπως φαίνεται στην ακόλουθη χημική αντίδραση.



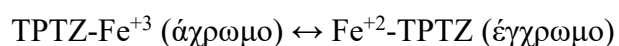
Η αντίδραση σχηματίζει ένα μπλε χρωμοφόρο που είναι ένα σύμπλοκο μολυβδαινίου-βολφραμίου (Mo-W) που μπορεί εύκολα να διαβαστεί φασματοφωτομετρικά στα 765 nm. Η ένταση της απορρόφησης του φωτός σε αυτό το μήκος κύματος είναι ανάλογη προς τη συγκέντρωση των φαινολικών ενώσεων και κατά συνέπεια των αντιοξειδωτικών. Η αλκαλικότητα του αντιδραστήριου FC ρυθμίζεται από κορεσμένο διάλυμα Na_2CO_3 και αποτελεί προϋπόθεση για τον προσδιορισμό των φαινολικών ιόντων χωρίς να επηρεάζεται η σταθερότητα του αντιδραστήριου FC ή το τελικό προϊόν της αντίδρασης.

Η ανάλυση FC δεν είναι ειδική για συγκεκριμένες ομάδες φαινολικών ενώσεων, αλλά χρησιμοποιείται για την αποτίμηση της αντιοξειδωτικής δράσης ενώ ορισμένοι ερευνητές την χρησιμοποιούν για τον προσδιορισμό της συνολικής συγκέντρωσης των φαινολικών ενώσεων (TPC) σε διάφορα εκχυλίσματα. Τυπικά, η αποτίμηση της αντιοξειδωτικής δράσης προσδιορίζεται μέσω μιας πρότυπης καμπύλης γαλλικού οξέος (GA). Προτείνεται το κύριο πολυφαινολικό συστατικό κάθε εκχυλίσματος τροφίμου να χρησιμοποιηθεί ως πρότυπη ένωση. Για παράδειγμα, η χρήση της επιγαλλοκατεχίνης ως πρότυπη είναι προτιμότερη από την GA, όταν η αποτίμηση μετράται σε εκχυλίσματα τσαγιού. Γενικά, η κατεχίνη, η επιγαλλοκατεχίνη και η κερκετίνη χρησιμοποιούνται ως εμπορικά πρότυπα. Ωστόσο, λόγω της περίπλοκης φύσης της αναγνώρισης της κύριας πολυφαινόλης, το GA χρησιμοποιείται ευρέως για εκχυλίσματα τροφίμων, συμπεριλαμβανομένου του μελιού, καθώς αντιπροσωπεύει ένα σταθερό, απλό και φθινό εμπορικό πρότυπο. Η FC μπορεί επίσης να χρησιμοποιηθεί

για τον προσδιορισμό του επιπέδου νοθείας. Οι διαδικασίες θέρμανσης και αραίωσης με σιρόπι ζάχαρης που χρησιμοποιείται κατά τη νοθεία έχει μειωτική επίδραση της FC (Kyriazis *et al.*, 2021).

6.2. Προσδιορισμός αντιοξειδωτικής δύναμης αναγωγής του σιδήρου (Μέθοδος FRAP)

Η μέθοδος αυτή επίσης χρησιμοποιεί τις αντιοξειδωτικές ουσίες ως αναγωγικά σώματα σε μια συνδυασμένη οξειδοαναγωγική-χρωματομετρική αντίδραση, παρουσία ενός οξειδωτικού, της Fe^{+3} -τριπυριδυλοτρίαζίνη (TPTZ- Fe^{+3}), το οποίο απαντά στο διάλυμα δοκιμής σε περίσσεια. Με την αναγωγή σε όξινες συνθήκες το άχρωμο σύμπλοκο Fe^{+3} -τριπυριδυλοτρίαζίνη μετατρέπεται σε έγχρωμο προϊόν με έντονο μπλε χρώμα και με μέγιστο απορρόφησης στα 593nm:

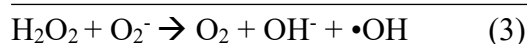
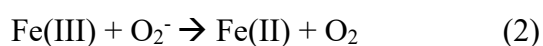
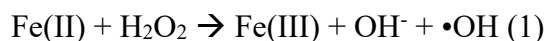


Παρουσία αντιοξειδωτικών ουσιών στο διάλυμα δοκιμής η αντίδραση προχωράει προς τα δεξιά (αναγωγή) και για ένα ορισμένο εύρος συγκεντρώσεων η τιμή της απορρόφησης είναι γραμμική συνάρτηση της συγκέντρωσης της αντιοξειδωτικής ουσίας στο διάλυμα δοκιμής. Άρα μεγαλύτερη απορρόφηση δηλώνει υψηλή αναγωγική ικανότητα του δείγματος, και κατά συνέπεια υψηλή αντιοξειδωτική δράση. Η αντίδραση ανιχνεύει ενώσεις με δυναμικό οξειδοαναγωγής $<0,7 \text{ V}$ (το δυναμικό οξειδοαναγωγής του Fe^{3+} TPTZ) (Lewoyehu *et al.*, 2019).

6.3. Μέθοδος αποτίμησης δέσμευσης ελεύθερων ριζών υδροξυλίου με την μέθοδο φαινανθρολίνης

Οι δραστικές μορφές οξυγόνου, (ROS) παράγονται σε κυτταρικά περιβάλλοντα μέσω μιας σειράς βημάτων ενός ηλεκτρονίου που μετατρέπουν το μοριακό οξυγόνο (O_2) σε νερό (H_2O). Ένα βασικό ενδιαμέσο σε αυτή τη διαδικασία είναι το ανιόν υπεροξειδίου ($\text{O}_2^{\bullet-}$), το οποίο είναι κοινό σε όλους τους αερόβιους οργανισμούς. Αυτό το ανιόν υπεροξειδίου μπορεί να αναχθεί περαιτέρω για να σχηματίσει υπεροξείδιο του υδρογόνου (H_2O_2). Παρά το ενδεχόμενο σχηματισμού ριζών υδροξυλίου ($\bullet\text{OH}$) από αυτά τα αντιδρώντα, είναι καλά τεκμηριωμένο ότι η άμεση αντίδραση μεταξύ $\text{O}_2^{\bullet-}$ και H_2O_2 , γνωστή ως η αντίδραση Haber-Weiss [αντίδραση (3)], προχωρά με αμελητέες ταχύτητες στα βιοχημικά συστήματα.

Η κατάσταση αλλάζει παρουσία μικρών ποσοτήτων σιδήρου ή άλλων ιόντων μεταβατικών μετάλλων. Αυτά τα ιόντα μετάλλων διευκολύνουν το σχηματισμό $\bullet\text{OH}$ μέσω της αντίδρασης Fenton [αντίδραση (1)], όπου το Fe(II) αντιδρά με H_2O_2 για να παράγει $\bullet\text{OH}$ και Fe(III) . Η αντίδραση (2) αναγεννά το Fe(II) από το Fe(III) , διαιωνίζοντας τον κύκλο. Οι πολύ αντιδραστικές ρίζες $\bullet\text{OH}$ που παράγονται μπορούν να επιτεθούν σε διάφορα βιολογικά μόρια, συμπεριλαμβανομένου του DNA (De Avellar *et al.*, 2004).



Υπάρχουν και εφαρμόζονται διαφορετικές μέθοδοι, που είτε αποτιμούν την ικανότητα των αντιοξειδωτικών για δέσμευση των ίδιων των ριζών είτε την ικανότητα για αντίδραση με άλλη ένωση, και η αντίδραση έχει σαν αποτέλεσμα την αποφυγή σχηματισμού ριζών υδροξυλίου. Κατά τη μέθοδο φαινανθρολίνης, αρχικά ιόντα δισθενούς σιδήρου αντιδρούν με την 1,10-φαινανθρολίνη (phen) με σχηματισμό του συμπλόκου $[\text{Fe(phen)}_3]^{2+}$ έντονου κόκκινου χρώματος. Στη συνέχεια με προσθήκη H_2O_2 ο δισθενής σίδηρος οξειδώνεται σε τρισθενή με αποτέλεσμα την καταστροφή του συμπλόκου (αποχρωματισμός), ενώ έχουμε ταυτόχρονη παραγωγή ριζών υδροξυλίου. Η αντίδραση αυτή ονομάζεται αντίδραση Fenton.



Όμως παρουσία αντιοξειδωτικών ενώσεων αναστέλλεται η δράση του H_2O_2 . Η % αναστολή προκύπτει από την μεταβολή στην ένταση της απορρόφησης του συμπλόκου παρουσία και απουσία αντιοξειδωτικών, σε σχέση με την αρχική απορρόφησή του στα 536nm.

6.4. Προσδιορισμός αντιφλεγμονώδους δράσης με την μέθοδο αναστολής της δράσης του ενζύμου λιποξυγενάση (LOX)

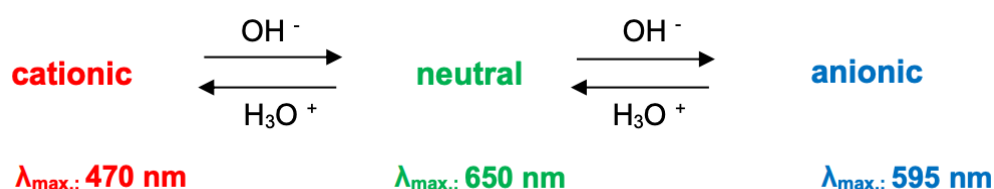
Η μέθοδος της λιποξυγενάσης χρησιμοποιείται ως δείκτης αντιφλεγμονώδους και αντιοξειδωτικής δραστηριότητας. Οι λιποξυγενάσες (LOX) είναι ένζυμα που περιέχουν σίδηρο τα οποία απαντώνται ευρέως στα φυτά και στα ζώα. Καταλύουν την προσθήκη μοριακού οξυγόνου σε λιπαρά οξέα που περιέχουν ένα σύστημα cis,cis-1,4-πενταδιενίου που προέρχεται από υδροϋπεροξειδία ακόρεστων λιπαρών οξέων. Σε κανονικά βιολογικά συστήματα, το ένζυμο 5-λιποξυγενάση καταλύει την οξείδωση των ακόρεστων λιπαρών οξέων που περιέχουν 1-4 πενταδιενικές δομές με το

αραχιδονικό οξύ ως βιολογικό υπόστρωμα μετατρέποντάς τα σε συζευγμένα διένια που έχουν ως αποτέλεσμα τη συνεχή αύξηση του απορρόφηση στα 243 nm. Ωστόσο στην *in vitro* μέθοδο συνηθίζεται να χρησιμοποιείται ως υπόστρωμα το λινολεϊκό οξύ. Η πιο εκτεταμένα μελετημένη μορφή του ένζυμου LOX, είναι το ισοένζυμο 1 από τη σόγια. Αυτό το ένζυμο εμφανίζει έντονη προτίμηση για την οξυγόνωση του υποστρώματος, λινολεϊκού οξέος, στη θέση ω-6, όταν η αντίδραση πραγματοποιείται σε pH 9, παράγοντας 13-υδροπεροξύ-9,11-οκτανοϊκό οξύ. Επομένως, το λινολεϊκό οξύ χρησιμοποιείται συχνά ως υπόστρωμα για να μετρηθεί η αναστολή της δραστηριότητας της λιποξυγενάσης, καθώς το λινολεϊκό οξύ χρησιμοποιείται για να δράσει η λιποξυγενάση. Η % αναστολή αντιπροσωπεύει το βαθμό, όπου το τρόφιμο μπορεί να αναστείλει ή να μειώσει τη δράση της λιποξυγενάσης σε σύγκριση με ένα δείγμα αναφοράς. Συνήθως εκφράζεται ως ποσοστό, με υψηλότερες τιμές να υποδηλώνουν πιο αποτελεσματική αναστολή της δράσης της λιποξυγενάσης. Πολλά φλαβονοειδή και άλλα φαινολικά αναστέλλουν την λιποξυγενάση από σόγια. Αυτή η αναστολή σχετίζεται με την ικανότητά τους να ανάγουν τις μορφές σιδήρου του ενεργού κέντρου σε καταλυτικά ανενεργές σιδηρούχες μορφές. Οι περισσότεροι από τους LOX αναστολείς είναι αντιοξειδωτικά ή καθαριστές ελευθέρων ριζών, δεδομένου ότι η λιποξυγόνωση συμβαίνει μέσω ελεύθερης ρίζας άνθρακα (Ζελιαναίος, 2012; Soler *et al.*, 2016).

6.5. Προσδιορισμός ολικών πρωτεϊνών με την μέθοδο Bradford

Στις μέρες μας, ο προσδιορισμός των πεπτιδίων και των πρωτεϊνών σε δείγματα μελιού προσελκύει την προσοχή των ερευνητών λόγω της σημασίας τους ως πιθανοί στόχοι για φαρμακολογική έρευνα και κλινική διάγνωση. Υπάρχουν δύο ευρέως αποδεκτές μέθοδοι προσδιορισμού των ολικών πρωτεϊνών στο μέλι. Για την συγκεκριμένη έρευνα επιλέχθηκε η μέθοδος Bradford έναντι της Lowry λόγω των μειονεκτημάτων που παρουσιάζει η Lowry όπως ο σχετικά αργός ρυθμός αντίδρασης και μη γραμμικότητα στην προετοιμασία της τυπικής καμπύλης αλλά και το γεγονός ότι η παρουσία καλίου και μαγνησίου στο δείγμα μπορεί να παρεμποδίσει την μέθοδο. Αντίθετα η μέθοδος Bradford αναφέρεται να έχει υψηλότερη ευαισθησία, γρήγορο ρυθμό αντίδρασης (περίπου 2 λεπτά) και πιο σταθερό σύμπλοκο πρωτεΐνης-χρωστικής (περίπου 60 λεπτά) για φασματομετρική μέτρηση. Είναι επίσης κατάλληλη για αυτοματοποίηση, επειδή η μέθοδος Bradford εφαρμόζεται εύκολα και είναι αξιόπιστη για ποικίλες μήτρες δειγμάτων (Azeredo *et al.*, 2003)

Σύμφωνα με την μέθοδο Bradford (1976), όταν η Coomassie Brilliant Blue G-250 δεσμεύεται με πρωτεΐνη, η χρωστική αλλάζει χρώμα από κοκκινωπή σε γαλαζωπή, και το μέγιστο απορρόφησης της χρωστικής μετατοπίζεται από 465 σε 595 nm. Η αλλαγή στην απορρόφηση στα 595 nm είναι ανάλογη με τη συγκέντρωση της πρωτεΐνης στο δείγμα. Όπως και άλλες μέθοδοι δέσμευσης χρωστικών, η μέθοδος Bradford βασίζεται στην αμφοτερική φύση των πρωτεϊνών. Όταν το διάλυμα που περιέχει την πρωτεΐνη οξινίζεται σε pH μικρότερο από το ισοηλεκτρικό σημείο της πρωτεΐνης (ή των πρωτεϊνών) ενδιαφέροντος, η προστιθέμενη χρωστική δεσμεύεται ηλεκτροστατικά. Η αποδοτικότητα της δεσμεύσης ενισχύεται από την υδροφοβική αλληλεπίδραση της χρωστικής με την πολυπεπτιδική αλυσίδα που περιέχει θετικά φορτισμένα αμινοξέα στην πρωτεΐνη.



Εικόνα 8. Εξαρτώμενη απορρόφηση της Coomassie Brilliant Blue G-250 από το pH.

7. Πτητικές ενώσεις στο μέλι

7.1. Συνεισφορά στο άρωμα

Οι πτητικές οργανικές ενώσεις (VOCs) όπως αναφέρθηκε και στην βασική σύσταση, αποτελούν δευτερεύον συστατικά του μελιού και ανήκουν σε διάφορες χημικές κατηγορίες, όπως υδρογονάνθρακες, αλδεΐδες, αλκοόλες, κετόνες, οξέα, εστέρες, βενζόλια και τα παράγωγά του, φουράνια, νορισοπρενοειδή, τερπένια και κυκλικές ενώσεις. Τα τερπένια και τα παράγωγά τους είναι γνωστά ως σημαντικές ενώσεις που παρέχουν γεύση, άρωμα και βιοϊατρικές ιδιότητες στο μέλι. Τα νορισοπρενοειδή έχουν πολύ χαμηλά όρια οσφρητικής αντίληψης (κατόφλια), και έτσι επηρεάζουν έντονα το άρωμα του μελιού. Επιπλέον, τα παράγωγα του βενζολίου μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως πτητικές ουσίες παρακολούθησης της ρύπανσης, αν και έχουν βρεθεί ότι είναι από τις κύριες αντιβακτηριακές πτητικές ενώσεις. Σύμφωνα με προηγούμενες μελέτες, περισσότερες από 600 διαφορετικές ενώσεις έχουν ταυτοποιηθεί στη πτητική φάση του μελιού ενώ ο αριθμός αυτών είναι πιθανό να αυξηθεί, καθώς υπάρχουν μονοανθικά μέλια που δεν έχουν ακόμη χαρακτηριστεί με

βάση την πτητική τους σύνθεση αλλά και λόγω της συνεχούς βελτίωσης της ευαισθησίας των τεχνικών ανάλυσης (Rodríguez-Flores *et al.*, 2021). Οι πτητικές οργανικές ενώσεις μπορούν να προέρχονται από το φυτό ή την πηγή του νέκταρ, από τον μεταβολισμό των φυτικών ενώσεων από τη μέλισσα, από τη θέρμανση ή τη διαχείριση κατά τη διάρκεια της επεξεργασίας και αποθήκευσης του μελιού, ή από μικροβιακή μόλυνση ή περιβαλλοντική ρύπανση. Παρόλο που αποτελούν ένα πολύ μικρό μέρος της συνολικής σύστασης του μελιού, είναι διαφορετικά για κάθε είδος μελιού και συμβάλλουν στον χαρακτηρισμό του αρώματος του προϊόντος (Pattamayutanon *et al.*, 2017; Panseri *et al.*, 2023).

Πίνακας 5. Περιγραφή αρώματος ορισμένων πτητικών οργανικών ενώσεων στο μέλι (Manyi-Loh *et al.*, 2011).

Volatile Compound	Aroma Description
Nonanal	Aldehyde, citrus, fatty
Nonanol	floral Green, spiny
Decanal	Green, sweet, oily
Octanal	Soap, orange, peel, tallow
Linalool	Fat, soap, lemon, green
Benzaldehyde	Sweet, citrus, forest, geranium
Dimethyl sulphide	Sweet, almond, marzipan
Furfural	Sweet, honey, acrid, cooked vegetables, sulphuric
Sinensal (isomer I)	Sweet, fruit, cherry
Sinensal (isomer II)	soft almond
β-damascenone	Sweet, orange
Phenylacetaldehyde	Sweet, orange
Isophorone and cetoisophorone	Fruity, sweet, honey
Benzene and phenolic acids	Sweet, honey-like
Hexanol and hotrienol	Spicy
3-carene-2-ol and spathulenol	Ripe fruit and spicy
γ-butyrolactone, pantolactone and oak lactone	Balsamic and aromatic herb
	Cheese and hay
	Woody, toasty, caramel

7.2 Συνεισφορά ως ενώσεις «δείκτες» για το προφίλ του μελιού

Οι πτητικές ενώσεις του μελιού εκτός από την συνεισφορά τους στο άρωμα (Alissandrakis *et al.*, 2007a; Jerković *et al.*, 2011; Karabagias *et al.*, 2014; Mādaš *et al.*, 2019; Xagoraris, Chrysoulaki, *et al.*, 2021; Escriche *et al.*, 2022), μπορούν να συνεισφέρουν στην δημιουργία ενός προφίλ χαρακτηριστικού για κάθε είδος μελιού μέσω χαρακτηριστικών ενώσεων «δείκτες» που τελικά βοηθάνε στην ταυτοποίηση του δείγματος τόσο για το είδος όσο και για την γεωγραφική του προέλευση με αποτέλεσμα να αποτελεί μία ακόμα μέθοδο για αναγνώριση φαινομένων νοθείας. Οι ενώσεις που μπορούν να χρησιμοποιηθούν για τη διάκριση της ανθικής προέλευσης του μελιού πρέπει να επικεντρώνονται σε ενώσεις που προέρχονται από τα φυτά και τους μεταβολίτες τους, όπως τα τερπένια και τα παράγωγά τους, τα παράγωγα του βενζολίου και τα νορισοπρενοειδή. Αυτές οι ενώσεις είναι χαρακτηριστικές μιας συγκεκριμένης ανθικής προέλευσης, καθώς βρίσκονται μόνο σε ορισμένους τύπους μελιού και θεωρούνται ως "ανθικοί δείκτες". Σε άλλες περιπτώσεις, η ανθική προέλευση καθορίζεται από τη μεγαλύτερη συγκέντρωση ορισμένων ενώσεων σε ορισμένους τύπους μελιού σε σχέση με άλλους ή από την απουσία συγκεκριμένων ενώσεων (Piasenzotto *et al.*, 2003; Aliferis *et al.*, 2010; Karabagias *et al.*, 2020; Sotiropoulou *et al.*, 2021; Quintanilla-López *et al.*, 2022; Tedesco *et al.*, 2022).

Σε μία άλλη προσέγγιση των πτητικών ενώσεων του μελιού οι (Bentivenga *et al.*, 2004) στην έρευνα τους χρησιμοποίησαν την ανάλυση προσδιορισμού πτητικών ενώσεων μέσω GC-MS για τον προσδιορισμό πιθανών ανθρωπογενών ρύπων και συγκεκριμένα την παρουσία βενζοπυρενίου σε δείγματα μελιού στην Νότια Ιταλία.

Παρακάτω παρουσιάζεται ο πίνακας από την έρευνα των (Sotiropoulou *et al.*, 2021) σχετικά με την χρήση της τεχνικής SPME-GC-MS για τον προσδιορισμό πτητικών ενώσεων για τον χαρακτηρισμό της βοτανικής προέλευσης μονοανθικών μελιών που παρουσιάστηκαν βιβλιογραφικά για το διάστημα 2007-2020. Επιπλέον πιο πρόσφατα στις έρευνες των (Karabagias *et al.*, 2022) και (Gialouris *et al.*, 2023) για τον προσδιορισμό ενώσεων «δείκτες» για ελληνικά μέλια βελανιδιάς αναφέρθηκαν για πρώτη φορά οι ενώσεις που μπορούν να θεωρηθούν δείκτες για την συγκεκριμένη ποικιλία στην Ελλάδα και είναι οι eucalyptol, 1-dec-anol, tetradecanoic acid ethyl ester ενώ ο δεύτερος συγγραφέας ανέφερε και την ανίχνευση της 2,3-buta- nediol. Αυτές οι πτητικές ενώσεις συσχετίστηκαν επίσης με τους κυρίαρχους και δευτερεύοντες

γυρεόκκοκους (*Castanea sativa* και *Polygonum aviculare*) του ελληνικού μελιού *Quercus ilex* διαφορετικής προέλευσης.

Πίνακας 6. Τεχνική SPME-GC-MS για τον προσδιορισμό πτητικών ενώσεων «δεικτών» της βοτανικής προέλευσης μονοανθικών μελιών (Sotiropoulou et al., 2021).

Floral Origin	Volatile Compounds as Markers for Botanical Source	Geographical Origin
Acacia	8-Hydroxylinalool, 2-furfural-aldehyde, 2-hexen-1-ol, 2-hydroxycyclopent-2-en-1-one, 2-phenylethyl isothiocyanate, 2-phenylpropenal, 5-hydroxymethylfurfural, decanal, dimethyl palmitamine, hotrienol, lilac aldehyde C, lilac aldehyde D, linalool oxide, myrtenal, octanoic acid, oleic acid, pinocarvone	Romania
	Benzaldehyde, nonanal, phenylacetaldehyde	Poland
	(2 <i>S</i> ,2' <i>R</i> ,5' <i>R</i>)- Lilac aldehyde B, (2 <i>S</i> ,2' <i>R</i> ,5' <i>S</i>)-lilac aldehyde C, hotrienol	Slovakia, Czech Republic, Romania, Germany, Serbia, Georgia, Poland, Moldova
Buckwheat	Furfural, 2-methylbutanoic acid, 3-methylbutanoic acid, 2-methylbutyraldehyde, 3-methylbutyraldehyde	Poland
	3-Methylbutanoic acid, 2-methylbutanal, phenylacetaldehyde	Italy, east Europe
	3-Methylbutanal, butanoic acid, 3-hydroxy-4,5-dimethyl-2(5 <i>H</i>)-furanone, phenylacetaldehyde	Finland
Chestnut	<i>trans</i> -Linalool oxide, hotrienol, (<i>R</i>)-4-terpineol	Italy
	2-Aminoacetophenone, benzaldehyde, acetophenone, nonaic acid, octanoic acid, 3-furaldehyde	Corsica Island
Citrus	Lilac aldehyde, 1- <i>p</i> -menthen-9-al isomers, limonene, methyl anthranilate	Greece
	Linalool, <i>E</i> -linalool oxide, limonene	Greece
	4-Methoxy-benzaldehyde, lilac aldehydes A- D (isomers I-IV), α -4-dimethyl-3-cyclohexene-1-acetaldehyde, 2-cyclohexene-1-propanal, methylanthranilate, linalool, herboxide (isomer II), <i>cis</i> -linalool oxide, dill ether	Greece
<i>Citrus aurantium</i>	(2 <i>S</i> ,2' <i>R</i> ,5' <i>R</i>)- Lilac aldehyde B, (2 <i>S</i> ,2' <i>R</i> ,5' <i>S</i>)-lilac aldehyde C, (2 <i>R</i> ,2' <i>R</i> ,5' <i>S</i>)-lilac aldehyde D	Greece, Italy, France
Fir	Ethyl hexanoate, ethyl heptanoate, ethyl octanoate, ethyl nonanoate, ethyl decanoate, ethyl dodecanoate, ethyl tetradecanoate, 6-methyl-5-hepten-2-one, 2-hydroxy-3,5,5-trimethyl- cyclohex-2-en-one, 1-(2-furanyl)-ethanone, nonane, (Z)-5-methyl-4-nonene, 3,4,5-trimethyl-phenol, nonanal	Greece
	Nonanal	Greece

Συνέχεια Πίνακα 6.

Floral Origin	Volatile Compounds as Markers for Botanical Source	Geographical Origin
Heather	3,4,5-Trimethylphenol, phenylic acid, benzoic acid, β -damascenone, isophorone	Poland
	Isophorone, 2-methylbutyric acid	Estonia
	Hotrienol	Northwest of Iberian Peninsula (Spain, Portugal)
Linden	6-Allyl-o-cresol, allylphenylsulfide, butanoic acid, 3,6-dimethyl-4,5,6,7-tetrahydro-1-benzofuran, 1-methyl-4-(1-methylpropyl)-benzene, <i>trans</i> -dihydrocarvone, <i>o</i> -methylacetophenone, isoneral, isopropyl benzene, geranic acid, sabinene, teresantalol, 2-undecenal, <i>p</i> -cymene, myrtenyl acetate	Romania
	Dimethylstyrene	Poland
	4-Terpineol	Slovakia, Czech Republic, Romania, Hungary, Moldova
Pine	β -Thujone, octane	Greece
	2-Hydroxybenzaldehyde	Greece
Rapessed	3-Methylpentanol, pentanoic acid, ethyl 2-hydroxy-4-methylbenzoate, <i>trans</i> -linalool oxide, $\alpha,\alpha,4$ - trimethylbenzyl alcohol, lilac alcohol C, 3-phenyl propanol, dihydro-5-propyl-2(3 <i>H</i>)-furanone, ethyl decanoate, ethyl 3-hydroxytridecanoate, ethyl dodecanoate, 2,2,4-trimethyl-1,3-pentanediol diisobutyrate, ethyl palmitate, ethyl oleate, ethyl benzoate, 3-methylbutanol	Romania
	Hexanal, <i>p</i> -cymene, 4-methyloctane, cumene, 3-carene-2-ol, β -phellandrene, 4-methyl-2,7-octadiene, 2,6-dimethyl-3,5,7-octatriene, <i>trans</i> -sabinene hydrate, verbenone, 1,3,8- <i>p</i> -menthatriene, <i>p</i> -sec-butyltoluene, <i>o</i> -anisaldehyde, carvacrol	Lithuania
	Benzoic acid, benzyl alcohol	Poland
	(<i>R</i>)-Linalool	Slovakia
	3-Furfural aldehyde, (3,3-dimethylcyclohexylidene) acetaldehyde, 1,3,3-trimethylcyclohex-1-ene-4-carboxaldehyde, <i>p</i> -menthan-3-one, endo-borneol, menthol, myrtenol, verbenone, isopiperitone, <i>p</i> -cymen-7-ol, eugenol, β -calarene, <i>cis</i> -linalool oxide(furanoid), hotrienol	Romania
Sunflower	4-Terpineol, <i>trans</i> -linalool oxide	Slovakia, Ukraine

Συνέχεια Πίνακα 6.

Floral Origin	Volatile Compounds as Markers for Botanical Source	Geographical Origin
Thyme	Formic acid, hexadecanoic acid, 1-octanol, 1-hydroxy-2-propanone, decane	Greece
<i>Thymus capitatus</i>	1,3-Diphenyl-2-propanone, 1-butyl-3-methylbenzene, 3,4,5-trimethoxy benzaldehyde, 3,4-dimethoxy benzaldehyde, vanilline, thymol	Palestine
<i>Thymus capitatus</i>	Phenylacetaldehyde, 1-phenyl-2,3-butanedione, 3-hydroxy-4-phenyl-2-butanone, 3-hydroxy-1-phenyl-2-butanone, 3-hydroxy-4-phenyl-3-buten-2-one	Greece
<i>Thymus capitatus</i>	Pentanoic acid, phenylacetone nitrile	Greece
Algaroba (<i>Prosopis juliflora</i> (Sw.) DC)	Rose oxide	Brazil
Angico (<i>Anadenanthera colubrina</i>)	Benzenethanol	Brazil
Caraway	Benzaldehyde	Lithuania
Chanana (<i>Turnera ulmifolia</i> L.)	D-Sylvestrene	Brazil
Christ's thorn (<i>Paliurus spina-christi</i>)	Nonanal, lilac aldehyde (isomers I-IV), decanoic acid, methyl nonanoate, hexanoic acid, 2-ethylhexanoic acid	Croatia
Cloudberry	1-Propanol, <i>p</i> -cymene, isophorone, citral	Finland
Honey-dew	2,3-Butanethiol, acetic acids isomers	Poland
Juazeiro (<i>Ziziphus juazeiro</i> Mart)	Aromatic aldehydes, benzaldehyde, benzeneacetaldehyde	Brazil
Jurema branca (<i>Mimosa arenosa</i> Willd Poir)	Sulfur compounds, ketones, hexanol, limonene, α -farnesene, δ -cardinene	Brazil
Lacy phacelia	Hexan-1-ol, lavender lactone	Poland
Lingonberry	Vanillin, 3-hydroxy-4,5-dimethyl-2(5H)-furanone, ethyl 3-phenylpropanoate	Finland
Malicia (<i>Mimosa quadrivalvis</i> L.)	Linalool	Brazil
Sweetclover	Phenylacetic acid, (Z)-3-nonenal	Finland
Thistle	Nonanal, furfural, decanal, 3,6-dimethyl-2,3,3a,4,5,7a-hexahydrobenzofuran, benzaldehyde, α -linalool, lilac aldehyde (isomer IV), hotrienol, phenylacetaldehyde, 4-oxoisophorone, benzyl alcohol, 2-phenylethanol, octanoic acid, nonanoic acid, methyl anthranilate	Italy
<i>Thymelaea hirsuta</i>	Benzene propanol, benzylalcohol, hexanol, 4-methoxyphenol	Palestine
<i>Tolpis virgata</i>	3,5-Dihydroxytoluene, tridecane	Palestine
Ulmo	Benzaldehyde, octane, nonanal, 4-methoxybenzaldehyde, isophorone, β -damascenone, lylame, 4-vinylanisole	Chile
Velame branco (<i>Croton heliotropiifolius</i> Kunth)	Volatile acids	Brazil

7.3 Συνεισφορά για τον εντοπισμό φαινομένων νοθείας

Το μέλι συχνά αναγνωρίζεται ως ένα από τα τρόφιμα που υφίστανται συχνότερα απάτες λόγω της υψηλής του τιμής και της περιορισμένης παραγωγής του. Η αυθεντικότητα του μελιού αφορά την προέλευσή του και τον τρόπο παραγωγής του, κάτι που είναι σημαντικό τόσο για τους καταναλωτές όσο και για τους παραγωγούς. Η αυθεντικοποίηση του μελιού είναι επίσης σημαντική για εμπορικούς και υγειονομικούς λόγους. Το μέλι κερδίζει παγκόσμια δημοτικότητα μεταξύ των καταναλωτών που είναι προσανατολισμένοι στην υγεία και επίσης από καταναλωτές που δείχνουν μεγάλο ενδιαφέρον για την προέλευση και την ποιότητα του προϊόντος. Επομένως, η επισήμανση του μελιού για την αποφυγή αθέμιτου ανταγωνισμού και νοθείας έχει γίνει επιτακτική ανάγκη.

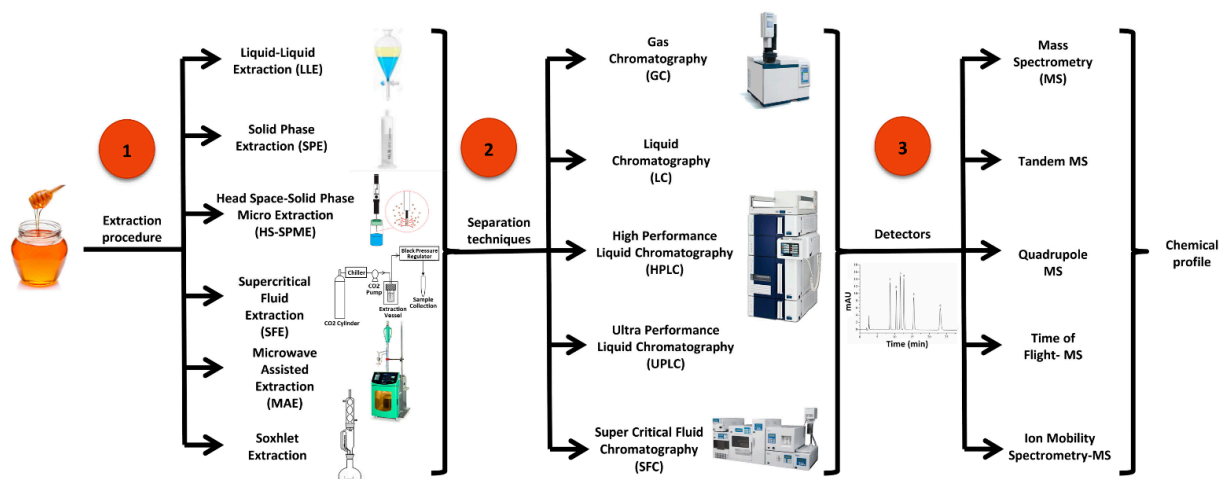
Η μελισσοπαλυνολογία (γυρεοσκοπική ανάλυση), η οργανοληπτική και η φυσικοχημική ανάλυση έχουν παραδοσιακά χρησιμοποιηθεί για τον χαρακτηρισμό της βοτανικής προέλευσης του μελιού. Ωστόσο, αυτές οι προσεγγίσεις είναι χρονοβόρες διαδικασίες που απαιτούν άριστα εκπαιδευμένο προσωπικό ή παρουσιάζουν περιορισμούς για την αυθεντικοποίηση διαφόρων τύπων μελιού. Επίσης σε ορισμένα δείγματα η ανάλυση γύρης μπορεί να μην είναι χρήσιμη, ειδικά όταν το μέλι προέρχεται από στείρα φυτά ενώ σε άλλες περιπτώσεις είναι πιο δύσκολο να προσδιοριστεί η φυτική προέλευση του μελιού μελιτώματος, καθώς η παλυνολογική ανάλυση δεν μπορεί να διεξαχθεί λόγω της φύσης της παραγωγής του. Για να ξεπεραστούν αυτά τα ζητήματα και να βελτιωθεί η ανίχνευση των ολοένα και πιο εξελιγμένων τύπων νοθείας μελιού, έχουν χρησιμοποιηθεί εναλλακτικές προσεγγίσεις βασισμένες σε φασματοσκοπικές τεχνικές όπως υπέρυθρη, Raman και NMR, φασματομετρία μάζας ισοτοπικών λόγων και διάφορες χρωματογραφικές τεχνικές. Στις περισσότερες από αυτές, η χημειομετρική ανάλυση των δεδομένων χρησιμοποιείται για την εξαγωγή συμπερασμάτων σχετικά με την ικανότητα αυτών των μεθόδων για την ταξινόμηση του μελιού. Έχει αναφερθεί ότι η αυθεντικότητα του μελιού μπορεί να διασφαλιστεί με την ανάλυση του αποτυπώματος της πτητικής του σύνθεσης, η οποία επηρεάζεται από τη βοτανική προέλευση καθώς και από τη γεωγραφική προέλευση, τις συνθήκες αποθήκευσης, την επεξεργασία κ.λπ. Η ευαισθησία και η υψηλή ανάλυση που παρέχει η Αέρια Χρωματογραφία σε συνδυασμό με Φασματομετρία Μάζας (GC-MS) έχει καταστήσει αυτή την τεχνική την πιο χρησιμοποιούμενη για την ανάλυση των

σύνθετων μιγμάτων πτητικών ενώσεων που συνήθως υπάρχουν σε διάφορους τύπους μελιού (Quintanilla-López *et al.*, 2022).

8. Προσδιορισμός πτητικών ενώσεων στο μέλι με SPME/GC-MS

8.1 Μέθοδος εκχύλισης

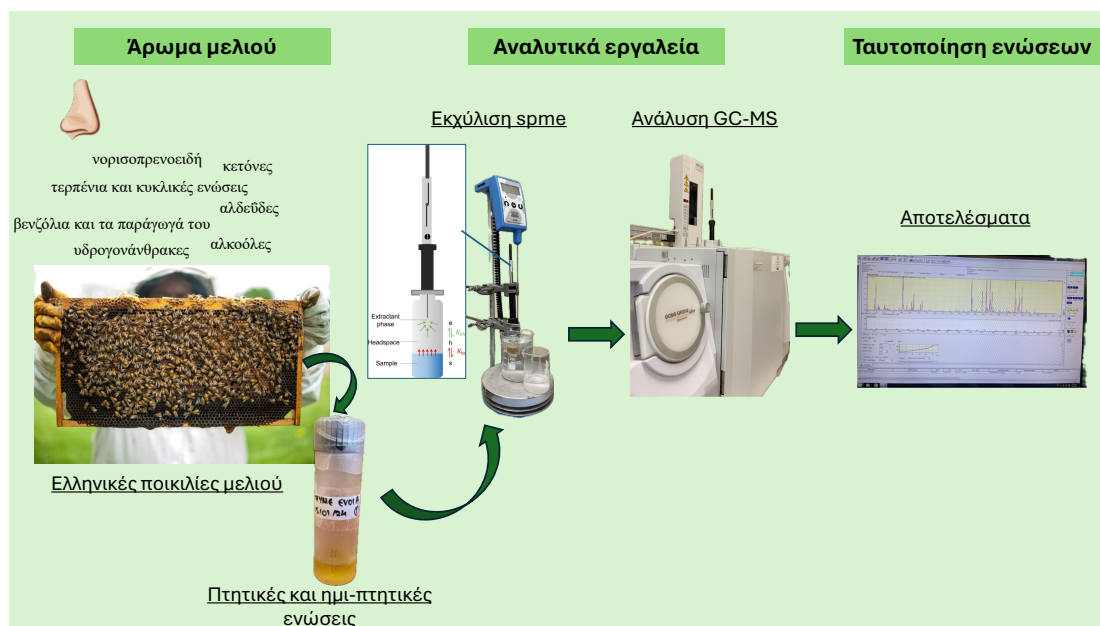
Λόγω της χαμηλής συγκέντρωσής των πτητικών ενώσεων στο μέλι, είναι απαραίτητη η απομάκρυνση των σακχάρων, τα οποία αποτελούν τα κύρια συστατικά του, πριν την απομόνωση των πτητικών ενώσεων. Πολλές μέθοδοι εκχύλισης έχουν χρησιμοποιηθεί για τη συλλογή των πτητικών ενώσεων του μελιού, σε συνδυασμό με ανάλυση GC-MS, προκειμένου να παρέχουν πληροφορίες για την αυθεντικότητα του μελιού με την Μικροεκχύλιση Στερεάς Φάσης (SPME) να αναφέρεται ως η πιο προτιμώμενη στην βιβλιογραφία (Piasenzotto *et al.*, 2003; Alissandrakis *et al.*, 2007a; Robotti *et al.*, 2017; Tedesco *et al.*, 2022). Συγκεκριμένα, η εκχύλιση υγρού- υγρού (LLE) έχει χρησιμοποιηθεί για τον χαρακτηρισμό του μελιού, λόγω της απλότητάς της και του γεγονότος ότι εφαρμόζεται χωρίς θέρμανση. Ωστόσο, αυτή η μέθοδος μπορεί να διαλύσει επίσης μη πτητικές ενώσεις και οι διαλύτες μπορεί να παρεμβάλλονται με τους αναλύτες. Επιπλέον, για την απομόνωση των πτητικών ενώσεων του μελιού, έχει αναφερθεί η ταυτόχρονη απόσταξη-εκχύλιση ατμού (SDE), με σκοπό την αποφυγή της παρέμβασης από σάκχαρα. Το κύριο μειονέκτημα αυτής της μεθόδου είναι η παρουσία μη χαρακτηριστικών ενώσεων στα δείγματα μελιού λόγω έκθεσης στη θερμότητα. Επίσης, μια άλλη συνήθως χρησιμοποιούμενη μέθοδος για την εκχύλιση των πτητικών ενώσεων του μελιού είναι η θερμική εκρόφηση με καθαρισμό και παγίδευση (P&T), η οποία παρέχει υψηλή ευαισθησία για το κλάσμα των υψηλής πτητικότητας ενώσεων, απουσία παρατεταμένων χρόνων θέρμανσης και αναπαραγωγιμότητα που συνδέεται με ένα πλήρως αυτοματοποιημένο σύστημα. Ωστόσο, αυτή η μέθοδος απαιτεί συγκεκριμένες και ακριβές συσκευές. Από την άλλη πλευρά, η τεχνική δειγματοληψίας SPME (Μικροεκχύλιση Στερεάς Φάσης) είναι χωρίς διαλύτες, οικονομική, γρήγορη και απλή. Είναι ιδανική για τη συλλογή πτητικών ενώσεων του μελιού, καθώς παρέχει υψηλή ευαισθησία μαζί με αποτελεσματικότητα και απαιτεί μικρή ποσότητα ακατέργαστου δείγματος. Ωστόσο, η επιλεκτικότητα προσρόφησης της ίνας και η διάκριση μεταξύ των συστατικών πρέπει να ληφθούν υπόψη για τον ποσοτικό προσδιορισμό των πτητικών ενώσεων (Manyi-Loh *et al.*, 2011; Sotiropoulou *et al.*, 2021).



Εικόνα 9. Σχηματική απεικόνιση μεθόδων εκχύλισης, τεχνικών διαχωρισμού και ανίχνευσης των προς ταυτοποίηση πτητικών ενώσεων μελιού (Mohamadzade Namin et al., 2023).

8.2 Μέθοδος ανάλυσης

Η αέρια χρωματογραφία-φασματοσκοπία μάζας (GC-MS) προτείνεται ως μια κατάλληλη τεχνική για τον προσδιορισμό πτητικών ενώσεων με υψηλή ακρίβεια καθώς παρέχει τον διαχωρισμό των πτητικών συστατικών του δείγματος μελιού και στη συνέχεια τις απαραίτητες πληροφορίες για την ταυτοποίησή τους. Είναι μια αναλυτική μέθοδος που συνδυάζει τα χαρακτηριστικά της αέριας χρωματογραφίας και της φασματοσκοπία μάζας για τον εντοπισμό διαφορετικών ουσιών μέσα σε ένα δείγμα ελέγχου βελτιώνοντας την ικανότητα αναγνώρισης των ενώσεων, προσφέροντας έτσι πιο λεπτομερή χαρακτηριστικά των δειγμάτων. Η αέρια χρωματογραφία GC μπορεί να διαχωρίσει αρκετά εύκολα ενώσεις που είναι αέρια, αλλά δεν μπορεί να τις ταυτοποιήσει. Η φασματοσκοπία μάζας MS μπορεί να παρέχει λεπτομερείς δομικές πληροφορίες για τις περισσότερες ενώσεις, επιτρέποντας την ακριβή τους ταυτοποίηση, αλλά δεν μπορεί να τις διαχωρίσει εύκολα (Sotiropoulou *et al.*, 2021).



Εικόνα 10. Απεικόνιση της διαδικασίας ημι-ποσοτικού προσδιορισμού των voc's σε δείγματα μελιού με την τεχνική εκχύλισης SPME και με ανάλυση GC-MS.

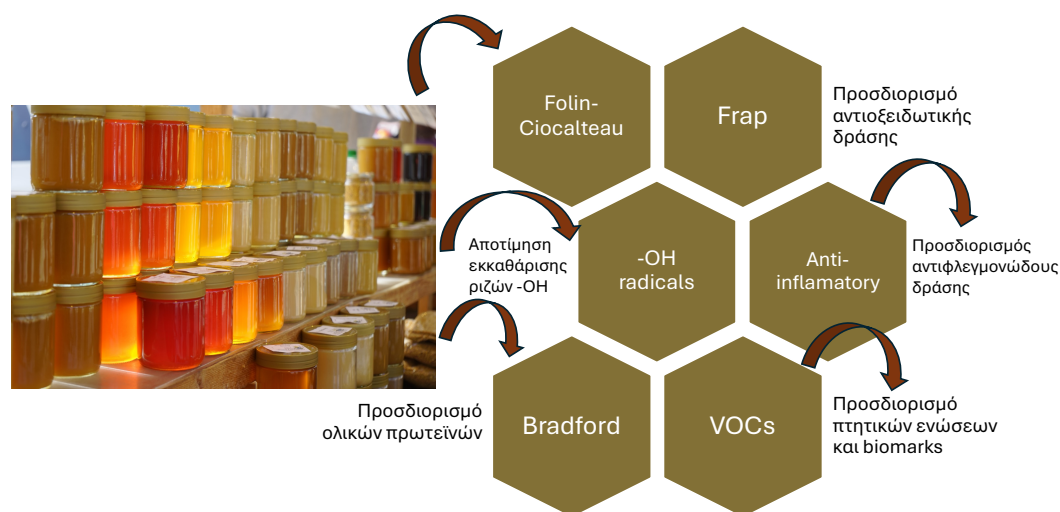
9. Σκοπός

Σκοπός της παρούσας μεταπτυχιακής εργασίας ήταν αφενός η αποτίμηση της αντιοξειδωτικής δράσης, της δέσμευσης ριζών υδροξυλίου, της συνολικής πρωτεΐνης και της αντιφλεγμονώδους δράσης 12 διαφορετικών ειδών μελιού της Ελληνικής υπαίθρου και αφετέρου ο ημιποσοτικός προσδιορισμός των πτητικών οργανικών ενώσεων τους.

Η επιλογή των συγκεκριμένων δειγμάτων βασίστηκε σε συστηματική ανασκόπηση της εθνικής και διεθνούς βιβλιογραφίας γύρω από τα διαφορετικά είδη μελιού ως προς την αντιοξειδωτική τους δράση, με στόχο τη σύγκριση με προϋπάρχοντα αποτελέσματα, καθώς και την παρουσίαση δεδομένων για είδη μελιού που δεν έχουν ακόμη αναφερθεί στη βιβλιογραφία.

Η επιλογή των μεθόδων για τις βιοδράσεις έγινε με βάση την βιβλιογραφία αλλά και την προσπάθεια για να αποκαλυφθούν διάφορες πτυχές της αντιοξειδωτικής δράσης ή των βιοδράσεων, ενώ η μέθοδος εκχύλισης και ανάλυσης για τον προσδιορισμό των επιπέδων των πτητικών ενώσεων έγινε μέσω βιβλιογραφικής ανασκόπησης βελτιστοποιήσεων αλλά και πειραματικών δοκιμών.

Με βάση τα παραπάνω έγινε προσπάθεια για την σύγκριση των βιοδράσεων 12 διαφορετικών ειδών ελληνικού μελιού αλλά και της ταυτοποίησης χαρακτηριστικών πτητικών ενώσεων που βοηθούν στην δημιουργία «προφίλ» του προϊόντος.



Εικόνα 11. Περιληπτική εικονογράφηση που απεικονίζει το αντικείμενο της έρευνας .

Β. ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

1. Δείγματα

Για την συγκεκριμένη έρευνα χρησιμοποιήθηκαν 42 δείγματα ελληνικών μελιών διαφορετικών ποικιλιών. Όλα τα δείγματα που επιλέχθηκαν τρυγήθηκαν την μελισσοκομική χρονιά 2023. Κατά την παραλαβή κάθε δείγματος στο εργαστήριο, έγινε ομογενοποίηση και στην συνέχεια ένα αντιπροσωπευτικό μέρος του μεταφέρθηκε σε γυάλινους περιέκτες των 80g και αποθηκεύτηκε σε σκοτεινό θάλαμο στους 22°C μέχρι την ανάλυση του, όχι περισσότερο από 3 μήνες. Ταυτόχρονα για κάθε δείγμα πάρθηκε αντιπροσωπευτική ποσότητα 3g και αποθηκεύτηκε στην κατάψυξη στους -18°C σε vials των 16ml για τον προσδιορισμό των πτητικών ενώσεων. Τα δείγματα δεν είχαν υποστεί θέρμανση ή κάποια άλλη επεξεργασία και προήλθαν είτε απευθείας από μελισσοκόμους είτε από το συσκευαστήριο μελιού «LV Natural Foods-Λουτσάρης Ευάγγελος ΙΚΕ» (Ηλίας Κάτσιος 5, Αετός Φιλιάτες, 46300). Παρακάτω φαίνεται ο πίνακας με την ημερομηνία και περιοχή τρύγου για κάθε δείγμα. Για κάθε είδος μελιού υπήρχαν τουλάχιστον 3 δείγματα από διαφορετικές περιοχές εκτός από το είδος «γκιούλμπερι» και το «πευκο-θύμαρο» από τα οποία υπήρχαν 2 δείγματα για το καθένα, ενώ συνολικά επιλέχθηκαν και αναλύθηκαν 6 διαφορετικά είδη ανθόμελων και 6 διαφορετικά είδη μελιών μελιτωμάτων. Τέλος όπου ήταν εφικτό επιλέχθηκε να υπάρχει ένα δείγμα από την ευρύτερη περιοχή της Ηπείρου.



Εικόνα 12. Θάλαμος αποθήκευσης δειγμάτων στους 22°C.

Η σύσταση και η ταυτότητα των μελετηθέντων ελληνικών μελιών εξετάστηκε και ήταν σύμφωνη με την ισχύουσα νομοθεσία της ΕΕ 110/2001 αλλά και με την απόφαση αριθ. 127/2004 και το άρθρο 67α του Κ.Τ της εθνικής νομοθεσίας σχετικά με την ταυτοποίηση αμιγών ελληνικών μελιών. Όλα τα δείγματα μελιού αναλύθηκαν από το «Γενικό Χημείο Έρευνας και Αναλύσεων Πασιάς – Ραπτοπούλου» για τις φυσικοχημικές παραμέτρους (δηλαδή περιεκτικότητα σε υγρασία, ελεύθερη οξύτητα, pH, ηλεκτρική αγωγιμότητα, περιεκτικότητα σε σάκχαρα υδροξυμεθυλοφουρφουράλη και διασάση) και ταυτοποιήθηκαν σύμφωνα με τα αποτελέσματα της γυρεοσκοπικής τους ανάλυσης. Οι τιμές για τις φυσικοχημικές παραμέτρους αλλά και τα αποτελέσματα της γυρεοσκοπικής ανάλυσης για κάθε δείγμα φαίνονται στο Παράρτημα.



Εικόνα 13. Γυάλινος περιέκτης των 80g για αποθήκευση δειγμάτων.



Εικόνα 14. Γυάλινος περιέκτης των 15g για αποθήκευση δειγμάτων.

Πίνακας 7. Πίνακας δειγμάτων.

Είδος	α/α	Δείγμα	Τρύγος	Περιοχή	Κωδικοποίηση
ΓΕΝΙΚΑ ΑΝΘΟΜΕΛΑ	1	Μέλι Ανθέων	Αύγ-23	Γρεβενά	A1
	2	Μέλι Ανθέων	Ιούλ-23	Ορεστιάδα, Έβρος	A2
	3	Μέλι Ανθέων	Ιούλ-23	Κόνιτσα, Ιωάννινα	A3
	4	Μέλι Ανθέων	Ιούν-23	Αμύνταιο, Φλώρινα	A4
ΓΚΙΟΥΛ ΜΠΕΡΙ	5	Μέλι Γκιούλμπερι	Ιούλ-23	Άγιος Μάμμας Κάρυστος	Γ1
	6	Μέλι Γκιούλμπερι	Αύγ-23	Castello Rosso Κάρυστος	Γ2
ΕΡΕΙΚΗΣ	7	Μέλι Ερείκης	Ιούν-23	Καλύβια, Αγρινίου	P1
	8	Μέλι Ερείκης	Ιούν-23	Λάβδανη, Ιωαννίνων	P2
	9	Μέλι Ερείκης	Νοέ-23	Ταΰγετος	P3
ΘΥΜΑΡΙ	10	Μέλι Θυμαρί	Ιούλ-23	Ν. Εύβοια	Θ1
	11	Μέλι Θυμαρί	Αύγ-23	Καρβουνάρι, Θεσπρωτία	Θ2
	12	Μέλι Θυμαρί	Ιούλ-23	Ηράκλειο, Κρήτη	Θ3
	13	Μέλι Θυμαρί	Ιούλ-23	Ταΰγετος	Θ4
ΚΙΣΣΟΥΡΙ	14	Μέλι Κισσούρι (Μέλι Ερείκης)	Σεπ-23	Καφηρέας Κάρυστος	ΚΣ1
	15	Μέλι Κισσούρι (Μέλι Ερείκης)	Νοέ-23	Κόμητο Κάρυστος	ΚΣ2
	16	Μέλι Κισσούρι (Μέλι Ερείκης)	Νοέ-23	Όρος ΌΧΗ Κάρυστος	ΚΣ3
	17	Μέλι Ανθέων-Κούμαρο	Δεκ-23	Θέρμο, Αιτ/νίας	Κ1
ΑΝΘΩΝ- ΚΟΥΜΑΡΟ	18	Μέλι Ανθέων-Κούμαρο	Δεκ-23	Κόνιτσα, Ιωάννινα	Κ2
	19	Μέλι Ανθέων-Κούμαρο	Νοέ-23	Πάρωνας	Κ3
ΓΕΝΙΚΑ ΜΕΛΙΤΩΜΑΤΑ	20	Μέλι Μελιτώματος	Ιούλ-23	Λάβδανη, Ιωαννίνων	Δ1
	21	Μέλι Μελιτώματος	Ιούλ-23	Πωγώνι, Ιωάννινα	Δ2
	22	Μέλι Μελιτώματος	Ιούλ-23	Φλώρινα	Δ3
	23	Μέλι Μελιτώματος	Αύγ-23	Χαλκιδική	Δ4
ΒΕΛΑΝΙΔΙΑ	24	Μέλι Βελανιδιάς	Ιούλ-23	Δαδιά, Έβρος	B1
	25	Μέλι Βελανιδιάς	Ιούλ-23	Θέρμο, Αιτ/νίας	B2
	26	Μέλι Βελανιδιάς	Ιούλ-23	Καστοριά	B3
	27	Μέλι Βελανιδιάς	Ιούλ-23	Μεσολόγγι	B4
	28	Μέλι Βελανιδιάς	Ιούλ-23	Φολόη, Ηλείας	B5
ΕΛΑΤΟ	29	Μέλι Έλατο	Ιούλ-23	Ελικώνας, Βοιωτίας	E1
	30	Μέλι Έλατο	Ιούλ-23	Λαμπανίτσα, Θεσπρωτία	E2
	31	Μέλι Έλατο	Ιούν-23	Αρέντα, Καρπενήσι	E3
	32	Μέλι Έλατο	Ιούν-23	Ορεινή Φωκίδα (Βαρδούσια)	E4
ΕΛΑΤΟ- ΒΑΝΙΛΙΑ	33	Μέλι Έλατο-Βανίλια	Ιούν-23	Ερύμανθος, Αχαΐας	EB1
	34	Μέλι Έλατο-Βανίλια	Ιούν-23	Μαίναλος	EB2
	35	Μέλι Έλατο-Βανίλια	Ιούν-23	Μαίναλος	EB3
	36	Μέλι Έλατο-Βανίλια	Ιούν-23	Πάρωνας	EB4
ΠΕΥΚΟ	37	Μέλι Πεύκο	Οκτ-23	Εύβοια	Π1
	38	Μέλι Πεύκο	Σεπ-23	Θάσος	Π2
	39	Μέλι Πεύκο	Νοέ-23	Ηγουμενίτσα, Θεσπρωτία	Π3
	40	Μέλι Πεύκο	Σεπ-23	Χαλκιδική	Π4
ΠΕΥΚΟ- ΘΥΜΑΡΙ	41	Μέλι Πεύκο-Θυμαρί	Σεπ-23	Ηράκλειο, Κρήτης	ΠΘ1
	42	Μέλι Πεύκο-Θυμαρί	Σεπ-23	Κίσσαμος Κρήτη	ΠΘ2



Εικόνα 15. Χάρτης με τις περιοχές δειγμάτων (google maps).

2. Αντιδραστήρια και υλικά

Τα αντιδραστήρια και υλικά που χρησιμοποιήθηκαν είναι τα παρακάτω:

D-(-)-Fructose ($\geq 99\%$), D-(+)-Maltose monohydrate ($\geq 99\%$), D-(+)-Glucose monohydrate ($\geq 99\%$), sucrose ($\geq 99,5\%$) της εταιρίας Sigma Aldrich Co (Saint Louis, MO, USA), κιτρικό οξύ ($C_6H_8O_7$) της Merck (Darmstadt, Germany). Buffer solution pH 4,01 και Buffer solution pH 7,01 της εταιρίας Hanna Instruments (Woonsocket, RI, USA). Folin-Ciocalteu's phenol reagent 2N της εταιρίας Merck KGaA (Darmstadt, Germany), ανθρακικό νάτριο (Na_2CO_3) της εταιρίας Riedel-de Haën (Seelze, Germany). Γαλλικό οξύ της εταιρίας Merck (Darmstadt, Germany). Buffer οξικού οξέος, ένυδρο στερεό οξικό νάτριο ($CH_3COONa \cdot 3H_2O$) της Merck (Darmstadt, Germany), διάλυμα οξικού οξέος (100%) της Carlo Erba S.A.S (Val de Reuil, France),

και υδροξείδιο του νατρίου (NaOH) της Riedel-de Haën (Seelze, Germany). 2,4,6-Tris(2-pyridyl)-s-triazine “TPTZ” ($\geq 99\%$) της Fluka (Buchs, Switzerland), τριχλωριούχο σίδηρο ($\text{FeCl}_3 \geq 97\%$) της Sigma Aldrich Co (Darmstadt, Germany), και υδροχλωρικό οξύ 37% (HCl) της Merck, γαλλικό οξύ (Darmstadt, Germany). Αντιδραστήριο Bradford 5x της Serva (Heidelberg, Germany) και bovine serum albumin της Sigma Aldrich Co (Darmstadt, Germany). Στερεό τριένυδρο όξινο φωσφορικό δικάλιο ($\text{K}_2\text{HPO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$) και στερεό όξινο φωσφορικό κάλιο (KH_2PO_4) της εταιρίας Merck (Darmstadt, Germany) και AnalaR αντίστοιχα. Στερεή μονοένυδρη 1,10 φαινανθρολίνη ($\geq 99.5\%$), στερεός επταένυδρος θειϊκός σίδηρος ($\text{Fe}_2\text{SO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) της Sigma Aldrich Co (Darmstadt, Germany) και διάλυμα υπεροξειδίου του υδρογόνου (H_2O_2) 30% της Merck (Darmstadt, Germany). Καφεϊκό οξύ ($\geq 98\%$) της Sigma Aldrich Co (Darmstadt, Germany). Σκόνη βορικού οξέος και υδροξείδιο του νατρίου (NaOH) της Riedel-de Haën (Seelze, Germany), λινελαϊκό οξύ ($> 99\%$) και λιποξυγενάση σε λυοφυλιωμένη σκόνη > 50000 units/mg της Sigma Aldrich Co (Darmstadt, Germany). Αιθανόλη ($\geq 99.8\%$) της Honeywell (North Carolina, USA) και (+)-κατεχίνη ενυδατωμένη ($\geq 98\%$) της Sigma Aldrich Co (Darmstadt, Germany). 4-μέθυλο-2-πεντανόλη ($\geq 99\%$) της Sigma-Aldrich (Burlington, USA), Ήλιο (He) υψηλής καθαρότητας ($\geq 99,999\%$) από την Linde Gas (Ελλάδα).

Τέλος χρησιμοποιήθηκαν vials των 16mL 71x20.6 mm και βιδωτά καπάκια PP 18mm σε συνδυασμό με παρέμβαση επικαλυμμένο με butyl/PTFE 1.6 mm της Lab Logistics Group GmbH (Meckenheim, Germany) .

3. Όργανα και συσκευές

Τα όργανα τα οποία χρησιμοποιήθηκαν τόσο για τις παρασκευές των αντιδραστηρίων όσο και για την προετοιμασία και μέτρηση των δειγμάτων ήταν τα εξής:

Συσκευή Vortex της εταιρίας Scientific Industries Vortex Genie2 (New York, USA), ηλεκτρονικός αναλυτικός ζυγός τεσσάρων δεκαδικών ψηφίων Kern ABS 220-4N 0,1mg:220g (Lohmar, Germany), λουτρό υπερήχων Bandelin SONOREX RK 100, υδατόλουτρο της Memmert (Schwabach, Germany), pH-μετρο της εταιρίας Consort C831 Multi-Parameter Analyser (Turnhout, Belgium) και φασματοφωτόμετρο UV-Vis της Jenway 6505 (Stone, Staffordshire, UK) χρησιμοποιώντας κυψελίδες υάλινες και χαλαζία του 1 cm της Assistant® (Sondheim, Germany).



Εικόνα 16. Φασματοφωτόμετρο UV-Vis Jenway 6505 (Stone, Staffordshire, UK).

Για την εκχύλιση των πτητικών ενώσεων των δειγμάτων μελιού χρησιμοποιήθηκε μαγνητικός αναδευτήρας θέρμανσης Arex της VELP Scientifica με ψηφιακό θερμορυθμιστή VTF επίσης της VELP Scientifica, μαγνητικός αναδευτήρας επικαλυμμένος με PTFE διαμέτρου 8mm, DVB/CAR/PDMS ίνα των 50/30 μm (2cm) Stableflex, 24Ga από την Supelco (Bellefonte, PA, USA), βάση ίνας SPME της Sigma Aldrich Co (Darmstadt, Germany). Τέλος για τον προσδιορισμό χρησιμοποιήθηκε GC-MS, αέριος χρωματογράφος συζευγμένος με τον ανιχνευτή-φασματομέτρου μάζας, GCMS-QP2010 Ultra της Shimadzu (Kyoto, Japan) με μία DB-5MS μη πολική στήλη ($60\text{ m} \times 320\text{ }\mu\text{m i.d.}, \times 1\text{ }\mu\text{m film thickness}$) της Agilent J&W Scientific (Folsom, CA, USA). Λογισμικό πρόγραμμα ελέγχου και επεξεργασίας δεδομένων LabSolutions GCMS solution της Shimadzu (Kyoto, Japan), ενώ για την ταυτοποίηση των πτητικών ενώσεων χρησιμοποιήθηκαν η βάση δεδομένων φασμάτων μάζας NIST98 (National Institute of Standards and Technology, Washington, D.C., US) και η βιβλιοθήκη Wiley275 (J. Wiley & Sons Ltd., West Sussex, UK).



Εικόνα 17. GCMS-QP2010 Ultra, Shimadzu (Kyoto, Japan).

4. Μέθοδοι

4.1 Πρότυπο μελιού (model honey)

Για τον έλεγχο πιθανής συνεισφοράς των σακχάρων στις αντιδράσεις των μεθόδων, παρασκευάστηκε ένα πρότυπο μελιού που είχε αναλογίες συστατικών 42% w/v φρουκτόζη, 32% w/v γλυκόζη, 6% w/v μαλτόζη, 2% w/v σουκρόζη και 18% v/v απιονισμένο νερό με pH=4,2. Πιο συγκεκριμένα παρασκευάστηκε ως εξής:

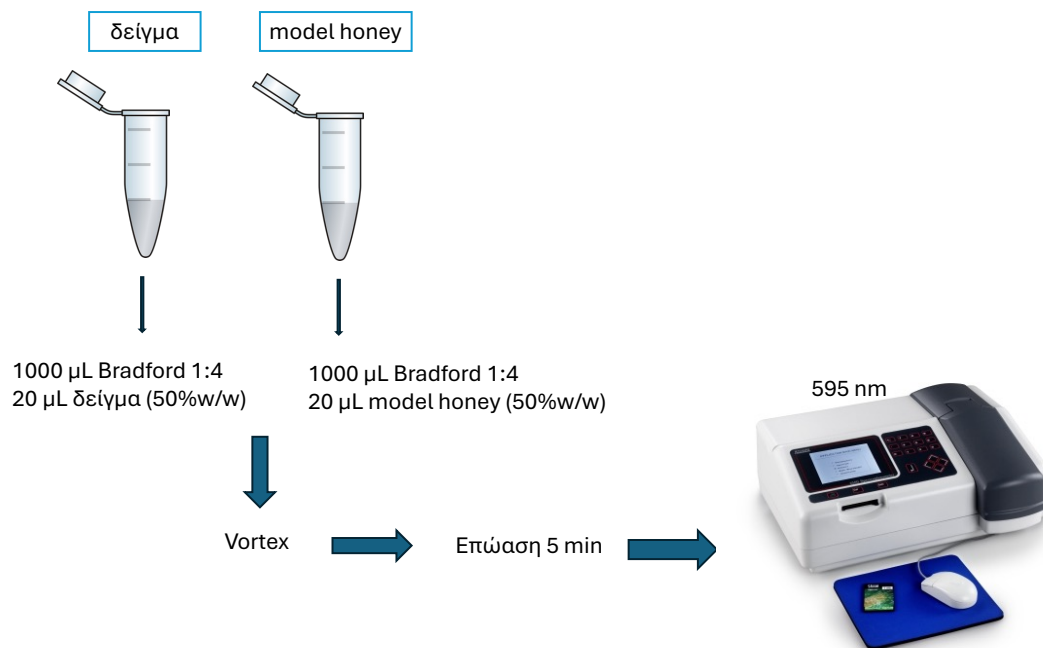
Σε ποτήρι ζέσεως ζυγίστηκαν 4,2 g φρουκτόζη (42% w/v) + 3,2 g γλυκόζη (32% w/v) + 0,6g μαλτόζη (6% w/v) + 0,2g σουκρόζη (2% w/v) + 1,8g απιονισμένο H₂O (18% v/v) και μαγνητική ανάδευση χωρίς θέρμανση. Για να έχει την ίδια περιεκτικότητα με τα δείγματα σε κάθε μέθοδο πραγματοποιήθηκε η κατάλληλη αραιώση με απιονισμένο νερό σύμφωνα με την απαιτούμενη συγκέντρωση σε κάθε μέθοδο και τέλος ρύθμιζατο pH=4,2 με διάλυμα κιτρικού οξέος 0,005M που είχε παρασκευαστεί προηγουμένως. Για κάθε δείγμα παρασκευαζόταν ένα ξεχωριστό model honey κάθε φορά καθώς δεν είχε μεγάλη διάρκεια ζωής.

Επιλέχθηκε η συγκεκριμένη κοινή αναλογία συστατικών και τιμής pH και για τις δύο κατηγορίες μελιού (μελιτώματα και ανθόμελα), ύστερα από πειραματικό έλεγχο που έγινε για όλες τις μεθόδους για δύο διαφορετικά πρότυπα μελιού με αναλογία για τα ανθόμελα : 44% w/v φρουκτόζη, 34% w/v γλυκόζη, 2,5% w/v μαλτόζη, 2% w/v σουκρόζη και 17,5% v/v απιονισμένο νερό με pH=4,2 και για τα μελιτώματα : 42% w/v φρουκτόζη, 30,5% w/v γλυκόζη, 8% w/v μαλτόζη, 2% w/v σουκρόζη και 17,5% v/v απιονισμένο νερό με pH=4,9 και ταυτόχρονα μέτρηση των τιμών απορρόφησης απιονισμένου νερού ρυθμισμένου με pH=4,2 και pH=4,9 στην θέση του δείγματος για κάθε μέθοδο. Τα αποτελέσματα της σύγκρισης των δύο πρότυπων μελιών δεν έδειξαν

σημαντικές διαφορές σε καμία από τις μεθόδους όπως και η ρύθμιση του pH και για αυτό επιλέχθηκε μία μέση αναλογία τόσο για κατανάλωση λιγότερων αντιδραστηρίων όσο και για μείωση του πειραματικού χρόνου. Η επιλογή της συγκεκριμένης αναλογίας έγινε με βάση τις αναλογίες που επέλεξαν σε παρόμοιες έρευνες των (Piljac-Žegarac, 2009; Tsavea *et al.*, 2022) αλλά και από τις μελέτες των (Bergamo *et al.*, 2019; Seraglio *et al.*, 2019) σχετικά με τις διαφορές των δύο μεγάλων κατηγοριών μελιού. Συνεπώς οι τιμές που προέκυψαν για την αποτίμηση των επιπέδων αντιοξειδωτικής δράσης, εκκαθάρισης ριζών υδροξυλίου και αντιφλεγμονώδους δράσης, αντανακλούν κατά προσέγγιση την συνεισφορά των υπόλοιπων συστατικών του μελιού πλην των σακχάρων.

4.2 Προσδιορισμός ολικών πρωτεϊνών με την μέθοδο Bradford

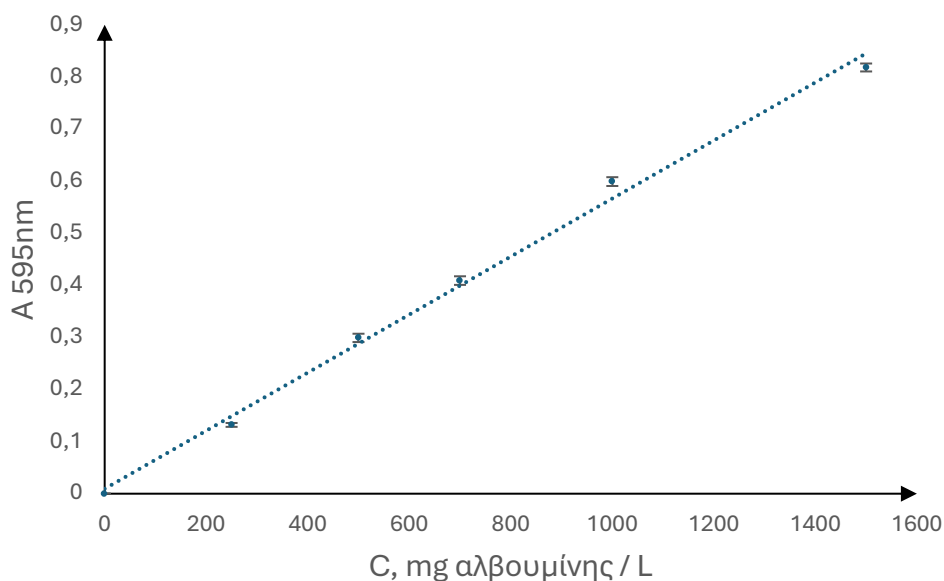
Ο προσδιορισμός των ολικών πρωτεϊνών έγινε με το αντιδραστήριο Bradford 5x σύμφωνα με τις οδηγίες του κατασκευαστή SERVA Electrophoresis GmbH (Heidelberg, Germany). Σε Eppendorf των 1,5 mL προστίθενται 1 mL αραιωμένο αντιδραστήριο Bradford (1:4) και 20 μ L διαλύματος μελιού περιεκτικότητας 50% w/w. Πραγματοποιείται ανάδευση με vortex και επώαση στο σκοτάδι για 5 min. Παράλληλα παρασκευάζεται με τον ίδιο τρόπο τυφλό δείγμα που στην θέση του δείγματος έχει πρότυπο διάλυμα μελιού ίδιας συγκέντρωσης με το δείγμα που είχε παρασκευαστεί προηγουμένως ρυθμισμένο σε pH=4,2 με κιτρικό οξύ 0,005M με σκοπό την εξάλειψη των παρεμβολών από τα αναγωγικά σάκχαρα στην αντίδραση. Μετά από 5 min μετράται η απορρόφηση στα 595 nm, ενώ γίνεται μηδενισμός του φωτομέτρου με το τυφλό.



Εικόνα 18. Απεικόνιση βημάτων πειραματικής διαδικασίας προσδιορισμού ολικών πρωτεϊνών.

Η καμπύλη βαθμονόμησης με γραμμικό τύπο $y=0,0006x+0,0094$, $R^2 = 0,9948$ προετοιμάστηκε με πρότυπη ένωση αλβουμίνη (BSA) σε συγκεντρώσεις 0 mg/L, 250 mg/L, 500 mg/L, 700 mg/L, 1000 mg/L, 1500 mg/L και τα αποτελέσματα εκφράστηκαν ως mg ισοδύναμων αλβουμίνης (BSA) ανά Kg μελιού (mg BSA / Kg μελιού).

Η εξίσωση ευθείας που προκύπτει φαίνεται στο παρακάτω διάγραμμα.



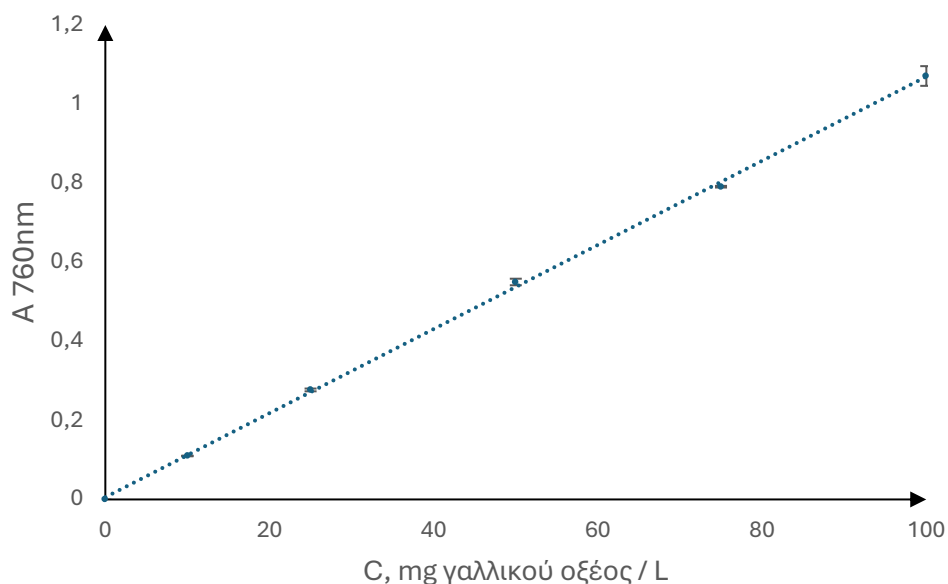
Διάγραμμα 1. Πρότυπη καμπύλη αλβουμίνης (BSA) για τον προσδιορισμό των πρωτεϊνών με την μέθοδο Bradford.

4.3 Αποτίμηση αντιοξειδωτικής δράσης με τη μέθοδο Folin-Ciocalteu (FC)

Η αποτίμηση της αντιοξειδωτικής δράσης στο μέλι πραγματοποιήθηκε χρησιμοποιώντας το αντιδραστήριο Folin-Ciocalteu σύμφωνα με τη μέθοδο των (Dzogan *et al.*, 2018). Σε εppendorf των 2 mL προστέθηκαν 0,2 mL διαλύματος μελιού ($1 \text{ g } 10 \text{ mL}^{-1}$) και αναμίχθηκαν με 1,0 mL αντιδραστηρίου Folin-Ciocalteu 10% v/v με vortex για 5min. Στην συνέχεια προστέθηκαν 0,8 mL 7,5 % w/v ανθρακικού νατρίου (Na_2CO_3) και ξανά ανάδευση. Μετά από επώαση στο σκοτάδι σε θερμοκρασία δωματίου για 120 λεπτά, η απορρόφηση μετρήθηκε φασματοφωτομετρικά στα 760 nm έναντι του τυφλού. Για τυφλό χρησιμοποιήθηκε στην θέση του δείγματος 0,2 mL πρότυπου διαλύματος μελιού ίδιας συγκέντρωσης με το δείγμα που είχε παρασκευαστεί προηγουμένως ρυθμισμένο σε $\text{pH}=4,2$ με κιτρικό οξύ 0,005M με σκοπό την εξάλειψη των παρεμβολών από τα αναγωγικά σάκχαρα στην αντίδραση.

Η καμπύλη βαθμονόμησης με γραμμικό τύπο $y=0,0106x+0,0056$, $R^2 = 0,9996$ παρασκευάστηκε με πρότυπη ένωση το γαλλικό οξύ (GA) σε συγκεντρώσεις 0 mg/L, 10 mg/L, 25 mg/L, 50 mg/L, 75 mg/L, 100 mg/L. Τα αποτελέσματα εκφράστηκαν ως mg ισοδύναμα γαλλικού οξέος (GAE) ανά Kg (mg Kg^{-1}) μελιού.

Η εξίσωση ευθείας που προκύπτει φαίνεται στο παρακάτω διάγραμμα.



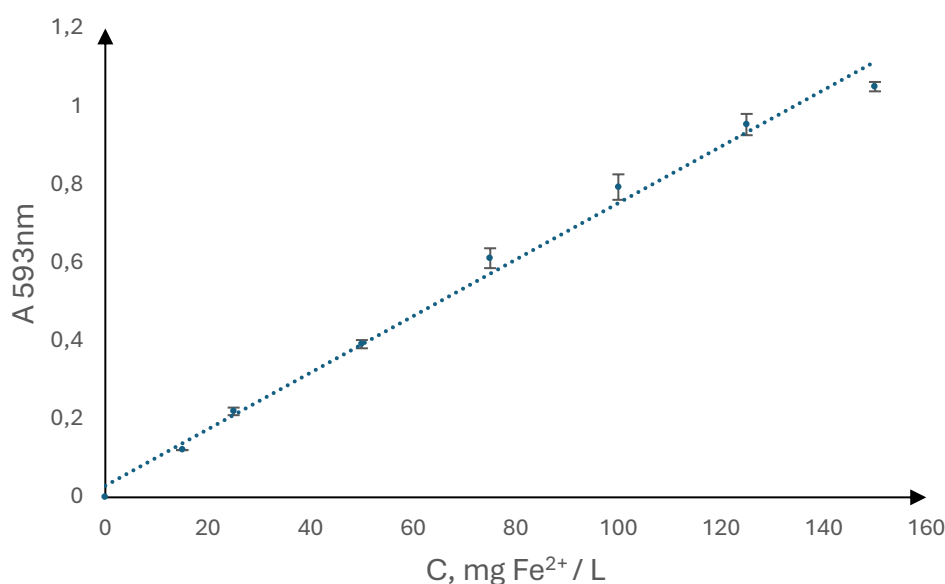
Διάγραμμα 2. Πρότυπη καμπύλη γαλλικού οξέος για την αποτίμηση της αντιοξειδωτικής δράσης με την μέθοδο Folin-Ciocalteu.

4.4 Προσδιορισμός αντιοξειδωτικής δύναμης αναγωγής του σιδήρου (Μέθοδος FRAP)

Ο προσδιορισμός αντιοξειδωτικής δράσης με την μέθοδο αναγωγής του σιδήρου FRAP πραγματοποιήθηκε όπως περιγράφηκε προηγουμένως από τους Benzie και Strain (Benzie et al., 1996) τροποποιημένη από τους Dzugan et al. (Dzugan et al., 2018). Το αντιδραστήριο FRAP περιείχε 2,5 mL διαλύματος 10 mM TPTZ σε 40 mM HCl, 2,5 mL διαλύματος 20 mM FeCl₃ και 25 mL ρυθμιστικού διαλύματος οξικού 0,3 M (pH 3,6), δηλαδή αναλογία 1:1:10, τα οποία είχαν παρασκευαστεί προηγουμένως. Σε Erppendorf των 2 mL 0,2 mL διαλύματος μελιού (1 g 10 mL⁻¹) αναμίχθηκαν με 1,8 mL αντιδραστηρίου FRAP και η απορρόφηση του μετρήθηκε φασματοφωτομετρικά στα 593 nm μετά από επώαση 10 λεπτών σε υδατόλουτρο στους 37 °C έναντι του τυφλού. Για τυφλό χρησιμοποιήθηκε στην θέση του δείγματος 0,2 mL πρότυπου διαλύματος μελιού ίδιας συγκέντρωσης με το δείγμα που είχε παρασκευαστεί προηγουμένως ρυθμισμένο σε pH=4,2 με κιτρικό οξύ 0,005M με σκοπό την εξάλειψη των παρεμβολών από τα αναγωγικά σάκχαρα στην αντίδραση.

Η καμπύλη βαθμονόμησης με γραμμικό τύπο $y = 0,0072x + 0,0297$ ($R^2 = 0,9917$) προετοιμάστηκε με πρότυπη ένωση FeSO₄ 7H₂O συγκεντρώσεων 0 mg/L, 15 mg/L, 25 mg/L, 50 mg/L, 75 mg/L, 100 mg/L, 125 mg/L, 150 mg/L και τα αποτελέσματα εκφράστηκαν ως mg ισοδύναμων Fe²⁺ ανά Kg μελιού (mg Fe²⁺/ Kg μελιού).

Η εξίσωση ευθείας που προκύπτει φαίνεται στο παρακάτω διάγραμμα.



Διάγραμμα 3. Πρότυπη καμπύλη Fe²⁺ για την αποτίμηση της αντιοξειδωτικής δράσης με την μέθοδο FRAP.

4.5 Αποτίμηση δέσμευσης ελεύθερων ριζών υδροξυλίου

Η αποτίμηση της δέσμευσης ελευθέρων ριζών υδροξυλίου έγινε με την μέθοδο της φαινανθρολίνης. Σε Eppendorf των 2 mL προστίθεται αρχικά 0,25 mL 1,10 φαινανθρολίνης 2mM και στην συνέχεια προστίθεται 0,5mL buffer φωσφορικού 0,15M με pH=7,4 που έχουν παρασκευαστεί προηγουμένως. Έπειτα 0,25 mL διαλύματος μελιού περιεκτικότητας 25% w/v και 0,25 mL $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0,75 mM προστίθενται στο Eppendorf και αμέσως σχηματίζεται το κόκκινο χρώματος σύμπλοκο. Τέλος προστίθεται 0,25 mL H_2O_2 100mg/L. Γίνεται επώαση σε υδατόλουτρο στους 37 °C για μία ώρα. Στη συνέχεια μετράται η απορρόφηση στα 536 nm με γυάλινη κυψελίδα του 1 cm. Το φωτόμετρο μηδενίζεται με απιονισμένο H_2O . Παράλληλα παρασκευάζονται Control που περιέχει απιονισμένο νερό pH=4,2 στη θέση του δείγματος και model honey ίδιας περιεκτικότητας με το δείγμα (25% w/v) στη θέση του δείγματος, και Τυφλό για κάθε δείγμα συμπεριλαμβανομένου και του model honey, που περιέχει απιονισμένο H_2O στη θέση του H_2O_2 .

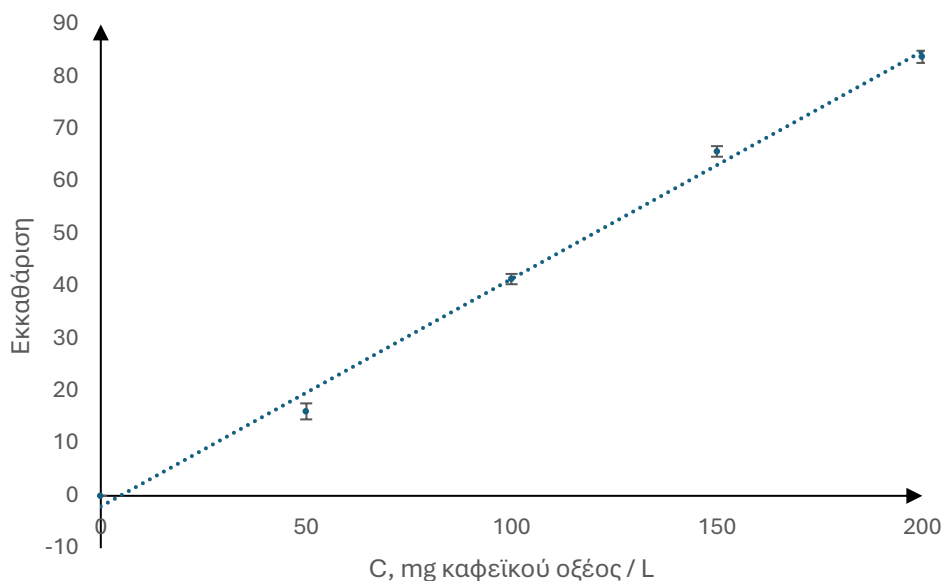
Η εκκαθάριση της $\bullet\text{OH}$ υπολογίζεται από τον τύπο:

$$\% E = (A\Delta - AC) / (AT - AC) \times 100.$$

Όπου: % E είναι το ποσοστό εκκαθάρισης, AΔ είναι η τιμή απορρόφησης του δείγματος, AC είναι η τιμή απορρόφησης του control, AT είναι η τιμή απορρόφησης του τυφλού.

Επίσης, κατασκευάζεται πρότυπη καμπύλη καφεϊκού οξέος (CA) συγκεντρώσεων 0, 50, 100, 150, 200 mg/L, από την οποία προκύπτει η τυπική εξίσωση: $y=0,4345x-2,038$, $R^2 = 0,9948$. Τα αποτελέσματα εκφράζονται ως ισοδύναμα mg καφεϊκού οξέος ανά Kg μελιού (mg CA / Kg μελιού).

Η εξίσωση ευθείας που προκύπτει φαίνεται στο παρακάτω διάγραμμα.



Διάγραμμα 4. Πρότυπη καμπύλη καφεϊκού οξέος για την αποτίμηση της δέσμευσης ελευθέρων ριζών υδροξυλίου.

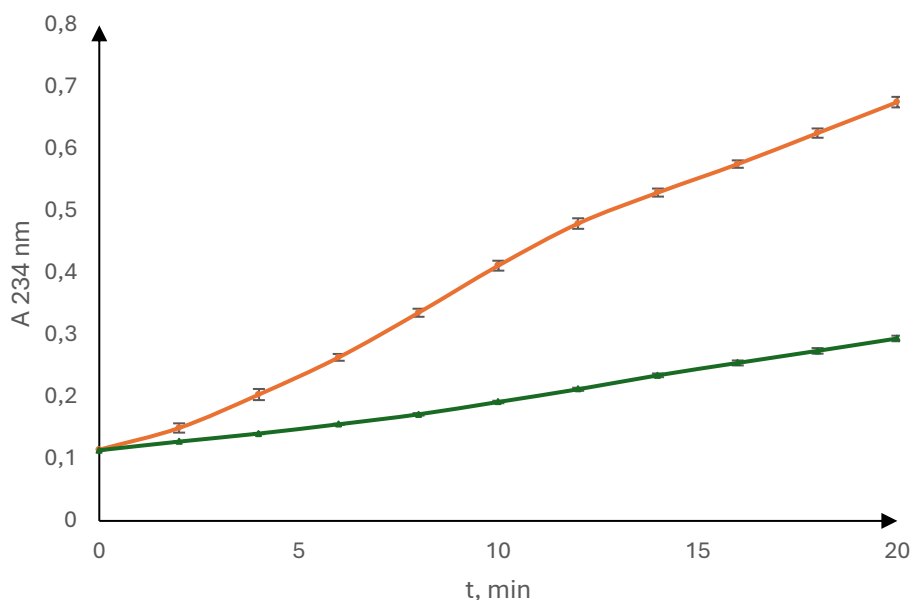
4.6 Αποτίμηση αντιφλεγμονώδους δράσης μέσω της μεθόδου αναστολής της δράσης του ενζύμου λιποξυγενάση (LOX)

Η αντιφλεγμονώδης δράση προσδιορίστηκε με τη μέθοδο αναστολής της λιποξυγενάσης. Σε Eppendorf των 2 mL μεταφέρονται 900μl borate buffer 0,2 M pH=9,00 και προστίθενται 100μl δείγματος μελιού 1,5% w/v σε απιονισμένο νερό και 100 μL LOX (το οποίο έχει αραιωθεί προηγουμένως από το πυκνό 100.000 U/ml σε buffer βορικού οξέος). Ακολουθεί vortex και επώαση για 5 min σε σκοτάδι. Μετά τα 5 min προστίθενται 100 μL λινολεϊκό οξύ 4,18 mM σε αιθανόλη, ανάδευση με vortex και απευθείας μέτρηση της απορρόφησης στο φωτόμετρο. Η απορρόφηση παρακολουθείται για 20 min στα 234 nm και χρησιμοποιήθηκε για τον υπολογισμό της αναστολής της δράσης της LOX η απορρόφηση στα 20 min. Ο μηδενισμός του φωτομέτρου γίνεται με το τυφλό κάθε δείγματος. Το τυφλό του δείγματος περιέχει αιθανόλη αντί για λινολεϊκό οξύ. Η ίδια διαδικασία ακολουθήθηκε και για την παρασκευή του δείγματος αναφοράς (control), το οποίο περιέχει model honey αντί για δείγμα.

Η αντιφλεγμονώδης δράση εκφράζεται ως η % αναστολή της δράσης της λιποξυγενάσης και υπολογίζεται από τη σχέση:

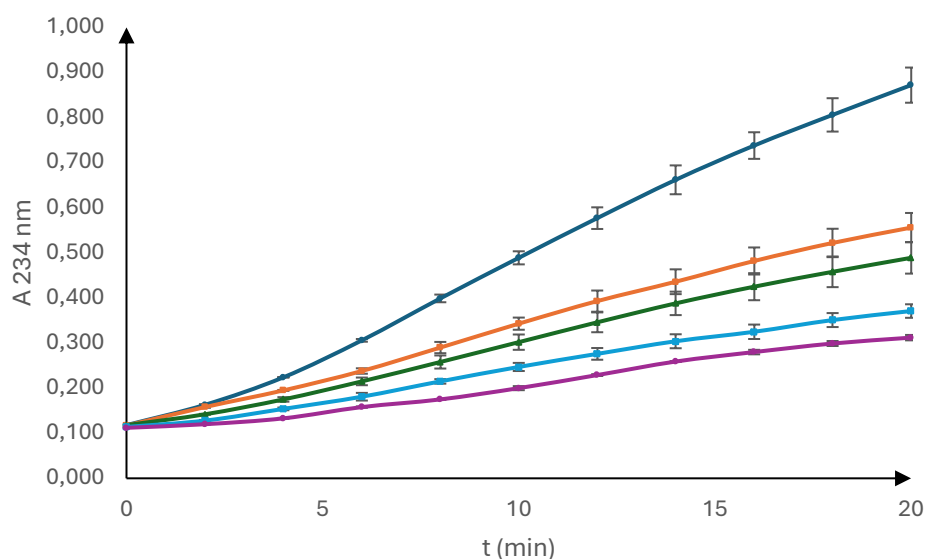
$$\% \text{Αναστολή} = (A_{\text{control}} - A_{\text{δείγματος}}) / A_{\text{control}}$$

όπου το A_{control} και το $A_{\text{δείγματος}}$ αντιπροσωπεύουν την απορρόφηση των διαλυμάτων δείγματος αναφοράς και δείγματος, αντίστοιχα στα 20min.



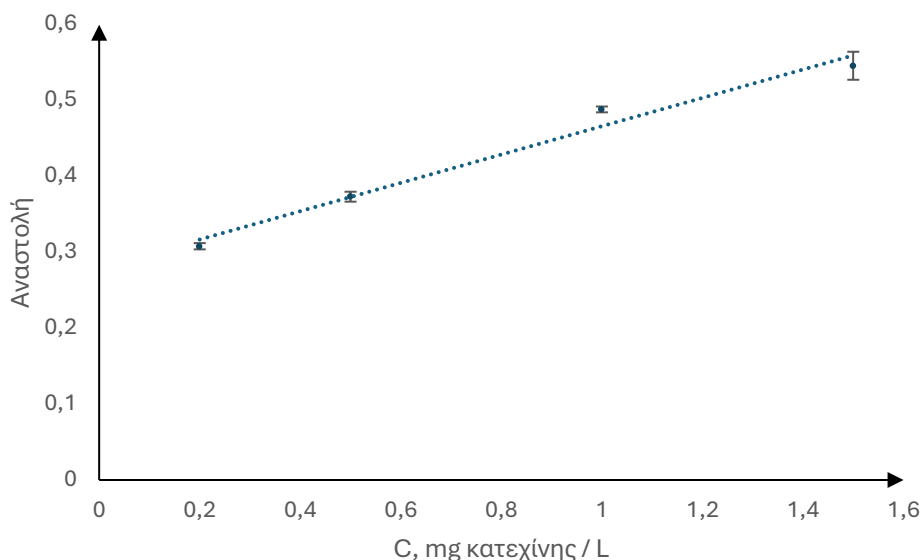
Διάγραμμα 5. Τυπικό διάγραμμα κινητικής δείγματος για την αντιφλεγμονώδη δράση. Με πορτοκαλί χρώμα απεικονίζεται το control ενώ με πράσινο το δείγμα.

Τα αποτελέσματα εκφράστηκαν με βάση την πρότυπη καμπύλη όπου χρησιμοποιήθηκε σαν πρότυπη ένωση κατεχίνη σε συγκεντρώσεις 0,2 mg/L, 0,5 mg/L, 1,0 mg/L, 1,5 mg/L.



Διάγραμμα 6. Διάγραμμα κινητικής για τις συγκεντρώσεις της πρότυπης ένωσης κατεχίνης για την μέθοδο της αντιφλεγμονώδους δράσης. Με μπλε χρώμα απεικονίζεται το control, με πορτοκαλί χρώμα απεικονίζεται η συγκέντρωση 0,2 mg/L, με πράσινο χρώμα η συγκέντρωση 0,5 mg/L, με γαλάζιο χρώμα η συγκέντρωση 1,0 mg/L και με μωβ χρώμα απεικονίζεται η συγκέντρωση για το 1,5 mg/L κατεχίνης.

Οι απορροφήσεις στα 20 min για την κάθε συγκέντρωση χρησιμοποιήθηκαν για την κατασκευή της πρότυπης καμπύλης που φαίνεται στο διάγραμμα 7. Η εξίσωση που προέκυψε από την πρότυπη καμπύλη είναι $y = 0,1867x + 0,2795$, $R^2 = 0,9784$. Επομένως τα αποτελέσματα εκφράστηκαν σε ισοδύναμα mg κατεχίνης ανά Kg μελιού (mg κατεχίνης/Kg μελιού).



Διάγραμμα 7. Πρότυπη καμπύλη κατεχίνης για την αποτίμηση της αντιφλεγμονώδους δράσης.

4.7 Ημιποσοτικός προσδιορισμός πτητικών ενώσεων μελιού

Οι συνθήκες που ακολουθήθηκαν τόσο για την εκχύλιση όσο και για την μεθοδολογία ανάλυσης προέκυψαν από πειραματικές δοκιμές και με βάση την βιβλιογραφία (Robotti *et al.*, 2017; Rodríguez-Flores *et al.*, 2021; Xagoraris, Chrysoulaki, *et al.*, 2021; Karabagias *et al.*, 2022).

4.7.1 Προετοιμασία δειγμάτων

Όπως αναφέρθηκε και προηγουμένως στην παράγραφο δείγματα, για κάθε δείγμα ζυγίζονταν αντιπροσωπευτικά 3g και αποθηκεύονταν στην κατάψυξη σε vials των 16mL έως ότου αναλυθούν. Πριν την εκχύλιση τα δείγματα, αφήνονται να έρθουν σε θερμοκρασία περιβάλλοντος και στην συνέχεια γίνεται προσθήκη 1mL απιονισμένου νερού και ανάδευση με vortex για ομογενοποίηση. Αφού το δείγμα ομογενοποιηθεί προστίθενται 20μl εσωτερικού προτύπου υδατικού διαλύματος 4-μέθυλο-2-πεντανόλη, με τελική συγκέντρωση 0,05 mg/Kg και εισάγεται μαγνητάκι ανάδευσης ώστε να βοηθήσει την εκχύλιση των πτητικών ενώσεων.

4.7.2 Εκχύλιση

Η εκχύλιση πραγματοποιήθηκε με χρήση ίνας DVB/CAR/PDMS των 50/30 μm (2cm) από την Supelco (Bellefonte, PA, USA). Μετά την εισαγωγή του προτύπου, το δείγμα τοποθετείται σε σταθερό ύψος σε υδατόλουτρο και παραμένει καθ' όλη την διάρκεια της εκχύλισης στους 40°C υπό ανάδευση σε 300rpm. Αρχικά παραμένει για εξισορρόπηση για 20 min και στην συνέχεια γίνεται έκθεση της ίνας και εκχύλιση για 30 min.

4.7.3 Μεθοδολογία ανάλυσης

Ακολουθεί η εισαγωγή της ίνας στον εισαγωγέα του αέριου χρωματογράφου, όπου η θερμοκρασία είναι 250 °C, ώστε να πραγματοποιηθεί η εκρόφιση των πτητικών ενώσεων. Αμέσως μετά την εισαγωγή γίνεται έναρξη κατάλληλου προγράμματος και η ίνα αφαιρείται μετά από 10 λεπτά. Η στήλη που χρησιμοποιήθηκε ήταν η DB-5MS, μη πολική στήλη (60 m × 320 μm i.d., x 1 μm film thickness) της Agilent J&W Scientific (Folsom, CA, USA). Η συνολική διάρκεια του προγράμματος διαχωρισμού και ανίχνευσης των ενώσεων έχει διάρκεια 58 min. Τα πρώτα 6 λεπτά, η θερμοκρασία του φούρνου διατηρείται στους 40 °C, ακολούθως αυξάνεται με ρυθμό 3 °C / min έως τους 150oC, και από εκεί έως τους 250oC με ρυθμό 10oC/min όπου και θα παραμείνει τελικά για 6 min. Ως φέρον αέριο χρησιμοποιείται ήλιο (He) υψηλής καθαρότητας

(≥99,999%) με ρυθμό ροής 1 mL / min και μέση ταχύτητα 29,5 cm / sec και το split είναι ρυθμισμένο σε αναλογία 2:1. Η θερμοκρασία της πηγής ιόντων και η θερμοκρασία σύζευξης ήταν 230°C και 260°C αντίστοιχα, ενώ τα φάσματα μάζας καταγράφηκαν στο εύρος μάζας 35-450 m/z.

Η ταυτοποίηση των ενώσεων έγινε με τη βοήθεια των βιβλιοθηκών Wiley 275 και NIST 98. Ταυτοποιήθηκαν μόνο οι ενώσεις που είχαν ≥80% ομοιότητα με τη φασματική βιβλιοθήκη μάζας. Τέλος η ολοκλήρωση των κορυφών στο χρωματογράφημα πραγματοποιήθηκε με τις εξής παραμέτρους: το κατώφλι κλίσης (slope threshold) ορίστηκε στις 1000 μονάδες, ενώ το ελάχιστο πλάτος κορυφής (peak width) καθορίστηκε στις 3 μονάδες, λαμβάνοντας ως μικρότερο εμβαδό της τάξης του 110.000. Οι τιμές αυτές επιλέχθηκαν για να εξασφαλιστεί η αξιόπιστη αναγνώριση και διαχωρισμός των κορυφών, ελαχιστοποιώντας την πιθανότητα σύγχυσης μεταξύ θορύβου και πραγματικών σημάτων. Οι ρυθμίσεις εφαρμόστηκαν μέσω του λογισμικού LabSolutions GCMS Solution της Shimadzu (Kyoto, Japan) με την λειτουργία GC-MS Snapshot που συνοδεύει το σύστημα GC-MS.

4.7.4 Έκφραση αποτελεσμάτων

Ο ημιποσοτικός προσδιορισμός των ενώσεων έγινε με βάση το εσωτερικό πρότυπο και τον παρακάτω τύπο:

$$\text{VOCs (mg/Kg)} = (E_{\text{analyte}}/E_{\text{IS}}) \times C_{\text{IS}}$$

Όπου E_{analyte} είναι το εμβαδό της ένωσης και το E και C_{IS} είναι το εμβαδό και η συγκέντρωση του εσωτερικού προτύπου.

Για τον έλεγχο της καθαρότητας του συστήματος, διεξάγονταν κενές δοκιμές (empty) ανά ανάλυση ποικιλίας.

5 Στατιστική επεξεργασία

Η στατιστική επεξεργασία των αποτελεσμάτων πραγματοποιήθηκε μέσω του προγράμματος IBM SPSS Statistics Version 28.0.1.0. Σε όλες τις αναλύσεις όλα τα δείγματα αναλύθηκαν εις διπλούν και οι μέσοι όροι χρησιμοποιήθηκαν στη στατιστική ανάλυση.

5.1 Στατιστική επεξεργασία για αποτίμηση βιοδράσεων και προσδιορισμό πρωτεϊνών

Ύστερα από τον έλεγχο ακραίων τιμών μέσω θηκογραμμάτων και τον έλεγχο κανονικότητας με το test Shapiro-Wilk για όλα τα δείγματα και όλες τις μεθόδους επιλέχθηκε ο παραμετρικός έλεγχος. Πιο συγκεκριμένα :

- Για τα αποτελέσματα της αντιοξειδωτικής δράσης, των βιοδράσεων και την συγκέντρωση ολικών πρωτεϊνών της σύγκρισης των δύο κατηγοριών ανθόμελα – μέλια μελιτωμάτων χρησιμοποιήθηκε το Independent t-test σε επίπεδο σημαντικότητας 0,05.
- Για τα αποτελέσματα της αντιοξειδωτικής δράσης, των βιοδράσεων και την συγκέντρωση ολικών πρωτεϊνών της σύγκρισης των τεσσάρων ειδών ανθόμελων αλλά και της σύγκρισης των τεσσάρων ειδών μελιών μελιτωμάτων η στατιστική έγινε με One-Way ANOVA, χρησιμοποιώντας το Duncan's post hoc test και σε επίπεδο σημαντικότητας 0,05.

5.2 Στατιστική επεξεργασία για τον ημι-ποσοτικό προσδιορισμό των πτητικών ενώσεων

Ύστερα από τον έλεγχο ακραίων τιμών μέσω θηκογραμμάτων και τον έλεγχο κανονικότητας με το test Shapiro-Wilk για όλα τα δείγματα και όλες τις μεθόδους επιλέχθηκε ο μη παραμετρικός έλεγχος. Πιο συγκεκριμένα :

- Για τα αποτελέσματα του ημι-ποσοτικού προσδιορισμού πτητικών ενώσεων της σύγκρισης των δύο κατηγοριών ανθόμελα – μέλια μελιτωμάτων χρησιμοποιήθηκε το μη παραμετρικό τεστ Mann-Whitney U σε επίπεδο σημαντικότητας 0,05.
- Για τα αποτελέσματα του ημι-ποσοτικού προσδιορισμού πτητικών ενώσεων της σύγκρισης των τεσσάρων ειδών ανθόμελων αλλά και της σύγκρισης των τεσσάρων ειδών μελιών μελιτωμάτων χρησιμοποιήθηκε μη παραμετρικό τεστ Kruskal Wallis και pairwise συγκρίσεις σε επίπεδο σημαντικότητας 0,05.

Γ. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΣΥΖΗΤΗΣΗ

1. Αποτίμηση πρωτεϊνών και βιοδράσεων

1.1 Ανθόμελα – Μέλια Μελιτωμάτων

Στον πίνακα 8 παρουσιάζονται τα αποτελέσματα της σύγκρισης ανθόμελων και μελιών μελιτωμάτων για τις ολικές πρωτεΐνες, την αντιοξειδωτική τους δράση, την εκκαθάριση ριζών υδροξυλίου και την αντιφλεγμονώδη δράση τους. Οι μέθοδοι που χρησιμοποιήθηκαν αντίστοιχα είναι η μέθοδος Bradford, η Folin και FRAP για την αντιοξειδωτική δράση, η μέθοδος της 1,10-φαινανθρολίνης και η μέθοδος αναστολής της δράσης του ενζύμου λιποξυγενάση (LOX). Την κατηγορία «ανθόμελα» απαρτίζουν συνολικά 6 διαφορετικά είδη ανθόμελων και συνολικά 19 δείγματα (n=19) που περιλαμβάνουν γενικά ανθόμελα (πολυανθικά), ερείκη, θυμάρι, γκιούλμπερι, κισσούρι και κούμαρο. Τα μέλια μελιτωμάτων από την άλλη απαρτίζονται από συνολικά 6 διαφορετικά είδη μελιών μελιτωμάτων και συνολικά 23 δείγματα (n=23) που περιλαμβάνουν γενικά μελιτώματα, βελανιδιά, έλατο, πέυκο και πευκο-θύμαρο. Οι τιμές που παρουσιάζονται είναι ο μέσος όρος και η τυπική απόκλιση.

Πίνακας 8. Πρωτεΐνες και βιοδράσεις για τα Ανθόμελα και Μέλια Μελιτωμάτων.

	Ανθόμελα	Μελιτώματα
Bradford (mg BSA / Kg μελιού)	866* ^{a**} ±307	933 ^a ±302
Folin (mg γαλλικού οξέος / Kg μελιού)	561 ^a ±195	645 ^a ±169
FRAP (mg Fe ²⁺ / Kg μελιού)	1229 ^a ±631	1555 ^a ±522
Εκκαθάριση ριζών υδροξυλίου (mg καφεϊκού οξέος / Kg μελιού)	110 ^a ±64	84 ^a ±46
Αντιφλεγμονώδης δράση (mg κατεχίνης / Kg μελιού)	55 ^a ±28	58 ^a ±22

*Οι τιμές που παρουσιάζονται είναι ο μέσος όρος ± η τυπική απόκλιση. Για τα Ανθόμελα n=19 και για τα μελιτώματα n=23.

** οριζόντια σύγκριση, δεν υπάρχει στατιστική διαφορά (p>0,05).

Ύστερα από έλεγχο ακραίων τιμών (θηκόγραμμα) και κανονικότητας (test Shapiro-Wilk) που πραγματοποιήθηκε για την επιλογή της στατιστικής μεθόδου επιλέχθηκε το παραμετρικό τεστ Independent t-Test (p<0,05) σύμφωνα με το οποίο δεν παρουσιάστηκαν στατιστικές διαφορές σε καμία από τις μεθόδους.

Σύμφωνα με την βιβλιογραφία τα μέλια μελιτωμάτων εμφανίζουν μεγαλύτερη βιοδράση από τα ανθόμελα (Pita-Calvo *et al.*, 2017) καθώς έχει αποδειχθεί θετική συσχέτιση όχι μόνο μεταξύ των πολυφαινολών και της αντιοξειδωτικής δράσης αλλά και μεταξύ του χρώματος των μελιών και της συγκέντρωσης φλαβονοειδών και κατά συνέπεια αντιοξειδωτικής δράσης, με τα σκούρα μέλια να έχουν μεγαλύτερη συγκέντρωση φλαβονοειδών (Becerril-sánchez *et al.*, 2021; Hernanz *et al.*, 2023). Όπως παρατηρούμε και από τους παραπάνω πίνακες, τα μέλια μελιτωμάτων παρουσιάζουν μεγαλύτερες τιμές για όλες τις δράσεις και μεθόδους με εξαίρεση την εκκαθάριση ριζών υδροξυλίου όπου παρουσιάζουν χαμηλότερες τιμές. Παρόλα αυτά δεν παρατηρείται στατιστική διαφορά πιθανόν λόγω της επιλογής των δειγμάτων που απαρτίζουν την κάθε κατηγορία, καθώς στα ανθόμελα ανήκουν είδη μελιού όπως τα ερεϊκόμελα και το μέλι κουμαριάς (πιο σκούρα ανθόμελα) τα οποία σύμφωνα και με άλλες έρευνες (Alves *et al.*, 2013; Gül *et al.*, 2018; Jovanov, 2022; Stavropoulou *et al.*, 2022) εμφανίζουν σημαντική βιοδράση συγκρίσιμη με εκείνη των μελιτωμάτων και πιο συγκεκριμένα της βελανιδιάς και του ελάτου. Επομένως είναι απαραίτητο να επισημάνουμε ότι τα αποτελέσματα της σύγκρισης αφορούν τα συγκεκριμένα είδη που επιλέχθηκαν και πιθανόν με την συμμετοχή και υπόλοιπων μονοποικιλικών ανθόμελων όπως βαμβάκι ή πορτοκαλιάς να υπήρχαν διαφορές (Tananaki *et al.*, 2024). Η υπόθεση αυτή μπορεί να επιβεβαιωθεί και παρακάτω με την σύγκριση των μονοποικιλικών μελιών της κατηγορίας ανθόμελα και αντίστοιχα των μελιών μελιτωμάτων.

Οι τιμές για την συνολική συγκέντρωση πρωτεϊνών είναι παρόμοιες με μεγαλύτερη αυτή των μελιτωμάτων. Αυτό παρατηρείται και στην μελέτη των (Seraglio *et al.*, 2019) και (Bergamo *et al.*, 2019) ενώ επίσης ως πιθανές βιοδραστικές ενώσεις (Pita-Calvo *et al.*, 2017; Lewoyehu *et al.*, 2019) συμφωνούν και με τις μεγαλύτερες τιμές βιοδράσεων των μελιτωμάτων.

Όσο αφορά την επιλογή δύο μεθόδων (Folin και FRAP) για την αποτίμηση της αντιοξειδωτικής δράσης, αυτό έγινε λόγω της πολυπλοκότητας των χημικών αλληλεπιδράσεων, η αξιολόγηση όλων των αντιοξειδωτικών παραγόντων σε ένα πολυσύνθετο σύστημα δεν είναι εφικτή με μία και μόνη μέθοδο ή δοκιμή. Συνεπώς, για την πλήρη διερεύνηση της αντιοξειδωτικής δράσης και των βιοδραστικών ιδιοτήτων σε σύνθετα χημικά συστήματα, κρίνεται απαραίτητη η εφαρμογή διαφορετικών μεθοδολογικών προσεγγίσεων που επιτρέπουν την εκτίμηση πολλαπλών διαστάσεων αυτών των παραμέτρων. Σύμφωνα με τα αποτελέσματα παρατηρούμε θετική

συσχέτιση των αποτελεσμάτων δηλαδή και στις δύο μεθόδους τα μελιτώματα εμφανίζουν μεγαλύτερες τιμές.

Τέλος για την αποτίμηση της δέσμευσης ελευθέρων ριζών παρατηρούμε μεγαλύτερη συγκέντρωση καφεϊκού οξέος και κατά συνέπεια μεγαλύτερη δέσμευση στα ανθόμελα σε σχέση με τα μελιτώματα. Επίσης στην συγκεκριμένη μέθοδο αξίζει να σημειωθεί ότι το ίδιο το model honey παρουσίαζε μεγάλη δέσμευση σε σχέση με τα δείγματα συμπεραίνοντας έτσι ότι τα σάκχαρα πιθανόν να συμμετέχουν στην αντίδραση. Αυτό επιβεβαιώνεται και σε άλλες μελέτες (Matros *et al.*, 2015) οι οποίες απέδειξαν ότι τα φυτικής προέλευσης σάκχαρα παρουσιάζουν ικανότητα εξουδετέρωσης ριζών υδροξυλίου κατά τη διάρκεια αντιδράσεων Fenton με Fe^{2+} και υπεροξείδιο του υδρογόνου *in vitro*, οδηγώντας στον σχηματισμό λιγότερο επιβλαβών ριζών σακχάρων που ενδέχεται να αναγεννηθούν σε μη-ριζικούς υδατάνθρακες *in vivo*. Έτσι πιθανόν και τα δύο κύρια σάκχαρα στο μέλι, η γλυκόζη και η φρουκτόζη, που υπάρχουν και στα δύο είδη αλλά και στο model honey να δεσμεύουν τις ελεύθερες ρίζες και επειδή τα ανθόμελα και ιδιαίτερα τα μέλια ερείκης, που έχουν μεγαλύτερη συγκέντρωση αυτών, να παρουσιάζουν και μεγαλύτερη δέσμευση απ' ό,τι τα μελιτώματα.

1.2 Τέσσερα είδη ανθόμελων (ερείκης – θυμάρι – κισσούρι – ανθέων-κουμαριάς)

Στον πίνακα 9 παρουσιάζονται τα αποτελέσματα της σύγκρισης τεσσάρων ειδών ανθόμελων και πιο συγκεκριμένα μεταξύ μελιών ερείκης, θυμάρι, κισσούρι και ανθέων-κουμαριάς για τις ολικές πρωτεΐνες, την αντιοξειδωτική τους δράση, την εκκαθάριση ριζών υδροξυλίου και την αντιφλεγμονώδη δράση τους. Οι μέθοδοι που χρησιμοποιήθηκαν αντίστοιχα είναι η μέθοδος Bradford, η Folin και FRAP για την αντιοξειδωτική δράση, η μέθοδος της 1,10-φαινανθρολίνης και η μέθοδος αναστολής της δράσης του ενζύμου λιποξυγενάση (LOX). Το μέλι ερείκης απαρτίζουν συνολικά 3 μέλια ερείκης από διαφορετικές περιοχές ($n=3$) από το Αγρίνιο, τα Ιωάννινα και τον Ταΰγετο. Το μέλι θυμάρι απαρτίζουν συνολικά 4 θυμαρίσια μέλια από διαφορετικές περιοχές ($n=4$) από την Θεσπρωτία, την Εύβοια, την Κρήτη και τον Ταΰγετο. Το μέλι κισσούρι απαρτίζουν συνολικά 3 μέλια κισσούρι από διαφορετικά μελισσοκομεία της Καρυστίας ($n=3$) από το Όρος Όχη, τον Καφηρέα και το Κόμητο. Το μέλι ανθέων-κούμαρο απαρτίζουν συνολικά 3 μέλια ανθέων-κουμαριάς με κυρίαρχο γυρεόκοκκο της κουμαριάς από 3 διαφορετικές περιοχές ($n=3$) από τα Ιωάννινα, την Αιτ/νία και τον Πάρνωνα. Οι τιμές που παρουσιάζονται είναι ο μέσος όρος και η τυπική απόκλιση.

Πίνακας 9. Πρωτεΐνες και βιοδράσεις για τα τέσσερα είδη ανθόμελων.

	Ερείκη	Θυμαρί	Κισσούρι	Ανθέων-Κούμαρο
Bradford (mg BSA / Kg μελιού)	1153 ^{a**} ±420	883 ^a ±384	740 ^a ±110	631 ^a ±96
Folin (mg γαλλικού οξέος / Kg μελιού)	640 ^b ±196	327 ^a ±138	683 ^b ±43	711 ^b ±140
FRAP (mg Fe ²⁺ / Kg μελιού)	1426 ^b ±675	477 ^a ±237	1456 ^b ±107	2065 ^b ±540
Εκκαθάριση ριζών υδροξυλίου (mg καφεϊκού οξέος / Kg μελιού)	144 ^{ab} ±93	66 ^a ±34	186 ^b ±16	116 ^{ab} ±46
Αντιφλεγμονώδης δράση (mg κατεχίνης / Kg μελιού)	66 ^a ±57	34 ^a ±16	64 ^a ±7	79 ^a ±7

*Οι τιμές που παρουσιάζονται είναι ο μέσος όρος ± η τυπική απόκλιση για τα ανθόμελα ερείκη (n=3), θυμάρι (n=4), κισσούρι (n=3), ανθέων-κούμαρο (n=3).

** Όπου δεν υπάρχει κοινός εκθέτης στην οριζόντια σύγκριση, υπάρχει στατιστική διαφορά (p<0,05).

Ύστερα από έλεγχο ακραίων τιμών (θηκόγραμμα) και κανονικότητας (test Shapiro-Wilk) που πραγματοποιήθηκε για την επιλογή της στατιστικής μεθόδου, επιλέχθηκε το παραμετρικό τεστ One-way ANOVA χρησιμοποιώντας το Duncan's post hoc test και σε επίπεδο σημαντικότητας p<0,05.

Σύμφωνα με τα αποτελέσματα του πίνακα 9 παρατηρείται στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ του θυμαρίσιου μελιού με τα υπόλοιπα 3 είδη για την αντιοξειδωτική δράση και συγκεκριμένα και στην μέθοδο Folin και στην μέθοδο FRAP ενώ επίσης παρατηρείται στατιστικά σημαντική διαφορά και για την εκκαθάριση ριζών υδροξυλίου μεταξύ του θυμαρίσιου μελιού και του κισσούρι.

Πιο συγκεκριμένα:

- Για την μέθοδο προσδιορισμού ολικών πρωτεϊνών Bradford δεν παρατηρείται σημαντικά στατιστική διαφορά για κανένα από τα 4 είδη.
- Για την μέθοδο προσδιορισμού αντιοξειδωτικής δράσης Folin το Duncan's test χωρίζει τα είδη σε 2 υποσύνολα, στο πρώτο ανήκει το θυμάρι το οποίο έχει την χαμηλότερη μέση τιμή, ενώ στο υποσύνολο 2 ανήκουν τα υπόλοιπα είδη. Αυτό σημαίνει ότι υπάρχει στατιστική διαφορά μεταξύ του μελιού θυμάρι σε σχέση με τα υπόλοιπα 3 είδη για την μέθοδο Folin.
- Για την μέθοδο προσδιορισμού αντιοξειδωτικής δράσης FRAP το Duncan's test χωρίζει και εδώ τα είδη σε 2 υποσύνολα, στο πρώτο ανήκει το θυμάρι το οποίο έχει την χαμηλότερη μέση τιμή, ενώ στο υποσύνολο 2 ανήκουν τα υπόλοιπα είδη. Αυτό σημαίνει ότι υπάρχει στατιστική διαφορά μεταξύ του μελιού θυμάρι σε σχέση με τα υπόλοιπα 3 είδη για την μέθοδο FRAP. Παρατηρούμε ότι και στις δύο μεθόδους

προσδιορισμού αντιοξειδωτικής δράσης εμφανίζονται στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των ίδιων ειδών.

- Για την μέθοδο εκκαθάρισης ριζών υδροξυλίου το Duncan's test χωρίζει τα είδη σε 2 υποσύνολα, στο πρώτο ανήκει το θυμάρι, κούμαρο και ερείκη, ενώ στο υποσύνολο 2 ανήκουν το κούμαρο, η ερείκη και το κισσούρι. Η ερείκη και το κούμαρο ανήκουν και στα 2 υποσύνολα το οποίο υποδηλώνει ότι δεν διαφέρουν στατιστικά σημαντικά με κανένα από τα είδη. Αντίθετα το θυμάρι με την χαμηλότερη μέση τιμή διαφέρει στατιστικά με το κισσούρι το οποίο έχει την υψηλότερη μέση τιμή.
- Για την μέθοδο προσδιορισμού αντιφλεγμονώδους δράσης δεν παρατηρείται σημαντικά στατιστική διαφορά για κανένα από τα 4 είδη.
- Σε όλες τις μεθόδους που εμφανίζονται στατιστικές διαφορές το θυμάρι παρουσιάζει τις μικρότερες μέσες τιμές.

Αξίζει να σημειωθεί ότι το θυμάρι που παρουσιάζει τις χαμηλότερες συγκεντρώσεις τόσο για την αντιοξειδωτική δράση την αντιφλεγμονώδη δράση όσο και για την εκκαθάριση ριζών υδροξυλίου, είναι το πιο ανοιχτόχρωμο μέλι και με την χαμηλότερη αγωγιμότητα. Τα αποτελέσματα αυτά συνάδουν και με την βιβλιογραφία καθώς στις έρευνες των (Alves *et al.*, 2013; Sagdic *et al.*, 2013; Pita-Calvo *et al.*, 2017; Gül *et al.*, 2018; Becerril-sánchez *et al.*, 2021; Tananaki *et al.*, 2024), για τα ανθόμελα, έχει παρατηρηθεί συγκεκριμένα ότι τα μέλια ερείκης και κουμαριάς (τα οποία είναι πιο σκούρα μέλια και με υψηλότερες αγωγιμότητες) παρουσιάζουν μεγαλύτερη αντιοξειδωτική δράση και στις δύο μεθόδους αντιοξειδωτικής δράσης, Folin και FRAP, σε σχέση με το θυμάρι όπου παρατηρείται μικρότερη αντιοξειδωτική δράση. Επίσης όπως φαίνεται στα αποτελέσματα τα μέλια ερείκης, κισσούρι και κούμαρο έχουν παρόμοιες συγκεντρώσεις μεταξύ τους και αυτό θα μπορούσε να οφείλεται στο ότι ανήκουν στην ίδια οικογένεια του μελισσοκομικού φυτού Ericaceae. Όσο αφορά την εκκαθάριση ριζών υδροξυλίου και σε αυτήν την περίπτωση λόγω του ότι τα μέλια ερείκης, κισσούρι και κουμαριάς έχουν μεγαλύτερη συγκέντρωση ανόργανων σακχάρων σε σχέση με το θυμάρι, να έχουν και μεγαλύτερη εκκαθάριση καθώς όπως αναφέρθηκε και στα αποτελέσματα του πίνακα 8, τα φυτικής προέλευσης σάκχαρα παρουσιάζουν ικανότητα εξουδετέρωσης ριζών υδροξυλίου κατά τη διάρκεια αντιδράσεων Fenton με Fe^{2+} και υπεροξείδιο του υδρογόνου *in vitro* (Matros *et al.*,

2015). Τέλος για την σύγκριση των ολικών πρωτεϊνών με την μέθοδο Bradford παρόλο που δεν παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των ειδών, το μέλι ανθέων-κουμαριάς παρουσιάζει την χαμηλότερη συγκέντρωση σε σχέση με τα υπόλοιπα είδη και αυτό θα μπορούσε να συσχετισθεί με την χαμηλή περιεκτικότητα του σε ένζυμα, καθώς και σύμφωνα με την Ευρωπαϊκή Οδηγία 110/2001 αποτελεί εξαίρεση για το νομοθετικό όριο της δραστηριότητας διαστάσης ως ένα από τα μέλια με χαμηλή περιεκτικότητα σε ένζυμα.

1.3 Τέσσερα είδη μελιτωμάτων (βελανιδιάς – ελάτης - έλατο-βανίλια – πεύκου)

Στον πίνακα 10 παρουσιάζονται τα αποτελέσματα της σύγκρισης τεσσάρων ειδών μελιών μελιτωμάτων και πιο συγκεκριμένα μεταξύ μελιών βελανιδιάς, ελάτης, έλατο-βανίλια και πεύκου για τις ολικές πρωτεΐνες, την αντιοξειδωτική τους δράση, την εκκαθάριση ριζών υδροξυλίου και την αντιφλεγμονώδη δράση τους. Οι μέθοδοι που χρησιμοποιήθηκαν αντίστοιχα είναι η μέθοδος Bradford, η Folin και FRAP για την αντιοξειδωτική δράση, η μέθοδος της 1,10-φαινανθρολίνης και η μέθοδος αναστολής της δράσης του ενζύμου λιποξυγενάση (LOX). Το μέλι βελανιδιάς απαρτίζουν συνολικά 5 μέλια βελανιδιάς από διαφορετικές περιοχές (n=5) από το Θέρμο Αιτ/νίας, το Μεσολόγγι, την Φολόη Ηλείας, την Καστοριά και την Δαδιά Έβρου. Το μέλι ελάτης απαρτίζουν συνολικά 4 μέλια ελάτης από διαφορετικές περιοχές (n=4) από την Θεσπρωτία, την ορεινή Φωκίδα, το Καρπενήσι και τον Ελικώνα Βοιωτίας. Το μέλι έλατο-βανίλια απαρτίζουν συνολικά 4 μέλια έλατο-βανίλια (n=4) από τον Μαίναλο, τον Πάρνωνα και τον Ερύμανθο. Το μέλι πεύκου απαρτίζουν συνολικά 4 μέλια πεύκου από 4 διαφορετικές περιοχές (n=4) από την Θεσπρωτία, την Εύβοια, την Χαλκιδική και την Θάσο. Οι τιμές που παρουσιάζονται είναι ο μέσος όρος και η τυπική απόκλιση.

Πίνακας 10. Πρωτεΐνες και βιοδράσεις για τα τέσσερα είδη μελιών μελιτωμάτων.

	Βελανιδιά	Έλατο	Έλατο-Βανίλια	Πεύκο
Bradford (mg BSA / Kg μελιού)	1064 ^{a***} ±238	835 ^{ab} ±179	630 ^a ±117	1071 ^b ±118
Folin (mg γαλλικού οξέος / Kg μελιού)	752 ^c ±57	650 ^{bc} ±104	454 ^a ±19	567 ^b ±85
FRAP (mg Fe ²⁺ / Kg μελιού)	2007 ^c ±250	1544 ^b ±272	1089 ^a ±90	1248 ^{ab} ±360
Εκκαθάριση ριζών υδροξυλίου (mg καφεϊκού οξέος / Kg μελιού)	133 ^c ±10	38 ^a ±22	45 ^a ±12	95 ^b ±35
Αντιφλεγμονώδης δράση (mg κατεχίνης / Kg μελιού)	78 ^b ±23	64 ^b ±12	34 ^a ±12	57 ^{ab} ±12

*Οι τιμές που παρουσιάζονται είναι ο μέσος όρος ± η τυπική απόκλιση για τα μέλια μελιτωμάτων βελανιδιά (n=5), έλατο (n=4), έλατο-βανίλια (n=4), πεύκο (n=4).

** Όπου δεν υπάρχει κοινός εκθέτης στην οριζόντια σύγκριση, υπάρχει στατιστική διαφορά (p<0,05).

Υστερα από έλεγχο ακραίων τιμών (θηκόγραμμα) και κανονικότητας (test Shapiro-Wilk) που πραγματοποιήθηκε για την επιλογή της στατιστικής μεθόδου, επιλέχθηκε το παραμετρικό τεστ One-way ANOVA χρησιμοποιώντας το Duncan's post hoc test και σε επίπεδο σημαντικότητας p<0,05.

Σύμφωνα με τα αποτελέσματα του πίνακα 10 παρατηρήθηκαν τα εξής :

- Για την μέθοδο προσδιορισμού ολικών πρωτεϊνών Bradford το Duncan's test χωρίζει τα είδη σε 2 υποσύνολα, στο πρώτο ανήκει το έλατο βανίλια και το έλατο, ενώ στο υποσύνολο 2 ανήκουν τα είδη έλατο, βελανιδιά και πεύκο. Το έλατο ανήκει και στα 2 υποσύνολα το οποίο υποδηλώνει ότι δεν διαφέρει στατιστικά σημαντικά με κανένα από τα είδη. Το έλατο-βανίλια έχει την χαμηλότερη μέση τιμή και έχει στατιστική διαφορά με την βελανιδιά και το πεύκο που παρουσιάζουν τις μεγαλύτερες μέσες τιμές.
- Για την μέθοδο προσδιορισμού αντιοξειδωτικής δράσης Folin το Duncan's test χωρίζει τα είδη σε 3 υποσύνολα, στο πρώτο ανήκει το έλατο-βανίλια το οποίο έχει την χαμηλότερη μέση τιμή, στο υποσύνολο 2 ανήκουν το πεύκο και το έλατο ενώ στο υποσύνολο 3 ανήκουν το έλατο και η βελανιδιά. Παρατηρούμε δηλαδή ότι το έλατο δεν παρουσιάζει στατιστικά σημαντική διαφορά με κανένα είδος εκτός από το έλατο-βανίλια ενώ η βελανιδιά με την μεγαλύτερη μέση τιμή διαφέρει στατιστικά και με το πεύκο και με το έλατο-βανίλια.
- Για την μέθοδο προσδιορισμού αντιοξειδωτικής δράσης FRAP το Duncan's test χωρίζει τα είδη σε 3 υποσύνολα, στο πρώτο ανήκει το έλατο-βανίλια και το πεύκο, στο υποσύνολο 2 ανήκουν το πεύκο και το έλατο ενώ στο υποσύνολο 3 ανήκει η βελανιδιά με την μεγαλύτερη μέση τιμή. Παρατηρούμε δηλαδή ότι το πεύκο δεν

παρουσιάζει στατιστικά σημαντική διαφορά με κανένα είδος εκτός από την βελανιδιά, ενώ η βελανιδιά διαφέρει στατιστικά με όλα τα υπόλοιπα είδη.

- Για την μέθοδο εκκαθάρισης ριζών υδροξυλίου το Duncan's test χωρίζει τα είδη σε 3 υποσύνολα, στο πρώτο ανήκει το έλατο-βανίλια και το έλατο, στο υποσύνολο 2 ανήκει το πεύκο ενώ στο υποσύνολο 3 ανήκει η βελανιδιά με την μεγαλύτερη μέση τιμή. Παρατηρούμε δηλαδή ότι το έλατο και το έλατο-βανίλια δεν διαφέρουν στατιστικά μεταξύ τους αλλά διαφέρουν με τα υπόλοιπα είδη.
- Για την μέθοδο προσδιορισμού αντιφλεγμονώδης δράσης το Duncan's test χωρίζει τα είδη σε 2 υποσύνολα, στο πρώτο ανήκει το έλατο βανίλια και το πεύκο, ενώ στο υποσύνολο 2 ανήκουν τα είδη πεύκο, έλατο και βελανιδιά. Το πεύκο ανήκει και στα 2 υποσύνολα το οποίο υποδηλώνει ότι δεν διαφέρει στατιστικά σημαντικά με κανένα από τα είδη. Το έλατο-βανίλια έχει την χαμηλότερη μέση τιμή και έχει στατιστική διαφορά με την βελανιδιά και το έλατο που παρουσιάζουν τις μεγαλύτερες μέσες τιμές.
- Το έλατο-βανίλια παρουσιάζει σε όλες τις μεθόδους με εξαίρεση την εκκαθάριση ριζών υδροξυλίου, τις μικρότερες μέσες τιμές.

Για τις ολικές πρωτεΐνες παρατηρείται στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των ειδών και συγκεκριμένα το μέλι βελανιδιάς και πεύκου εμφάνισε τις μεγαλύτερες συγκεντρώσεις. Όπως αναφέρθηκε και παραπάνω οι πρωτεΐνες στο μέλι μπορεί να προέρχονται είτε από τις μέλισσες κατά τον εμπλουτισμό και την επεξεργασία του νέκταρος ή των μελιτωδών εκκρίσεων είτε από την βοτανική προέλευση και την γύρη. Τα μέλια μελιτωμάτων είναι πιο φτωχά συγκριτικά με τα ανθόμελα σε γυρεόκοκκους, παρόλα αυτά εμφάνισαν μεγάλες συγκεντρώσεις ολικών πρωτεϊνών. Αυτό μπορεί να οφείλεται σε πιθανόν μεγαλύτερες συγκεντρώσεις ενζύμων και αμινοξέων που προστίθενται από τις μέλισσες όπως καταλάση και γλυκοξειδάση που συνεισφέρουν στην αντιοξειδωτική δράση (Kyriazis *et al.*, 2021).

Για την εκκαθάριση ριζών υδροξυλίου το μέλι ελάτης όπως και το μέλι έλατο-βανίλια παρουσίασαν την χαμηλότερη ικανότητα δέσμευσης με στατιστικά σημαντική διαφορά από τα άλλα δύο είδη. Αξίζει να σημειωθεί ότι το μέλι ελάτης και το μέλι έλατο-βανίλιας είναι γνωστά για το χαμηλό ποσοστό τους σε ανάγοντα σακχάρα (Manikis *et al.*, 2011), και συνεπώς τα άλλα δύο είδη πιθανόν να έχουν μεγαλύτερες τιμές λόγω της μεγαλύτερης συγκέντρωσης ανάγοντων σακχάρων (Matros *et al.*, 2015).

Τέλος τόσο για την αποτίμηση της αντιοξειδωτικής δράσης και με τις δύο μεθόδους, όσο και για της αντιφλεγμονώδους δράσης το μέλι βελανιδιάς έχει την μεγαλύτερη δράση και το μέλι έλατο-βανίλια την μικρότερη, ενώ η φθίνουσα σειρά βιοδράσεων για τα δείγματα είναι μέλι βελανιδιάς>έλατο>πεύκου>έλατο-βανίλια. Αυτό επιβεβαιώνεται και από τις έρευνες των (Tananaki *et al.*, 2024) όπου η βελανιδιά παρουσιάζει την μεγαλύτερη αντιοξειδωτική δράση και ακολουθεί επίσης στην έρευνα τους κατά σειρά το έλατο και το πεύκο ωστόσο με μεγαλύτερους μέσους όρους για κάθε είδος. Επίσης οι (Bertoncelj *et al.*, 2007) αναφέρουν την σημαντική αντιοξειδωτική δράση με τις μεθόδους Folin και FRAP για το μέλι ελάτης από την Σλοβενία αλλά με μικρότερους μέσους όρους. Τέλος για το μέλι πεύκου οι (Tsavea *et al.*, 2022) αναφέρουν παρόμοιες τιμές αντιοξειδωτικής δράσης. Το μέλι ελάτης-βανίλιας παρουσίασε τις χαμηλότερες τιμές βιοδράσεων από τα υπόλοιπα 3 είδη μελιτωμάτων.

1.4 Τέσσερα είδη μελιών γενικά ανθόμελα, γκιούλπερι, γενικά μέλια μελιτωμάτων, πευκοθύμαρο

Στους παρακάτω πίνακες παρουσιάζονται τα αποτελέσματα για τα είδη γκιούλπερι, πευκο-θύμαρο, γενικά μελιτώματα και γενικά ανθόμελα, ως μέσος όρος και τυπική απόκλιση, για τις ολικές πρωτεΐνες, την αντιοξειδωτική τους δράση, την εκκαθάριση ριζών υδροξυλίου και την αντιφλεγμονώδη δράση τους. Οι μέθοδοι που χρησιμοποιήθηκαν αντίστοιχα είναι η μέθοδος Bradford, η Folin και FRAP για την αντιοξειδωτική δράση, η μέθοδος της 1,10-φαινανθρολίνης και η μέθοδος αναστολής της δράσης του ενζύμου λιποξυγενάση (LOX). Τα δείγματα αυτά συμμετείχαν στην σύγκριση του πίνακα 8 ανθόμελα-μέλια μελιτωμάτων, ωστόσο δεν συμπεριλαμβάνονται σαν ξεχωριστά είδη στο πίνακα 9 και 10 και συνεπώς δεν συμμετείχαν στην στατιστική, καθώς τα δύο πρώτα είδη αποτελούνται από μόνο δύο δείγματα το καθένα (n=2) ενώ τα δύο τελευταία λόγω του γενικού τους προφίλ επιλέχθηκε να μην συγκριθούν με τα μονοποικιλιακά ώστε να γίνει καλύτερη σύγκριση τόσο για τις βιοδράσεις και τις ολικές πρωτεΐνες όσο και για τα πτητικά. Για το είδος γκιούλπερι επιλέχθηκαν δύο δείγματα (n=2) από διαφορετικά μελισσοκομεία στην Καρυστία και συγκεκριμένα από τον Άγιο Μάμμα και το Castello Rosso. Για το πευκο-θύμαρο επιλέχθηκαν δύο δείγματα (n=2) από διαφορετικά μελισσοκομεία στην Κρήτη και συγκεκριμένα στο Ηράκλειο και τον Κίσσαμο. Τα γενικά ανθόμελα απαρτίζουν

τέσσερα διαφορετικά πολυποικιλιακά ανθόμελα (n=4) από τα Ιωάννινα, τα Γρεβενά, την Φλώρινα και τον Έβρο ενώ τα γενικά μελιτώματα απαρτίζουν τέσσερα διαφορετικά μέλια μελιτωμάτων (n=4) από την Λάβδανη Ιωαννίνων, το Πωγώνι Ιωαννίνων, την Φλώρινα και την Χαλκιδική. Οι τιμές που παρουσιάζονται είναι ο μέσος όρος και η τυπική απόκλιση.

Πίνακας 11. Πρωτεΐνες και βιοδράσεις για τα γενικά ανθόμελα.

Μέθοδοι	Γενικά Ανθόμελα
Bradford (mg BSA / Kg μελιού)	814±324
Folin (mg γαλλικού οξέος / Kg μελιού)	458±99
FRAP (mg Fe ²⁺ / Kg μελιού)	1002±296
Εκκαθάριση ριζών υδροξυλίου (mg καφεϊκού οξέος / Kg μελιού)	68±38
Αντιφλεγμονώδης δράση (mg κατεχίνης / Kg μελιού)	56±11

*Οι τιμές που παρουσιάζονται είναι ο μέσος όρος ± η τυπική απόκλιση για τα γενικά ανθόμελα (n=4).

Πίνακας 12. Πρωτεΐνες και βιοδράσεις για το μέλι γκιούλμπερι.

Μέθοδοι	Γκιούλμπερι
Bradford (mg BSA / Kg μελιού)	1047±111
Folin (mg γαλλικού οξέος / Kg μελιού)	711±197
FRAP (mg Fe ²⁺ / Kg μελιού)	1298±607
Εκκαθάριση ριζών υδροξυλίου (mg καφεϊκού οξέος / Kg μελιού)	112±93
Αντιφλεγμονώδης δράση (mg κατεχίνης / Kg μελιού)	32±33

*Οι τιμές που παρουσιάζονται είναι ο μέσος όρος ± η τυπική απόκλιση για το μέλι γκιούλμπερι (n=2).

Πίνακας 13. Πρωτεΐνες και βιοδράσεις για τα γενικά μέλια μελιτωμάτων.

Μέθοδοι	Γενικά Μελιτώματα
Bradford (mg BSA / Kg μελιού)	1211±382
Folin (mg γαλλικού οξέος / Kg μελιού)	816±262
FRAP (mg Fe ²⁺ / Kg μελιού)	2034±682
Εκκαθάριση ριζών υδροξυλίου (mg καφεϊκού οξέος / Kg μελιού)	108±60
Αντιφλεγμονώδης δράση (mg κατεχίνης / Kg μελιού)	70±6

*Οι τιμές που παρουσιάζονται είναι ο μέσος όρος ± η τυπική απόκλιση για τα γενικά μέλια μελιτωμάτων (n=4).

Πίνακας 14. Πρωτεΐνες και βιοδράσεις για το μέλι πευκο-θύμαρο.

Μέθοδοι	Πευκο-θύμαρο
Bradford (mg BSA / Kg μελιού)	569±139
Folin (mg γαλλικού οξέος / Kg μελιού)	569±1
FRAP (mg Fe ²⁺ / Kg μελιού)	1036±5
Εκκαθάριση ριζών υδροξυλίου (mg καφεϊκού οξέος / Kg μελιού)	65±11
Αντιφλεγμονώδης δράση (mg κατεχίνης / Kg μελιού)	26±3

*Οι τιμές που παρουσιάζονται είναι ο μέσος όρος ± η τυπική απόκλιση για το πευκο-θύμαρο (n=2).

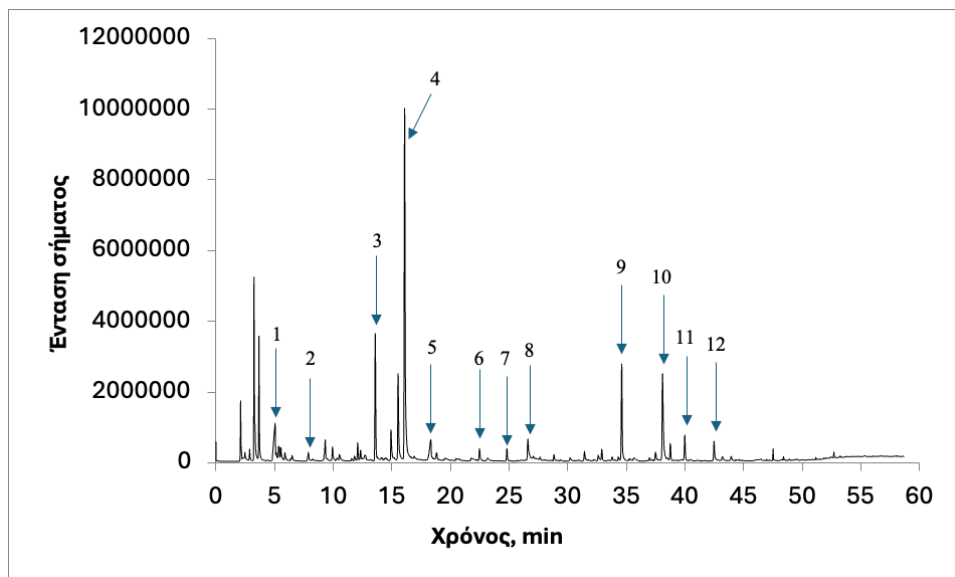
Όπως φαίνεται από τους παραπάνω πίνακες (πίνακας 11-14) τόσο για τις ολικές πρωτεΐνες όσο και για όλες τις βιοδράσεις, τα γενικά μελιτώματα εμφανίζουν τις μεγαλύτερες τιμές ενώ το πευκο-θύμαρο τις μικρότερες τιμές συγκεντρώσεων.

Τα ανθόμελα και το γκιούλμπερι εμφανίζουν σχετικά μεγάλες συγκεντρώσεις γαλλικού οξέος και Fe²⁺ και κατά συνέπεια αντιοξειδωτικής δράσης καθώς αξίζει να επισημανθεί ότι για τα γενικά ανθόμελα και τα τέσσερα δείγματα ήταν σκουρόχρωμα ανθόμελα και όχι ανοιχτόχρωμα όπως επίσης και τα δύο δείγματα γκιούλμπερι. Επίσης μεγάλη τυπική απόκλιση παρατηρείται σε όλες τις μεθόδους εκτός από τις ολικές πρωτεΐνες για τα δύο δείγματα γκιούλμπερι, υποδηλώνοντας την διαφορετικότητα μεταξύ των δύο δειγμάτων αλλά και την ανάγκη για μεγαλύτερο αριθμό δειγμάτων για το συγκεκριμένο είδος. Αντίθετα το πευκο-θύμαρο αν και εκπροσωπείται από δύο δείγματα παρουσιάζει μικρές τυπικές αποκλίσεις σε όλες τις μεθόδους. Τέλος το πευκο-θύμαρο αν και ανήκει στην κατηγορία των μελιτωμάτων αξίζει να σημειωθεί ότι εμφανίζει σχετικά χαμηλή αντιοξειδωτική δράση, εκκαθάριση ριζών υδροξυλίου και ιδιαίτερα χαμηλότερη αντιφλεγμονώδη δράση επιβεβαιώνοντας την σημαντική συνεισφορά του θυμαριού.

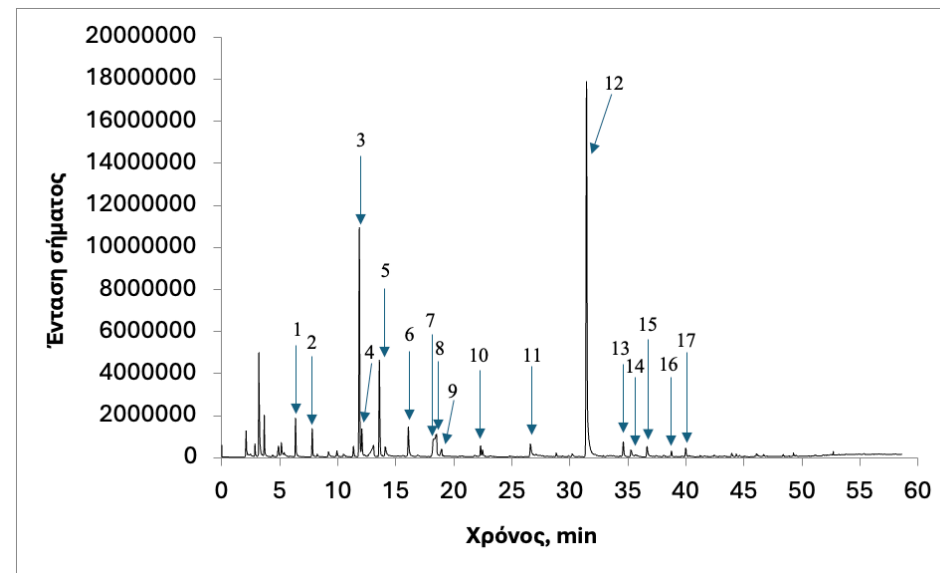
2. Πτητικές ενώσεις

2.1 Ανθόμελα – Μέλια Μελιτωμάτων

Στην εικόνα 19 απεικονίζονται τυπικά χρωματογραφήματα από μέλια που ανήκουν στις κατηγορίες ανθόμελα και μέλια μελιτωμάτων, με την τεχνική εκχύλισης και ανάλυσης SPME GC-MS όπου Α) Τυπικό χρωματογράφημα για το μέλι πεύκου για το μέλι πεύκου με τεχνική εκχύλισης και ανάλυσης SPME GC-MS και Β) Τυπικό χρωματογράφημα για το θυμαρίσιο μέλι με ανάλυση SPME GC-MS. Παρατίθενται με βέλη μερικές από τις σημαντικές ενώσεις για κάθε είδος.



A)



B)

Εικόνα 19. Τυπικά χρωματογραφήματα από μέλια που ανήκουν στις κατηγορίες ανθόμελα και μέλια μελιτωμάτων, με τεχνικής εκχύλισης και ανάλυσης SPME GC-MS. Α) Τυπικό χρωματογράφημα για το μέλι πεύκου με ανάλυση SPME GC-MS, όπου : **1.** Propanal, 2-methyl-, **2.** Butanal, 3-methyl-, **3.** I.S, **4.** Octane , **5.** Furfural, **6.** Nonane , **7.** .alpha.-Pinene , **8.** Benzaldehyde, **9.** Nonanal, **10.** 1-Nonanol, **11.** Decanal, **12.** Nonanoic acid.

Β) Τυπικό χρωματογράφημα για το θυμαρίσιο μέλι με ανάλυση SPME GC-MS, όπου : **1.** Isobutyronitrile, **2.** Butanal, 3-methyl-, **3.** Butanenitrile, 3-methyl-, **4.** 1-Butanol, 3-methyl-, **5.** I.S , **6.** Heptane , **7.** Furfural , **8.** Butanoic acid, 3-methyl-, **9.** Butanoic acid, 2-methyl-, **10.** Furan, 2,5-diethyltetrahydro-, **11.** Benzaldehyde, **12.** Benzeneacetaldehyde, **13.** Nonanal, **14.** Phenylethyl Alcohol , **15.** Benzyl nitrile , **16.** 3-t-Butyl-oct-6-en-1-ol , **17.** Decanal.

Στον Πίνακα 15 παρουσιάζονται τα αποτελέσματα των πτητικών ενώσεων με την τεχνική εκχύλισης και ανάλυσης SPME GC-MS, για τις δύο κατηγορίες ανθόμελα και μέλια μελιτωμάτων (μελιτώματα). Την κατηγορία «ανθόμελα» απαρτίζουν συνολικά 6 διαφορετικά είδη ανθόμελων και συνολικά 19 δείγματα (n=19) που περιλαμβάνουν γενικά ανθόμελα (πολυανθικά), ερείκη, θυμάρι, γκιούλπερι, κισσούρι και κούμαρο. Τα μελιτώματα από την άλλη απαρτίζονται συνολικά από 6 διαφορετικά είδη μελιών μελιτωμάτων και συνολικά από 23 δείγματα (n=23) που περιλαμβάνουν γενικά μελιτώματα, βελανιδιά, έλατο, πεύκο και πευκο-θύμαρο. Η ένωση 4-Μέθυλο-2-πεντανόλη είναι το εσωτερικό πρότυπο (0,05 mg/Kg) που χρησιμοποιήθηκε για τον ημι-ποσοτικό προσδιορισμό των ενώσεων. Οι τιμές της κάθε πτητικής ένωσης δίνονται ως μέσος όρος (mean) και τυπική απόκλιση (Std. Deviation) αλλά και ως διάμεσος (median) και μέγιστη-ελάχιστη (maximum-minimum) τιμή. Επιπλέον παρουσιάζεται η τιμή Mann-Whitney U και η p-value δίπλευρού ελέγχου με σκοπό την στατιστική ερμηνεία τους.

Πίνακας 15. Πτητικές Ενώσεις (mg/Kg) για κατηγορίες μελιού Ανθόμελα – Μελιτώματα μέσω SPME GC – MS.

Χρόνος κατακράτησης (min)	VOC's	Mann-Whitney U	p-value	Ανθόμελα					Μελιτώματα				
				Mean	Std. Deviation	Median	Minimum	Maximum	Mean	Std. Deviation	Median	Minimum	Maximum
2.461	Acetaldehyde	183,000	0,356	0,010	0,010	0,003	0,001	0,035	0,0022	0,0015	0,002	0,000	0,008
2.852	Ethanol	176,500	0,288	0,010	0,010	0,007	0,001	0,044	0,017	0,023	0,011	0,002	0,107
3.237	Acetone	82,500	0,001	0,017	0,014	0,014	0,004	0,061	0,044	0,028	0,043	0,005	0,106
3.324	Furan	153,500	0,079	0,005	0,006	0,003	0,000	0,019	0,003	0,004	0,000	0,000	0,017
3.434	Formic acid	92,000	<0,001	0,007	0,008	0,005	0,000	0,027	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
3.467	1,3-Butadiene, 2-methyl-	197,000	0,448	0,0003	0,0009	0,000	0,000	0,004	0,0003	0,0006	0,000	0,000	0,002

				Ανθόμελα					Μελιτώματα				
Χρόνος κατακράτησης (min)	VOC's	Mann- Whitney U	p-value	Mean	Std. Deviation	Median	Minimum	Maximum	Mean	Std. Deviation	Median	Minimum	Maximum
3.654	Dimethyl sulfide	170,500	0,225	0,03	0,03	0,020	0,000	0,147	0,030	0,021	0,025	0,004	0,076
4.03	Carbon disulfide	195,500	0,115	0,0002	0,0005	0,000	0,000	0,002	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
4.378	Propanal, 2-methyl-	106,500	0,003	0,0020	0,0020	0,001	0,000	0,008	0,0005	0,0007	0,000	0,000	0,002
4.986	Acetic acid	187,000	0,426	0,021	0,014	0,024	0,000	0,054	0,03	0,03	0,014	0,004	0,165
5.132	2,3-Butanedione	64,500	<0,001	0,05	0,09	0,011	0,000	0,393	0,002	0,003	0,000	0,000	0,013
5.319	2-Butanone	164,500	0,046	0,0004	0,0018	0,000	0,000	0,008	0,002	0,005	0,000	0,000	0,017
5.369	2-Pentanone, 3-methyl-	216,500	0,959	0,004	0,003	0,004	0,000	0,012	0,004	0,004	0,004	0,000	0,018
5.531	Furan, 3-methyl-	103,000	0,003	0,0018	0,0029	0,001	0,000	0,012	0,005	0,005	0,003	0,000	0,020
5.853	Furan, 2-methyl-	218,000	0,990	0,0023	0,0025	0,002	0,000	0,009	0,003	0,005	0,002	0,000	0,021
5.878	3-Buten-2-ol, 2-methyl-	207,000	0,271	0,0002	0,0007	0,000	0,000	0,003	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
6.358	Isobutyronitrile	169,000	0,068	0,003	0,007	0,000	0,000	0,022	0,001	0,005	0,000	0,000	0,023
6.482	1-Propanol, 2-methyl-	82,500	<0,001	0,0006	0,0013	0,000	0,000	0,004	0,0024	0,0018	0,002	0,000	0,007
7.801	Butanal, 3-methyl-	93,500	0,001	0,005	0,005	0,004	0,000	0,017	0,002	0,006	0,001	0,000	0,027
8.233	Butanal, 2-methyl-	116,500	0,007	0,004	0,005	0,002	0,000	0,021	0,0007	0,0011	0,000	0,000	0,003
9.801	2,3-Pentanedione	172,500	0,022	0,0004	0,0010	0,000	0,000	0,003	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
9.861	Heptane	207,500	0,779	0,010	0,010	0,005	0,002	0,047	0,005	0,003	0,004	0,002	0,017
9.993	2-Butanol, 3-methyl-	199,500	0,193	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,0003	0,0009	0,000	0,000	0,004
10.246	Furan, 2,5-dimethyl-	141,500	0,046	0,03	0,07	0,000	0,000	0,246	0,009	0,018	0,005	0,000	0,076
10.507	Acetoin	201,500	0,649	0,002	0,004	0,000	0,000	0,015	0,003	0,005	0,002	0,000	0,023
11.34	Butanenitrile, 2-methyl-	191,500	0,262	0,001	0,0022	0,000	0,000	0,007	0,0004	0,0015	0,000	0,000	0,006
11.527	2-Pentene, 3,4-dimethyl-	199,500	0,193	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,0002	0,0007	0,000	0,000	0,003
11.573	1,3-Dioxolane, 2,4,5-trimethyl-	207,000	0,729	0,002	0,003	0,000	0,000	0,015	0,002	0,004	0,000	0,000	0,016
11.792	3-Buten-1-ol, 3-methyl-	139,500	0,036	0,002	0,004	0,000	0,000	0,016	0,004	0,004	0,003	0,000	0,013
11.84	Butanenitrile, 3-methyl-	168,000	0,088	0,02	0,04	0,000	0,000	0,143	0,01	0,04	0,000	0,000	0,181
12.071	1-Butanol, 3-methyl-	147,000	0,069	0,005	0,005	0,003	0,000	0,019	0,008	0,007	0,006	0,001	0,029
12.286	3-Penten-2-one, (E)-	184,000	0,051	0,0010	0,0024	0,000	0,000	0,008	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
12.309	1-Butanol, 2-methyl-	81,500	<0,001	0,0016	0,0021	0,000	0,000	0,007	0,005	0,003	0,004	0,000	0,014
12.67	Disulfide, dimethyl	214,000	0,901	0,0021	0,0027	0,000	0,000	0,007	0,002	0,003	0,000	0,000	0,012

				Ανθόμελα					Μελιτώματα				
Χρόνος κατακράτησης (min)	VOC's	Mann- Whitney U	p-value	Mean	Std. Deviation	Median	Minimum	Maximum	Mean	Std. Deviation	Median	Minimum	Maximum
12.878	Propanoic acid, 2-methyl-	207,000	0,671	0,003	0,008	0,000	0,000	0,027	0,0006	0,0014	0,000	0,000	0,005
12.944	3-Pentanone, 2-methyl-	172,500	0,022	0,003	0,007	0,000	0,000	0,025	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
13.138	2-Butenal, 2-methyl-	211,500	0,833	0,0009	0,0016	0,000	0,000	0,006	0,0010	0,0016	0,000	0,000	0,006
13.211	1,3-Dioxolane, 4-methyl-	188,000	0,333	0,0009	0,0027	0,000	0,000	0,012	0,0013	0,0023	0,000	0,000	0,008
13.568	2-Pentanol, 4-methyl-	218,500	1,000	0,050	0,000	0,050	0,050	0,050	0,050	0,000	0,050	0,050	0,050
14.09	Toluene	153,000	0,048	0,003	0,003	0,000	0,000	0,011	0,001	0,003	0,000	0,000	0,014
14.383	2-Buten-1-ol, 2-methyl-	194,000	0,271	0,0006	0,0028	0,000	0,000	0,012	0,0006	0,0015	0,000	0,000	0,005
14.467	2-Buten-1-ol, 3-methyl-	212,500	0,787	0,0005	0,0015	0,000	0,000	0,006	0,0007	0,0020	0,000	0,000	0,008
14.529	Butanoic acid	205,000	0,445	0,0006	0,0021	0,000	0,000	0,009	0,0001	0,0006	0,000	0,000	0,003
15.089	2,3-Butanediol	193,000	0,405	0,004	0,009	0,000	0,000	0,033	0,011	0,023	0,000	0,000	0,088
15.105	2-Butenal, 3-methyl-	184,000	0,121	0,0005	0,0011	0,000	0,000	0,004	0,0002	0,0008	0,000	0,000	0,004
15.357	2,3-Butanediol, [R-(R*,R*)]-	178,500	0,205	0,004	0,011	0,000	0,000	0,043	0,02	0,04	0,000	0,000	0,165
15.512	1-Octene	137,000	0,032	0,0018	0,0029	0,000	0,000	0,011	0,006	0,008	0,003	0,000	0,040
15.913	3-Penten-2-one, 4-methyl-	217,000	0,918	0,0001	0,0002	0,000	0,000	0,001	0,0001	0,0004	0,000	0,000	0,002
16.07	Octane	97,000	0,002	0,041	0,025	0,033	0,016	0,108	0,08	0,05	0,069	0,024	0,174
16.601	3(2H)-Furanone, dihydro-2-methyl-	190,000	0,107	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,0001	0,0003	0,000	0,000	0,001
17.912	Glyceraldehyde	202,500	0,427	0,0001	0,0005	0,000	0,000	0,002	0,0002	0,0005	0,000	0,000	0,002
18.198	Furfural	87,500	0,001	0,06	0,07	0,024	0,000	0,243	0,009	0,012	0,002	0,000	0,042
18.242	Butanoic acid, 3-methyl-	203,000	0,585	0,004	0,011	0,000	0,000	0,039	0,002	0,007	0,000	0,000	0,032
18.802	Butanoic acid, 2-methyl-	193,000	0,388	0,0011	0,0029	0,000	0,000	0,011	0,0009	0,0016	0,000	0,000	0,005
19.472	2-Furanmethanol	192,000	0,401	0,0008	0,0018	0,000	0,000	0,006	0,002	0,004	0,000	0,000	0,015
19.678	Heptane, 2,3-dimethyl-	190,000	0,107	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,0002	0,0005	0,000	0,000	0,002
19.919	3-Hexanol, 2-methyl-	217,000	0,918	0,0001	0,0002	0,000	0,000	0,001	0,0001	0,0004	0,000	0,000	0,002
20.471	1-Hexanol	197,000	0,467	0,0009	0,0022	0,000	0,000	0,008	0,0005	0,0008	0,000	0,000	0,003
21.452	Bicyclo[2.2.1]hept-2-ene, 2,3-dimethyl-	171,000	0,064	0,0001	0,0002	0,000	0,000	0,001	0,0004	0,0008	0,000	0,000	0,002
22.291	Furan, 2,5-diethyltetrahydro-	131,500	0,004	0,002	0,004	0,000	0,000	0,017	0,0003	0,0011	0,000	0,000	0,005
22.464	Nonane	160,000	0,135	0,0035	0,0014	0,003	0,002	0,008	0,006	0,005	0,005	0,001	0,018
22.615	Heptanal	200,000	0,406	0,0003	0,0007	0,000	0,000	0,002	0,0001	0,0003	0,000	0,000	0,001

				Ανθόμελα					Μελιτώματα				
Χρόνος κατακράτησης (min)	VOC's	Mann- Whitney U	p-value	Mean	Std. Deviation	Median	Minimum	Maximum	Mean	Std. Deviation	Median	Minimum	Maximum
23.102	Ethanone, 1-(2-furanyl)-	156,000	0,065	0,007	0,013	0,000	0,000	0,046	0,0013	0,0025	0,000	0,000	0,009
24.296	Bicyclo[3.1.0]hexane, 6-isopropylidene-	190,000	0,107	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,0001	0,0003	0,000	0,000	0,001
24.329	Cyclopentanone, 2,4,4-trimethyl-	192,000	0,189	0,0005	0,0012	0,000	0,000	0,004	0,0000	0,0002	0,000	0,000	0,001
24.367	Ethanol, 2-[2-(2-methoxyethoxy)ethoxy]-, acetate	199,500	0,193	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,0001	0,0005	0,000	0,000	0,002
24.804	.alpha.-Pinene	174,000	0,170	0,001	0,005	0,000	0,000	0,020	0,002	0,005	0,000	0,000	0,021
25.698	2(3H)-Furanone, dihydro-5-methyl-	199,500	0,193	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,0003	0,0011	0,000	0,000	0,005
25.985	Cyclopentene, 3-propyl-	154,500	0,036	0,0003	0,0010	0,000	0,000	0,004	0,002	0,004	0,000	0,000	0,015
26.108	Bicyclo[3.1.0]hex-2-ene, 4-methylene-1-(1-methylethyl)-	217,000	0,918	0,0001	0,0002	0,000	0,000	0,001	0,0001	0,0004	0,000	0,000	0,002
26.333	2-Furancarboxaldehyde, 5-methyl-	180,500	0,059	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,0004	0,0009	0,000	0,000	0,003
26.59	Benzaldehyde	64,500	<0,001	0,019	0,012	0,016	0,001	0,054	0,007	0,007	0,005	0,000	0,025
26.74	1-Heptanol	199,500	0,193	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,0002	0,0006	0,000	0,000	0,002
27.362	1-Octen-3-ol	172,500	0,022	0,0006	0,0015	0,000	0,000	0,006	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
27.614	.beta.-Pinene	190,000	0,107	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,0003	0,0008	0,000	0,000	0,003
28.114	6-Hepten-1-ol, 2-methyl-	203,000	0,442	0,0002	0,0009	0,000	0,000	0,004	0,0001	0,0003	0,000	0,000	0,001
28.816	Octanal	137,500	0,038	0,0035	0,0027	0,004	0,000	0,011	0,002	0,003	0,001	0,000	0,013
29.025	3-Dodecyne	195,500	0,115	0,0004	0,0013	0,000	0,000	0,006	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
29.371	3-Carene	199,500	0,193	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,0005	0,0018	0,000	0,000	0,008
30.192	1-Hexanol, 2-ethyl-	89,000	0,001	0,0030	0,0018	0,004	0,000	0,007	0,0012	0,0009	0,001	0,000	0,003
30.291	o-Cymene	204,500	0,428	0,0001	0,0004	0,000	0,000	0,002	0,0000	0,0002	0,000	0,000	0,001
30.565	D-Limonene	207,000	0,271	0,0001	0,0005	0,000	0,000	0,002	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
30.725	Benzyl alcohol	195,500	0,115	0,0003	0,0008	0,000	0,000	0,003	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
30.918	2(3H)-Furanone, 5-ethenyldihydro-5-methyl-	212,000	0,713	0,0002	0,0009	0,000	0,000	0,004	0,0001	0,0003	0,000	0,000	0,001
31.203	3-Cyclohexen-1-one, 3,5,5-trimethyl- / β -isophorone	172,500	0,022	0,03	0,07	0,000	0,000	0,219	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
31.415	Benzeneacetaldehyde	66,000	<0,001	0,08	0,10	0,062	0,001	0,353	0,008	0,023	0,002	0,000	0,108
31.55	Benzaldehyde, 2-hydroxy-	207,000	0,271	0,0002	0,0007	0,000	0,000	0,003	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000

				Ανθόμελα					Μελιτώματα				
Χρόνος κατακράτησης (min)	VOC's	Mann- Whitney U	p-value	Mean	Std. Deviation	Median	Minimum	Maximum	Mean	Std. Deviation	Median	Minimum	Maximum
32.592	1-Octanol	198,000	0,470	0,001	0,005	0,000	0,000	0,021	0,0007	0,0014	0,000	0,000	0,006
32.899	trans-Linalool oxide (furanoid)	130,500	0,025	0,008	0,011	0,005	0,000	0,047	0,004	0,007	0,001	0,000	0,034
33.778	2-Nonanone	209,000	0,363	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,0000	0,0002	0,000	0,000	0,001
33.784	cis-Linalool oxide (furanoid)	212,500	0,875	0,003	0,007	0,002	0,000	0,029	0,003	0,004	0,002	0,000	0,019
34.033	Benzene, 2-ethenyl-1,3-dimethyl-	211,500	0,692	0,0001	0,0005	0,000	0,000	0,002	0,0001	0,0005	0,000	0,000	0,002
34.284	Benzoic acid, methyl ester	207,000	0,271	0,0003	0,0014	0,000	0,000	0,006	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
34.322	2-Nonanol	198,500	0,604	0,003	0,004	0,001	0,000	0,012	0,0020	0,0016	0,002	0,000	0,006
34.547	1,5,7-Octatrien-3-ol, 3,7-dimethyl- / Hotrienol	195,000	0,408	0,01	0,03	0,000	0,000	0,130	0,003	0,012	0,000	0,000	0,055
34.59	Nonanal	200,500	0,648	0,023	0,024	0,018	0,000	0,084	0,021	0,025	0,012	0,000	0,088
35.263	Phenylethyl Alcohol	118,500	0,008	0,016	0,028	0,004	0,000	0,102	0,0014	0,0019	0,000	0,000	0,006
35.836	Isophorone	172,500	0,022	0,09	0,17	0,002	0,000	0,510	0,006	0,010	0,002	0,000	0,036
36.288	1-Undecene, 10-methyl-	192,500	0,499	0,003	0,006	0,000	0,000	0,018	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
36.639	Benzyl nitrile	137,000	0,010	0,006	0,008	0,000	0,000	0,031	0,0008	0,0024	0,000	0,000	0,011
36.726	Lilac aldehyde A	199,000	0,448	0,005	0,017	0,000	0,000	0,069	0,0004	0,0009	0,000	0,000	0,004
36.964	1-Cyclohexene-1-carboxaldehyde, 5,5- dimethyl-3-oxo-	205,000	0,445	0,0001	0,0003	0,000	0,000	0,001	0,0000	0,0002	0,000	0,000	0,001
36.967	2,6,6-Trimethyl-2-cyclohexene-1,4- dione / 4-Ketoisophorone	165,500	0,172	0,03	0,05	0,005	0,000	0,151	0,002	0,003	0,002	0,000	0,015
37.182	Lilac aldehyde B	88,500	<0,001	0,02	0,03	0,019	0,000	0,125	0,0011	0,0021	0,000	0,000	0,008
37.467	Octanoic acid	95,500	0,002	0,004	0,003	0,004	0,000	0,012	0,0016	0,0018	0,001	0,000	0,007
37.686	2H-Pyran-2-one, 3,4,5,6-tetramethyl-	172,500	0,022	0,009	0,019	0,000	0,000	0,068	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
37.776	Lilac aldehyde C	201,000	0,385	0,0001	0,0005	0,000	0,000	0,002	0,0003	0,0009	0,000	0,000	0,003
37.969	Lilac aldehyde D	184,000	0,051	0,004	0,013	0,000	0,000	0,055	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
38.083	1-Nonanol	82,500	0,001	0,005	0,006	0,003	0,000	0,024	0,014	0,011	0,010	0,005	0,050
38.284	1,4-Cyclohexanedione, 2,2,6-trimethyl-	184,000	0,051	0,0010	0,0020	0,000	0,000	0,007	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
38.513	2H-Pyran-3-ol, 6-ethenyltetrahydro- 2,2,6-trimethyl-	195,500	0,115	0,0004	0,0012	0,000	0,000	0,005	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
38.74	3-t-Butyl-oct-6-en-1-ol	190,500	0,476	0,006	0,003	0,007	0,000	0,011	0,0059	0,0018	0,006	0,002	0,011

				Ανθόμελα					Μελιτώματα				
Χρόνος κατακράτησης (min)	VOC's	Mann- Whitney U	p-value	Mean	Std. Deviation	Median	Minimum	Maximum	Mean	Std. Deviation	Median	Minimum	Maximum
38.891	Citral	184,000	0,051	0,0006	0,0017	0,000	0,000	0,006	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
39.047	3-Cyclohexen-1-ol, 4-methyl-1-(1-methylethyl)-, (R)-	206,000	0,479	0,0001	0,0004	0,000	0,000	0,002	0,0001	0,0004	0,000	0,000	0,002
39.375	3,6-Dimethyl-2,3,3a,4,5,7a-hexahydrobenzofuran	195,500	0,115	0,0002	0,0008	0,000	0,000	0,004	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
39.664	Methyl salicylate	208,500	0,678	0,0012	0,0029	0,000	0,000	0,008	0,0006	0,0017	0,000	0,000	0,007
39.746	.alpha.-Terpineol	184,000	0,051	0,0002	0,0005	0,000	0,000	0,002	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
39.873	Lilac alcohol A	212,000	0,713	0,0002	0,0009	0,000	0,000	0,004	0,0001	0,0005	0,000	0,000	0,002
39.974	Decanal	117,000	0,010	0,012	0,008	0,010	0,002	0,034	0,007	0,009	0,005	0,000	0,042
40.247	2-Propanone, 1,3-diphenyl-	161,000	0,010	0,007	0,018	0,000	0,000	0,074	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
40.404	Lilac alcohol B	194,000	0,224	0,0009	0,0029	0,000	0,000	0,012	0,0002	0,0010	0,000	0,000	0,005
40.957	3-Cyclohexene-1-acetaldehyde, .alpha.,4-dimethyl-	195,500	0,115	0,001	0,003	0,000	0,000	0,013	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
41.056	Fumaric acid, di(cyclohex-3-enylmethyl) ester	207,000	0,271	0,0006	0,0025	0,000	0,000	0,011	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
42.444	Nonanoic acid	148,500	0,073	0,0039	0,0028	0,003	0,000	0,010	0,0026	0,0029	0,002	0,000	0,012
42.843	Benzaldehyde, 3-methoxy-	172,500	0,022	0,009	0,023	0,000	0,000	0,096	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
42.844	Benzaldehyde, 4-methoxy-	149,500	0,004	0,006	0,013	0,000	0,000	0,054	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
43.176	1-Decanol	176,000	0,098	0,0002	0,0009	0,000	0,000	0,004	0,0006	0,0011	0,000	0,000	0,003
43.251	Phenol, 2,3,5-trimethyl-	191,000	0,253	0,0005	0,0010	0,000	0,000	0,004	0,0002	0,0007	0,000	0,000	0,003
43.357	Benzeneacetaldehyde, .alpha.-ethylidene-	193,000	0,206	0,0003	0,0011	0,000	0,000	0,005	0,0000	0,0002	0,000	0,000	0,001
43.591	Benzeneacetic acid	161,000	0,010	0,0007	0,0017	0,000	0,000	0,007	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
43.956	Thymol	210,500	0,719	0,0004	0,0013	0,000	0,000	0,005	0,0008	0,0021	0,000	0,000	0,007
44.068	Menthyl acetate	216,000	0,864	0,0001	0,0003	0,000	0,000	0,002	0,0000	0,0002	0,000	0,000	0,001
44.418	Phenol, 2-methyl-5-(1-methylethyl)-	205,500	0,631	0,0003	0,0007	0,000	0,000	0,002	0,001	0,005	0,000	0,000	0,023
44.587	Benzene, 1-methoxy-4-propyl-	149,500	0,004	0,004	0,009	0,000	0,000	0,032	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
44.822	Cycloheptanone, 2-ethyl-	195,500	0,115	0,0010	0,0020	0,000	0,000	0,010	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
44.985	Phenol, 3,4,5-trimethyl-	172,500	0,022	0,01	0,03	0,000	0,000	0,127	0,0009	0,0016	0,000	0,000	0,005

				Ανθόμελα					Μελιτώματα				
Χρόνος κατακράτησης (min)	VOC's	Mann- Whitney U	p-value	Mean	Std. Deviation	Median	Minimum	Maximum	Mean	Std. Deviation	Median	Minimum	Maximum
45.275	Ethanone, 1-(1a,2,3,5,6a,6b-hexahydro-3,3,6a-trimethyloxireno[g]benzofuran-5-yl)-	200,000	0,568	0,005	0,011	0,000	0,000	0,038	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
45.386	Triacetin	161,000	0,010	0,0014	0,0028	0,000	0,000	0,010	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
45.97	Bicyclo[3.2.0]heptan-2-one, 5-formylmethyl-6-hydroxy-3,3-dimethyl-6-vinyl-	184,000	0,051	0,002	0,005	0,000	0,000	0,020	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
46.016	Methyl anthranilate	207,000	0,271	0,0003	0,0013	0,000	0,000	0,006	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
46.489	1, 1, 5-Trimethyl-1, 2-dihydronaphthalene	200,500	0,372	0,0001	0,0002	0,000	0,000	0,001	0,0002	0,0006	0,000	0,000	0,002
46.664	4-Decenoic acid, 3-methyl-, (E)-	195,500	0,115	0,0004	0,0011	0,000	0,000	0,004	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
46.835	3-Buten-2-ol, 4-(2,6,6-trimethyl-2-cyclohexen-1-yl)-, (3E)-	207,000	0,271	0,0001	0,0005	0,000	0,000	0,002	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
46.98	2-Buten-1-one, 1-(2,6,6-trimethyl-1,3-cyclohexadien-1-yl)-, (E)- / β-Damascenone	93,500	0,001	0,0021	0,0023	0,002	0,000	0,009	0,0003	0,0005	0,000	0,000	0,001
47.151	1-Cyclohexene-1-carboxaldehyde, 2,6,6-trimethyl-	172,500	0,022	0,008	0,017	0,000	0,000	0,058	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
47.504	Dodecanal	178,500	0,290	0,0014	0,0008	0,002	0,000	0,003	0,0012	0,0011	0,001	0,000	0,004
47.598	Coumarin, 3,4-dihydro-4,5,7-trimethyl-	184,000	0,051	0,0004	0,0012	0,000	0,000	0,004	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
48.205	Caryophyllene	217,000	0,918	0,000	0,0001	0,000	0,000	0,001	0,0000	0,0002	0,000	0,000	0,001
48.289	Benzaldehyde, 4-butyl-	207,000	0,271	0,001	0,003	0,000	0,000	0,015	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
48.801	4,4'-Dimethoxybenzil	195,500	0,115	0,001	0,003	0,000	0,000	0,015	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
48.812	6-Methyl-6-(5-methylfuran-2-yl)heptan-2-one	149,500	0,004	0,003	0,006	0,000	0,000	0,022	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
48.875	2(3H)-Furanone, 5-hexyldihydro-	184,000	0,051	0,0005	0,0012	0,000	0,000	0,004	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
49.271	5-Methyl-2-phenyl-2-hexenal	194,000	0,224	0,0005	0,0013	0,000	0,000	0,005	0,0002	0,0008	0,000	0,000	0,004
49.463	2-Furancarboxylic acid, 3-tridecyl ester	207,000	0,271	0,0004	0,0020	0,000	0,000	0,009	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
49.645	Phenol, 2,4-bis(1,1-dimethylethyl)-	201,500	0,398	0,0001	0,0002	0,000	0,000	0,001	0,0001	0,0003	0,000	0,000	0,001

				Ανθόμελα					Μελιτώματα				
Χρόνος κατακράτισης (min)	VOC's	Mann-Whitney U	p-value	Mean	Std. Deviation	Median	Minimum	Maximum	Mean	Std. Deviation	Median	Minimum	Maximum
49.907	2-Furancarboxylic acid, 2-pentadecyl ester	207,000	0,271	0,0003	0,0013	0,000	0,000	0,006	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
50.353	Heptadecane	211,000	0,671	0,0001	0,0002	0,000	0,000	0,001	0,0001	0,0003	0,000	0,000	0,001
50.4	.alpha.-Hydroxy-4'-methoxyacetophenone	184,000	0,051	0,0003	0,0007	0,000	0,000	0,003	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
50.85	Naphthalene, 1,2,3,4-tetrahydro-1,5-dimethyl-	184,000	0,051	0,0004	0,0010	0,000	0,000	0,004	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
51.31	Benzene, 1,3,5-tris(1-methylethyl)-	149,500	0,004	0,0007	0,0012	0,000	0,000	0,004	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
51.999	3-Oxo-.alpha.-ionone	184,000	0,051	0,0003	0,0009	0,000	0,000	0,003	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
52.431	Heneicosane	204,000	0,514	0,0001	0,0003	0,000	0,000	0,001	0,0001	0,0003	0,000	0,000	0,001

* Όπου η **p-value** < 0,05, υπάρχει στατιστική διαφορά στην οριζόντια σύγκριση.

Ύστερα από έλεγχο ακραίων τιμών (θηκόγραμμα) και κανονικότητας (test Shapiro-Wilk) που πραγματοποιήθηκε για την επιλογή της στατιστικής μεθόδου, επιλέχθηκε το μη παραμετρικό τεστ Mann-Whitney U test και σε επίπεδο σημαντικότητας $p < 0,05$.

Συνολικά προσδιορίστηκαν 162 ενώσεις από τις οποίες οι περισσότερες (101) ήταν κοινές και για τις δύο κατηγορίες μελιού, ενώ 51 ενώσεις ανιχνεύθηκαν μόνο στα ανθόμελα και 10 μόνο στα μελιτώματα.

Για τον έλεγχο της στατιστικής όπως αναφέρθηκε και παραπάνω, εφαρμόστηκε μη παραμετρικό test Mann-Whitney κατά το οποίο εμφανίζεται στατιστικά σημαντική διαφορά σε συνολικά σε 46 ενώσεις. Οι ενώσεις αυτές απεικονίζονται με bold όπου το $p\text{-value} < 0,05$.

Για τις 52 ενώσεις που ανιχνεύθηκαν μόνο στα ανθόμελα, στατιστική διαφορά σε σχέση με τα μελιτώματα υπάρχει στις 17. Οι υπόλοιπες λόγω της πολύ μικρής συγκέντρωσης τους και του αριθμού των δειγμάτων που εμφανίστηκαν πιθανόν να μην επαρκούν για να κριθεί εάν διαφέρουν στατιστικά σημαντικά με τα μελιτώματα.

Αντίθετα για τις 10 ενώσεις που ανιχνεύθηκαν μόνο στα μελιτώματα στατιστική διαφορά σε σχέση με τα ανθόμελα δεν παρουσιάστηκε σε καμία.

Τέλος, 28 ενώσεις από τις 46 που εμφανίζουν στατιστικά σημαντική διαφορά, υπάρχουν και στις δύο κατηγορίες μελιού.

Αξίζει λοιπόν να δοθεί έμφαση σε κάποιες από τις ενώσεις που εμφάνισαν στατιστικά σημαντική διαφορά.

Η ακετόνη (acetone) είναι μία κετόνη που εμφανίστηκε και στις δύο κατηγορίες μελιού με μεγαλύτερη συγκέντρωση στα μελιτώματα. Βιβλιογραφικά έχει αναφερθεί ως ένωση δείκτης για το μέλι ακακίας (Gianelli Barra et al., 2010; Sotiropoulou *et al.*, 2021) και το μέλι ελάτης (Bastos De Maria et al., 2003; Τανανάκη, 2006) ενώ έχει ανιχνευθεί και σε άλλες μελέτες πτητικών (Panseri *et al.*, 2023).

Επίσης το μυρμηκικό οξύ (formic acid) παρουσίασε στατιστικά σημαντική διαφορά καθώς παρόλο που είναι ένα οργανικό οξύ που υπάρχει φυσικά στα φυτά και στο μέλι (Gianelli Barra et al., 2010), παρουσιάστηκε μόνο στα ανθόμελα. Βιβλιογραφικά έχει αναφερθεί στις μελέτες των (Karabagias *et al.*, 2014; Sotiropoulou *et al.*, 2021) ότι ανιχνεύθηκε σε ελληνικά θυμαρίσια μέλια, ενώ επίσης μπορεί να προέρχεται και από μελισσοκομικούς χειρισμούς.

Η 2,3-βουτανεδιόνη ή διακετύλιο (2,3-butanedione) εμφανίζει στατιστικά σημαντική διαφορά για τα ανθόμελα ενώ έχει ανιχνευθεί επίσης σε δείγματα μελιού ακακίας και προσδίδει ένα βουτυρένιο άρωμα (Mādaş *et al.*, 2019; Panseri *et al.*, 2023).

Το 2,5-διμεθυλο-φουράνιο (Furan, 2,5-dimethyl-) ανιχνεύθηκε και στις δύο κατηγορίες ωστόσο με μεγαλύτερη συγκέντρωση στα ανθόμελα εμφανίζοντας έτσι στατιστικά σημαντική διαφορά. Αξίζει να σημειωθεί ότι η μεγαλύτερη συγκέντρωση του ανιχνεύθηκε στα μέλια ανθέων-κουμαριάς το οποίο συμφωνεί και με την βιβλιογραφία όπου η ερευνητική ομάδα των (Gialouris *et al.*, 2023) το προσδιόρισε ως δείκτη για το συγκεκριμένο είδος μελιού αλλά επίσης ανιχνεύθηκε και σε μέλια βελανιδιάς και ελάτης το οποίο συμφωνεί και με τις έρευνες των (Karabagias *et al.*, 2017a; Tananaki *et al.*, 2022).

Η 3-μέθυλο-3-βουτεν-1-όλη (3-Buten-1-ol, 3-methyl-) ανιχνεύθηκε και στα δύο είδη και περισσότερο στα μελιτώματα ενώ παρουσίασε επίσης στατιστικά σημαντική διαφορά για αυτά σε σχέση με τα ανθόμελα. Αυτό συμφωνεί και με την βιβλιογραφία όπου έχει παρατηρηθεί κυρίως σε μελιτώματα όπως μέλι ελάτης και πεύκου (Seraglio *et al.*, 2019; Tananaki *et al.*, 2022) αλλά και σε μέλι λεβάντας (Gianelli Barra et al., 2010) και ακακίας (Mādaş *et al.*, 2019). Φαίνεται ότι συνεισφέρει σημαντικά στο άρωμα του μελιού δίνοντας νότες φρεσκάδας (Gianelli Barra et al., 2010).

Η 2-μέθυλο, 1-βουτανόλη (1-Butanol, 2-methyl-) εμφανίζει στατιστικά σημαντική διαφορά για τα μέλια μελιτωμάτων ενώ επίσης έχει παρατηρηθεί γενικά σε μέλια μελιτωμάτων σύμφωνα με τους (Quintanilla-López et al., 2022). Το οκτάνιο (octane)

είναι ένας υδρογονάνθρακας που υπάρχει φυσικά σε διάφορους τύπους μελιού. Στην συγκεκριμένη έρευνα παρουσιάστηκε στατιστικά σημαντική διαφορά με μεγαλύτερη συγκέντρωση του στα μέλι μελιτώματος. Σύμφωνα με την πιο πρόσφατη βιβλιογραφία το οκτάνιο αποτελεί δείκτη για το μέλι βελανιδιάς (Karabagias *et al.*, 2022) και το μέλι ελάτης (Karabagias *et al.*, 2017a) ενώ επίσης έχει προσδιοριστεί σε μέλια ερείκης (Xagoraris, Chrysoulaki, *et al.*, 2021), θυμαρίσια (Alissandrakis *et al.*, 2007b) και πευκόμελα (Karabagias *et al.*, 2014).

Η φουρφουράλη (furfural) είναι προϊόν που σχηματίζεται συνήθως κατά τη διάρκεια της θέρμανσης ή της παρατεταμένης αποθήκευσης, το μέλι υφίσταται μετασχηματισμούς ως αποτέλεσμα μη ενζυμικών αντιδράσεων μαυρίσματος, όπως η αντίδραση Maillard (Seraglio *et al.*, 2019). Παρουσιάζει σημαντική στατιστική διαφορά με τα ανθόμελα να έχουν μεγαλύτερη συγκέντρωση από τα μελιτώματα. Αυτό είναι λογικό καθώς είναι προϊόν του μεταβολισμού των σακχάρων και κυρίως της φρουκτόζης η οποία εμφανίζεται σε μεγαλύτερες συγκεντρώσεις στα ανθόμελα. Επίσης έχει αναφερθεί σε πολλές άλλες μελέτες όπως σε μέλια ερείκης (Xagoraris, Chrysoulaki, *et al.*, 2021), μέλι γαϊδουράγκαθου (Sotiropoulou *et al.*, 2021), πορτοκαλιάς (Alissandrakis *et al.*, 2005, 2007a; Escriche *et al.*, 2022), ελάτης (Karabagias *et al.*, 2017a), θυμαρίσια (Alissandrakis *et al.*, 2007b) και μέλια της οικογένειας Fagaceae (Tedesco *et al.*, 2022) δίνοντας ένα φρουτώδες και γλυκό άρωμα στο μέλι (Manyi-Loh *et al.*, 2011).

Το 2,5-διεθυλοτετραϋδρο-φουράνιο (Furan, 2,5-diethyltetrahydro-) ανιχνεύθηκε επίσης και παρουσίασε σημαντικά στατιστική διαφορά για τα ανθόμελα σε σχέση με τα μέλια μελιτωμάτων ωστόσο δεν έχει παρατηρηθεί σε πολλά δείγματα με βάση την βιβλιογραφία ενώ οι (Xagoraris, Skouria, *et al.*, 2021) και οι (Tananaki *et al.*, 2022) ανίχνευσαν επίσης αυτήν την ένωση σε θυμαρίσια δείγματα μελιού σε σημαντική συγκέντρωση με τους δεύτερους να την ανιχνεύουν και σε δείγματα πεύκου και ερείκης σε χαμηλότερες συγκεντρώσεις.

Η βενζαλδεΰδη (benzaldehyde) ανήκει στις πτητικές ενώσεις που προέρχονται από παράγωγα του βενζολίου. Τα παράγωγα βενζολίου κυριαρχούν στο αρωματικό προφίλ ορισμένων τύπων μελιού και προσφέρουν χαρακτηριστικό άρωμα με την βενζαλδεΰδη συγκεκριμένα να προσφέρει ένα γλυκό άρωμα πικραμύγδαλου (Manyi-Loh *et al.*, 2011). Με βάση τα αποτελέσματα ανιχνεύεται και στους δύο τύπους μελιού, ωστόσο παρατηρείται στατιστικά σημαντική διαφορά με τα ανθόμελα να παρουσιάζουν σημαντική συγκέντρωση της σε σχέση με τα μέλια μελιτωμάτων. Αυτό συμβαδίζει με

την βιβλιογραφία όπου η συγκεκριμένη ένωση έχει βρεθεί σε σημαντικές ποσότητες σε διαφορετικά είδη μελιού με σημαντικότερη συνεισφορά στα θυμαρίσια μέλια (Alissandrakis *et al.*, 2007b; Sotiropoulou *et al.*, 2021; Xagoraris, Skouria, *et al.*, 2021), ενώ επίσης σημαντικές συγκεντρώσεις της ανιχνεύθηκαν και σε μέλια ερείκης σύμφωνα με τις έρευνες των (Xagoraris, Chrysoulaki, *et al.*, 2021; Gialouris *et al.*, 2023). Ακόμα έχει ανιχνευθεί και σε άλλα είδη μελιού όπως πορτοκαλιάς και σε μικρότερες συγκεντρώσεις σε μέλι πεύκου και ελάτης (Karabagias *et al.*, 2017a; Karabagias *et al.*, 2020).

Η 1-οκτεν-3-όλη (1-Octen-3-ol) είναι μία από τις ενώσεις που εμφάνισαν επίσης στατιστικά σημαντική διαφορά ωστόσο ανιχνεύθηκε σε χαμηλή μόνο συγκέντρωση στα ανθόμελα. Η ένωση αυτή συνεισφέρει στο αρωματικό προφίλ και συγκεκριμένα δίνει γήινες νότες και νότες μανιταριού. Στην βιβλιογραφία έχει ανιχνευθεί σε δείγματα μελιού ερείκης (Tananaki *et al.*, 2022; Gialouris *et al.*, 2023).

Η οκτανάλη (octanal) είναι μία αλδεΐδη που εμφάνισε στατιστικά σημαντική διαφορά στα ανθόμελα σε σχέση με τα μελιτώματα αν και ανιχνεύθηκε και στις δύο κατηγορίες σε σχετικά χαμηλές συγκεντρώσεις. Σύμφωνα με την βιβλιογραφία έχει ανιχνευθεί σε διάφορους τύπους μελιού στην Ελλάδα, την Ιταλία, την Ισπανία, την Τουρκία και την Αργεντινή και κυρίως σε πολυανθικά μέλια και θυμαρίσια μέλια. Επίσης έχει βρεθεί σε μέλια ερείκης, πορτοκαλιάς, χαρουπιάς, κουμαριάς αλλά και σε μελιτώματα σε χαμηλές συγκεντρώσεις όπως σε μέλια ελάτης και πεύκου (Bentivenga *et al.*, 2004; Alissandrakis *et al.*, 2005, 2007b, 2007a, 2009; Wolski *et al.*, 2006; Baroni *et al.*, 2006; Manyi-Loh *et al.*, 2011; Karabagias *et al.*, 2014; Karabagias *et al.*, 2017a; Mădaş *et al.*, 2019; Karabagias *et al.*, 2020; Xagoraris, Chrysoulaki, *et al.*, 2021; Tananaki *et al.*, 2022; Tedesco *et al.*, 2022; Escriche *et al.*, 2022; Karabagias *et al.*, 2022; Panseri *et al.*, 2023; Gialouris *et al.*, 2023). Η οκτανάλη συνεισφέρει στο άρωμα του μελιού καθώς έχει βρεθεί ότι δίνει νότες εσπεριδοειδών και ένα άρωμα φρεσκάδας-βοτανικό άρωμα (Manyi-Loh *et al.*, 2011).

Η 3,5,5-τριμεθυλο-3-κυκλοεξεν-1-όνη ή αλλιώς β-ισοφορόνη (3-Cyclohexen-1-one, 3,5,5-trimethyl- / β-isophorone) είναι μία νορισοπρενοειδής ένωση που μπορεί να προκύψει από την άμεση αποδόμηση μορίων καροτενοειδών. Αυτά τα μόρια έχουν σημαντική αισθητηριακή επίδραση στο άρωμα του μελιού, καθώς διαθέτουν πολύ χαμηλά κατώφλια οσφρητικής αντίληψης. Η παρουσία αυτών των ενώσεων αποτελεί θετικό δείκτη για τους πρόδρομους τους, τα καροτενοειδή, τα οποία συνδέονται με μηχανισμούς πρόληψης οξείδωσης. Τα καροτενοειδή είναι αποδοτικοί εκκαθαριστές

ελεύθερων ριζών και ενισχύουν το ανοσοποιητικό σύστημα των σπονδυλωτών, καθώς διαθέτουν δυννητική αντιοξειδωτική ικανότητα (Manyi-Loh et al., 2011). Η β-ισοφορόνη προσδιορίστηκε σε μεγάλες συγκεντρώσεις στα ανθόμελα και παρουσιάζει στατιστικά σημαντική διαφορά με τα μελιτώματα στα οποία δεν ανιχνεύθηκε. Πιο συγκεκριμένα έχει βρεθεί σε μεγάλες συγκεντρώσεις και φαίνεται ότι αποτελεί δείκτη για τα μέλια ερείκης καθώς έχει προσδιοριστεί σε δείγματα ερείκης τόσο στην Ελλάδα όσο και στην Πολωνία και την Ισπανία (Wolski et al., 2006; Karabagias et al., 2020; Sotiropoulou et al., 2021; Xagoraris, Chrysoulaki, et al., 2021; Tananaki et al., 2022). Επίσης η ερευνητική ομάδα των (Gialouris et al., 2023) ανίχνευσε σε μεγάλες συγκεντρώσεις την β-ισοφορόνη και σε δείγματα κουμαριάς εκτός από ερείκης πράγμα που θα μπορούσε να επιβεβαιώσει την συσχέτιση της εμφάνιση της συγκεκριμένης ένωσης με την βοτανική οικογένεια των ερικοδών (Ericaceae). Τέλος το άρωμα που συνεισφέρουν τα ισομερή της ισοφορόνης (α και β) συνεισφέρουν στο άρωμα του μελιού προσδίδοντας γήινες και ξυλώδεις νότες.

Η βενζενακεταλδεϋδη ή φαινυλακεταλδεϋδη (benzeneacetaldehyde / phenylacetaldehyde) είναι μία πτητική ένωση με υψηλή τιμή οσφρητικής δραστηριότητας (OAV) και χαμηλό κατώφλι ανίχνευσης οσμής (4 ppb). Προσδιορίστηκε και στα δύο είδη μελιού με στατιστικά σημαντική διαφορά και μεγάλη συγκέντρωση της στα ανθόμελα σε σχέση με τα μέλια μελιτωμάτων. Έχει βρεθεί ότι δίνει μια γλυκιά νότα μελιού στο άρωμα (Manyi-Loh et al., 2011). Βιβλιογραφικά φαίνεται να είναι μία σημαντική ένωση δείκτης για το θυμαρίσιο μέλι σύμφωνα με τις έρευνες των (Alissandrakis et al., 2007b; Tananaki et al., 2022). Επίσης σύμφωνα με την ερευνητική ομάδα των (Gialouris et al., 2023) η βενζενακεταλδεϋδη ταυτοποιήθηκε ως δείκτης για την ποικιλία του μελιού από φασκόμηλο. Τέλος έχει βρεθεί σε σημαντικές ποσότητες και σε άλλα μονοποικιλιακά μέλια τόσο στην Ελλάδα όσο και στην Ιταλία και την Ισπανία όπως σε μέλια ερείκης και πορτοκαλιάς (Bentivenga et al., 2004; Baroni et al., 2006; Seraglio et al., 2019; Rodríguez-Flores et al., 2021; Escribe et al., 2022; Tedesco et al., 2022), ενώ οι (Karabagias et al., 2017a; Karabagias et al., 2022) την ανίχνευσαν και σε μέλια μελιτωμάτων και συγκεκριμένα σε μέλι βελανιδιάς και ελάτης.

Το trans ισομερές οξείδιο λιναλόλης (trans-linalool oxide) παρουσιάζει επίσης στατιστικά σημαντική διαφορά για τα ανθόμελα αν και ανιχνεύεται και στις δύο κατηγορίες. Συνεισφέρει στο άρωμα του μελιού δίνοντας γλυκές νότες εσπεριδοειδών (Manyi-Loh et al., 2011). Βιβλιογραφικά οι περισσότερες μελέτες έχουν συνδέσει την

ανίχνευση των οξειδίων λιναλόλης με το μέλι πορτοκαλιάς (Karabagias *et al.*, 2020) (Escriche *et al.*, 2022) και στην συνέχει με μέλια ερείκης (Rodríguez-Flores *et al.*, 2021) και ακακίας (Quintanilla-López *et al.*, 2022).

Η φαινυλαιθυλική αλκοόλη (phenylethyl alcohol) είναι μία από τις σημαντικότερες ενώσεις δείκτες για το θυμαρίσιο μέλι. Στον παραπάνω πίνακα παρατηρείται στατιστικά σημαντική διαφορά για τα ανθόμελα το οποίο προκύπτει λόγω του θυμαρίσιου μελιού όπως θα φανεί και παρακάτω στην σύγκριση των μονοποικιλιακών μελιών που απαρτίζουν την ομάδα των ανθόμελων. Η ένωση αυτή δίνει ένα γλυκό και λουλουδένιο άρωμα ενώ βιβλιογραφικά έχει ανιχνευθεί σε πολλούς τύπους μελιού αλλά έχει προσδιοριστεί ως δείκτης βοτανικής προέλευσης για τα θυμαρίσια μέλια (Alissandrakis *et al.*, 2007b, 2009; Tananaki *et al.*, 2022; Tedesco *et al.*, 2022; Gialouris *et al.*, 2023).

Η ισοφορόνη (isophorone) όπως και η β-ισοφορόνη παρουσίασε στατιστικά σημαντική διαφορά για τα ανθόμελα σε σχέση με τα μέλια μελιτωμάτων και συγκεκριμένα προσδιορίστηκε σε μεγάλες συγκεντρώσεις στα μέλια ερείκης και κουμαριάς. Αυτό συμφωνεί και με την βιβλιογραφία όπου οι ερευνητικές ομάδες των (Piasenzotto *et al.*, 2003; Wolski *et al.*, 2006; Manyi-Loh *et al.*, 2011; Karabagias *et al.*, 2014; Neggad *et al.*, 2019; Karabagias *et al.*, 2020; Xagoraris, Chrysoulaki, *et al.*, 2021; Sotiropoulou *et al.*, 2021; Escriche *et al.*, 2022; Quintanilla-López *et al.*, 2022; Tananaki *et al.*, 2022; Gialouris *et al.*, 2023) έχουν ανιχνεύσει την συγκεκριμένη ένωση σε μεγάλες συγκεντρώσεις κυρίως σε μέλια ερείκης και κουμαριάς. Τέλος προσφέρει ένα πικάντικο άρωμα σε αυτά τα μέλια (Manyi-Loh *et al.*, 2011).

Το βενζυλο-νιτρίλιο (benzyl nitrile) παρουσίασε επίσης στατιστικά σημαντική διαφορά για τα ανθόμελα σε σχέση με τα μελιτώματα. Οι (Tananaki *et al.*, 2022) προσδιόρισαν αυτήν την ένωση ως δείκτης για το θυμαρίσιο μέλι ενώ έχει ανιχνευθεί και σε μέλι ακακίας (Panseri *et al.*, 2023).

Τα ισομερή της λιλακαλδεΰδης και συγκεκριμένα το B ή II (lilac aldehyde B) παρουσίασε στατιστικά σημαντική διαφορά για τα ανθόμελα. Βιβλιογραφικά η ένωση αυτή αποτελεί δείκτη για το μέλι πορτοκαλιάς τόσο στην Ελλάδα όσο και την Ιταλία και την Ισπανία και αυτό δικαιολογεί την εμφάνιση του σε ένα από τα δείγματα ερείκης και συγκεκριμένα στο δείγμα από τα Καλύβια Αγρινίου το οποίο τρυγήθηκε μετά την ανθοφορία και της πορτοκαλιάς και συνεπώς το πτητικό του προφίλ επιβεβαιώνει την συνεισφορά της ανθοφορίας της πορτοκαλιάς στο μέλι (Piasenzotto *et al.*, 2003; Alissandrakis *et al.*, 2005, 2007a, 2007b; Aliferis *et al.*, 2010; Ioannis K Karabagias *et*

al., 2014; Karabagias *et al.*, 2020; Rodríguez-Flores *et al.*, 2021; Sotiropoulou *et al.*, 2021; Escriche *et al.*, 2022; Quintanilla-López *et al.*, 2022; Gialouris *et al.*, 2023).

Η 1-εννεανόλη (1-nonanol) είναι μία αλκοόλη που παρουσιάζει στατιστικά σημαντική διαφορά καθώς εμφανίζεται σε μεγαλύτερη συγκέντρωση στα μέλια μελιτωμάτων απ'ότι στα ανθόμελα. Αυτό επιβεβαιώνεται και βιβλιογραφικά καθώς έχει ανιχνευθεί κυρίως σε μέλια μελιτωμάτων και συγκεκριμένα σε μέλι βελανιδιάς, πεύκου και ελάτης (Karabagias *et al.*, 2014; Karabagias *et al.*, 2017a; Karabagias *et al.*, 2022; Tananaki *et al.*, 2022; Gialouris *et al.*, 2023) ενώ προσφέρει πράσινες νότες και γλυκό άρωμα στο μέλι (Manyi-Loh *et al.*, 2011).

Η δεκανάλη (decanal) ανιχνεύθηκε σε μεγαλύτερες συγκεντρώσεις στα ανθόμελα και στατιστικά σημαντική διαφορά σε σχέση με τα μέλια μελιτωμάτων. Πιο συγκεκριμένα η δεκανάλη ανιχνεύθηκε σε όλα τα είδη μελιού τόσο στα μελιτώματα όσο και στα ανθόμελα ωστόσο μεγαλύτερη συγκέντρωση ανιχνεύθηκε στα ανθόμελα. Βιβλιογραφικά έχει βρεθεί σε διάφορους τύπους μελιού σε σημαντικές συγκεντρώσεις με σημαντικότερη παρουσία στο μέλι ερείκης (Tananaki *et al.*, 2022) και στο μέλι βελανιδιάς (Karabagias *et al.*, 2022). Επίσης έχει προσδιοριστεί και σε άλλα είδη μελιού όπως θυμαρίσιο, ακακίας, ελάτης και πεύκου (Alissandrakis *et al.*, 2007b; Karabagias *et al.*, 2017a; Rodríguez-Flores *et al.*, 2021; Sotiropoulou *et al.*, 2021; Gialouris *et al.*, 2023; Panseri *et al.*, 2023).

Και τα δύο ισομερή βενζαλδεϋδης, η 3-μέθοξυ και η 4-μέθοξυ-βενζαλδεϋδη (Benzaldehyde, 3-methoxy- & Benzaldehyde, 4-methoxy-) ανιχνεύθηκαν μόνο στα ανθόμελα και εμφανίζουν στατιστικά σημαντική διαφορά. Βιβλιογραφικά έχει αναφερθεί ότι η 4-μέθοξυ-βενζαλδεϋδη συνεισφέρει στο άρωμα με γλυκές πουδρένιες νότες και ταυτόχρονα ξυλώδης και πικάντικες (Pattamayutanon *et al.*, 2017). Επίσης έχει προσδιοριστεί σε σημαντικές συγκεντρώσεις σε μέλι ερείκης τόσο στην Ελλάδα όσο και στην Ιταλία, στην Γαλλία και την Ισπανία (Alissandrakis *et al.*, 2007b; Rodríguez-Flores *et al.*, 2021; Sotiropoulou *et al.*, 2021; Xagoraris, Chrysoulaki, *et al.*, 2021; Gialouris *et al.*, 2023).

Η 3,4,5-τριμεθυλο-φαινόλη (Phenol, 3,4,5-trimethyl-) ανιχνεύθηκε και στις δύο κατηγορίες και σε σημαντική συγκέντρωση στα ανθόμελα παρουσιάζοντας έτσι στατιστικά σημαντική διαφορά. Βιβλιογραφικά έχει ανιχνευθεί και προταθεί ως δείκτης για το μέλι κουμαριάς (Yang *et al.*, 2014; Karabagias *et al.*, 2019; Osés *et al.*, 2020; Graïkou *et al.*, 2022) αλλά και σε μέλι ερείκης (Sotiropoulou *et al.*, 2021), ελάτης και πεύκου (Karabagias *et al.*, 2017a; Sotiropoulou *et al.*, 2021) το οποίο συμφωνεί με

τα αποτελέσματα της συγκεκριμένης έρευνας. Προσφέρει «πράσινες» νότες στο άρωμα του μελιού.

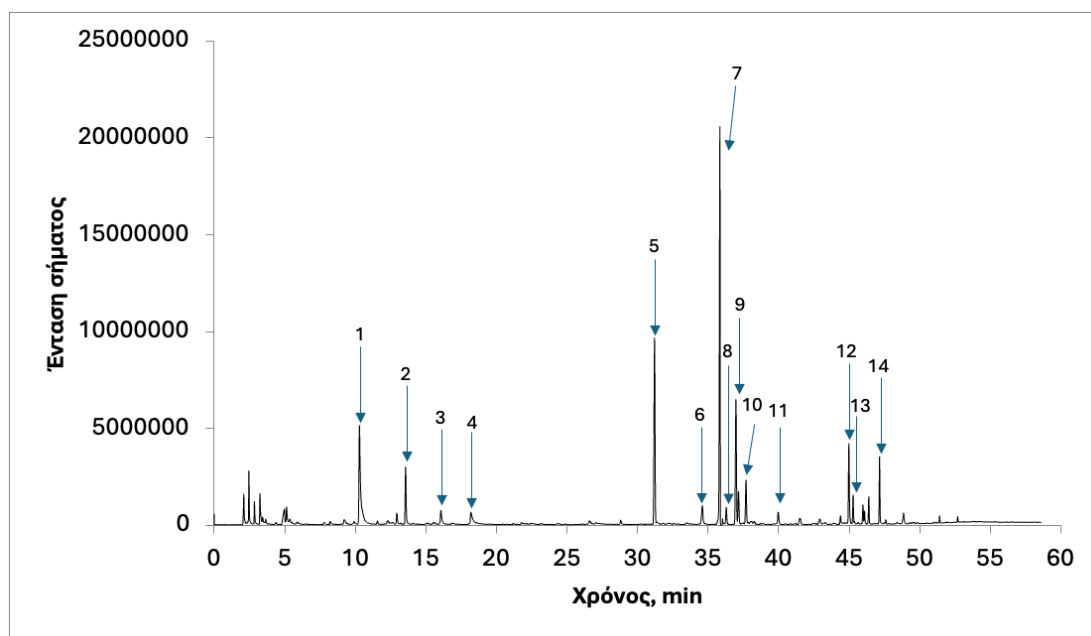
Η β-δαμασκηνόνη (β-Damascenone) είναι μία ακόμα ένωση που παρουσίασε στατιστικά σημαντική διαφορά. Όπως και η β-ισοφορόνη είναι μία νορισοπρενοειδής ένωση που μπορεί να προκύψει από την άμεση αποδόμηση μορίων καροτενοειδών. Αυτά τα μόρια έχουν σημαντική αισθητηριακή επίδραση στο άρωμα του μελιού, καθώς διαθέτουν πολύ χαμηλά κατώφλια οσφρητικής αντίληψης. Πιο συγκεκριμένα συνεισφέρει ένα γλυκό και φρουτώδες άρωμα στο μέλι ενώ βιβλιογραφικά έχει προσδιοριστεί σε διαφορετικές κατηγορίες μελιού, σε μέλι ερείκης, θυμαρίσιο και πεύκου (Alissandrakis *et al.*, 2007a, 2007b; Karabagias *et al.*, 2014; Seisonen *et al.*, 2015; Sotiropoulou *et al.*, 2021; Xagoraris, Chrysoulaki, *et al.*, 2021) ενώ αξίζει να αναφερθεί ότι στην συγκεκριμένη έρευνα ανιχνεύθηκε και στο μέλι ανθέων-κουμαριάς και σε μικρότερες συγκεντρώσεις στο μέλι βελανιδιάς.

Τέλος αξίζει να συζητηθούν και κάποιες κοινές ενώσεις που ανιχνεύθηκαν και στα δύο είδη μελιού και δεν παρουσίασαν στατιστικά σημαντική διαφορά συνεπώς υπάρχουν φυσικά σε κάθε τύπο μελιού. Το επτάνιο (heptane) είναι ένας υδρογονάνθρακας που δεν συμμετέχει σημαντικά στο άρωμα του μελιού αλλά έχει ανιχνευθεί σε αρκετούς τύπους μελιού σε σημαντικές συγκεντρώσεις όπως σε πολυανθικά ανθόμελα (Karabagias *et al.*, 2020), σε θυμαρίσια μέλια (Alissandrakis *et al.*, 2009), σε μέλι πορτοκαλιάς (Alissandrakis *et al.*, 2005), σε μέλι ελάτης και βελανιδιάς (Karabagias *et al.*, 2017a; Karabagias *et al.*, 2022). Επίσης το εννεάνιο (nonane) ανιχνεύθηκε και στους δύο τύπους μελιού και συμφωνεί βιβλιογραφικά με τις έρευνες των (Alissandrakis *et al.*, 2005, 2007a; Wolski *et al.*, 2006; Karabagias *et al.*, 2014; Karabagias *et al.*, 2017a; Karabagias *et al.*, 2020; Xagoraris, Chrysoulaki, *et al.*, 2021; Sotiropoulou *et al.*, 2021; Karabagias *et al.*, 2022; Tananaki *et al.*, 2022; Gialouris *et al.*, 2023) οι οποίοι το ανίχνευσαν σε διαφορετικούς τύπους και συμπέραναν ότι υπάρχει φυσικά στο μέλι. Αποτελεί μέρος της ομάδας των υδρογονανθράκων που συμβάλλουν στο αρωματικό προφίλ του μελιού. Αν και το νονάνιο από μόνο του δεν έχει ιδιαίτερα έντονη οσμή, η παρουσία του στο μέλι μπορεί να συμβάλει στο λεπτό υπόβαθρο αρωμάτων που θυμίζουν υδρογονάνθρακες, τα οποία συχνά περιγράφονται ως ελαφριά ή ουδέτερα. Τέλος ακόμα μία ένωση που ανιχνεύθηκε και στα ανθόμελα και στα μελιτώματα και δεν παρουσίασε στατιστικά σημαντική διαφορά είναι η 3,7-διμέθυλο-1,5,7-οκτατριεν-3-όλη (1,5,7-Octatrien-3-ol, 3,7-dimethyl- / Hotrienol) η οποία δίνει βοτανικές νότες στο μέλι και βιβλιογραφικά έχει ανιχνευθεί σε μέλια

ερείκης, θυμαρίσια, πορτοκαλιάς αλλά και σε μελιτώματα (Bastos De Maria *et al.*, 2003; Alissandrakis *et al.*, 2005, 2007a, 2007b; Gianelli Barra *et al.*, 2010; Manyi-Loh *et al.*, 2011; Pattamayutanon *et al.*, 2017; Neggad *et al.*, 2019; Karabagias *et al.*, 2020; Rodríguez-Flores *et al.*, 2021; Xagoraris, Chrysoulaki, *et al.*, 2021; Gialouris *et al.*, 2023).

2.2 Τέσσερα είδη ανθόμελων (ερείκης – θυμάρι – κισσούρι – ανθέων-κουμαριάς)

Στην εικόνα 20 απεικονίζεται τυπικό χρωματογράφημα για το μέλι κουμαριάς με τεχνική εκχύλισης και ανάλυσης SPME GC-MS και παρατίθενται με βέλη μερικές από τις σημαντικές ενώσεις.



Εικόνα 20. Τυπικό χρωματογράφημα για το μέλι κουμαριάς με ανάλυση SPME GC-MS, όπου : **1.** Furan, 2,5-dimethyl-, **2.** I.S , **3.** Octane, **4.** Furfural, **5.** 3-Cyclohexen-1-one, 3,5,5-trimethyl- / β-isophorone, **6.** Nonanal , **7.** Isophorone , **8.** 1-Undecene, 10-methyl-, **9.** 2,6,6-Trimethyl-2-cyclohexene-1,4-dione / 4-Ketoisophorone , **10.** 2H-Pyran-2-one, 3,4,5,6-tetramethyl-, **11.** Decanal, **12.** Phenol, 3,4,5-trimethyl-, **13.** Ethanone, 1-(1a,2,3,5,6a,6b-hexahydro-3,3,6a-trimethyloxireno[g]benzofuran-5-yl)-, **14.** 1-Cyclohexene-1-carboxaldehyde, 2,6,6-trimethyl-.

Στον Πίνακα 16 παρουσιάζονται τα αποτελέσματα των πτητικών ενώσεων με την τεχνική εκχύλισης και ανάλυσης SPME GC-MS, για τα τέσσερα διαφορετικά είδη ανθόμελων, πιο συγκεκριμένα για τα μέλια ερείκης, θυμάρι, κισσούρι και ανθέων-κουμαριάς. Το είδος «Ερείκη» απαρτίζουν συνολικά 3 μέλια ερείκης από διαφορετικές περιοχές (n=3) από το Αγρίνιο, τα Ιωάννινα και τον Ταΰγετο. Το μέλι «Θυμάρι» απαρτίζουν συνολικά 4 θυμαρίσια μέλια από διαφορετικές περιοχές (n=4) από την Θεσπρωτία, την Εύβοια, την Κρήτη και τον Ταΰγετο. Το μέλι «Κισσούρι» απαρτίζουν συνολικά 3 μέλια κισσούρι από διαφορετικά μελισσοκομεία της Καρυστίας (n=3) από το Όρος Όχη, τον Καφηρέα και το Κόμητο. Το μέλι «Ανθέων-Κούμαρο» απαρτίζουν συνολικά 3 μέλια ανθέων-κουμαριάς με κυρίαρχο γυρεόκοκκο της κουμαριάς από 3

διαφορετικές περιοχές (n=3) από τα Ιωάννινα, την Αιτ/νία και τον Πάρνωνα. Η ένωση 4-Μέθυλο-2-πεντανόλη είναι το εσωτερικό πρότυπο (0,05 mg/Kg) που χρησιμοποιήθηκε για τον ημι-ποσοτικό προσδιορισμό των ενώσεων. Οι τιμές της κάθε πτητικής ένωσης δίνονται ως μέσος όρος και τυπική απόκλιση.

Πίνακας 16. Πτητικές Ενώσεις (mg/Kg) για 4 είδη μελιού ανθόμελων μέσω SPME GC – MS.

Χρόνος κατακράτησης (min)	VOC's	Ερείκη	Θυμάρι	Κισσούρι	Ανθέων - Κούμαρο
2.461	Acetaldehyde	0.007 ^{*ab**} ±0.006	0.0011 ^a ±0.0002	0.0023 ^{ab} ±0.0003	0.029 ^b ±0.007
2.851	Ethanol	0.023 ^a ±0.018	0.008 ^a ±0.003	0.0060 ^a ±0.0010	0.009 ^a ±0.006
3.239	Acetone	0.014 ^a ±0.014	0.029 ^a ±0.023	0.008 ^a ±0.006	0.024 ^a ±0.010
3.332	Furan	0.005 ^{ab} ±0.005	0.003 ^{ab} ±0.003	0.012 ^b ±0.006	0.000 ^a ±0.000
3.438	Formic acid	0.012 ^a ±0.012	0.000 ^a ±0.000	0.0113 ^a ±0.0020	0.0107 ^a ±0.0021
3.460	1,3-Butadiene, 2-methyl-	0.000 ^a ±0.000	0.001 ^a ±0.000	0.000 ^a ±0.000	0.000 ^a ±0.000
3.651	Dimethyl sulfide	0.014 ^a ±0.007	0.015 ^a ±0.006	0.016 ^a ±0.009	0.0033 ^a ±0.0018
4.030	Carbon disulfide	0.002 ^a ±0.000	0.000 ^a ±0.000	0.000 ^a ±0.000	0.001 ^a ±0.000
4.375	Propanal, 2-methyl-	0.0020 ^a ±0.0010	0.0011 ^a ±0.0002	0.0037 ^a ±0.0010	0.0015 ^a ±0.0007
4.975	Acetic acid	0.022 ^a ±0.009	0.015 ^a ±0.008	0.039 ^a ±0.015	0.029 ^a ±0.004
5.130	2,3-Butanedione	0.027 ^a ±0.016	0.0096 ^a ±0.0009	0.10 ^a ±0.05	0.010 ^a ±0.008
5.316	2-Butanone	0.000 ^a ±0.000	0.008 ^a ±0.000	0.000 ^a ±0.000	0.000 ^a ±0.000
5.368	2-Pentanone, 3-methyl-	0.0098 ^a ±0.0029	0.0023 ^a ±0.0010	0.0023 ^a ±0.0024	0.0070 ^a ±0.0018
5.570	Furan, 3-methyl-	0.002 ^a ±0.000	0.012 ^a ±0.000	0.0025 ^a ±0.0000	0.0023 ^a ±0.0010
5.818	Furan, 2-methyl-	0.0057 ^a ±0.0025	0.004 ^a ±0.000	0.000 ^a ±0.000	0.0043 ^a ±0.0014
6.356	Isobutyronitrile	0.001 ^a ±0.000	0.018 ^a ±0.007	0.0025 ^a ±0.0000	0.000 ^a ±0.000
7.793	Butanal, 3-methyl-	0.006 ^a ±0.004	0.008 ^a ±0.006	0.0087 ^a ±0.0023	0.0019 ^a ±0.0006
8.227	Butanal, 2-methyl-	0.0033 ^a ±0.0019	0.0018 ^a ±0.0006	0.009 ^a ±0.004	0.0025 ^a ±0.0000
9.801	2,3-Pentanedione	0.001 ^{ab} ±0.000	0.000 ^a ±0.000	0.0023 ^b ±0.0012	0.000 ^{ab} ±0.000
9.911	Heptane	0.0038 ^a ±0.0018	0.0040 ^a ±0.0011	0.0057 ^a ±0.0010	0.0028 ^a ±0.0014
10.291	Furan, 2,5-dimethyl-	0.077 ^{ab} ±0.000	0.000 ^a ±0.000	0.000 ^a ±0.000	0.19 ^b ±0.06
10.498	Acetoin	0.015 ^a ±0.000	0.0020 ^a ±0.0005	0.004 ^a ±0.000	0.000 ^a ±0.000
11.337	Butanenitrile, 2-methyl-	0.000 ^a ±0.000	0.0052 ^a ±0.0028	0.000 ^a ±0.000	0.000 ^a ±0.000
11.562	1,3-Dioxolane, 2,4,5-trimethyl-	0.004 ^a ±0.000	0.000 ^a ±0.000	0.000 ^a ±0.000	0.009 ^a ±0.008
11.777	3-Buten-1-ol, 3-methyl-	0.0048 ^a ±0.0025	0.000 ^a ±0.000	0.000 ^a ±0.000	0.000 ^a ±0.000
11.838	Butanenitrile, 3-methyl-	0.004 ^a ±0.000	0.08 ^a ±0.07	0.008 ^a ±0.000	0.000 ^a ±0.000
12.066	1-Butanol, 3-methyl-	0.0027 ^a ±0.0006	0.011 ^a ±0.006	0.0020 ^a ±0.0014	0.002 ^a ±0.000
12.286	3-Penten-2-one, (E)-	0.000 ^a ±0.000	0.000 ^a ±0.000	0.000 ^a ±0.000	0.0065 ^b ±0.0013
12.306	1-Butanol, 2-methyl-	0.0030 ^b ±0.0009	0.002 ^{ab} ±0.000	0.002 ^{ab} ±0.000	0.000 ^a ±0.000
12.516	2-Butenal, 2-methyl-	0.0033 ^a ±0.0004	0.0005 ^a ±0.0000	0.000 ^a ±0.000	0.000 ^a ±0.000
12.659	Disulfide, dimethyl	0.0035 ^a ±0.0009	0.007 ^a ±0.000	0.0040 ^a ±0.0014	0.000 ^a ±0.000
12.944	3-Pentanone, 2-methyl-	0.010 ^{ab} ±0.000	0.000 ^a ±0.000	0.000 ^a ±0.000	0.016 ^b ±0.007

Χρόνος κατακράτησης (min)	VOC's	Ερείκη	Θυμάρι	Κισσούρι	Ανθέων - Κούμαρο
12.974	Propanoic acid, 2-methyl-	0.000 ^a ±0.000	0.014 ^b ±0.013	0.000 ^a ±0.000	0.000 ^a ±0.000
13.202	1,3-Dioxolane, 4-methyl-	0.002 ^a ±0.000	0.000 ^a ±0.000	0.000 ^a ±0.000	0.007 ^a ±0.007
13.562	2-Pentanol, 4-methyl-	0.05 ^a ±0.000	0.05 ^a ±0.000	0.05 ^a ±0.000	0.05 ^a ±0.000
14.087	Toluene	0.004 ^a ±0.000	0.008 ^a ±0.003	0.0025 ^a ±0.000	0.0040 ^a ±0.0021
15.095	2-Butenal, 3-methyl-	0.0028 ^a ±0.0011	0.000 ^a ±0.000	0.000 ^a ±0.000	0.0023 ^a ±0.0004
15.506	1-Octene	0.002 ^a ±0.000	0.001 ^a ±0.000	0.0027 ^a ±0.0003	0.007 ^a ±0.000
15.565	2,3-Butanediol	0.000 ^a ±0.000	0.000 ^a ±0.000	0.000 ^a ±0.000	0.012 ^a ±0.008
15.910	3-Penten-2-one, 4-methyl-	0.001 ^a ±0.000	0.000 ^a ±0.000	0.000 ^a ±0.000	0.000 ^a ±0.000
16.063	Octane	0.034 ^a ±0.018	0.027 ^a ±0.004	0.0440 ^a ±0.0009	0.06 ^a ±0.05
18.183	Furfural	0.05 ^a ±0.04	0.04 ^a ±0.04	0.157 ^a ±0.015	0.014 ^a ±0.008
18.577	Butanoic acid, 3-methyl-	0.000 ^a ±0.000	0.034 ^a ±0.006	0.000 ^a ±0.000	0.000 ^a ±0.000
18.919	Butanoic acid, 2-methyl-	0.000 ^a ±0.000	0.007 ^a ±0.004	0.000 ^a ±0.000	0.000 ^a ±0.000
19.461	2-Furanmethanol	0.0030 ^a ±0.0021	0.000 ^a ±0.000	0.000 ^a ±0.000	0.000 ^a ±0.000
19.920	3-Hexanol, 2-methyl-	0.000 ^a ±0.000	0.001 ^a ±0.000	0.000 ^a ±0.000	0.000 ^a ±0.000
22.290	Furan, 2,5-diethyltetrahydro-	0.000 ^a ±0.000	0.0053 ^b ±0.0018	0.0018 ^{ab} ±0.0008	0.000 ^a ±0.000
22.459	Nonane	0.0040 ^a ±0.0009	0.0051 ^a ±0.0018	0.0023 ^a ±0.0003	0.0022 ^a ±0.0008
22.607	Heptanal	0.002 ^a ±0.000	0.000 ^a ±0.000	0.000 ^a ±0.000	0.002 ^a ±0.000
23.088	Ethanone, 1-(2-furanyl)-	0.007 ^{ab} ±0.000	0.0035 ^{ab} ±0.000	0.022 ^b ±0.012	0.000 ^a ±0.000
24.341	Cyclopentanone, 2,4,4-trimethyl-	0.002 ^a ±0.000	0.000 ^a ±0.000	0.000 ^a ±0.000	0.0038 ^a ±0.0004
24.800	.alpha.-Pinene	0.000 ^a ±0.000	0.001 ^a ±0.000	0.000 ^a ±0.000	0.000 ^a ±0.000
26.584	Benzaldehyde	0.033 ^a ±0.020	0.017 ^a ±0.005	0.0185 ^a ±0.0022	0.009 ^a ±0.004
27.355	1-Octen-3-ol	0.006 ^a ±0.000	0.000 ^a ±0.000	0.001 ^a ±0.000	0.000 ^a ±0.000
28.128	6-Hepten-1-ol, 2-methyl-	0.004 ^a ±0.000	0.000 ^a ±0.000	0.000 ^a ±0.000	0.000 ^a ±0.000
28.813	Octanal	0.0040 ^a ±0.0022	0.0034 ^a ±0.0021	0.0043 ^a ±0.0003	0.0045 ^a ±0.0005
29.025	3-Dodecyne	0.0055 ^a ±0.000	0.002 ^a ±0.000	0.000 ^a ±0.000	0.000 ^a ±0.000
30.189	1-Hexanol, 2-ethyl-	0.0040 ^a ±0.0005	0.0028 ^a ±0.0006	0.0040 ^a ±0.0009	0.0043 ^a ±0.0004
30.298	o-Cymene	0.000 ^a ±0.000	0.0013 ^a ±0.0004	0.000 ^a ±0.000	0.000 ^a ±0.000
30.565	D-Limonene	0.000 ^a ±0.000	0.002 ^a ±0.000	0.000 ^a ±0.000	0.000 ^a ±0.000
30.724	Benzyl alcohol	0.003 ^a ±0.000	0.000 ^a ±0.000	0.000 ^a ±0.000	0.000 ^a ±0.000
30.908	2(3H)-Furanone, 5-ethenyldihydro-5-methyl-	0.004 ^a ±0.000	0.000 ^a ±0.000	0.000 ^a ±0.000	0.000 ^a ±0.000
31.203	3-Cyclohexen-1-one, 3,5,5-trimethyl- / β-isophorone	0.082 ^{ab} ±0.000	0.000 ^a ±0.000	0.000 ^a ±0.000	0.18 ^b ±0.05
31.410	Benzeneacetaldehyde	0.015 ^a ±0.024	0.23 ^b ±0.13	0.0920 ^{ab} ±0.0023	0.04 ^{ab} ±0.03
32.587	1-Octanol	0.000 ^a ±0.000	0.000 ^a ±0.000	0.003 ^a ±0.000	0.000 ^a ±0.000
32.896	trans-Linalool oxide (furanoid)	0.009 ^a ±0.004	0.004 ^a ±0.003	0.024 ^a ±0.022	0.01 ^a ±0.000
33.780	cis-Linalool oxide (furanoid)	0.002 ^a ±0.000	0.0018 ^a ±0.0004	0.020 ^a ±0.012	0.002 ^a ±0.000
34.284	Benzoic acid, methyl ester	0.006 ^a ±0.000	0.000 ^a ±0.000	0.000 ^a ±0.000	0.000 ^a ±0.000
34.321	2-Nonanol	0.007 ^a ±0.007	0.0038 ^a ±0.0011	0.0063 ^a ±0.0018	0.000 ^a ±0.000
34.543	1,5,7-Octatrien-3-ol, 3,7-dimethyl- / Hotrienol	0.002 ^a ±0.000	0.001 ^a ±0.000	0.10 ^b ±0.05	0.002 ^a ±0.000
34.588	Nonanal	0.033 ^a ±0.029	0.019 ^a ±0.012	0.02 ^a ±0.000	0.056 ^a ±0.028
35.257	Phenylethyl Alcohol	0.0035 ^{ab} ±0.0007	0.04 ^b ±0.05	0.015 ^{ab} ±0.019	0.000 ^a ±0.000

Χρόνος κατακράτησης (min)	VOC's	Επίκρη	Θυμάρι	Κισσούρι	Ανθέων - Κούμαρο
35.837	Isophorone	0.18 ^{ab} ±0.29	0.001 ^a ±0.000	0.0060 ^{ab} ±0.0022	0.36 ^b ±0.04
36.288	1-Undecene, 10-methyl-	0.0045 ^{ab} ±0.000	0.000 ^a ±0.000	0.000 ^a ±0.000	0.015 ^b ±0.004
36.634	Benzyl nitrile	0.0105 ^a ±0.000	0.0115 ^a ±0.0022	0.005 ^a ±0.004	0.012 ^a ±0.007
36.724	Lilac aldehyde A	0.0685 ^a ±0.000	0.03 ^a ±0.000	0.000 ^a ±0.000	0.000 ^a ±0.000
36.966	2,6,6-Trimethyl-2-cyclohexene-1,4-dione / 4-Ketoisophorone	0.03 ^{ab} ±0.04	0.0015 ^a ±0.000	0.0060 ^{ab} ±0.0005	0.12 ^b ±0.03
37.177	Lilac aldehyde B	0.06 ^a ±0.06	0.022 ^a ±0.022	0.0222 ^a ±0.0028	0.032 ^a ±0.018
37.456	Octanoic acid	0.0058 ^a ±0.0011	0.0019 ^a ±0.0005	0.0055 ^a ±0.0013	0.0050 ^a ±0.0013
37.686	2H-Pyran-2-one, 3,4,5,6-tetramethyl-	0.023 ^{ab} ±0.000	0.000 ^a ±0.000	0.000 ^a ±0.000	0.047 ^b ±0.021
37.969	Lilac aldehyde D	0.055 ^a ±0.000	0.024 ^a ±0.000	0.0015 ^a ±0.000	0.000 ^a ±0.000
37.978	Lilac aldehyde C	0.000 ^a ±0.000	0.002 ^a ±0.000	0.000 ^a ±0.000	0.000 ^a ±0.000
38.074	1-Nonanol	0.014 ^a ±0.000	0.003 ^a ±0.000	0.0023 ^a ±0.0011	0.014 ^a ±0.009
38.284	1,4-Cyclohexanedione, 2,2,6-trimethyl-	0.000 ^a ±0.000	0.000 ^a ±0.000	0.000 ^a ±0.000	0.0052 ^b ±0.0018
38.513	2H-Pyran-3-ol, 6-ethenyltetrahydro-2,2,6-trimethyl-	0.000 ^a ±0.000	0.000 ^a ±0.000	0.0035 ^a ±0.0021	0.000 ^a ±0.000
38.738	3-t-Butyl-oct-6-en-1-ol	0.0070 ^a ±0.0013	0.0063 ^a ±0.0021	0.0083 ^a ±0.0010	0.0073 ^a ±0.0004
38.891	Citral	0.0053 ^a ±0.0011	0.000 ^a ±0.000	0.000 ^a ±0.000	0.000 ^a ±0.000
39.024	3-Cyclohexen-1-ol, 4-methyl-1-(1-methylethyl)-, (R)-	0.000 ^a ±0.000	0.000 ^a ±0.000	0.0015 ^a ±0.000	0.000 ^a ±0.000
39.375	3,6-Dimethyl-2,3,3a,4,5,7a-hexahydrobenzofuran	0.0035 ^a ±0.000	0.001 ^a ±0.000	0.000 ^a ±0.000	0.000 ^a ±0.000
39.658	Methyl salicylate	0.008 ^a ±0.000	0.000 ^a ±0.000	0.007 ^a ±0.000	0.000 ^a ±0.000
39.747	.alpha.-Terpineol	0.000 ^a ±0.000	0.001 ^a ±0.000	0.000 ^a ±0.000	0.000 ^a ±0.000
39.972	Decanal	0.011 ^a ±0.004	0.012 ^a ±0.007	0.0177 ^a ±0.0021	0.010 ^a ±0.003
40.247	2-Propanone, 1,3-diphenyl-	0.000 ^a ±0.000	0.04 ^a ±0.04	0.007 ^a ±0.006	0.000 ^a ±0.000
40.419	Lilac alcohol B	0.000 ^a ±0.000	0.000 ^a ±0.000	0.000 ^a ±0.000	0.012 ^a ±0.000
40.957	3-Cyclohexene-1-acetaldehyde, .alpha.,4-dimethyl-	0.013 ^a ±0.000	0.002 ^a ±0.000	0.000 ^a ±0.000	0.000 ^a ±0.000
41.056	Fumaric acid, di(cyclohex-3-enylmethyl) ester	0.011 ^a ±0.000	0.000 ^a ±0.000	0.000 ^a ±0.000	0.000 ^a ±0.000
42.436	Nonanoic acid	0.004 ^a ±0.004	0.0021 ^a ±0.0006	0.0043 ^a ±0.0008	0.007 ^a ±0.003
42.832	Benzaldehyde, 3-methoxy-	0.000 ^a ±0.000	0.000 ^a ±0.000	0.0320 ^a ±0.0014	0.000 ^a ±0.000
42.840	Benzaldehyde, 4-methoxy-	0.025 ^a ±0.024	0.000 ^a ±0.000	0.0215 ^a ±0.000	0.01 ^a ±0.000
43.249	Phenol, 2,3,5-trimethyl-	0.0015 ^a ±0.0007	0.000 ^a ±0.000	0.000 ^a ±0.000	0.0030 ^a ±0.0007
43.357	Benzeneacetaldehyde, .alpha.-ethylidene-	0.000 ^a ±0.000	0.001 ^a ±0.000	0.000 ^a ±0.000	0.0045 ^a ±0.000
43.591	Benzeneacetic acid	0.002 ^a ±0.000	0.0013 ^a ±0.0004	0.007 ^a ±0.000	0.0025 ^a ±0.000
43.950	Thymol	0.000 ^a ±0.000	0.0025 ^a ±0.000	0.000 ^a ±0.000	0.000 ^a ±0.000
44.080	Menthyl acetate	0.000 ^a ±0.000	0.0015 ^a ±0.000	0.000 ^a ±0.000	0.000 ^a ±0.000
44.336	Phenol, 2-methyl-5-(1-methylethyl)-	0.000 ^a ±0.000	0.0017 ^a ±0.0006	0.000 ^a ±0.000	0.000 ^a ±0.000
44.575	Benzene, 1-methoxy-4-propyl-	0.029 ^a ±0.004	0.000 ^a ±0.000	0.0025 ^a ±0.000	0.000 ^a ±0.000
44.822	Cycloheptanone, 2-ethyl-	0.000 ^a ±0.000	0.000 ^a ±0.000	0.000 ^a ±0.000	0.006 ^a ±0.005
44.977	Phenol, 3,4,5-trimethyl-	0.022 ^{ab} ±0.028	0.000 ^a ±0.000	0.000 ^{ab} ±0.000	0.07 ^b ±0.05

Χρόνος κατακράτησης (min)	VOC's	Ερείκη	Θυμάρι	Κισσούρι	Ανθέων - Κούμαρο
45.275	Ethanone, 1-(1a,2,3,5,6a,6b-hexahydro-3,3,6a-trimethyloxireno[g]benzofuran-5-yl)-	0.0165 ^{ab} ±0.000	0.000 ^a ±0.000	0.000 ^a ±0.000	0.03 ^b ±0.010
45.384	Triacetin	0.000 ^a ±0.000	0.000 ^a ±0.000	0.007 ^a ±0.003	0.0025 ^a ±0.000
45.970	Bicyclo[3.2.0]heptan-2-one, 5-formylmethyl-6-hydroxy-3,3-dimethyl-6-vinyl-	0.0055 ^a ±0.000	0.000 ^a ±0.000	0.000 ^a ±0.000	0.014 ^a ±0.009
46.016	Methyl anthranilate	0.0055 ^a ±0.000	0.000 ^a ±0.000	0.000 ^a ±0.000	0.000 ^a ±0.000
46.664	4-Decenoic acid, 3-methyl-, (E)-	0.003 ^a ±0.000	0.004 ^a ±0.000	0.000 ^a ±0.000	0.000 ^a ±0.000
46.979	2-Buten-1-one, 1-(2,6,6-trimethyl-1,3-cyclohexadien-1-yl)-, (E)- / β-Damascenone	0.005 ^a ±0.003	0.0010 ^a ±0.0014	0.0023 ^a ±0.0004	0.0050 ^a ±0.0014
47.151	1-Cyclohexene-1-carboxaldehyde, 2,6,6-trimethyl-	0.019 ^{ab} ±0.000	0.000 ^a ±0.000	0.000 ^a ±0.000	0.044 ^b ±0.015
47.502	Dodecanal	0.0017 ^a ±0.0006	0.0013 ^a ±0.0010	0.0018 ^a ±0.0006	0.0015 ^a ±0.0005
47.598	Coumarin, 3,4-dihydro-4,5,7-trimethyl-	0.000 ^a ±0.000	0.000 ^a ±0.000	0.000 ^a ±0.000	0.0028 ^b ±0.0016
48.209	Caryophyllene	0.000 ^a ±0.000	0.0005 ^a ±0.000	0.000 ^a ±0.000	0.000 ^a ±0.000
48.289	Benzaldehyde, 4-butyl-	0.000 ^a ±0.000	0.0145 ^a ±0.000	0.000 ^a ±0.000	0.000 ^a ±0.000
48.801	4,4'-Dimethoxybenzil	0.009 ^a ±0.009	0.000 ^a ±0.000	0.000 ^a ±0.000	0.000 ^a ±0.000
48.811	6-Methyl-6-(5-methylfuran-2-yl)heptan-2-one	0.0095 ^a ±0.000	0.000 ^a ±0.000	0.0060 ^a ±0.0014	0.016 ^a ±0.008
48.873	2(3H)-Furanone, 5-hexyldihydro-	0.000 ^a ±0.000	0.000 ^a ±0.000	0.0028 ^a ±0.0011	0.000 ^a ±0.000
49.266	5-Methyl-2-phenyl-2-hexenal	0.000 ^a ±0.000	0.0020 ^a ±0.0007	0.000 ^a ±0.000	0.000 ^a ±0.000
49.463	2-Furancarboxylic acid, 3-tridecyl ester	0.0085 ^a ±0.000	0.000 ^a ±0.000	0.000 ^a ±0.000	0.000 ^a ±0.000
49.907	2-Furancarboxylic acid, 2-pentadecyl ester	0.006 ^a ±0.000	0.000 ^a ±0.000	0.000 ^a ±0.000	0.000 ^a ±0.000
50.276	Phenol, 2,4-bis(1,1-dimethylethyl)-	0.000 ^a ±0.000	0.000 ^a ±0.000	0.001 ^a ±0.000	0.000 ^a ±0.000
50.395	.alpha.-Hydroxy-4'-methoxyacetophenone	0.000 ^a ±0.000	0.000 ^a ±0.000	0.0018 ^a ±0.0011	0.000 ^a ±0.000
50.988	Naphthalene, 1,2,3,4-tetrahydro-1,5-dimethyl-	0.002 ^a ±0.000	0.000 ^a ±0.000	0.001 ^a ±0.000	0.000 ^a ±0.000
51.309	Benzene, 1,3,5-tris(1-methylethyl)-	0.001 ^{ab} ±0.000	0.000 ^a ±0.000	0.0023 ^b ±0.0003	0.000 ^a ±0.000
51.999	3-Oxo-.alpha.-ionone	0.000 ^a ±0.000	0.000 ^a ±0.000	0.0022 ^b ±0.0010	0.000 ^a ±0.000
52.430	Heptadecane	0.001 ^a ±0.000	0.000 ^a ±0.000	0.000 ^a ±0.000	0.000 ^a ±0.000
52.431	Heneicosane	0.001 ^a ±0.000	0.0008 ^a ±0.0004	0.000 ^a ±0.000	0.000 ^a ±0.000

*Οι τιμές που παρουσιάζονται είναι ο μέσος όρος και η τυπική απόκλιση. Για τα είδη Ερείκη, Κισσούρι και Ανθέων-Κούμαρο (n=3), για το είδος Θυμάρι (n=4).

**Όπου δεν υπάρχει κοινός εκθέτης στην οριζόντια σύγκριση, υπάρχει στατιστική διαφορά (p<0,05).

Ύστερα από έλεγχο ακραίων τιμών (θηκόγραμμα) και κανονικότητας (test Shapiro-Wilk) που πραγματοποιήθηκε για την επιλογή της στατιστικής μεθόδου, επιλέχθηκε το

μη παραμετρικό τεστ Kruskal Wallis και pairwise συγκρίσεις σε επίπεδο σημαντικότητας $p < 0,05$.

Συνολικά προσδιορίστηκαν 132 ενώσεις από τις οποίες παρουσίασαν στατιστικά σημαντική διαφορά οι 24. Πιο αναλυτικά στο μέλι ερείκης προσδιορίστηκαν συνολικά 96 ενώσεις, στο θυμάρι συνολικά 76 ενώσεις, στο κισσούρι 68 ενώ στο μέλι ανθέων-κουμαριάς προσδιορίστηκαν οι λιγότερες, συνολικά 67 ενώσεις.

Αξίζει λοιπόν να δοθεί έμφαση σε κάποιες από τις ενώσεις που εμφάνισαν στατιστικά σημαντική διαφορά.

Το 2,5-διμέθυλοφουράνιο (Furan, 2,5-dimethyl-) παρουσίασε στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των μελιών ανθέων-κουμαριάς με το θυμάρι και το κισσούρι, καθώς εμφάνισε την μεγαλύτερη συγκέντρωση στο μέλι ανθέων-κουμαριάς το οποίο δεν διέφερε στατιστικά όμως με το μέλι ερείκης. Φαίνεται ότι αποτελεί δείκτη βοτανικής προέλευσης για το μέλι ανθέων-κουμαριάς και κατ'επέκταση για την οικογένεια των φυτών Ericaceae το οποίο συμφωνεί και με την έρευνα των (Yang *et al.*, 2014; Karabagias *et al.*, 2019; Gialouris *et al.*, 2023).

Η 3-μέθυλο-2-πεντανόνη (3-Pentanone, 2-methyl-) επίσης ανιχνεύθηκε σε μεγαλύτερη συγκέντρωση στα μέλια ανθέων-κουμαριάς παρουσιάζοντας στατιστικά σημαντική διαφορά με τα μέλια θυμάρι και κισσούρι ενώ δεν παρουσίασε στατιστικά σημαντική διαφορά με τα μέλια ερείκης. Η ένωση αυτή έχει ανιχνευθεί σε διάφορους τύπους μελιού συμπεριλαμβανομένου και του μελιού ερείκης αλλά δεν έχει προσδιοριστεί μέχρι τώρα σε μέλι κουμαριάς (Tananaki *et al.*, 2022; Yildiz *et al.*, 2022; Huang *et al.*, 2024).

Η 1-(2-φουρανυλο)-αιθανόνη (Ethanone, 1-(2-furanyl)-) ανιχνεύθηκε με την μεγαλύτερη συγκέντρωση στο κισσούρι και παρουσίασε σημαντική στατιστική διαφορά με το μέλι ανθέων-κουμαριάς αλλά όχι με το μέλι ερείκης και το θυμαρίσιο. Η συγκεκριμένη ένωση έχει ανιχνευθεί σε σημαντικές ποσότητες σε μέλι ερείκης στην έρευνα των (Tananaki *et al.*, 2022) αλλά και σε θυμαρίσια μέλια τόσο στην Ελλάδα όσο και την Ισπανία (Alissandrakis *et al.*, 2005; Karabagias *et al.*, 2014; Escriche *et al.*, 2022). Τέλος έχει ανιχνευθεί και στο μέλι ΠΟΠ φθινοπωρινής μακίας της Κορσικής το οποίο παρουσιάζει κοινά χαρακτηριστικά με το μέλι ΠΟΠ κισσούρι Καρυστίας (Yang *et al.*, 2014).

Η 3,5,5-τριμεθυλο-3-κυκλοεξεν-1-όνη ή αλλιώς β-ισοφορόνη (3-Cyclohexen-1-one, 3,5,5-trimethyl- / β-isophorone) όπως αναφέρθηκε και στον πίνακα 15 είναι μία νορισοπρενοειδής ένωση που μπορεί να προκύψει από την άμεση αποδόμηση μορίων

καροτενοειδών. Αυτά τα μόρια έχουν σημαντική αισθητηριακή επίδραση στο άρωμα του μελιού, καθώς διαθέτουν πολύ χαμηλά κατώφλια οσφρητικής αντίληψης. (Manyi-Loh et al., 2011). Η β-ισοφορόνη προσδιορίστηκε σε μεγάλες συγκεντρώσεις στο μέλι ερείκης και στο μέλι ανθέων-κουμαριάς εμφανίζοντας έτσι στατιστικά σημαντική διαφορά από το μέλι θυμάρι και κισσούρι. Πιο συγκεκριμένα έχει βρεθεί σε μεγάλες συγκεντρώσεις και φαίνεται ότι αποτελεί δείκτη για τα μέλια ερείκης καθώς έχει προσδιοριστεί σε δείγματα ερείκης τόσο στην Ελλάδα όσο και στην Πολωνία και την Ισπανία (Wolski et al., 2006; Karabagias et al., 2020; Sotiropoulou et al., 2021; Xagoraris, Chrysoulaki, et al., 2021; Tananaki et al., 2022). Επίσης οι ερευνητικές ομάδες των (Osés et al., 2020; Graikou et al., 2022; Gialouris et al., 2023) ανίχνευσε σε μεγάλες συγκεντρώσεις την β-ισοφορόνη και σε δείγματα κουμαριάς εκτός από ερείκης πράγμα που θα μπορούσε να επιβεβαιώσει την συσχέτιση της εμφάνιση της συγκεκριμένης ένωσης με την βοτανική οικογένεια των ερικοδών (Ericaceae). Τέλος το άρωμα που συνεισφέρουν τα ισομερή της ισοφορόνης (α και β) συνεισφέρουν στο άρωμα του μελιού προσδίδοντας γήινες και ξυλώδεις νότες.

Η βενζενακεταλδεΰδη ή φαινυλακεταλδεΰδη (benzeneacetaldehyde / phenylacetaldehyde) όπως αναφέρθηκε επίσης στον πίνακα 15 είναι μία πτητική ένωση με υψηλή τιμή οσφρητικής δραστηριότητας (OAV) και χαμηλό κατώφλι ανίχνευσης οσμής (4 ppb). Προσδιορίστηκε με μεγαλύτερη συγκέντρωση και εμφανίζοντας στατιστική σημαντική διαφορά στο μέλι θυμάρι. Έχει βρεθεί ότι δίνει μια γλυκιά νότα μελιού στο άρωμα (Manyi-Loh et al., 2011). Βιβλιογραφικά φαίνεται να είναι μία σημαντική ένωση δείκτης για το θυμαρίσιο μέλι σύμφωνα με τις έρευνες των (Alissandrakis et al., 2007b; Tananaki et al., 2022).

Η φαινυλαιθυλική αλκοόλη (phenylethyl alcohol) είναι μία από τις σημαντικότερες ενώσεις δείκτες για το θυμαρίσιο μέλι. Στον παραπάνω πίνακα επιβεβαιώνεται καθώς ανιχνεύεται με μεγαλύτερη συγκέντρωση στο θυμαρίσιο μέλι και παρουσιάζει στατιστικά σημαντική διαφορά. Η ένωση αυτή δίνει ένα γλυκό και λουλουδένιο άρωμα ενώ βιβλιογραφικά έχει ανιχνευθεί σε πολλούς τύπους μελιού αλλά έχει προσδιοριστεί ως δείκτης βοτανικής προέλευσης για τα θυμαρίσια μέλια (Alissandrakis et al., 2007b, 2009; Tananaki et al., 2022; Tedesco et al., 2022; Gialouris et al., 2023).

Η ισοφορόνη (isophorone) όπως και η β-ισοφορόνη ανιχνεύθηκε σε μεγαλύτερες συγκεντρώσεις στα μέλια ερείκης και ανθέων-κουμαριάς και παρουσίασε στατιστικά σημαντική διαφορά με τα μέλια θυμάρι και κισσούρι. Αυτό συμφωνεί και με την βιβλιογραφία όπου οι ερευνητικές ομάδες των (Piasenzotto et al., 2003; Wolski et al.,

2006; Manyi-Loh et al., 2011; Karabagias *et al.*, 2014; Neggad *et al.*, 2019; Karabagias et al., 2020; Xagoraris, Chrysoulaki, *et al.*, 2021; Sotiropoulou *et al.*, 2021; Escriche *et al.*, 2022; Quintanilla-López et al., 2022; Tananaki *et al.*, 2022; Gialouris *et al.*, 2023) έχουν ανιχνεύσει την συγκεκριμένη ένωση σε μεγάλες συγκεντρώσεις κυρίως σε μέλια ερείκης και κουμαριάς. Τέλος προσφέρει ένα πικάντικο άρωμα σε αυτά τα μέλια (Manyi-Loh et al., 2011).

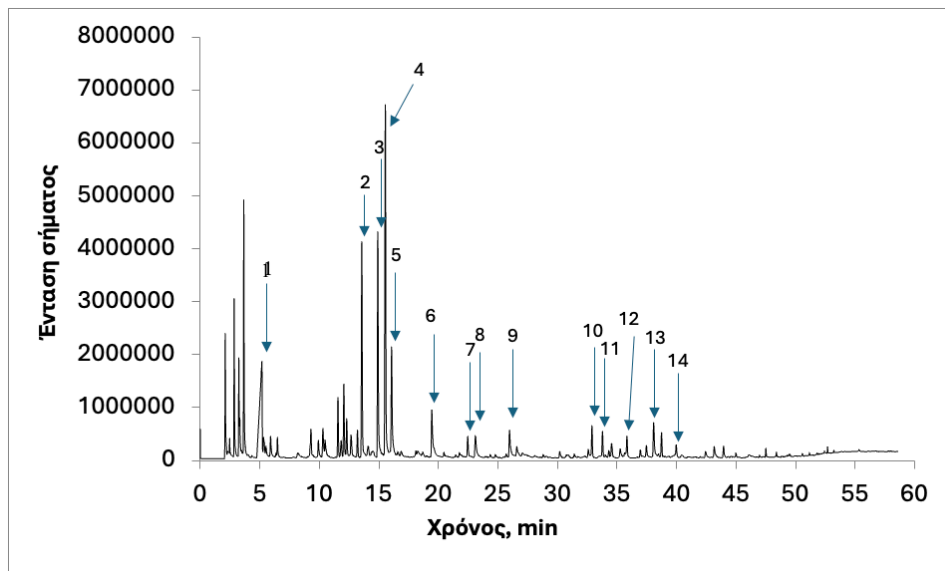
Η 2,6,6-τριμεθυλο-2-κυκλοεξεν-1,4-διόνη ή αλλιώς 4-κετοϊσοφορόνη (2,6,6-Trimethyl-2-cyclohexene-1,4-dione / 4-Ketoisophorone) όπως και η ισοφορόνη και η β-ισοφορόνη ανιχνεύθηκε σε μεγαλύτερες συγκεντρώσεις στο μέλι ανθέων-κουμαριάς και ερείκης και ύστερα στο κισσούρι παρουσιάζοντας στατιστικά σημαντική διαφορά. Αυτό συμφωνεί και με την βιβλιογραφία όπου έχει προσδιοριστεί ως δείκτης για το μέλι κουμαριάς στην Ελλάδα και την Ιταλία αλλά και έχει ανιχνευθεί σε σημαντικές ποσότητες σε μέλι ερείκης στην Ελλάδα (Jerković *et al.*, 2011; Karabagias *et al.*, 2014; Karabagias et al., 2019; Madaş *et al.*, 2019; Karabagias et al., 2020; Osés *et al.*, 2020; Graikou et al., 2022; Tananaki *et al.*, 2022; Yildiz *et al.*, 2022).

Συμπεραίνοντας από τα αποτελέσματα του πίνακα 16, παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά σε 24 από τις συνολικά 132 ενώσεις που ανιχνεύθηκαν, με τις 13 από αυτές να παρατηρούνται σε μεγαλύτερες συγκεντρώσεις στα μέλια ανθέων-κουμαριάς. Επίσης πολλές από τις ενώσεις για τις οποίες υπήρχε στατιστικά σημαντική διαφορά για τα μέλια ανθέων-κουμαριάς δεν διέφεραν στατιστικά σημαντικά με τα δείγματα του μελιού ερείκης και λιγότερες με τα δείγματα από το μέλι κισσούρι. Αυτό θα μπορούσε να οφείλεται στην βοτανική προέλευση αυτών και συγκεκριμένα στην οικογένεια Ericaceae που είναι η ευρύτερη οικογένεια και των τριών αυτών ειδών. Κατ'επέκταση το θυμαρίσιο μέλι είχε τις μεγαλύτερες διαφορές με τα υπόλοιπα τρία είδη και στο προφίλ των πτητικών ενώσεων. Επιπλέον κάποιες ενώσεις θα μπορούσαν να προσδιοριστούν ως βοτανικοί δείκτες για τα είδη που μελετήθηκαν. Πιο συγκεκριμένα στο μέλι ανθέων κουμαριάς κυριαρχούν τα παράγωγα της ισοφορόνης (ισοφορόνη, β-ισοφορόνη, 4-κετοϊσοφορόνη) και γενικά τα νορισοπρεοειδή παράγωγα καρτενοειδών, το 2,5-διμεθυλο-φουράνιο και η 3,4,5-τριμέθυλο-φαινόλη τα οποία συμφωνούν τόσο με την εθνική βιβλιογραφία για το συγκεκριμένο είδος όσο και με την διεθνή, ενώ επίσης προσδιορίστηκαν κάποιες ενώσεις για πρώτη φορά στο συγκεκριμένο είδος όπως η Ethanone, 1-(1a,2,3,5,6a,6b-hexahydro-3,3,6a-trimethyloxireno[g]benzofuran-5-yl)-, η Coumarin, 3,4-dihydro-4,5,7-trimethyl-, η 1-Undecene, 10-methyl- και η 3-Pentanone, 2-methyl-. Στο το μέλι κισσούρι για το οποίο

δεν βρέθηκε καμία βιβλιογραφική έρευνα των πτητικών του ενώσεων, παρατηρήθηκε η μεγαλύτερη συγκέντρωση για την φουρφουράλη, ενώ επίσης και για την 1-(2-φουρανυλ)-αιθανόνη. Επίσης στατιστικά σημαντική διαφορά παρατηρήθηκε και για την 2,3-πενταδιόνη και την 3-οξο-αλφα-ιονόνη. Για το μέλι ερείκης είναι επίσης η ισοφορόνη και τα παράγωγα της ενώ επίσης είναι η 2-μέθυλο-1-βουτανόλη και η φουρφουράλη καθιστώντας έτσι δυσκολότερη την διάκριση του από τα άλλα δύο είδη της οικογένειας των Ericaceae με βάση το προφίλ των πτητικών τους ενώσεων. Ωστόσο το παράγωγα του φουρανίου θεωρούνται δείκτες θερμικών διεργασιών ή/και αποθήκευσης. Γι' αυτόν το λόγο δεν θεωρούνται κατάλληλοι δείκτες βοτανικής προέλευσης γιατί μεταβάλλονται με μεγάλες περιόδους αποθήκευσης ή έκθεσης σε υψηλές θερμοκρασίες (Gianelli Barra et al., 2010; Xagoraris, Chrysoulaki, *et al.*, 2021). Τέλος για το θυμαρίσιο μέλι δείκτες βοτανικής προέλευσης αποτελεί κυρίως η βενζενακεταλδεΰδη και η φαινυλεθυλενική αλκοόλη αλλά και το 2-μέθυλο-προπανοϊκό οξύ και το 2,5-διεθυλοτετραένυδρο-φουράνιο. Τέλος αρκετές από τις ενώσεις προσδιορίστηκαν και στα 4 είδη ανθόμελων όπως η αιθανόλη, η ακετόνη, το οξικό οξύ, η 2,3-βουτανεδιόνη, οι 2-μέθυλο-βουτανάλη και 3 μέθυλο-βουτανάλη, το τολουένιο, το οκτάνιο, το εννεάνιο, η βενζαλδεΰδη τα ισομερή του λιναλολικού οξειδίου και η δεκανάλη.

2.3 Τέσσερα είδη μελιτωμάτων (βελανιδιάς – ελάτης - έλατο-βανίλια – πεύκου)

Στην εικόνα 21 απεικονίζεται τυπικό χρωματογράφημα για το μέλι βελανιδιάς με τεχνική εκχύλισης και ανάλυσης SPME GC-MS και παρατίθενται με βέλη μερικές από τις σημαντικές ενώσεις.



Εικόνα 21. Τυπικό χρωματογράφημα για το μέλι βελανιδιάς με ανάλυση SPME GC-MS, όπου : **1.** Acetic acid , **2.** I.S , **3.** 2,3-Butanediol, **4.** 2,3-Butanediol, [R-(R*,R*)]- , **5.** Octane, **6.** Furfural , **7.** Nonane , **8.** Ethanone, 1-(2-furanyl)- , **9.** Cyclopentene, 3 propyl- , **10.** Cis-linalool oxide , **11.** Trans linalool oxide , **12.** Isophorone , **13.** 1 Nonanol , **14.** Decanal.

Στον Πίνακα 17 παρουσιάζονται τα αποτελέσματα των πτητικών ενώσεων με την τεχνική εκχύλισης και ανάλυσης SPME GC-MS, για τα τέσσερα διαφορετικά είδη μελιών μελιτωμάτων, πιο συγκεκριμένα για τα μέλια βελανιδιάς, ελάτης, έλατο-βανίλια και πεύκου. Το μέλι «Βελανιδιά» απαρτίζουν συνολικά 5 μέλια βελανιδιάς από διαφορετικές περιοχές (n=5) από το Θέρμο Αιτ/νίας, το Μεσολόγγι, την Φολόη Ηλείας, την Καστοριά και την Δαδιά Έβρου. Το μέλι «Έλατο» απαρτίζουν συνολικά 4 μέλια ελάτης από διαφορετικές περιοχές (n=4) από την Θεσπρωτία, την ορεινή Φωκίδα, το Καρπενήσι και τον Ελικώνα Βοιωτίας. Το μέλι «Έλατο-Βανίλια» απαρτίζουν συνολικά 4 μέλια έλατο-βανίλια (n=4) από τον Μαίναλο, τον Πάρνωνα και τον Ερύμανθο. Το μέλι «Πεύκο» απαρτίζουν συνολικά 4 μέλια πεύκου από 4 διαφορετικές περιοχές (n=4) από την Θεσπρωτία, την Εύβοια, την Χαλκιδική και την Θάσο. Η ένωση 4-Μέθυλο-2-

πεντανόλη είναι το εσωτερικό πρότυπο (0,05 mg/Kg) που χρησιμοποιήθηκε για τον ημι-ποσοτικό προσδιορισμό των ενώσεων. Οι τιμές της κάθε πτητικής ένωσης δίνονται ως μέσος όρος και τυπική απόκλιση.

Πίνακας 17. Πτητικές Ενώσεις (mg/Kg) για 4 είδη μελιού μελιτωμάτων μέσω SPME GC – MS.

Χρόνος κατακράτησης (min)	VOC's	Βελανιδιά	Έλατο	Έλατο - Βανίλια	Πεύκο
2,462	Acetaldehyde	0,0022 ^{a**} ±0,0008	0,0018 ^a ±0,0013	0,0040 ^a ±0,0027	0,0015 ^a ±0,0006
2,849	Ethanol	0,015 ^{ab} ±0,010	0,009 ^{ab} ±0,003	0,05 ^b ±0,04	0,0035 ^a ±0,0013
3,234	Acetone	0,023 ^a ±0,024	0,069 ^a ±0,005	0,07 ^a ±0,03	0,028 ^a ±0,009
3,319	Furan	0,008 ^b ±0,005	0,000 ^a ±0,000	0,000 ^a ±0,000	0,007 ^{ab} ±0,000
3,469	1,3-Butadiene, 2-methyl-	0,0017 ^a ±0,0006	0,000 ^a ±0,000	0,000 ^a ±0,000	0,0003 ^a ±0,0006
3,655	Dimethyl sulfide	0,042 ^b ±0,022	0,018 ^{ab} ±0,009	0,0073 ^a ±0,0028	0,045 ^{ab} ±0,029
4,381	Propanal, 2-methyl-	0,000 ^a ±0,000	0,0008 ^a ±0,0005	0,001 ^a ±0,000	0,0010 ^a ±0,0010
4,984	Acetic acid	0,06 ^a ±0,06	0,0080 ^a ±0,0029	0,009 ^a ±0,003	0,015 ^a ±0,011
5,134	2,3-Butanedione	0,000 ^a ±0,000	0,0025 ^{ab} ±0,0007	0,0045 ^b ±0,0017	0,004 ^{ab} ±0,000
5,320	2-Butanone	0,009 ^a ±0,008	0,011 ^a ±0,004	0,000 ^a ±0,000	0,0050 ^a ±0,0014
5,372	2-Pentanone, 3-methyl-	0,0035 ^a ±0,0007	0,0055 ^a ±0,0007	0,0048 ^a ±0,0017	0,0043 ^a ±0,0012
5,520	Furan, 3-methyl-	0,008 ^a ±0,008	0,006 ^a ±0,004	0,0063 ^a ±0,0024	0,003 ^a ±0,003
5,855	Furan, 2-methyl-	0,005 ^b ±0,005	0,0027 ^{ab} ±0,0012	0,000 ^a ±0,000	0,0018 ^{ab} ±0,0010
6,479	1-Propanol, 2-methyl-	0,0036 ^b ±0,0009	0,0013 ^a ±0,0005	0,0030 ^{ab} ±0,0022	0,0020 ^{ab} ±0,0008
7,816	Butanal, 3-methyl-	0,000 ^a ±0,000	0,0017 ^{ab} ±0,0012	0,001 ^{ab} ±0,000	0,0025 ^b ±0,0017
8,238	Butanal, 2-methyl-	0,001 ^a ±0,000	0,0013 ^a ±0,0015	0,001 ^a ±0,000	0,0020 ^a ±0,0014
9,886	Heptane	0,0048 ^a ±0,0029	0,004 ^a ±0,003	0,005 ^a ±0,003	0,008 ^a ±0,006
9,993	2-Butanol, 3-methyl-	0,000 ^a ±0,000	0,0030 ^a ±0,0014	0,000 ^a ±0,000	0,000 ^a ±0,000
10,280	Furan, 2,5-dimethyl-	0,02 ^a ±0,03	0,017 ^a ±0,026	0,0073 ^a ±0,0028	0,0027 ^a ±0,0029
10,519	Acetoin	0,009 ^a ±0,010	0,002 ^a ±0,000	0,0025 ^a ±0,0007	0,003 ^a ±0,000
11,527	2-Pentene, 3,4-dimethyl-	0,000 ^a ±0,000	0,0025 ^a ±0,0007	0,000 ^a ±0,000	0,000 ^a ±0,000
11,572	1,3-Dioxolane, 2,4,5-trimethyl-	0,007 ^a ±0,005	0,000 ^a ±0,000	0,000 ^a ±0,000	0,001 ^a ±0,000
11,792	3-Buten-1-ol, 3-methyl-	0,007 ^a ±0,005	0,0028 ^a ±0,0010	0,009 ^a ±0,004	0,0028 ^a ±0,0010
11,835	Butanenitrile, 3-methyl-	0,005 ^a ±0,000	0,000 ^a ±0,000	0,000 ^a ±0,000	0,000 ^a ±0,000
12,071	1-Butanol, 3-methyl-	0,010 ^b ±0,004	0,003 ^a ±0,000	0,006 ^{ab} ±0,003	0,005 ^{ab} ±0,004
12,308	1-Butanol, 2-methyl-	0,0072 ^b ±0,0027	0,0028 ^a ±0,0005	0,0043 ^{ab} ±0,0026	0,0043 ^{ab} ±0,0012
12,672	Disulfide, dimethyl	0,0060 ^a ±0,0020	0,0030 ^a ±0,0010	0,001 ^a ±0,000	0,0040 ^a ±0,0014
12,713	Propanoic acid, 2-methyl-	0,000 ^a ±0,000	0,000 ^a ±0,000	0,002 ^a ±0,000	0,004 ^a ±0,000
12,900	2-Butenal, 2-methyl-	0,005 ^a ±0,004	0,002 ^a ±0,000	0,000 ^a ±0,000	0,0017 ^a ±0,0006
13,211	1,3-Dioxolane, 4-methyl-	0,0040 ^a ±0,0024	0,000 ^a ±0,000	0,000 ^a ±0,000	0,001 ^a ±0,000
13,569	2-Pentanol, 4-methyl-	0,05 ^a ±0,00	0,05 ^a ±0,00	0,05 ^a ±0,00	0,05 ^a ±0,00
14,100	Toluene	0,0030 ^a ±0,0014	0,000 ^a ±0,000	0,000 ^a ±0,000	0,001 ^a ±0,000

Χρόνος κατακράτισης (min)	VOC's	Βελανιδιά	Έλατο	Έλατο - Βανίλια	Πεύκο
14,385	2-Buten-1-ol, 2-methyl-	0,005 ^a ±0,000	0,000 ^a ±0,000	0,000 ^a ±0,000	0,003 ^a ±0,000
14,456	2-Buten-1-ol, 3-methyl-	0,008 ^a ±0,000	0,000 ^a ±0,000	0,003 ^a ±0,000	0,000 ^a ±0,000
14,912	2,3-Butanediol	0,04 ^b ±0,04	0,000 ^a ±0,000	0,000 ^a ±0,000	0,000 ^a ±0,000
15,343	2,3-Butanediol, [R-(R*,R*)]-	0,07 ^a ±0,07	0,000 ^a ±0,000	0,000 ^a ±0,000	0,007 ^a ±0,009
15,514	1-Octene	0,002 ^a ±0,000	0,0043 ^{ab} ±0,0026	0,008 ^a ±0,004	0,014 ^b ±0,018
16,072	Octane	0,05 ^a ±0,05	0,07 ^a ±0,03	0,11 ^a ±0,04	0,08 ^a ±0,06
16,601	3(2H)-Furanone, dihydro-2-methyl-	0,001 ^a ±0,000	0,000 ^a ±0,000	0,000 ^a ±0,000	0,000 ^a ±0,000
17,915	Glyceraldehyde	0,001 ^a ±0,000	0,0015 ^a ±0,0007	0,000 ^a ±0,000	0,000 ^a ±0,000
18,109	Butanoic acid, 3-methyl-	0,001 ^a ±0,000	0,000 ^a ±0,000	0,000 ^a ±0,000	0,000 ^a ±0,000
18,220	Furfural	0,002 ^a ±0,000	0,016 ^{ab} ±0,005	0,005 ^{ab} ±0,000	0,019 ^b ±0,014
18,722	Butanoic acid, 2-methyl-	0,001 ^a ±0,000	0,000 ^a ±0,000	0,000 ^a ±0,000	0,004 ^a ±0,000
19,477	2-Furanmethanol	0,006 ^a ±0,006	0,001 ^a ±0,000	0,000 ^a ±0,000	0,002 ^a ±0,000
19,680	Heptane, 2,3-dimethyl-	0,001 ^a ±0,000	0,0005 ^a ±0,0007	0,000 ^a ±0,000	0,000 ^a ±0,000
19,918	3-Hexanol, 2-methyl-	0,000 ^a ±0,000	0,002 ^a ±0,000	0,000 ^a ±0,000	0,000 ^a ±0,000
20,472	1-Hexanol	0,0015 ^a ±0,0010	0,000 ^a ±0,000	0,000 ^a ±0,000	0,001 ^a ±0,000
21,450	Bicyclo[2.2.1]hept-2-ene, 2,3-dimethyl-	0,000 ^a ±0,000	0,0018 ^b ±0,0005	0,001 ^{ab} ±0,000	0,000 ^a ±0,000
22,465	Nonane	0,006 ^a ±0,005	0,006 ^a ±0,007	0,009 ^a ±0,006	0,0038 ^a ±0,0019
22,624	Heptanal	0,000 ^a ±0,000	0,000 ^a ±0,000	0,000 ^a ±0,000	0,001 ^a ±0,000
23,109	Ethanone, 1-(2-furanyl)-	0,007 ^a ±0,004	0,003 ^a ±0,000	0,000 ^a ±0,000	0,0035 ^a ±0,0007
24,293	Cyclopentanone, 2,4,4-trimethyl-	0,000 ^a ±0,000	0,000 ^a ±0,000	0,001 ^a ±0,000	0,000 ^a ±0,000
24,296	Bicyclo[3.1.0]hexane, 6-isopropylidene-	0,000 ^a ±0,000	0,001 ^b ±0,000	0,000 ^a ±0,000	0,000 ^a ±0,000
24,367	Ethanol, 2-[2-(2-methoxyethoxy)ethoxy]-, acetate	0,0015 ^a ±0,0007	0,000 ^a ±0,000	0,000 ^a ±0,000	0,000 ^a ±0,000
24,806	.alpha.-Pinene	0,0030 ^{ab} ±0,0028	0,000 ^a ±0,000	0,000 ^a ±0,000	0,0035 ^b ±0,0017
25,685	2(3H)-Furanone, dihydro-5-methyl-	0,000 ^a ±0,000	0,000 ^a ±0,000	0,000 ^a ±0,000	0,005 ^a ±0,000
25,984	Cyclopentene, 3-propyl-	0,004 ^b ±0,003	0,002 ^{ab} ±0,000	0,000 ^a ±0,000	0,000 ^a ±0,000
26,333	2-Furancarboxaldehyde, 5-methyl-	0,002 ^a ±0,000	0,0020 ^a ±0,0014	0,000 ^a ±0,000	0,000 ^a ±0,000
26,594	Benzaldehyde	0,0028 ^{ab} ±0,0013	0,006 ^{ab} ±0,004	0,000 ^a ±0,000	0,008 ^b ±0,005
26,740	1-Heptanol	0,002 ^a ±0,000	0,002 ^a ±0,000	0,000 ^a ±0,000	0,000 ^a ±0,000
27,620	.beta.-Pinene	0,000 ^a ±0,000	0,000 ^a ±0,000	0,000 ^a ±0,000	0,001 ^b ±0,000
28,109	6-Hepten-1-ol, 2-methyl-	0,000 ^a ±0,000	0,001 ^a ±0,000	0,000 ^a ±0,000	0,000 ^a ±0,000
28,818	Octanal	0,001 ^a ±0,000	0,0020 ^a ±0,0010	0,004 ^a ±0,006	0,0023 ^a ±0,0010
30,193	1-Hexanol, 2-ethyl-	0,0013 ^a ±0,0005	0,0013 ^a ±0,0005	0,0023 ^a ±0,0010	0,001 ^a ±0,000
30,277	o-Cymene	0,000 ^a ±0,000	0,001 ^a ±0,000	0,000 ^a ±0,000	0,000 ^a ±0,000
30,919	2(3H)-Furanone, 5-ethenyldihydro-5-methyl-	0,000 ^a ±0,000	0,001 ^a ±0,000	0,000 ^a ±0,000	0,000 ^a ±0,000
31,419	Benzeneacetaldehyde	0,002 ^a ±0,000	0,0027 ^a ±0,0006	0,0020 ^a ±0,0014	0,011 ^a ±0,017
32,593	1-Octanol	0,002 ^a ±0,000	0,000 ^a ±0,000	0,002 ^a ±0,000	0,002 ^a ±0,000
32,899	trans-Linalool oxide (furanoid)	0,004 ^a ±0,003	0,0015 ^a ±0,0007	0,001 ^a ±0,000	0,0023 ^a ±0,0015
33,778	2-Nonanone	0,000 ^a ±0,000	0,000 ^a ±0,000	0,001 ^a ±0,000	0,000 ^a ±0,000
33,783	cis-Linalool oxide (furanoid)	0,0032 ^b ±0,0018	0,0015 ^{ab} ±0,0006	0,000 ^a ±0,000	0,0017 ^{ab} ±0,0006

Χρόνος κατακράτησης (min)	VOC's	Βελανιδιά	Έλατο	Έλατο - Βανίλια	Πεύκο
34,029	Benzene, 2-ethenyl-1,3-dimethyl-	0,000 ^a ±0,000	0,001 ^a ±0,000	0,000 ^a ±0,000	0,000 ^a ±0,000
34,322	2-Nonanol	0,0028 ^a ±0,0022	0,0020 ^a ±0,0014	0,002 ^a ±0,000	0,0018 ^a ±0,0005
34,544	1,5,7-Octatrien-3-ol, 3,7-dimethyl- / Hotrienol	0,008 ^a ±0,007	0,002 ^a ±0,000	0,001 ^a ±0,000	0,002 ^a ±0,000
34,592	Nonanal	0,004 ^a ±0,000	0,012 ^{ab} ±0,005	0,030 ^b ±0,024	0,034 ^b ±0,027
35,269	Phenylethyl Alcohol	0,0033 ^a ±0,0013	0,002 ^a ±0,000	0,000 ^a ±0,000	0,002 ^a ±0,000
35,835	Isophorone	0,014 ^a ±0,019	0,013 ^a ±0,005	0,001 ^a ±0,000	0,0030 ^a ±0,0026
36,666	Benzyl nitrile	0,000 ^a ±0,000	0,000 ^a ±0,000	0,000 ^a ±0,000	0,003 ^a ±0,000
36,726	Lilac aldehyde A	0,000 ^a ±0,000	0,0025 ^a ±0,0021	0,0015 ^a ±0,0007	0,000 ^a ±0,000
36,966	2,6,6-Trimethyl-2-cyclohexene-1,4-dione / 4-Ketosisophorone	0,0030 ^a ±0,0020	0,0025 ^a ±0,0024	0,000 ^a ±0,000	0,0020 ^a ±0,0017
37,186	Lilac aldehyde B	0,000 ^a ±0,000	0,005 ^a ±0,004	0,0035 ^a ±0,0021	0,002 ^a ±0,000
37,471	Octanoic acid	0,0025 ^a ±0,0006	0,001 ^a ±0,000	0,003 ^a ±0,000	0,0023 ^a ±0,0015
37,977	Lilac aldehyde C	0,000 ^a ±0,000	0,003 ^a ±0,000	0,000 ^a ±0,000	0,000 ^a ±0,000
38,083	1-Nonanol	0,011 ^a ±0,009	0,009 ^a ±0,005	0,018 ^a ±0,010	0,018 ^a ±0,021
38,740	3-t-Butyl-oct-6-en-1-ol	0,0056 ^a ±0,0011	0,0055 ^a ±0,0013	0,0050 ^a ±0,0022	0,0055 ^a ±0,0010
39,665	Methyl salicylate	0,000 ^a ±0,000	0,007 ^a ±0,000	0,002 ^a ±0,000	0,000 ^a ±0,000
39,873	Lilac alcohol A	0,001 ^a ±0,000	0,000 ^a ±0,000	0,000 ^a ±0,000	0,000 ^a ±0,000
39,974	Decanal	0,0032 ^a ±0,0015	0,006 ^a ±0,006	0,015 ^a ±0,018	0,007 ^a ±0,003
42,450	Nonanoic acid	0,0023 ^{ab} ±0,0006	0,001 ^a ±0,000	0,0023 ^{ab} ±0,0015	0,004 ^b ±0,003
43,177	1-Decanol	0,0020 ^a ±0,0012	0,000 ^a ±0,000	0,000 ^a ±0,000	0,002 ^a ±0,000
43,255	Phenol, 2,3,5-trimethyl-	0,003 ^a ±0,000	0,001 ^a ±0,000	0,000 ^a ±0,000	0,000 ^a ±0,000
43,956	Thymol	0,000 ^a ±0,000	0,005 ^a ±0,000	0,006 ^a ±0,000	0,000 ^a ±0,000
44,055	Menthyl acetate	0,000 ^a ±0,000	0,000 ^a ±0,000	0,001 ^a ±0,000	0,000 ^a ±0,000
44,553	Phenol, 2-methyl-5-(1-methylethyl)-	0,0020 ^a ±0,0014	0,023 ^a ±0,000	0,000 ^a ±0,000	0,000 ^a ±0,000
44,993	Phenol, 3,4,5-trimethyl-	0,0015 ^a ±0,0007	0,0025 ^a ±0,0021	0,000 ^a ±0,000	0,000 ^a ±0,000
46,980	2-Buten-1-one, 1-(2,6,6-trimethyl-1,3-cyclohexadien-1-yl)-, (E)- / β-Damascenone	0,001 ^a ±0,000	0,000 ^a ±0,000	0,000 ^a ±0,000	0,0005 ^a ±0,0006
47,504	Dodecanal	0,0015 ^a ±0,0010	0,0007 ^a ±0,0006	0,0023 ^a ±0,0015	0,0015 ^a ±0,0010
49,314	Heptadecane	0,000 ^a ±0,000	0,001 ^a ±0,000	0,001 ^a ±0,000	0,000 ^a ±0,000
49,519	Phenol, 2,4-bis(1,1-dimethylethyl)-	0,000 ^a ±0,000	0,001 ^a ±0,000	0,0005 ^a ±0,0007	0,000 ^a ±0,000
52,431	Heneicosane	0,000 ^a ±0,000	0,001 ^a ±0,000	0,001 ^a ±0,000	0,000 ^a ±0,000

*Οι τιμές που παρουσιάζονται είναι ο μέσος όρος και η τυπική απόκλιση. Για τα είδη έλατο, έλατο-βανίλια, πεύκο (n=4) και για την βελανιδιά (n=5).

**Όπου δεν υπάρχει κοινός εκθέτης στην οριζόντια σύγκριση, υπάρχει στατιστική διαφορά (p<0,05).

Υστερα από έλεγχο ακραίων τιμών (θηκόγραμμα) και κανονικότητας (test Shapiro-Wilk) που πραγματοποιήθηκε για την επιλογή της στατιστικής μεθόδου, επιλέχθηκε το

μη παραμετρικό τεστ Kruskal Wallis και pairwise συγκρίσεις σε επίπεδο σημαντικότητας $p < 0,05$.

Συνολικά προσδιορίστηκαν 100 ενώσεις από τις οποίες οι 21 παρουσίασαν στατιστικά σημαντική διαφορά. Πιο αναλυτικά στο μέλι βελανιδιάς προσδιορίστηκαν συνολικά 72 ενώσεις, στο έλατο συνολικά 71 ενώσεις, στο έλατο-βανίλια οι λιγότερες με 51 ενώσεις ενώ στο μέλι πεύκου προσδιορίστηκαν συνολικά 65 ενώσεις.

Αξίζει λοιπόν να δοθεί έμφαση σε κάποιες από τις ενώσεις που εμφάνισαν στατιστικά σημαντική διαφορά.

Η 2,3-Βουτανεδιόνη (2,3-Butanedione) ανιχνεύθηκε σε όλα τα δείγματα εκτός από την βελανιδιά. Η μεγαλύτερη του συγκέντρωση ανιχνεύθηκε στο μέλι έλατο-βανίλια εμφανίζοντας στατιστικά σημαντική διαφορά με την βελανιδιά. Η ένωση αυτή προσδίδει ένα βουτυρένιο άρωμα και έχει ανιχνευθεί σε μέλι ακακίας (Mădaş *et al.*, 2019; Panseri *et al.*, 2023) αλλά και σε άλλα είδη όπως μέλι καστανιάς, ροδόδεντρου και πεύκου αλλά όχι βελανιδιάς (Yildiz *et al.*, 2022).

Τόσο η 2-μεθυλο-1-βουτανόλη όσο και η 3-μέθυλο-1-βουτανόλη (1-Butanol, 2-methyl-, 1-Butanol, 3-methyl-) ανιχνεύθηκαν σε όλα τα είδη ωστόσο σε μεγαλύτερες συγκεντρώσεις στο μέλι βελανιδιάς παρουσιάζοντας στατιστικά σημαντική διαφορά με το μέλι ελάτης.

Μία από τις σημαντικότερες ενώσεις που ανιχνεύθηκαν στα μέλια βελανιδιάς είναι η 2,3-βουτανεδιόλη (2,3-Butanediol) η οποία εμφάνισα στατιστικά σημαντική διαφορά σε σχέση με τα υπόλοιπα 3 είδη μελιών μελιτωμάτων στα οποία δεν ανιχνεύθηκε. Η ομάδα των (Gialouris *et al.*, 2023) ανίχνευσε επίσης την συγκεκριμένη ένωση σε μέλι βελανιδιάς.

Επίσης το 1-οκτένιο (1-Octene) παρουσίασε στατιστικά σημαντική διαφορά καθώς ανιχνεύθηκε σε μεγαλύτερη συγκέντρωση στο μέλι πεύκου και ύστερα στο μέλι ελάτης σε σχέση με τα άλλα 2 είδη. Αυτό συμφωνεί και με άλλες έρευνες όπου προσδιορίστηκε σε δείγματα μελιού ελάτης και πεύκου στην Ελλάδα και την Τουρκία (Karabagias *et al.*, 2014; Karabagias *et al.*, 2014a; Karabagias *et al.*, 2017a; Karabagias *et al.*, 2020; Tananaki *et al.*, 2022).

Η φουρφουράλη (Furfural) ανιχνεύθηκε σε μεγαλύτερη συγκέντρωση στο μέλι πεύκου εμφανίζοντας στατιστικά σημαντική διαφορά με το μέλι βελανιδιάς. Είναι μία ένωση που ανιχνεύεται σε πολλά είδη μελιού και σχετίζεται με την θερμική επεξεργασία ή και παρατεταμένη αποθήκευση του μελιού όπως και άλλα παράγωγα του φουρανίου. Και άλλες ερευνητικές ομάδες έχουν ανιχνεύσει την συγκεκριμένη ένωση σε μέλι πεύκου

στην Ελλάδα και την Τουρκία (Tananaki *et al.*, 2007, 2022; Karabagias *et al.*, 2014a; Yildiz *et al.*, 2022).

Η Δίκυκλο[2.2.1]επτα-2-ένιο, 2,3-διμεθυλο- (Bicyclo[2.2.1]hept-2-ene, 2,3-dimethyl-) ανιχνεύθηκε μόνο στο μέλι ελάτης και στο μέλι έλατο-βανίλια. Η μεγαλύτερη συγκέντρωση ανιχνεύθηκε στο μέλι ελάτης όπου και παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά με το μέλι βελανιδιάς και πεύκου. Δεδομένου αυτού η ένωση αυτή μπορεί να αποτελεί δείκτη βοτανικής προέλευσης για το μέλι ελάτης. Έχει ανιχνευθεί επίσης σε μέλι ελάτης από τους (Tananaki *et al.*, 2022).

Το α-πινένιο (.alpha.-Pinene) είναι ένα αρωματικό τερπένιο το οποίο συνεισφέρει στο άρωμα του μελιού με δροσερή μυρωδιά πεύκου και φρεσκάδας. Ανιχνεύθηκε μόνο στο μέλι βελανιδιάς και πεύκου με μεγαλύτερη συγκέντρωση στο πεύκο παρουσιάζοντας στατιστικά σημαντική διαφορά. Αυτό συμφωνεί και με τις έρευνες των (Karabagias *et al.*, 2014; Karabagias *et al.*, 2014a; Karabagias *et al.*, 2019; Karabagias *et al.*, 2020; Duru *et al.*, 2021; Karabagias *et al.*, 2022; Tananaki *et al.*, 2022) όπου ανιχνεύθηκε επίσης σε ελληνικό μέλι βελανιδιάς και πεύκου τόσο από την Τουρκία όσο και από την Ελλάδα.

Η βενζαλδεϋδη στα μέλια μελιτωμάτων σε αντίθεση με τα ανθόμελα ανιχνεύθηκε σε μικρότερες συγκεντρώσεις και όχι σε όλα τα είδη. Πιο συγκεκριμένα ανιχνεύθηκε σε μεγαλύτερη συγκέντρωση στο μέλι πεύκου στο οποίο εμφάνισε στατιστικά σημαντική διαφορά με το μέλι έλατο-βανίλια στο οποίο δεν ανιχνεύθηκε. Η βενζαλδεϋδη έχει ανιχνευθεί και σε άλλες μελέτες σε μέλια πεύκου, ελάτης και βελανιδιάς στην Ελλάδα και την Τουρκία (Tananaki *et al.*, 2007, 2022; Duru *et al.*, 2021; Gialouris *et al.*, 2023) ενώ προσδίδει νότες πικραμύγδαλου (Manyi-Loh *et al.*, 2011).

Το cis ισομερές του φουρανοειδή οξειδίου λιναλόλης (cis-Linalool oxide furanoid) ανιχνεύθηκε στα 3 από τα 4 είδη μελιού μελιτώματος. Πιο συγκεκριμένα ανιχνεύθηκε σε μεγαλύτερη συγκέντρωση στο μέλι βελανιδιάς ενώ δεν ανιχνεύθηκε σε κανένα από τα δείγματα του έλατο-βανίλια. Η συγκεκριμένη ένωση συνεισφέρει στο άρωμα του μελιού δίνοντας γλυκές νότες εσπεριδοειδών (Manyi-Loh *et al.*, 2011) ενώ έχει ανιχνευθεί επίσης σε μέλι βελανιδιάς σε σημαντική συγκέντρωση στην έρευνα των (Karabagias *et al.*, 2022).

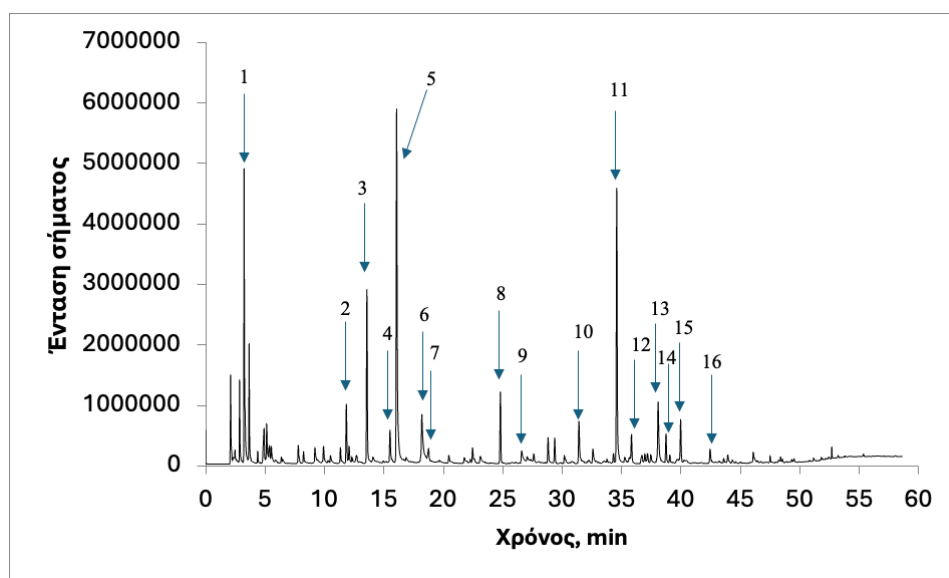
Η εννεανάλη (Nonanal) είναι μία αλδεϋδη που ανιχνεύεται κυρίως σε μέλια μελιτωμάτων. Αυτό επιβεβαιώνεται στην συγκεκριμένη έρευνα καθώς ανιχνεύθηκε και στα 4 είδη ωστόσο με μεγαλύτερη συγκέντρωση στο μέλι πεύκου και έλατο-βανίλια εμφανίζοντας στατιστικά σημαντική διαφορά με το μέλι βελανιδιάς. Συνεισφέρει στο

άρωμα με πράσινες νότες ενώ έχει ανιχνευθεί και σε άλλες έρευνες και κυρίως σε μέλια μελιτωμάτων (Karabagias *et al.*, 2014a; Seraglio *et al.*, 2019; Duru *et al.*, 2021; Tananaki *et al.*, 2022).

Τέλος κάποιες ενώσεις ανιχνεύθηκαν σε σημαντική συγκέντρωση σε όλα τα είδη και συνεπώς δεν παρουσίασαν στατιστικά σημαντική διαφορά. Ορισμένες από αυτές τις ενώσεις που φαίνεται να χαρακτηρίζουν την κατηγορία των μελιτωμάτων, όπως φαίνεται επίσης και από τον πίνακα 15, είναι η ακετόνη (acetone), το οξικό οξύ (acetic acid), το 2,5-διμεθυλο-φουράνιο (furan, 2,5-dimethyl), η ακετοΐνη (acetoin), το διμέθυλο δισουλφίδιο (disulfide dimethyl), το οκτάνιο (octane), το οκοτανοϊκό οξύ (octanoic acid), 1-εννεανόλη και 2-εννεανόλη (1-nonanol, 2-nonanol), η 3-*t*-βουτυλ-οκτ-6-εν-1-όλη (3-*t*-butyl-oct-6-en-1-ol) και τέλος η δεκανάλη (decanal).

2.4 Τέσσερα είδη μελιών γενικά ανθόμελα, γκιούλμπερι, γενικά μέλια μελιτωμάτων, πευκοθύμαρο

Στην εικόνα 22 απεικονίζεται τυπικό χρωματογράφημα για το μέλι πευκο-θύμαρο με τεχνική εκχύλισης και ανάλυσης SPME GC-MS και παρατίθενται με βέλη μερικές από τις σημαντικές ενώσεις.



Εικόνα 22. Τυπικό χρωματογράφημα για το μέλι πευκο-θύμαρο με ανάλυση SPME GC-MS, όπου : **1.** Acetone, **2.** Butanenitrile, 3-methyl-, **3.** I.S, **4.** 1-Octene, **5.** Octane, **6.** Furfural, **7.** Butanoic acid, 2-methyl-, **8.** .alpha.-Pinene, **9.** Benzaldehyde, **10.**

Benzeneacetaldehyde , **11.** Nonanal, **12.** Isophorone , **13.** 1 Nonanol , **14.** 3-t-Butyl-oct-6-en-1-ol. **15.** Decanal , **16.** Nonanoic acid.

Στον Πίνακα 18 παρουσιάζονται τα αποτελέσματα των πτητικών ενώσεων με την τεχνική εκχύλισης και ανάλυσης SPME GC-MS, για τα τέσσερα διαφορετικά είδη μελιών, πιο συγκεκριμένα για τα είδη γενικά ανθόμελα, γκιούλπερι, γενικά μελιτώματα και πευκο-θύμαρο. Τα δείγματα αυτά συμμετείχαν στην σύγκριση του πίνακα 15 ανθόμελα-μέλια μελιτωμάτων, ωστόσο δεν συμπεριλαμβάνονται σαν ξεχωριστά είδη στο πίνακα 16 και 17 και συνεπώς δεν συμμετείχαν στην στατιστική, καθώς το μέλι γκιούλπερι και το μέλι πευκο-θύμαρο αποτελούνται από μόνο δύο δείγματα το καθένα (n=2) ενώ τα άλλα δύο λόγω του γενικού τους προφίλ επιλέχθηκε να μην συγκριθούν με τα μονοποικιλιακά ώστε να γίνει καλύτερη σύγκριση και διάκριση των πτητικών τους ενώσεων.

Τα «Γενικά Ανθόμελα» απαρτίζουν τέσσερα διαφορετικά πολυανθικά ανθόμελα (n=4) από τα Ιωάννινα, τα Γρεβενά, την Φλώρινα και τον Έβρο Για το είδος «Γκιούλπερι» επιλέχθηκαν δύο δείγματα (n=2) από διαφορετικά μελισσοκομεία στην Καρυστία και συγκεκριμένα από τον Άγιο Μάμμα και το Castello Rosso. Τα «Γενικά Μελιτώματα» απαρτίζουν τέσσερα διαφορετικά μέλια μελιτωμάτων (n=4) από την Λάβδανη Ιωαννίνων, το Πωγώνι Ιωαννίνων, την Φλώρινα και την Χαλκιδική, ενώ για το «Πευκο-Θύμαρο» επιλέχθηκαν δύο δείγματα (n=2) από διαφορετικά μελισσοκομεία στην Κρήτη και συγκεκριμένα στο Ηράκλειο και τον Κίσσαμο. Η ένωση 4-Μέθυλο-2-πεντανόλη είναι το εσωτερικό πρότυπο (0,05 mg/Kg) που χρησιμοποιήθηκε για τον ημι-ποσοτικό προσδιορισμό των ενώσεων. Οι τιμές της κάθε πτητικής ένωσης δίνονται ως μέσος όρος και τυπική απόκλιση.

Πίνακας 18. Πτητικές Ενώσεις (mg/Kg) για 4 είδη μελιού, γενικά ανθόμελα, γκιούλπερι, γενικά μελιτώματα και πευκο-θύμαρο, μέσω SPME GC – MS.

Χρόνος κατακράτησης (min)	VOC's	Γενικά Ανθόμελα	Γκιούλπερι	Γενικά Μελιτώματα	Πευκο- Θύμαρο
2,461	Acetaldehyde	0,002±0,001	0,003±0,002	0,002±0,000	0,002±0,001
2,852	Ethanol	0,011±0,011	0,002±0,001	0,011±0,006	0,010±0,009
3,237	Acetone	0,012±0,007	0,012±0,008	0,033±0,030	0,057±0,019
3,324	Furan	0,004±0,001	0,012±0,009	0,005±0,001	0,000±0,000
3,434	Formic acid	0,004±0,000	0,021±0,000	0,000±0,000	0,000±0,000
3,467	1,3-Butadiene, 2-methyl-	0,004±0,000	0,001±0,000	0,001±0,001	0,000±0,000

Χρόνος κατακράτησης (min)	VOC's	Γενικά Ανθόμελα	Γκιούλμπερι	Γενικά Μελιτώματα	Πευκο- Θύμαρο
3,654	Dimethyl sulfide	0,044±0,020	0,085±0,088	0,038±0,012	0,019±0,009
4,378	Propanal, 2-methyl-	0,001±0,000	0,005±0,005	0,000±0,000	0,002±0,000
4,986	Acetic acid	0,023±0,009	0,000±0,000	0,036±0,016	0,012±0,004
5,132	2,3-Butanedione	0,003±0,001	0,225±0,238	0,000±0,000	0,011±0,004
5,369	2-Pentanone, 3-methyl-	0,004±0,001	0,003±0,001	0,009±0,006	0,006±0,002
5,531	Furan, 3-methyl-	0,003±0,002	0,001±0,000	0,003±0,001	0,006±0,002
5,853	Furan, 2-methyl-	0,002±0,001	0,003±0,000	0,012±0,010	0,000±0,000
5,878	3-Buten-2-ol, 2-methyl-	0,003±0,000	0,000±0,000	0,000±0,000	0,000±0,000
6,358	Isobutyronitrile	0,000±0,000	0,007±0,000	0,000±0,000	0,012±0,016
6,482	1-Propanol, 2-methyl-	0,003±0,001	0,000±0,000	0,004±0,003	0,000±0,000
7,801	Butanal, 3-methyl-	0,003±0,002	0,009±0,008	0,004±0,000	0,017±0,015
8,233	Butanal, 2-methyl-	0,001±0,000	0,012±0,013	0,001±0,000	0,003±0,001
9,861	Heptane	0,022±0,019	0,006±0,004	0,004±0,001	0,005±0,001
10,246	Furan, 2,5-dimethyl-	0,003±0,001	0,000±0,000	0,005±0,001	0,000±0,000
10,507	Acetoin	0,005±0,001	0,005±0,000	0,008±0,006	0,002±0,000
11,340	Butanenitrile, 2-methyl-	0,000±0,000	0,003±0,000	0,000±0,000	0,005±0,001
11,573	1,3-Dioxolane, 2,4,5-trimethyl-	0,003±0,002	0,000±0,000	0,008±0,007	0,000±0,000
11,792	3-Buten-1-ol, 3-methyl-	0,008±0,007	0,004±0,000	0,004±0,000	0,000±0,000
11,840	Butanenitrile, 3-methyl-	0,000±0,000	0,025±0,000	0,000±0,000	0,110±0,115
12,071	1-Butanol, 3-methyl-	0,008±0,004	0,006±0,005	0,013±0,011	0,015±0,014
12,309	1-Butanol, 2-methyl-	0,005±0,002	0,000±0,000	0,007±0,005	0,002±0,000
12,670	Disulfide, dimethyl	0,007±0,000	0,007±0,000	0,008±0,006	0,000±0,000
12,878	Propanoic acid, 2-methyl-	0,000±0,000	0,000±0,000	0,000±0,000	0,004±0,001
13,138	2-Butenal, 2-methyl-	0,004±0,003	0,000±0,000	0,003±0,001	0,000±0,000
13,211	1,3-Dioxolane, 4-methyl-	0,002±0,000	0,000±0,000	0,004±0,003	0,000±0,000
13,568	2-Pentanol, 4-methyl-	0,05±0,000	0,05±0,000	0,05±0,000	0,05±0,000
14,090	Toluene	0,000±0,000	0,004±0,000	0,002±0,000	0,014±0,000
14,383	2-Buten-1-ol, 2-methyl-	0,012±0,000	0,000±0,000	0,001±0,000	0,000±0,000
14,467	2-Buten-1-ol, 3-methyl-	0,005±0,002	0,000±0,000	0,005±0,000	0,000±0,000
14,529	Butanoic acid	0,002±0,000	0,009±0,000	0,003±0,000	0,000±0,000
15,089	2,3-Butanediol	0,026±0,011	0,000±0,000	0,029±0,012	0,000±0,000
15,105	2-Butenal, 3-methyl-	0,000±0,000	0,000±0,000	0,004±0,000	0,000±0,000
15,357	2,3-Butanediol, [R-(R*,R*)]-	0,017±0,019	0,000±0,000	0,055±0,023	0,000±0,000
15,512	1-Octene	0,011±0,000	0,005±0,000	0,011±0,000	0,006±0,006
15,913	3-Penten-2-one, 4-methyl-	0,000±0,000	0,000±0,000	0,002±0,000	0,000±0,000
16,070	Octane	0,039±0,026	0,066±0,045	0,087±0,059	0,108±0,027
17,912	Glyceraldehyde	0,002±0,000	0,000±0,000	0,000±0,000	0,000±0,000
18,198	Furfural	0,015±0,014	0,147±0,136	0,042±0,000	0,019±0,003
18,242	Butanoic acid, 3-methyl-	0,002±0,002	0,000±0,000	0,001±0,000	0,032±0,000
18,802	Butanoic acid, 2-methyl-	0,000±0,000	0,000±0,000	0,000±0,000	0,005±0,001
19,472	2-Furanmethanol	0,005±0,001	0,000±0,000	0,008±0,008	0,000±0,000

Χρόνος κατακράτησης (min)	VOC's	Γενικά Ανθόμελα	Γκιούλμπερι	Γενικά Μελιτώματα	Πευκο- Θύμαρο
19,678	Heptane, 2,3-dimethyl-	0,000±0,000	0,000±0,000	0,002±0,000	0,000±0,000
20,471	1-Hexanol	0,005±0,001	0,008±0,000	0,002±0,000	0,002±0,000
21,452	Bicyclo[2.2.1]hept-2-ene, 2,3-dimethyl-	0,001±0,000	0,000±0,000	0,002±0,000	0,000±0,000
22,291	Furan, 2,5-diethyltetrahydro-	0,000±0,000	0,013±0,011	0,000±0,000	0,003±0,003
22,464	Nonane	0,004±0,001	0,003±0,000	0,005±0,004	0,004±0,002
22,615	Heptanal	0,000±0,000	0,000±0,000	0,000±0,000	0,001±0,000
23,102	Ethanone, 1-(2-furanyl)-	0,006±0,001	0,026±0,029	0,007±0,000	0,000±0,000
24,804	.alpha.-Pinene	0,012±0,012	0,000±0,000	0,002±0,000	0,016±0,007
25,698	2(3H)-Furanone, dihydro-5-methyl-	0,000±0,000	0,000±0,000	0,002±0,000	0,000±0,000
25,985	Cyclopentene, 3-propyl-	0,003±0,001	0,000±0,000	0,007±0,007	0,000±0,000
26,108	Bicyclo[3.1.0]hex-2-ene, 4-methylene-1-(1-methylethyl)-	0,001±0,000	0,000±0,000	0,002±0,000	0,000±0,000
26,333	2-Furancarboxaldehyde, 5-methyl-	0,000±0,000	0,000±0,000	0,003±0,000	0,000±0,000
26,590	Benzaldehyde	0,014±0,011	0,029±0,006	0,018±0,006	0,008±0,005
27,362	1-Octen-3-ol	0,003±0,000	0,002±0,000	0,000±0,000	0,000±0,000
27,614	.beta.-Pinene	0,000±0,000	0,000±0,000	0,000±0,000	0,003±0,001
28,816	Octanal	0,001±0,000	0,007±0,006	0,005±0,000	0,006±0,003
29,371	3-Carene	0,000±0,000	0,000±0,000	0,000±0,000	0,006±0,004
30,192	1-Hexanol, 2-ethyl-	0,005±0,004	0,002±0,001	0,002±0,000	0,002±0,001
30,725	Benzyl alcohol	0,002±0,000	0,000±0,000	0,000±0,000	0,000±0,000
30,918	2(3H)-Furanone, 5-ethenyldihydro-5-methyl-	0,000±0,000	0,000±0,000	0,001±0,000	0,000±0,000
31,415	Benzeneacetaldehyde	0,004±0,002	0,107±0,006	0,002±0,001	0,062±0,066
31,550	Benzaldehyde, 2-hydroxy-	0,003±0,000	0,000±0,000	0,000±0,000	0,000±0,000
32,592	1-Octanol	0,001±0,000	0,021±0,000	0,002±0,000	0,006±0,000
32,899	trans-Linalool oxide (furanoid)	0,006±0,003	0,007±0,005	0,014±0,014	0,000±0,000
33,784	cis-Linalool oxide (furanoid)	0,003±0,001	0,003±0,003	0,008±0,008	0,000±0,000
34,033	Benzene, 2-ethenyl-1,3-dimethyl-	0,002±0,000	0,000±0,000	0,002±0,000	0,000±0,000
34,322	2-Nonanol	0,004±0,005	0,004±0,000	0,004±0,001	0,003±0,000
34,547	1,5,7-Octatrien-3-ol, 3,7-dimethyl- / Hotrienol	0,008±0,004	0,000±0,000	0,055±0,000	0,000±0,000
34,590	Nonanal	0,019±0,000	0,031±0,027	0,016±0,017	0,066±0,031
35,263	Phenylethyl Alcohol	0,004±0,001	0,041±0,041	0,004±0,001	0,004±0,003
35,836	Isophorone	0,000±0,000	0,006±0,006	0,013±0,015	0,009±0,000
36,639	Benzyl nitrile	0,000±0,000	0,031±0,000	0,004±0,000	0,011±0,000
36,726	Lilac aldehyde A	0,000±0,000	0,000±0,000	0,001±0,000	0,000±0,000
36,964	1-Cyclohexene-1-carboxaldehyde, 5,5-dimethyl-3-oxo-	0,001±0,000	0,000±0,000	0,000±0,000	0,001±0,000
36,967	2,6,6-Trimethyl-2-cyclohexene-1,4-dione / 4-Ketosisophorone	0,000±0,000	0,009±0,008	0,006±0,006	0,003±0,000
37,182	Lilac aldehyde B	0,001±0,000	0,027±0,035	0,003±0,000	0,004±0,000
37,467	Octanoic acid	0,007±0,004	0,007±0,006	0,004±0,003	0,002±0,001
37,776	Lilac aldehyde C	0,000±0,000	0,000±0,000	0,002±0,001	0,000±0,000
38,083	1-Nonanol	0,007±0,005	0,005±0,001	0,012±0,005	0,019±0,01

Χρόνος κατακράτησης (min)	VOC's	Γενικά Ανθόμελα	Γκιούλμπερι	Γενικά Μελιτώματα	Πευκο-Θύμαρο
38,740	3-t-Butyl-oct-6-en-1-ol	0,004±0,002	0,008±0,005	0,007±0,003	0,008±0,002
38,891	Citral	0,001±0,000	0,000±0,000	0,000±0,000	0,000±0,000
39,047	3-Cyclohexen-1-ol, 4-methyl-1-(1-methylethyl)-, (R)-	0,001±0,000	0,000±0,000	0,000±0,000	0,002±0,000
39,664	Methyl salicylate	0,000±0,000	0,008±0,000	0,004±0,000	0,000±0,000
39,746	.alpha.-Terpineol	0,002±0,001	0,000±0,000	0,000±0,000	0,000±0,000
39,873	Lilac alcohol A	0,004±0,000	0,000±0,000	0,002±0,000	0,000±0,000
39,974	Decanal	0,004±0,001	0,022±0,017	0,008±0,009	0,009±0,004
40,250	2-Propanone, 1,3-diphenyl-	0,000±0,000	0,005±0,000	0,000±0,000	0,000±0,000
40,404	Lilac alcohol B	0,003±0,001	0,000±0,000	0,005±0,000	0,000±0,000
42,444	Nonanoic acid	0,004±0,003	0,006±0,000	0,006±0,006	0,004±0,001
42,843	Benzaldehyde, 3-methoxy-	0,000±0,000	0,049±0,066	0,000±0,000	0,000±0,000
42,844	Benzaldehyde, 4-methoxy-	0,002±0,000	0,000±0,000	0,000±0,000	0,000±0,000
43,176	1-Decanol	0,004±0,000	0,000±0,000	0,003±0,000	0,000±0,000
43,357	Benzeneacetaldehyde, .alpha.-ethylidene-	0,000±0,000	0,000±0,000	0,000±0,000	0,001±0,000
43,956	Thymol	0,005±0,000	0,000±0,000	0,007±0,000	0,000±0,000
44,418	Phenol, 2-methyl-5-(1-methylethyl)-	0,000±0,000	0,000±0,000	0,000±0,000	0,001±0,000
44,587	Benzene, 1-methoxy-4-propyl-	0,004±0,000	0,003±0,001	0,000±0,000	0,000±0,000
44,985	Phenol, 3,4,5-trimethyl-	0,000±0,000	0,000±0,000	0,004±0,002	0,000±0,000
45,386	Triacetin	0,000±0,000	0,005±0,004	0,000±0,000	0,000±0,000
46,489	1, 1, 5-Trimethyl-1, 2-dihydronaphthalene	0,001±0,000	0,000±0,000	0,002±0,001	0,002±0,000
46,835	3-Buten-2-ol, 4-(2,6,6-trimethyl-2-cyclohexen-1-yl)-, (3E)-	0,000±0,000	0,002±0,000	0,000±0,000	0,000±0,000
46,980	2-Buten-1-one, 1-(2,6,6-trimethyl-1,3-cyclohexadien-1-yl)-, (E)-	0,001±0,001	0,002±0,001	0,001±0,000	0,000±0,000
47,504	Dodecanal	0,001±0,001	0,002±0,001	0,001±0,001	0,001±0,001
48,205	Caryophyllene	0,000±0,000	0,000±0,000	0,000±0,000	0,001±0,000
48,812	6-Methyl-6-(5-methylfuran-2-yl)heptan-2-one	0,000±0,000	0,008±0,000	0,000±0,000	0,000±0,000
48,875	2(3H)-Furanone, 5-hexyldihydro-	0,000±0,000	0,004±0,000	0,000±0,000	0,000±0,000
49,271	5-Methyl-2-phenyl-2-hexenal	0,005±0,000	0,000±0,000	0,000±0,000	0,004±0,000
50,850	Naphthalene, 1,2,3,4-tetrahydro-1,5-dimethyl-	0,000±0,000	0,004±0,000	0,000±0,000	0,000±0,000
51,310	Benzene, 1,3,5-tris(1-methylethyl)-	0,000±0,000	0,004±0,000	0,000±0,000	0,000±0,000

*Οι τιμές που παρουσιάζονται είναι ο μέσος όρος ± η τυπική απόκλιση, για τα γενικά ανθόμελα (n=4), για τα μέλια γκιούλμπερι (n=2), για τα γενικά μέλια μελιτωμάτων (n=4) και για τα μέλια πευκο-θύμαρο (n=2).

Όπως αναφέρθηκε και παραπάνω στα συγκεκριμένα είδη δεν ήταν δυνατή η στατιστική σύγκριση των αποτελεσμάτων ωστόσο αξίζει να αναφερθούν κάποιες χαρακτηριστικές ενώσεις που ανιχνεύθηκαν ανά είδος.

Στα γενικά ανθόμελα ανιχνεύθηκαν συνολικά 81 ενώσεις ωστόσο σε χαμηλές συγκεντρώσεις. Κάποιες από τις ενώσεις που ανιχνεύθηκαν σε μεγαλύτερη συγκέντρωση ήταν το οξικό οξύ (acetic acid), το επτάνο (heptane) και η 2-μεθυλ-2-βουτεν-1-όλη (2-buten-1-ol, 2-methyl-).

Στο γκιούλμπερι προσδιορίστηκαν συνολικά 64 ενώσεις και παρουσίασε παρόμοιο προφίλ πτητικών ενώσεων με τα θυμαρίσια μέλια. Πιο συγκεκριμένα οι ενώσεις που ξεχώρισαν ήταν το μυρμηκικό οξύ (formic acid), η 2,3-βουτανεδιόνη (2,3-butanedione), το ισοβουτυρονιτρίλιο (isobutyronitrile), η 2-μεθυλο-βουτανάλη (butanal, 2-methyl), το 3-μεθυλο-βουτανενιτρίλιο (butanenitrile, 3-methyl), το βουτανοϊκό οξύ (butanoic acid), η φουρφουράλη (furfural), το 2,5-διεθυλοτετραϋδροφουράνιο (furan, 2,5-diethyltetrahydro-), η 1-(2-φουρανυλ)-αιθανόνη (Ethanone, 1-(2-furanyl)-), η βενζενακεταλδεΐδη (benzenacetaldehyde), η 1-οκτανόλη (1-octanol), το βενζυλονιτρίλιο (benzyl nitrile), η δεκανάλη (decanal), η 1,3-διφαινυλ-2-προπανόνη (2-propanone, 1,3-diphenyl) και η 3-μεθοξυ-βενζαλδεΐδη (benzaldehyde, 3-methoxy).

Στα γενικά μέλια μελιτωμάτων προσδιορίστηκαν συνολικά 80 ενώσεις και παρουσιάζουν ομοιότητες σε σχέση με τις πτητικές ενώσεις που εμφανίστηκαν στα 4 είδη μελιτωμάτων του πίνακα 17. Πιο συγκεκριμένα ανιχνεύθηκαν σε μεγαλύτερη συγκέντρωση η ακετόνη (acetone), το οξικό οξύ (acetic acid), το 2-μεθυλο-φουράνιο (furan, 2-methyl-), το 2,5-διμεθυλο-φουράνιο (furan, 2,5-dimethyl), η ακετοΐνη (acetoin), η 3-μεθυλ-2-βουτεν-1-όλη (2-buten-1-ol, 3-methyl-), η 2,3-βουτανεδιόλη (2,3-butanediol) και το παράγωγό της 2,3-βουτανεδιόλη-[R-(R*,R*)]- (2,3-butanediol-[R-(R*,R*)]-), το οκτάνιο (octane), το cis οξείδιο λιναλόλης (cis-linalool oxide (furanoid)), η 3,7-διμέθυλο-1,5,7-οκτατριεν-3-όλη (1,5,7-Octatrien-3-ol, 3,7-dimethyl-/Hotrienol) και η 1-νονανόλη.

Τέλος το πευκο-θύμαρο όντως παρουσίασε πτητικό προφίλ που είναι παρόμοιο με το πεύκο και το θυμάρι σαν μονοποικιλιακά μέλια. Πιο συγκεκριμένα σε αυτό το είδος μελιού ανιχνεύθηκαν συνολικά 59 ενώσεις από τις οποίες αυτές που προσδιορίστηκαν σε μεγαλύτερη συγκέντρωση ήταν η ακετόνη (acetone), η 2,3-βουτανεδιόνη (2,3-butanedione), το ισοβουτυρονιτρίλιο (isobutyronitrile), η 3-μεθυλο-βουτανάλη (butanal, 3-methyl), το 3-μεθυλο-βουτανενιτρίλιο (butanenitrile, 3-methyl), το τολουένιο (toluene), το οκτάνιο (octane), το 3-μεθυλο-βουτανοϊκό οξύ (butanoic acid, 3-methyl), το α-πινένιο (.alpha.-pinene), το 3-καρένιο (3-carene), η βενζενακεταλδεΐδη (benzenacetaldehyde) και η 1-εννεανόλη (1-nonanol).

3. Συμπεράσματα

Στην παρούσα έρευνα αποτιμήθηκε η αντιοξειδωτική δράση (μέθοδοι Folin και FRAP), δύο βιοδράσεις (η εκκαθάριση ριζών υδροξυλίου και η αντιφλεγμονώδης δράση), όπως και τα επίπεδα πρωτεϊνών μη κατεργασμένων ελληνικών μελιών. Επίσης έγινε ημιποσοτικός προσδιορισμός πτητικών ενώσεων των μελιών. Σκοπός ήταν η αποτίμηση των επιπέδων των παραπάνω, όπως και η διερεύνηση τυχόν διαφοροποίησης μεταξύ των διαφορετικών μελιών.

Από την μελέτη προκύπτουν τα παρακάτω συμπεράσματα:

- Τα μέλια που αναλύθηκαν παρουσιάζουν σημαντικά επίπεδα αντιοξειδωτικής δράσης και βιοδράσεων που αντανakλούν στα συστατικά των μελιών πλην των σακχάρων. Επίσης τα μέλια που αναλύθηκαν παρουσιάζουν σημαντικά επίπεδα πρωτεϊνών.
- Τα μέλια που μελετήθηκαν παρουσιάζουν πλούσιο προφίλ πτητικών ενώσεων.
- Τα έξι είδη ανθόμελων σε σύγκριση με τα έξι είδη μελιών μελιτωμάτων που μελετήθηκαν δεν παρουσιάζουν διαφορές (στατιστικά σημαντικές) στην αντιοξειδωτική δράση, τις βιοδράσεις, όπως και στα επίπεδα πρωτεϊνών.
- Τα έξι είδη ανθόμελων σε σύγκριση με τα έξι είδη μελιών μελιτωμάτων που μελετήθηκαν παρουσιάζουν ομοιότητες και διαφορές στο προφίλ των πτητικών ενώσεων. Παρουσιάζουν αρκετές κοινές πτητικές ενώσεις που βρίσκονται γενικά στο μέλι όπως οι heptane, nonane και η 1,5,7-Octatrien-3-ol, 3,7-dimethyl (Hotrienol). Τα ανθόμελα παρουσιάζουν πιο πλούσιο προφίλ πτητικών ενώσεων σε σχέση με τα μέλια μελιτωμάτων. Αρκετές ενώσεις όπως οι furfural, benzaldehyde, trans linalool oxide και benzyl nitrile, παρουσιάζονται σε υψηλότερα επίπεδα στα ανθόμελα. Από την άλλη πλευρά κάποιες ενώσεις όπως οι 3-Buten-1-ol, 3-methyl-, octane και η 1-nonanol, παρουσιάζονται σε υψηλότερα επίπεδα στα μέλια μελιτωμάτων από ότι στα ανθόμελα .
- Τα τέσσερα είδη ανθόμελων που μελετήθηκαν (μέλια ερείκης, θυμαρίσια, μέλια κισσούρι και μέλια ανθέων-κουμαριάς), προκύπτει να παρουσιάζουν διαφορές στην αντιοξειδωτική δράση και στην εκκαθάριση ριζών υδροξυλίου. Τα θυμαρίσια μέλια παρουσιάζουν μικρότερη αντιοξειδωτική δράση από τα άλλα τρία, ενώ τα μέλια κισσούρι παρουσιάζουν την μεγαλύτερη εκκαθάριση ριζών υδροξυλίου. Από την άλλη πλευρά, δεν προκύπτει να παρουσιάζονται διαφορές

στην αντιφλεγμονώδη δράση και στα επίπεδα πρωτεϊνών μεταξύ των τεσσάρων ειδών ανθόμελων.

- Μεταξύ των τεσσάρων ειδών ανθόμελων που μελετήθηκαν, τα μέλια ερείκης προκύπτει να παρουσιάζουν το πιο πλούσιο προφίλ πτητικών ενώσεων ενώ τα μέλια ανθέων-κουμαριάς το λιγότερο πλούσιο. Κάθε είδος μελιού παρουσιάζει υψηλότερα επίπεδα κάποιων ενώσεων σε σχέση με τα άλλα τρία. Ορισμένες από τις ενώσεις αυτές είναι για τα μέλια ανθέων-κουμαριάς η Phenol, 3,4,5-trimethyl-, η Isophorone και τα παράγωγα της. Για τα θυμαρίσια μέλια οι Isobutyronitrile, Butanenitrile, 3-methyl-, Benzaldehyde, Benzeneacetaldehyde και η Phenylethyl alcohol. Για τα μέλια ερείκης οι isophorone και furfural παρατηρούνται σε υψηλότερα επίπεδα, ενώ για τα μέλια κισσούρι υψηλότερα επίπεδα παρουσιάζουν οι Furfural, Ethanone, 1-(2-furanyl)-, Benzeneacetaldehyde και Hotrienol.
- Τα τέσσερα είδη μελιών μελιτωμάτων που μελετήθηκαν (μέλια βελανιδιάς, μέλια ελάτης, μέλια έλατο-βανίλια και μέλια πεύκου), προκύπτει να παρουσιάζουν επί μέρους διαφορές στην αντιοξειδωτική δράση, τις βιοδράσεις, και στα επίπεδα πρωτεϊνών. Μεταξύ αυτών, τα μέλια βελανιδιάς προκύπτει να παρουσιάζουν μεγαλύτερη αντιοξειδωτική δράση.
- Μεταξύ των τεσσάρων ειδών μελιών μελιτωμάτων που μελετήθηκαν, τα μέλια βελανιδιάς προκύπτει να παρουσιάζουν το πιο πλούσιο προφίλ πτητικών ενώσεων ενώ τα μέλια έλατο-βανίλια το λιγότερο πλούσιο. Κάθε είδος μελιού παρουσιάζει υψηλότερα επίπεδα κάποιων ενώσεων σε σχέση με τα άλλα τρία. Για τα μέλια βελανιδιάς παρουσιάζονται υψηλότερα επίπεδα κάποιων ενώσεων όπως οι 2,3-Butanediol, cis-Linalool oxide (furanoid), 1-Nonanol. Για τα μέλια ελάτης κάποιες από τις ενώσεις είναι το 1-Octene, η Bicyclo[2.2.1]hept-2-ene, 2,3-dimethyl-, Bicyclo[3.1.0]hexane, 6-isopropylidene- και η Nonanal. Για τα μέλια έλατο-βανίλια οι πτητικές ενώσεις είναι παρόμοιες με του ελάτου ενώ παρουσιάζονται σε υψηλότερα επίπεδα οι 2,3-Butanedione, Bicyclo[2.2.1]hept-2-ene, 2,3-dimethyl-, Nonanal και Nonanoic acid ενώ για τα μέλια πεύκου οι Octane, Benzaldehyde, alpha.-Pinene και η 1-Nonanol.

4. Μελλοντικές προτάσεις για έρευνα

Μελλοντικές προτάσεις για περαιτέρω έρευνα αποτελεί η ανάλυση περισσότερων δειγμάτων για κάθε είδος και ιδιαίτερα για το μέλι γκιούλμπερι και πευκο-θύμαρο των οποίων ο αριθμός των δειγμάτων ($n=2$) δεν ήταν επαρκής για στατιστική επεξεργασία. Επιπλέον η σύγκριση δειγμάτων του ίδιου είδους αλλά από διαφορετικές περιοχές ή διαφορετικούς τρύγους, όπου αυτό είναι εφικτό, για παράδειγμα στο μέλι ερείκης και πεύκου, ώστε να αναδειχθεί η διαφορετικότητα της τοπικής χλωρίδας και πως αυτή επηρεάζει τόσο τις βιοδράσεις όσο και τις πτητικές ενώσεις του μελιού και τέλος η μελέτη και σύγκριση με τα αποτελέσματα *in vivo* μεθόδων για την αντιοξειδωτική δράση, την αντιφλεγμονώδη δράση και την δέσμευση ριζών υδροξυλίου. Η περαιτέρω έρευνα των παραπάνω θα βοηθήσει στην ανάδειξη της αξίας τους και την προώθηση τους παγκοσμίως και ιδιαίτερα των τριών ελληνικών ΠΟΠ ποικιλιών που έχουν μελετηθεί λιγότερο.

BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

Al-Waili, N. S., and Boni, N. S. (2003) 'Natural Honey Lowers Plasma Prostaglandin Concentrations in Normal Individuals', *Journal of Medicinal Food*, 6(1–4), pp. 129–133.

Aliferis, K. A., Tarantilis, P. A., Harizanis, P. C., & Alissandrakis, E. (2010) 'Botanical discrimination and classification of honey samples applying gas chromatography/mass spectrometry fingerprinting of headspace volatile compounds', *Food Chemistry*, 121(3), pp. 856–862. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.12.098>.

Alissandrakis, E., Tarantilis, P. A., Harizanis, P. C., & Polissiou, M. (2005) 'Evaluation of four isolation techniques for honey aroma compounds', *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 85(1), pp. 91–97. Available at: <https://doi.org/10.1002/jsfa.1934>.

Alissandrakis, E., Tarantilis, P. A., Harizanis, P. C., & Polissiou, M. (2007a) 'Aroma investigation of unifloral Greek citrus honey using solid-phase microextraction coupled to gas chromatographic-mass spectrometric analysis', *Food Chemistry*, 100(1), pp. 396–404. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.09.015>.

Alissandrakis, E., Tarantilis, P. A., Harizanis, P. C., & Polissiou, M. (2007b) 'Comparison of the volatile composition in thyme honeys from several origins in Greece', *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55(20), pp. 8152–8157. Available at: <https://doi.org/10.1021/jf071442y>.

Alissandrakis, E., Tarantilis, P. A., Pappas, C., Harizanis, P. C., & Polissiou, M. (2009) 'Ultrasound-assisted extraction gas chromatography-mass spectrometry analysis of volatile compounds in unifloral thyme honey from Greece', *European Food Research and Technology*, 229(3), pp. 365–373. Available at: <https://doi.org/10.1007/s00217-009-1046-8>.

Alves, A., Ramos, A., Gonçalves, M. M., Bernardo, M. & Mendes, B. (2013) 'Antioxidant activity, quality parameters and mineral content of Portuguese monofloral honeys', *Journal of Food Composition and Analysis*, 30(2), pp. 130–138. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2013.02.009>.

Azeredo, L.D.C., Azeredo, M.A.A., De Souza, S.R. & Dutra, V.M.L. (2003) 'Protein contents and physicochemical properties in honey samples of *Apis mellifera* of different floral origins', *Food Chemistry*, 80(2), pp. 249–254. Available at: [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(02\)00261-3](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(02)00261-3).

Baroni, M.V., Nores, M.L., Diaz, M.P., Chiabrando, G.A., Fassano, J.P., Costa, S. & Wunderlin, D.A. (2006) 'Determination of volatile organic compound patterns characteristic of five unifloral honey by solid-phase microextraction-gas chromatography-mass spectrometry coupled to chemometrics', *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54(19), pp. 7235–7241. Available at: <https://doi.org/10.1021/jf061080e>.

Bastos De Maria, C.A. and Alves Moreira, R.F. (2003) 'Volatile compounds in floral honeys', *Química Nova*, 26(1), pp. 90–96. Available at: <https://doi.org/10.1590/s0100-40422003000100016>.

Becerril-sánchez, A.L., Quintero-salazar, B., Dublán-garcía, O. & Escalona-buendía, H. B. *et al.* (2021) 'Phenolic compounds in honey and their relationship with antioxidant activity, botanical origin, and color', *Antioxidants*, 10(11), pp. 1–23. Available at: <https://doi.org/10.3390/antiox10111700>.

Bentivenga, G., D'Auria, M., Fedeli, P., Mauriello, G. & Racioppi, R. (2004) 'SPME-GC-MS analysis of volatile organic compounds in honey from Basilicata. Evidence for the presence of pollutants from anthropogenic activities', *International Journal of Food Science and Technology*, 39(10), pp. 1079–1086. Available at: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2004.00889.x>.

Benzie, I.F.F. and Strain, J.J. (1996) 'The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": The FRAP assay', *Analytical Biochemistry*, 239(1), pp. 70–76. Available at: <https://doi.org/10.1006/abio.1996.0292>.

Bergamo, G., Seraglio, S.K.T., Gonzaga, L.V., Fett, R., de Mello Castanho Amboni, R.D., Dias, C.O. & Costa, A.C.O. (2019) 'Differentiation of honeydew honeys and blossom honeys: a new model based on colour parameters', *Journal of Food Science and Technology*, 56(5), pp. 2771–2777. Available at: <https://doi.org/10.1007/s13197-019-03737-2>.

Bertoncelj, J., Doberšek, U., Jamnik, M. & Golob, T. (2007) 'Evaluation of the phenolic content, antioxidant activity and colour of Slovenian honey', *Food Chemistry*, 105(2), pp. 822–828. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.01.060>.

Bognanov S. (2011) 'Honey Composition', *Journal of Bee World*, (January), pp. 1–10.

Candiracci, M., Piatti, E., Garc, D., Ruano, D., Gutie, J.F. & Parrado, J. (2012) 'Anti-inflammatory Activity of a Honey Flavonoid Extract on Lipopolysaccharide-Activated N13 Microglial Cells', *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45(9),

pp. 3694–3702.

Christodoulou, M.C., Orellana Palacios, J.C., Hesami, G., Jafarzadeh, S., Lorenzo, J.M., Domínguez, R., Moreno, A. & Hadidi, M. (2022) ‘Spectrophotometric Methods for Measurement of Antioxidant Activity in Food and Pharmaceuticals’, *Antioxidants*, 11(11), p. 2213. Available at: <https://doi.org/10.3390/antiox11112213>.

Cienciosi, D., Forbes-Hernández, T.Y., Afrin, S., Gasparrini, M., Reboredo-Rodríguez, P., Manna, P.P., Zhang, J., Lamas, L.B., Flórez, S.M., Toyos, P.A., Quiles, J.L., Giampieri, F. & Battino, M. (2018) ‘Phenolic compounds in honey and their associated health benefits: A review’, *Molecules*, 23(9), pp. 1–20. Available at: <https://doi.org/10.3390/molecules23092322>.

De Avellar, I.G.J., Magalhães, M. M., Silva, A. B., Souza L. L., Leitão A. C. & Hermes-Lima M. (2004) ‘Reevaluating the role of 1,10-phenanthroline in oxidative reactions involving ferrous ions and DNA damage’, *Biochimica et Biophysica Acta - General Subjects*, 1675(1–3), pp. 46–53. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.bbagen.2004.08.006>.

Duru, M.E., Taş, M., Çayan, F., Küçükaydın, S. & Tel-Çayan, G. (2021) ‘Characterization of volatile compounds of Turkish pine honeys from different regions and classification with chemometric studies’, *European Food Research and Technology*, 247(10), pp. 2533–2544. Available at: <https://doi.org/10.1007/s00217-021-03817-8>.

Dzugan, M., Tomczyk, M., Sowa, P. & Grabek-Lejko, D. (2018) ‘Antioxidant activity as biomarker of honey variety’, *Molecules*, 23(8), pp. 1–13. Available at: <https://doi.org/10.3390/molecules23082069>.

Escriche, I., Juan-Borrás, M., Visquert, M., Asensio-Grau, A. & Valiente, J.M. (2022) ‘Volatile profile of Spanish raw citrus honey: The best strategy for its correct labeling’, *Journal of Food Processing and Preservation*, 46(6), pp. 1–10. Available at: <https://doi.org/10.1111/jfpp.16200>.

Gialouris, P.L.P., Koulis, G.A., Nastou, E.S., Dasenaki, M.E., Maragou, N.C. & Thomaidis, N.S. (2023) ‘Development and validation of a high-throughput headspace solid-phase microextraction gas chromatography-mass spectrometry methodology for target and suspect determination of honey volatiles’, *Heliyon*, 9(11), p. e21311. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2023.e21311>.

Gianelli Barra, M.P., Ponce-Díaz, M.C. & Venegas-Gallegos, C. (2010) ‘Volatile Compounds in Honey Produced in the Central Valley of Ñuble Province,

Chile’, *Chilean journal of agricultural research*, 70(1), pp. 75–84. Available at: <https://doi.org/10.4067/s0718-58392010000100008>.

Graikou, K., Andreou, A. & Chinou, I. (2022) ‘Chemical profile of Greek Arbutus unedo honey: biological properties’, *Journal of Apicultural Research*, 61(1), pp. 100–106. Available at: <https://doi.org/10.1080/00218839.2021.1917860>.

Gül, A. and Pehlivan, T. (2018) ‘Antioxidant activities of some monofloral honey types produced across Turkey’, *Saudi Journal of Biological Sciences*, 25(6), pp. 1056–1065. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2018.02.011>.

Halliwell, B. (2003) ‘Free Radicals and Other Reactive Species in Disease’, in. Available at: <https://doi.org/10.1038/npg.els.0002269>.

Hellenic Ministry of Agriculture (1994) ‘Acknowledgment of protection of the product with the name of origin “Honey Fir-Menalon-Vanilia” Origin from the mountain Menalon’, *Greek official goverment newspaper journal*, p. FEK 16/Official decision 313049/131.

Hellenic Ministry of Agriculture (2017) ‘Descreption of the product with the name of origin “Pefkothymaromelo Kritis” Origin from Crete’, *Official Journal of the European Union*, Official decision 2017/1555.

Hellenic Ministry of Agriculture (2024) ‘Descreption of the product with the name of origin “Meli Kissouri” Origin from Karistia’, *Official Journal of the European Union*, Official decision 2024/1051.

Hernanz, D., Jara-Palacios, M.J., Santos, J.L., Gómez Pajuelo, A., Heredia, F.J. & Terrab, A. (2023) ‘The profile of phenolic compounds by HPLC-MS in Spanish oak (Quercus) honeydew honey and their relationships with color and antioxidant activity’, *Lwt*, 180(October 2022). Available at: <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2023.114724>.

Huang, Y., Jin, J., Cao, W. & Wang, Y. (2024) ‘Identification and Biotransformation of Volatile Markers During the Early Stage of Zygosaccharomyces rouxii and Zygosaccharomyces mellis Contamination in Acacia Honey’, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* [Preprint]. Available at: <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.4c06157>.

Jenkins, R.R. (1988) ‘Free radical chemistry. Relationship to exercise.’, *Sports medicine (Auckland, N.Z.)*, 5(3), pp. 156–170. Available at: <https://doi.org/10.2165/00007256-198805030-00003>.

Jerković, I., Kasum, A., Marijanović, Z. & Tuberoso, C. I.G. (2011) ‘Contribution to the characterisation of honey-based Sardinian product abbamele:

Volatile aroma composition, honey marker compounds and antioxidant activity', *Food Chemistry*, 124(1), pp. 401–410. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.06.047>.

Jovanov, P. (2022) 'Antioxidative , Antibacterial and Antiproliferative Properties of Honey Types from the Western Balkans', pp. 1–14.

Kamaruzaman, N.A., Sulaiman, S.A., Kaur, G. & Yahaya, B. (2014) 'Inhalation of honey reduces airway inflammation and histopathological changes in a rabbit model of ovalbumin-induced chronic asthma', *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 14(11), pp. 1–11. Available at: <https://doi.org/10.1186/1472-6882-14-176>.

Karabagias, I.K., Badeka A.V., Kontakos S., Karabournioti S. & Kontominas M.G. (2014) 'Botanical discrimination of Greek unifloral honeys with physico-chemical and chemometric analyses', *FOOD CHEMISTRY*, 165, pp. 181–190. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.05.033>.

Karabagias, I.K., Badeka A.V., Kontakos S., Karabournioti S. & Kontominas M.G. (2014a) 'Characterisation and classification of Greek pine honeys according to their geographical origin based on volatiles, physicochemical parameters and chemometrics', *Food Chemistry*, 146, pp. 548–557. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.09.105>.

Karabagias, I.K., Badeka A.V., Kontakos S., Karabournioti S. & Kontominas M.G. (2014b) 'Characterization and classification of Thymus capitatus (L.) honey according to geographical origin based on volatile compounds, physicochemical parameters and chemometrics', *Food Research International*, 55, pp. 363–372. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2013.11.032>.

Karabagias, I.K., Halatsi, E.Z., Kontakos S. & Kontominas M.G. (2017a) 'Characterization and Geographical Classification of Greek Fir Honeys Based on Physicochemical Parameters, Colour Attributes, and Volatile Compounds Using Chemometrics', *IOSR Journal of Agriculture and Veterinary Science*, 10(01), pp. 16–22. Available at: <https://doi.org/10.9790/2380-1001011622>.

Karabagias, I.K., Louppis, A.P., Kontakos S., Papastephanou C. & Kontominas M.G. (2017b) 'Characterization and geographical discrimination of Greek pine and thyme honeys based on their mineral content, using chemometrics', *European Food Research and Technology*, 243(1), pp. 101–113. Available at: <https://doi.org/10.1007/s00217-016-2727-8>.

Karabagias, I.K., Karabagias, V.K., Nayik, G.A., Gatzias, I. & Badeka, A.V.

(2022) ‘A targeted chemometric evaluation of the volatile compounds of *Quercus ilex* honey in relation to its provenance’, *Lwt*, 154(September 2021), p. 112588. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.112588>.

Karabagias, I.K., Badeka, A.V & Kontominas, M.G. (2020) ‘A decisive strategy for monofloral honey authentication using analysis of volatile compounds and pattern recognition techniques’, *Microchemical Journal*, 152(October 2019), p. 104263. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.microc.2019.104263>.

Karabagias, I.K., Nikolaou, C. & Karabagias, V.K. (2019) ‘Volatile fingerprints of common and rare honeys produced in Greece: in search of PHVMs with implementation of the honey code’, *European Food Research and Technology*, 245(1), pp. 23–39. Available at: <https://doi.org/10.1007/s00217-018-3137-x>.

Khalil, M.I. and Sulaiman, S.A. (2010) ‘The potential role of honey and its polyphenols in preventing heart diseases: A review’, *African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines*, 7(4), pp. 315–321. Available at: <https://doi.org/10.4314/ajtcam.v7i4.56693>.

Kyriazis, I., Skaperda, Z., Tekos, F., Makri, S., Vardakas, P., Vassi, E., Patouna, A., Terizi, K., Angelakis, C. & Kouretas, D. (2021) ‘Methodology for the biofunctional assessment of honey (Review)’, *International Journal of Functional Nutrition*, 2(2). Available at: <https://doi.org/10.3892/ijfn.2021.15>.

Lewoyehu, M. and Amare, M. (2019) ‘Comparative evaluation of analytical methods for determining the antioxidant activities of honey: A review’, *Cogent Food and Agriculture*, 5(1). Available at: <https://doi.org/10.1080/23311932.2019.1685059>.

Mădaş, N.M., Mărghitaş, L.A., Dezmirean, D.S., Bonta, V., Bobiş, O., Fauconnier, M.L., Francis, F., Haubruge, E. & Nguyen, K.B. (2019) ‘Volatile profile and physico-chemical analysis of acacia honey for geographical origin and nutritional value determination’, *Foods*, 8(10), pp. 5–9. Available at: <https://doi.org/10.3390/foods8100445>.

Manikis, I., Vartani, S., Dimou, M. & Thrasyvoulou A. (2011) ‘Sugar analysis of “Menalou vanilia” fir honey’, *Journal of ApiProduct and ApiMedical Science*, 3(2), pp. 101–103. Available at: <https://doi.org/10.3896/ibra.4.03.2.06>.

Manyi-Loh, C.E., Ndip, R.N. & Clarke, A.M. (2011) ‘Volatile compounds in honey: A review on their involvement in aroma, botanical origin determination and potential biomedical activities’, *International Journal of Molecular Sciences*, 12(12), pp. 9514–9532. Available at: <https://doi.org/10.3390/ijms12129514>.

Matros, A., Peshev, D., Peukert, M., Mock, H.P. & Van Den Ende, W. (2015) 'Sugars as hydroxyl radical scavengers: Proof-of-concept by studying the fate of sucralose in Arabidopsis', *Plant Journal*, 82(5), pp. 822–839. Available at: <https://doi.org/10.1111/tpj.12853>.

Meo, S.A., Al-Asiri, S.A., Mahesar, A.L. & Ansari, M.J. (2017) 'Role of honey in modern medicine', *Saudi Journal of Biological Sciences*. Elsevier B.V., pp. 975–978. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2016.12.010>.

Mijanur Rahman, M., Gan, S.H. & Khalil, M.I. (2014) 'Neurological effects of honey: Current and future prospects', *Evidence-based Complementary and Alternative Medicine*, 2014. Available at: <https://doi.org/10.1155/2014/958721>.

Mohamadzade Namin, S., Ghosh, S. & Jung, C. (2023) 'Honey Quality Control: Review of Methodologies for Determining Entomological Origin', *Molecules*, 28(10). Available at: <https://doi.org/10.3390/molecules28104232>.

Neggad, A., Benkaci-Ali, F., Alsaфра, Z. & Eppe, G. (2019) 'Headspace Solid Phase Microextraction Coupled to GC/MS for the Analysis of Volatiles of Honeys from Arid and Mediterranean Areas of Algeria', *Chemistry and Biodiversity*, 16(10). Available at: <https://doi.org/10.1002/cbdv.201900267>.

Osés, S.M., Nieto, S., Rodrigo, S., Pérez, S., Rojo, S., Sancho, M.T. & Fernández-Muiño, M.A. (2020) 'Authentication of strawberry tree (*Arbutus unedo* L.) honeys from southern Europe based on compositional parameters and biological activities', *Food Bioscience*, 38(February). Available at: <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2020.100768>.

Panseri, S., Borgonovo, F., Guarino, M., Chiesa, L., Piana, M.L., Rizzi, R. & Mortarino, M. (2023) 'Monitoring Volatile Organic Compounds and Aroma Profile of Robinia pseudoacacia L. Honey at Different Storage Temperatures during Shelf Life', *Foods*, 12(16). Available at: <https://doi.org/10.3390/foods12163105>.

Pattamayutanon, P., Angeli, S., Thakeow, P., Abraham, J., Disayathanoowat, T. & Chantawannakul, P. (2017) 'Volatile organic compounds of Thai honeys produced from several floral sources by different honey bee species', *PLOS ONE*, 12(2). Available at: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0172099>.

Phaniendra, A., Jestadi, D.B. & Periyasamy, L. (2015) 'Free Radicals: Properties, Sources, Targets, and Their Implication in Various Diseases', *Indian Journal of Clinical Biochemistry*, 30(1), pp. 11–26. Available at: <https://doi.org/10.1007/s12291-014-0446-0>.

Piasenzotto, L., Gracco, L. & Conte, L. (2003) 'Solid phase microextraction (SPME) applied to honey quality control', *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 83(10), pp. 1037–1044. Available at: <https://doi.org/10.1002/jsfa.1502>.

Piljac-Žegarac, J. (2009) 'Antioxidant properties and phenolic content of different floral origin honeys', *Journal of ApiProduct and ApiMedical Science*, 1(2), pp. 43–50. Available at: <https://doi.org/10.3896/ibra.4.01.2.04>.

Pita-Calvo, C. and Vázquez, M. (2017) 'Differences between honeydew and blossom honeys: A review', *Trends in Food Science and Technology*, 59, pp. 79–87. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2016.11.015>.

Quintanilla-López, J.E., Lebrón-Aguilar, R. and Soria, A.C. (2022) 'Volatile fingerprinting by solid-phase microextraction mass spectrometry for rapid classification of honey botanical source', *Lwt*, 169(September). Available at: <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2022.114017>.

Robotti, E., Campo, F., Riviello, M., Bobba, M., Manfredi, M., Mazzucco, E., Gosetti, F., Calabrese, G., Sangiorgi, E. & Marengo, E. (2017) 'Optimization of the Extraction of the Volatile Fraction from Honey Samples by SPME-GC-MS , Experimental Design , and Multivariate Target Functions', 2017.

Rodríguez-Flores, M.S., Falcão, S.I., Escuredo, O., Seijo, M. C. & Vilas-Boas, M. (2021) 'Description of the volatile fraction of Erica honey from the northwest of the Iberian Peninsula', *Food Chemistry*, 336. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.127758>.

Saeed, S., Fariborz, S. & Taghavi, M. (2014) 'Antiproliferative and cytotoxic properties of honey in human prostate cancer cell line (PC-3): Possible mechanism of cell growth inhibition and apoptosis induction', *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 8(1), pp. 9–15. Available at: <https://doi.org/10.5897/ajpp10.250>.

Sagdic, O., Silici, S. & Ekici, L. (2013) 'Evaluation of the phenolic content, antiradical, antioxidant, and antimicrobial activity of different floral sources of honey', *International Journal of Food Properties*, 16(3), pp. 658–666. Available at: <https://doi.org/10.1080/10942912.2011.561463>.

Samarghandian, S., Farkhondeh, T. & Samini, F. (2017) 'Honey and health: A review of recent clinical research', *Pharmacognosy Research*. Medknow Publications, pp. 121–127. Available at: <https://doi.org/10.4103/0974-8490.204647>.

Seisonen, S., Kivima, E. & Vene, K. (2015) 'Characterisation of the aroma profiles of different honeys and corresponding flowers using solid-phase

microextraction and gas chromatography-mass spectrometry/olfactometry’, *Food Chemistry*, 169, pp. 34–40. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.07.125>.

Seraglio, S.K.T., Silva, B., Bergamo, G., Brugnerotto, P., Gonzaga, L.V., Fett, R. & Costa, A.C.O. (2019) ‘An overview of physicochemical characteristics and health-promoting properties of honeydew honey’, *Food Research International*. Elsevier Ltd, pp. 44–66. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2019.01.028>.

Soler, J., Saura, P., Garcíá-López, D., Masgrau, L., Lluch, J.M. & González-Lafont, A. (2016) ‘How Can Linoleic Acid Be the Preferential Substrate of the Enzyme 15-Lipoxygenase-1? A QM/MM Approach’, *Journal of Physical Chemistry B*, 120(8), pp. 1950–1960. Available at: <https://doi.org/10.1021/acs.jpcb.5b09897>.

Sotiropoulou, N.S., Xagoraris, M., Revelou, P.K., Kaparakou, E., Kanakis, C., Pappas, C. & Tarantilis, P. (2021) ‘The use of spme-gc-ms ir and raman techniques for botanical and geographical authentication and detection of adulteration of honey’, *Foods*. MDPI AG. Available at: <https://doi.org/10.3390/foods10071671>.

Stavropoulou, E., Ieronymaki, E., Dimitroulia, E., Constantinidis, T.C., Vrioni, G., Tsatsanis, C. & Tsakris, A. (2022) ‘Anti-Inflammatory and Antibacterial Effects and Mode of Action of Greek Arbutus, Chestnut, and Fir Honey in Mouse Models of Inflammation and Sepsis’, *Microorganisms*, 10(12). Available at: <https://doi.org/10.3390/microorganisms10122374>.

Tananaki, C., Liolios, V., Kanelis, D. & Rodopoulou, M.A. (2022) ‘Investigation of volatile compounds in combination with multivariate analysis for the characterization of monofloral honeys’, *Applied Sciences (Switzerland)*, 12(1). Available at: <https://doi.org/10.3390/app12010264>.

Tananaki, C., Rodopoulou, M.A., Dimou, M., Kanelis, D., & Liolios, V. (2024) ‘The Total Phenolic Content and Antioxidant Activity of Nine Monofloral Honey Types’, *applied sciences* [Preprint].

Tananaki, C., Thrasyvoulou, A., Giraudel, J. L. & Montury, M. (2007) ‘Determination of volatile characteristics of Greek and Turkish pine honey samples and their classification by using Kohonen self organising maps’, *Food Chemistry*, 101(4), pp. 1687–1693. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2006.04.042>.

Tedesco, R., Scalabrin, E., Malagnini, V., Strojnik, L., Ogrinc, N. & Capodaglio, G. (2022) ‘Characterization of Botanical Origin of Italian Honey by Carbohydrate Composition and Volatile Organic Compounds (VOCs)’, *Foods*, 11(16).

Available at: <https://doi.org/10.3390/foods11162441>.

Thrasylvoulou, A., Tananaki, C., Goras, G., Karazafiris, E., Dimou, M., Liolios, V., Kanelis, D. & Gounari, S. (2018) 'Legislación de criterios y normas de miel', *Journal of Apicultural Research*, 57(1), pp. 88–96. Available at: <https://doi.org/10.1080/00218839.2017.1411181>.

Tsavea, E., Vardaka, F.P., Savvidaki, E., Kellil, A., Kanelis, D., Bucekova, M., Grigorakis, S., Godocikova, J., Gotsiou, P., Dimou, M., Loupassaki, S., Remoundou, I., Tsadila, C., Dimitriou, T.G., Majtan, J., Tananaki, C., Alissandrakis, E. & Mossialos, D. (2022) 'Physicochemical Characterization and Biological Properties of Pine Honey Produced across Greece', *Foods*, 11(7), pp. 1–17. Available at: <https://doi.org/10.3390/foods11070943>.

Wolski, T. and Tambor, K. (2006) 'Identification of honey volatile components by solid phase microextraction (SPME) and gas chromatography/mass spectrometry (GC/MS)', 50(2), pp. 115–126.

Xagoraris, M., Chrysoulaki, F., Revelou, P.-K., Alissandrakis, E., Tarantilis, P.A. & Pappas, C.S. (2021) 'Unifloral autumn heather honey from indigenous greek Erica manipuliflora Salisb.: Spme/gc-ms characterization of the volatile fraction and optimization of the isolation parameters', *Foods*, 10(10). Available at: <https://doi.org/10.3390/foods10102487>.

Xagoraris, M., Revelou, P.-K., Alissandrakis, E., Tarantilis, P.A. & Pappas, C.S. (2021) 'Greek Honey Authentication: Botanical Approach', *Encyclopedia*, 1(4), pp. 1322–1333. Available at: <https://doi.org/10.3390/encyclopedia1040099>.

Xagoraris, M., Skouria, A., Revelou, P.-K., Alissandrakis, E., Tarantilis, P.A. & Pappas, C.S. (2021) 'Response surface methodology to optimize the isolation of dominant volatile compounds from monofloral greek thyme honey using spme-gc-ms', *Molecules*, 26(12). Available at: <https://doi.org/10.3390/molecules26123612>.

Yang, Y., Battesti, M.J., Costa, J. & Paolini, J. (2014) 'Melissopalynological and volatile analysis of honeys from corsican arbutus unedo habitat', *Natural Product Communications*, 9(10), pp. 1523–1526. Available at: <https://doi.org/10.1177/1934578x1400901030>.

Yapucu Günes, Ü. and Eser, I. (2007) 'Effectiveness of a Honey Dressing for Healing Pressure Ulcers', *Journal of Wound Ostomy & Continence Nursing*, 34(2). Available at: https://journals.lww.com/jwocnonline/fulltext/2007/03000/effectiveness_of_a_honey_

dressings_for_healing.16.aspx.

Yiannakopoulou, E. (2009) *Oxidative stress – antioxidant mechanisms: Clinical implications.*, *Archives of Hellenic Medicine*.

Yildiz, O., Gurkan, H., Sahingil, D., Degirmenci, A., Er Kemal, M., Kolayli, S. & Hayaloglu, A.A. (2022) 'Floral authentication of some monofloral honeys based on volatile composition and physicochemical parameters', *European Food Research and Technology*, 248(8), pp. 2145–2155. Available at: <https://doi.org/10.1007/s00217-022-04037-4>.

Zammit Young, G.W. and Blundell, R. (2023) 'A review on the phytochemical composition and health applications of honey', *Heliyon*. Elsevier Ltd. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2022.e12507>.

Zampakas, K., Alvanou, M.V., Kalapouti, A., Hatjina, F., Tananaki, C., Melfou, K. & Giantsis, I.A. (2024) 'Genetic Profile of Greek Indigenous Honey Bee Populations , Local Extinctions , Geographical Distinction , and Patterns , by Using mtDNA COI and Nuclear CSD Gene Analysis Markers', 2024.

Ζελιαναίος, Κ. (2012) "Σύνθεση και μελέτη της αντιοξειδωτικής και αντιφλεγμονώδους δράσης νέων κουμαρινών", Διπλωματική εργασία, Εθνικό Μετσόβειο Πολυτεχνείο.

Θρασυβούλου, Α., Μανίκης, Ι., Τανανάκη, Χ., Τσέλλιος, Δ., Καραμπουρνιώτη, Σ. & Δήμου, Μ. (2002) "1^ο Επιστημονικό Συνέδριο Μελισσοκομίας – Σηροτροφίας Αθήνα , 29 Νοεμβρίου – 1 Δεκεμβρίου 2002", pp. 1–64.

Καραμπουρνιώτη, Σ.Ε. (2008) "Μελισσοπαλυνολογική ανάλυση θυμαρίσιου μελιού περιοχών της Ελλάδας", Διδακτορική διατριβή, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης.

Τανανάκη, Χ.Ι. (2006) "Μελέτη παραγόντων που επηρεάζουν τα πτητικά συστατικά των μελιών που προέρχονται από μελίτωμα", Διδακτορική διατριβή, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης.

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ

Πίνακας 1. Τιμές για τις φυσικοχημικές παραμέτρους άθροισμα φρουκτόζης και γλυκόζης, σακχαρόζης, υγρασίας και μη υδατοδιαλυτές για τα δείγματα.

Είδος	Δείγμα	Φρουκτόζη & Γλυκόζη (% κ.β)	Σακχαρόζη (%κ.β)	Υγρασία (%κ.β)	Μη υδατοδιαλυτές (%κ.β)
ΑΝΘΕΩΝ	A1	69	<1	15.5	<0.1
	A2	68	<1	16.5	<0.1
	A3	72	<1	17	<0.1
	A4	66	3	17.5	<0.1
ΓΚΙΟΥΛΑ ΜΠΕΡΙ	Γ1	65	2	15	<0.1
	Γ2	64	<1	14.5	<0.1
ΕΡΕΙΚΗΣ	P1	65	<1	19	<0.1
	P2	65	4	20.5	<0.1
	P3	72	<1	18.5	<0.1
ΘΥΜΑΡΙ	Θ1	66	<1	14.5	<0.1
	Θ2	68	<1	15	<0.1
	Θ3	67	<1	14	<0.1
	Θ4	68	1	14.5	<0.1
ΚΙΣΣΟΥΡΙ	ΚΣ1	66	2	15	<0.1
	ΚΣ2	66	4	17.5	<0.1
	ΚΣ3	66	2	17	<0.1
ΑΝΘΕΩΝ-ΚΟΥΜΑΡΟ	Κ1	65	1	20.5	<0.1
	Κ2	69	<1	18.5	<0.1
	Κ3	68	<1	19.5	<0.1
ΔΑΣΟΥΣ	Δ1	57	<1	14	<0.1
	Δ2	65	<1	14.5	<0.1
	Δ3	61	<1	16	<0.1
	Δ4	61	<1	16.5	<0.1
ΒΕΛΑΝΙΔΙΑ	B1	65	<1	16	<0.1
	B2	58	<1	14.5	<0.1
	B3	66	<1	15.5	<0.1
	B4	60	<1	14	<0.1
	B5	55	<1	14.5	<0.1

Είδος	Δείγμα	Φρουκτόζη & Γλυκόζη (% κ.β)	Σακχαρόζη (%κ.β)	Υγρασία (%κ.β)	Μη υδατοδιαλυτές (%κ.β)
ΕΛΑΤΟ	E1	60	<1	14.5	<0.1
	E2	58	<1	15	<0.1
	E3	59	<1	16.5	<0.1
	E4	59	<1	14	<0.1
ΕΛΑΤΟ-ΒΑΝΙΛΙΑ	EB1	58	<1	15.5	<0.1
	EB2	52	<1	14.5	<0.1
	EB3	52	<1	16	<0.1
	EB4	58	<1	14.5	<0.1
ΠΕΥΚΟ	Π1	62	<1	15	<0.1
	Π2	65	<1	15	<0.1
	Π3	68	<1	17	<0.1
	Π4	60	<1	15	<0.1
ΠΕΥΚΟ-ΘΥΜΑΡΙ	ΠΘ1	66	<1	14.5	<0.1
	ΠΘ2	67	3	15	<0.1

Πίνακας 2. Τιμές για τις φυσικοχημικές παραμέτρους διαστάσης, οξύτητας, HMF, αγωγιμότητας και pH για τα δείγματα.

Είδος	Δείγμα	Διαστάση (μονάδες Shade)	Οξύτητα (meq/kg)	HMF (mg/kg)	Αγωγιμότητα (mS/cm)	pH
ΑΝΘΕΩΝ	A1	13	24	<4.3	0.62	4.2
	A2	28	32	<4.3	0.66	3.8
	A3	28	32	<4	0.51	3.8
	A4	23	26	8	0.69	4
ΓΚΙΟΥΛ ΜΠΕΡΙ	Γ1	22	28	11.5	0.7	4.1
	Γ2	20	30	11	0.48	3.7
ΕΡΕΙΚΗΣ	P1	16	32	10	0.45	3.5
	P2	20.5	34	20	0.79	3.9
	P3	17	34	24	0.86	4.4
ΘΥΜΑΡΙ	Θ1	16	20	7	0.44	3.9
	Θ2	36	28	<4.3	0.58	4.1
	Θ3	12	10	<4.3	0.2	3.9
	Θ4	13	26	25	0.45	3.8

Είδος	Δείγμα	Διαστάση (μονάδες Shade)	Οξύτητα (meq/kg)	HMF (mg/kg)	Αγωγιμότητα (mS/cm)	pH
ΚΙΣΣΟΥΡΙ	ΚΣ1	16	28	28	0.66	4
	ΚΣ2	11	32	10	0.72	4.1
	ΚΣ3	16	22	20	0.51	3.8
ΑΝΘΕΩΝ- ΚΟΥΜΑΡΟ	Κ1	9	38	<4.3	1	4.3
	Κ2	15	30	<4.3	0.91	4.3
	Κ3	12	36	5.7	0.75	4
ΔΑΣΟΥΣ	Δ1	26	36	<4.3	1.26	4.7
	Δ2	35	48	<4.3	1	4.3
	Δ3	30	42	<4.3	0.8	4.2
	Δ4	17.4	26	<4.3	1.22	4.5
ΒΕΛΑΝΙΔΙΑ	Β1	31	42	<4.3	0.84	4
	Β2	19.4	28	<4.3	1.56	5.5
	Β3	41	40	<4.3	0.8	4.3
	Β4	18	32	<4.3	0.95	4.6
	Β5	15	36	<4.3	1	4.5
ΕΛΑΤΟ	Ε1	17.5	42	<4.3	1.93	5
	Ε2	23	38	6.2	1.39	4.8
	Ε3	23	40	<4.3	1.65	5
	Ε4	23.5	34	<4.3	1.64	5.3
ΕΛΑΤΟ-ΒΑΝΙΛΙΑ	ΕΒ1	18	40	<4.3	1.4	4.5
	ΕΒ2	28	36	<4.3	1.34	4.8
	ΕΒ3	31	36	<4.3	1.49	3.8
	ΕΒ4	18	36	<4.3	1.53	4.4
ΠΕΥΚΟ	Π1	15	34	5	1.24	4.7
	Π2	12.5	30	7	1.1	4.7
	Π3	18	26	<4.3	0.9	4.5
	Π4	35	36	<4.3	1.4	4.7
ΠΕΥΚΟ- ΘΥΜΑΡ Ο	ΠΘ1	12	34	<4.3	0.88	4.3
	ΠΘ2	16	26	<4.3	0.82	4.4

Πίνακας 3. Γυρεοσκοπική ανάλυση δειγμάτων.

Είδος	Δείγμα	Γυρεοσκοπική ανάλυση
ΑΝΘΕΩΝ	A1	40000 γυρεόκοκκοι εκ των οποίων 12.5%κισσός, 12.5% ερείκη, 12.5% ρίγανη, 12.5% καστανιά, 10.0% φασκόμηλο, 10.0% λυγαριά, 5%quercus, 5% αγριοτρίφυλλο, 5%φλαμούρι, 5% αγριοτρίφυλλο, 5% ζωχός, 10.0% λοιπά μη αναγνωρισμένα, 40000 μελιτώματα
	A2	37000 γυρεόκοκκοι εκ των οποίων 54.1%compositae (βαμβάκι και ηλίανθος), 10.8% τριφύλλι, 8.1%λυγαριά, 5.6% ψευδοακακία, 5.6% παλιούρι, 2.7% κισσός, 13.5% λοιπά μη αναγνωρισμένα
	A3	68000 γυρεόκοκκοι εκ των οποίων 50% κισσός, 25% ψευδοακακία, 6.3% βίκος, 3.8% κενταύριο, 3.8% ρίγανη, 3.8% λαδανιά, 1.3% πολύκομπος, 6.3% λοιπά αδιευκρίνιστα
	A4	25000 γυρεόκοκκοι εκ των οποίων 24.0%ερείκη, 24.0% κισσός, 16.0%compositae (ηλίανθος, βαμβάκι), 8% πολύκομπος, 8% τριφύλλι, 8% φασκόμηλο, 4% λοιπά μη αναγνωρισμένα, 20000 μελιτώματα
ΓΚΙΟΥΛΜΠΕΡΙ	Γ1	23000 γυρεόκοκκοι εκ των οποίων 17.4% ερείκη,17.4% ρίγανη, 17.4% αγριο τριαντάφυλλο, 17.4% ευκάλυπτος, 8.7% τσάι, 8.7% θρούμπι, 13% λοιπά μη ταυτοποιημένα
	Γ2	50000 γυρεόκοκκοι εκ των οποίων 28% καστανιά, 20% ρίγανη, 20% brassicaceae, 14.0% ερείκη, 10.0% τσάι, 6.0% αγριο τριαντάφυλλο,2.0% άγριοτρίφυλλοι, 0% λοιπά μη ταυτοποιημένα
ΕΡΕΙΚΗΣ	P1	47000 γυρεόκοκκοι εκ των οποίων 46.8%ερείκη, 17.0% κισσός, 8.5% Lamiaceae πλην ρίγανης, 4.3% ρίγανη, 4.3% ακακία, 2.1% πορτοκάλι, 17% λοιπά μη αναγνωρισμένα
	P2	50000 γυρεόκοκκοι εκ των οποίων 84.0%ερείκη, 8.0% κισσός,2.0% φλαμούρι, 2.0% ρίγανη, 2.0% ασφάκα, 2% λοιπά μη αναγνωρισμένα
	P3	30000 γυρεόκοκκοι εκ των οποίων 50.0%ερείκη, 13.3% ρίγανη, 13.3% πολύκομπος,10 0% παλιούρι, 6.7% βίκος, 3.3% ψευδοακακία, 3.3% καστανιά, 0% λοιπά μη αναγνωρισμένα
ΘΥΜΑΡΙ	Θ1	28000 γυρεόκοκκοι εκ των οποίων 32.1%θυμάρι, 17.9% ευκάλυπτος, 17.9%βίκος, 3.6% πολύκομπος, 3.6% αγριοτρίφυλλο, 3.6% prunus, 3.6% ρίγανη, 3.6% αγριοβαμβακία, 10.7% λοιπά μη αναγνωρισμένα
	Θ2	30000 γυρεόκοκκοι εκ των οποίων 66.7%θυμάρι, 6.7% ρίγανη, 6.7%πολύκομπος, 3.3% ψευδοακακία, 3.3% βίκος, 3.3% λαδανιά, 10.0% λοιπά μη αναγνωρισμένα
	Θ3	70000 γυρεόκοκκοι εκ των οποίων 24.3%θυμάρι, 24.3% ευκάλυπτος, 11.4%ρίγανη, 7.1% γαιδουράγκαθος, 7.1% βίκος, 4.3% αγριοτρίφυλλο, 21.4% λοιπά μη αναγνωρισμένα, 7000 μελιτώματα
	Θ4	45000 γυρεόκοκκοι εκ των οποίων 38.5% θυμάρι, 15,4% μέντα, 11.5% φασκόμηλο, 7.7% ρίγανη, 3.8% ευκάλυπτος, 3.8% brassicaceae, 3.8% λαδανιά, 3.8% καστανιά, 2.3% πολύκομπος, 2.3% κουτσουπιά, 2.3% ζωχός, 2.3 % ερείκη

Είδος	Δείγμα	Γυρεοσκοπική ανάλυση
ΚΙΣΣΟΥΡΙ	ΚΣ1	20000 γυρεόκοκκοι εκ των οποίων 75% ερείκη, 10% ρίγανη, 10% αγριοτρίφυλλο, 5% λουπά μη ταυτοποιημένα
	ΚΣ2	25000 γυρεόκοκκοι εκ των οποίων 72.0% ερείκη, 8% ρίγανη, 4% ευκάλυπτος, 4% καστανιά, 4% αγριοβαμβάκια, 4% λαδανιά, 4% λουπά μη ταυτοποιημένα
	ΚΣ3	50000 γυρεόκοκκοι εκ των οποίων 40.0% ερείκη, 8% ρίγανη, 8% παλιούρι, 8% καστανιά, 4% brassicaceae, 4% prunus, 28.0% λουπά μη ταυτοποιημένα
ΑΝΘΕΩΝ-ΚΟΥΜΑΡΟ	Κ1	36000 γυρεόκοκκοι εκ των οποίων 33.3% κουμαριά, 11.1% ρίγανη, 11.1% καστανιά, 5.6% φλαμούρι, 5.6% παλιούρι, 5.6% μέντα, 5.6% φασκόμηλο, 22.2% λουπά μη αναγνωρισμένα
	Κ2	46000 γυρεόκοκκοι εκ των οποίων 34.8% κουμαριά, 17.4% κισσός, 13.0% καστανιά, 8.7% prunus, 6.5% rubus, 4.3% βίκος, 2.2% compositae, 2.2% αγριοτρίφυλλο, 10.9% λουπά μη αναγνωρισμένα, 5000 μελιτώματα
	Κ3	40000 γυρεόκοκκοι εκ των οποίων 32.5% κουμαριά, 32.5% κισσός, 17.5% ρίγανη, 5.0% πολύκομπος, 5% compositae, 2.5% λαδανιά, 5.0% λουπά μη αναγνωρισμένα, 8000 μελιτώματα
ΔΑΣΟΥΣ	Δ1	66000 γυρεόκοκκοι εκ των οποίων 27.3% κισσός, 12.1% φασκόμηλο, 12.1% ερείκη, 12.1% αγριοτρίφυλλο, 6.1% φλαμούρι, 6.1% ρίγανη, 4.5% Ασφάκα, 1.5% λεβάντα, 1.5% quercus, 16.7% λουπά μη αναγνωρισμένα, 60000 μελιτώματα
	Δ2	29000 γυρεόκοκκοι εκ των οποίων 44.8% κισσός, 34.5% βίκος, 10.3% φασκόμηλο, 3.4% ερείκη, 6.9% λουπά μη αναγνωρισμένα, 58000 μελιτώματα
	Δ3	46000 γυρεόκοκκοι εκ των οποίων 54.3% κισσός, 21.7% βίκος, 2.2% ψευδοακακία, 2.2% πολύκομπος, 2.2% λαδανιά, 2.2% brassicaceae, 15.2% λουπά μη αναγνωρισμένα, 30000 μελιτώματα
	Δ4	20000 γυρεόκοκκοι εκ των οποίων 35.0% κισσός, 35.0% φασκόμηλο, 15% ερείκη, 5% μέντα, 5% ζωχός, 5% λουπά μη αναγνωρισμένα, 100000 μελιτώματα πεύκου
ΒΕΛΑΝΙΔΙΑ	Β1	50000 γυρεόκοκκοι εκ των οποίων 50% compositae, 20.0% Lamiaceae, 15% quercus, 5.0% ρίγανη, 10.0% λουπά μη ταυτοποιημένα. 100000 μελιτώματα βελανιδιάς
	Β2	40000 γυρεόκοκκοι εκ των οποίων 27.5% ρίγανη, 12.5% μέντα, 12.5% φασκόμηλο, 12.5% φλαμούρι, 12.5% ερείκη, 5.0% βίκος, 5% quercus, 5% αγριοτρίφυλλο, 7.5% λουπά μη ταυτοποιημένα, 86000 μελιτώματα βελανιδιάς

Είδος	Δείγμα	Γυρεοσκοπική ανάλυση
	B3	56000 γυρεόκοκκοι εκ των οποίων 39.3%καστανιά, 10.7% βίκος, 10.7% φασκόμηλο,10.7% κισσός, 3.6% φλαμούρι, 3.6% ρίγανη, 3.6% παλιούρι, 1.8%quercus, 14.3% λοιπά μη ταυτοποιημένα.91000 μελιτώματα βελανιδιάς
	B4	60000 γυρεόκοκκοι εκ των οποίων 16.7%ρίγανη, 13.3% μέντα,8.3% ευκάλυπτος, 8.3% κισσός, 6.7% λοιπά Lamiaceae, 3.3% λαδανιά, 3.3% compositae, 3.3% quercus, 3.3% brassicaceae, 1.7% ερείκη, 31.7% λοιπά μη ταυτοποιημένα, 110000 μελιτώματα βελανιδιάς
	B5	66000 γυρεόκοκκοι εκ των οποίων 86.4%καστανιά, 1.5% ρίγανη, 1.5% φασκόμηλο,1.5% φλαμούρι, 1.5% κισσός, 1.5% αγριοτρίφυλλο, 1.5% μέντα, 1.5%βίκος, 1.5%quercus, 1.5% λοιπά μη ταυτοποιημένα.110000 μελιτώματα βελανιδιάς
ΕΛΑΤΟ	E1	35000 γυρεόκοκκοι εκ των οποίων 14.3%μέντα, 14.3% ρίγανη, 8.6% φασκόμηλο, 8.6% φλαμούρι, 8.6% ερείκη, 8.6% αγριοτρίφυλλο, 5.7% brassicaceae, 5.7%λαδανιά, 2.9%quercus, 22.9% λοιπά μη ταυτοποιημένα. 70000 μελιτώματα ελάτης
	E2	48000 γυρεόκοκκοι εκ των οποίων 16.7% μέντα, 16.7% ρίγανη, 16.7% φασκόμηλο, 8.3%ερείκη, 8.3% φλαμούρι, 8.3%τσάι, 6.3% κισσός, 4.2% αγριοτρίφυλλο, 4.2% κουμαριά, 10.4% λοιπά μη αναγνωρισμένα, 108000 μελιτώματα ελάτης
	E3	66000 γυρεόκοκκοι εκ των οποίων 25.0%μέντα, 20.0% φασκόμηλο, 20.0% υπόλοιπα Lamiaceae (πλήν ρίγανης, φασκόμηλου και μέντας),10% ρίγανη, 7.5% αγριοτρίφυλλο, 5.0%quercus, 2.5% πολύκομπος, 2.5 φλαμούρι, 7.5% λοιπά μη ταυτοποιημένα, 90000 μελιτώματα ελάτης
	E4	60000 γυρεόκοκκοι εκ των οποίων 16.7% παλιούρι, 8.3% ρίγανη, 8.3% φασκόμηλο, 8.3%μέντα, 6.7% κισσός, 3.3% αγριοτρίφυλλο, 3.3% brassicaceae, 3.3% quercus, 3.3% ερείκη, 3.3% φλαμούρι, 35% λοιπά μη αναγνωρισμένα, 120000 μελιτώματα ελάτης
ΕΛΑΤΟ-BANILIA	EB1	40000 γυρεόκοκκοι εκ των οποίων 50% καστανιά, 12.5% φλαμούρι, 7.5% ρίγανη, 7.5% φασκόμηλο, 5% κουτσουπιά, 2.5%λαδανιά, 2.5% quercus, 2.5% αγριοτρίφυλλο,α, 10% λοιπά μη ταυτοποιημένα, 120000 μελιτώματα ελάτης
	EB2	80000 γυρεόκοκκοι εκ των οποίων 62.5%καστανιά, 8.8% brassicaceae, 6.3%quercus, 6.3% ρίγανη, 2.5% λεβάντα, 2.5% λαδανιά, 2.5% μέντα, 8.8% λοιπά μη ταυτοποιημένα, 130000 μελιτώματα ελάτης
	EB3	23000 γυρεόκοκκοι εκ των οποίων 21.7%κφασκόμηλο, 21.7% μέντα, 8.7% ρίγανη, 8.7% ερείκη, 8.7% compositae, 8.7% quercus, 4.3% Umbeliferae, 17.4% λοιπά μη ταυτοποιημένα, 66000 μελιτώματα ελάτης

Είδος	Δείγμα	Γυρεοσκοπική ανάλυση
	ΕΒ4	59000 γυρεόκοκκοι εκ των οποίων 33.9%καστανιά, 30.5% Brassicaceae, 16.9% κουμαριά, 6.8% πολύκομπος, 1.7%λαδανιά, 1.7% βίκος, 1.7%μέντα, 1.7% φλαμούρι, 3.4% λοιπά μη ταυτοποιημένα, 102000 μελιτώματα ελάτης
ΠΕΥΚΟ	Π1	40000 γυρεόκοκκοι εκ των οποίων 37.5%ερείκη, 37.5% κισσός, 5.0% ρίγανη, 5% σγριοτρίφυλλο. 5% βίκος, 10% λοιπά μη ταυτοποιημένα, 180000 μελιτώματα πεύκο
	Π2	40000 γυρεόκοκκοι εκ των οποίων 40.0%καστανιά, 37.5% κισσός, 2.5% ρίγανη, 2.5% ερείκη, 2.5% λαδανιά, 2.5% brassicaceae, 2.5% παλιούρι, 10% λοιπά μη ταυτοποιημένα, 180000 μελιτώματα πεύκο
	Π3	45000 γυρεόκοκκοι εκ των οποίων 55.6% κισσός, 8.9% ερείκη, 4.4% ρίγανη, 4.4% πολύκομπος, 4.4% λαδανιά, 22.2% λοιπά μη ταυτοποιημένα, 100000 μελιτώματα πεύκο
	Π4	100000 γυρεόκοκκοι εκ των οποίων 65%καστανιά, 10.0% λυγαριά, 5.0% brassicaceae, 5% κισσός. 5% compositae (βαμβάκι, γαιδουράγκαθος), 3% πολύκομπος, 2% ερείκη, 5% λοιπά μη ταυτοποιημένα, 400000 μελιτώματα πεύκο
ΠΕΥΚΟ-ΘΥΜΑΡΟ	ΠΘ1	27000 γυρεόκοκκοι εκ των οποίων 14.8%θυμάρι, 14.8% ασφάκα, 14.8%Liliaceae, 11.1% πολύκομπος, 7.4% ερείκη. 7.4% βίκος, 7.4% ρίγανη, 22.2% λοιπά μη ταυτοποιημένα, 80000 μελιτώματα πεύκου
	ΠΘ2	50000 γυρεόκοκκοι εκ των οποίων 40%θυμάρι, 20% ρίγανη, 10% λοιπά Lamiaceae, 4% γαιδουράγκαθος, 4%λαδανιά, 2% πολύκομπος, 2% αγριοβαμβακιά, 2% ασφάκα, 16% λοιπά μη ταυτοποιημένα