

ΤΕΙ ΚΑΛΑΜΑΤΑΣ
ΤΜΗΜΑ
ΕΚΔΟΣΕΩΝ & ΒΙΒΛΙΟΘΗΚΗΣ

ΤΕΧΝΙΚΕΣ ΑΝΑΛΥΣΗΣ ΕΛΑΙΟΛΑΔΟΥ

ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

ΕΠΙΒΛΕΠΩΝ ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ:
ΣΠΗΛΙΩΠΟΥΛΟΣ Ι.

ΚΟΛΛΙΝΙΑΤΗ ΣΟΦΙΑ ΑΣΠΑΣΙΑ

Α.Μ. 2001-003

ΣΧΟΛΗ ΣΤΕΓ

ΤΜΗΜΑ ΤΕΓΕΠ

ΣΤΕΓ(ΤΕΓΕΠ)
Π.314

ΚΑΛΑΜΑΤΑ 2010

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΕΙΣΑΓΩΓΗ.....	4
----------------------	----------

Κεφάλαιο 1^ο Ελιά και Ελαιόλαδο

<i>1.Ιστορία της ελιάς.....</i>	<i>5</i>
<i>2.Σημασία της ελαιοκαλλιέργειας στην Ελλάδα.....</i>	<i>6</i>
<i>3.Ελαιόλαδο</i>	<i>7</i>
<i>3.1.Σχηματισμός του ελαιολάδου.....</i>	<i>8</i>
<i>4.Προσφορά ελαιολάδου στην υγεία</i>	<i>9</i>

Κεφάλαιο 2^ο Χημική Σύσταση Ελαιολάδου

<i>1.Σαπωνοποιήσιμο κλάσμα.....</i>	<i>12</i>
<i>1.1.Λιπαρά οξέα.....</i>	<i>12</i>
<i>1.2.Τριγλυκερίδια.....</i>	<i>15</i>
<i>1.2.1.Κατανομή των λιπαρών οξέων στα τριγλυκερίδια του ελαιολάδου.....</i>	<i>16</i>
<i>2.Ασαπwnοποιήτο κλάσμα.....</i>	<i>17</i>
<i>2.1.Κυριότερες τάξεις ασαπwnοποιήτων συστατικών του ελαιολάδου.....</i>	<i>17</i>
<i>2.1.1.Υδρογονάνθρακες.....</i>	<i>17</i>
<i>2.1.2.Καροτενοειδή.....</i>	<i>18</i>
<i>2.1.3.Χλωροφύλλες.....</i>	<i>20</i>
<i>2.1.4.Βιταμίνες.....</i>	<i>22</i>
<i>2.1.5.Τοκοφερόλες.....</i>	<i>22</i>
<i>2.1.6.Στερόλες.....</i>	<i>24</i>
<i>2.1.7.Τριτερπενικά οξέα.....</i>	<i>25</i>
<i>2.1.8.Τριτερπενικές αλκοόλες και διόλες</i>	<i>25</i>
<i>2.1.9.Φαινόλες.....</i>	<i>25</i>
<i>2.1.10.Φωσφολιπίδια.....</i>	<i>30</i>
<i>2.1.11.Μη γλυκεριδικοί εστέρες λιπαρών οξέων.....</i>	<i>31</i>

Κεφάλαιο 3^ο Φυσικοχημικές παράμετροι του ελαιολάδου

1.Παράμετροι ποιότητας.....	33
1.1.Ελεύθερη οξύτητα.....	34
1.2.Οξείδωση.....	35
1.2.1.Αριθμός υπεροξειδίων.....	36
1.2.2.Απορρόφηση στο υπεριώδες φάσμα.....	37
1.3.Χρώμα	38
1.4.Οργανοληπτικά χαρακτηριστικά.....	39
1.5.Άλλα φυσικοχημικά χαρακτηριστικά του ελαιολάδου που χρησιμοποιούνται ως κριτήρια ποιότητας.....	40
2.Παράμετροι καθαρότητας	41
3.Παράμετροι Επιμολύνσεων.....	41
4.Παραγοντές που επηρεάζουν την ποιότητα του ελαιολάδου.....	41
5.Κίνδυνοι που απειλούν ελαιόλαδο	43
6.Αλλοιώσεις Ελαιόλαδου.....	44
6.1.Υδρόλυση.....	45
6.2.Οξείδωση.....	45
7.Κατηγορίες ελαιόλαδου.....	46

Κεφάλαιο 4^ο Μέθοδοι χημικής ανάλυσης ελαιόλαδου

1.Προσδιορισμός της οξύτητας.....	53
2.Προσδιορισμός του αριθμού υπεροξειδίων.....	58
3.Προσδιορισμός των περιεχομένων αλειφατικών αλκοολών δια αερίου χρωματογραφίας με τριχοειδή στήλη 1.....	60
4.Προσδιορισμός της σύνθεσης και του περιεχομένου των στερολών δι αερίου χρωματογραφίας με τριχοειδή στήλη.....	69
5.Προσδιορισμός ερυθροδιόλης και ουβαόλης.....	79
6.Προσδιορισμός λιπαρών οξέων στην 2-θέση στα τριγλυκερίδια ελαίων και λιπών.....	82
7.Προσδιορισμός περιεκτικότητας τριγλυκεριδίων.....	89

8.Φασματοφωτομετρική ανάλυση στο υπεριώδες.....	91
9.Ανάλυση μεθυλεστέρων λιπαρών οξέων.....	96
9.1.Μέθοδοι ανάλυσης τριγλυκεριδίων.....	96
9.2.Ανάλυση μεθυλεστέρων λιπαρών οξέων με αέριο χρωματογραφία.....	97
10.Μέθοδοι Υδρόλυσης τριγλυκεριδίων και παρασκευής μεθυλεστέρων λιπαρών οξέων.....	106
11.Προσδιορισμός της ποσότητας του ελαιόλαδου σε αλογονούχους πτητικούς διαλύτες.....	112

Κεφάλαιο 5^ο Οργανοληπτική αξιολόγηση ελαιολάδου

Οργανοληπτική Μέθοδος.....	115
----------------------------	-----

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 6 Παρουσίαση αποτελεσμάτων αναλύσεων

1.Ανάλυση : Προσδιορισμός των ελεύθερων λιπαρών οξέων.....	125
2.Φασματοφωτομετρική ανάλυση στο υπεριώδες.....	127
3.Ανάλυση: Προσδιορισμός εστέρων λιπαρών οξέων.....	128
4.Ανάλυση:Προσδιορισμός στερολών.....	131
5. Ανάλυση: Προσδιορισμός κηρών.....	132
ΠΕΡΙΛΗΨΗ.....	134
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....	135

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η καλλιέργεια της ελιάς και η παραγωγή του ελαιολάδου έχει τις ρίζες της βαθειά μέσα στο χρόνο. Αποτελούσε και αποτελεί ακόμα βασικό είδος στην διατροφή του ανθρώπου, όχι μόνο στις μεσογειακές χώρες όπου συναντάται η κύρια παραγωγή του αλλά και σε όλα τα κοινωνικά στρώματα, παγκοσμίως. Σημαντικό ρόλο στην διάδοση αυτή συνετέλεσε η ιατρικά βεβαιωμένη άποψη για την ποιότητα και την μακροζωία που εξασφαλίζει η Μεσογειακή Διατροφή. Ως αποτέλεσμα όλων των παραπάνω είναι το καλής ποιότητας ελαιόλαδο να γίνει παγκόσμια διατροφική μόδα. Έχουμε πλέον γευσιγνώστες ελαιολάδου, εκδηλώσεις γευσιγνωσίας, κυνηγούς νέων ποικιλιών. Πλέον έχει γίνει σύνθημα η αναζήτηση καλής ποιότητας ελαιολάδου.

Το 1956, ορισμένες από τις ελαιοπαραγωγικές χώρες του κόσμου, υπέγραψαν συμφωνία συνεργασίας για το ελαιόλαδο. Έτσι δημιουργήθηκε το Διεθνές Συμβούλιο Ελαιολάδου (ΔΣΕ). Το ΔΣΕ θεσπίζει νομοθεσίες για τους ορισμούς και τις διακρίσεις των διαφόρων τύπων και κατηγοριών ελαιολάδου. Καθιερώνει ενιαίες μεθόδους ανάλυσης του ελαιολάδου και γενικά τις όποιες δραστηριότητες που σχετίζονται με την προστασία του ελαιολάδου.

Η ποιότητα του ελαιολάδου χαρακτηρίζεται από 27 φυσικοχημικά χαρακτηριστικά, αυτά απαιτεί τουλάχιστον ο κανονισμός R2568 του 1991, με τις μέχρι σήμερα τροποποιήσεις που ενσωματώθηκαν στο νέο κανονισμό R1989 του 2003. Εκτός από τα είδη υπάρχοντα στο ελαιόλαδο φυσικοχημικά χαρακτηριστικά, υπάρχουν και κανονισμοί για την ανάλυση του ελαιολάδου, που έχουν ως σκοπό την αποφυγή νοθείας με άλλα έλαια, τον έλεγχο των υπολειμμάτων των φυτοφαρμάκων κ.α.

Στην Ελλάδα παράγεται πολύς καλής ποιότητας ελαιόλαδο. Εφόσον κατά την διαδικασία παραγωγής του, (ελαιοκαλλιέργεια, συλλογή, αποθήκευση ελαιόκαρπου και εξαγωγή ελαιολάδου) τηρηθούν οι απαραίτητες πρακτικές, το ελαιόλαδο που θα παραλάβουμε από το ελαιουργείο θα είναι άριστης ποιότητας. Στη συνέχεια θα πρέπει να αποθηκευτεί σε κατάλληλα δοχεία και υπό κατάλληλες συνθήκες, ώστε να διατηρήσει την ποιότητα του.

Ο έλεγχος της ποιότητας του ελαιολάδου έχει σημαντικό ρόλο κατά κύριο λόγο για να διασφαλίσει την υγεία του καταναλωτή.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1^ο

ΕΛΙΑ ΚΑΙ ΕΛΑΙΟΛΑΔΟ

1.Η ιστορία της ελιάς

Η ελιά είναι από τα αρχαιότερα καλλιεργούμενα δέντρα στον κόσμο. Η καταγωγή της χάνεται στα βάθη του χρόνου. Οι αρχαιότερες ενδείξεις ύπαρξης της ελιάς στον ελλαδικό χώρο προέρχονται από απολιθώματα φύλλων, στην νήσο Θήρα και Νίσυρο και χρονολογούνται μεταξύ 50.000 και 37.000 χρόνων. (12)

Η σημασία του δέντρου της ελιάς γίνεται αντιληπτή αν αναλογιστεί κανείς ότι τα προϊόντα της, ελαιόλαδο και βρώσιμη ελιά, αποτελούν διαχρονικά, δύο από τα βασικότερα είδη διατροφής του ανθρώπου.

Ανεξάρτητα από την προέλευση και τον τρόπο διάδοσης της ελιάς, είναι γεγονός ότι η καλλιέργεια της, εξαπλώθηκε σε μεγάλη έκταση στην Ευρωπαϊκή ήπειρο και αυτός ίσως είναι ο λόγος της σημερινής ονομασίας «Ελιά η Ευρωπαϊκή».

Από τους προϊστορικούς χρόνους κατέχει κεντρική θέση στους μύθους, την ιστορία, την τέχνη, την ποίηση, την λαϊκή παράδοση, τη θρησκεία και την οικονομία του ελληνικού χώρου. Συνδέθηκε με την ζωή και τον θάνατο. (27)

Τα κλαδιά της έγιναν στεφάνια για να στεφανώσουν τους νικητές των Ολυμπιακών Αγώνων. Το ελαιόλαδο, ήταν βραβείο για τους νικητές των περιφημων Παναθηναϊκών Αγώνων, που γίνονταν προς τιμήν της θεάς Αθηνάς. Πολύτιμο κι αγαπημένο δέντρο των Ελλήνων και των άλλων μεσογειακών λαών, συνδεδεμένο με την αναγέννηση και το φως, εξακολουθεί μέχρι σήμερα να θεωρείται θεϊκό δώρο, σύμβολο ειρήνης, νίκης, φιλίας των λαών και γονιμότητας. (1,4,12)

Το ελαιόλαδο και τα λοιπά προϊόντα ελαιόκαρπου, πέρα από ξεχωριστή γευστική εμπειρία και μια επιπλέον διατροφική επιλογή, αποτελούν πλέον διεθνώς μια αναγνωρισμένη διατροφική πρόταση, με ιδιαίτερα ευεργετικές ιδιότητες. Το (Εξαιρετικό) Παρθένο Ελαιόλαδο, αποτελεί μια πρόταση διατροφής ή όπως έχει χαρακτηριστεί από πολλούς, μια πρόταση Ζωής. (1)

2.Σημασία της ελαιοκαλλιέργειας στην Ελλάδα

Η ελαιοκαλλιέργεια αποτελεί μια από της πιο παραδοσιακές και περισσότερο διαδεδομένες γεωργικές καλλιέργειες στην Ελλάδα. Αποτελεί την πρώτη σε έκταση καλλιέργεια και είναι μια καλλιέργεια η οποία, από την φύση της δεν είναι ιδιαίτερα εντατική. Η καλλιέργεια αυτή έχει πολύ μεγάλη κοινωνική και οικονομική σημασία, αφού αποδίδει εισόδημα σε πολλές αγροτικές οικογένειες, από όλα τα γεωγραφικά διαμερίσματα της χώρας. (1,13)

Στη χώρα μας καλλιεργούνται πάνω από 100 εκατομμύρια ελαιόδεντρα. Η καλλιέργεια της ελιάς είναι διεσπαρμένη σε όλη τη χώρα, παρόλο που η Πελοπόννησος και η Κρήτη κατέχουν πάνω από το 65% της συνολικής παραγωγής.



	0% της γεωργ. γης
	από 0% έως 5%
	από 5% έως 15%
	από 15% έως 50%
	πάνω από 50%

Εικόνα 1: Ο χάρτης απεικονίζει περιοχές Δημοτικών Διαμερισμάτων, στα οποία η καλλιέργεια της ελαιοποιήσιμης ελιάς καλύπτει τα εκ αριστερών ποσοστά γεωργικής γης.

(Εθνική Στατιστική Υπηρεσία Ελλάδος, ΕΣΥΕ)

Πίνακας 1: Η καλλιέργεια της ελιάς στην Ελλάδα. (ΕΣΥΕ)

Συνολική γεωργική γη	38.037 χιλ. στρ.
Έκταση επιτραπέζιας & ελαιοποιήσιμης ελιάς	6.675 χιλ. στρ.
Παραγωγή ελαιοποιήσιμης ελιάς	1.947 χιλ. τόνοι
Ποσοστό κάλυψης γεωργικής γης	17,5%

Η ελαιοκαλλιέργεια απασχολεί πάνω από 500 χιλιάδες αγροτικές οικογένειες και η ετήσια παραγωγή της είναι περίπου 300.000 τόνοι ελαιόλαδο. (20)

Η Ελλάδα κατέχει την τρίτη θέση στην παγκόσμια παραγωγή ελαιόλαδου, καλύπτοντας το 20% περίπου της παραγωγής, ενώ παράλληλα κατέχει την πρώτη θέση στην παγκόσμια παραγωγή Εξαιρετικά Παρθένου ελαιόλαδου, το οποίο φτάνει σε ποσοστό το 80% της συνολικής παραγωγής του. (20,27)

Η μακροχρόνια καλλιέργεια, σε συνδυασμό με την υψηλή ηλιοφάνεια, τις ήπιες κλιματολογικές συνθήκες, τα εξαιρετικά εδάφη και τις ποικιλίες που έχουν προσαρμοσθεί στο ελληνικό έδαφος, συμβάλλουν στην παραγωγή ελαιόλαδου κορυφαίας ποιότητας παγκοσμίως.

Οι Έλληνες βρίσκονται στην πρώτη θέση στον κόσμο σε κατανάλωση ελαιόλαδου ανά άτομο. Κάθε Έλληνας καταναλώνει, κατά μέσο όρο 15 περίπου κιλά ελαιόλαδου το χρόνο. (20)

3.Ελαιόλαδο

Σύμφωνα με το γενικά αποδεκτό ορισμό, το ελαιόλαδο είναι η ελαιούχος φάση του χυμού των ελιών. Λαμβάνεται από τους καρπούς του ελαιόδεντρου (*Olea europaea* L.) με μέσα μηχανικά και επεξεργασία φυσική, δηλαδή με την πολτοποίηση των καρπών και στη συνέχεια την συμπίεση του πολτού, χωρίς την προσθήκη χημικών βελτιωτικών και χωρίς καμία περαιτέρω κατεργασία. Όταν λαμβάνεται από κατάλληλα συστήματα και από καλής ποιότητας νερούς καρπούς, χωρίς ατέλειες και με τον κατάλληλο βαθμό ωρίμανσης, το ελαιόλαδο που παράγεται είναι εξαιρετικής ποιότητας και παρουσιάζει τα καλύτερα οργανοληπτικά και διατροφικά χαρακτηριστικά. (24,36)

Το ελαιόλαδο είναι προϊόν απολύτως φυσικό που μπορεί να καταναλωθεί μόλις ολοκληρωθεί η διαδικασία παραλαβής του. Είναι το μόνο έλαιο που μπορεί να χρησιμοποιηθεί αυτούσιο, διατηρώντας τις βιταμίνες του, τα απαραίτητα λιπαρά οξέα και άλλα φυσικά συστατικά θρεπτικής σπουδαιότητας, στα ανώτατα όρια τους. Τα λιπαρά φυτικής προέλευσης περιέχουν περισσότερα πολυακόρεστα και μονοακόρεστα λιπαρά οξέα και θεωρούνται φιλικά για τον ανθρώπινο οργανισμό και την υγεία, ενώ δεν περιέχουν καθόλου χοληστερίνη.

Μια σωστή και υγιεινή διατροφή περιέχει απαραίτητως στο καθημερινό της πρόγραμμα το ελαιόλαδο. Αφομοιώνεται από τον οργανισμό κατά 98%, ενώ αποδίδει τον ίδιο αριθμό θερμίδων με όλα τα άλλα φυτικά έλαια, που είναι 9,3 θερμίδες για κάθε γραμμάριο του. (18,36)

3.1.Ο σχηματισμός του ελαιολάδου

Υπάρχουν πολλές θεωρίες γύρω από τον τρόπο σχηματισμού του ελαιολάδου. Η επικρατέστερη θεωρεία διατυπώθηκε από τον Hess, το 1975. Ο ίδιος υποστήριξε ότι ο σχηματισμός του ελαιολάδου περιλαμβάνει τρία στάδια.

Αρχικά, σχηματίζονται λιπαρά οξέα, με επανειλημμένες προσθήκες μηλονικού συνενζύμου A, με μόριο ακετυλίου CoA. Κατά την προσθήκη του μορίου του μηλονικού, γίνεται αποκαρβοξυλίωση και έτσι κάθε φορά επιμηκύνεται το μόριο του οξέος μόνο από τα δύο άτομα άνθρακα. Μια ομάδα ενζύμων διευκολύνει τις αντιδράσεις της συμπύκνωσης, της αναγωγής και της αφυδάτωσης, οι οποίες χρειάζονται, για την ολοκλήρωση της σύνθεσης των λιπαρών οξέων του ελαιολάδου. Στη συνέχεια, σχηματίζεται το γλυκερινο-φωσφορικό άλας από το δι-υδροξυ φωσφορικό άλας ακετόνης. Στο τελευταίο στάδιο τα λιπαρά οξέα, ως παράγωγα CoA, μεταφέρονται στις υδροξυλικές ομάδες του φωσφορικού άλατος γλυκερίνης. Ακολουθεί αποφωσφορυλίωση και ολοκλήρωση της εστεροποίησης της γλυκερίνης. (1)

Η ελιά είναι από τα λίγα δέντρα που μπορούν να παράγουν αλκοόλες και ολιγοσακχαρίτες, ως τελικά προϊόντα του μηχανισμού της φωτοσύνθεσης. Τα προϊόντα αυτά, που παράγονται στα φύλλα, μεταφέρονται στη συνέχεια στον καρπό και συμμετέχουν στις διάφορες αντιδράσεις, που οδηγούν στο σχηματισμό του ελαιολάδου. Ο ελαιόκαρπος εξάλλου, διαμέσου των χλωροπλαστών των κυττάρων του, δεσμεύει το CO₂ της ατμόσφαιρας που είναι αναγκαίο για το σχηματισμό του

ελαιολάδου. Ακόμη και μετά την απομάκρυνσή του από το δένδρο, ο ελαιόκαρπος μπορεί σε κάποιο βαθμό να δεσμεύσει CO₂. (1)

Η συγκομιδή στον κατάλληλο χρόνο και στον κανονικό βαθμό ωρίμανσης, βοηθά παρά πολύ στην καλής ποιότητας βρώσιμων ελαιών και ελαιόλαδου. Ειδικότερα, για το ελαιόλαδο, οι παραγωγοί πρέπει να γνωρίζουν ότι η ποιότητα επηρεάζεται από πολλούς παράγοντες.

Από το δέσιμο μέχρι τη συλλογή του ελαιόκαρπου, επιδρούν παράγοντες όπως η ποικιλία, η κατάσταση των δένδρων, το φορτίο του ελαιόκαρπου, οι καιρικές συνθήκες, η προσβολή από δάκο ή ασθένειες. Κατά τη συλλογή και επεξεργασία, η ποιότητα του ελαιολάδου, επηρεάζεται πολύ από τον τρόπο συλλογής και τις συνθήκες μεταφοράς και επεξεργασίας.

Για τις ελιές που χρησιμοποιούνται στην ελαιοπαραγωγή, σημασία έχει η ολοκλήρωση του σχηματισμού του ελαιώδους περιεχομένου. Η εναπόθεση ελαίου στον καρπό αρχίζει στις αρχές Αυγούστου, αυξάνεται το φθινόπωρο και το χειμώνα και φθάνει στο μέγιστο το Δεκέμβρη-Γενάρη. (29)

Στόχος της ελαιοκαλλιέργειας είναι η παραγωγή εξαιρετικού παρθένου ελαιόλαδου, με όλα τα χημικά και οργανοληπτικά χαρακτηριστικά άριστης ποιότητας.

Κατά την συγκομιδή ο καρπός δεν πρέπει να έρχεται σε επαφή με το έδαφος και πρέπει να μεταφέρεται όσο το δυνατό πιο γρήγορα στο ελαιοτριβείο.

4.Προσφορά ελαιόλαδου στην υγεία

Οι μεγάλοι γιατροί της αρχαιότητας (Ιπποκράτης, Γαληνός κτλ.) χωρίς να γνωρίζουν την χημική σύσταση του ελαιολάδου, πίστευαν στην ευεργετική του επίδραση στην υγεία του ανθρώπου. Δεν είναι καθόλου τυχαίο, που η σύγχρονη Ιατρική, Παιδιατρική, Διαιτολογία και Γεροντολογία, ανακαλύπτουν ξανά το ελαιόλαδο. Έρευνες επιστημονικά τεκμηριωμένες αποδεικνύουν την ωφελιμότητα του Παρθένου Ελαιόλαδου και συνιστούν την χρήση του, στην καθημερινή μας διατροφή, μεταξύ των φυτικών ελαίων και κάθε άλλης λιπαρής ουσίας. (3,17)

Το ελαιόλαδο, με την ιδανική χημική του σύσταση και χωρίς εκχυλίσματα και βελτιωτικά, χάρισε για αιώνες, υγεία και μακροζωία στους λαούς της Μεσογείου. Χρησιμοποιείται ως βασική λιπαρή ουσία στην καθημερινή διατροφή από όλες τις

κοινωνικές τάξεις. Η τροφική, θρεπτική και βιολογική για τον ανθρώπινο οργανισμό αξία του είναι πολύ σημαντική. (14,25,27)

Εκτός των λιπαρών ουσιών, το ελαιόλαδο περιέχει μικρές ποσότητες άλλων στοιχείων, στα οποία και οφείλονται οι ευεργετικές του ιδιότητες. Αυτά τα στοιχεία είναι βιταμίνες (Ε) και προβιταμίνες (Α), μέταλλα, όπως και σελήνιο, και μια ολόκληρη, ετερογενής τάξη (πολυ)-φαινολικών κυρίως ουσιών, που ονομάζονται αντιοξειδωτικά. (14)

Το ελαιόλαδο είναι η περισσότερο ανεκτή λιπαρή ουσία για το στομάχι του ανθρώπου, σε σύγκριση πάντα με τις άλλες λιπαρές ουσίες. Παρουσιάζει τον καλύτερο δείκτη πεπτικότητας και απορροφητικότητας από τα εντερικά τοιχώματα. Έτσι βοηθάει στη μείωση των γαστρικών υγρών, εξομαλύνοντας το αίσθημα της δυσπεψίας. Επιπλέον δημιουργεί το αίσθημα του κορεσμού και ευνοεί την πέψη των θρεπτικών συστατικών της τροφής. (14)

Κατά τον Chinagy, το ελαιόλαδο δεν είναι ικανό να εξαφανίσει ή να διαλύσει τους λίθους, ενεργεί ωστόσο υποβοηθητικά στη διαδικασία έκκρισης της χολής. Γι' αυτό συνιστά στους ασθενείς που πάσχουν από χολή, δυσπεψία και στομαχικούς πόνους να λαμβάνουν για 10 μέρες το μήνα, 1-2 κουταλιές αγνού παρθένου ελαιόλαδου αρωματισμένου με μερικές σταγόνες λεμονιού κάθε πρωί. (38)

Το ελαιόλαδο προστατεύει το ανθρώπινο δέρμα από την ηλιακή ακτινοβολία και τα εγκαύματα που αυτή μπορεί να του προκαλέσει. (14)

Σύμφωνα με την πρόσφατη έρευνα του Δρ. Δ. Τριχόπουλου της Σχολής Δημόσιας Υγείας του Πανεπιστημίου του Χάρβαρντ, οι γυναίκες που καταναλώνουν ελαιόλαδο, περισσότερο από μια φορά ημερησίως, έχουν 25% λιγότερες πιθανότητες να παρουσιάσουν καρκίνο του μαστού, έναντι εκείνων που καταναλώνουν σπάνια λάδι ελιάς. Για παράδειγμα, στην περιοχή της Μεσογείου, όπου σημειώνεται μεγάλη κατανάλωση ελαιόλαδου, υπάρχουν χαμηλές συχνότητες αρκετών μορφών καρκίνου όπως του μαστού, των ωοθηκών και του ενδομητρίου. (25,31,38)

Το ελαιόλαδο περιέχει μεγάλο ποσοστό αντιοξειδωτικών ουσιών καθώς και στερολών, που χτίζουν την άμυνα του οργανισμού και τον θωρακίζουν απέναντι σε διάφορες μορφές καρδιοπάθειας και καρκίνου. (18)

Το μοντέλο διατροφής των κατοίκων της Μεσογείου περιλαμβάνει άφθονους υδατάνθρακες, αυξημένες ποσότητες φρούτων και λαχανικών, μικρές ή μέτριες ποσότητες κρέατος και γαλακτοκομικών προϊόντων, αρκετά όσπρια, μέτριες ποσότητες ψαριών και πολύ φυτικό λάδι, το οποίο κατά αποκλειστικότητα είναι

ελαιόλαδο. Κάποιοι ερευνητές πρόσθεσαν και το κόκκινο κρασί, ενώ δεν ήταν λίγοι και εκείνοι που υποστήριζαν ότι σημαντικό ρόλο παίζει το ίδιο το περιβάλλον της Μεσογείου, καθώς και οι πολιτισμικές και φιλοσοφικές πεποιθήσεις που χαρακτηρίζουν τους λαούς της.

Το ελαιόλαδο, το οποίο ουσιαστικά είναι ένα από τα σημαντικότερα μονοακόρεστα λίπη, αυξάνει την "καλή" χοληστερίνη και μειώνει την "κακή", κτιζοντας ένα πολύ ισορροπημένο λιπιδικό σύστημα στο αίμα. Έτσι δρα απαγορευτικά στο σχηματισμό "πλακιδίων" λίπους στα αρτηριακά τοιχώματα, τα οποία εξελίσσονται τελικώς σε θρόμβους και επιφέρουν τα εμφράγματα της στεφανιαίας ή του μυοκαρδίου. (17,18,19,22)

Η διατροφή είναι ένα πολύ σημαντικό θέμα για τα βρέφη και τα παιδιά καθώς βοηθά στην ανάπτυξη του εγκεφάλου και του σκελετού. Ο Laval-Jeantet και οι συνεργάτες του ανακοίνωσαν, το 1980, μια ενδιαφέρουσα μελέτη σχετικά με το ρόλο των λιπιδίων στην ανάπτυξη των οστών του ανθρώπινου οργανισμού, τα οποία εμπλουτίζουν τα οστά με μεταλλικά στοιχεία. (38)

Τα λιπίδια και οι υδατάνθρακες είναι δύο από τις σημαντικότερες θρεπτικές ουσίες, οι οποίες παρέχουν την κύρια χημική ενέργεια που είναι απαραίτητη για κάθε σωματική δραστηριότητα.

Το λάδι της ελιάς σύμφωνα με τις σύγχρονες κλινικές παρατηρήσεις παίζει ένα δυναμικό ρόλο "συντήρησης" του ζαχαρώδη διαβήτη σε χαμηλά επίπεδα, ιδιαίτερα σε μη ινσουλινο-εξαρτώμενο τύπο. (25,39)

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2°

ΧΗΜΙΚΗ ΣΥΣΤΑΣΗ ΕΛΑΙΟΛΑΔΟΥ

Το ελαιόλαδο είναι ένα φυτικό έλαιο που η κύρια διαφορά του, από πλευράς χημικής σύστασης, με τα υπόλοιπα έλαια είναι η υψηλή περιεκτικότητα του σε μονοακόρεστα λιπαρά οξέα. (7)

Το ελαιόλαδο, είναι κυρίως μίγμα τριγλυκεριδίων, δηλαδή τριεστέρων της γλυκερόλης με ανώτερα λιπαρά οξέα, μερικά από τα λιπαρά οξέα είναι ακόρεστα, ενώ άλλα είναι κορεσμένα. Εκτός από τα τριγλυκερίδια, το ελαιόλαδο περιέχει μικρές ποσότητες και από άλλα συστατικά, που προέρχονται από τον ελαιόκαρπο ή σχηματίζονται κατά την παραλαβή του. Τα τριγλυκερίδια είναι υπεύθυνα για την λιπαρή αίσθηση στην αφή και στο στόμα. (1,22,23)

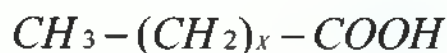
Τα συστατικά του ελαιολάδου διακρίνονται σε σαπωνοποιήσιμα και ασαπωνοποιήτα. Το 98,0-99,5% περίπου των συστατικών του είναι σαπωνοποιήσιμα και το υπόλοιπο μη σαπωνοποιήσιμα. Παρά το γεγονός ότι το μη σαπωνοποιήσιμο κλάσμα είναι ποσοτικά μικρό, τα συστατικά του διαδραματίζουν σημαντικό διατροφικό και βιολογικό ρόλο. (1)

1.Σαπωνοποιήσιμο κλάσμα

Τα κύρια συστατικά του ελαιολάδου είναι τα λιπαρά οξέα και τα τριγλυκερίδια, που αποτελούν το σαπωνοποιήσιμο κλάσμα.

1.1.Λιπαρά οξέα

Η σύσταση του ελαιολάδου, όπως και των άλλων φυτικών ελαίων σε λιπαρά οξέα δεν είναι σταθερή. Εξαρτάται από παράγοντες όπως η ποικιλία της ελιάς, τις εδαφοκλιματολογικές συνθήκες της περιοχής, το βαθμό ωριμότητας του καρπού, το χρόνο και της συνθήκες αποθήκευσης και από διάφορους άλλους. Το ελαιόλαδο έχει κατά μέσο όρο 77% μονοακόρεστα λιπαρά οξέα, 9% πολυακόρεστα λιπαρά οξέα και 14% κορεσμένα λιπαρά οξέα.



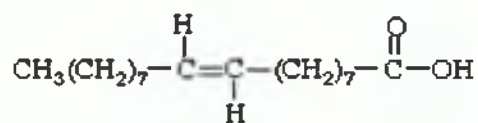
όπου $x=10-18$

Εικόνα 1: Γενικός τύπος λιπαρού οξέος.

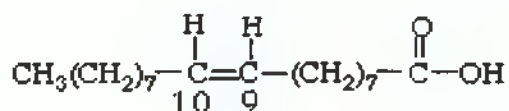
Ο όρος λιπαρό οξύ αναφέρεται σε κάθε αλειφατικό μονοκαρβοξυλικό οξύ το οποίο μπορεί να προκύψει από την υδρόλυση ενός φυσικού λιπαρού σώματος.

Στα λιπαρά οξέα, τα άτομα άνθρακα της υδρογονανθρακικής αλυσίδας ενώνονται με μονούς ή διπλούς δεσμούς. Λιπαρά οξέα με διπλούς δεσμούς στην ανθρακική αλυσίδα, ονομάζονται ακόρεστα λιπαρά οξέα, ενώ αυτά με απλούς δεσμούς, ονομάζονται κορεσμένα. Αν στην ανθρακική αλυσίδα βρίσκεται ένας διπλός δεσμός, όπως στο ελαϊκό οξύ, αυτό το λιπαρό οξύ ονομάζεται μονοακόρεστο. Λιπαρά οξέα με περισσότερο από ένα διπλό δεσμό στην ανθρακική τους αλυσίδα, ονομάζονται πολυακόρεστα. Στο ελαιόλαδο, τα ποσοστά αυτών των ομάδων λιπαρών οξέων κυμαίνονται περίπου στο 5% για τα κορεσμένα, 80% τα μονοακόρεστα, και 15% τα πολυακόρεστα. (34)

Οι διπλοί δεσμοί βρίσκονται με την μορφή δύο ισομερών, ανάλογα με το αν τα άτομα υδρογόνου τα οποία είναι ενωμένα με τα δύο άτομα άνθρακα του διπλού δεσμού, βρίσκονται στην ίδια πλευρά του διπλού δεσμού (*cis* ισομερές), ή εκατέρωθεν του διπλού δεσμού (*trans* ισομερές). Τα λιπαρά οξέα που βρίσκονται στη φύση είναι συνήθως *cis* μορφής. Τα *trans* λιπαρά οξέα δεν είναι κατάλληλα για ανθρώπινη κατανάλωση. Το ελαιόλαδο περιέχει μόνο ίχνη *trans* γεωμετρικών ισομερών λιπαρών οξέων.



Εικόνα 2: Δομή *trans* λιπαρού οξέος.



Εικόνα 3: Δομή *cis* λιπαρού οξέος (ελαϊκό οξύ).

Σήμερα, λόγω των αυξανόμενων στοιχείων ότι τα *trans* λιπαρά οξέα μπορεί να έχουν παρόμοια αποτελέσματα στην ανθρώπινη υγεία με το κορεσμένο λίπος, μερικές χώρες όπως οι ΗΠΑ, έχουν ενσωματώσει στη νομοθεσία της θρεπτικής σήμανσης, την υποχρέωση να δηλωθεί χωριστά το περιεχόμενο των *trans* λιπαρών οξέων στα τρόφιμα. Οι πληροφορίες θα πρέπει να βρίσκονται ακριβώς κάτω από το κορεσμένο λίπος.

Τα λιπαρά οξέα, χαρακτηρίζονται από τον αριθμό των ατόμων άνθρακα στην ανθρακική αλυσίδα και τον αριθμό των διπλών δεσμών. Στην περίπτωση παραδείγματος χάρη του λιπαρού οξέος C18:1, πρόκειται για το λιπαρό οξύ με 18 άτομα άνθρακα και ένα διπλό δεσμό (ελαϊκό οξύ). Το άτομο του άνθρακα που βρίσκεται στο απέναντι άκρο από την καρβοξυλική ομάδα της ανθρακικής αλυσίδας ονομάζεται ω άνθρακας. Η θέση του διπλού δεσμού, μπορεί να χαρακτηριστεί μετρώντας τα άτομα άνθρακα από την ω θέση. Έτσι, ως παράδειγμα, ένα ω-3 λιπαρό οξύ, σημαίνει ότι ο πρώτος διπλός δεσμός στην ανθρακική αλυσίδα βρίσκεται στο τρίτο άτομο άνθρακα από τον ω άνθρακα. (1,7)

Τα σημαντικότερα λιπαρά οξέα του ελαιολάδου είναι τα ακόρεστα. Μεταξύ αυτών, σε μεγαλύτερη αναλογία, απαντά το μονοακόρεστο ελαϊκό (C18:1) σε συγκέντρωση μεταξύ 56-84%. Το δεύτερο σημαντικότερο ακόρεστο λιπαρό οξύ του ελαιολάδου, είναι το λινελαϊκό (C18:2). Άλλα ακόρεστα λιπαρά οξέα που απαντούν στο ελαιολάδο σε μικρές ποσότητες, είναι το λινολενικό (C18:3), το αραχιδονικό (C20:4) και το παλμιτελαϊκό (C16:1). (7)

Από τα κορεσμένα οξέα, σε μεγαλύτερη αναλογία απαντά το παλμιτικό (C16:0) και ακολούθως το στεατικό (C18:0). (1,31)

Η συνύπαρξη του ελαϊκού οξέος με το λινολενικό και το λινολικό δίνει στο ελαιολάδο τη μοναδική του βιολογική αξία. (14)

Αν και η πλειονότητα των λιπαρών οξέων του ελαιολάδου είναι εστεροποιημένα με γλυκερόλη, ένα μικρό μέρος τους σχηματίζει εστέρες και με άλλες αλκοόλες, όπως η μεθανόλη και η αιθανόλη. (1)

Πίνακας 1 :Εκατοστιαία διακύμανση της περιεκτικότητας του ελαιολάδου, σε λιπαρά οξέα. (31)

Μυριστικό (14:0)	Μέγιστο 0,05%	Λινελαϊκό (18:2)	3,5-21,0%
Παλμιτικό (16:0)	7,5-20,0%	Λινολεϊκό (18:3)	Μέγιστο 1,0%
Παλμιτελαϊκό (16:1)	0,3-3,5%	Αραχιδικό (20:0)	Μέγιστο 0,6%
Δεκαεπτανοϊκό (17:0)	Μέγιστο 0,3%	Βεχενικό (22:0)	Μέγιστο 0,2%
Δεκαεπτενοϊκό (17:1)	Μέγιστο 0,3%	Εικοσαενικό (20:1)	Μέγιστο 0,4%
Στεατικό (18:0)	0,5-5,0%	Λιγνοκηρικό (24:0)	Μέγιστο 0,2%
Ελαϊκό (18:1)	55,0-83,0%	α-Λινολενικό (18:3)	0,0-1,5%

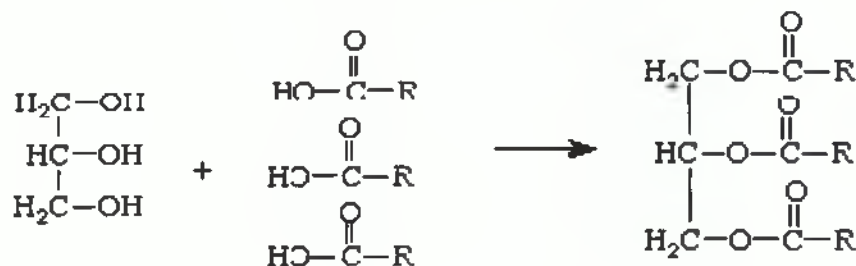
Πίνακας 2: Σύσταση ελαιόλαδου σε λιπαρά οξέα σε διάφορες χώρες της Μεσογείου (% των συνολικών λιπαρών οξέων του ελαιολάδου). (34)

Χώρα παραγωγής	Ελαϊκό οξύ	Παλμιτικό οξύ	Λινελαϊκό οξύ	Στεατικό οξύ
Ελλάδα	57,6-93,5	7,5-16,0	1,6-23,6	1,4-3,8
Ιταλία	64,1-85,0	7,1-17,5	1,0-15,0	0,3-3,4
Ισπανία	65,3-79,6		5,1-19,8	
Τυνησία	55,2-70,6	13,9-21,1	9,5-20,1	1,3-2,5
Πορτογαλία	69,0-86,0		3,0-14,0	

1.2.Τριγλυκερίδια

Συνήθως, τα λιπαρά οξέα του ελαιολάδου εστεροποιούνται με γλυκερίνη, διαμορφώνοντας τα αποκαλούμενα τριγλυκερίδια. Κάθε μόριο γλυκερίνης συνδυάζεται με τρία μόρια λιπαρών οξέων. Λαμβάνοντας υπόψη τον αριθμό των λιπαρών οξέων που είναι παρόντα στο ελαιόλαδο και τον αριθμό των θέσεων στη γλυκερίνη, θα μπορούσαν να σχηματιστούν συνολικά περισσότερα από 70 τριγλυκερίδια, αλλά στην πράξη στο ελαιόλαδο συνήθως βρίσκονται μόνο λίγα διαφορετικά. (34)

Το ελαιόλαδο αποτελείται κατά κύριο λόγο από μίγμα τριγλυκεριδίων λιπαρών οξέων της μορφής της εικόνας 4.



Εικόνα 4: Μορφή μείγματος τριγλυκεριδίων λιπαρών οξέων.

Όπου με R συμβολίζεται η αλκυλική αλυσίδα των λιπαρών οξέων, που ανιχνεύονται κατά κύριο λόγο, στο αγνό παρθένο ελαιόλαδο.

Τα κύρια τριγλυκερίδια του ελαιολάδου είναι αυτά στα οποία απαντά το ελαϊκό οξύ, καθώς αποτελούν 70-80% του βάρους του ελαίου. Επειδή τα τριγλυκερίδια αυτά είναι υγρά σε θερμοκρασία δωματίου, το ελαιόλαδο στο σύνολο του παραμένει σε υγρή κατάσταση στις συνήθεις θερμοκρασίες δωματίου. (1)

1.2.1. Κατανομή των λιπαρών οξέων στα τριγλυκερίδια του ελαιολάδου

Διάφορες θεωρίες έχουν διατυπωθεί μέχρι σήμερα σχετικά με την κατανομή των λιπαρών οξέων στα τριγλυκερίδια των διαφόρων φυτικών και ζωικών λιπαρών υλών. Στην περίπτωση του ελαιολάδου, τα λιπαρά οξέα κατανέμονται σύμφωνα με την θεωρία που ισχύει για τα περισσότερα φυτικά έλαια. Παίρνοντας ως βάση τη θεωρία αυτή είναι δυνατό να υπολογιστεί το είδος και η συγκέντρωση κάθε τριγλυκεριδίου που απαντά σε ένα έλαιο, καθώς και η κατανομή των λιπαρών οξέων στα τριγλυκερίδια του ελαιολάδου. Είναι χαρακτηριστικό ότι τα τριγλυκερίδια που υπερισχύουν είναι η τριελαΐνη (EEE), η παλμιτοδιελαΐνη (ΠΕΕ), η στεατοδιελαΐνη (ΣΕΕ) η παλμιτολινολεϋλοελαΐνη (ΠΕΛ) και η λινολεϋλοδιελαΐνη (ΕΕΛ). Η τριελαΐνη (EEE) αποτελεί το 43,5% του συνόλου των τριγλυκεριδίων. (1)

Το ελληνικό ελαιόλαδο, λόγω καλύτερων συνθηκών ελαιογένεσης, περιέχει περισσότερα τριγλυκερίδια ακόρεστων λιπαρών οξέων (ελαϊκό), τα οποία είναι υγρά και για το λόγο αυτό είναι πιο λεπτόρρευστο, σε αντίθεση με τα ελαιόλαδα άλλων

χωρών που περιέχουν μεγαλύτερα ποσοστά κορεσμένων τριγλυκεριδίων (στερεά) και είναι πιο παχύρρευστα.

2. Ασαπωνοποίητο κλάσμα

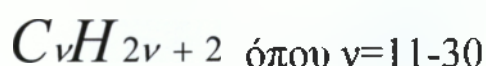
Το ελαιόλαδο, περιέχει σε μικρές ποσότητες μη γλυκεριδικά συστατικά, τα οποία αναφέρονται ως δευτερεύοντα ή ήσσονα συστατικά. Ορισμένα απ' αυτά, αποτελούν το ασαπωνοποίητο κλάσμα του ελαιολάδου.

Η ποσότητα και η σύσταση του κλάσματος των ασαπωνοποιήτων συστατικών του ελαιολάδου εξαρτώνται κατά κύριο λόγο από τον τρόπο με τον οποίο έχει γίνει η παραλαβή του. Ελαιόλαδο το οποίο παραλαμβάνεται με την εφαρμογή της υδραυλικής πίεσης, έχει χαμηλότερη περιεκτικότητα σε ασαπωνοποίητα συστατικά από ελαιόλαδο το οποίο παραλαμβάνεται με εκχύλιση. (1)

2.1. Κυριότερες τάξεις ασαπωνοποιήτων συστατικών του ελαιολάδου

2.1.1. Υδρογονάνθρακες

Στο ελαιόλαδο απαντώνται υδρογονάνθρακες που είναι εν μέρει κορεσμένοι και εν μέρει ακόρεστοι. Αυτοί είναι πιθανότατα παραπροϊόντα της βιοσύνθεσης των λιπαρών οξέων. Τα κ-αλκάνια (παραφίνες) με έντεκα μέχρι τριάντα άτομα άνθρακα ($C_{11}-C_{30}$), καθώς και οι υδρογονάνθρακες με διακλαδισμένη αλυσίδα, αποτελούν επίσης συστατικά του κλάσματος αυτού. Ωστόσο το κύριο συστατικό του κλάσματος των υδρογονανθράκων του ελαιολάδου (40% κατά βάρος) είναι ο τριτερπενικός υδρογονάνθρακας σκουαλένιο ($C_{30}H_{50}$), που αποτελεί πρόδρομη ένωση της βιοσύνθεσης των στερολών. Πρόκειται για έναν πολυακόρεστο υδρογονάνθρακα με τριάντα άτομα άνθρακα. (1,31)



Εικόνα 5: Γενικός τύπος υδρογονανθράκων.

Η περιεκτικότητα του ελαιολάδου σε σκουαλένιο κυμαίνεται από 250-925mg/100g. Ο προσδιορισμός του σκουαλένιου στο ελαιόλαδο μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την εξακρίβωση πιθανής νοθείας του με άλλα έλαια.

Το ελαιόλαδο περιέχει επίσης και αρωματικούς υδρογονάνθρακες όπως το ναφθαλένιο και τα παράγωγα του. Τέλος στο ελαιόλαδο έχουν ταυτοποιηθεί και πολυκυκλικοί αρωματικοί υδρογονάνθρακες, όπως το πυρένιο, το φλουορανθένιο, το χρυσένιο, το 1,2-βενζανθρακένιο, κ.α. οι υδρογονάνθρακες αυτοί δεν είναι ωστόσο φυσικά συστατικά του ελαιολάδου, αλλά προσμίξεις που η παρουσία τους οφείλεται στην ρύπανση του περιβάλλοντος. (1,31)

Οι υδατάνθρακες συμβάλουν αντιοξειδωτικά στο ελαιόλαδο και έχει αποδειχθεί ότι το κλάσμα αυτών σε άλλα λάδια αυξάνει την αντιοξειδωτική αντοχή των τελευταίων.

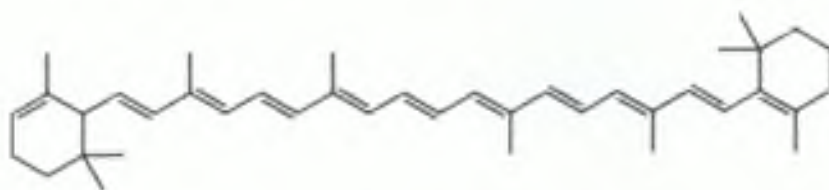
Πίνακας 3: Σύσταση του ολικού μη εστεροποιημένου μέρους του παρθένου ελαιολάδου.

Συστατικό	Συγκέντρωση επί τοις εκατό (%) κατά βάρος.
Σκουαλένιο και άλλοι υδρογονάνθρακες	30-50
Στερόλες	15
Τοκοφερόλες και καροτενοειδή	25-45

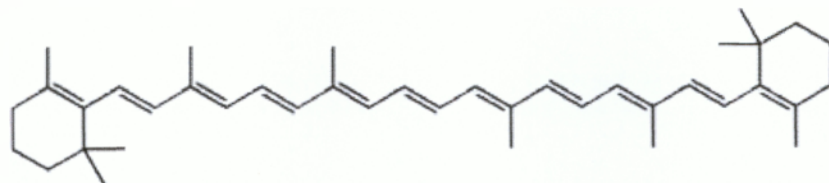
2.1.2.Καροτενοειδή

Στο ελαιόλαδο απαντούν διάφορα καροτενοειδή στα οποία αποδίδεται η κίτρινη απόχρωση του. Η ξανθοφύλλη που είναι το υδροξυλιωμένο α καροτένιο, καλύπτει το μεγαλύτερο ποσοστό των καροτενοειδών χρωστικών. Ακολουθούν τα καροτένια και σε ελάχιστες ποσότητες το λυκοπένιο.

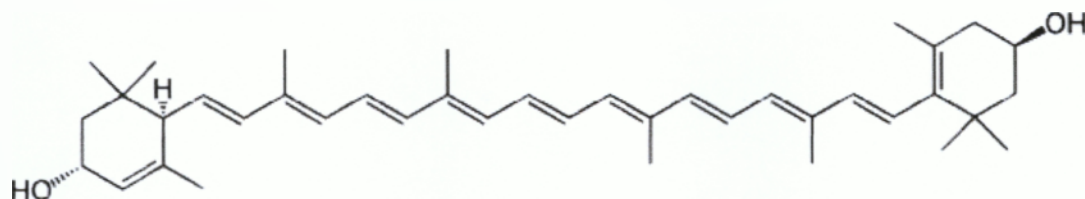
Η λουτεΐνη ($C_{40}H_{56}O_2$) ανήκει στις ξανθοφύλλες και είναι το κύριο καροτενοειδές του ελαιολάδου. Άλλα σημαντικά καροτενοειδή είναι τα καροτένια (α-, β- και γ-καροτένιο), ακόρεστοι υδρογονάνθρακες που έχουν μοριακό τύπο $C_{40}H_{56}$. Το επικρατέστερο από αυτά είναι το β-καροτένιο που αποτελεί το 85% του συνόλου των καροτενίων και ακολουθεί το α-καροτένιο (15%), ενώ το γ-καροτένιο απαντά σε ίχνη. (1,31)



Σχήμα 1: Μοριακή Δομή α-καροτενίου.



Σχήμα 2: Μοριακή Δομή β-καροτενίου.



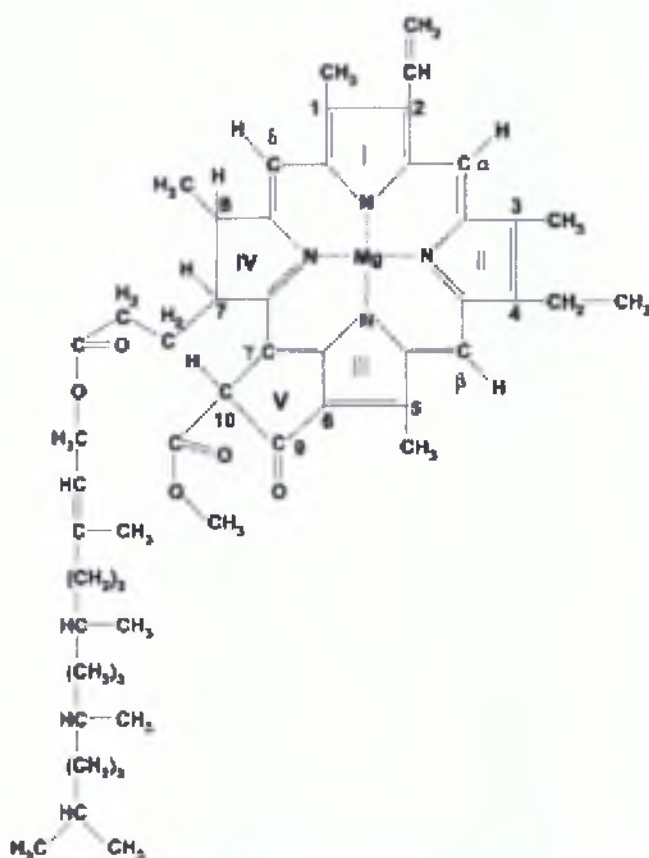
Σχήμα 3: Μοριακή Δομή Λουτεΐνης.

Το 1987 ο Strancker και οι συνεργάτες του, προσδιόρισαν πολικά και μη πολικά καροτενοειδή στο ελαιόλαδο. Η λουτεΐνη και το β-καροτένιο βρέθηκαν σε συγκεντρώσεις που ποικίλουν ανάλογα με την κατηγορία του ελαιολάδου και τον τρόπο επεξεργασίας του. Οι ξανθοφύλλες, βιολαξανθίνη και νεοξανθίνη απαντούν επίσης στο ελαιόλαδο. Τα επίπεδα των καροτενοειδών στο παρθένο ελαιόλαδο είναι υψηλά, ενώ στο πυρηνέλαιο αρκετά χαμηλότερα, γιατί καταστρέφονται κατά την διαδικασία της παραγωγής και της χημικής επεξεργασίας του πυρηνελαίου. Οι συγκεντρώσεις της λουτεΐνης και του β-καροτενίου στα ελαιόλαδα ποικίλουν, ανάλογα με την ποιότητα του ελαιολάδου, από 0,153-0,444mg/100g και από 0.085-0.496mg/100g αντίστοιχα. (1)

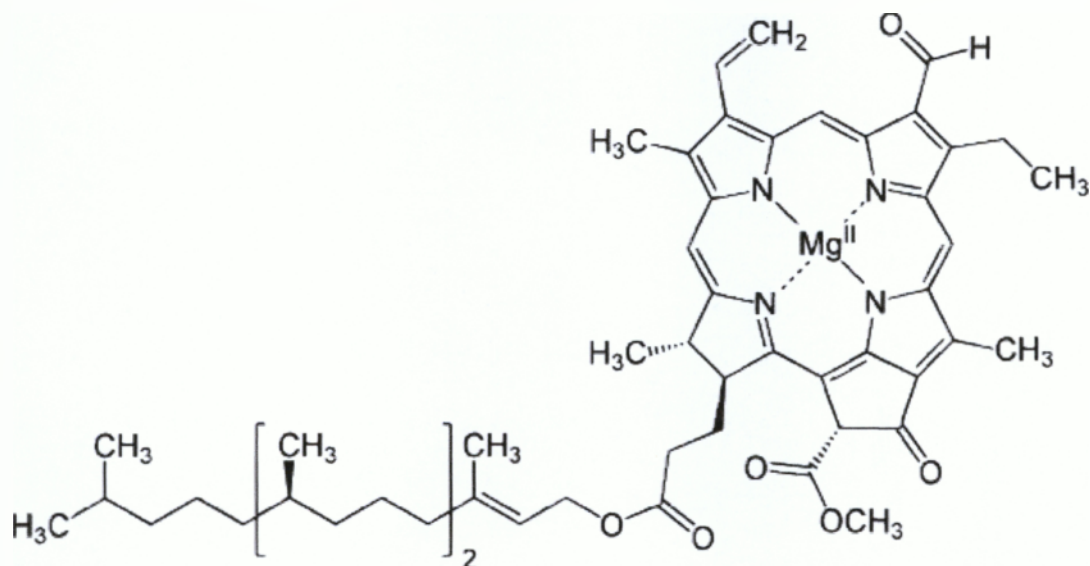
2.1.3.Χλωροφύλλες

Στο ελαιόλαδο απαντούν κι άλλες χρωστικές, όπως η χλωροφύλλη α και β. Η χλωροφύλλη β διαφέρει από την α στο ότι έχει αλδεϋδική ομάδα (CHO) αντί μεθύλιο (CH_3) στο τρίτο άτομο άνθρακα.

Η χλωροφύλλη α έχει κυανοπράσινο χρώμα, ενώ η χλωροφύλλη β είναι κιτρινοπράσινη και είναι αυτές που δίνουν το χαρακτηριστικό πράσινο χρώμα στο ελαιόλαδο. Ωστόσο, αποτελούν και παράγοντα στον οποίο οφείλεται η υποβάθμιση της ποιότητας του όταν αυτό έλθει σε επαφή με το φως. Οι χρωστικές αυτές αποικοδομούνται εύκολα και μετατρέπονται στις αντίστοιχες φαιοφυτίνες. (31)



Σχήμα 4: Δομή της Χλωροφύλλης α.



Σχήμα 5: Δομή της Χλωροφύλλης β.

Τα προϊόντα διάσπασης της φαιοφυτίνης -α μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως δείκτες σταθερότητας ενός ελαιόλαδου στην οξείδωση.

Η χλωροφύλλη με την επίδραση οξέων μετατρέπεται εύκολα σε φαιοφυτίνη και μαγνήσιο. Η ποσότητα της στο ελαιόλαδο εξαρτάται από:

- την ποικιλία του καρπού
- το έδαφος
- τις κλιματολογικές συνθήκες
- το στάδιο ωριμότητας του καρπού και
- τον τρόπο επεξεργασίας.

Η συνολική συγκέντρωση των χλωροφυλλών στα φρέσκα παρθένα ελαιόλαδα κυμαίνεται από 1 μέχρι 10mg/kg, ενώ των φαιοφυτινών από 0,2 μέχρι 24mg/kg. Με την πρόοδο της ωρίμασης του ελαιόκαρπου καθώς και με το χρόνο αποθήκευσης του ελαιόλαδου μειώνεται η περιεκτικότητα του σε χλωροφύλλες.

Το φως καταστρέφει τις χρωστικές αυτές. Οι χλωροφύλλες και οι φαιοφυτίνες επιταχύνουν την οξείδωση των πλούσιων σε ακόρεστα λιπαρά οξέα ελαίων και ειδικότερα του ελαιόλαδου, παρουσία φωτός, επειδή δρουν ως φώτο-ευαισθητοποιητές και ευνοούν το σχηματισμό οξυγόνου απλής κατάστασης, ενώ στο σκοτάδι παρουσιάζουν αντιοξειδωτική δράση. (1)

2.1.4.Βιταμίνες

Οι βιταμίνες είναι ουσίες απαραίτητες, σε μικρές ποσότητες, για την ομαλή λειτουργία και ανάπτυξη του οργανισμού. Η ανεπαρκής παρουσία των βιταμινών στον οργανισμό προκαλεί ορισμένες ασθένειες, που είναι γνωστές ως αβιταμινώσεις.

Η βιταμίνη Ε απαντά στο ελαιόλαδο, όπως και σε όλες σχεδόν τις φυτικές λιπαρές ύλες. Τα 100 γραμμάρια ελαιόλαδου περιέχουν 19 χιλιόγραμμα βιταμίνης Ε. Αποτελεί σημαντικό βιολογικό αντιοξειδωτικό εμποδίζοντας σειρά οξειδώσεων στον οργανισμό. Η περιεκτικότητα σε βιταμίνη Ε στο ελαιόλαδο εξαρτάται από διάφορους παράγοντες, όπως η ποικιλία της ελιάς, την παρουσία προ/αντιοξειδωτικών και τις συνθήκες αποθήκευσης του ελαιολάδου. (25)

Στο ελαιόλαδο απαντά επίσης και η προβιταμίνη Α (β-καροτένιο) καθώς και οι βιταμίνες D, Β και C. (1)

Η βιταμινική αξία του ελαιολάδου οφείλεται στην βιταμίνη Α και Ε. (Καραγκελής Γ.)

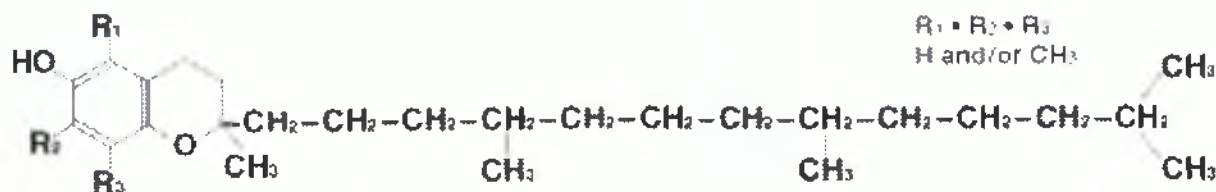
2.1.5.Τοκοφερόλες

Οι τοκοφερόλες είναι ετεροκυκλικές ενώσεις μεγάλου μοριακού βάρους. Οι διάφορες ομόλογες τοκοφερόλες διαφέρουν μεταξύ τους ως προς τον αριθμό των μεθυλικών ομάδων που έχουν στο μόριο τους ή την θέση στη οποία βρίσκονται οι ομάδες αυτές.

Από τις επί μέρους ομόλογες τοκοφερόλες οι οποίες έχουν βρεθεί στο ελαιόλαδο η α-τοκοφερόλη αποτελεί την κύρια και καλύπτει 88,5% του συνόλου. Η β- μαζί με την γ- αποτελούν το 9,9% και η δ- το 1,6% του συνόλου των τοκοφερολών. (31)

Η συνολική συγκέντρωση των τοκοφερολών στο ελαιόλαδο ποικίλει. Η περιεκτικότητα του ελαιόλαδου σε α-τοκοφερόλη κυμαίνεται από 12-150 mg/kg. Η διακύμανση η οποία παρατηρείται στη συγκέντρωση των επί μέρους τοκοφερολών του ελαιολάδου εξηγείται από την βαθμιαία καταστροφή τους.

Όλες οι τοκοφερόλες αποτελούν φυσικά αντιοξειδωτικά των ελαίων καθώς παρουσιάζουν αντιοξειδωτική δράση, η οποία αυξάνεται από την α- προς την δ-. Η σταθερότητα μάλιστα του ελαιολάδου στην οξείδωση οφείλεται και στην παρουσία των τοκοφερολών οι οποίες οξειδώνονται εύκολα. Εκτός από την οξειδωτική δράση, οι τοκοφερόλες παρουσιάζουν και βιταμινική δράση η οποία αυξάνεται αντίθετα με την αντιοξειδωτική τους ικανότητα, δηλαδή από την δ- προς την α-.



Ομόλογες	R1	R2	R3
Α-τοκοφερόλη	CH ₃	CH ₃	CH ₃
Β-τοκοφερόλη	CH ₃	H	CH ₃
Γ-τοκοφερόλη	H	CH ₃	CH ₃
Δ-τοκοφερόλη	H	H	CH ₃

Σχήμα 6. Δομή Τοκοφερολών.

Ο προσδιορισμός της συγκέντρωσης των τοκοφερολών στο ελαιόλαδο, είναι χρήσιμος και υπό προϋποθέσεις μπορεί να βοηθήσει στην ανίχνευση νοθείας του με άλλα φυτικά έλαια. (1)

Κατά τον εξευγενισμό του ελαιολάδου παρατηρείται απώλεια ως και 50% στα επίπεδα της α-τοκοφερόλης. Ο εξευγενισμός είναι μια επεξεργασία που πραγματοποιείται σε ελαιόλαδα κατώτερης ποιότητας, τα οποία έχουν δυσάρεστη οσμή και γεύση, επειδή περιέχουν ελεύθερα λιπαρά οξέα. Χάρη στον εξευγενισμό (ραφινάρισμα), ο οποίος μπορεί να πραγματοποιηθεί με φυσικές ή χημικές μεθόδους, τα ελαιόλαδα αποκτούν χαρακτηριστικά και γεύση παρόμοια με του καθαρού λαδιού. Εάν στο ελαιόλαδο, εκτός από τα ελεύθερα λιπαρά οξέα, υπάρχουν και ακαθαρσίες (ρητινώδεις ουσίες, πρωτεΐνες ή υπολείμματα φυτικών ιστών) για τον εξευγενισμό απαιτείται μετάγγιση, πλύσιμο, διύλιση και αφαίρεση με διαλύτες και διαδοχικές διηθήσεις της ελαιώδους διάλυσης με επανάκτηση του διαλύτη. Το θειούχο ελαιόλαδο, εκχύλισμα με τον θειούχο άνθρακα, είναι πράσινο και έχει δυσάρεστη οσμή. Γι' αυτό χρησιμοποιείται στην παρασκευή πράσινου σαπουνιού ή, αν δεν έχει πολύ μεγάλη οξύτητα, εξευγενίζεται και χρησιμοποιείται ως εδώδιμο. (41)

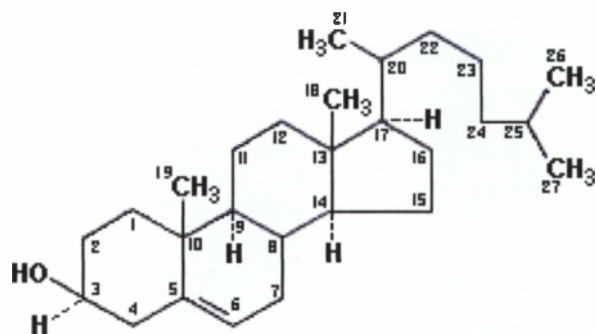
2.1.6. Στερόλες

Οι στερόλες είναι κυκλικές αλκοόλες μεγάλου μοριακού βάρους. Βρίσκονται σε όλες τις φυσιικές λιπαρές ύλες είτε ελεύθερες είτε δεσμευμένες με την μορφή εστέρων με λιπαρά οξέα.

Είναι διαλυτές στα λίπη, στα έλαια και στους μη πολικούς διαλύτες και αδιάλυτες στο νερό. Αποτελούν την κύρια τάξη των ασαπωνοποιήτων συστατικών των λιπαρών υλών, όταν δεν είναι δεσμευμένες. (1)

Τα κύρια συστατικά του στερολικού κλάσματος είναι η χοληστερόλη, η καμπεστερόλη, η στιγμαστερόλη, η β-σιτοστερόλη, βρασικαστερόλη και δ-7 στιγμαστερόλη.

Η χοληστερόλη, γνωστή κοινώς ως χοληστερίνη, απαντά σε όλα τα ζωικά κύτταρα, όπου διαδραματίζει σημαντικό βιολογικό ρόλο. Αποτελεί πρόδρομη ένωση της βιταμίνης D και μαζί με τα χολικά οξέα συντελεί στη γαλακτωματοποίηση των λιπαρών οξέων των τροφών, πράγμα που αποτελεί βασική προϋπόθεση για την αφομοίωση τους. (1)



Σχήμα 7: Δομή Χοληστερόλης.

Οι επικρατέστερες φυτοστερόλες είναι η β-σιτοστερόλη, η στιγμαστερόλη και η καμπεστερόλη.

Κατά το χρόνο αποθήκευσης του ελαιολάδου και με την αύξηση της οξείδωσης παρατηρείται μείωση της περιεκτικότητας σε στερόλες. Το περιεχόμενο, αλλά ιδιαίτερα η σύσταση των στερολών, είναι χαρακτηριστική παράμετρος για το ελαιόλαδο και δίνει μια ένδειξη για νοθεία με σπορέλαια. (3)

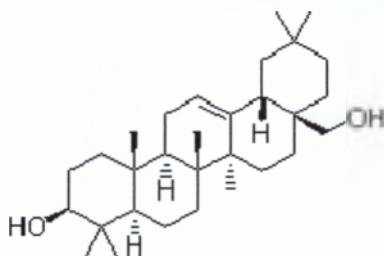
2.1.7. Τριτερπενικά οξέα

Στο ελαιόλαδο έχει βρεθεί και ένα τριτερπενικό οξύ που ανήκει στη σειρά της α-αμυτίνης, το ελεανολικό οξύ. Το οξύ αυτό έχει μάλιστα συσχετισθεί με την οξειδωτική σταθερότητα του ελαιόλαδου. Βρίσκεται σε μεγαλύτερες συγκεντρώσεις στα φύλλα απ' ό,τι στον ελαιόκαρπο, αλλά και στο πυρηνέλαιο απ' ό,τι στο ελαιόλαδο. Το οξύ αυτό προκαλεί πολλές φορές θολότητα στο πυρηνέλαιο. Άλλα τριτερπενικά οξέα που απαντούν σε ίχνη είναι το μασλινικό και το ουρσολικό. (1)

2.1.8. Τριτερπενικές αλκοόλες και διόλες

Βρίσκονται στο παρθένο ελαιόλαδο σε ποσότητες 1000 έως 3000mg/kg. Οι τριτερπινικές αλκοόλες αποτελούνται κυρίως από την ερυθροδιόλη και την ουβαόλη. (3)

Το ποσοστό τους ποικίλει και είναι κατά πολύ μεγαλύτερο στο πυρηνέλαιο. (31)



Σχήμα 8: Μοριακή Δομή Ερυθροδιόλης ($C_{30}H_{50}O_2$).

2.1.9. Φαινόλες

Φαινολικές ενώσεις ή φαινολικά οξέα ή κατ' ευφημισμό “πολυφαινόλες” ονομάζονται οι ενώσεις που αποτελούνται τουλάχιστον από ένα βενζολικό δακτύλιο και ένα ή περισσότερα υδροξύλια συνδέονται με τον δακτύλιο αυτόν. Μπορεί να είναι απλές φαινόλες (βανιλλικό οξύ, γαλλικό οξύ, καφεϊκό οξύ, τυροσόλη), σκεκοειροδοειδή (λιγκστροσιδή κ.α.), πολυμερείς φαινόλες (λιγνάνες) και φλαβονοειδή (απιγενίνη, λουτεολίνη). (25)

Οι απλές φαινόλες είναι άχρωμες στερεές ενώσεις όταν είναι καθαρές, αλλά συνήθως οξειδώνονται και αποκτούν σκούρο χρώμα όταν εκτίθενται στον αέρα. Η ιδιότητα τους να διαλύονται στο νερό αυξάνεται ανάλογα με τον αριθμό των

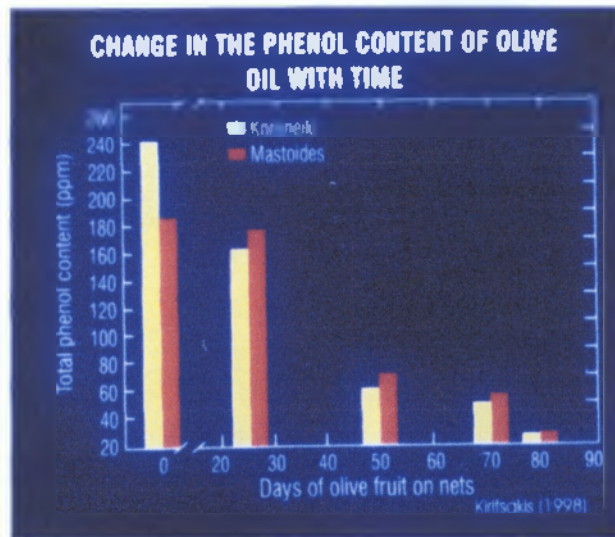
φαινολικών υδροξυλικών ομάδων που έχουν στο μόριο τους, αλλά η διαλυτότητα τους σε πολικούς οργανικούς διαλύτες είναι μεγαλύτερη.

Οι φαινόλες ως πολικές ενώσεις είναι κατά κανόνα υδατοδιαλυτές, ελάχιστα λιποδιαλυτές και παρουσιάζουν έντονη αντιοξειδωτική δράση. Λόγω της αντιοξειδωτικής τους δράσης συμβάλουν στην παρεμπόδιση ή την επιβράδυνση της οξείδωσης των ελαίων. Η εισαγωγή στο μόριο τους δεύτερης ή τρίτης φαινολικής υδροξυλικής ομάδας αυξάνει σε ανάλογο βαθμό με την αντιοξειδωτική δράση. Στο ελαιόλαδο απαντούν φαινολικές ενώσεις οι οποίες προέρχονται από τον ελαιόκαρπο, αλλά σε μικρό βαθμό και από τα φύλλα της ελιάς που πιθανόν να μην έχουν απομακρυνθεί στο αποφυλλωτήριο του ελαιουργείου και αλέθονται με τον καρπό.

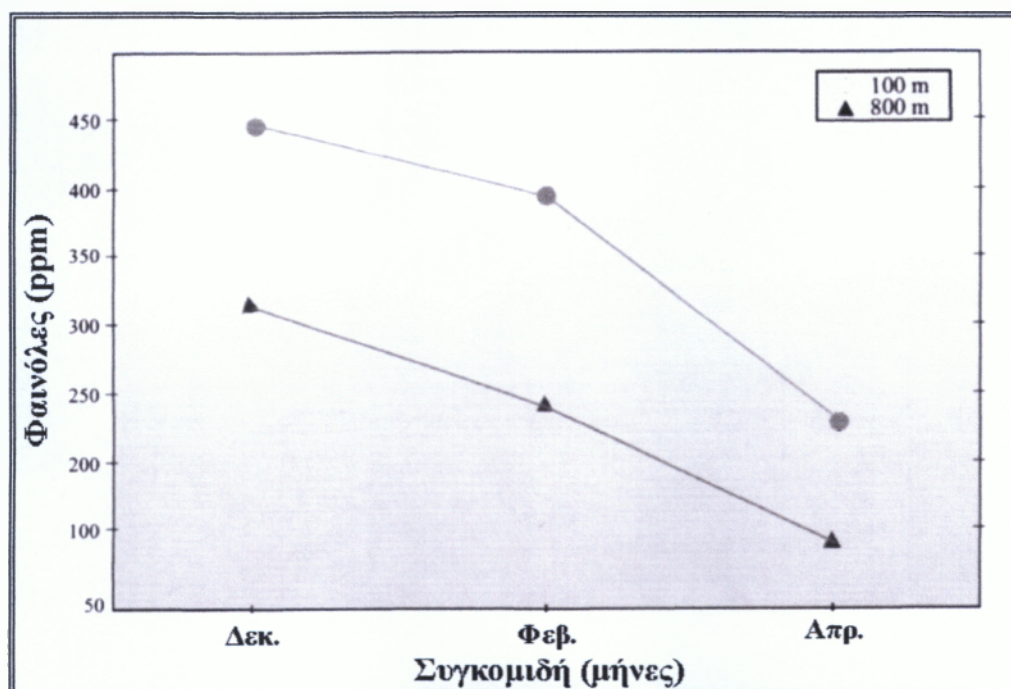
Πολλές φαινολικές ενώσεις με απλή ή πολύπλοκη δομή έχουν εντοπιστεί στον καρπό της ελιάς. Μάλιστα η σάρκα της ελιάς είναι ιδιαίτερα πλούσια σε φαινολικά συστατικά υπολογίσιμες ποσότητες των οποίων έχουν βρεθεί και στο ελαιόλαδο.

Η συγκέντρωση των φαινολικών συστατικών, που απαντούν στο παρθένο ελαιόλαδο, εξαρτάται από:

- την ποικιλία του ελαιόκαρπου
- τις καλλιεργητικές φροντίδες
- τους περιβαλλοντικούς παράγοντες
- το βαθμό ωριμότητας του ελαιοκάρπου
- τις συνθήκες διατήρησης του ελαιόκαρπου πριν από την επεξεργασία στο ελαιουργείο
- τον τύπο του ελαιουργείου και
- τις συνθήκες που εφαρμόζονται στο ελαιουργείο (θερμοκρασία, ποσότητα νερού).



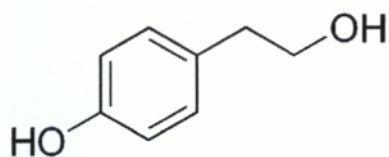
Σχήμα 9: Σχέση περιεκτικότητας φαινόλων στο ελαιόλαδο , με τον χρόνο αποθήκευσης.



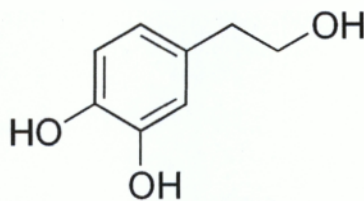
Σχήμα 10: Σχέση περιεκτικότητας ελαιόλαδου σε φαινόλες με τον χρόνο συγκομιδής.

Οι κυριότερες από τις φαινόλες που απαντούν στο ελαιόλαδο σε ελεύθερη και δεσμευμένη μορφή είναι η τυροσόλη και η υδροξυτυροσόλη. Η τελευταία παρουσιάζει αξιόλογη αντιοξειδωτική δράση. Εκτός από τις δύο αυτές φαινολικές ενώσεις στο ελαιόλαδο έχουν ανιχνευθεί και φαινολικά οξέα, όπως το καφεϊκό, το

πρωτοκατεχικό, κα διάφορα άλλα οξέα. Η τυροσόλη απαντά σε ελεύθερη μορφή σχεδόν σε όλα τα ελαιόλαδα.



Σχήμα 11: δομή τυρεσόλης.



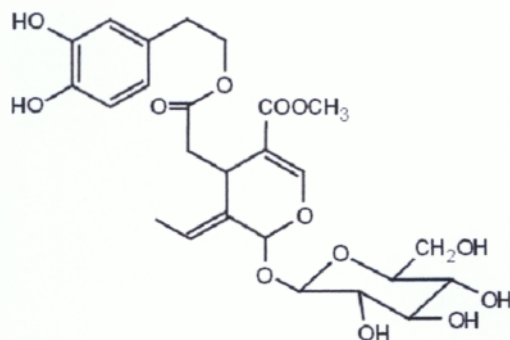
Σχήμα 12: Δομή υδροξυτυρεσόλης.

Τόσο η τυρεσόλη (4-υδροξυ-φαινυλο-αιθανόλη) όσο και η υδροξυτυροσόλη (3,4-διυδροξυ-φαινυλο-αιθανόλη) πιστεύεται ότι προέρχονται από την υδρόλυση διαφόρων σεκοϊριδοειδών, όπως η ελευρωπαΐνη, ενώ τα υδροξυβενζοϊκά και τα υδροξυκιναμικά οξέα (φαινολικά οξέα) από την αποικοδόμηση των φλαβονοειδών (ανθοκυάνες φλαβόνες), οι οποίες απαντούν σε σημαντικές συγκεντρώσεις ιδίως στον ώριμο ελαιόκαρπο. (1)

Τα κύρια συστατικά του φαινολικού κλάσματος του παρθένου ελαιόλαδου είναι η υδροξυ-τυρεσόλη (3,4DHPEA), η τυροσόλη (HPEA) και τα παράγωγα τους με την αλδεϋδική και διαλδεϋδική μορφή του ελενολικού οξέος. Τα συστατικά αυτά παρέχουν σημαντική αντιοξειδωτική σταθερότητα στα παρθένα ελαιόλαδα κατά την αποθήκευσή τους στο σκοτάδι.

Η ελαιοευρωπεΐνη (oleuropein, άλλες ελληνικές αποδόσεις: ελευρωπαΐνη, ελαιοευρωπαΐνη, ολευρωπαΐνη, ολευρωπεΐνη) είναι ένας σεκοϊριδοειδής γλυκοζίτης (secoiridoid glucoside) χαρακτηριστικός των Ολεασών (Oleaceae) και αποτελεί το κύριο πολυφαινολικό συστατικό της ελιάς (*Olea europaea*), από την οποία και ονομάστηκε.

Εμφανίζεται ως αλευκοκίτρινη άμορφη υγροσκοπική ουσία, με μοριακό τύπο: $C_{25}H_{32}O_{13}$, σχετική μοριακή μάζα: 540,53 και σημείο τήξης: 89-90°C. Διαλύεται σε νερό, μεθανόλη και οξικό αιθυλεστέρα.

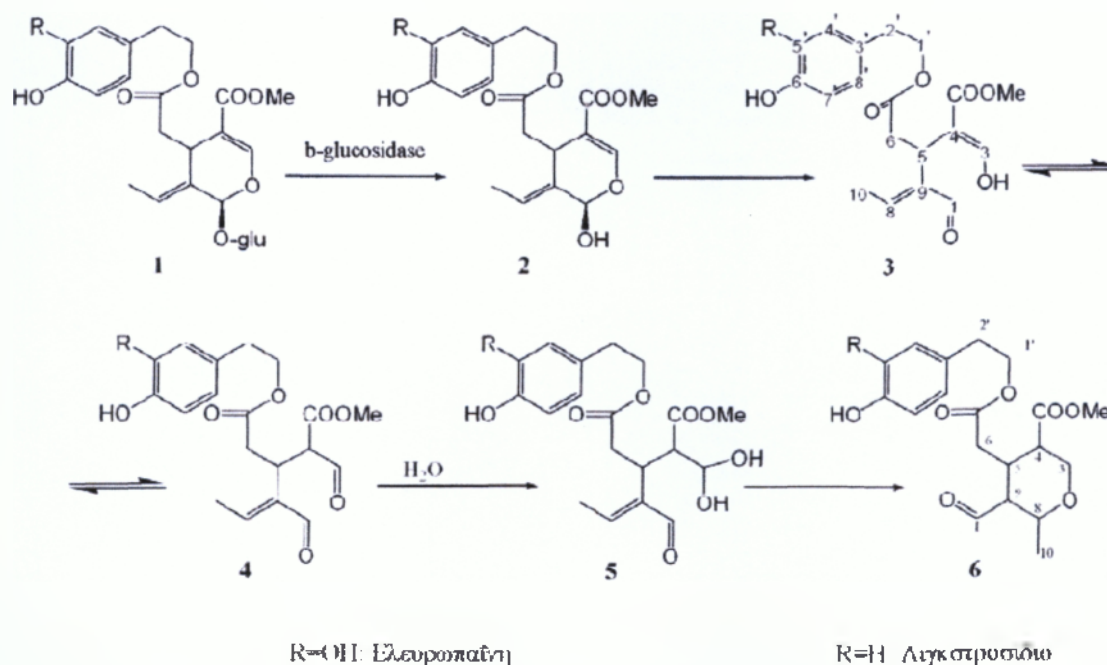


Σχήμα 13: Ελευρωπαΐνη

Η ελευρωπαΐνη δίνει στο ελαιόλαδο την χαρακτηριστική του πικρή γεύση. Η ποσότητα της ποικίλει ανάλογα με το είδος της ελιάς, το κλίμα και την τεχνική της παραλαβής του ελαιολάδου από τον καρπό. Με την αποθήκευση του ελαιολάδου η περιεκτικότητα σε ελευρωπαΐνη μειώνεται λόγω ενζυματικής υδρόλυσης και η γεύση του ελαιολάδου χάνει την φρουτώδη και πικρή γεύση του.

Η ελαιευρωπεΐνη και τα επιμέρους συστατικά της παίζουν σημαντικό ρόλο στα φυτά, γιατί με την προστατευτική τους δράση (κυρίως αντιοξειδωτική, αλλά και λόγω της πικρής γεύσης) υπερασπίζονται με διάφορους μηχανισμούς τις ελιές από παθογόνους μύκητες και από τα κεντρίσματα εντόμων.

Η ελευρωπαΐνη (μορφή 1) υδρολύεται από το ένζυμο β-γλυκοζιτάση. Το ένζυμο αυτό διασπά τον β-D- γλυκοζιτικό δεσμό που συνδέει ένα μόριο γλυκόζης με το υπόλοιπο μόριο της ελευρωπαΐνης. Στο σχήμα 14 παρουσιάζεται η υδρόλυση της ελευρωπαΐνης και τα προϊόντα υδρόλυσης. Μετά τη διάσπαση του γλυκοζιτικού δεσμού λαμβάνεται το άγλυκο της ελευρωπαΐνης (μορφή 2), το οποίο στη συνέχεια ισομερειώνεται με άνοιγμα και κλείσιμο του δακτυλίου, στα παράγωγα 3-5. Η κατά προτίμηση ύπαρξη αυτών των δομών εξαρτάται από το διαλύτη και το pH του διαλύματος.



Σχήμα 14: Υδρόλυση ελενορετίνης και λιγκστροσιδίου με το ένζυμο β-γλυκοζιτάση.

2.1.10. Φωσφολιπίδια

Το παρθένο ελαιόλαδο περιέχει μικρή ποσότητα φωσφολιπιδίων. Η συγκέντρωση τους κυμαίνεται από 40 έως 35 mg/kg. Η μεγαλύτερη ποσότητα των φωσφολιπιδίων αυτών προέρχεται από τον πυρήνα του ελαιοκάρπου. Τα φωσφολιπίδια που απαντούν στο ελαιόλαδο είναι κυρίως η λεκιθίνη και η κεφαλίνη.

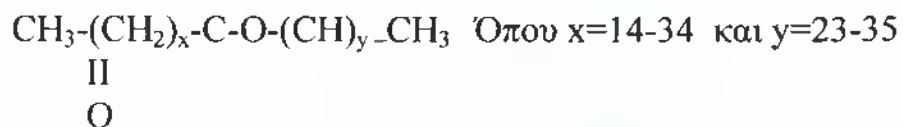
Το ελαϊκό οξύ είναι το κυριότερο από τα λιπαρά οξέα που συνθέτουν το μόριο των φωσφολιπιδίων του ελαιολάδου. (1)



2.1.11.Μη γλυκεριδικοί εστέρες λιπαρών οξέων

31

της έκθλιψης του καρπού. Τα φύλλα του ελαιόδεντρου αυξάνουν την περιεκτικότητα σε κηρούς αν δεν απομακρυνθούν έγκαιρα από τον καρπό. Κατά τη διάρκεια της αποθήκευσης είναι δυνατό να σχηματιστούν πρόσθετοι κηροί από την αντίδραση ελεύθερων λιπαρών οξέων και ελεύθερων αλκοολών. (3)



Εικόνα 6: Γενική δομή Κηρών.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3°

ΦΥΣΙΚΟΧΗΜΙΚΕΣ ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΙ ΤΟΥ ΕΛΑΙΟΛΑΔΟΥ

Το ελαιόλαδο είναι ένας ζωντανός οργανισμός, με συνέπεια κατά τη διάρκεια της ζωής του να υπόκειται σε πολλές μεταβολές. Λόγω της μεγάλης τιμής του γίνεται θύμα νοθείας με σκοπό, το εύκολο κέρδος. Ήταν αναγκαία λοιπόν η θεσμοθέτηση διατάξεων για την προστασία αυτού του πολύτιμου προϊόντος.

Οι παράμετροι, με τις οποίες ελέγχονται τα χημικά χαρακτηριστικά των ελαιολάδων, μπορούν να χωρισθούν σε τρεις κατηγορίες:

- παράμετροι ποιότητας
- παράμετροι καθαρότητας
- παράμετροι επιμολύνσεων

Κάποιες από τις παραμέτρους αυτές, προσδιορίζονται προκειμένου να συλλεχθούν πληροφορίες ως προς την ποιοτική κατάσταση του ελαιολάδου. Πρόκειται για πληροφορίες ως προς τις συνέπειες, που μπορεί να έχει η ατυχής συνάντηση του ελαιολάδου ή του καρπού της ελιάς με παράγοντες όπως τα παράσιτα, η υγρασία, το οξυγόνο, οι μικροοργανισμοί, οι υψηλές θερμοκρασίες και οι οποίες με απλές ή πολύπλοκες χημικές διεργασίες δημιούργησαν και προσδώσαν χημικά ή οργανοληπτικά ελαττώματα στο ελαιόλαδο. Οι υπόλοιπες παράμετροι προσδιορίζονται προκειμένου να συλλεχθούν πληροφορίες σχετικές με την γνησιότητα του ελαιολάδου, δηλαδή μέσω αυτών προσδιορίζεται η παρουσία σπορέλαιων ή άλλων ξένων ελαίων στο υπό εξέταση ελαιόλαδο. (31)

1.Παράμετροι ποιότητας

Ως κριτήρια ποιότητας ορίζονται τα φυσικοχημικά και τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά του ελαιολάδου. Μιλώντας για ποιότητα αναφερόμαστε σε κάτι θετικό. Ποιότητα, θεωρούμε μια συμφωνία που έχει γίνει για τα χαρακτηριστικά ενός προϊόντος, βάσει της οποίας κινείται και συνδιαλέγεται ολόκληρη η αγορά.

Τα βασικά κριτήρια για την αξιολόγηση της ποιότητας του ελαιολάδου είναι:

- η ελεύθερη οξύτητα,

- η οξείδωση,
- το χρώμα και
- η οργανοληπτική αξιολόγηση

Καθένα από τα παραπάνω ποιοτικά κριτήρια αξιολογεί κάτι το διαφορετικό, συνεπώς, πρέπει να λαμβάνονται όλα υπόψη για τη σωστή αξιολόγηση του ελαιολάδου.

1.1.Ελεύθερη οξύτητα

Η οξύτητα αποτελεί το βασικότερο κριτήριο ποιοτικής αξιολόγησης του ελαιολάδου. Τα λιπαρά οξέα στο ελαιόλαδο είναι είτε ελεύθερα, είτε δεσμευμένα με μίαν αλκοόλη, τη γλυκερόλη. Η οξύτητά είναι το μέτρο που προσδιορίζει την περιεκτικότητα ελεύθερων λιπαρών οξέων στο ελαιόλαδο. Η λιπολυτική δράση της λυπάσης (ένζυμο που υπάρχει στον ελαιόκαρπο) παράγει ελεύθερα λιπαρά οξέα, που είναι υπεύθυνα για την εμφάνιση οξύτητας στο ελαιόλαδο. (22,25,31)

Με βάση την οξύτητα, το ελαιόλαδο διακρίνεται σε βρώσιμο ή βιομηχανικό και ανάλογα διαμορφώνεται η τιμή του. Δεν πρέπει όμως να στηριζόμαστε μόνο στο κριτήριο της οξύτητας για τον καθορισμό της τιμής του ελαιολάδου, αφού είναι δυνατόν ελαιόλαδα με μικρή οξύτητα να είναι οξειδωμένα και να έχουν υποβαθμισμένα ποιοτικά χαρακτηριστικά. (1,8,22,23)

Όσο περισσότερα οξέα περιέχει το ελαιόλαδο τόσο ξινότερη και πιο καυτερή είναι η γεύση του και δυσκολότερη η χώνευση του.

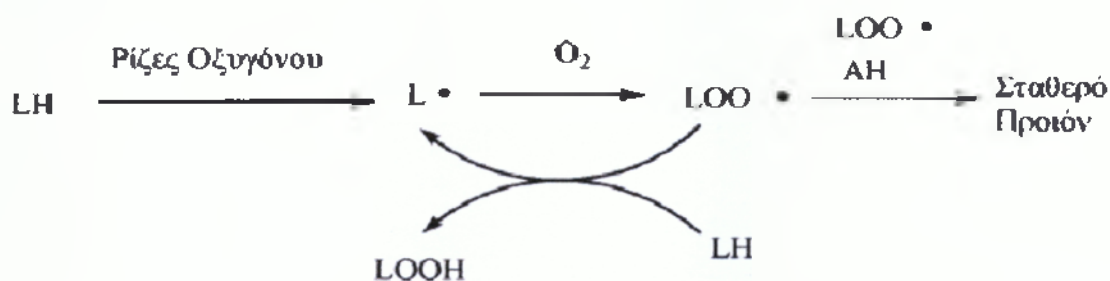
Η οξύτητα του ελαιολάδου εξαρτάται κατά κύριο λόγο από την ποιοτική κατάσταση του ελαιόκαρπου από τον οποίο προέρχεται και μεταβάλλεται πολύ λίγο μετά την παραλαβή του απ'αυτόν. Χαμηλή οξύτητα είναι δείκτης καλής παραγωγής και τεχνολογίας εξαγωγής ελαιολάδου. Υψηλή οξύτητα συνήθως σημαίνει ότι το ελαιόλαδο προέρχεται από ταλαιπωρημένο ελαιόκαρπο ή ακατάλληλες συνθήκες ελαιοποίησης. Η μικρή αυτή αύξηση της οξύτητας του ελαιολάδου, μετά την παραλαβή του από τον ελαιόκαρπο, οφείλεται κυρίως στην παρουσία και ανάπτυξη των μικροοργανισμών, οι οποίοι προκαλούν υδρόλυση των τριγλυκεριδίων. Αυτοί οι μικροοργανισμοί είναι ένζυμα (λιπάση) και χάρη στην λιπολιπτική της δράση, καταλύει την υδρόλυση των τριγλυκεριδίων προς ελεύθερα λιπαρά οξέα και γλυκερίνη. (1)

Η οξύτητα είναι ίσως η πρώτη αναλυτικώς μετρηθείσα παράμετρος και μαζί με την οργανοληπτική αξιολόγηση αποτελούσαν για χρόνια τα μόνα ποιοτικά χαρακτηριστικά του ελαιολάδου.

Η οξύτητα εκφράζεται συνήθως επί τοις εκατό, όσο πιο υψηλό είναι το νούμερο, τόσο πιο πολλά είναι τα ελεύθερα λιπαρά οξέα. Τα ελαιόλαδα με υψηλή οξύτητα αλλοιώνονται ευκολότερα και γρηγορότερα από τα άλλα. Γεγονός είναι ότι τα ελεύθερα λιπαρά οξέα λόγω του μεγάλου μοριακού τους βάρους, δεν έχουν ούτε οσμή ούτε γεύση και δεν είναι επικίνδυνα για τον ανθρώπινο οργανισμό, αφού τα τριγλυκερίδια, πριν αξιοποιηθούν ως τροφή, υδρολύονται στο πεπτικό σύστημα του ανθρώπου με την επενέργεια της λιπάσης του παγκρέατος. (15,43)

1.2.Οξείδωση

Η οξείδωση αποτελεί ένα άλλο κριτήριο ελέγχου της ποιοτικής κατάστασης του ελαιολάδου και γενικότερα των λιπαρών υλών. Η οξείδωση των λιπαρών υλών οφείλεται στη δράση πολλών παραγόντων, κυριότεροι από τους οποίους είναι: το οξυγόνο, η θερμοκρασία, το φως, τα ελεύθερα λιπαρά οξέα, οι χρωστικές και τα μέταλλα.



Σχήμα 1: Οξείδωση ακόρεστων λιπαρών οξέων.

- **Οξυγόνο:** Για να λάβει χώρα η οξείδωση χρειάζεται οξυγόνο. Το οξυγόνο έρχεται σε επαφή με τις λιπαρές ύλες είτε στη διαχωριστική επιφάνεια αέρα - λιπαρών υλών, είτε στο εσωτερικό των λιπαρών υλών όπου είναι διαλυμένος. Όσο μεγαλύτερη είναι η δι-επαφή (σε χρόνο και επιφάνεια) του οξυγόνου με τις λιπαρές ύλες, τόσο πιο εύκολα αυτές οξειδώνονται.
- **Θερμοκρασία:** Η θερμοκρασία επηρεάζει σημαντικά την ταχύτητα της οξείδωσης. Υψηλή θερμοκρασία στο χώρο αποθήκευσης των λιπαρών υλών επιταχύνει την οξείδωση. Πειράματα που έγιναν με καθαρούς μεθυλεστέρες

λιπαρών οξέων διάφορων λιπαρών υλών, έδειξαν ότι για κάθε αύξηση της θερμοκρασίας κατά 12°C περίπου, μεταξύ 15-75°C, ο ρυθμός οξείδωσης διπλασιάζονταν. Η αποθήκευση των λιπαρών υλών σε θερμοκρασία 10-15°C θεωρείται ιδανική, γιατί περιορίζει την οξείδωση χωρίς να οδηγεί σε θόλωμα. Το θόλωμα παρατηρείται, κατά την αποθήκευση, σε χαμηλές θερμοκρασίες και οφείλεται στην παρουσία κορεσμένων τριγλυκεριδίων στις λιπαρές ύλες.

- **Μέταλλα:** Τα μέταλλα, κυρίως ο σίδηρος και ο χαλκός, ενεργούν σαν καταλύτες στην οξειδωτική αλλοίωση των λιπαρών υλών. Στις αντιδράσεις, στις οποίες παίρνουν μέρος, τα μέταλλα απλώς αλλάζουν σθένος (ανάγονται και οξειδώνονται) και συνεχίζουν την καταλυτική τους δράση. Ο χαλκός δημιουργεί το σοβαρότερο πρόβλημα, ενώ αντίθετα ο σίδηρος, στην ίδια αναλογία, δημιουργεί μικρότερο πρόβλημα γιατί είναι λιγότερο δραστικός και παρουσιάζει μικρότερη διαλυτότητα.
- **Ελεύθερα λιπαρά οξέα:** Η οξειδωτική τάγγιση των λιπαρών υλών επιταχύνεται και από την παρουσία ελεύθερων λιπαρών οξέων ακόμη και σε συγκέντρωση 0.5%. Τα λιπαρά οξέα, σε ελεύθερη μορφή, υποβοηθούν την οξείδωση δια μέσου ενός καταλυτικού μηχανισμού, όπου η καρβοξυλική ομάδα των ελεύθερων λιπαρών οξέων καταλύει το σχηματισμό ελεύθερων ριζών, υποβοηθώντας στη διάσπαση των υπεροξειδίων.
- **Φως, χρωστικές:** Επιταχύνουν την οξείδωση δια μέσου του μηχανισμού της φωτοοξείδωσης

Ο προσδιορισμός της οξείδωσης γίνεται κυρίως με τον υπολογισμό των υπεροξειδίων, τη μέτρηση της απορρόφησης στο υπεριώδες φάσμα και με ορισμένες άλλες τεχνικές. Ο ακριβής προσδιορισμός των ειδικών απορροφήσεων σε ορισμένα μήκη κύματος δίνει την πραγματική εικόνα της ποιοτικής κατάστασης του ελαιολάδου. Τα χαρακτηριστικά του δείκτη υπεροξειδίων και των απορροφήσεων στο υπεριώδες φάσμα, μας δίνουν πληροφορίες σχετικά με νοθείες, ταχύτητες μελλοντικής οξείδωσης και υποβάθμισης κλπ. (1,8,22)

1.2.1.Αριθμός υπεροξειδίων

Ο προσδιορισμός του αριθμού υπεροξειδίων, αποτελεί βασικό κριτήριο ελέγχου του βαθμού οξείδωσης του ελαιολάδου. Τα υπεροξείδια είναι χημικές ενώσεις που

δημιουργούνται από την αντίδραση του οξυγόνου με το ελαιόλαδο. Ο αριθμός υπεροξειδίων είναι μέτρο των συστατικών του ελαίου που μπορούν να οξειδώσουν διάλυμα ιωδιούχου καλίου υπό καθορισμένες συνθήκες. (1,31)

Η αύξηση του αριθμού υπεροξειδίων, προκαλείται από υδροϋπεροξειδία, που σχηματίζονται ενζυμικά ή χημικά κατά τα πρώτα στάδια της οξείδωσης του ελαίου. (25)

Ο αριθμός υπεροξειδίων προσδιορίζει, πόσο προχωρημένη είναι η οξείδωση των ουσιών του ελαιολάδου, γεγονός που επιτρέπει συμπεράσματα για την ηλικία και το είδος της αποθήκευσης του (καλής ή κακής). Τα υψηλά υπεροξειδία συνδέονται με μείωση της διάρκειας ζωής του ελαιολάδου. Για το παρθένο ελαιόλαδο, θα πρέπει ο αριθμός των υπεροξειδίων να είναι μικρότερος ή ίσος του 20, όριο το οποίο έχει καθιερώσει το ΔΣΕ και η ΕΕ. (1)

1.2.2. Απορρόφηση στο υπεριώδες φάσμα

Ο προσδιορισμός της απορρόφησης του ελαιολάδου στο υπεριώδες φάσμα χρησιμοποιείται, κατά κανόνα, για τον έλεγχο της ποιοτικής του κατάστασης και ειδικότερα για τον προσδιορισμό του βαθμού της οξειδωτικής του αλλοίωσης.

Η μέτρηση γίνεται σε φασματοφωτόμετρο υπεριώδους φάσματος, στα μήκη κύματος 232nm και 270nm. Στα 232nm απορροφούν το μέγιστο τα πρωτογενή προϊόντα της οξείδωσης, αυτά είναι τα υδροϋπεροξειδία (πρώιμα στάδια οξείδωσης) και τα συζυγιακά διένια (ενδιάμεσα στάδια οξείδωσης). Στα 270nm απορροφούν το μέγιστο τα δευτερογενή προϊόντα της οξείδωσης, αυτά είναι οι καρβονυλικές ενώσεις (προχωρημένα στάδια οξείδωσης), και τα συζυγιακά τριένια (τεχνολογικοί χειρισμοί).

Ο προσδιορισμός των σταθερών K_{232} και K_{270} μπορεί να χρησιμοποιηθεί και για τον έλεγχο της νοθείας του ελαιολάδου με ραφιναρισμένο ελαιόλαδο ή σπορέλαια, τα οποία υποβάλλονται υποχρεωτικά στη διεργασία του ραφινάρισματος, γιατί στα 232 και στα 270nm απορροφούν επίσης και τα συζυγή διένια και τριένια τα οποία προκύπτουν κατά το ραφινάρισμα (εξευγενισμό). Στην περίπτωση που οι τιμές των σταθερών K_{232} και K_{270} είναι υψηλές, υπάρχει περίπτωση να έχουμε νοθεία του ελαιολάδου με ραφιναρισμένα ελαιόλαδα. Αν γίνει παράλληλα και προσδιορισμός του βαθμού οξείδωσης με τη μέθοδο των υπεροξειδίων, είναι δυνατόν να αποφανθούμε αν οι υψηλές τιμές K_{232} και K_{270} οφείλονται σε οξείδωση ή σε νοθεία.

Υψηλές τιμές απορρόφησης σε αυτά τα μήκη κύματος, δείχνουν ή οξείδωση ή νοθεία ή και τα δύο.

Καλύτερη εικόνα της ποιοτικής κατάστασης του ελαιολάδου δίνει ο προσδιορισμός των απορροφήσεων σε μήκη κύματος γύρω στα 270nm και συγκεκριμένα στα 262, στα 268 και στα 274 nm, με την βοήθεια της εξίσωσης:

$$\Delta K = K_{268} - (K_{262} + K_{274})/2$$

Επειδή για τον υπολογισμό των απορροφήσεων εφαρμόζονται ειδικές συνθήκες, τους αποδίδεται ο χαρακτηρισμός ειδικοί συντελεστές απορρόφησης. Ο συμβολισμός των ειδικών συντελεστών απορρόφησης στα διάφορα μήκη κύματος, γίνεται όπως φαίνεται παρακάτω:

$$\begin{array}{ccc} 1\% & 1\% & 1\% \\ K_{232nm} & K_{270nm} & \text{και } \Delta K \\ 1cm & 1cm & 1cm \end{array}$$

Ο δείκτης ΔΚ αποτελεί κριτήριο για την διάκριση ανάμεσα σε κακής ποιότητας παρθένο ελαιόλαδο και παρθένο ελαιόλαδο που έχει νοθευτεί με εξευγενισμένο ελαιόλαδο. (1,25,31)

1.3.Χρώμα

Το χρώμα του ελαιολάδου αποτελεί χαρακτηριστικό δείκτη ποιότητας. Διαφέρει συνήθως από ελαιόλαδο σε ελαιόλαδο και πολλές φορές επηρεάζει τις επιλογές του καταναλωτικού κοινού.(1)

Το χρώμα του ελαιολάδου καθορίζεται κυρίως από το είδος των λιποδιαλυτών χρωστικών (χλωροφύλλες, ξανθοφύλλες, καροτίνες), που επικρατούν στο καρπό τη στιγμή της συγκομιδής του. Το χρώμα του ελαιολάδου είναι πράσινο στην αρχή της περιόδου συγκομιδής, όταν ο ελαιόκαρπος είναι άγουρος και επικρατούν οι χλωροφύλλες. Κάποιες φορές το ελαιόλαδο έχει έντονο πράσινο χρώμα γιατί στη διαδικασία άλεσης του καρπού αναμείχθηκαν φύλλα και μικρά κλαδάκια ελιάς. Τότε προκύπτει λάδι που αφήνει μια πικρίλα στο στόμα. Με την πάροδο της ωρίμανσης του ελαιοκάρπου, το ελαιόλαδο παίρνει κίτρινο προς χρυσαφί χρώμα επειδή

υπάρχουν περισσότερες καροτίνες. Τέλος, ο υπερώριμος καρπός δίνει ελαιόλαδο με έντονα φαιό χρώμα. Όταν το χρώμα είναι σκούρο καφέ ή μαύρο τότε το λάδι προέρχεται από καρπό που έχει πέσει στ ο έδαφος. (1,8,22,23)

Το χρώμα όμως του ελαιολάδου επηρεάζεται και από το σύστημα επεξεργασίας, το οποίο χρησιμοποιείται για την παραλαβή του από τον ελαιόκαρπο. (15)

1.4.Οργανοληπτικά χαρακτηριστικά

Τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά είναι αυτά που αφορούν την γεύση και την οσμή. Ο έλεγχος των οργανοληπτικών χαρακτηριστικών του ελαιολάδου αποτελεί το βασικότερο κριτήριο ποιοτικής αξιολόγησης.

Ο οργανοληπτικός έλεγχος γίνεται από ειδικευμένα άτομα, τους δοκιμαστές. Στη μέθοδο όμως αυτή υπεισέρχεται και το υποκειμενικό στοιχείο του δοκιμαστή κάτι που, οπωσδήποτε, αποτελεί μειονέκτημα. Το Διεθνές Συμβούλιο Ελαιολάδου (ΔΣΕ) γνωρίζοντας τη σημασία των οργανοληπτικών χαρακτηριστικών καταβάλει προσπάθεια για να εξευρεθεί μια περισσότερο αντικειμενική μέθοδος αξιολόγησης του ελαιολάδου, η οποία να εφαρμόζεται από όλες τις ελαιοπαραγωγικές χώρες για μια εκτίμηση των χαρακτηριστικών αυτών σε ενιαία βάση. (1,22)

Η γεύση του ελαιολάδου εξαρτάται από την παρουσία των πτητικών συστατικών, καθώς επίσης από τα λιπαρά οξέα, κυρίως το ελαϊκό και το λινελαϊκό και από τις πολυφαινόλες. (8)

Με κριτήριο τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά, οι Frezotti και Manni (1956) διαφοροποίησαν τα ελαιόλαδα στις εξής κατηγορίες:

Αγουρέλαιο: Προέρχονται από άγουρο ελαιόκαρπο και έχουν χαρακτηριστική πικρή γεύση.

Πικρά ελαιόλαδα: Παραλαμβάνονται από άγουρο ελαιόκαρπο, ο οποίος περιέχει μεγάλες ποσότητες φύλλων.

Φρουτώδη: Έχουν τη γεύση φρέσκου καλής ποιότητας και φυσιολογικά ώριμου ελαιόκαρπου.

Ελαιόλαδα με καλή γεύση: Όλα τα ελαιόλαδα με την χαρακτηριστική διακριτική γεύση, χωρίς την παρουσία δυσάρεστων οσμών.

Ελαττωματικά: Ελαιόλαδα τα οποία παρουσιάζουν γεύση και οσμή μούχλας, χωματίλας, ταγγάδας, κλπ.

Ας σημειωθεί ότι τα αγουρέλαια αποτελούν μια σημαντική κατηγορία ελαιόλαδων που θα πρέπει να προτιμώνται γιατί έχουν ευνοϊκή επίδραση στην υγεία.

Η πικρή γεύση οφείλεται στην παρουσία ελευρωπαίνης και άλλων μεθανολικών ουσιών ή και στο γεγονός ότι κατά το σπάσιμο του καρπού στους σπαστήρες των σύγχρονων ελαιουργικών συστημάτων δεν έχουν διαχωριστεί πλήρως οι διάφοροι γλυκοζίτες που περιέχει ο καρπός με αποτέλεσμα να εγκλωβίζονται στο ελαιόλαδο κατά την φυγοκέντριση στο decander.(1)

Τέλος πρέπει να αναφερθεί ότι η οργανοληπτική αξιολόγηση καθώς και το χρώμα είναι κριτήρια ποιότητας για το παρθένο ελαιόλαδο και όχι για την κατηγορία ελαιόλαδο.

1.5. Άλλα φυσικοχημικά χαρακτηριστικά του ελαιολάδου που χρησιμοποιούνται ως κριτήρια ποιότητας.

Αυτά είναι:

1. Η υγρασία και τα πτητικά συστατικά, δηλαδή η απώλεια βάρους του ελαιολάδου μετά από θέρμανση σε $103^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$.
Τα έλαια περιέχουν νερό και πτητικές ενώσεις ως αποτέλεσμα της μεθόδου παραλαβής τους. Το νερό είναι ξένο υλικό και υποβαθμίζει την ποιότητα του ελαίου.
2. Προσμίξεις αδιάλυτες σε πετρελαϊκό αιθέρα (εξάνιο). Οι εφαρμογές κακών πρακτικών κατά την παραγωγή του ελαιολάδου είναι υπεύθυνη για την αύξηση περιεκτικότητας σε αδιάλυτες προσμίξεις.
3. Ιχνοστοιχεία .Αυτά διακρίνονται σε δύο ομάδες τα διγλυκερίδια και τα βαρέα μέταλλα.
 - Στα φυσικά λίπη επικρατούν τα τριγλυκερίδια. Σε καλής ποιότητας έλαια υπάρχουν σε μικρές ποσότητες και 1,2-διγλυκερίδια. Η αυξημένη παρουσία 1,3-διγλυκεριδίων αποτελεί ένδειξη παλαιών ή/και κακά συντηρημένων ελαίων.

- Ως βαρέα μέταλλα ορίζουμε την ποσότητα Cu και Fe (μg/kg) σε όλους τους τύπους ελαιόλαδου. Τα ίχνη σιδήρου και χαλκού μπορούν να προέρχονται από το χώμα, τα λιπάσματα ή μέσω επιμόλυνσης από τον εξοπλισμό που χρησιμοποιείται κατά την επεξεργασία και την αποθήκευση. Δεν είναι επιθυμητά γιατί δρουν ως προοξειδωτικά.

(25)

2.Παράμετροι καθαρότητας

Οι παράμετροι αυτοί προσδιορίζονται προκειμένου να συλλεχθούν πληροφορίες σχετικές με την καθαρότητα του ελαιολάδου, δηλαδή μέσω αυτών προσδιορίζεται η παρουσία σπορέλαιων ή άλλων ξένων ελαίων στο υπό εξέταση ελαιόλαδο. Για την έννοια της **καθαρότητας** χρησιμοποιείται και ο όρος **γνησιότητα**. Στην επίσημη ορολογία της Ευρωπαϊκής Ένωσης έχει υιοθετηθεί σχετικά με την ελληνική γλώσσα ο όρος "**καθαρότητα**". (31)

3.Παράμετροι Επιμόλυνσεων

Επειδή είναι δυνατό στο ελαιόλαδο να υπάρχουν, όταν δεν έχει γίνει προσεκτικός χειρισμός του, και άλλες ουσίες ξένες προς αυτό π.χ. ξένες ύλες και υγρασία, αλογονωμένοι διαλύτες, μέταλλα κ.α. γι' αυτό έχουν ορισθεί αυτοί οι παράμετροι ελέγχου του. (31)

4.Παραγοντές που επηρεάζουν την ποιότητα του ελαιολάδου

Η ποιότητα του ελαιολάδου επηρεάζεται από πολλούς παράγοντες. Από το δέσιμο μέχρι την συλλογή του ελαιόκαρπου επιδρούν παράγοντες όπως η ποικιλία, η κατάσταση των δένδρων, το φορτίο ελαιόκαρπου, οι καιρικές συνθήκες, η προσβολή από δάκο ή ασθένειες κ.λ.π. Κατά την συλλογή και επεξεργασία η ποιότητα του ελαιολάδου επηρεάζεται πολύ από τον τρόπο συλλογής και τις συνθήκες μεταφοράς και επεξεργασίας. Τέλος σημαντικό ρόλο έχουν και οι συνθήκες διατήρησης του ελαιολάδου.

- **Η ποικιλία του ελαιόκαρπου.** Ανάλογα με την ποικιλία από την οποία προέρχεται ο ελαιόκαρπος, δίνει λάδι με ξεχωριστούς οργανοληπτικούς χαρακτήρες. Ακόμη όμως και στο λάδι που διαχωρίζεται από υγιή ελαιόκαρπο της ίδιας ποικιλίας, παρατηρούνται από τους δοκιμαστές μικροδιαφορές, ανάλογα με την περιοχή καλλιέργειας των δέντρων, τη λίπανση, τις καλλιεργητικές φροντίδες, την πορεία των μετεωρολογικών συνθηκών και κυρίως το στάδιο ωρίμανσης. Την καλύτερη ποιότητα λαδιού δίνει ελαιόκαρπος που είναι σε άριστο στάδιο ωριμότητας.
- **Εδαφολογικές συνθήκες- μικροκλίμα.** Η σύσταση του εδάφους του ελαιώνα επηρεάζει πολύ την περιεκτικότητα του ελαιόκαρπου σε ορισμένα συστατικά, κυρίως ανόργανα αλλά και οργανικά, τα οποία μεταφέρονται και στο παραγόμενο ελαιόλαδο, επηρεάζοντας την σύσταση και την ποιότητα του.
- **Η συλλογή στο κατάλληλο βαθμό ωρίμανσης.** Από ελαιοκομική- εμπορική άποψη ο όρος ωρίμανση πεοσδιορίζεται σαν το στάδιο εκείνο στο οποίο η συλλογή γίνεται κάτω από συνθήκες μέγιστης οικονομικής αποδοτικότητας. Το στάδιο αυτό δεν πρέπει να συγχέεται ή να ταυτίζεται με το στάδιο της φυσιολογικής ωρίμανσης. (28)
- **Η υγιεινή κατάσταση του ελαιόκαρπου.** Αναφερόμαστε στην κατάσταση στην οποία βρίσκετε ο ελαιόκαρπος την ώρα της συγκομιδής. Έχει σχέση με την προσβολή ή όχι , καθώς και με την ένταση της προσβολή από τον δάκο, από έντομα, από ασθένειες και γενικά ανεπιθύμητες μεταβολές.
- **Η ανάμειξη του συγκομιζόμενου καρπού από το ελαιόδεντρο με την «χαμάδα»,** δηλαδή το τμήμα του φορτίου που πέφτει αυτόματα στο έδαφος. Το τμήμα αυτό του καρπού ή είναι ποιοτικά υποβαθμισμένο την ώρα της πτώσεώς του ή υποβαθμίζεται με την παραμονή του κάτω από την κόμη του δέντρου, απλωμένο στο έδαφος, όπου είναι εκτεθειμένο στις αντιξοότητες του περιβάλλοντος. Η «χαμάδα» προσδίδει στο ελαιόλαδο οσμή «χωματίλας».
- **Η μεταφορά του ελαιόκαρπου και προπαντός η διατήρησή του** για μακρό χρονικό χρόνο πριν την ελαιοποίηση, σε συνθήκες υψηλής θερμοκρασίας και πτωχού αερισμού, υποβαθμίζει πάρα πολύ την ποιότητα του ελαιολάδου. Η μεταφορά πρέπει να γίνεται με πλαστικά κιβώτια τα οποία να τοποθετούνται σε δροσερό μέρος μέχρι να οδηγηθεί ο καρπός για ελαιοποίηση.

- **Ο τύπος του ελαιουργείου** επίσης επηρεάζει την ποιότητα. Θα πρέπει να επιλεγεί ελαιουργείο με καλές προδιαγραφές κατασκευής και λειτουργίας. Η άνοδος της θερμοκρασίας στην ελαιοζύμη ή τον ελαιολουχο μούστο, που οφείλεται στην έκλυση θερμότητας κατά την ώρα της αλέσεως, στην μάλαξη λόγω κυκλοφορίας νερού υψηλής θερμοκρασίας στα διπλανά τοιχώματα του μαλακτήρα κ.τ.λ.
- **Η διατήρηση του ελαιολάδου** θα πρέπει να γίνεται σε κατάλληλα ανοξείδωτα δοχεία μέσα σε αποθήκες με χαμηλές θερμοκρασίες. Το φως και το οξυγόνο μπορούν να προκαλέσουν σοβαρές αλλοιώσεις στο λάδι, γι αυτό τα δοχεία συσκευασίας θα πρέπει να είναι από κατάλληλο υλικό, αδιαφανή (για να μην περνάει το φως) και αεροστεγή – κλειστά (για να περιορισθεί ο αερισμός και η δράση του οξυγόνου). Ιδιαίτερα θα πρέπει να αποφευχεται η πλαστική συσκευασία η οποία είναι δυνατόν να προκαλέσει κατακράτηση των πτητικών συστατικών του λαδιού και υποβάθμιση των γευστικών και αρωματικών του ιδιοτήτων.
- Τέλος στην δράση των ενζύμων που είναι είτε ενδογενή είτε εκκρίνονται από μικροοργανισμούς .
(8,15,22,26,32)

5.Κίνδυνοι που απειλούν ελαιόλαδο

Κατά τα διάφορα στάδια της παραγωγής, του εξευγενισμού, της τυποποίησης και της εμπορίας του το ελαιόλαδο μπορεί να επιμολυνθεί με επικίνδυνες για την ανθρώπινη υγεία ουσίες και ξένα σώματα. Μεταξύ των χημικών ουσιών ιδιαίτερη σπουδαιότητα έχουν:

1. Τα υπολείμματα των γεωργικών φαρμάκων που οφείλονται στην μη εφαρμογή των κανόνων ορθής γεωργικής πρακτικής στο στάδιο παραγωγής του ελαιοκάρπου.
2. Οι πτητικοί αλογονωμένοι διαλύτες (τετραχλωροαιθυλένιο, τριχλωροαιθάνιο και τριχλωροαιθυλένιο). Η παρουσία του τετραχλωροαιθυλενίου έχει αποδοθεί στην προσθήκη υπολειμμάτων ελαίου από τον ποσοτικό προσδιορισμό ελαίου σε ελιές ο οποίος γίνεται με διαλύτη τετραχλωροαιθυλένιο.

Η προέλευση των άλλων δύο χλωριωμένων διαλυτών οφείλεται σε διαλύτες κόλας λάστιχου, σε πώματα βυτίων μεταφοράς ελαιολάδου, σε διαλύτες λιπαντικών, καθαρισμού, κλπ.

3. Τα βαρέα μέταλλα των οποίων η παρουσία στα έλαια οφείλεται στην επαφή τους με τα μεταλλικά μέρη των μηχανημάτων ή των δεξαμενών . Τα έλαια μπορούν επίσης να επιμολυνθούν με βαρέα μέταλλα και κατά το στάδιο της παραγωγής τους από την μη τήρηση κανόνων ορθής υγιεινής πρακτικής.

4. Οι πολυκυκλικοί αρωματικοί υδρογονάνθρακες (ΠΑΥ). Η παρουσία των επικίνδυνων αυτών ουσιών κυρίως στα πυρηνέλαια σχετίζεται με τον τρόπο παραγωγής τους και ιδιαίτερα με την ξήρανση του ελαιοπυρήνα.

5. Οι περιβαλλοντικοί ρυπαντές. Είναι κυρίως οι διοξίνες, τα πολυχλωριωμένα διφαινύλια (PCBs) και οι αρωματικοί υδρογονάνθρακες, (βενζόλιο, τολουόλιο, αιθυλοβενζόλιο, ξυλόλιο, κλπ.).

6. Επικίνδυνες ουσίες που μεταναστεύουν στα έλαια από τα υλικά συσκευασίας οι οποίες οφείλονται στη χρήση ακατάλληλων υλικών. Υλικά συσκευασίας μπορούν για διάφορους λόγους (κακή κατασκευή, εγκλεισμός μονομερούς κλπ.) να επιμολύνουν τα έλαια με ξένες ουσίες π.χ. πλαστικοποιητές, μονομερές VC (βινυλοχλωρίδιο) προερχόμενο από PVC.

Οι φυσικοί κίνδυνοι αφορούν κυρίως στην παρουσία ξένων σωμάτων όπως θραύσματα γυαλιού, πλαστικών, μετάλλων, σκόνης και ακαθαρσιών. (1)

6.Αλλοιώσεις Ελαιόλαδου

Οι κύριες αλλοιώσεις του ελαιολάδου, όπως και των άλλων λιπαρών υλών, είναι η υδρόλυση ή υδρολυτική τάγγιση και η οξείδωση ή οξειδωτική τάγγιση.

- **Η υδρόλυση** (γνωστή και ως λιπόλυση) λαμβάνει χώρα κυρίως κατά το χρόνο πριν από τη παραλαβή του ελαιόλαδου από τον ελαιόκαρπο, ενώ η οξείδωση παρατηρείται κυρίως μετά την παραλαβή του και ιδιαίτερα στη διάρκεια της αποθήκευσης του σε ακατάλληλες συνθήκες.
- **Η οξείδωση** λαμβάνει χώρα τόσο απουσία φωτός (αυτοοξείδωση) όσο και παρουσία φωτός (φωτοοξείδωση).

6.1.Υδρόλυση

Η υδρόλυση είναι μια από τις βασικότερες αλλοιώσεις του ελαιολάδου και συνδέεται με την απελευθέρωση των λιπαρών οξέων από τα τριγλυκερίδια. Η απελευθέρωση των λιπαρών οξέων και η παρουσία τους σε ελεύθερη μορφή, μέσα στο ελαιόλαδο, έχει ως αποτέλεσμα:

- Την αύξηση της οξύτητας,
- Την αλλοίωση της γεύσης και γενικότερα,
- Την υποβάθμιση της ποιότητας και της εμπορικής αξίας του ελαιολάδου.

Η αλλοίωση αυτή λαμβάνει χώρα όταν η λιπαρή ύλη βρίσκεται ακόμη στον ελαιόκαρπο, στους ελαιούχους σπόρους ή στους ζωικούς ιστούς, γιατί εκεί υπάρχουν τα ένζυμα (λιπάσες) που καταλύουν την αντίδραση της υδρόλυσης των τριγλυκεριδίων.

Η υδρόλυση των λιπαρών υλών επηρεάζεται από παράγοντες όπως:

- Υγρασία,
- Θερμοκρασία,
- Ένζυμα και
- Μικροοργανισμούς

Η υδρόλυση έχει ιδιαίτερες επιπτώσεις στην ποιότητα λιπαρών υλών που περιέχουν τριγλυκερίδια κατωτέρων λιπαρών οξέων τα οποία είναι πτητικά.

Ανάλογα με το αίτιο ή τα αίτια που την προκαλούν, η λιπόλυση διακρίνεται σε μικροβιακή και ενζυμική.

6.2.Οξειδωση

Η οξείδωση είναι η πιο συνηθισμένη και η σοβαρότερη αλλοίωση των λιπαρών υλών. Όλες γενικά οι λιπαρές ύλες, αυτούσιες ή ως συστατικά άλλων τροφίμων, που περιέχουν στα τριγλυκερίδια τους ακόρεστα λιπαρά οξέα, οξειδώνονται εύκολα σε χαμηλές θερμοκρασίες.

Αρκετά προϊόντα της οξείδωσης των ακόρεστων λιπαρών οξέων έχουν δυσάρεστη οσμή και γεύση με αποτέλεσμα να υποβαθμίζεται η ποιότητα των λιπαρών υλών. Ορισμένα μάλιστα προϊόντα οξείδωσης σε υψηλές συγκεντρώσεις, στα υψηλού βαθμού οξείδωσης έλαια, είναι τοξικά.

Οι Gutierrez και Romero (1960), είχαν διαπιστώσει ότι κατά την οξείδωση του ελαιολάδου σχηματίζονται προϊόντα οξείδωσης με διαφορετικούς μηχανισμούς με αποτέλεσμα να είναι δύσκολος ο καθορισμός της ομάδας προϊόντων που είναι υπεύθυνη για την αλλοίωση της γεύσης του. Συνήθως η αλλοίωση αυτή οφείλεται στις κορεσμένες και τις ακόρεστες αλδεΐδες, που προκύπτουν ως δευτερογενή προϊόντα οξείδωσης.

Η οξείδωση στο ελαιόλαδο επιφέρει τροποποίηση στα οργανοληπτικά του χαρακτηριστικά (οσμή, γεύση). Μπορεί επίσης να επιφέρει αλλαγή και σε ορισμένες φυσικές του ιδιότητες όπως, π.χ. στο ιξώδες. Γενικά η οξείδωση προκαλεί μείωση στα επίπεδα των απαραίτητων λιπαρών οξέων (λινελαϊκό και λινολενικό) και των λιποδιαλυτών βιταμινών και γενικότερα μειώνει τη θρεπτική αξία των λιπαρών υλών. Η οξείδωση όλων των λιπαρών υλών, συμπεριλαμβανομένου και του ελαιολάδου οφείλεται στη δράση πολλών παραγόντων, όπως είναι:

- Το οξυγόνο
- Η θερμοκρασία
- Το φως
- Η παρουσία μετάλλων, κ.α.

(1)

7.Κατηγορίες ελαιόλαδου.

Υπάρχουν διάφορες κατηγορίες ποιότητας στο ελαιόλαδο, που έχουν καθιερωθεί από την ΕΕ, το Διεθνές Συμβούλιο Ελαιόλαδου, την Ισπανία και πολλές άλλες παραγωγές χώρες. Οι κατηγορίες ποιότητας που καθορίστηκαν από την ΕΕ αναφέρονται στον κανονισμό της Επιτροπής (ΕΟΚ) με αριθ. 2568/91 και τροποποιήθηκαν από τον (ΕΟΚ) 796/2002.

Το Διεθνές Συμβούλιο Ελαιόλαδου και η Ευρωπαϊκή Ένωση, με αποφάσεις τους που βασίζονται σε ορισμένα κριτήρια και χαρακτηριστικά, κατατάσσουν το ελαιόλαδο σε διάφορες κατηγορίες. Σύμφωνα με τους τελευταίους κανονισμούς, διακρίνονται οι εξής κατηγορίες ελαιόλαδου:

❖ **Παρθένα ελαιόλαδα**

Είναι τα ελαιόλαδα, τα οποία παραλαμβάνονται από τον ελαιόκαρπο μόνο με μηχανικά ή φυσικά μέσα και κατά την παραλαβή τους εφαρμόζονται συνθήκες, ιδίως θερμικές, οι οποίες δεν προκαλούν αλλοιώσεις στην ποιότητα τους.

Το ελαιόλαδο της κατηγορίας αυτής δεν έχει υποστεί καμία άλλη επεξεργασία πέραν της πλύσης, μετάγγισης, φυγοκέντρισης και διήθησης. Στην κατηγορία αυτή δεν περιλαμβάνονται τα εστεροποιημένα ελαιόλαδα, μείγματα άλλων λαδιών, ούτε αυτά τα οποία εκχυλίζονται με διαλύτη.

Τα παρθένα ελαιόλαδα κατάλληλα προς βρώση ως έχουν είναι τα παρακάτω:

❖ ***Εξαιρετικά παρθένο ελαιόλαδο***

Εκλεκτή ποιότητα παρθένου ελαιόλαδου, του οποίου η οξύτητα εκφρασμένη σε ελαϊκό οξύ δεν υπερβαίνει το 0,8%. Ο αριθμός των υπεροξειδίων εκφρασμένος σε meqO_2/kg ελαίου είναι μικρότερος ή ίσος του 20, η σταθερά K_{232} μικρότερη ή ίση με 2,50, η σταθερά K_{270} μικρότερη ή ίση με 0,22 και η σταθερά ΔK μικρότερη ή ίση με 0,01.

Η διάμεση τιμή του ελαττώματος στην οργανοληπτική αξιολόγηση είναι 0.

Θεωρείται το καλύτερο λάδι, καθώς είναι ένας απόλυτα φυσικός χυμός με υψηλή βιολογική αξία. Το εξαιρετικό παρθένο διατηρεί όλες τις αντιοξειδωτικές ουσίες του ελαιολάδου.

❖ ***Παρθένο ελαιόλαδο***

Είναι το παρθένο ελαιόλαδο του οποίου η οξύτητα εκφρασμένη σε ελαϊκό οξύ, δεν υπερβαίνει το 2%. Ο αριθμός των υπεροξειδίων και η τιμή ΔK καθορίζονται όπως στο εξαιρετικά παρθένο ελαιόλαδο, ενώ η τιμή K_{232} ορίζεται στα 2,60 και η K_{270} ορίζεται στα 0,25.

Η διάμεση τιμή του ελαττώματος στην οργανοληπτική αξιολόγηση είναι μεγαλύτερη του 0 και μικρότερη ή ίση του 2,5.

❖ ***Κοινό παρθένο ελαιόλαδο***

Παρθένο ελαιόλαδο του οποίου η οξύτητα, εκφρασμένη σε ελαϊκό οξύ, δεν υπερβαίνει το 3,3%.

Η συγκεκριμένη ονομασία μπορεί να πωλείται απευθείας στον τελικό καταναλωτή μόνο εφόσον αυτό επιτρέπεται στη χώρα όπου το προϊόν διατίθεται στο λιανικό εμπόριο. Εφόσον αυτό δεν επιτρέπεται, η ονομασία του προϊόντος πρέπει να είναι σύμφωνη με τις νομικές διατάξεις στην υπόψη χώρα.

❖ *Παρθένο ελαιόλαδο ακατάλληλο προς βρώση ως έχει, ονομαζόμενο και μειονεκτικό (lampante) παρθένο ελαιόλαδο.*

Είναι το παρθένο ελαιόλαδο με οξύτητα εκφρασμένη σε ελαϊκό οξύ, που υπερβαίνει το 2%. Η διάμεση τιμή του ελαττώματος της οργανοληπτικής αξιολόγησης μπορεί να είναι μεγαλύτερη του 2,5, ή μικρότερη ή ίση του 2,5, αν η διάμεση τιμή του φρουτώδους ισούται με 0.

Το ελαιόλαδο λαμπάντε είναι ακατάλληλο για κατανάλωση ως έχει και προορίζεται για ραφινάρισμα ή για βιομηχανική χρήση

❖ *Ραφιναρισμένο ελαιόλαδο ή εξευγενισμένο ελαιόλαδο*

Είναι το ελαιόλαδο, το οποίο παραλαμβάνεται μετά από ραφινάρισμα παρθένων ελαιολάδων και του οποίου η οξύτητα, εκφρασμένη σε ελαϊκό οξύ, δεν είναι δυνατό να υπερβαίνει τα 0,3g ανά 100g ελαιολάδου, ενώ παράλληλα δεν έχει υποστεί αλλαγές στην αρχική δομή των τριγλυκεριδίων. Ο αριθμός υπεροξειδίων εκφρασμένος σε meqO₂/kg ελαίου είναι μικρότερος ή ίσος με 5, η σταθερά K₂₇₀ μικρότερη ή ίση με 1,1 και η σταθερά ΔK μικρότερη ή ίση με 0,16.

❖ *Ελαιόλαδο*

Είναι το έλαιο το οποίο προκύπτει μετά από ανάμιξη εξευγενισμένου (ραφιναρισμένου) και παρθένου ελαιολάδου (εκτός από λαμπάντε) και του οποίου η οξύτητα, εκφρασμένη σε ελαϊκό οξύ, δεν υπερβαίνει το 1%. Ο αριθμός υπεροξειδίων εκφρασμένος σε meqO₂/kg ελαίου είναι μικρότερος ή ίσος με 15, η σταθερά K₂₇₀ μικρότερη ή ίση με 0,9 και η σταθερά ΔK μικρότερη ή ίση με 0,15.

(31,33)

Εκτός από τις παραπάνω κατηγορίες ελαιόλαδου υπάρχουν και οι εξής τρεις:

❖ ***Ακατέργαστο πυρηνέλαιο***

Είναι το λάδι που παραλαμβάνεται από τον ελαιοπυρήνα με διαλύτη και δεν περιλαμβάνει λάδια από εστεροποίηση ή μίγματα με άλλα είδη λαδιών. Το λάδι αυτό δεν μπορεί να καταναλωθεί ως έχει και θα πρέπει να υποστεί χημική επεξεργασία (ραφινάρισμα). Η οξύτητα του είναι μεγαλύτερη του 0,5, ενώ δεν υπάρχει όριο για το βαθμό οργανοληπτικής αξιολόγησης, τον αριθμό υπεροξειδίων και των σταθερών K_{270} και ΔK .

❖ ***Εξευγενισμένο πυρηνέλαιο***

Είναι το λάδι που παραλαμβάνεται με εξευγενισμό (ραφινάρισμα) ακατέργαστου πυρηνελαίου. Δεν υπάρχει όριο για το βαθμό οργανοληπτικής αξιολόγησης ενώ η μέγιστη οξύτητα του, είναι 0,3. Ο αριθμός υπεροξειδίων είναι μικρότερος ή ίσος του 5, η σταθερά K_{270} είναι μικρότερη ή ίση του 2,0 και η σταθερά ΔK μικρότερη ή ίση του 0,20.

❖ ***Πυρηνέλαιο***

Είναι μίγμα εξευγενισμένου (ραφιναρισμένου) πυρηνελαίου και παρθένου ελαιολάδου κατάλληλου για κατανάλωση. Δεν υπάρχει όριο για το βαθμό οργανοληπτικής αξιολόγησης ενώ η μέγιστη οξύτητα του, είναι 1,0. Ο αριθμός υπεροξειδίων είναι μικρότερος ή ίσος του 15, η σταθερά K_{270} είναι μικρότερη ή ίση του 1,70 και η σταθερά ΔK μικρότερη ή ίση του 0,18.

(33)

Πίνακας 1: Ανάλυση χαρακτηριστικών ελαιολάδου.

Χαρακτηριστικό	Ταυτότητα κάθε χαρακτηριστικού	Πληροφορίες που δίνει το κάθε χαρακτηριστικό	Παρατηρήσεις
Οξύτητα	Λιπαρά οξέα που βρίσκονται σε κατάσταση ελεύθερη κατάσταση κυρίως λόγω υδρόλυσης	Υψηλή οξύτητα συνήθως σημαίνει ότι το ελαιόλαδο προέρχεται από τάλαιπωρημένο ελαιόκαρπο ή ακατάλληλες συνθήκες ελαιοποίησης	Η οξύτητα υποδηλώνει υδρόλυση, οξείδωση ή ενζυματική δράση που υπέστη το ελαιόλαδο
Υπεροξειδία	Χημικές ενώσεις που δημιουργούνται από δράση του οξυγόνου στο ελαιόλαδο.	Τα υψηλά υπεροξειδία υποδηλώνουν ότι το ελαιόλαδο έχει υποστεί οξειδωτικές ή άλλες αλλοιώσεις	Τα υψηλά υπεροξειδία συνδέονται με μείωση της διάρκειας ζωής του ελαιόλαδου
Κηροί	Χημικές ενώσεις (εστέρες λιπαρών οξέων)	Ένδειξη παρουσίας πυρηνελαίου	Με την πάροδο του χρόνου αυξάνει η αρχική περιεκτικότητα τους στα υψηλής οξύτητας μειονεκτικά παρθένα ελαιόλαδα
Κορεσμένα λιπαρά οξέα στη θέση 2	Χημικές ενώσεις (λιπαρά οξέα τριγλυκεριδίων)	Παρουσία εστεροποιημένων «συνθετικών» ελαίων	Ανιχνεύεται με μέθοδο που βασίζεται σε ενζυματική δράση
Στιγμασταδιένια	Χημικές ενώσεις (στυρένεια)	Ένδειξη παρουσίας ραφινέ ελαίων σε παρθένα ελαιόλαδα	Εντοπίζεται με ευαίσθητη μέθοδο ανίχνευσης εξευγενισμένων ελαίων σε παρθένα ελαιόλαδα
ΔECN ₄₂	Διαφορά θεωρητικής και πειραματικής περιεκτικότητας τριγλυκεριδίων, με ισοδύναμο αριθμό ατόμων άνθρακα 42	Ένδειξη παρουσίας σπορελαίων	
K ₂₃₂	Συντελεστές απορρόφησης υπεριώδους σε μήκος κύματος 232 nm	Δείκτης αρχικών σταδίων οξείδωσης	Ανιχνεύεται με φασματομετρική μέθοδο ελέγχου
K ₂₇₀	Συντελεστές απορρόφησης υπεριώδους σε μήκος κύματος 270 nm	Δείκτης προχωρημένου σταδίου οξείδωσης	Δεδομένου ότι ορισμένα ραφινέ σπορέλαια παρουσιάζουν υψηλές τιμές K ₂₇₀ , η παράμετρος αυτή είναι δυνατόν να

			πληροφορεί και για πιθανή νοθεία με σπορέλαια ή και εξευγενισμένα ελαιόλαδα
ΔΚ	Μαθηματική σχέση Υπολογισμού συντελεστών απορρόφησης υπεριώδους ακτινοβολίας		Δεδομένου ότι τα ραφινέ σπορέλαια έχουν υψηλές τιμές ΔΚ, η παράμετρος αυτή δίνει επιπλέον πληροφορίες για τυχόν νοθεία με σπορέλαια
Οργανοληπτική αξιολόγηση	Στατιστική μέθοδος προσδιορισμού οργανοληπτικών χαρακτηριστικών		
Μυριστικό, λινιλενικό, αραχιδικό, εικοσενικό, βεχενικό, λιγνοκηρικό οξύ	Χημικές ενώσεις (λιπαρά οξέα)	Περιεκτικότητες μεγαλύτερες των ποσοστών των επιτρεπτών ορίων, υποδηλώνουν αντίστοιχα την παρουσία κάποιου σπορελαίου	
Trans ισομερή λιπαρά οξέα	Χημικές ενώσεις λιπαρά οξέα	Ενδειξη παρουσίας ραφινέ ελαίων σε παρθένα ελαιόλαδα	Επίσης ένδειξη δραστηκών συνθηκών επεξεργασίας
Χοληστερόλη	Χημικές ενώσεις (στερόλη)	Πιθανή ένδειξη παρουσίας ζωικού λίπους	
Βρασικαστερόλη	Χημικές ενώσεις (στερόλη)	Πιθανή ένδειξη παρουσία σπορελαίου	Συνήθως κραιμβελαίου
Καμπεστερόλη	Χημικές ενώσεις (στερόλη)	Πιθανή ένδειξη παρουσία σπορελαίου	
Στιγμαστερόλη	Χημικές ενώσεις (στερόλη)	Πιθανή ένδειξη παρουσία σπορελαίου	
Συνολική β-στιγμαστενόλη	Χημικές ενώσεις (στερόλη)	Πιθανή ένδειξη παρουσία σπορελαίου	Ορισμένα ελαιόλαδα και πυρηνέλαια παρουσιάζουν από την φύση τους αποκλίσεις από τα όρια του κανονισμού
δ7-στιγμαστενόλη	Χημικές ενώσεις (στερόλη)	Πιθανή ένδειξη παρουσία σπορελαίου	Ορισμένα ελαιόλαδα και πυρηνέλαια παρουσιάζουν από την φύση τους αποκλίσεις από τα όρια του κανονισμού
Συνολικές στερόλες	Ποσότητα (mg) στερολών σε 1 κιλό ελαίου	Πιθανή ένδειξη παρουσία σπορελαίου ή και πυρηνελαίων	
Ερυθροδιόλη και	Χημικές ενώσεις	Πιθανή ένδειξη	Ορισμένα ελαιόλαδα

Ουβαόλη	τριτερπενικές διαλκοόλες	παρουσία πυρηνελαιίου	παρουσιάζουν αποκλίσεις από τα όρια του κανονισμού
Αλογονομένοι διαλύτες	Χημικές ενώσεις (φρεον, τριχλωροαιθάνιο, τριχλωροαιθυλένιο...)	Επιμόλυνση του ελαιόλαδου με διάφορες τοξικές ουσίες	Η μόλυνση μπορεί να οφείλεται στο υπερχλωριωμένο νερό, σε δοχεία από τοξικές ουσίες που χρησιμοποιήθηκαν για την αποθήκευση ελαιολάδων, στη χρήση ακατάλληλων χημικών κατά τον καθαρισμό ελαιουργικών μηχανημάτων κ.λπ.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4^ο

Μέθοδοι χημικής ανάλυσης ελαιόλαδου

Η γνησιότητα και η ποιότητα των ελαιολάδων προσδιορίζονται με βάση τα φυσικοχημικά και οργανοληπτικά χαρακτηριστικά τους, όπως αυτά προβλέπονται στον Καν. (ΕΟΚ) 2568/91. Προκειμένου τα χαρακτηριστικά αυτά να ελέγχονται με ενιαίο τρόπο, ο ίδιος κανονισμός καθορίζει και τις μεθόδους χημικής ανάλυσης και οργανοληπτικής αξιολόγησης.

Ο κανονισμός (ΕΕ) Νο 1989/2003, ο οποίος τροποποιεί τον κανονισμό (ΕΟΚ) Νο 2568/91, προσδιορίζει ένα διάγραμμα ροής (δενδρόγραμμα απόφασης) προκειμένου να καθοριστεί ο ελάχιστος αριθμός αναλύσεων που απαιτείται για την κατάταξη του ελαιολάδου σε κάποια από τις κατηγορίες ποιότητας του. (3)

1. Προσδιορισμός της οξύτητας

Ο βαθμός υδρόλυσης των τριγλυκεριδίων του ελαιολάδου και των άλλων λιπαρών υλών, υπολογίζεται με τον προσδιορισμό της οξύτητας, δηλαδή των ελεύθερων λιπαρών οξέων τα οποία περιέχονται στο έλαιο. Η οξύτητα διαμορφώνει την εμπορική αξία του ελαιολάδου και αποτελεί το κυριότερο κριτήριο ποιοτικής αξιολόγησης του. (1)

Αρχή

Διαλύεται το δείγμα σε μείγμα διαλυτών και τα περιεχόμενα ελεύθερα λιπαρά οξέα ογκομετρούνται χρησιμοποιώντας διάλυμα υδροξειδίου του καλίου σε αιθανόλη.

Όργανα

Για τον προσδιορισμό της οξύτητας χρησιμοποιούμε:

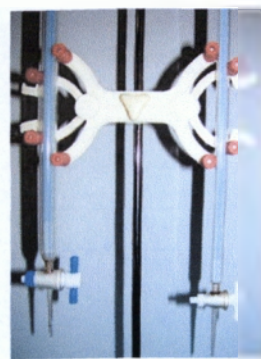
- Κωνικές φιάλες (Erlenmeyer) των 250ml
- Αναλυτικό ζυγό
- Προχοΐδα των 10ml, βαθμονομημένη ανά 0,05ml



Εικόνα 1: κωνική φιάλη (Erlenmeyer), 250ml.



Εικόνα 2: Αναλυτικός ζυγός.



Εικόνα 3: προχοϊδες.

Αντιδραστήρια

Όλα τα αντιδραστήρια πρέπει να είναι αναγνωρισμένης αναλυτικής καθαρότητας και το χρησιμοποιούμενο νερό να είναι απεσταγμένο ή ισοδύναμης καθαρότητας.

- Μείγμα διαιθυλαιθέρος αιθανόλης 95% (σε αναλογία 1:1 V/V).

Το μείγμα εξουδετερώνεται ακριβώς τη στιγμή χρησιμοποίησής του με διάλυμα υδροξειδίου του καλίου, με την προσθήκη 0,3ml διαλύματος φαινολοφθαλεΐνης ανά 100ml μείγματος.

Ο διαιθυλεθαίρας μπορεί να αντικατασταθεί από μείγμα διαλυτών που περιέχει αιθανόλη και τολουόλιο. Η αιθανόλη μπορεί να αντικατασταθεί από 2-προπανόλη.

Προσοχή: Ο διαιθυλαιθέρας είναι εξαιρετικά εύφλεκτος και μπορεί να σχηματίσει εκρηκτικά υπεροξειδία. Πρέπει να λαμβάνεται ειδική μέριμνα κατά τη χρήση του. Για τον λόγο αυτό μπορεί να γίνει χρήση μόνο αλκοόλης και υδατικού διαλύματος υδροξειδίου του νατρίου (NaOH) σαν υποκατάστατο του KOH ώστε να παράγονται αποτελέσματα με ασφάλεια για τους χρήστες. Στην περίπτωση αυτή η πραγματική ακρίβεια της μέτρησης από 0,1% μειώνεται στο 0,2%, ακρίβεια, που κρίνεται ικανοποιητική σε επίπεδο αγοράς. (47)

Σημείωση: Τα λίπη και τα έλαια είναι από τα προϊόντα τα οποία είναι τελείως αδιάλυτα στο νερό, ενώ διαλύονται εύκολα στον αιθέρα, τετραχλωράνθρακα κ.λ.π.. Τα περισσότερα όμως από τα υπόλοιπα συστατικά των τροφίμων, εκτός μικρών ποσοτήτων κηρών, ρητίνων και των λιποδιαλυτών χρωστικών, όπως της χλωροφύλλης, είναι αδιάλυτα στους εν λόγω οργανικούς διαλύτες (5).

- Πρότυπο διάλυμα υδροξειδίου του καλίου σε αιθανόλη, κανονικότητας περίπου 0,1mol/l.

Η ακριβής συγκέντρωση του αιθανολικού διαλύματος υδροξειδίου του καλίου πρέπει να είναι γνωστή και να έχει ελεγχθεί ακριβώς πριν χρησιμοποιηθεί. Χρησιμοποιείται διάλυμα παρασκευασμένο τουλάχιστον 5 μέρες πριν από την χρήση και αποθηκευμένο σε σκούρα (καστανή) γυάλινη φιάλη με ελαστικό πώμα. Το διάλυμα πρέπει να είναι άχρωμο ή χρώματος αμυδρού κίτρινου.

Εάν η απαραίτητη ποσότητα διαλύματος του υδροξειδίου του καλίου 0,1mol/l υπερβαίνει τα 10ml, χρησιμοποιείται ένα διάλυμα 0,5mol/l.

Παρασκευή διαλύματος υδροξειδίου του καλίου (KOH).

Φέρονται σε βρασμό 1000 ml αιθανόλης με 8 gr υδροξειδίου του καλίου και 0,5gr ρίνισμα των αργιλίου και συνεχίζεται επί μια ώρα ο βρασμός με κάθετο ψυκτήρα. Εκτελείται αμέσως διήθηση. Διαλύεται μέσα στο διήθημα η απαιτούμενη ποσότητα υδροξειδίου του καλίου. Αφήνονται επί αρκετές ημέρες και το διαυγές υπερκείμενο υγρό διαχωρίζεται με έκχυση από το ίζημα ανθρακικού καλίου.

Το διάλυμα μπορεί να παρασκευαστεί επίσης χωρίς διήθηση με τον εξής τρόπο: Σε 1000ml αιθανόλης προστίθενται 4ml βουτυλικού αργιλίου και το μείγμα αφήνεται επί αρκετές ημέρες. Το υπερκείμενο υγρό εκχύεται και διαλύεται η απαιτούμενη ποσότητα υδροξειδίου του καλίου. Το διάλυμα είναι έτοιμο προς χρήση.

Το αιθανολικό διάλυμα υδροξειδίου του καλίου μπορεί να αντικατασταθεί από ένα υδατικό διάλυμα υδροξειδίου του καλίου ή του νατρίου, εφόσον ο όγκος του εισαχθέντος ύδατος δεν επιφέρει διαχωρισμό των φάσεων.

- Διάλυμα φαινολοφθαλεΐνης 10g/l σε αιθανόλη 95-96% V/V ή διάλυμα κυανούν της βρωμοφαινόλης 20 g/l σε αιθανόλη 95-96%V/V (σε περίπτωση λιπών με έντονο χρώμα)

Διαδικασία

Παρασκευή δείγματος προς ανάλυση:

Ο προσδιορισμός πραγματοποιείται επί του διηθημένου δείγματος. Εάν η συνολική περιεκτικότητα σε υγρασία και ξένες προσμείξεις είναι μικρότερη του 1%, ο

προσδιορισμός πραγματοποιείται επί του δείγματος όπως έχει. Για την διήθηση του δείγματος χρησιμοποιούμε διηθητικό χαρτί.



Εικόνα 4. Διήθηση ελαιόλαδου.



Εικόνα 5: Ζύγιση δείγματος

Ποσότητα του δείγματος δοκιμής.

Η ποσότητα του δείγματος δοκιμής είναι ανάλογη με την αναμενόμενη οξύτητα, σύμφωνα με τον ακόλουθο πίνακα :

Πίνακας 1. Ποσότητα δείγματός δοκιμής για τον προσδιορισμό της οξύτητας.

Αναμενόμενος δείκτης οξύτητας	Μάζα δείγματος δοκιμής (g)	Ακρίβεια ζύγισης δείγματος δοκιμής
<1	20	0,05
1 μέχρι 4	10	0,02
4 μέχρι 15	2,5	0,01
15 μέχρι 75	0,5	0,001
>75	0,1	0,0002

Το δείγμα δοκιμής ζυγίζεται στην κωνική φιάλη.

Προσδιορισμός

Το δείγμα δοκιμής διαλύεται σε 50 ως 150 ml του προηγούμενα εξουδετερωμένου μείγματος διαιθυλαιθέρος της αιθανόλης.

Ογκομετρείται με το διάλυμα 0,1 mol υδροξειδίου του καλίου έως ότου αλλάξει χρώμα ο δείκτης. Η ογκομέτρηση γίνεται με στάγδην προσθήκη του διαλύματος υδροξειδίου του καλίου και ισχυρή ανακίνηση της φιάλης , μέχρι να εμφανιστεί ρόδινο χρώμα ίδιο με αυτό που εμφάνισε η αιθανόλη στα ισοδύναμο σημείο της εξουδετέρωσης. Το ρόδινο χρώμα της φαινολοφθαλεΐνης πρέπει να επικρατήσει για τουλάχιστον 10 δευτερόλεπτα.

Εάν το διάλυμα θολώνει κατά την ογκομέτρηση, προστίθεται μια ικανοποιητική ποσότητα μείγματος διαλυτών προκειμένου να επιτευχθεί ένα διαυγές διάλυμα.



(α)

(β)

Εικόνα 6. Δείγμα πριν την ογκομέτρηση (α), Δείγμα μετά την ογκομέτρηση, (αλλαγή χρώματος) (β).

Το τιτλοδοτημένο αιθανολικό διάλυμα υδροξειδίου του καλίου δύναται να αντικατασταθεί από ένα υδατικό διάλυμα υδροξειδίου του καλίου ή του νατρίου, εφόσον ο όγκος του εισαχθέντος ύδατος δεν επιφέρει διαχωρισμό των φάσεων.

Έκφραση της οξύτητας επί τοις % συγκέντρωσης ελαϊκού οξέος.

Η οξύτητα εκφρασμένη σε κατά βάρος εκατοστιαία αναλογία, ισούται με:

$$\frac{V \times C \times M}{100} \times 100 = \frac{V \times C \times M}{10 \times m}$$

Όπου:

V : είναι ο όγκος σε χιλιοστόμετρα, του τιτλοδοτημένου διαλύματος υδροξειδίου του καλίου που έχει χρησιμοποιηθεί.

C: είναι η ακριβής συγκέντρωση, σε moles ανά λίτρο, του τιτλοδοτημένου διαλύματος υδροξειδίου του καλίου που έχει χρησιμοποιηθεί.

M : είναι το γραμμομοριακό βάρος σε γραμμάρια ανά mole, του οξέος που χρησιμοποιήθηκε για την έκφρασή του αποτελέσματος (ελαϊκό οξύ M.B.=282).

m :είναι το βάρος σε γραμμάρια του δείγματος δοκιμής.

Ως αποτέλεσμα λαμβάνεται ο αριθμητικός μέσος όρος δύο προσδιορισμών. (47)

2.Προσδιορισμός του αριθμού υπεροξειδίων

Ο αριθμός υπεροξειδίων εκφράζει την ποσότητα αυτών των συστατικών του δείγματος (εκφρασμένη σε χίλιοστοϊστοδύναμα ενεργού οξυγόνου ανά kg) που οξειδώνουν το ιωδιούχο κάλιο κάτω από τις περιγραφόμενες συνθήκες ανάλυσης. (3)

Αρχή

Το ληφθέν δείγμα διαλύεται σε μείγμα οξικού οξέος και χλωροφόρμιου και προστίθεται διάλυμα ιωδιούχου καλίου. Ογκομέτρηση του απελευθερωμένου ιωδίου με πρότυπο διάλυμα θειοθειικού νατρίου.

Όργανα

- Γυάλινο κουτάλι των 3ml.
- Εσφυριμένες φιάλες με πώματα, χωρητικότητας περίπου 250ml, οι οποίες προηγουμένως έχουν ξηρανθεί και στις οποίες έχει διαβιβασθεί αδρανές αέριο (άζωτο ή, προτιμότερα, διοξείδιο του άνθρακα).
- Προχοΐδα των 25 ή 50ml, βαθμολογημένη ανά 0,1ml.

Όλος ο χρησιμοποιούμενος εξοπλισμός πρέπει να είναι απαλλαγμένος αναγωγικών ή οξειδωτικών ουσιών.

Αντιδραστήρια

- Χλωροφόρμιο, αναλυτικής καθαρότητας, απαλλαγμένο οξυγόνου με διοχέτευση υπό πίεση, μέσα από αυτό, ρεύματος καθαρού, ξηρού αδρανούς αερίου.
- Κρυσταλλικό οξικό οξύ, αναλυτικής καθαρότητας, απαλλαγμένο οξυγόνου με διοχέτευση υπό πίεση, μέσα από αυτό, ρεύματος καθαρού, ξηρού αερίου.
- Κεκορεσμένο υδατικό διάλυμα KI προσφάτως παρασκευασθέν, απαλλαγμένο από ιώδιο και ιωδικά.
- Κεκορεσμένο υδατικό διάλυμα θειοθειικού νατρίου 0,01 ή 0,002N, τιτλοδοτημένο μόλις πριν χρησιμοποιηθεί.
- Υδατικό διάλυμα αμύλου 10g/l, πρόσφατα παρασκευασμένο από φυσικό διαλυτό άμυλο.

Δείγμα

Να ληφθεί μέριμνα για την παραλαβή και διατήρηση του δείγματος , μακριά από φως, θερμότητα και σε εντελώς γεμάτα γυάλινα δοχεία, ερμητικά σφραγισμένα με πώματα, από αδιαφανές γυαλί ή φελλό.

Πορεία αναλύσεως

Ζυγίζεται, με ακρίβεια 0,001g, ποσότητα του δείγματος σύμφωνα με τον ακόλουθο πίνακα, ανάλογα με τον αναμενόμενο αριθμό υπεροξειδίων.

Πίνακας 2.

Αναμενόμενος αριθμός υπεροξειδίων mEq	Βάρος δείγματος σε gr
0-12	5.0-2.0
12-20	2.0-1.2
20-30	1.2-0.8
30-50	0.8-0.5
50-90	0.5-0.3

Αποποματίζετε μια φιάλη και εισάγεται η ζυγισθείσα ποσότητα του δείγματος. Προστίθενται 10ml χλωροφορμίου. Διαλύεται το δείγμα γρήγορα με ανάδευση. Προστίθενται 15 ml οξικού οξέος, κατόπιν 1ml διαλύματος ιωδιούχου καλίου. Πωματίζεται γρήγορα, γίνεται ανάδευση επί ένα λεπτό, και αφήνεται για 5 λεπτά ακριβώς, μακριά από το φως σε θερμοκρασία 15 έως 25°C.

Προστίθενται περίπου 75ml αποσταγμένου νερού. Το απελευθερούμενο ιώδιο ογκομετρείται με το διάλυμα του θειοθειικού νατρίου (διάλυμα 0,002N για αναμενόμενες τιμές μικρότερες από 12 mEq και διάλυμα 0,01N για αναμενόμενες τιμές πάνω από 12 mEq) με ζωηρή ανάδευση, χρησιμοποιώντας διάλυμα αμύλου σαν δείκτη.

Εκτελούνται δυο προσδιορισμοί στον ίδιο δοκιμαστικό δείγμα.

Εκτελείται ταυτόχρονα λευκός προσδιορισμός (τυφλός). Εάν το αποτέλεσμα του τυφλού ξεπερνά το 0,05ml διαλύματος 0.01N θειοθειικού νατρίου, αντικαθίστανται τα αντιδραστήρια.

Έκφραση των αποτελεσμάτων

Ο αριθμός υπεροξειδίων (AY), εκφρασμένος σε χιλιοστοϊστοδύναμα ενεργού οξυγόνου ανά kg δίνεται από τη σχέση:

$$AY = \frac{V \times T \times 1000}{m}$$

m

όπου V = ο αριθμός των ml του πρότυπου διαλύματος θειοθειικού νατρίου χρησιμοποιούμενου για την ογκομέτρηση, μετά την αφαίρεση του λευκού.

T = είναι η ακριβής κανονικότητα του διαλύματος θειοθειικού νατρίου που χρησιμοποιείται.

m = το βάρος του δείγματος σε gr.

Σαν αποτέλεσμα λαμβάνεται ο αριθμητικός μέσος των δύο εκτελεσθέντων προσδιορισμών.

(48)

3.Προσδιορισμός των περιεχομένων αλειφατικών αλκοολών δια αερίου χρωματογραφίας με τριχοειδή στήλη 1.

Αντικείμενο

Η μέθοδος περιγράφει διαδικασία προσδιορισμού των περιεχομένων αλειφατικών αλκοολών μεμονωμένων και ολικών λιπαράς ουσίας.

Αρχή μεθόδου

Η λιπαρή ουσία, με προσθήκη 1-εικοσανόλης , ως εσωτερικό πρότυπο, σαπωνοποιείται με διάλυμα υδροξειδίου του καλίου σε αιθανόλη, έπειτα τα ασαπωνοποίητα συστατικά εκχυλίζονται με αιθυλαιθέρα. Το κλάσμα των αλκοολών διαχωρίζεται από τα σαπωνοποίητα συστατικά δια χρωματογραφίας επί βασικής πλάκας silica gel, οι ανακτώμενες αλκοόλες από το silica gel μετατρέπονται σε τριμεθυλοσιλυλαιθέρες και αναλύονται δια χρωματογραφίας αέριας φάσης σε τριχοειδή στήλη.

Εξοπλισμός

- Σφαιρική φιάλη 250 ml που φέρει κάθετο ψυκτήρα με εσφυρισμένα άκρα.

- Διαχωριστική χοάνη 500 ml.
- Σφαιρικές φιάλες 250 ml.
- Πλήρης εξοπλισμός για χρωματογραφία λεπτής στιβάδας, με γυάλινες πλάκες 20 × 20 cm.
- Λυχνία υπεριώδους, μήκους κύματος 366 ή 254 nm.
- Μικροσύριγγες 100 και 500 ml.
- Κυλινδρική διηθητική χοάνη με πορώδη ηθμό G3 (πορώδες 15 έως 40 μm) διαμέτρου περίπου 2 cm και ύψους 5 cm, με κατάλληλο άκρο για διήθηση υπό κενό και αρσενικό εσφυρισμένο άκρο 12/21.
- Φιάλη κενού των 50 ml με θηλυκό εσφυρισμένο άκρο 12/21 κατάλληλο για τη διηθητική χοάνη (3.7).
- Σωλήνας με κωνικό πυθμένα, των 10 ml, με πώμα ασφαλείας.
- Χρωματογράφος αέριας φάσης κατάλληλος για λειτουργία με τριχοειδή στήλη, εφοδιασμένος με σύστημα κλασμάτωσης, αποτελούμενος από:
 - ◊ Θερμοστατούμενο θάλαμο για τη στήλη, που επιτρέπει τη διατήρηση της επιθυμητής θερμοκρασίας με ακρίβεια περίπου 1 °C.
 - ◊ Σύστημα έγχυσης με ρυθμιζόμενη θερμοκρασία και είσοδο από υπερσιλανισμένο γυαλί.
 - ◊ Ανιχνευτής ιονισμού φλόγας και μετατροπέας-ενισχυτής.
 - ◊ Καταγραφέας-ολοκληρωτής κατάλληλος για λειτουργία με μετατροπέα-ενισχυτή με χρόνο απόκρισης το πολύ ένα δευτερόλεπτο και με μεταβλητή ταχύτητα χαρτιού.
 - ◊ Τριχοειδής στήλη από γυαλί ή από τετηγμένο διοξείδιο του πυριτίου, μήκους 20 έως 30 μέτρων, εσωτερικής διαμέτρου 0,25 έως 0,32 mm, καλυμμένη εσωτερικά από υγρό SE-52 ή SE-54 ή ισοδύναμο, με πάχος μεταξύ 0,10 και 0,30 μm.
- Μικροσύριγγα για χρωματογραφία αέριας φάσης των 10 ml με εσκληρυμένη βελόνη.
- Ζυγός ακριβείας με ευαισθησία 1 mg (με ένδειξη 0,1 mg).

Αντιδραστήρια

- Αιθανολικό διάλυμα υδροξειδίου του καλίου περίπου 2N : διαλύονται, ψύχοντας ταυτόχρονα, 130 g υδροξειδίου του καλίου (κατώτατου τίτλου 85 %) σε 200 ml απεσταγμένου ύδατος, και συμπληρώνονται με αιθανόλη μέχρι το ένα λίτρο. Το διάλυμα διατηρείται σε σκοτεινές φιάλες, καλά κλεισμένες.
- Αιθυλικός αιθέρας, αναλυτικής καθαρότητας.
- Άνυδρο θειικό νάτριο, αναλυτικής καθαρότητας.
- Γυάλινες πλάκες καλυμμένες με silica gel, χωρίς δείκτη φθορισμού, πάχους 0,25 mm (διατίθενται στο εμπόριο ήδη έτοιμες προς χρήση).

- Αιθανολικό διάλυμα, υδροξειδίου του καλίου 0,2 N : διαλύονται 13 g υδροξειδίου του καλίου σε 20 ml απεσταγμένου ύδατος και συμπληρώνονται με αιθανόλη μέχρι το ένα λίτρο.
- Βενζόλιο, χρωματογραφικής καθαρότητας.
- Ακετόνη, χρωματογραφικής καθαρότητας.
- Εξάνιο, χρωματογραφικής καθαρότητας.
- Αιθυλικός αιθέρας, χρωματογραφικής καθαρότητας.
- Χλωροφόρμιο, αναλυτικής καθαρότητας.
- Διάλυμα αναφοράς για χρωματογραφία λεπτής στοιβάδος. Ένα διάλυμα % μείγματος αλκοολών C20 έως C28 σε χλωροφόρμιο.
- Αιθανολικό διάλυμα 2,7-διγλωροφλουορεσκίνης 0,2 %. Καθίσταται ελαφρώς αλκαλικό δια της προσθήκης μερικών σταγόνων αλκοολικού διαλύματος 2N υδροξειδίου του καλίου.
- Άνυδρη πυριδίνη, χρωματογραφικής καθαρότητας.
- Εξαμεθυλοδισιλαζάνιο.
- Τριμεθυλογλωροσιλάνιο.
- Πρότυπα διαλύματα τριμεθυλοσιλαιθέρων των αλειφατικών αλκοολών από C20 έως C28. Πρέπει να παρασκευάζονται κατά τη στιγμή της χρήσης τους από μείγματα καθαρών αλκοολών.
- Διάλυμα 0,1 % (m/V) εικοσανόλης-1 σε χλωροφόρμιο (εσωτερικό πρότυπο).
- Φέρον αέριον: υδρογόνο ή ήλιο χρωματογραφικής καθαρότητας.
- Βοηθητικά αέρια: υδρογόνο, χρωματογραφικής καθαρότητας.

Διαδικασία

Παρασκευή των ασαπωνοποιήτων συστατικών

Εισάγεται στη σφαιρική φιάλη των 250 ml, με σιφόνιο, όγκος διαλύματος 1-εικοσανόλης 0,1 % σε χλωροφόρμιο, που περιέχει ποσότητα 1-εικοσανόλης που αντιστοιχεί στο 10 % περίπου των περιεχομένων αλειφατικών αλκοολών στο δείγμα που πρέπει να ληφθεί για τον προσδιορισμό. Για παράδειγμα, για 5 g δείγματος, πρέπει να προστεθούν 250 ml του διαλύματος 1-εικοσανόλης 0,1 % αν πρόκειται για δείγμα ελαιόλαδου ή σπορέλαιου, και 1500 ml, αν πρόκειται για έλαιο ελαιοπυρήνων.

Εξατμίζεται το χλωροφόρμιο σε ρεύμα αζώτου μέχρι να ξηρανθεί και ζυγίζονται με ακρίβεια 5 g ξηρού διηθημένου δείγματος στην ίδια σφαιρική φιάλη.

Προστίθενται 50 ml αιθανολικού διαλύματος υδροξειδίου του καλίου 2 N, συνδέεται ο κάθετος ψυκτήρας, θερμαίνεται σε υδρόλουτρο μέχρις ελαφράς ζέσεως, εξακολουθώντας να αναταράσσεται ισχυρώς έως ότου περατωθεί η σαπωνοποίηση (το διάλυμα καθίσταται διαυγές). Εξακολουθεί η θέρμανση επί 20 λεπτά, έπειτα προστίθενται 50 ml απεσταγμένου νερού από το επάνω μέρος του ψυκτήρα, αποσυνδέεται ο ψυκτήρας και ψύχεται η σφαιρική φιάλη περίπου σε 30°C.

Μεταγγίζεται ποσοτικώς το περιεχόμενο της σφαιρικής φιάλης σε διαχωριστική χοάνη των 500 ml, με τη βοήθεια απεσταγμένου ύδατος, πολλές φορές, χρησιμοποιώντας συνολικά περίπου 50 ml. Προστίθενται περίπου 80 ml αιθυλαιθέρα, αναταράσσεται ισχυρώς επί 30 δευτερόλεπτα περίπου και αφήνεται να γίνει ο διαχωρισμός (Σημείωση 1).

Διαχωρίζεται η κάτω υδατική φάση συλλέγοντάς την σε άλλη διαχωριστική χοάνη. Πραγματοποιούνται δύο ακόμη εκχυλίσσεις στην υδατική φάση, κατά τον ίδιο τρόπο, χρησιμοποιώντας κάθε φορά 60-70 ml αιθυλαιθέρα.

Σημείωση 1: Τα γαλακτώματα που ενδεχομένως δημιουργηθούν καταστρέφονται προσθέτοντας πολύ μικρή ποσότητα αιθυλικής ή μεθυλικής αλκοόλης.

Συγκεντρώνονται τα αιθερικά εκχυλίσματα σε μία μόνο διαχωριστική χοάνη και πλένονται με απεσταγμένο νερό (50 ml κάθε φορά) μέχρις ουδέτερης αντίδρασης του νερού πλύσης.

Απομακρύνεται το νερό της πλύσης, στεγνώνονται τα αιθερικά εκχυλίσματα με άνυδρο θειικό νάτριο και διηθούνται, επί άνυδρου θειικού νατρίου- σε προζυγισμένη σφαιρική φιάλη 250 ml πλένοντας φύσιγγα και φίλτρο με μικρές ποσότητες αιθυλικού αιθέρα. Μπορεί επίσης να χρησιμοποιηθεί ενεικοσανόλη-1.

Αποστάζεται ο αιθέρας έως ότου απομείνει μικρή ποσότητα, έπειτα ξηραίνεται υπό ελαφρό κενό ή σε ρεύμα αζώτου, ολοκληρώνεται η ξήρανση στον κλίβανο 100°C επί ένα τέταρτο της ώρας περίπου και ζυγίζεται αφού ψυχθεί σε ξηραντήρα.

Διαχωρισμός του κλάσματος των αλκοολών.

Προετοιμασία των βασικών πλακών: εμβαπτίζονται οι silica gel πλάκες, τελείως, στο αιθανολικό διάλυμα 0,2 N υδροξειδίου του καλίου επί 10 δευτερόλεπτα, έπειτα

αφήνονται να στεγνώσουν για δύο ώρες σε σκοτεινό θάλαμο και τέλος τοποθετούνται οι πλάκες σε κλίβανο 100°C επί μία ώρα.

Αποσύρονται από τον κλίβανο σε ξηραντήρα με χλωριούχο ασβέστιο έως ότου χρησιμοποιηθούν (οι πλάκες που έχουν επεξεργαστεί κατ' αυτόν τον τρόπο πρέπει να χρησιμοποιηθούν εντός 15 ημερών).

Σημείωση 2: Η χρήση βασικών πλακών silica gel για το διαχωρισμό του κλάσματος των αλκοολών καταργεί την ανάγκη επεξεργασίας των ασαπωνοποίητων συστατικών με αλουμίνα. Κατ' αυτόν τον τρόπο, όλα τα όξινα συστατικά (λιπαρά οξέα και άλλα) συγκρατούνται στη γραμμή εναπόδεσης. Λαμβάνεται έτσι η στοιβάδα των αλειφατικών και τεπρενικών αλκοολών που διαχωρίζεται σαφώς από την στοιβάδα των στερολών.

Τοποθετείται στο θάλαμο αναπτύξεως μείγμα βενζολίου-ακετόνης 95/5 (V/V) μέχρι περίπου το ύψος του 1 cm. Μπορεί αντί αυτού να χρησιμοποιηθεί και μείγμα εξανίου-αιθυλικού αιθέρα 65/35 (V/V). Σκεπάζεται ο θάλαμος και αφήνεται τουλάχιστον μισή ώρα, ώστε να αποκατασταθεί η ισορροπία υγρού/ατμού. Είναι δυνατόν να τοποθετηθούν, στα εσωτερικά τοιχώματα του θαλάμου, λωρίδες διηθητικού χάρτου βυθισμένες στο υγρό αναπτύξεως. Με τον τρόπο αυτό θα ελαττωθεί στο ένα τρίτο ο χρόνος μετακίνησης του μετώπου του υγρού και θα επιτευχθεί πιο ομοιόμορφη έκλουση.

Σημείωση 3: Προκειμένου να υπάρχουν συνθήκες έκλουσης που να μπορούν να αναπαραχθούν, το μείγμα πρέπει να αλλάζεται σε κάθε δοκιμή.

Παρασκευάζεται διάλυμα 5 % περίπου των ασαπωνοποίητων συστατικών σε χλωροφόρμιο. Με μικροσύριγγα των 10 ml τοποθετείται επί της χρωματογραφικής πλάκας σε απόσταση 2 cm από το ένα άκρο, 0,3 ml του προαναφερθέντος διαλύματος σε συνεχή γραμμή, όσο γίνεται πιο λεπτή και ομοιόμορφη. Στην ίδια ευθεία με τη γραμμή εναπόθεσης, τοποθετούνται, στο ένα άκρο της πλάκας, 2-3 ml του διαλύματος αναφοράς των αλειφατικών αλκοολών, προκειμένου να προσδιοριστεί η στοιβάδα των αλειφατικών αλκοολών μετά το πέρας της ανάπτυξης.

Τοποθετείται η πλάκα, που προετοιμάστηκε όπως περιγράψαμε παραπάνω, στο θάλαμο αναπτύξεως. Η θερμοκρασία του χώρου πρέπει να διατηρείται μεταξύ 15 και 20 °C. Κλείνεται αμέσως ο θάλαμος με το σκέπασμα και αφήνεται να αναπτυχθεί

μέχρις ότου το μέτωπο του διαλύτου ανέλθει σε ύψος 1 cm κάτω από το άνω άκρο της πλάκας. Εξάγεται έπειτα η πλάκα από το θάλαμο αναπτύξεως και ακολουθεί εξάτμιση του διαλύτη εντός ρεύματος θερμού αέρα ή αφήνοντας την πλάκα, για λίγο, σε απαγωγή.

Ψεκάζεται η πλάκα ελαφρά και ομοιόμορφα με το διάλυμα της 2,7-διχλωροφλουορεσκεΐνης. Ταχτοποιείται η στοιβάδα των αλειφατικών αλκοολών, χάρη στην ευθυγράμμιση με την κηλίδα που λαμβάνεται με το διάλυμα αναφοράς-σημειώνεται με μαύρο μολύβι το σύνολο της στοιβάδας των αλειφατικών αλκοολών και της αμέσως ανώτερης που αντιστοιχεί στις τερπενικές αλκοόλες.

Σημείωση 4: Η διευκρίνιση να ληφθεί μαζί με τη στοιβάδα των αλειφατικών αλκοολών, και η στοιβάδα των τερπενικών, οφείλεται στο γεγονός ότι σε αυτή, υπό τις συνθήκες της μεθόδου, συγκεντρώνονται σημαντικές ποσότητες αλειφατικών αλκοολών.

Εύνεται με μεταλλική σπάτουλα το silica gel που βρίσκεται στη στοιβάδα που προσδιορίστηκε. Το υλικό που συλλέγεται λεπτά κονιοποιημένο, εισάγεται σε διηθητική χοάνη, προστίθενται 10 ml θερμού χλωροφόρμιου, ανακατεύεται προσεκτικά με τη μεταλλική σπάτουλα και διηθείται υπό κενό, έπειτα συλλέγεται το διήθημα στη φιάλη που συνδέεται με τη χοάνη διηθήσεως.

Ξεπλένεται το υπόλειμμα στη χοάνη τρεις φορές με αιθυλαιθέρα (περίπου 10 ml κάθε φορά) και συλλέγεται και πάλι το διήθημα στη φιάλη που έχει προσαρμοστεί χοάνη. Εξατμίζεται το διήθημα μέχρι όγκου περίπου 4-5 ml, μεταγγίζεται το υπόλοιπο διάλυμα στον προζυγισμένο σωλήνα των 10 ml, ξηραίνεται, θερμαίνοντας ελαφρώς σε ελαφρύ ρεύμα αζώτου, προστίθενται μερικές σταγόνες ακετόνης, ξηραίνεται και πάλι, τοποθετείται για 10 λεπτά περίπου σε κλίβανο 105 °C και έπειτα αφήνεται να ψυχθεί στον ξηραντήρα και ζυγίζεται.

Το υπόλειμμα που μένει στο σωλήνα αποτελείται από το αλκοολικό κλάσμα.

Παρασκευή των τριμεθυλοσιλλαιθέρων

Προστίθεται, στο σωλήνα που περιέχει το αλκοολικό κλάσμα, το αντιδραστήριο σιλανοποίησης, που αποτελείται από μείγμα πυριδίνης-εξαμεθυλοδισιλαζανίου-τριμεθυλοχλωροσιλανίου 9/3/1 (V/V/V) (Σημείωση 5), σε αναλογία 50 ml ανά mg αλειφατικών αλκοολών, αποφεύγοντας οποιαδήποτε απορρόφηση υγρασίας (Σημείωση 6).

Σημείωση 5: Στο εμπόριο υπάρχουν διαλύματα έτοιμα προς χρήση, εξάλλου, άλλα αντιδραστήρια σιλιανοποίησης όπως είναι παραδείγματος χάρη, το δις-τριμεθυλοσιλυλοτριφθορακεταμίδιο + 1 % τριμεθυλοχλωροσιλάνιο που διαλύεται σε ίσο όγκο άνυδρης πυριδίνης, είναι επίσης διαθέσιμα.

Κλείνεται ο σωλήνας, ανακινείται προσεκτικά (χωρίς να τον αναστρέψουμε), μέχρι πλήρους διαλυτότητας των αλειφατικών αλκοολών. Αφήνεται σε ηρεμία επί 15 λεπτά τουλάχιστον, σε θερμοκρασία δωματίου, έπειτα φυγοκεντρείται για μερικά λεπτά: το διαυγές διάλυμα είναι έτοιμο για αέρια χρωματογραφική ανάλυση.

Σημείωση 6: Ο σχηματισμός ελαφρού θολώματος είναι φυσιολογικός και δεν δημιουργεί καμία επιπλοκή. Ο σχηματισμός άσπρων νιφάδων ή η εμφάνιση ροζ χρώματος οφείλονται στην παρουσία υγρασίας ή στη φθορά του αντιδραστηρίου. Σ' αυτή την περίπτωση, η δοκιμή πρέπει να επαναληφθεί.

Ανάλυση δια χρωματογραφίας αέριας φάσης

Προκαταρκτικές ενέργειες, ρύθμιση συνθηκών λειτουργίας της στήλης.

Τοποθετείται η στήλη στο χρωματογράφο αέριας φάσης, συνδέοντας το άκρο εισόδου στον εξαερωτή που είναι συνδεδεμένος με το σύστημα κλασματοποίησης και το άκρο εξόδου προς τον ανιχνευτή.

Ελέγχεται γενικά η μονάδα του αερίου χρωματογράφου (διαρροές στα κυκλώματα των αερίων, διαχωριστική ικανότητα του ανιχνευτή, διαχωριστική ικανότητα του συστήματος κλασματοποίησης και του συστήματος καταγραφής κ.λπ.).

Οι προτεινόμενες συνθήκες λειτουργίας είναι οι ακόλουθες:

- θερμοκρασίες της στήλης: ισόθερμη εκκίνηση 8m σε 180 °C , έπειτα προγραμματισμός 5 °C/λεπτό έως τους 260 °C, έπειτα 15m στους 216 °C,
- θερμοκρασία του συστήματος εξαέρωσης: 280 °C,
- θερμοκρασία του ανιχνευτή: 290 °C,
- γραμμική ταχύτητα του φέροντος αερίου: ήλιο, 20 έως 35 cm/s, υδρογόνο 30 έως 50 cm/s,
- σχέση διαχωρισμού: από 50 έως 100,

- ευαισθησία των οργάνων από 4 έως 16 φορές της ελάχιστης ευαισθησίας,
- ευαισθησία καταγραφής: 1 έως 2 mV στην βασική κλίμακα,
- ταχύτητα του χαρτιού: 30 έως 60 cm/ώρα,
- ποσότητα της εγχέομενης ουσίας: 0,5 σε 1 ml του διαλύματος των TMSE.

Οι προϋποθέσεις αυτές μπορούν να τροποποιηθούν ανάλογα με τα χαρακτηριστικά των στηλών της χρωματογραφίας αέριας φάσης, κατά τέτοιο τρόπο ώστε να λαμβάνονται χρωματογραφήματα που να πληρούν τους ακόλουθους όρους:

- Ο χρόνος κατακράτησης της αλκοόλης στο C26 πρέπει να είναι 18 ± 5 λεπτά.
- Η κορυφή της αλκοόλης στο C22 πρέπει να είναι 80 ± 20 % της πλήρους κλίμακας για ελαιόλαδα και, για το σπορέλαιο, 40 ± 20 % της κλίμακας.

Για να εξακριβωθούν οι προϋποθέσεις που αναφέρονται παραπάνω, πραγματοποιούνται επανειλημμένες εγχύσεις με τα δείγματα του μείγματος των TMSE των αλκοολών και βελτιώνονται οι συνθήκες λειτουργίας έως ότου επιτευχθούν τα καλύτερα αποτελέσματα.

Οι παράμετροι ολοκλήρωσης των κορυφών πρέπει να τίθενται κατά τέτοιο τρόπο ώστε να λαμβάνονται οι σωστές τιμές για τις εξεταζόμενες κορυφές.

Ταυτοποίηση των κορυφών.

Η ταυτοποίηση των κορυφών πραγματοποιείται με βάση το χρόνο κατακράτησης και σε σύγκριση με το μείγμα των TMSE των αλειφατικών αλκοολών, που αναλύθηκε υπό τις ίδιες συνθήκες.

Ποσοτική αξιολόγηση

Πραγματοποιείται με τον ολοκληρωτή ο υπολογισμός του εμβαδού των κορυφών της εικοσανόλης-1 και των αλειφατικών αλκοολών από το C22 ως το C28.

Υπολογίζεται η συγκέντρωση για κάθε αλειφατική αλκοόλη, σε mg/100 g της λιπαρής ουσίας, ως εξής:

$$\text{Αλκοόλη } x = \frac{A_x \cdot m_s \cdot 1\,000}{A_s \cdot m}$$

όπου:

A_x = εμβαδόν κορυφής της αλκοόλης x, σε τετραγωνικά χιλιοστά,

A_s = εμβαδόν κορυφής της εικοσανόλης-1, σε τετραγωνικά χιλιοστά,

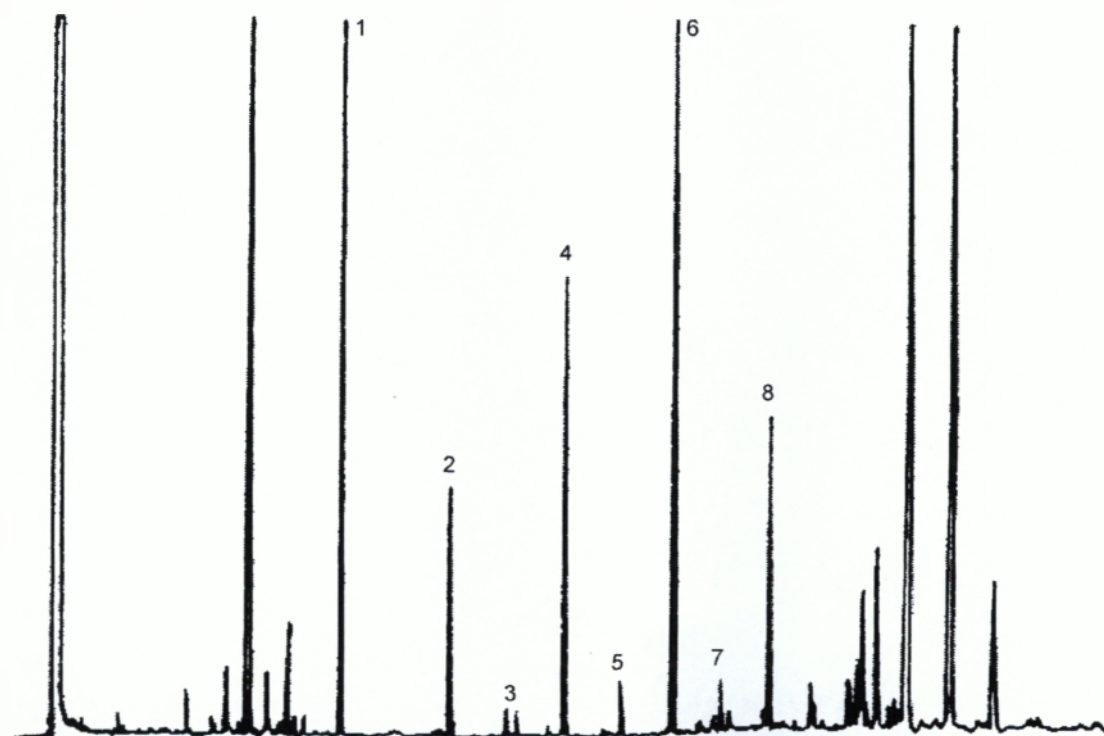
m_s = βάρος εικοσανόλης-1 που προστέθηκε, σε χιλιοστά του γραμμαρίου,

m = βάρος του δείγματος που λήφθηκε για τον προσδιορισμό, σε γραμμάρια.

2.9. Έκφραση των αποτελεσμάτων

Αναφέρονται α συγκέντρωσης σε μεμονωμένες αλειφατικές αλκοόλες σε mg/100 g λιπαρής ουσίας, και το σύνολο τους ως "ολικές αλειφατικές αλκοόλες".

(58)



Σχήμα 1 : Χρωματογράφημα του αλκοολικού κλάσματος ενός παρθένου ελαιολάδου.

- 1 = Εικοσανόλη
- 2 = Εικοσιδυανόλη
- 3 = Εικοσιτριανόλη
- 4 = Εικοσιτετρανόλη
- 5 = Εικοσιπεντανόλη
- 6 = Εικοσιεξανόλη
- 7 = Εικοσιεπτανόλη
- 8 = Εικοσιοκτανόλη

4.Προσδιορισμός της σύνθεσης και του περιεχομένου των στερολών δι αερίου χρωματογραφίας με τριχοειδή στήλη.

Η μέθοδος περιγράφει την διαδικασία προσδιορισμού των περιεχομένων των στερολών, σε μια λιπαρή ουσία, μεμονωμένων και ολικών.

Η λιπαρή ουσία στην οποία έχει προστεθεί α-χολεστανόλη ως εσωτερικό πρότυπο, σαπωνοποιείται με αιθανολικό διάλυμα υδροξειδίου του καλίου. Έπειτα τα ασαπωνοποίητα συστατικά εκχυλίζονται με αιθυλαιθέρα. Το στερολικό κλάσμα διαχωρίζεται από τα ασαπωνοποίητα συστατικά δια χρωματογραφίας επί βασικής πλάκας silica gel. Οι στερόλες που λαμβάνονται στο silica gel μετατρέπονται σε τριμεθυλοσιλαιθέρες και αναλύονται με αέριο χρωματογραφία με τριχοειδείς στήλες.

Εξοπλισμός.

- Σφαιρική φιάλη των 250 ml εφοδιασμένη με κάθετο ψυκτήρα με εσφυρισμένα άκρα.
- Διαχωριστική χοάνη των 100 ml.
- Σφαιρικές φιάλες των 250 ml.
- Πλήρης εξοπλισμός για χρωματογραφία λεπτής στοιβάδος με γυάλινες πλάκες των 20 x 20 cm.
- Λυχνία υπεριώδους φωτός, μήκους κύματος 366 ή 254 nm.
- Μικροσύριγγες των 100 και 500 ml.
- Διηθητική κυλινδρική χοάνη με πορώδες φίλτρο G 3 (πορώδους 15 έως 40 mm) διαμέτρου 2 cm περίπου και ύψους 5 cm με άκρο κατάλληλο για διήθηση σε κενό αέρος και εσφυρισμένο άκρο αρσενικό 12/21.
- Φιάλη εν κενό των 50 ml με εσφυρισμένο άκρο θηλυκό 12/21 προσαρμόσιμο στη διηθητική χοάνη .
- Σωλήνας με κωνική βάση, των 10 ml, με πώμα ασφαλείας.
- Αέριος χρωματογράφος κατάλληλος για λειτουργία με τριχοειδή στήλη εφοδιασμένος με σύστημα διαχωρισμού, αποτελούμενο από:

- Θερμοστατούμενο θάλαμο, για τη στήλη, ο οποίος επιτρέπει τη διατήρηση της επιθυμητής θερμοκρασίας με ακρίβεια ± 1 °C.
- Σύστημα εξάτμισης με ρυθμιζόμενη θερμοκρασία και με σιλανισμένο γυάλινο χώρο.
- Ανιχνευτή ιονισμού φλόγας και μεταλλάκτη -ενισχυτή.
- Καταγραφέα-ολοκληρωτή κατάλληλο για λειτουργία με μεταλλάκτη-ενισχυτή.
- Τριχοειδής στήλη από γυαλί ή τετηγμένο οξείδιο του πυριτίου, μήκους 20 έως 30 m, εσωτερικής διαμέτρου 0,25 έως 0,32 mm, καλυμμένη εσωτερικώς με υγρό SE-52 ή SE-54 ή άλλο ανάλογο, ομοιόμορφου πάχους μεταξύ 0,10 και 0,30 mm.
- Μικροσύριγγες για χρωματογραφία αέριας φάσης των 10 ml με σκληρυμένη βελόνα.

Αντιδραστήρια

- Αιθανολικό διάλυμα υδροξειδίου του καλίου περίπου 2N: διαλύονται, ψύχοντας ταυτόχρονα, 130 g υδροξειδίου του καλίου (κατώτατου τίτλου 85 %) μέσα σε 200 ml απεσταγμένου ύδατος, έπειτα συμπληρώνονται με αιθανόλη μέχρι το ένα λίτρο. Το διάλυμα διατηρείται μέσα σε καλά κλεισμένα μπουκάλια.
- Αιθυλαιθέρας αναλυτικής καθαρότητας.
- Άνυδρο θειικό νάτριο, αναλυτικής καθαρότητας.
- Γυάλινες πλάκες καλυμμένες με silica gel χωρίς δείκτη φθορισμού, πάχους 0,25 mm (διατίθενται στο εμπόριο έτοιμες ήδη για χρήση).
- Αιθανολικό διάλυμα υδροξειδίου του καλίου 0,2 N: διαλύονται 13 g υδροξειδίου του καλίου μέσα σε 20 ml απεσταγμένου ύδατος, έπειτα συμπληρώνονται μέχρι το ένα λίτρο με μεθανόλη.
- Βενζόλιο, χρωματογραφικής καθαρότητας.
- Ακετόνη, χρωματογραφικής καθαρότητας.
- Εξάνιο, χρωματογραφικής καθαρότητας .
- Αιθυλαιθέρας, χρωματογραφικής καθαρότητας.

- Χλωροφόρμιο, αναλυτικής καθαρότητας.
- Διάλυμα αναφοράς για χρωματογραφία επί πλακός: χοληστερόλη ή φυτοστερόλη, διάλυμα 0,5 % σε χλωροφόρμιο.
- Αιθανολικό διάλυμα 2,7-διγλωροφλονορεσκεΐνης 0,2 %. Έχει γίνει ελαφρά αλκαλικό με την προσθήκη μερικών σταγόνων αλκοολικού διαλύματος υδροξειδίου του καλίου, 2 N.
- Εξαμεθυλοδισιλαζάνιο (Hexamethyldisilazane).
- Τριμεθυλογλωροσιλάνιο.
- Διάλυμα αναφοράς των τριμεθυλοσιλλαιθέρων των στερολών: παρασκευάζεται τη στιγμή της χρήσης από τις στερόλες που λαμβάνονται από τα έλαια που τις περιείχαν.
- α-χολεστανόλη, διάλυμα 0,2 % (m/V) σε χλωροφόρμιο (εσωτερικό πρότυπο).
- Φέρον αέριον: υδρογόνο ή ήλιο, χρωματογραφικής καθαρότητας. .

Μέθοδος

Παρασκευή των ασαπωνοποιητών συστατικών.

Εισάγεται στη σφαιρική φιάλη των 250 ml, δια μικροσύριγγας των 500 ml, όγκος διαλύματος α-χολεστανόλης 0,2 % σε χλωροφόρμιο που περιέχει ποσότητα α-χολεπανόλης που αντιστοιχεί σε 10 % περίπου των στερολών που περιέχονται στο δείγμα που κρατήθηκε για τον προσδιορισμό. Για παράδειγμα, για 5 g δείγματος, πρέπει να προστεθούν 500 ml διαλύματος α-χολεστανόλης 0,2 %, εάν πρόκειται για δείγμα ελαιολάδου, και 1500 ml, εάν πρόκειται για σπορέλαιο ή πυρηνέλαιο.

Εξατμίζεται τα χλωροφόρμιο σε ρεύμα αζώτου μέχρι να αποξηρανθεί, έπειτα ζυγίζονται ακριβώς 5 g ξηρού διηθημένου δείγματος στην ίδια σφαιρική φιάλη.

Στην περίπτωση των ελαίων και ζωικών ή φυτικών λιπών τα οποία περιέχουν σημαντικές ποσότητες χοληστερόλης, μπορεί να εμφανιστεί κορυφή η οποία έχει τον ίδιο χρόνο κατακράτησης με αυτόν της χολεστανόλης. Σε αυτές τις περιπτώσεις, πρέπει να αναλύεται το στερολικό κλάσμα εις διπλούν, με και χωρίς εσωτερικό πρότυπο.

Προστίθενται 50 ml αιθανολικού διαλύματος υδροξειδίου του καλίου 2 N, τίθεται σε λειτουργία ο κάθετος ψυκτήρας, θερμαίνεται σε υδατόλουτρο μέχρι ήπιο βρασμό, ανακινώντας ταυτόχρονα δυνατά μέχρι να πραγματοποιηθεί η σαπωνοποίηση (το διάλυμα γίνεται διαυγές). Συνεχίζεται η θέρμανση για 20 λεπτά, έπειτα προστίθενται 50 ml απεσταγμένου ύδατος τα οποία ρίχνονται από το επάνω μέρος του ψυκτήρα, αποσυνδέεται ο ψυκτήρας και ψύχεται η σφαιρική φιάλη στους 30 °C.

Μεταγγίζεται ποσοτικώς το περιεχόμενο της σφαιρικής φιάλης σε διαχωριστική χοάνη των 500 ml, με τη βοήθεια απεσταγμένου ύδατος, πολλές φορές, χρησιμοποιώντας συνολικά περίπου 50 ml. Προστίθενται περίπου 80 ml αιθυλικού αιθέρα, ανακινώντας δυνατά για περίπου 30 δευτερόλεπτα, και αφήνεται να πραγματοποιηθεί ο διαχωρισμός.

(Τα πιθανά γαλακτώματα μπορούν να καταστραφούν προσθέτοντας μικρές ποσότητες αιθυλικής ή μεθυλικής αλκοόλης δια ψεκάσμού)

Διαχωρίζεται η κάτω υδατική φάση συλλέγοντάς τη μέσα σε μια άλλη φιάλη μετάγγισης. Πραγματοποιούνται ακόμη δύο εκχυλίσσεις της υδατικής φάσης, σύμφωνα με τις ίδιες οδηγίες, χρησιμοποιώντας κάθε φορά 60-70 ml αιθυλαιθέρα.

Συγκεντρώνονται τα αιθερικά εκχυλίσματα σε μια μόνο διαχωριστική χοάνη και πλένονται με απεσταγμένο νερό (50 ml κάθε φορά) μέχρι ουδέτερης αντίδρασης του ύδατος έκπλυσης.

Αφού απομακρυνθεί το νερό έκπλυσης, ξηραίνονται με άνυδρο θειικό νάτριο και διηθούνται, πάνω σε άνυδρο θειικό νάτριο, σε προζυγισμένη σφαιρική φιάλη των 250 ml, πλένοντας φιάλη και φίλτρο με μικρές ποσότητες αιθυλαιθέρα.

Αποστάζεται ο αιθέρας μέχρις ότου να απομείνει μικρή ποσότητα, έπειτα αποξηραίνεται σε ελαφρό κενό ή σε ρεύμα αζώτου, ολοκληρώνεται η ξήρανση στον κλίβανο στους 100 °C για ένα τέταρτο της ώρας περίπου και ζυγίζεται μετά από ψύξη σε ξηραντήρα.

Διαχωρισμός του στερολικού κλάσματος.

Προετοιμασία των βασικών πλακών: βυθίζονται οι πλάκες από silica gel , τελείως, μέσα σε μεθανολικό διάλυμα 0,2 N υδροξειδίου του καλίου για 10 δευτερόλεπτα, αφήνονται στη συνέχεια κλεισμένες σε σκοτεινό θάλαμο για δύο ώρες και τοποθετούνται τελικά στον κλίβανο σε 100 °C για μία ώρα.

Βγαίνουν από τον κλίβανο και διατηρούνται μέσα σε ένα ξηραντήρα με χλωριούχο ασβέστιο μέχρι τη στιγμή της χρήσης (οι κατ' αυτόν τον τρόπο επεξεργασμένες πλάκες πρέπει να χρησιμοποιούνται μέσα σε δεκαπέντε μέρες).

Σημείωση 1: Η χρήση των βασικών πλακών silica gel για το διαχωρισμό του στερολικού κλάσματος καταργεί την ανάγκη επεξεργασίας των ασαπωνοποίητων συστατικών με την αλουμίνα. Με αυτόν τον τρόπο, όλα τα όξινα συστατικά (λιπαρά οξέα και άλλα) συγκρατούνται στη γραμμή εναπόθεσης. Επιτυγχάνεται έτσι η ζώνη των στερολών καθαρά διαχωρισμένη από την ταινία των αλειφατικών και τερπενικών αλκοολών.

Εισάγεται στο θάλαμο ανάπτυξης ένα μείγμα βενζόλιου-ακετόνης 95/5 (V/V) . Είναι δυνατόν στη θέση του να χρησιμοποιηθεί ένα μείγμα εξάνιου-αιθυλικού αιθέρα 65/35 (V/V). Ο θάλαμος κλείνεται με τη βοήθεια ενός κατάλληλου σκεπάσματος και αφήνεται έτσι για μισή ώρα τουλάχιστον, έτσι ώστε να αποκατασταθεί ισορροπία μεταξύ υγρού και ατμού. Είναι δυνατόν, να τοποθετηθούν στις εσωτερικές επιφάνειες του θαλάμου λωρίδες από διηθητικό χαρτί βυθισμένες στο υγρό ανάπτυξης: με αυτό τον τρόπο θα μειωθεί στο ένα τρίτο περίπου ο χρόνος μετακίνησης του μετώπου του υγρού και θα επιτευχθεί περισσότερο ομοιόμορφη έκλυση.

Σημείωση 2: Για να υπάρξουν αναπαραγώγιμες συνθήκες έκλυσης, το μείγμα πρέπει να αλλάζει κάθε φορά.

Παρασκευάζεται ένα διάλυμα 5 % περίπου ασαπωνοποίητων συστατικών μέσα σε χλωροφόρμιο και με τη μικροσύριγγα των 100 ml τοποθετείται στη χρωματογραφική πλάκα , στα 2 cm περίπου από το ένα άκρο, 0,3 ml του ανωτέρω διαλύματος σε μια συνεχή γραμμή, όσο το δυνατόν πιο λεπτή και ομοιόμορφη. Στην ευθεία της γραμμής εναπόθεσης, τοποθετείται στο ένα άκρο της πλάκας 2-3 ml του διαλύματος αναφοράς των στερολών , με σκοπό να προσδιορισθεί η λωρίδα των στερολών μετά το πέρας της ανάπτυξης.

Τοποθετείται η πλάκα μέσα στο θάλαμο ανάπτυξης. Η θερμοκρασία περιβάλλοντος πρέπει να διατηρείται ανάμεσα στους 15 και 20 °C. Κλείνεται αμέσως ο θάλαμος με το σκέπασμα και αφήνεται μέχρις ότου το μέτωπο του διαλυτή να ανέλθει σε ύψος 1 cm κάτω από το άνω άκρο της πλάκας. Βγαίνει στη συνέχεια η πλάκα από το θάλαμο ανάπτυξης και ο διαλύτης εξατμίζεται μέσα σε ρεύμα ζεστού αέρα ή ακόμη αφήνοντας την πλάκα σε σκοτεινό θάλαμο για λίγο.

Η πλάκα ψεκάζεται ελαφρά και με ομοιόμορφο τρόπο με το διάλυμα της 2,7-διχλωροφλουοροσκεΐνης. Τοποθετείται η λωρίδα των στερολών δια ευθυγράμμισης με την κηλίδα που επιτεύχθηκε με το διάλυμα αναφοράς- η λωρίδα οριοθετείται με ένα μαύρο μολύβι κατά μήκος των άκρων φθορισμού.

Το silica gel που περιέχεται στην οριοθετημένη ζώνη ξύνεται με μια μεταλλική σπάτουλα. Το υλικό που αφαιρείται, λεπτά κονιοποιημένο, εισάγεται σε μια διηθητική χοάνη . Προστίθενται 10 ml θερμού χλωροφόρμιου, αναμιγνύονται προσεκτικά με τη μεταλλική σπάτουλα και διηθούνται υπο κενό έπειτα συλλέγεται το διήθημα στη φιάλη που συνδέεται με τη διηθητική χοάνη.

Πλένεται το υπόλειμμα στη χοάνη τρεις φορές με αιθυλαιθέρα (περίπου 10 ml κάθε φορά) και συλλέγεται όμοια το διήθημα μέσα στη φιάλη την προσαρμοσμένη στη διηθητική χοάνη. Εξατμίζεται το διήθημα μέχρι να φτάσει σ' έναν όγκο περίπου 4-5 ml, μεταγγίζεται το απομένον διάλυμα μέσα στον προζυγισμένο σωλήνα των 10 ml , ξεραίνεται θερμαίνοντας ελαφρά σε ελαφρύ ρεύμα αζώτου, προστίθενται μερικές σταγόνες ακετόνης, ξεραίνεται εκ νέου, τοποθετείται 10 λεπτά περίπου στον κλίβανο στους 105 °C, έπειτα αφήνεται να κρυώσει σε ξηραντήρα και ζυγίζεται.

Το περιεχόμενο υπόλειμμα μέσα στο σωλήνα αποτελείται από το στερολικό κλάσμα.

Παρασκευή των τριμεθυλοσιλilαιθέρων.

Στο σωλήνα που περιέχει το στερολικό κλάσμα προστίθεται το αντιδραστήριο σιλανοποίησης αποτελούμενο από μείγμα πυριδίνης-εξαμεθυλοδισιλαζάνιου-τριμεθυλοχλωρισιλάνιον 9/3/1 (V/V/V) (Σημείωση

3) σε αναλογία 50 ml ανά χιλιοστό του γραμμαρίου των στερολών, αποφεύγοντας κάθε απορρόφηση υγρασίας (Σημείωση 4).

Σημείωση 3: Υπάρχουν στο εμπόριο διαλύματα έτοιμα προς χρήση-επιπλέον, άλλα αντιδραστήρια σιλικαιθεροποίησης όπως, για παράδειγμα, το δις-τριμεθυλοσιλικεταμίδιο + 1 % τριμεθυλοχλωρισιλάνιο διαλυμένο με τον ίδιο όγκο άνυδρης πυριδίνης.

Κλείνεται ο σωλήνας, ανακινείται προσεκτικά (χωρίς να αναστρέφεται) μέχρι την πλήρη διάλυση των στερολών. Αφήνεται να ηρεμήσει για τουλάχιστον 15 λεπτά στη θερμοκρασία περιβάλλοντος, έπειτα φυγοκεντρείται για μερικά λεπτά: το διαυγές διάλυμα είναι έτοιμο για την ανάλυση δια χρωματογραφίας αέριας φάσης.

Σημείωση 4: Ο σχηματισμός ελαφρού θολώματος είναι φυσιολογικός και δεν δημιουργεί καμία επιπλοκή. Ο σχηματισμός άσπρων νιφάδων ή η εμφάνιση ροζ χρώματος οφείλονται στην παρουσία υγρασίας ή στη φθορά του αντιδραστηρίου. Σ' αυτή την περίπτωση, η δοκιμή πρέπει να επαναληφθεί.

Ανάλυση δια χρωματογραφίας αέριας φάσης.

Προπαρασκευαστικές ενέργειες, ρύθμιση των συνθηκών λειτουργίας της στήλης.

Η στήλη εγκαθίσταται μέσα στο χρωματογράφο αέριας φάσης, συνδέοντας το άκρο της εισόδου με τον εξαερωτή τον ενωμένο με το σύστημα κλασματοποίησης και το άκρο της εξόδου με τον ανιχνευτή.

Ελέγχεται γενικά η μονάδα του αερίου χρωματογράφου (διαρροές στα κυκλώματα των αερίων, διαχωριστική ικανότητα του ανιχνευτή αποτελεσματικότητα του συστήματος κλασματοποίησης και του συστήματος καταγραφής κ.λπ.).

Εάν η στήλη χρησιμοποιείται για πρώτη φορά, συνιστάται να κοντισιοναρισθεί. Περνάτε ένα ελαφρό ρεύμα αερίου δια μέσου αυτής της στήλης, έπειτα ανάβεται το σύνολο της χρωματογραφίας αέριας φάσης και ξεκινά η βαθμιαία θέρμανση μέχρι να φτάσει σε θερμοκρασία το λιγότερο 20 °C μεγαλύτερη απ' αυτή της λειτουργίας (Σημείωση 5). Διατηρείται αυτή η θερμοκρασία για τουλάχιστον δύο ώρες, έπειτα η μονάδα τίθεται σε

συνθήκες λειτουργίας (ρύθμιση ροής αερίων και της κλασματοποίησης, άναμμα της φλόγας, σύνδεση με τον ηλεκτρονικό καταγραφέα, ρύθμιση της θερμοκρασίας του θαλάμου για τη στήλη, του ανιχνευτή και του συστήματος έγχυσης κ.λπ.) και καταγράφεται το σήμα σε μια ευαισθησία τουλάχιστον δύο φορές μεγαλύτερη από αυτή που προβλέπεται για την εκτέλεση της ανάλυσης. Η γραμμή βάσεως που επιτεύχθηκε πρέπει να είναι ευθύγραμμη, χωρίς κορυφές οιασδήποτε μορφής και παρεκκλίσεις.

Η αρνητική ευθύγραμμη παρέκκλιση δηλώνει διαρροή της στήλης, μια θετική παρέκκλιση δηλώνει ανεπαρκή ρύθμιση της στήλης (κοντισιονάρισμα).

Σημείωση 5: Η θερμοκρασία κοντισιοναρίσματος, της στήλης πρέπει να είναι πάντα μικρότερη, τουλάχιστον 20 °C, από τη μέγιστη προβλεπόμενη θερμοκρασία για τη χρησιμοποιούμενη στατική φάση της στήλης.

Επιλογή των συνθηκών εργασίας

Οι προτεινόμενες συνθήκες εργασίας είναι οι ακόλουθες:

- θερμοκρασία της στήλης: 260 °C $\pm$ 5 °C,
- θερμοκρασία του συστήματος εξαέρωσης: 280 °C,
- θερμοκρασία του ανιχνευτή: 290 °C,
- γραμμική ταχύτητα του φέροντος αερίου: ήλιο, 20 έως 35 cm/s, υδρογόνο, 30 έως 50 cm/s,
- σχέση διαχωρισμού: από 1/50 έως 1/100,
- ευαισθησία του οργάνου: 4 έως 16 φορές της ελάχιστης ευαισθησίας,
- ευαισθησία καταγραφής: 1-2 mV f. s.,
- ταχύτητα του χαρτιού: 30-60 cm/ώρα,
- ποσότητα εγχεόμενης ουσίας: 0,5-1 ml του διαλύματος των TMSE.

Αυτές οι συνθήκες μπορούν να μεταβάλλονται σύμφωνα με τα χαρακτηριστικά της στήλης και του χρωματογράφου αέριας φάσης, έτσι ώστε

να επιτυγχάνονται χρωματογραφήματα τα οποία να ικανοποιούν τις ακόλουθες συνθήκες:

- ο χρόνος κατακράτησης της β-σιτοστερόλης πρέπει να είναι 20 ± 5 λεπτά,
- η κορυφή της καμπεστερόλης πρέπει να είναι: για το ελαιόλαδο (μέσο περιεχόμενο 3 %) 15 ± 5 % της πλήρους κλίμακας, για το σογιέλαιο (μέσο περιεχόμενο 20 %) 80 ± 10 % της πλήρους κλίμακας,
- πρέπει να γίνεται διαχωρισμός όλων των υπαρχουσών στερολών.

Επιπροσθέτως, για να διαχωριστούν οι κορυφές πρέπει να έχουν ξεχωρίσει τελείως, πράγμα το οποίο σημαίνει ότι η καμπύλη κάθε κορυφής πρέπει να επιστρέψει στη γραμμή βάσεως πριν ξεκινήσει για την καμπύλη της επόμενης κορυφής. Ένας ατελής διαχωρισμός είναι, παρ' όλα αυτά, ανεκτός, υπό την προϋπόθεση, όμως, ότι θα είναι μετρήσιμος ποσοτικά η κορυφή TRR 1,02 χρησιμοποιώντας την κάθετο.

Ταυτοποίηση των κορυφών

Η ταυτοποίηση των κορυφών πραγματοποιείται με βάση το χρόνο κατακράτησης και σε σύγκριση με το μείγμα των TMSE των στερολών, αναλυόμενων υπό τις ίδιες συνθήκες.

Οι στερόλες εκλούνται με την ακόλουθη σειρά: χοληστερόλη, βρασικαστερόλη, 24-μεθυλένο-χοληστερόλη, καμπεστερόλη, καμπεστανόλη, στιγμαστερόλη, Δ7 καμπεστερόλη, Δ5, 23 στιγμασταδιενόλη, κλεροστερόλη, Β-σιτοστερόλη, σιτοστανόλη, Δ5-αβεναστερόλη, 5,24 στιγμασταδιενόλη, Δ7-στιγμαστενόλη, Δ7-αβεναστερόλη.

Ποσοτική αξιολόγηση

Πραγματοποιείται, με τον ολοκληρωτή, ο υπολογισμός του εμβαδού των κορυφών της α-χολεστανόλης και των στερολών. Ο ανάλογος συντελεστής για την α-χολεστανόλη πρέπει να είναι ίσος με 1.

Υπολογίζεται η συγκέντρωση κάθε στερόλης ξεχωριστά σε mg/100 g λιπαρής ουσίας, ως ακολούθως:

$$\text{στερόλη } X = \frac{A_x \times m_s \times 100}{A_s \times m}$$

όπου:

A_x = εμβαδόν της κορυφής της στερόλης x, σε τετραγωνικά χιλιοστά,

A_s = εμβαδόν της κορυφής της α-χολεστανόλης, σε τετραγωνικά χιλιοστά,

m_s = βάρος της α-χολεστανόλης που προσετέθη, σε χιλιοστά του γραμμαρίου,

m = βάρος του δείγματος που λήφθηκε για τον προσδιορισμό, σε γραμμάρια.

Έκφραση των αποτελεσμάτων

Αναφέρονται οι συγκεντρώσεις για καθεμία από τις στερόλες ξεχωριστά σε mg/100 g λιπαρής ουσίας, και το άθροισμα τους ως "ολικές στερόλες".

Υπολογίζεται η εκατοστιαία αναλογία κάθε μεμονωμένης στερόλης από το λόγο του εμβαδού της αντίστοιχης κορυφής προς το άθροισμα των εμβαδών των κορυφών των στερολών.

$$\% \text{ στερόλης } x = \frac{A_x \times 100}{\Sigma A}$$

όπου:

A_x = εμβαδόν της κορυφής x,

ΣA = άθροισμα των εμβαδών όλων των κορυφών.

(50)

Πίνακας 3: Σχετικοί χρόνοι κατακράτησης των στερολών

Κορυφή	Ταυτοποίηση		Σχετικός χρόνος παρακράτησης	
			Στήλη SE 54	Στήλη SE 52
1	Χοληστερόλη	Δ5-χοληστεν-3β-ολη	0.67	0.63
2	Χολεστανόλη	5α-χοληστεν-3β-ολη	0.68	0.64
3	Βρασικαστερόλη	[24S]-24-μεθυλ-Δ5,22-χολεσταδιεν-3β-ολη	0.73	0.71
4	24-μεθυλένιο χοληστερόλη	24-μεθυλένιο,Δ5,24-χολεσταδιεν-3β-ολη	0.82	0.80
5	Καμπεστερόλη	[24R]-24-μεθυλ-Δ5χοληστεν-3β-όλη	0.83	0.81
6	Καμπεστανόλη	[24]24-μεθυλχολησταν-3β-ολη	0.85	0.82
7	Στιγμαστερόλη	[24S]-24-αιθυλ-Δ5,22-χολεσταδιεν-3β-ολη	0.88	0.87
8	Δ7-καμπεστερόλη	[24R]-24-μεθυλ-Δ7-χοληστεν-3β-ολη	0.93	0.92
9	Δ5,23-στιγμασταδιενόλη	[24R,S]-24-αιθυλ-Δ5,23-χολεσταδιεν-3β-ολη	0.95	0.95
10	Κλεροστερόλη	[24S]-24-αιθυλ-Δ5,25-χολεσταδιεν-3β-ολη	0.96	0.96
11	Β-σιτοστερόλη	[24R]-24-αιθυλ-Δ5-χολεσταν-3β-ολη	1.00	1.00
12	Σιτοστανόλη	24αιθυλχολησταν-3β-ολη	1.02	1.02
13	Δ5-αβεναστερόλη	[24Z]-24-αιθυλιδεν-Δ5-χολησταν-3β-ολη	1.03	1.03
14	Δ5,24 στιγμαστενόλη	[24R,S]-24-αιθυλ-Δ5,24-χολεσταδιεν-3β-ολη	1.08	1.08
15	Δ7-στιγμαστενόλη	[24R,S]-24-αιθυλ-Δ7,24-χολεσταδιεν-3β-ολη	1.12	1.12
16	17-αβεναστερόλη	[24Z]-24-αιθυλιδεν-Δ7-χολεστεν-3β-ολη	1.16	1.16

5.Προσδιορισμός ερυθροδιόλης και ουβαόλης

Η ερυθροδιόλη είναι ένα συστατικό του μη σαπωνοποιήσιμου κλάσματος, χαρακτηριστικό ορισμένων τύπων λιπαρών ουσιών. Συναντάται σε σημαντικά υψηλότερες συγκεντρώσεις σε ελαιόλαδο εξ εκχυλίσεως από ότι σε άλλα έλαια και

επομένως η παρουσία της μπορεί να υποδηλώνει την παρουσία ελαιόλαδου εξ εκχυλίσσεως.(3)

Αντικείμενο

Η μέθοδος περιγράφει μία διαδικασία ανίχνευσης ερυθροδιόλης σε λιπαρές ουσίες.

Αρχή της μεθόδου

Η λιπαρή ουσία σαπωνοποιείται με υδροξείδιο του καλίου σε αιθανολικό διάλυμα. Το μη σαπωνοποιήσιμο κλάσμα εκχυλίζεται κατόπιν με αιθυλαιθέρα και καθαρίζεται με διέλευση μέσα από στήλη αλουμίνας.

Τα μη σαπωνοποιήσιμα μέρη υπόκεινται σε χρωματογραφία λεπτής στιβάδας σε πλάκα διοξειδίου του πυριτίου έως ότου διαχωριστούν οι στιβάδες που αντιστοιχούν στα κλάσματα στερολών και ερυθροδιόλης. Οι επανακτούμενες από τη πλάκα στερόλες και η ερυθροδιόλη μετατρέπονται σε τριμεθυλοσιλυλοαιθέρες και το μείγμα αναλύεται με αέρια χρωματογραφία.

Το αποτέλεσμα εκφράζεται ως ποσοστό ερυθροδιόλης στο μείγμα ερυθροδιόλης και στερολών.

Όργανα

Τα όργανα που χρησιμοποιούνται είναι αυτά που χρησιμοποιούνται και στον προσδιορισμό της περιεκτικότητας σε στερόλες.

Αντιδραστήρια

Τα αντιδραστήρια που χρησιμοποιούνται είναι αυτά που χρησιμοποιούνται και στον προσδιορισμό της περιεκτικότητας σε στερόλες και επιπλέον διάλυμα αναφοράς ερυθροδιόλης, 0,5% σε γλωροφόρμιο.

Διαδικασία

Παρασκευή ασαπωνοποιήτων όπως στον προσδιορισμό της περιεκτικότητας σε στερόλες

Διαχωρισμός της ερυθροδιόλης και των στερολών, όπως στον προσδιορισμό της περιεκτικότητας σε στερόλες.

Παρασκευάζεται διάλυμα 5% των ασαπωνοποιήτων σε χλωροφόρμιο. Χρησιμοποιώντας τη μικροσύριγγα του 0,1ml, τοποθετείται μια χρωματογραφική πλάκα με 0,3ml διαλύματος περίπου 1,5cm από το κατώτερο άκρο σε μια γραμμή κατά το δυνατόν λεπτή και ομοιόμορφη. Στη μια άκρη της πλάκας τοποθετούνται λίγα μικρολίτρα από τα διαλύματα χολεστερόλης και ερυθροδιόλης ως αναφορά.

Η πλάκα τοποθετείται μέσα σε θάλαμο ανάπτυξης που έχει προετοιμαστεί.

Η θερμοκρασία του περιβάλλοντος πρέπει να είναι περίπου 20°C. Ο θάλαμος κλείνεται αμέσως με το κάλυμμα και αφήνεται να γίνει έκλυση έως ότου το μέτωπο του διαλύτη φτάσει σε απόσταση περίπου 1 εκατοστό από το ανώτερο άκρο της πλάκας. Κατόπιν η πλάκα απομακρύνεται από το θάλαμο ανάπτυξης και ο διαλύτης εξατμίζεται σε ρεύμα θερμού αέρα.

Η πλάκα ψεκάζεται ελαφρά και ομοιόμορφα με το αλκοολικό διάλυμα της 2,7-διχλωροφλουορεσκεΐνης. Όταν η πλάκα παρατηρείται από υπερίωδες φως, οι στοιβάδες των στερολών και ερυθροδιόλης μπορούν να αναγνωρίσουν από την ευθυγράμμιση τους με τις κηλίδες αναφοράς. Τα όρια της περιοχής φθορισμού σημαίνονται με ένα σημάδι μόλις έξω από αυτά.

Χρησιμοποιώντας μια μεταλλική σπάτουλα, αποξέετε το πήγμα διοξειδίου του πυριτίου εντός των σημανθέντων περιοχών από την πλάκα και μεταφέρεται σε φιάλη των 50ml. Προστίθενται 15ml θερμού χλωροφορμίου, αναδεύονται καλά και διηθούνται μέσα από χονί με διάτρητο γυάλινο δίσκο, έτσι ώστε το πήγμα του διοξειδίου του πυριτίου να μεταφερθεί στον ηθμό. Εκπλύεται τρεις φορές με θερμό χλωροφόρμιο (10ml τη φορά), συλλέγοντας το διήθημα σε φιάλη των 100ml. το διήθημα συμπυκνώνεται μέχρις όγκου 4-5ml, μεταφέρεται σε βαθμονομημένο σωλήνα φυγοκέντρισης των 10ml, με κωνικό πυθμένα, ξηραίνεται με ήπια θέρμανση σε ρεύμα αζώτου και ζυγίζεται.

Παρασκευή των τριμεθυλοσύλλαιθέρων

Όπως στον προσδιορισμό περιεκτικότητας σε στερόλες.

Αέρια χρωματογραφική ανάλυση.

Όπως στον προσδιορισμό της περιεκτικότητας σε στερόλες.

Οι συνθήκες εκτέλεσης της αέριας χρωματογραφικής ανάλυσης, πρέπει να είναι τέτοιες ώστε να εκτελείται η ανάλυση των στερολών και να διαχωρίζονται οι ΤΜΣΕ από την ερυθροδιόλη και την ουβαόλη.

Από την στιγμή που το δείγμα έχει εγχυθεί, η καταγραφή συνεχίζεται έως ότου εκλουσθούν οι υπάρχουσες στερόλες, η ερυθροδιόλη και η ουβαόλη. Μετά αναγνωρίζονται οι κορυφές (οι χρόνοι κατακράτησης της ερυθροδιόλης και ουβαόλης αναφορικά προς την β-σιτοστερόλη είναι περίπου 1,4 και 1,55 αντίστοιχα) και υπολογίζοντας τα εμβαδά σχετικά με τις στερόλες.

Εκφραση των αποτελεσμάτων.

$$\text{Ερυθροδιόλη\%} = \frac{A_1 + A_2}{A_1 + A_2 + \Sigma A_{\text{στερολών}}} \times 100$$

Όπου

A_1 = εμβαδό κορυφής ερυθροδιόλης

A_2 = εμβαδό κορυφής ουβαόλης

$\Sigma A_{\text{στερολών}}$ = ολικό εμβαδό κορυφών στερολών

Το αποτέλεσμα εκφράζεται με ένα δεκαδικό ψηφίο.

(51)

6. Προσδιορισμός λιπαρών οξέων στην 2-θέση στα τριγλυκερίδια ελαίων και λιπών

Αντικείμενο

Στην παράγραφο αυτή περιγράφεται η μέθοδος προσδιορισμού της σύστασης αυτού του κλάσματος των λιπαρών οξέων ενός ελαίου ή λίπους που εστεροποιείται στη 2-θέση (β, ή εσωτερική θέση) της γλυκερίνης.

Πεδίο εφαρμογής

Η μέθοδος αυτή είναι εφαρμόσιμη σε έλαια και λίπη με σημείο τήξης κάτω από 45 °C.

Δεν είναι απολύτως εφαρμόσιμη σε έλαια και λίπη περιέχοντα σημαντικές ποσότητες λιπαρών οξέων με δώδεκα ή λιγότερα άτομα άνθρακα (έλαια κοκοφοίνικα και φοινικόψυχας, λίπος βουτύρου), ή πολυακόρεστα λιπαρά οξέα (με περισσότερους από τέσσερις διπλούς δεσμούς) περιέχοντα είκοσι ή περισσότερα άτομα άνθρακα (έλαια ψαριών και υδρόβιων ζώων), ή λιπαρά οξέα περιέχοντα οξυγονωμένες ομάδες, εκτός από την όξινη ομάδα.

Αρχή

Πιθανή εξουδετέρωση όξινων ελαίων και λιπών σε διαλύτη. Καθαρισμός με διέλευση από στήλη αλουμίνης. Μερική υδρόλυση των τριγλυκεριδίων με παγκρεατική λιπάση επί ένα καθορισμένο χρονικό διάστημα. Διαχωρισμός των σχηματιζόμενων μονογλυκεριδίων με χρωματογραφία λεπτής στοιβάδας και μεθανόλυση των μονογλυκεριδίων αυτών. Ανάλυση των μεθυλεστέρων αυτών με αέρια-υγρή χρωματογραφία.

Όργανα

- Φιάλη των 100 ml με στρογγυλή βάση.
- Φιάλη των 25 ml με στρογγυλή βάση, και εσμήρυσμα.
- Αεροψυκτήρας, μήκους ενός μέτρου, που μπορεί να προσαρμοστεί σε φιάλη 25 ml
- Κωνική φιάλη των 250 ml.
- Ποτήρι ζέσεως των 50 ml.
- Διαχωριστική χοάνη των 500 ml.
- Γυάλινη στήλη χρωματογραφίας, εσωτερικής διαμέτρου 13 mm, μήκους 400 mm, εξοπλισμένη με διάτρητο γυάλινο δίσκο και πώμα.
- Σωλήνας φυγοκέντρησης των 10 ml, με πώμα από αδιαφανές γυαλί.
- Προχοίδα των 5 ml, βαθμονομημένη ανά 0,05 ml.
- Υποδερμική σύριγγα του 1 ml, εξοπλισμένη με λεπτή βελόνα.
- Μικροσύριγγα για παροχή σταγόνων των 3-4 ml.
- Γυάλινες πλάκες για χρωματογραφία λεπτής στοιβάδας, (20x20 cm).
- Γυάλινη δεξαμενή ανάπτυξης για χρωματογραφία λεπτής στοιβάδας, με κάλυμμα από αδιαφανές γυαλί, κατάλληλο για τις πλάκες των 20x20 cm.
- Ψεκαστήρας για χρωματογραφία λεπτής στοιβάδας.

- Φούρνος ρυθμισμένος στους 103 ± 2 °C.
- Θερμοστάτης με δυνατότητα ρύθμισης μεταξύ 30 και 45 °C, ανά 0,5 °C.
- Περιστρεφόμενος εξαερωτής.
- Δονούμενος ηλεκτρικός αναμεικτης, κατάλληλος για ζωηρή ανατάραξη του σωλήνα της φυγοκέντρωσης (Vortex).
- Λυχνία υπεριώδους για την εξέταση των πλακών λεπτής στοιβάδας.

Για τον έλεγχο της ενεργότητας της λιπάσης:

- Πεχάμετρο.
- Σπειροειδής αναδευτήρας.
- Προχοΐδα των 5 ml.
- Χρονόμετρο.

Για την πιθανή παρασκευή της λιπάσης:

- Εργαστηριακός αναδευτήρας, κατάλληλος για τη διασπορά και ανάμειξη ετερογενών υλικών.

Αντιδραστήρια

- η-εξάνιο, ή, αν δεν υπάρχει, πετρελαϊκός αιθέρας (σ.ζ. 30-50 °C), χρωματογραφική βαθμού.
- 2-προπανόλη (ή αιθανόλη), 95 % (V/V), αναλυτικού βαθμού.
- 2-προπανόλη (ή αιθανόλη), υδατικό διάλυμα 1/1.
- Διαθυλαιθέρας, απαλλαγμένος, υπεροξειδίων.
- Ακετόνη.
- Μυριμηκικό οξύ, τουλάχιστον 98 % (m/m).
- Διάλυμα ανάπτυξης: μείγμα η-εξανίου , διαθυλαιθέρα και μυριμηκικού οξέος σε αναλογία 70/30/1 (V/V/V).
- Ενεργή αλουμίνα για χρωματογραφία, ουδέτερη, βαθμού Brockmann 1.
- Σκόνη πυριτίου, κατάλληλης ποιότητας για χρωματογραφία λεπτής στοιβάδας.

- Παγκρεατική λιπάση. Κατάλληλης ποιότητας, (σημείωση 1 και 2).
- Υδροξείδιο νατρίου σε υδατικό διάλυμα (120g/l)
- Υδρογλωρικό οξύ σε υδατικό διάλυμα (6 N).
- Χλωριούχο ασβέστιο (CaCl_2) σε υδατικό διάλυμα (220 g/l).
- Χολικό νάτριο (ενζυματική ποιότητα) σε υδατικό διάλυμα (1 g/l).
- Ρυθμιστικό διάλυμα: υδατικό διάλυμα 1 M τρί-υδροξυμεθυλαμινομεθανίου φέρεται σε pH 8 με προσθήκη υδρογλωρικού οξέος (έλεγχος με πεχάμετρο).
- Φαινολοφθαλείνη σε διάλυμα (10 g/l) σε 95 % (V/V) αιθανόλη.
- 2,7-Διγλωροφλουορεσκεΐνη σε διάλυμα (2 g/l) σε 95 % (V/V) αιθανόλη, ελαφρά αλκαλική, με προσθήκη μιας σταγόνας διαλύματος 1N υδροξειδίου νατρίου ανά 100 ml.

Και για τον έλεγχο της ενεργότητας της λιπάσης:

- Εξουδετερωμένο έλαιο.
- Υδροξείδιο νατρίου σε υδατικό διάλυμα (0,1 N).
- Χολικό νάτριο (ενζυματική ποιότητα) σε υδατικό διάλυμα (200 g/l).
- Αραβικό κόμμι σε υδατικό διάλυμα (100 g/l).

Παρασκευή του δείγματος

Εάν το δείγμα έχει οξύτητα κάτω από 3 %, καθαρίζεται αμέσως μέσα από αλουμίνα.. Εάν το δείγμα έχει οξύτητα πάνω από 3 %, εξουδετερώνεται με αλκάλι παρουσία διαλύτη, κατόπιν διέρχεται από αλουμίνα όπως υποδεικνύεται παρακάτω.

Εξουδετέρωση με διάλυμα βάσεως

Σε διαχωριστική χοάνη εισάγονται περίπου 10 g ακατέργαστου ελαίου και προστίθενται 100 ml εξανίου, 50 ml 2-προπανόλης , λίγες σταγόνες διαλύματος φαινολοφθαλείνης και μία ποσότητα του διαλύματος υδροξειδίου νατρίου αντιστοιχούσα στην ελεύθερη οξύτητα του ελαίου συν 0,3 % επιπλέον. Δονούνται ζωηρά επί ένα λεπτό, προστίθενται 50 ml απεσταγμένου νερού, δονούνται ξανά και αφήνονται να ηρεμήσουν.

Μετά το διαχωρισμό των φάσεων, απομακρύνεται το στρώμα σάπωνα του πυθμένα. Επίσης αφαιρείται κάθε ενδιάμεσο στρώμα (γλίστρα, αδιάλυτη ύλη). Το διάλυμα εξανίου του εξουδετερωμένου ελαίου εκπλύεται με διαδοχικές δόσεις των 25-30 ml διαλύματος 2-προπανόλης έως ότου το ρόδινο χρώμα της φαινολοφθαλείνης εξαφανιστεί.

Το περισσότερο από το εξάνιο απομακρύνεται με απόσταξη υπό κενό στον περιστρεφόμενο εξαερωτή, το έλαιο ξηραίνεται στους 30-40 °C υπό κενό με τη βοήθεια ρεύματος καθαρού αζώτου έως ότου το εξάνιο έχει τελείως απομακρυνθεί.

Καθαρισμός με αλουμίνα

Παρασκευάζεται αιώρημα 15 g ενεργής αλουμίνας σε 50 ml εξανίου και εισάγεται, με ανάδευση, στη χρωματογραφική στήλη. Η αλουμίνα αφήνεται να κατακαθίσει ομοιόμορφα, και το επίπεδο του διαλύτη αφήνεται να πέσει έως 1-2 mm πάνω από το απορροφητικό. Εισάγεται προσεκτικά στη στήλη διάλυμα 5 g ελαίου σε 25 ml εξανίου - συλλέγεται το σύνολο του εκλούσματος από τη στήλη σε σφαιρική φιάλη.

Διαδικασία εκτέλεσης

Υδρόλυση με παγκρεατική λιπάση

Μέσα στο σωλήνα της φυγοκέντρωσης ζυγίζεται περίπου 0,1 g του παρασκευασμένου δείγματος- εάν είναι στερεό λίπος, πρέπει να διαλυθεί σε 0,2 ml εξανίου με ελαφριά θέρμανση, εάν χρειαστεί.

Προστίθενται 20 mg λιπάσης και 2 ml ρυθμιστικού διαλύματος. Αναδεύονται καλά και προσεκτικά, και μετά προστίθενται 0,5 ml διαλύματος χολικού νατρίου και 0,2 ml διαλύματος χλωριούχου ασβεστίου. Ο σωλήνας κλείνεται με το πώμα, αναδεύεται προσεκτικά (αποφεύγεται η ύγρανση του πώματος) και τοποθετείται αμέσως στο θερμοστάτη, διατηρούμενου στους $40 \pm 0,5$ °C και αναδεύεται με το χέρι επί ακριβώς ένα λεπτό.

Ο σωλήνας απομακρύνεται από το θερμοστάτη, και αναταράσσεται ζωηρά με τον ηλεκτρικό αναδευτήρα επί ακριβώς δύο λεπτά.

Ψύχεται αμέσως σε τρεχούμενο νερό, προστίθεται 1 ml υδροχλωρικού οξέος και 1 ml διαιθυλικού αιθέρα . Πωματίζεται και αναμιγνύεται ζωηρά με τον ηλεκτρικό αναδευτήρα. Αφήνεται να ηρεμήσει και απομακρύνεται η αιθερική στοιβάδα με σύριγγα , μετά από φυγοκέντρωση, εάν χρειαστεί.

Διαχωρισμός των μονογλυκεριδίων με χρωματογραφία λεπτής στοιβάδας

Το εκχύλισμα τοποθετείται στη χρωματογραφική πλάκα με μικροσύριγγα περίπου 1,5 cm από την κάτω άκρη, σε μία λεπτή, ομοιόμορφη γραμμή, στενή όσο γίνεται. Η πλάκα τοποθετείται σε καλά κορεσμένο θάλαμο αναπτύξεως και αναπτύσσεται με το διάλυμα ανάπτυξης στους 20 °C περίπου, μέχρι περίπου 1 cm από την επάνω άκρη της πλάκας.

Οι πλάκες ξηραίνονται στον αέρα, στη θερμοκρασία του λουτρού, και ψεκάζονται με διάλυμα 2,7-διχλωροφλουορεσκεινης . Η στοιβάδα των μονογλυκεριδίων (RF περίπου 0,035) αναγνωρίζεται κάτω από υπεριώδες φώς .

Ανάλυση των μονογλυκεριδίων με αέρια-υγρή χρωματογραφία

Απομακρύνεται η στοιβάδα των μονογλυκεριδίων, που διαχωρίστηκε με τη βοήθεια σπάτουλας (αποφεύγεται η απομάκρυνση συστατικών που απομένουν στη γραμμή της βάσης) και μεταφέρεται στη φιάλη μεθυλίωσης.

Το συλλεγμένο πυρίτιο επεξεργάζεται κατευθείαν, έτσι ώστε να μετατραπούν τα μονογλυκερίδια σε μεθυλεστέρες, και μετά οι εστέρες εξετάζονται με αέριο χρωματογραφία.

Έκφραση των αποτελεσμάτων

Υπολογίζεται η σύσταση των λιπαρών οξέων στη 2-θέση με ακρίβεια ενός δεκαδικού. Σε κάθε περίπτωση, συνίσταται να προσδιοριστεί η σύσταση των ολικών λιπαρών οξέων του ίδιου δείγματος, αφού η σύγκριση με αυτή των οξέων στη 2-θέση θα βοηθήσει στην ερμηνεία των λαμβανομένων στοιχείων.

ΣΗΜΕΙΩΣΕΙΣ

1. Έλεγχος της ενεργότητας της λιπάσης

Παρασκευάζεται ελαιώδες γαλακτώμα με ανάδευση μείγματος 165 ml διαλύματος αραβικού κόμμεως, 15 g κομματιασμένου πάγου και 20 ml εξουδετερωμένου ελαίου σε κατάλληλο αναδευτήρα.

Σε ένα ποτήρι ζέσης τοποθετούνται 10 ml του γαλακτώματος αυτού, ακολουθούμενα διαδοχικά από 0,3 ml διαλύματος χολικού νατρίου και 20 ml απεσταγμένου νερού.

Το ποτήρι τίθεται σε θερμοστάτη διατηρούμενο στους $37 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$, εισάγονται τα ηλεκτρόδια ενός πεχάμετρου και ένας σπειροειδής αναδευτήρας

Με μία προχοΐδα προστίθεται κατά σταγόνες το διάλυμα υδροξειδίου νατρίου έως ότου το pH γίνει 8.5.

Προστίθεται επαρκής ποσότης υδατικού αιωρήματος λιπάσης 1 % (M/M) σε νερό. (Για κάθε δοκιμή θα πρέπει να χρησιμοποιείται αρκετό από το αιώρημα αυτό έτσι ώστε περίπου 1 ml του αλκαλικού διαλύματος να καταναλώνεται σε 4 με 5 λεπτά. Συνήθως απαιτούνται περίπου 1-5 mg της σκόνης). Όταν το πεχάμετρο δείξει τιμή pH 8,3, τίθεται σε λειτουργία το χρονόμετρο και προστίθεται στάγδην διάλυμα υδροξειδίου νατρίου με ρυθμό τέτοιο ώστε να διατηρηθεί η τιμή του pH στο 8,3. Αναγιγνώσκεται ο όγκος του διαλύματος αλκάλειος που καταναλίσκεται κάθε λεπτό.

Καταγράφονται οι παρατηρήσεις σε μορφή διαγράμματος, χρησιμοποιώντας τις μετρήσεις χρόνου σαν τετμημένες και τα ml του αλκαλικού διαλύματος, που απαιτούνται για να διατηρηθεί το pH σταθερό, σαν τεταγμένες. Πρέπει να προκύψει μία ευθεία γραμμή.

Σαν μονάδα λιπάσης ορίζεται η ποσότητα του ενζύμου που θα ελευθερώσει 10 μ-ισοδύναμα οξέος ανά λεπτό. Μετά η ενεργότητα A της χρησιμοποιηθείσης σκόνης, εκφρασμένη σε μονάδες λιπάσης ανά mg, δίνεται από τη σχέση:

$$A = \frac{V \times 10}{m}$$

όπου V είναι ο όγκος του διαλύματος υδροξειδίου νατρίου που καταναλώνεται ανά λεπτό, υπολογιζόμενος από το διάγραμμα,

m είναι η μάζα, σε mg, της δοκιμαστικής δόσης της σκόνης.

Λιπάσες με ικανοποιητική ενεργότητα λιπάσης διατίθενται στο εμπόριο.

(52)

7. Προσδιορισμός περιεκτικότητας τριγλυκεριδίων .

Αντικείμενο

Προσδιορισμός της περιεκτικότητας των τριγλυκεριδίων σε υγρά φυτικά έλαια σε όρους του ισοδύναμου αριθμού άνθρακος αυτών με υγρή χρωματογραφία υψηλής απόδοσης (HPLC).

Στην παράγραφο αυτή περιγράφεται η μέθοδος διαχωρισμού και ποσοτικού προσδιορισμού της σύστασης των τριγλυκεριδίων φυτικών ελαίων σε όρους του μοριακού τους βάρους και το βαθμό ακορεστότητας σαν συνάρτηση του ισοδύναμου αριθμού άνθρακα αυτών (σημείωση 1).

Πεδίο εφαρμογής

Η μέθοδος αυτή είναι εφαρμόσιμη σε όλα τα φυτικά έλαια που περιέχουν τριγλυκερίδια λιπαρών οξέων μακριάς αλύσου. Η μέθοδος είναι ειδικά εφαρμόσιμη στην ανίχνευση της παρουσίας μικρών ποσοτήτων ημι-στερεών ελαίων (πλούσιων σε λινελαϊκό οξύ) σε φυτικά έλαια που περιέχουν ελαϊκό οξύ σαν το κυρίως ακόρεστο λιπαρό οξύ, όπως το ελαιόλαδο.

Διαχωρισμός των τριγλυκεριδίων ανάλογα με τον ισοδύναμο αριθμό ατόμων άνθρακα αυτών, με υγρή χρωματογραφία υψηλής απόδοσης (πολικότητας ανάστροφης φάσης) και ερμηνεία των χρωματογραφημάτων.

Όργανα

- Υγρός χρωματογράφος υψηλής απόδοσης, με θερμοστατικό έλεγχο της θερμοκρασίας της στήλης.
- Σύριγγα των 10 ml.

- Ανιχνευτής: διαφορικό διαθλασίμετρο. Η ευαισθησία πλήρους κλίμακας πρέπει να είναι τουλάχιστον 10-4 μονάδες δείκτη διάθλασης.
- Στήλη από ανοξείδωτο ατσάλι μήκους 250 mm και εσωτερικής διαμέτρου 4,5 mm, γεμισμένη με σωματίδια διοξειδίου του πυριτίου με 22-23 % άνθρακα σε μορφή οκταδεκυλσιλανίου, διαμέτρου 5 mm (Παραδείγματα: Lichrosorb (Merck) RP18 Art 50333-Lichrosphere (Merck) 100 CH18 Art 50377).
- Καταγραφέας ή/και ολοκληρωτής.

Αντιδραστήρια

Τα αντιδραστήρια πρέπει να είναι αναλυτικού βαθμού. Οι διαλύτες έκλουσης πρέπει να είναι απαερωμένοι, ώστε να μπορούν να ανακυκλωθούν αρκετές φορές χωρίς επίδραση στους διαχωρισμούς.

- Διαλύτης έκλουσης: ακετονιτρίλιο + ακετόνη (οι αναλογίες προσαρμόζονται προς απόκτηση του επιθυμητού διαχωρισμού- αρχή με μείγμα 50:50).
- Διαλύτης διαλυτοποίησης: ακετόνη ή μείγμα (1:1) ακετόνης-χλωροφόρμιου.
- Τριγλυκερίδια αναφοράς: είτε μπορούν να χρησιμοποιηθούν τριγλυκερίδια του εμπορίου (τριπαλμιτίνη, τριολεΐνη κ.λπ.) και οι χρόνοι κατακράτησης αυτών να σχεδιαστούν σε διάγραμμα αντιστοιχίας με τον ισοδύναμο αριθμό άνθρακα, ή, εναλλακτικά, ένα χρωματογράφημα αναφοράς από έλαιο σόγιας.

Παρασκευή των δειγμάτων

Ένα διάλυμα 5 % των δειγμάτων προς ανάλυση παρασκευάζεται ζυγίζοντας $0,5 \pm 0,001$ g του δείγματος σε ογκομετρική φιάλη των 10 ml και συμπληρώνεται έως τα 10 ml με το διαλύτη διαλυτοποίησης .

Διαδικασία εκτέλεσης

Τίθεται σε λειτουργία το χρωματογραφικό σύστημα. Ο διαλύτης έκλουσης αντλείται με ρυθμό 1,5 ml/min για να καθαριστεί ολόκληρο το σύστημα. Αναμένουμε μέχρις ότου αποκτηθεί μία σταθερή γραμμή βάσης.

Υπολογισμός και έκφραση των αποτελεσμάτων

Χρησιμοποιείται η μέθοδος με εσωτερικό πρότυπο, δηλαδή υποτίθεται ότι το άθροισμα των εμβαδών των κορυφών που αντιστοιχούν στα διάφορα τριγλυκερίδια ισούται με το 100 %. Η σχετική ποσοστιαία περιεκτικότητα κάθε τριγλυκεριδίου υπολογίζεται χρησιμοποιώντας την εξίσωση:

ποσοστό επί % τριγλυκεριδίου = εμβαδόν κορυφής X 100 / άθροισμα εμβαδών κορυφών,

με το αποτέλεσμα να δίνεται με ένα δεκαδικό.

(52,59)

8.Φασματοφωτομετρική ανάλυση στο υπεριώδες

Η φασματοφωτομετρική ανάλυση στο υπεριώδες μπορεί να δώσει πληροφορίες ως προς την ποιότητα ενός λίπους, την κατάσταση συντήρησης του και τις μεταβολές που έχουν επέλθει τις οφειλόμενες σε τεχνολογικές διαδικασίες.

Οι φασματοσκοπικές μέθοδοι ανάλυσης, βασίζονται στην ικανότητα διαφόρων ουσιών να αλληλεπιδρούν με ή να εκπέμπουν ακτινοβολίες χαρακτηριστικών συχνοτήτων. Στη φασματοφωτομετρία μετριέται η απορρόφηση A ή η διαπερατότητα T του δείγματος και με βάση αυτές εκτελείται ποιοτική και ποσοτική ανάλυση (6).

Η απορρόφηση στα μήκη κύματος που καθορίζονται στη μέθοδο οφείλεται στη παρουσία συζυγιακών συστημάτων διενίων και τριενίων. Οι απορροφήσεις αυτές εκφράζονται ως ειδικές αποσβέσεις E_{1cm} 1% (η απόσβεση διαλύματος 1% του λίπους στον ορισμένο διαλύτη, σε πάχος 1cm) συμβατικά παριστάμενες με K (που ονομάζεται επίσης συντελεστής αποσβέσεως).

Το υπό εξέταση δείγμα διαλύεται στον απαιτούμενο διαλύτη και μετά προσδιορίζεται η απόσβεση του διαλύματος στα καθοριζόμενα μήκη κύματος αναφορικά προς καθαρό διαλύτη. Οι ειδικές αποσβέσεις υπολογίζονται από της φασματοφωτομετρικές αναγνώσεις. (3)

Αντικείμενο

Η μέθοδος περιγράφει τη διαδικασία εκτέλεσης φασματοφωτομετρικής εξέτασης λιπών στο υπεριώδες.

Αρχή της μεθόδου

Το υπό εξέταση λίπος διαλύεται στον κατάλληλο διαλύτη και μετά προσδιορίζεται η απόσβεση του διαλύματος στα καθοριζόμενα μήκη κύματος αναφορικά προς καθαρό διαλύτη. Οι ειδικές αποσβέσεις υπολογίζονται από τις φασματοφωτομετρικές αναγνώσεις.

Όργανα

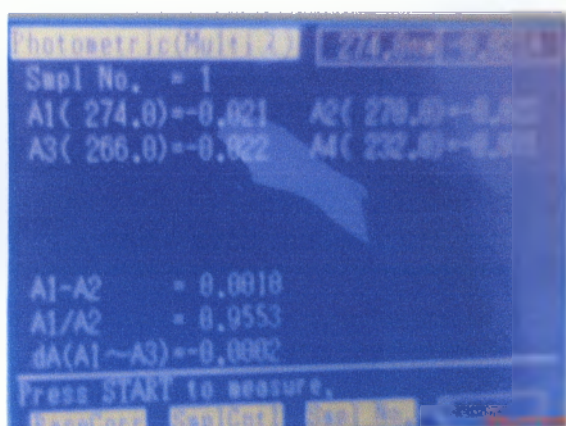
- Φασματοφωτόμετρο προς μέτρηση αποσβέσεων στο υπεριώδες μεταξύ 220 και 360nm, με δυνατότητα ανάγνωσης αυτόνομων νανομετρικών μονάδων.
- Ορθογώνιες κυψελίδες από χαλαζία, με καλύμματα, οπτικού μήκους 1cm. Όταν είναι γεμάτες με νερό ή άλλο κατάλληλο διαλύτη, οι κυψελίδες δεν πρέπει να εμφανίζουν διαφορά μεταξύ τους μεγαλύτερη από 0,01 μονάδες απόσβεσης.
- Ογκομετρικές φιάλες των 25ml.
- Χρωματογραφική στήλη της οποίας το επάνω μέρος έχει μήκος 270nm και διάμετρο 35mm και το κάτω μέρος μήκος 270nm και διάμετρο 10cm.



Εικόνα 7: φασματοφωτόμετρο Υπεριώδους φάσματος.



Εικόνα8: Οθόνη φασματοφωτόμετρου



Εικόνα 9: Αποτελέσματα δείγματος ελαιόλαδου με φασματοφωτομετρική ανάλυση, στην οθόνη του φασματοφωτόμετρου.



Εικόνα 10: κοψελίδες χαλαζία



Εικόνα 11: ογκομετρική φιάλη 25ml.

Αντιδραστήρια

- Ισοοκτάνιο φασματοσκοπικής καθαρότητας (2,2,4-τριμεθυλοπεντάνιο). Αναφορικά προς αποσταγμένο νερό, αυτό δεν πρέπει να έχει διαπερατότητα μικρότερη από 60% στα 220nm και μικρότερη από 95% στα 250nm.
ή
Κυκλοεξάνιο φασματοσκοπικής καθαρότητας: αναφορικά προς απεσταγμένο νερό, αυτό δεν πρέπει να έχει διαπερατότητα μικρότερη από 40 % στα 220 nm και μικρότερη από 95 % στα 250 nm.
ή
άλλο κατάλληλο διαλύτη ικανό να διαλύει πλήρως το λίπος (παραδείγματος χάρη αιθυλική αλκοόλη για καστορέλαιο).
- Βασική αλουμίνα για χρωματογραφία στήλης
- η-εξάνιο, για χρωματογραφία.

Διαδικασία

Το υπό εξέταση δείγμα πρέπει να είναι εντελώς ομοιογενές και χωρίς υποψία ακαθαρσιών. Έλαια τα οποία είναι υγρά σε θερμοκρασία περιβάλλοντος πρέπει να διηθηθούν μέσω διηθητικού χάρτη σε θερμοκρασία περίπου 30°C, σκληρά λίπη (στερεά σε θερμοκρασίες δωματίου).πρέπει να ομογενοποιηθούν και να διηθηθούν σε θερμοκρασία όχι μεγαλύτερη από 10°C πάνω από το σημείο τήξης.

Ζυγίζονται με σχετική ακρίβεια 0,25gr του δείγματος που προετοιμάστηκε με τον τρόπο αυτό σε ογκομετρική φιάλη των 25ml, ο όγκος συμπληρώνεται έως την χαραγή με τον καθοριζόμενο διαλύτη και ανακινείται. Το διάλυμα που προκύπτει πρέπει να είναι εντελώς διαυγές. Αν υπάρχει διαφάνεια ή θολότητα διηθείται γρήγορα μέσω διηθητικού χάρτη.

Γεμίζεται μια κυψελίδα με το διάλυμα και μετρώνται οι απορροφήσεις σε κατάλληλο μήκος κύματος μεταξύ 232 και 276nm, λαμβάνοντας τον χρησιμοποιούμενο διαλύτη ως αναφορά.

Οι καταγραφόμενες τιμές απόσβεσης πρέπει να βρίσκονται μέσα στη περιοχή 0,1-0,8. Εάν όχι, οι μετρήσεις πρέπει να επαναληφθούν, χρησιμοποιώντας κατά περίπτωση πυκνότερα ή αραιότερα διαλύματα.

Όταν απαιτείται προσδιορισμός ειδικής απόσβεσης μετά από διέλευση από αλουμίνα, εκτελείται ως εξής: τοποθετούνται 30gr βασικής αλουμίνας σε αιώρημα, σε εξάνιο, μέσα στη χρωματογραφική στήλη. Αφού η αλουμίνα κατακαθίσει, απομακρύνεται το πλεονάζον εξάνιο έως 1cm περίπου πάνω από την κορυφή της αλουμίνας.

Διαλύονται 10gr του λίπους ομογενοποιημένου και διηθέντος όπως περιγράφηκε , σε 100ml εξανίου και το διάλυμα εκχύεται μέσα στη στήλη. Το έκλουσμα συλλέγεται και απομακρύνεται όλος ο διαλύτης υπό κενό σε θερμοκρασία κάτω από 25°C.

Χρησιμοποιούμε το λίπος που αποκτήθηκε με τον τρόπο αυτό ως δείγμα.

Έκφραση των αποτελεσμάτων

Καταγράφονται οι ειδικές αποσβέσεις (συντελεστές αποσβέσεως) στα διάφορα μήκη κύματος, υπολογιζόμενες ως εξής:

$$K_{\lambda} = \frac{E_{\lambda}}{C \cdot x}$$

όπου:

K_λ = ειδική απόσβεση σε μήκος κύματος λ

E_λ = απόσβεση μετρηθείσα σε μήκος κύματος λ

C =συγκέντρωση του διαλύματος σε g/100ml

s =πάχος της κυψελίδας σε cm

Τα αποτελέσματα εκφράζονται με δύο δεκαδικά ψηφία.

Η φασματοφωτομετρική ανάλυση ελαιόλαδου σύμφωνα με την επίσημη μέθοδο των κανονισμών της ΕΟΚ, καθορίζει τον προσδιορισμό της ειδικής απόσβεσης σε διάλυμα ισοακτανίου σε μήκη κύματος 232 και 270nm και τον προσδιορισμό της ΔK , ο οποίος αποδίδεται ως:

$$\Delta K = \frac{K_m - K_{m-4} + K_{m+4}}{2}$$

Όπου K_m είναι η ειδική απόσβεση σε μήκος κύματος m , το μήκος κύματος μέγιστης απορρόφησης γύρω από τα 270nm.

(54)

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ I

Προετοιμασία της αλουμίνας και έλεγχος της ενεργότητας της.

Προετοιμασία της αλουμίνας

Αλουμίνα, προηγούμενα αποξηραθείσα σε φούρνο στους 380-400 °C επί 3 ώρες, τοποθετείται σε ερμητικά κλεισμένο δοχείο, προστίθεται απεσταγμένο νερό σε αναλογία 5 ml ανά 100 g αλουμίνας, το δοχείο κλείνεται αμέσως, ανακινείται επανειλημμένα και μετά αφήνεται της έχει επί τουλάχιστον 12 ώρες πριν από τη χρήση.

Έλεγχος της ενεργότητας της αλουμίνας

Προετοιμάζεται χρωματογραφική στήλη με 30 g αλουμίνας. Διοχετεύεται μείγμα αποτελούμενο από:

- 95 % παρθένο ελαιόλαδο με ειδική απόσβεση μικρότερη από 0,18 στα 268 nm,
- 5 % αραχιδέλαιο επεξεργασμένο με γη κατά τη διαδικασία εξευγενισμού, με ειδική απόσβεση όχι μικρότερη από 4 στα 268 nm μέσα από τη στήλη.

Εάν μετά από διέλευση μέσα από τη στήλη το μείγμα έχει ειδική απόσβεση μεγαλύτερη από 0,11 στα 268 nm, η αλουμίνα είναι αποδεκτή, εάν όχι, πρέπει να αυξηθεί το επίπεδο αφυδρογόνωσης.

9.Ανάλυση μεθυλεστέρων λιπαρών οξέων.

9.1.Μέθοδοι ανάλυσης τριγλυκεριδίων.

Η εκάστοτε τεχνική πρέπει να επιλέγεται ανάλογα με τη σύνθεση ως προς τα λιπαρά οξέα και με την οξύτητα της προς ανάλυση λιπαρής ύλης και σε συνάρτηση με την αεριοχρωματογραφική ανάλυση που πρόκειται να εκτελεστεί.

Πιο συγκεκριμένα:

- για λιπαρές ύλες που περιέχουν λιπαρά οξέα με λιγότερα από 12 άτομα άνθρακα, μπορούν να χρησιμοποιηθούν μόνο οι τεχνικές κλειστού φιαλιδίου ή θεικού διμεθυλεστέρα,
- για λιπαρές ύλες οξύτητας άνω του 3 %, μπορούν να χρησιμοποιηθούν μόνον οι τεχνικές μεθανόλης-υδροχλωρικού οξέος ή θεικού διμεθυλεστέρα,
- για τον αεριοχρωματογραφικό προσδιορισμό των transFD15> ισομερών μπορούν να χρησιμοποιηθούν μόνον οι τεχνικές μεθειΐκου νατρίου ή θεικού διμεθυλεστέρα.
- η τεχνική μεθανόλης-εξανίου οξέος πρέπει να χρησιμοποιείται για την παρασκευή μεθυλεστέρων από μικρές ποσότητες λιπαρών υλών, που προέρχονται από διαχωρισμούς με χρωματογραφία λεπτής στοιβάδας.(55)

9.2.Ανάλυση μεθυλεστέρων λιπαρών οξέων με αέριο χρωματογραφία.

Αντικείμενο και σκοπός προσδιορισμού

Οι μεθυλεστέρες που παρασκευάζονται με κάποια από τις μεθόδους της παραγράφου 9.1. αναλύονται με αέριο χρωματογραφία..

Αντιδραστήρια

- Φέρον αέριο

Αδρανές αέριο (άζωτο, ήλιο, αργό, υδρογόνο, κ.λπ.) που έχει πλήρως ξηρανθεί και περιέχει λιγότερο από 10 mg/kg οξυγόνου.

- Βοηθητικά αέρια

- ο Υδρογόνο (καθαρότητας 99,9 %), απαλλαγμένο από οργανικές προσμείξεις.

- ο Αέρας ή οξυγόνο χωρίς οργανικές προσμείξεις.

- Πρότυπο αναφοράς

Μείγμα μεθυλεστέρων καθαρών λιπαρών οξέων ή μεθυλεστέρες λιπών γνωστής σύστασης, κατά προτίμηση ανάλογης με τη σύσταση της προς ανάλυση λιπαρής ύλης.

Λαμβάνεται πρόνοια ώστε να παρεμποδιστεί η οξείδωση των πολυακόρεστων λιπαρών οξέων.

Συσκευές και όργανα

Οι παρεχόμενες υποδείξεις αφορούν το συνήθη εργαστηριακό εξοπλισμό αέριας χρωματογραφίας, με χρήση κοινών ή/και τριχοειδών στηλών και ανιχνευτή φλογός ιονισμού.

- Αέριος χρωματογράφος με κοινές ή /και τριχοειδείς στήλες ιονισμού φλόγας

Η στήλη πρέπει να βρίσκεται σε θερμοκρασία τουλάχιστον 268 °C και να διατηρεί την επιθυμητή θερμοκρασία με ακρίβεια ± 1 °C,

προκειμένου για κοινές στήλες, ή $\pm 0,1$ °C προκειμένου για τριχοειδείς.

- Κοινή στήλη (pocued column)

Στήλη κατασκευασμένη από υλικό αδρανές σε σχέση με τις προς ανάλυση ουσίες (δηλαδή από γυαλί ή ανοξείδωτο χάλυβα) με τις ακόλουθες διαστάσεις:

α) μήκος: 1 έως 3 μέτρα. Παρουσία λιπαρών οξέων με μακρά αλυσό (άνω του C20), θα πρέπει να χρησιμοποιείται σχετικά κοντή στήλη. Για την ανάλυση οξέων με 4 ή 6 άτομα άνθρακα, συνιστάται η χρήση στήλης μήκους 2 μέτρων-

β) εσωτερική διάμετρος: 2 έως 4 mm.

Με τις στήλες από ανοξείδωτο χάλυβα είναι δυνατόν να επέλθει αποσύνθεση των πολυακόρεστων συστατικών με περισσότερους από τρεις διπλούς δεσμούς.

Το υλικό πληρώσεως της στήλης, αποτελείται από τα ακόλουθα στοιχεία:

α) υπόστρωμα: Γη διατόμων, που έχει υποβληθεί σε έκπλυση με οξύ και σιλιανοποίηση ή άλλο κατάλληλο αδρανές υπόστρωμα, με στενό εύρος μεγέθους κόκκων (εύρος 25 mm μεταξύ των οριακών τιμών 125 mm και 200 mm)- το μέσο μέγεθος κόκκων εξαρτάται από την εσωτερική διάμετρο και το μήκος της στήλης-

β) Στατική φάση: Πολική φάση πολυεστερικού τύπου κυανοσιλικόνες ή οποιαδήποτε άλλη φάση επιτρέπει τον απαιτούμενο διαχωρισμό (βλέπει διάταξη 5). Η ακίνητη φάση θα πρέπει να καταλαμβάνει ποσοστό 5 % (m/m) έως 20 % (m/m) του υλικού πληρώσεως.

- Τριχοειδής στήλη

Στήλη κατασκευασμένη από υλικό αδρανές σε σχέση με τις προς ανάλυση ουσίες (συνήθως γυαλί ή συντετηγμένο διοξείδιο του πυριτίου). Η εσωτερική διάμετρος κυμαίνεται μεταξύ 0,2 mm και 0,8 mm. Η εσωτερική επιφάνεια υποβάλλεται σε κατάλληλη κατεργασία (επιφανειακή προετοιμασία, αδρανοποίηση), πριν επιστρωθεί με την

στατική φάση. Στις περισσότερες περιπτώσεις αρκεί μήκος 25 μέτρων.

Η στατική φάση, είναι συνήθως τύπου πολυγλυκόλης (πολυαιθυλενογλυκόλη) 20 000, πολυεστέρα (πολυηλεκτρική βουτανοδιόλη) ή πολικού πολυσιλοξανίου (κυανοσιλικόνες).

- Ανιχνευτής ιονισμού φλόγας, κατά προτίμηση επιδεχόμενος θέρμανση σε θερμοκρασία υψηλότερη από της στήλης. Εναλλακτικά μπορεί να χρησιμοποιηθεί ανιχνευτής θερμικής αγωγιμότητας.
- Καταγραφέας

Αν για τον υπολογισμό της σύστασης του προς ανάλυση μείγματος πρόκειται να χρησιμοποιηθεί καμπύλη καταγραφέα, απαιτείται ηλεκτρονικός καταγραφέας μεγάλης ακρίβειας, συμβατός με τις χρησιμοποιούμενες συσκευές. Ο καταγραφέας πρέπει να έχει τα ακόλουθα χαρακτηριστικά:

α) ταχύτητα απόκρισης μικρότερη από 1,5 s, κατά προτίμηση 1 s (ταχύτητα απόκρισης είναι ο χρόνος που χρειάζεται η γραφίδα του καταγραφέα για να καλύψει το διάστημα 8 % έως 90 % μετά την ακαριαία είσοδο σήματος 100 %)-

β) πλάτος χαρτιού 20 cm κατ' ελάχιστο όριο-

γ) ταχύτητα χαρτιού ρυθμιζόμενη σε διάφορες τιμές μεταξύ 8,4 cm/min και 2,5 cm/min.

- Ολοκληρωτής ή υπολογιστής (προαιρετικά)

Ταχείς και ακριβείς υπολογισμοί μπορούν να επιτευχθούν με τη βοήθεια ηλεκτρονικού ολοκληρωτή ή ηλεκτρονικού υπολογιστή- το όργανο αυτό πρέπει να παρέχει γραμμική απόκριση με επαρκή ευαισθησία, καθώς και ικανοποιητική διόρθωση, όσον αφορά την απόκλιση της γραμμής βάσεως.

Εκτέλεση

Συνθήκες δοκιμής

Εκλογή των άριστων συνθηκών εργασίας για την επίτευξη μέγιστου αριθμού θεωρητικών πλακών.

Κοινή στήλη

Για την εκλογή των συνθηκών δοκιμής, θα πρέπει να λαμβάνονται υπόψη οι ακόλουθες μεταβλητές:

- α) το μήκος και η διάμετρος της στήλης-
- β) το είδος και η ποσότητα της στατικής φάσης-
- γ) η θερμοκρασία της στήλης-
- δ) η ταχύτητα ροής του φέροντος αερίου-
- ε) η απαιτούμενη διακριτική ικανότητα-
- ζ) η ποσότητα του δείγματος δοκιμής, η οποία επιλέγεται με τρόπο ώστε η συνδεσμολογία ανιχνευτή και ηλεκτρομέτρου να παρέχει γραμμική απόκριση-
- η) η διάρκεια της ανάλυσης.

Οι τιμές που παρατίθενται στους πίνακες 1 και 2 γενικά, οδηγούν στα επιθυμητά αποτελέσματα, δηλαδή αποτελεσματικότητα τουλάχιστον 2 000 θεωρητικών πλακών ανά μέτρο μήκους της στήλης, για το στεατικό μεθυλεστέρα και έκλυση του σε 15 min περίπου.

Εφόσον το επιτρέπει ο χρησιμοποιούμενος εξοπλισμός, η θερμοκρασία του συστήματος έγχυσης θα πρέπει να είναι περίπου 200 °C και του ανιχνευτή ίση ή υψηλότερη από τη θερμοκρασία της στήλης.

Πίνακας 4 Α

Εσωτερική διάμετρος στήλης mm	Ταχύτητα ροής φέροντος αερίου ml/min
2	15 έως 25
3	20 έως 40
4	40 έως 60

Πίνακας 4 Β

Συγκέντρωση φάσης% (m/m)	Θερμοκρασία στήλης °C
5	175
10	180
15	185
20	185

Τριχοειδής στήλη

Ο διαχωρισμός των συστατικών και η διάρκεια της ανάλυσης εξαρτώνται σε μεγάλο βαθμό από την ταχύτητα ροής του φέροντος αερίου στη στήλη. Κατά συνέπεια, για την επίτευξη άριστων συνθηκών εργασίας, είναι απαραίτητο να ρυθμιστεί αυτή η παράμετρος, ανάλογα με το αν επιδιώκεται καλύτερος διαχωρισμός ή ταχύτερη ανάλυση.

Για τον προσδιορισμό του αριθμού θεωρητικών πλακών (αποδοτικότητα) και της διακριτικής ικανότητας, εκτελείται ανάλυση μείγματος στεατικού μεθυλεστέρα και ελαϊκού μεθυλεστέρα σε ίσες περίπου αναλογίες (παραδείγματος χάρι μεθυλεστέρες από βούτυρο κακάου).

Η θερμοκρασία της στήλης και η ταχύτητα ροής του φέροντος αερίου επιλέγονται με τρόπο ώστε το μέγιστο της κορυφής που αντιστοιχεί στο στεατικό μεθυλεστέρα να καταγράφεται 15 min περίπου μετά την κορυφή που αντιστοιχεί στο διαλύτη. Χρησιμοποιείται αρκετή ποσότητα από το μείγμα των μεθυλεστέρων, ώστε η κορυφή που αντιστοιχεί στο στεατικό μεθυλεστέρα να καταλαμβάνει περίπου τα 3/4 της πλήρους κλίμακας.

Οι συνθήκες εργασίας που πρέπει να επιλέγονται είναι εκείνες με τις οποίες επιτυγχάνονται αποδοτικότητα τουλάχιστον 2 000 θεωρητικών πλακών ανά μέτρο μήκους της στήλης, για το στεατικό μεθυλεστέρα, και διακριτική ικανότητα τουλάχιστον. (1,25)

Δείγμα δοκιμής

Με τη βοήθεια της σύριγγας, λαμβάνονται 0,1 ml έως 2 ml από το διάλυμα μεθυλεστέρων που έχει παρασκευαστεί σύμφωνα με την παράγραφο 9.1. και εγχέονται στη στήλη.

Σε περίπτωση που οι εστέρες δεν είναι διαλυμένοι, παρασκευάζεται διάλυμα συγκεντρώσεως περίπου 100 mg/ml σε επτάνιο χρωματογραφικής καθαρότητας, από το οποίο εγχέονται 0,1 ml έως 1 ml.

Αν πρόκειται για ανάλυση συστατικών που περιέχονται μόνο σε ίχνη, η ποσότητα του δείγματος δοκιμής μπορεί να αυξηθεί (έως 10 φορές).

Ανάλυση

Οι συνθήκες εργασίας είναι γενικά εκείνες που καθορίστηκαν κατά την εύρεση της βέλτιστης αποδοτικότητας της στήλης (θεωρητικών πλακών).

Η εργασία, ωστόσο, μπορεί να εκτελεστεί σε χαμηλότερη θερμοκρασία στήλης, όταν απαιτείται ο προσδιορισμός λιπαρών οξέων με λιγότερα από 12 άτομα άνθρακα, ή σε υψηλότερη, προκειμένου για τον προσδιορισμό λιπαρών οξέων με περισσότερα από 20 άτομα άνθρακα. Όταν το επιτρέπουν οι περιστάσεις, είναι δυνατόν να εφαρμοστεί προγραμματισμός θερμοκρασίας και στις δύο παραπάνω περιπτώσεις. Παράδειγμα: αν το δείγμα περιέχει τους μεθυλεστέρες λιπαρών οξέων με λιγότερα από 12 άτομα άνθρακα, το δείγμα εγχέεται στους 100 °C (ή στους 50-60 °C παρουσία βουτυρικού οξέος) και αμέσως η θερμοκρασία φέρεται στην άριστη τιμή με ταχύτητα 4 °C/min έως 8 °C/min. Σε ορισμένες περιπτώσεις, μπορεί να γίνει συνδυασμός των δύο τεχνικών.

Μετά τη θέρμανση με προγραμματισμό θερμοκρασίας, συνεχίζεται η έκλουση σε σταθερή θερμοκρασία, μέχρι να εκλουσθούν όλα τα συστατικά. Εάν το όργανο δεν επιτρέπει θέρμανση με προγραμματισμό θερμοκρασίας, η εργασία εκτελείται σε δύο καθορισμένες θερμοκρασίες μεταξύ 180 °C και 195 °C.

Συνιστάται, εφόσον είναι απαραίτητο, η διεξαγωγή δύο αναλύσεων με στατικές φάσεις διαφορετικής πολικότητας, ώστε να επιβεβαιωθεί η απουσία συγκαλυμμένων κορυφών, παραδείγματος χάρη στην περίπτωση της ταυτόχρονης παρουσίας συζυγών C18:3 και C28:8 ή C18:3 και C18:2.

Καταγραφή του χρωματογραφήματος και των γραφικών παραστάσεων αναφοράς

Εκτελείται ανάλυση του πρότυπου μείγματος αναφοράς, με τις ίδιες συνθήκες εργασίας όπως για το δείγμα, και μετρώνται οι χρόνοι ή οι αποστάσεις κατακράτησης για τα λιπαρά οξέα που το αποτελούν. Για κάθε βαθμό ακόρεστου, σχεδιάζονται σε ημιλογαριθμικό χαρτί οι γραφικές παραστάσεις που απεικονίζουν το λογάριθμο του χρόνου ή της απόστασης κατακράτησης συναρτήσει του αριθμού ατόμων άνθρακα. Σε ισόθερμες συνθήκες, οι καμπύλες για οξέα με ευθεία αλυσίδα και τον ίδιο βαθμό ακόρεστου θα πρέπει να είναι ευθείες γραμμές, σχεδόν παράλληλες.

Είναι απαραίτητο να αποφεύγονται οι συνθήκες εκείνες, που επιτρέπουν "συγκαλυμμένες κορυφές", δηλαδή με τις οποίες η διακριτική ικανότητα είναι ανεπαρκής για το διαχωρισμό δύο συστατικών.

Έκφραση των αποτελεσμάτων

Ποσοτική ανάλυση

Προσδιορισμός της σύστασης

Εκτός από εξαιρετικές περιπτώσεις, εφαρμόζεται η μέθοδος εσωτερικής κανονικοποίησης, δηλαδή λαμβάνεται ως δεδομένο ότι στο χρωματογράφημα εμφανίζεται το σύνολο των συστατικών του δείγματος, με τρόπο ώστε το συνολικό εμβαδόν που περικλείεται από τις κορυφές να αντιπροσωπεύει το 100 % των συστατικών (πλήρης έκλυση).

Εάν ο χρησιμοποιούμενος εξοπλισμός περιλαμβάνει ολοκληρωτή, χρησιμοποιούνται οι αριθμοί που λαμβάνονται από αυτόν. Σε αντίθετη περίπτωση, το εμβαδόν που περικλείεται από κάθε κορυφή προσδιορίζεται πολλαπλασιάζοντας το ύψος της επί το πλάτος της στο μέσον του ύψους, ενώ λαμβάνονται υπόψη, κατά περίπτωση, οι διάφορες εξασθενήσεις του σήματος κατά την καταγραφή.

Τρόπος υπολογισμού

Γενική περίπτωση

Η περιεκτικότητα σε δεδομένο συστατικό i, εκφραζόμενη σε κατά μάζα εκατοστιαία αναλογία μεθυλεστέρων, υπολογίζεται με τον προσδιορισμό του επί τοις εκατό ποσοστού που αντιπροσωπεύει το εμβαδόν της αντίστοιχης κορυφής ως προς το άθροισμα των εμβαδών όλων των κορυφών, εφαρμόζοντας τον τύπο:

$$\frac{A_i}{\Sigma a} \times 100$$

όπου:

A_i = είναι το εμβαδόν που περικλείεται από την κορυφή η οποία αντιστοιχεί στο συστατικό i,

Σa = είναι το άθροισμα των εμβαδών που περικλείονται από όλες τις κορυφές.

Το αποτέλεσμα δίδεται με ένα δεκαδικό ψηφίο. Το αποτέλεσμα του υπολογισμού βάσει των σχετικών εμβαδών αντιπροσωπεύει εκατοστιαία αναλογία κατά μάζα.

Χρήση συντελεστών διορθώσεως

Σε ορισμένες περιπτώσεις, παραδείγματος χάρη παρουσία λιπαρών οξέων με λιγότερα από 8 άτομα άνθρακα ή οξέων με δευτερεύουσες ομάδες, όταν χρησιμοποιούνται ανιχνευτές θερμικής αγωγιμότητας ή όταν απαιτείται οπωσδήποτε η μεγαλύτερη δυνατή ακρίβεια, θα πρέπει να χρησιμοποιούνται συντελεστές διορθώσεως για τη μετατροπή του επί τοις εκατό ποσοστού των εμβαδών των κορυφών σε κατά μάζα εκατοστιαίες αναλογίες συστατικών.

Οι συντελεστές διορθώσεως καθορίζονται με τη βοήθεια χρωματογραφήματος που προκύπτει από την ανάλυση μείγματος μεθυλεστέρων γνωστής σύστασης η οποία εκτελείται με πανομοιότυπες συνθήκες εργασίας όπως η ανάλυση του δείγματος.

Για το εν λόγω μείγμα αναφοράς, η κατά μάζα εκατοστιαία αναλογία του συστατικού i παρέχεται από τον τύπο:

$$\frac{m_i}{\Sigma m} \times 100$$

Όπου:

m_i = είναι η μάζα του συστατικού i στο μείγμα αναφοράς,

Σm = είναι η συνολική μάζα των διαφόρων συστατικών του μείγματος αναφοράς.

Από το χρωματογράφημα του μείγματος αναφοράς, υπολογίζεται το επί τοις εκατό ποσοστό (εμβαδόν/εμβαδόν) για το συστατικό i ως εξής:

$$\frac{A_i}{\Sigma A} \times 100$$

Όπου:

A_i = είναι το εμβαδόν που περικλείεται από την κορυφή η οποία αντιστοιχεί στο συστατικό i ,

ΣA = είναι το άθροισμα των εμβαδών που περικλείονται από όλες τις κορυφές.

Ο συντελεστής διορθώσεων υπολογίζεται τότε ως λόγος

$$K_i = \frac{m_i}{\Sigma m}$$

$$A_i \times \Sigma m$$

Στην κοινή πρακτική, οι συντελεστές διορθώσεως εκφράζονται σε σχέση με το συντελεστή $K_C 1.6$ οπότε προκύπτουν οι σχετικοί συντελεστές:

$$K_{mi} = K_C 1.6$$

$$K_{mi} = K_i K_C 1.6$$

Όσον αφορά το δείγμα, η περιεκτικότητα σε κάθε συστατικό i εκφραζόμενη ως κατά μάζα εκατοστιαία αναλογία μεθυλεστέριων, είναι

$$\Sigma (K_{mi} \times A_i) \times 100$$

Τα αποτελέσματα δίδονται με ένα δεκαδικό ψηφίο.

(56)

10.Μέθοδοι Υδρόλυσης τριγλυκεριδίων και παρασκευής μεθυλεστέρων λιπαρών οξέων.

Αντικείμενο

Οι τεχνικές παρασκευής μεθυλεστέρων από λιπαρά οξέα είναι οι εξής:

Τεχνική 1: Μεθοξειδίου του νατρίου.

Αρχή της μεθόδου

Η προς ανάλυση λιπαρή ύλη θερμαίνεται με κάθετο ψυκτήρα με μεθυλική αλκοόλη και μεθοξείδιο του νατρίου (CH_3ONa). Οι λαμβανόμενοι μεθυλεστέρες εκχυλίζονται με διαιθυλαιθέρα.

Εργαστηριακά σκεύη και όργανα

- Σφαιρική φιάλη των 100 ml, η οποία φέρει κάθετο ψυκτήρα εφοδιασμένο στο άνω άκρο του με σωλήνα νατρασβέστου, το σύνολο με εσφυρισμένους συνδέσμους.
- Ογκομετρικός κύλινδρος των 50 ml.
- Βαθμολογημένο σιφώνιο των 5 ml με υποδιαιρέσεις 0,1 ml.
- Διαχωριστικές χοάνες των 250 ml.
- Σφαιρική φιάλη των 200 ml.

Αντιδραστήρια

- Άνυδρη μεθανόλη.
- Μεθανολικό διάλυμα μεθοξειδίου του νατρίου, συγκεντρώσεως περίπου 1 %, που παρασκευάζεται με διάλυση 0,34 g μεταλλικού νατρίου σε 100 ml άνυδρης μεθανόλης.
- Διαιθυλαιθέρας.
- Χλωριούχο νάτριο, διάλυμα συγκεντρώσεως 10 %.
- Πετρελαϊκός αιθέρας σ.ζ. 40-60 °C.

Τρόπος εργασίας

Στη σφαιρική φιάλη των 100 ml φέρονται 2 g λιπαρής ύλης, που έχει προξηρανθεί με θεικό νάτριο και διηθηθεί. Προστίθενται 35 ml μεθανόλης,

συνδέεται ο ψυκτήρας και το σύνολο θερμαίνεται μέχρι βρασμού με κάθετο ψυκτήρα για λίγα λεπτά.

Διακόπτεται η θέρμανση, αποσυνδέεται ο ψυκτήρας και προστίθενται με ταχύτητα 3,5 ml διαλύματος μεθοξειδίου του νατρίου, συνδέεται και πάλι ο ψυκτήρας και το σύνολο θερμαίνεται μέχρι βρασμού με κάθετο ψυκτήρα για τρεις τουλάχιστον ώρες. Η μεθυλίωση θεωρείται πλήρης, όταν όλη η ποσότητα της λιπαρής ύλης έχει περάσει σε υγρή κατάσταση και το μείγμα της αντίδρασης είναι απόλυτα διαυγές σε θερμοκρασία δωματίου.

Το μείγμα της αντίδρασης ψύχεται και μεταγγίζεται σε διαχωριστική χοάνη των 250 ml. Προστίθενται 35-50 ml διαιθυλαιθέρα, 100 ml νερού και 5-6 ml διαλύματος χλωριούχου νατρίου 10 %. Η χοάνη ανακινείται και αφήνεται σε ηρεμία για να διαχωριστούν οι στοιβάδες- η υδατική στοιβάδα μεταγγίζεται σε άλλη διαχωριστική χοάνη και επαναλαμβάνεται η εκχύλιση με 25 ml διαιθυλαιθέρα.

Οι αιθερικές στοιβάδες ενώνονται και προστίθενται σ' αυτές 50 ml πετρελαϊκού αιθέρα σ.ζ. 40-60 °C- με τον τρόπο αυτό διαχωρίζεται το νερό, το οποίο και απομακρύνεται.

Η αιθερική στοιβάδα εκπλύνεται τρεις φορές με 10-15 ml νερού κάθε φορά, ξηραίνεται με θειικό νάτριο και διηθείται με χάρτινο ηθμό. Το διήθημα συλλέγεται στη σφαιρική φιάλη των 200 ml.

Ο διαλύτης απομακρύνεται με απόσταξη και η διαδικασία αυτή συμπληρώνεται σε υδατόλουτρο με τη διοχέτευση ρεύματος καθαρού αζώτου.

Τεχνική 2: Μεθοξειδίου του νατρίου σε κλειστό φιαλίδιο.

Αρχή της μεθόδου

Η προς ανάλυση λιπαρή ύλη υποβάλλεται σε κατεργασία με μεθανολικό διάλυμα, μεθοξειδίου του νατρίου, σε κλειστό φιαλίδιο, στους 85-90 °C.

Εργαστηριακά σκεύη και όργανα

- Παχύτοιχο, γυάλινο φιαλίδιο, χωρητικότητας περίπου 5 ml (ύψος 40-45 mm, διάμετρος 14-16 mm).
- Βαθμονομημένο σιφόνιο του 1 ml με υποδιαιρέσεις 0,1 ml.

Αντιδραστήρια

- Μεθανολικό διάλυμα μεθοξειδίου του νατρίου συγκεντρώσεως 1,5 % περίπου: παρασκευάζεται με διάλυση 0,5 g μεταλλικού νατρίου σε 100 ml άνυδρης μεθανόλης.

Τρόπος εργασίας

Στο γυάλινο φιαλίδιο φέρονται 2 g λιπαρής ύλης, που έχει προξηρανθεί με θειικό νάτριο και διηθηθεί. Προστίθενται 0,3 g (περίπου 0,4 ml) διαλύματος μεθοξειδίου του νατρίου και το στόμιο του φιαλιδίου κλείνεται με τήξη σε φλόγα.

Το φιαλίδιο τοποθετείται σε λουτρό θερμοκρασίας 85-90 °C για δύο ώρες, ανακινούμενο κατά διαστήματα. Η εστεροποίηση θεωρείται ότι έχει περατωθεί, όταν το περιεχόμενο του φιαλιδίου είναι διαυγές μετά την καθίζηση της γλυκερίνης και των υπολειμμάτων των αντιδραστηρίων.

Το φιαλίδιο ψύχεται σε θερμοκρασία περιβάλλοντος και ανοίγεται μόνον όταν πρόκειται να χρησιμοποιηθούν οι μεθυλεστέρες. Δεν απαιτείται άλλη κατεργασία πριν από την εισαγωγή των μεθυλεστέρων στον αέριο χρωματογράφο.

Τεχνική 3: Μεθανόλη HCl σε κλειστό φιαλίδιο

Αρχή της μεθόδου

Η προς ανάλυση λιπαρή ύλη υποβάλλεται σε κατεργασία με μεθανόλη-υδροχλωρικό οξύ, σε κλειστό φιαλίδιο, στους 100 °C.

Εργαστηριακά σκεύη και όργανα

- Παχύτοιχο, γυάλινο φιαλίδιο, χωρητικότητας περίπου 5 ml (ύψος 40-45 mm, διάμετρος 14-16 mm).
- Σιφώνια πληρώσεως των 1 και 2 ml.

Αντιδραστήρια

- Μεθανολικό διάλυμα υδροχλωρικού οξέος συγκεντρώσεως 2 %: παρασκευάζεται με αέριο υδροχλώριο και άνυδρη μεθανόλη .
- Εξάνιο για αέριο χρωματογραφία.

Τρόπος εργασίας

Στο γυάλινο φιαλίδιο φέρονται 0,2 g λιπαρής ύλης, που έχει προξηρανθεί με θειικό νάτριο και διηθηθεί, και 2 ml διαλύματος υδροχλωρικού οξέος-μεθανόλης. Το στόμιο του φιαλιδίου κλείνεται με τήξη σε φλόγα.

Το φιαλίδιο τοποθετείται σε λουτρό 100 °C για 40 λεπτά.

Το φιαλίδιο ψύχεται με τρεχούμενο νερό, ανοίγεται και προστίθενται 2 ml απεσταγμένου νερού και 1 ml εξανίου. Ακολουθεί φυγοκέντρωση και παραλαβή της εξανικής στοιβάδας, που είναι έτοιμη για να χρησιμοποιηθεί.

Τεχνική 4: Θειϊκού διμεθυλεστέρα.

Αρχή της μεθόδου

Η προς ανάλυση λιπαρή ύλη σαπωνοποιείται με διάλυμα υδροξειδίου του καλίου σε μεθυλική αλκοόλη και, κατόπιν, υποβάλλεται σε κατεργασία με θειικό διμεθυλεστέρα. Με την προσθήκη υδροχλωρικού οξέος, οι μεθυλεστέρες που έχουν σχηματιστεί διαχωρίζονται αυτόματα. Ακολουθεί κατεργασία με αλουμίνα, λαμβάνονται μεθυλεστέρες μεγάλης καθαρότητας.

Εργαστηριακά σκεύη και όργανα

- Παχύτοιχος, γυάλινος δοκιμαστικός σωλήνας, χωρητικότητας 20 ml περίπου, με εσμιρισμένο πώμα 10/19 και περόνες ασφαλείας.

- Κάθετος ψυκτήρας με πέντε σφαιρικές διογκώσεις, εφοδιασμένος με εσφυρισμένο σύνδεσμο 10/19.
- Γυάλινοι ηθμοί με πυθμένα από πορώδες γυαλί βαθμού G 2, διαμέτρου 20 mm.
- Γυάλινοι δοκιμαστικοί σωλήνες, κωνικοί, χωρητικότητας 10 ml περίπου.
- Σύριγγες των 1 ml και 5 ml.

Αντιδραστήρια

- Υδροξείδιο του καλίου, διάλυμα συγκεντρώσεως 10 % σε μεθυλική αλκοόλη για αέριο χρωματογραφία.
- Δείκτης πράσινο της βρωμοκρεσόλης: διάλυμα συγκεντρώσεως 0,05 % σε μεθυλική αλκοόλη.
- Θεικός διμεθυλεστέρας ($d = 1,335$ στους $15\text{ }^{\circ}\text{C}$).
- Πυκνό υδροχλωρικό οξύ, $d = 1,19$, το οποίο αραιώνεται σε αναλογία 1:1 με μεθυλική αλκοόλη για αέρια χρωματογραφία.
- Οξείδιο του αργιλίου, τιτλοδοτημένο κατά Brockmann για χρωματογραφία προσροφήσεως.

Τρόπος εργασίας

Στο δοκιμαστικό σωλήνα των 20 ml φέρονται 2 g λιπαρής ύλης, που έχει προξηρανθεί με θεικό νάτριο και διηθηθεί, και προστίθενται 5 ml διαλύματος υδροξειδίου του καλίου και μερικές πέτρες βρασμού. Συνδέεται ο κάθετος ψυκτήρας και ο σωλήνας θερμαίνεται πάνω από χαμηλή φλόγα για πέντε λεπτά υπό ανάδευση: η σαπωνοποίηση θεωρείται πλήρης όταν το διάλυμα είναι διανγές. Μετά το τέλος της αντίδρασης, ο σωλήνας ψύχεται με τρεχούμενο νερό και ο ψυκτήρας απομακρύνεται.

Προστίθενται δύο σταγόνες δείκτη και, με σύριγγα αργά 1 ml θεικού διμεθυλεστέρα. Ο δοκιμαστικός σωλήνας κλείνεται ερμητικά και ανακινείται 2-3 λεπτά, ενώ ο πυθμένας του βυθίζεται τακτικά σε ζέον υδατόλουτρο: η αντίδραση έχει περατωθεί όταν ο δείκτης αλλάξει χρώμα, από κυανούν σε κίτρινο. Μετά το τέλος της αντίδρασης, ο δοκιμαστικός σωλήνας ψύχεται με

τρεχούμενο νερό και, κατόπιν, ανοίγεται και προστίθενται 5 ml μεθανολικού διαλύματος υδροχλωρικού οξέος.

Μετά από ανάδευση λίγων δευτερολέπτων, ο δοκιμαστικός σωλήνας στερεώνεται σε επικλινή θέση και χτυπάτε ελαφρά- τα κτυπήματα αυτά διευκολύνουν την άνοδο των μεθυλεστέρων στην επιφάνεια με τη μορφή ελαιώδους μάζας. Σε περίπτωση μη αυτόματου διαχωρισμού των μεθυλεστέρων, προστίθενται στο δοκιμαστικό σωλήνα 5 ml νερού και το μείγμα αναδεύεται.

Οι μεθυλεστέρες παραλαμβάνονται με σύριγγα και φέρονται σε κωνικό δοκιμαστικό σωλήνα. Προστίθεται όγκος αλουμίνας ίσος προς το 1/4 περίπου του όγκου των μεθυλεστέρων και ακολουθεί ανάδευση και διήθηση σε χάρτινο ηθμό.

Τεχνική 5: Μεθανόλης – εξάνιου – θειϊκού οξέως.

Αρχή της μεθόδου

Η προς ανάλυση λιπαρή ύλη θερμαίνεται με κάθετο ψυκτήρα με μεθανόλη - εξάνιο-θειϊκό οξύ. Οι λαμβανόμενοι μεθυλεστέρες εκχυλίζονται με πετρελαϊκό αιθέρα.

Εργαστηριακά σκεύη και όργανα

- Δοκιμαστικός σωλήνας των 20 ml περίπου, εφοδιασμένος με κάθετο αεροψυκτήρα μήκους 1 μέτρου περίπου, το σύνολο με εσφυρισμένους συνδέσμους.
- Σιφόνιο πληρώσεως των 5 ml.
- Διαχωριστική χοάνη των 50 ml.
- Ογκομετρικοί κύλινδροι των 10 και 25 ml.
- Δοκιμαστικός σωλήνας των 15 ml με κωνικό πυθμένα.

Αντιδραστήρια

- Αντιδραστήριο μεθυλίωσης: άνυδρη μεθανόλη-εξάνιο πυκνό θειϊκό οξύ ($d = 1,84$) σε αναλογία 75:75:1 (V/V/V).

- Πετρελαϊκός αιθέρας σ.ζ. 40-60 °C.
- Άνυδρο θειικό νάτριο.

Τρόπος εργασίας

Στο δοκιμαστικό σωλήνα των 20 ml φέρεται το υλικό που έχει ληφθεί από τη χρωματογραφική πλάκα και προστίθενται 5 ml από το αντιδραστήριο μεθυλίωσης.

Συνδέεται ο κάθετος ψυκτήρας και το σύνολο θερμαίνεται για 30 λεπτά σε ζέον υδατόλουτρο.

Το μείγμα μεταγγίζεται ποσοτικά σε διαχωριστική χοάνη των 50 ml, με τη βοήθεια 10 ml αποσταγμένου νερού και 10 ml πετρελαϊκού αιθέρα. Η χοάνη ανακινείται ζωηρά και αφήνεται σε ηρεμία για να διαχωριστούν οι στοιβάδες. Η υδατική στοιβάδα απομακρύνεται, ενώ η οργανική εκπλύνεται δύο φορές με 20 ml αποσταγμένου νερού. Προστίθεται στη διαχωριστική χοάνη μικρή ποσότητα άνυδρου θειικού νατρίου και το μείγμα αναδεύεται, αφήνεται σε ηρεμία λίγα λεπτά και διηθείται- το διήθημα συλλέγεται σε κωνικό δοκιμαστικό σωλήνα των 15 ml.

Ο διαλύτης εξατμίζεται σε υδατόλουτρο με τη διοχέτευση ρεύματος αζώτου.
(56)

11.Προσδιορισμός της ποσότητας του ελαιόλαδου σε αλογονούχους πτητικούς διαλύτες.

Αρχή

Αεριοχρωματογραφική ανάλυση σύμφωνα με την τεχνική "head space".

Εξοπλισμός

- Συσκευή αερίου χρωματογραφίας, με ανιχνευτή σύλληψης ηλεκτρονίων (ECD).
- Συσκευή "head space".

- Στήλη αερίου χρωματογραφίας από γυαλί μήκους 2 μέτρων και διαμέτρου 2 mm, σε στατική φάση.

OV101 ως 10 % ή ισοδύναμο, που εμποτίζει γη διατόμων, η οποία έχει αποτεφρωθεί, εκπλυθεί με οξέα και μετατραπεί σε σιλάνιο, κοκκομετρικού βαθμού 80 ως 100 Mesh.

- Φέρον αέριο και βοηθητικό αέριο: άζωτο για αέριο χρωματογραφία, προσαρμοσμένη στην ανίχνευση με σύλληψη ηλεκτρονίων.
- Γυάλινα φιαλίδια 10 ως 15 ml, με επένδυση από τεφλόν και ένα πώμα από αλουμίνιο εφοδιασμένο με στόμιο, για δειγματοληψία με σύριγγα.
- Λαβίδες ερμητικού κλεισίματος.
- Σύριγγα για αέριο 0,5 ως 2 ml.

Αντιδραστήρια

Πρότυπα: αλογονούχοι πτητικοί διαλύτες σε βαθμό καθαρότητας κατάλληλο για χρησιμοποίηση αερίου χρωματογραφίας.

Διαδικασία ανάλυσης

Ζυγίζουμε ακριβώς 3 g ελαιολάδου περίπου σε ένα γυάλινο φιαλίδιο (μιας χρήσεως), κλείνουμε το φιαλίδιο ερμητικά. Εισάγουμε το φιαλίδιο σε θερμοστάτη σε 70 °C για μία ώρα. Λαμβάνουμε με ακρίβεια, με τη βοήθεια σύριγγας, όγκο 0,2 ως 0,5 ml από το "head space". Το εγχέουμε στη στήλη της συσκευής αερίου χρωματογραφίας που ρυθμίζεται ως εξής:

- θερμοκρασία έγχυσης: 150 °C,
- θερμοκρασία στήλης: 70 ως 80 °C,
- θερμοκρασία ανίχνευσης: 200 ως 250 °C.

Είναι δυνατό να χρησιμοποιηθούν άλλες θερμοκρασίες στο βαθμό που τα αποτελέσματα είναι ισοδύναμα.

Διαλύματα αναφοράς.

Προετοιμάζουμε πρότυπα διαλύματα, χρησιμοποιώντας εξευγενισμένο ελαιόλαδο χωρίς ίχνη διαλυτών, σε συγκεντρώσεις που κυμαίνονται μεταξύ 0,05 και 1 mg/kg και ανάλογες με την υπολογιζόμενη περιεκτικότητα του δείγματος. Η ενδεχόμενη διάλυση πρέπει να γίνεται με πεντάνιο.

Ποσοτικός περιορισμός.

Συγκρίνουμε τα εμβαδά ή τα ύψη των κορυφών του φάσματος που αντιστοιχούν στο δείγμα και στο πρότυπο διάλυμα με την υπολογιζόμενη πλησιέστερη συγκέντρωση. Αν η σχετική απόκλιση είναι μεγαλύτερη από 10 %, η ανάλυση πρέπει να επαναληφθεί, συγκρίνοντας με ένα νέο πρότυπο διάλυμα, μέχρι η σχετική συγκέντρωση να ανταποκρίνεται στη σχετική απόκλιση που προαναφέρεται. Η περιεκτικότητα υπολογίζεται με βάση ένα μέσο όρο των στοιχειωδών εγχύσεων.

Διατύπωση αποτελεσμάτων.

Τα αποτελέσματα τυπώνονται σε mg/kg (ppm). Το όριο ανίχνευσης της μεθόδου είναι 0,01 mg/kg.

(3,57)

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5

Οργανοληπτική αξιολόγηση ελαιολάδου

Ο άνθρωπος από αρχαιοτάτων χρόνων χρησιμοποίησε τα όργανα των αισθήσεων για να αξιολογήσει εάν ένα τρόφιμο είναι «καλό» ή «κακό». Σήμερα ένα από τα βασικά κριτήρια για την αξιολόγηση του παρθένου και του εξαιρετικά παρθένου ελαιολάδου είναι η οργανοληπτική αξιολόγηση.

Το ελαιόλαδο οφείλει την ξεχωριστή γεύση και το χαρακτηριστικό του άρωμα στα πτητικά κυρίως χαρακτηριστικά του (υδρογονάνθρακες, αλδεΐδες, κετόνες, αλκοόλες, εστέρες κ.λ.π.).

Η οργανοληπτική αξιολόγηση, συνδέεται με την ανίχνευση και περιγραφή των ποιοτικών και ποσοτικών αρωματικών και γευστικών χαρακτηριστικών του παρθένου ελαιολάδου χρησιμοποιώντας τις ανθρώπινες αισθήσεις. (1)

Οργανοληπτική μέθοδος

Η περιγραφόμενη μέθοδος εφαρμόζεται μόνο για την ταξινόμηση παρθένων ελαιολάδων, σύμφωνα με την ένταση των ελαττωμάτων όπως προσδιορίζονται από μια ομάδα 8-12 δοκιμαστών επιλεγμένων και εκπαιδευμένων σαν μια ομάδα και σύμφωνα με την παρουσία ή μη και το μέγεθος της έντασης του φρουτώδους.

Το panel χρησιμοποιείται σαν ένα «δείγμα» του συνόλου των καταναλωτών και ταυτόχρονα σαν ένα «πραγματικό αναλυτικό όργανο» για την μέτρηση των οργανοληπτικών χαρακτηριστικών του παρθένου ελαιολάδου.

Για την σωστή αξιολόγηση ενός δείγματος θα πρέπει:

- Οι δοκιμαστές να είναι ικανοί να ανιχνεύσουν και να περιγράψουν τις οργανοληπτικές ιδιότητες ενός δείγματος,
- Οι δοκιμαστές να είναι σε θέση να διαφοροποιούν και να ποσοτικοποιούν τις οργανοληπτικές ιδιότητες ενός δείγματος και να ορίζουν σε ποιο βαθμό κάθε χαρακτηριστικό συναντάται στο δείγμα.

Θετικά χαρακτηριστικά

Φρουτώδες (fruity): Συνδυασμός γευστικής και αρωματικής (οσφραντικών) αίσθησης που έχουν ελαιόλαδα προερχόμενα από υγιείς και φρέσκες ελιές, ώριμες ή άγουρες. Το φρουτώδες γίνεται αντιληπτό είτε απευθείας από τη μύτη είτε από το πίσω μέρος αυτής και εξαρτάται κυρίως από την ποικιλία της ελιάς καθώς και από το μικροπεριβάλλον στο οποίο έχει καλλιεργηθεί.

Το χαρακτηριστικό του φρουτώδους είναι το πλέον σημαντικό στην οργανοληπτική αξιολόγηση του ελαιόλαδου διότι εάν δεν γίνει αντιληπτό, τότε το ελαιόλαδο που δοκιμάζεται δεν θα ταξινομηθεί ως εξαιρετικό παρθένο, ούτε ως παρθένο.

Πικρό (bitter): Χαρακτηριστική γεύση ελαιόλαδου που προέρχεται από πράσινες ελιές ή από ελιές που μόλις αρχίζει να αλλάζει το χρώμα τους. Η πικράδα μπορεί να είναι περισσότερο ή λιγότερο ευχάριστη εξαρτώμενη από την ένταση της. Πάντως σε καμία περίπτωση δεν πρέπει να θεωρηθεί ελάττωμα.

Για το λόγο αυτό εάν η πικράδα γίνεται αντιληπτή με ένταση μεγαλύτερη από το ήμισυ της κλίμακας πρέπει να δηλώνεται στο πιστοποιητικό ανάλυσης έτσι ώστε ο ενδιαφερόμενος να το γνωρίζει και να προβεί σε διορθωτικές ενέργειες (π.χ. ανάμιξη) εάν ο καταναλωτής επιθυμεί κάτι τέτοιο.

Πικάντικο (pungent): Είναι η αίσθηση της ενόχλησης στο λαιμό, το πιπεράτο που προέρχεται από λάδια παραγόμενα στην αρχή της ελαιοκομικής περιόδου κυρίως από ανώριμες ελιές. Η αίσθηση αυτή προκαλείται από την δράση φαινολικών ουσιών πάνω στα άκρα του τριδυμιαίου νεύρου, απλώνεται σε ολόκληρη την στοματική κοιλότητα και εξαλείφεται λίγα δευτερόλεπτα μετά την δοκιμή.

Η ένταση του πικάντικου μειώνεται κατά την διάρκεια της ωρίμανσης του ελαιόλαδου.

Αρνητικά χαρακτηριστικά

Ατροχάδο (fusty): Χαρακτηριστική οσμή-γεύση ελαίου που έχει ληφθεί από ελιές αποθηκευμένες σε σωρούς και που έχουν υποστεί ένα προχωρημένο στάδιο αναερόβιας ζύμωσης

Μουχλιασμένο – Νοτισμένο (musty-humidity): Χαρακτηριστική οσμή και γεύση ελαιού που έχει ληφθεί από ελιές που έχουν προσβληθεί από μύκητες και ζυμομύκητες μετά από παραμονή των καρπών σε υγρό μέρος επί πολλές ημέρες

Μούργα (muddy sediment): Χαρακτηριστική οσμή και γεύση ελαιολάδου που έχει έλθει σε επαφή με το κατακάθι που καθιζάνει στις δεξαμενές φύλαξής του. Για τον λόγο αυτό συνιστάται η μετάγγιση του ελαιολάδου ύστερα από ένα εύλογο χρονικό διάστημα σε άλλο δοχείο φύλαξης λαμβάνοντας μέτρα ώστε η επαφή του με τον αέρα να είναι όσο το δυνατό λιγότερη.

Κρασώδες – Ξυδάτο (winey-vinegary): Χαρακτηριστική οσμή-γεύση ελαιολάδου που μας θυμίζει κρασί ή ξύδι. Η γεύση αυτή οφείλεται κυρίως σε ζύμωση στον καρπό της ελιάς που οδηγεί στο σχηματισμό οξικού οξέος, οξικού αιθυλεστέρα και αιθανόλης.

Μεταλλικό (metallic): Χαρακτηριστική γεύση που μας θυμίζει μέταλλα. Είναι χαρακτηριστικό ελαιολάδου που έχει έλθει σε παρατεταμένη επαφή με μεταλλικές επιφάνειες κατά την διάρκεια της επεξεργασίας του ελαιόκαρπου στο ελαιουργείο ή κατά το χρόνο της αποθήκευσης του σε σιδερένια βαρέλια.

Ταγγό (rancid): Χαρακτηριστική οσμή-γεύση ελαιολάδου που έχει υποστεί μια διαδικασία οξείδωσης οφειλόμενη σε παρατεταμένη επαφή με τον ατμοσφαιρικό αέρα. Αυτή η γεύση είναι αδύνατον να διορθωθεί.

Ψημένο ή καμμένο (heated or burnt) : Χαρακτηριστική οσμή και γεύση ελαιολάδου που προέρχεται από υπερβολική ή και παρατεταμένη θέρμανση κατά την παραγωγή του και ιδιαίτερα κατά την θερμομάλαξη της ελαιόπαστας αν πραγματοποιηθεί σε ακατάλληλες συνθήκες.

Άχυρο-ξύλο (Hay-wood): Χαρακτηριστική οσμή και γεύση ορισμένων λαδιών που προέρχονται από ελιές αφυδατωμένες και μας θυμίζουν ξηρό χόρτο.

Χονδροειδής (παχύ) (Rough): Αίσθηση χαρακτηριστική σε ορισμένα ελαιόλαδα των οποίων η πρόγευση προκαλεί μια αίσθηση πηχτή και ζυμώδη.

Λιπαντικά (Greasy): Οσμή και γεύση ελαιολάδου που θυμίζει πετρέλαιο, λιπαντικά ή ορυκτέλαιο. Οφείλεται στην ελλιπή απομάκρυνση υπολειμμάτων των παραπάνω ουσιών κατά τον καθαρισμό των συσκευών ή του περιβάλλοντος χώρου στα ελαιουργεία.

Απόνερα (Vegetable water): χαρακτηριστική οσμή και γεύση που προσδίδεται στο ελαιόλαδο μετά από παρατεταμένη επαφή του με τα απόνερα των ελαιουργείων.

Άλμη (Brine): Οσμή και γεύση ελαιολάδου που προέρχεται από ελιές διατηρημένες σε αλατούχα διαλύματα.

Συνήθως το χαρακτηριστικό αυτό παρατηρείται σε ελιές που έχουν υποστεί επεξεργασία με άλμη και στη συνέχεια δεν πουλήθηκαν, με αποτέλεσμα να καταλήγουν στο ελαιουργείο για παραγωγή λαδιού.

Σπάρτο (Esparto): Χαρακτηριστική οσμή και γεύση ελαιολάδου που προέρχεται από ελιές που έχουν υποστεί έκθλιψη μέσα σε καινούργιους σάκους από σπάρτο. Η γεύση αυτή μπορεί να διαφέρει ανάλογα αν πρόκειται για σάκους που έχουν κατασκευαστεί από πράσινο ή ξηρό σπάρτο.

Χωματίλα (Earthy): Οσμή και γεύση ελαιολάδου που προέρχεται από ελιές που έχουν μαζευτεί με χώμα ή λάσπες και οι οποίες δεν έχουν πλυθεί.

Σκουλήκι (Grubby): Οσμή και γεύση ελαιολάδου που προέρχεται από ελιές που έχουν προσβληθεί σοβαρά από νύμφες του δάκου και κατά συνέπεια έχουν αλεστεί μαζί με τις προνύμφες του εντόμου.

Αγγούρι (Cucumber): Οσμή και γεύση ελαιολάδου που δημιουργείται όταν είναι συσκευασμένο σε ερμητικά κλειστά δοχεία για πολύ χρόνο και ειδικά σε λευκοσιδηρά δοχεία. Η γεύση αυτή αποδίδεται στον σχηματισμό της 2-6 εννεανοδιενάλης.

Αίθουσα δοκιμών (I00C/T.20/Doc.no.6)

Σκοπός του χώρου δοκιμών είναι να παρέχει στους δοκιμαστές ένα κατάλληλο και άνετο περιβάλλον, να διευκολύνει την εργασία τους και να βελτιώσει την επαναληψιμότητα και αναπαραγωγιμότητα των αποτελεσμάτων τους.

Ο χώρος δοκιμών θα πρέπει να είναι ευχάριστος, κατάλληλα φωτισμένος (ομοιόμορφος και ελεγχόμενος φωτισμός), με ουδέτερο χρώμα και απομονωμένος από το θόρυβο. Θα πρέπει να απουσιάζουν οι παράξενες οσμές και ο χώρος να αερίζεται κατάλληλα. Η θερμοκρασία στο χώρο πρέπει να είναι 20°-22°C και η σχετική υγρασία 60-70%.

Η διαστάσεις του χώρου εξαρτώνται από τον διαθέσιμο χώρο. Θα πρέπει να είναι αρκετά ευρύχωρος για 8 καμπίνες δοκιμών και για την προετοιμασία των δειγμάτων.

Απαιτούμενα υλικά:

- ποτήρια
- φύλλα αξιολόγησης
- μολύβια
- δίσκοι με φέτες από μήλο
- ποτήρια με νερό
- υαλοί ωρολογίου
- Ποτήρι δοκιμών (I00C/T.20/Doc.no.5)

Το ποτήρι δοκιμών θα πρέπει να έχει:

1. Μεγίστη σταθερότητα
2. Βάση κατάλληλη για την θερμαντική μονάδα
3. Στενό στόμιο που βοηθά την συγκέντρωση των πτητικών ουσιών με κανονικό χειλός και ύαλο ωρολογίου για να το καλύπτει
4. Σκουρόχρωμο γυαλί, συνήθως σκούρο μπλε, για να μην επηρεάζεται ο δοκιμαστής από το χρώμα του ελαιόλαδου.

Γενική Μεθοδολογία για την οργανοληπτική αξιολόγηση του παρθένου ελαιολάδου.

Υπεύθυνος αξιολόγησης:

Για κάθε ομάδα δοκιμαστών υπάρχει ο υπεύθυνος που έχει αναλάβει την εκπαίδευση της ομάδας, την διατήρηση του ενδιαφέροντος και τον γενικότερο έλεγχο.

Ο υπεύθυνος πρέπει να είναι ειδικός στην οργανοληπτική ανάλυση και στα έλαια.

Συνθήκες δοκιμής

Ωρα δοκιμών: Οι δοκιμές πρέπει να γίνονται πρωινές ώρες, γιατί τότε έχουμε την καλύτερη αίσθηση για το άρωμα και την γεύση.

Θερμοκρασία δειγμάτων: 28°C $\pm$ 2°C

Παρουσίαση δειγμάτων : τα δείγματα πρέπει να έχουν την ίδια εμφάνιση, να αποτελούνται από την ίδια ποσότητα και να είναι κωδικοποιημένα.

Αριθμός δειγμάτων: ένα δείγμα σε κάθε συνεδρίαση

Συχνότητα συνεδριάσεων: Μέχρι 3 την ημέρα

Διάρκεια: όχι μεγαλύτερη από 10 min

Γενικοί κανόνες για τους δοκιμαστές

- όχι κάπνισμα
- όχι αρώματα
- όχι φαγητό προ της δοκιμής
- ενημέρωση του υπευθύνου για κακή φυσική ή ψυχολογική κατάσταση συγκέντρωση

Διαδικασία κατά την οργανοληπτική εκτίμηση.

Ο δοκιμαστής θα πάρει το ποτήρι στην παλάμη του, κρατώντας το σκεπασμένο με την υαλό ωρολογίου, θα το γύρει στα πλάγια και θα το περιστρέψει κατά τέτοιο τρόπο ώστε να διαβραχεί όσο το δυνατό μεγαλύτερη επιφάνεια του ποτηριού.

Θα απομακρύνει το κάλυμμα του ποτηριού και θα οσφρανθεί το δείγμα, παίρνοντας αργές, βαθιές αναπνοές για να αξιολογήσει το εξεταζόμενο ελαιόλαδο. Αυτή η διαδικασία δεν πρέπει να υπερβεί τα 30 δευτερόλεπτα.

Ο δοκιμαστής πρέπει να συγκεντρωθεί και να προσπαθήσει να ανιχνεύσει τις αρνητικές ή θετικές ιδιότητες του δείγματος. Πρέπει να φέρει στο μυαλό του όλες εκείνες τις χαρακτηριστικές μυρωδιές με τις οποίες έχει εξοικειωθεί κατά την διάρκεια της εκπαίδευσής του και να αρχίσει να σκέπτεται ποια από τα χαρακτηριστικά του φύλλου αξιολόγησης μπόρεσε να αντιληφθεί.

Αν δεν είναι ακόμη σίγουρος για την κρίση του πρέπει να κάνει ένα μικρό διάλειμμα πριν προσπαθήσει ξανά. Κατά την διάρκεια του διαλείμματος θα κάνει εισπνοές και εκπνοές δια μέσου της μύτης. Έπειτα θα μυρίσει πάλι. Θα προσπαθήσει να ολοκληρώσει τις παρατηρήσεις του, εκτιμώντας την ένταση των οσφραντικών σημειώσεων που φαίνονται ευκρινώς να υπερισχύουν. Επιτρέπεται να επαναλάβει αυτές τις λειτουργίες όσες φορές θέλει, αλλά για να αποφύγει την εμφάνιση κόπωσης μπορεί να φουσήξει τη μύτη του ή να μυρίσει ένα κομμάτι χαρτί ή το χέρι του.

Όταν έχει τελειώσει την οσφραντική δοκιμή, ο δοκιμαστής θα πάρει μια μικρή γουλιά περίπου 3ml λάδι και θα προσπαθήσει να το διασκορπίσει σε όλη την στοματική κοιλότητα από το μπροστινό μέρος του στόματος έως το πίσω μέρος, τον ουρανίσκο, τη γλώσσα και το λαιμό, αφού είναι γνωστό ότι η αντίληψη των 4 κυρίως γεύσεων (γλυκό, αλμυρό, όξινο και πικρό) ποικίλλει σ' ένταση εξαρτώμενη από την περιοχή της γλώσσας, του ουρανίσκου και του λαιμού.

Πρέπει να τονισθεί ότι είναι ορθό μια σημαντική ποσότητα ελαιολάδου να διασκορπιστεί πολύ αργά πάνω από το πίσω μέρος της γλώσσας προς την βάση του ουρανίσκου και το λαιμό, ενώ ο δοκιμαστής συγκεντρώνεται για να εντοπίσει την σειρά με την οποία το “πικρό” και το “πικάντικο” εμφανίζονται. Αν δεν γίνει αυτό, είναι πιθανόν και τα δύο χαρακτηριστικά να διαφύγουν την εντόπισή τους σε μερικά λάδια, ή το “πικρό” να επικαλυφθεί από το “πικάντικο”. Παίρνοντας μικρές διαδοχικές αναπνοές και εισπνέοντας αέρα μέσω του στόματος, ο δοκιμαστής όχι μόνο διασκορπίζει την ληφθείσα ποσότητα σ' όλη την επιφάνεια της στοματικής κοιλότητας, αλλά και αντιλαμβάνεται τα πτητικά, αρωματικά συστατικά μέσω του πίσω μέρους της μύτης. Επίσης θα ληφθεί υπ' όψη η κιναισθητικότητα του “πικάντικου”.

Εν αντιθέσει με την αίσθηση της οσμής, η γεύση έχει χαρακτηριστικά μερικά από τα οποία, κατά την άποψη των δοκιμαστών, είναι πλεονεκτήματα και άλλα μειονεκτήματα. Το κύριο μειονέκτημα είναι ότι εξαλείφουμε τις σημειούμενες αντιλήψεις πολύ δύσκολα. Για παράδειγμα, αν αντιληφθούμε το πικρό με πολύ ισχυρή ένταση κατά την διάρκεια της πρώτης δοκιμής-γεύσεως, αυτή η αίσθηση αν

και εξασθενημένη θα παραμείνει στην επόμενη δοκιμή γεύσεως. Από την άλλη όμως μεριά ένα από τα πλεονεκτήματα της αίσθησης της γεύσης είναι ο περιορισμένος αριθμός αντιλήψεων που γίνονται μέσω αυτής της αίσθησης

Για να εξαλείψει μια γεύση ο δοκιμαστής θα χρησιμοποιήσει μια φέτα μήλου ή ένα κομμάτι ψωμί, θα ξεπλύνει το στόμα του με νερό και θα περιμένει μέχρις ότου αρχίσει πάλι να εκκρίνει σίελο, όπως συνήθως.

Αφού τελειώσει την δοκιμή με την γεύση ο δοκιμαστής θα επιβεβαιώσει τις οσφραντικο-γευστικο-κιναισθητικές αντιλήψεις χρησιμοποιώντας το ειδικό φύλλο για χρήση από τον δοκιμαστή

Χρήση του φύλλου των χαρακτηριστικών από τον δοκιμαστή.

Το φύλλο των χαρακτηριστικών που προορίζεται για χρήση από τον δοκιμαστή, περιλαμβάνει ένα κατάλογο εννέα χαρακτηριστικών, από αυτά που απαντώνται περισσότερο συχνά στο ελαιόλαδο δηλαδή από τα ελαττώματα το ατροχάδο, η μούχλα, το κρασώδες, η μούργα, το μεταλλικό, το ταγγό και από τις θετικές ιδιότητες μόνο το φρουτώδες, το πικρό και το πικάντικο. Ο κατάλογος συμπληρώνεται με μια επιπλέον σειρά που φέρει τον τίτλο “άλλα” δηλαδή συνολικά αποτελείται από 10 σειρές (χαρακτηριστικά-ιδιότητες), διηρημένες σε 2 ομάδες:

αρνητικές ιδιότητες - θετικές ιδιότητες.

Η κάθε χαρακτηριστική ιδιότητα ακολουθείται από μια συνεχή γραμμή-κλίμακα 10 εκατοστών, επάνω στην οποία ο δοκιμαστής θα σημειώσει με ένα (v) την ένταση με την οποία αντιλαμβάνεται κάθε ένα χαρακτηριστικό. Η χρησιμοποίηση αυτής της κλίμακας δίνει αποτελέσματα που μπορούν να υποβληθούν σε στατιστική επεξεργασία. Στην περίπτωση που ο δοκιμαστής αντιληφθεί κάποια ελαττώματα που δεν αναφέρονται στο φύλλο θα καταγράψει αυτό με την μεγαλύτερη ένταση στη σειρά υπό τον τίτλο “άλλα” χρησιμοποιώντας κάποιον όρο από εκείνους που αναφέρονται στο ειδικό λεξιλόγιο.

Ο δοκιμαστής δεν δίνει βαθμολογία, ούτε κατατάσσει το ελαιόλαδο σε κάποια κατηγορία. Εκείνο που πρέπει να προσέξει είναι να αντιληφθεί τα υπάρχοντα χαρακτηριστικά και να προσδιορίσει την έντασή τους.

Χρησιμοποίηση των δεδομένων από τον υπεύθυνο της ομάδας.

Ο υπεύθυνος της ομάδας των δοκιμαστών θα συγκεντρώσει τα συμπληρωμένα από τους δοκιμαστές φύλλα και θα μετρήσει τις αποδοθείσες εντάσεις καταγράφοντας

αυτές σε εκατοστά με ακρίβεια ενός δεκαδικού ψηφίου. Σε περίπτωση που βρει κάποια ανωμαλία θα καλέσει τον δοκιμαστή να διορθώσει το φύλλο ή να επαναλάβει την δοκιμή. Εν συνεχεία, θα εισαγάγει τα δεδομένα στο πρόγραμμα του H/Y που συνοδεύει την μέθοδο και αμέσως το πρόγραμμα θα υπολογίσει τις στατιστικές παραμέτρους στις οποίες στηρίζεται η κατάταξη του δείγματος. Η ταξινόμηση γίνεται σύμφωνα με τα παρακάτω:

Ταξινόμηση ελαιολάδου

Το ελαιόλαδο θα ταξινομηθεί στην κατηγορία :

εξαιρετικό παρθένο: όταν η διάμεσος τιμή (median) των ελαττωμάτων είναι 0 και η διάμεσος του φρουτώδους είναι μεγαλύτερη από 0.

παρθένο: όταν η διάμεσος τιμή των ελαττωμάτων είναι μεγαλύτερη από 0 και μικρότερη ή ίση με 2.5 και η διάμεσος τιμή του φρουτώδους είναι μεγαλύτερη από 0.

Κοινό: όταν η διάμεσος τιμή των ελαττωμάτων είναι μεγαλύτερη από 2.5 και μικρότερη ή ίση με 6 ή όταν η διάμεσος των ελαττωμάτων είναι μικρότερη ή ίση με 2.5 και η διάμεσος του φρουτώδους είναι 0.

Μειονεκτικό (λαμπάντε): όταν η διάμεσος τιμή των ελαττωμάτων είναι μεγαλύτερη από 6.

Λέγοντας διάμεσο τιμή των ελαττωμάτων εννοούμε την διάμεσο τιμή του ελαττώματος με την υψηλότερη ένταση. Η τιμή για τον robust coefficient of variation για αυτό το ελάττωμα πρέπει να είναι μικρότερη ή ίση με 20%. Όταν η διάμεσος τιμή του πικρού ή πικάντικου είναι μεγαλύτερη από 5 ο υπεύθυνος θα το αναφέρει στο πιστοποιητικό.

(16,31)

ΑΝΤΙΛΗΨΗ ΤΩΝ ΕΝΤΑΣΗ**ΕΛΑΤΤΩΜΑΤΩΝ:**

Ατροχάδο	_____→
Μουχλιασμένο	_____→
Κρασώδες-Ξυδάτο- Όξινο-Ξινό	_____→
Μούργα	_____→
Μεταλλικό	_____→
Ταγγό	_____→
Άλλα ελαττώματα (ποιά)	_____→

ΑΝΤΙΛΗΨΗ ΤΩΝ**ΘΕΤΙΚΩΝ****ΙΔΙΟΤΗΤΩΝ:**

Φρουτώδες	_____→
Πικρό	_____→
Πικάντικο	_____→

Όνομα δοκιμαστή:

Κωδικός δείγματος:

Ημερομηνία:

Εικόνα 1. Φύλο δοκιμών

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 6

ΠΑΡΟΥΣΙΑΣΗ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ ΑΝΑΛΥΣΕΩΝ

1.Αναλυση : Προσδιορισμός των ελεύθερων λιπαρών οξέων

Αναλύθηκαν 11 δείγματα που το ιστορικό τους δίνεται στον πίνακα 1 (α,β,γ). Τα δείγματά προέρχονται από την περιοχή του Άστρους Κυνουρίας. Η καλλιεργήσιμες ποικιλίες ελιάς είναι η μανακοελιά, η λαδολιά, η γαιδουροελιά και σε πολύ μικρές ποσότητες η κορωνεϊκή.

Πίνακας 1(α) :Ιστορικό δειγμάτων

Αριθμός δείγματος	1	2	3	4
Ποικιλία	μανάκι	μανάκι	λαδολιά	μανάκι
Χρήση λιπασμάτων	όχι	κοπριά	Όχι	ναι
Ποτισμα	ξηρικές	ξηρικές	ξηρικές	ποτιστικές
Χρονος αποθήκευσης	12 ημέρες	70 ημέρες	1 μέρα	22 ημέρες
Μεσο αποθηκευσης	Πλαστικά δοχεία τροφίμων	Πλαστικά δοχεία τροφίμων	Πλαστικά δοχεία τροφίμων	Ανοξείδωτο δοχείο
Τοπος αποθήκευσης	Ελαιοτριβείο	Αποθήκη	Ελαιοτριβείο	Αποθήκη
		βιολογικό		

Πίνακας 1(β) :Ιστορικό δειγμάτων

Αριθμός δείγματος	5	6*	7*	8**
Ποικιλία	Λαδολια, μανάκι	Μη προσδιορίσιμη	Μη προσδιορίσιμη	Μη προσδιορίσιμη
Χρήση λιπασμάτων	ναι	-	-	-
Ποτισμα	ποτιστικές	-	-	-
Χρονος αποθήκευσης	8 μήνες	Ένα έτος	Ένα έτος	Ένα έτος
Μεσο αποθηκευσης	Ανοξείδωτο δοχείο	Ανοξείδωτη δεξαμενή	Ανοξείδωτη δεξαμενή	Ανοξείδωτη δεξαμενή
Τοπος αποθήκευσης	Ελαιοτριβείο	Αποθήκη	Αποθήκη	Αποθήκη
			βιολογικό	βιομηχανικό

Πίνακας 1(γ) :Ιστορικό δειγμάτων

Αριθμός δείγματος	9	10	11
Ποικιλία	μανάκι	λαδολιά	μανάκι
Χρήση λιπασμάτων	ναι	ναι	ναι
Ποτισμα	ναι	ναι	ναι
Χρονος αποθήκευσης	1 έτος	1 έτος	12 ημέρες
Μεσο αποθηκευσης	Ανοξείδωτο δοχείο	Ανοξείδωτο δοχείο	Σε τσουβάλια
Τοπος αποθήκευσης	αποθήκη	αποθήκη	Στο χωράφι
			Το δείγμα είχε έντονη οσμή μούχλας

*Το δείγμα προέρχεται από εταιρεία αγοράς και εμπορίας ελαιόλαδου. Η δεξαμενή περιέχει διάφορα ελαιόλαδα (εξαιρετικά παρθένα) που αγόρασε η εταιρεία το τελευταίο χρόνο.

**το δείγμα προέρχεται από δεξαμενή φύλαξης βιομηχανικού ελαιόλαδου εταιρείας.

Στον πίνακα 2, παρουσιάζονται τα αποτελέσματα μέτρησης της οξύτητας σύμφωνα με την μέθοδο προσδιορισμού της οξύτητας στο ελαιόλαδο.

Πίνακας 2: Αποτελέσματα

Αριθμός δείγματος	Αριθμός μέτρησης	Ποσότητα δείγματος gr	Κατανάλωση Διαλύματος NaOH (0,1M) (ml)	Οξύτητα %	Μέσος Όρος οξύτητας %
1	A'	20,015	1,86	0,26	0,27
	B'	20,024	1,89	0,27	
2	A'	19,924	2,20	0,32	0,32
	B'	20,045	2,28	0,32	
3	A'	20,063	2,49	0,35	0,36
	B'	20,028	2,63	0,37	
4	A'	19,957	1,98	0,28	0,29
	B'	20,006	2,05	0,29	
5	A'	20,012	2,41	0,34	0,34
	B'	20,127	2,36	0,33	
6	A'	19,899	3,46	0,49	0,50
	B'	20,014	3,62	0,51	
7	A'	20,054	3,34	0,47	0,47

	B'	20,036	3,34	0,47	
8	A'	9,980	13,63	3,85	3,86
	B'	10,054	13,80	3,87	
9	A'	20,014	4,26	0,60	0,61
	B'	20,142	4,43	0,62	
10	A'	19,994	4,11	0,58	0,58
	B'	20,005	4,04	0,57	
11	A'	20,094	6,17	0,87	0,88
	B'	20,007	6,31	0,89	

Συμπεράσματα :

Όσον αφορά τα δείγματα 1, 2, 3 και 4 παρατηρούμε ότι παρουσιάζουν χαμηλή οξύτητα. Τα ελαιόλαδα αυτά κατατάσσονται στην κατηγορία εξαιρετικά παρθένου ελαιόλαδου.

Η ποικιλία μανακοελιάς παρουσιάζει χαμηλότερη οξύτητα σε σχέση με την λαδολιά.

Στα δείγματα 5, 6 και 7 παρατηρούμε ότι παρά το χρονικό διάστημα αποθήκευσης τους δεν έχουν παρουσιάσει αύξηση της οξύτητας του, ιδιαίτερα το δείγμα 5. Αυτό οφείλεται στις καλές συνθήκες αποθήκευσης τους. Τα ελαιόλαδα αυτά χαρακτηρίζονται όσον αφορά την οξύτητα τους ακόμα Εξαιρετικά παρθένα.

Το δείγμα 8 προέρχεται από αγνώστου προέλευσης ελαιόλαδα τα οποία σύμφωνα με την εταιρεία είναι ως επί το πλείστον έλαια που είχαν αποθηκευτεί σε ακατάλληλες συνθήκες. Το χρονικό διάστημα αποθήκευσης τους υπερβαίνει τα 2 ή και τα 3 έτη.

Τα δείγματά 9 και 10 παρουσιάζουν μια αύξηση του αριθμού οξύτητας τους πιθανών από κακές συνθήκες αποθήκευσής.

Τέλος το δείγμα 11 ανήκει στη κατηγορία παρθένου ελαιόλαδου. Αιτία της αυξημένης οξύτητας του, αν συνυπολογίσουμε την οσμή μούχλας, είναι ότι ο παραγωγός άφησε για μεγάλο χρονικό διάστημα τον ελαιόκαρπο στο χωράφι σε ακατάλληλες συνθήκες και αναπτύχθηκαν μύκητες.

2.Φασματοφωτομετρική ανάλυση στο υπεριώδες

Τα δείγματα που χρησιμοποιήθηκαν είναι τα ίδια με αυτά που χρησιμοποιήθηκαν στον προσδιορισμό της οξύτητας.

Πίνακας 3: Αποτελέσματα Φασματοφωτομετρικής Ανάλυσης στο υπεριώδες.

Αριθμός δείγματος	Ποσότητα δείγματος (gr)	A232	A270	A274	A266	K ₂₃₂	K ₂₇₀	ΔK
1	0,248	1,386	0,080	0,078	0,087	1,397	0,080	0,0025
2	0,254	2,319	0,097	0,094	0,105	2,282	0,095	0,003
4	0,259	1,568	0,089	0,086	0,097	1,513	0,085	0,003
9	0,241	2,641	0,156	0,144	0,156	2,739	0,161	0,0055
11	0,238	2,144	0,140	0,119	0,135	2,252	0,147	0,0135

Συμπεράσματα:

Το δείγμα 9 έχει υποστεί μεγάλο βαθμό οξείδωσης ένδειξη κακής αποθήκευσης του. Εφόσον ο δείκτης K₂₇₀ και το ΔK είναι χαμηλά δεν υπάρχει ένδειξη νοθείας.

Τα δείγματά 2 και 11 έχουν υψηλό K₂₃₂ εξακολουθούν να είναι όμως μέσα στα όρια του εξαιρετικά παρθένου ελαιόλαδου. Το ΔK όμως στο δείγμα 11 μας δίνει μια πιθανή ένδειξη νοθείας για το ελαιόλαδο αυτό.

Τα δείγματα 1 και 4 ανήκουν στην κατηγορία του εξαιρετικά παρθένου ελαιόλαδου.

3Ανάλυση : Προσδιορισμός εστέρων λιπαρών οξέων

Δείγμα 1

Ανοξείδωτη δεξαμενή που περιέχει μείγμα από εξαιρετικά παρθένα ελαιόλαδα διάρκειας αποθήκευσης ενός έτους.

Στον πίνακα 3 παρουσιάζονται τα αποτελέσματα από το Χρωματογράφημα. Η στήλη Area % εκφράζει την επί τοις εκατό (%) περιεκτικότητα του δείγματος σε κάθε λιπαρό οξύ.

Πίνακας 4: Αποτελέσματα Ανάλυσης δείγματος 1.

Peak #	Component name	Time (min.)	Area (uV*sec)	Height (uV)	Area %
1	C15:0	12.031	811.00	193.29	0.02
3	C16:0	18.117	936280.95	81934.21	20.97
4	C16:1w9	20.004	5542.38	903.77	0.12
5	C16:1w7	20.419	91157.31	14676.43	2.04
7	C17:0	22.011	1959.46	319.57	0.04
10	C17:1	24.533	258.98	54.29	0.01
12	C18:0	26.389	17292.28	2647.01	0.39
14	TRANS C18:1	28.860	1601920.68	104615.08	35.88
17	C18:1w7	29.003	575258.29	130828.62	12.88
19	C18:1w9	29.203	158409.26	38979.29	3.55
22	C18:2tc	30.819	3.20	8.91	7e-05

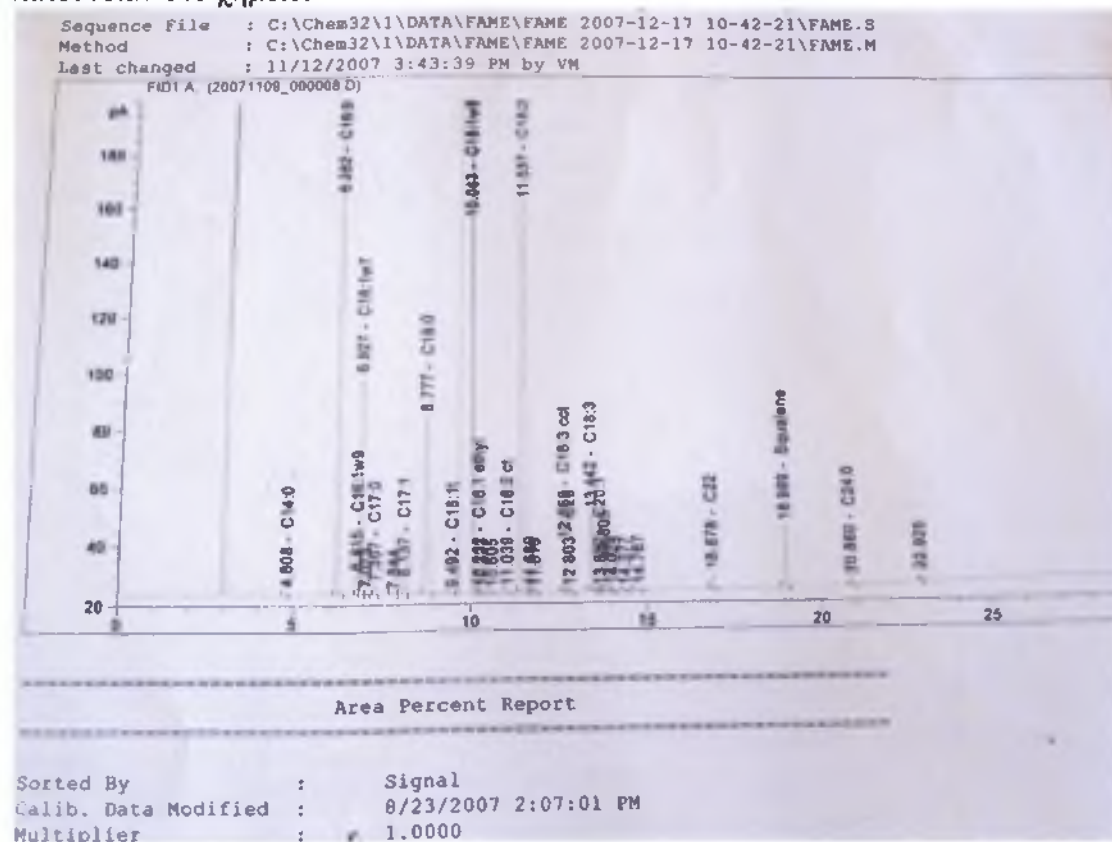
23	C18:2ct	31.377	1174.46	184.99	0.003
24	C18:2	32.358	1000563.37	74828.21	22.41
25	C18:2ethyl	33.165	6.12	1.71	0.00
26	C20:0	35.221	21535.96	3049.22	0.48
28	C18:3	36.791	41595.19	6720.88	0.93
35	C20:1	41.170	7709.50	28.08	0.17
37	C22:0	43.453	23.77	21.74	0.00
40	C24:0	50.390	3139.86	493.44	0.07
			4464642.02	460488.73	100.00

Το ποσοστό ενός λιπαρού οξέος X% στο μίγμα των οξέων που εξετάζεται δίδεται πρακτικά από τον τύπο

$$\%X = \frac{\text{εμβαδόν } X \times 100}{\text{(συνολικό εμβαδόν)}}$$

Δείγμα 2

Το ελαιόλαδο προέρχεται από τις ποικιλίες λαδολιά και μανάκι και είναι βιολογικής καλλιέργειας και ποτιστικό. Μετά την εξαγωγή του από το ελαιοτριβείο στάλθηκε κατευθείαν στο χημείο.



Εικόνα1 : Χρωματογράφημα λιπαρών οξέων(δείγμα 2).

Πίνακας 5: Αποτελέσματα Ανάλυσης δείγματος 2.

peak	retTime	Type	Width (min.)	Area (pA*s)	Area %	Name
1	4.808	BV	0.0274	2.30249	0.01633	C14:0
2	6.282	VB	0.0436	2153.02466	15.26669	C16:0
3	6.501		0.0000	0.00000	0.00000	C10:0 Ethyl
4	6.815	VV	0.0441	18.67697	0.13243	C16:1w9
5	6.927	VV	0.0432	207.20494	1.46925	C16:1w7
6	7.073	VB	0.0444	2.05273	0.01456	?
7	7.307	BV	0.522	9.45483	0.06704	C17:0
8	7.844	BV	0.0677	6.35566e-1	0.00451	?
9	8.137	VV	0.0629	16.65353	0.11809	C17:1
10	8.777	BV	0.1054	387.15250	2.74523	C18:0
11	9.492	BV	0.1213	1.99647	0.01416	C18:1t
12	10.013	VV	0.1408	8507.63672	60.32605	C18:1w7
13	10.067	VV	0.0327	371.00256	2.63071	C18:1w9
14	10.232	VV	0.0542	2.16963	0.01538	C18:1 ethyl
15	10.323	VB	0.0574	8.93220e-1	0.00633	?
16	10.605	BB	0.0507	7.45624e-1	0.00529	?
17	11.039	BB	0.0647	2.98636	0.02118	C18:2 ct
18	11.138		0.0000	0.00000	0.00000	C18:2 tc
19	11.537	BV	0.0784	2072.34863	14.69463	C18:2
20	11.680	VV	0.0546	2.97927	0.02113	?
21	11.816	VB	0.0548	1.39367	0.00988	?
22	12.659	BV	0.0607	63.96272	0.45355	C18:3cct
23	12.803	VB	0.0580	1.72630	0.01224	C20
24	13.149		0.0000	0.00000	0.00000	C18:3 tcc
25	13.442	BB	0.0626	103.84714	0.73636	C18:3
26	13.682	BV	0.0550	1.33176	0.00944	C20:1
27	13.805	VV	0.0618	36.70018	0.26023	?
28	14.024	VB	0.0603	2.11057	0.01497	?
29	14.377	BB	0.0486	1.01461	0.00719	?
30	14.767	BB	0.0589	2.33121	0.01653	?
31	16.878	BB	0.0579	18.71295	0.13269	C22
32	18.989	BB	0.0639	91.52912	0.64902	SQUALENE
33	20.880	BB	0.0611	9.15871	0.06494	C24:0
34	22.925	BB	0.0562	9.02186	0.06397	?
TOTALS			1.41028e4			

Δείγμα 3

Ελαιόλαδο που παρελείθεται από ελαιοτριβείο της περιοχής. Περιέχει λαδολιά μανάκι και γαιδουροελιά. Το κτήμα δεν έχει δεχτεί λιπαντή και ποτίσματα. Τα αποτελέσματα της ανάλυσης του φαίνονται απευθείας στον πίνακα.

Πίνακας 6: Συνοπτικά αποτελέσματα δειγμάτων.

Λιπαρά οξέα	Δείγμα 1	Δείγμα 2	Δείγμα 3	Καθοριζόμενα όρια %m/m
Μυριστικό C14:0		0,016	0,017	≤0,05
Παλμιτικό C16:0	20,97	15,266	15,685	7,5-20,00
Παλμιτελαϊκό C16:1	2,16	1,602	2,108	0,3-3,5
Δεκαεπτανοϊκό C17:0	0,04	0,067	0,0463	≤0,3
ΔεκαεπτενοϊκόC17:1	0,01	0,118	0,089	≤0,3
Στεατικό C18:0	0,39	2,745	2,465	0,5-5,0
Ελαϊκό C18:1	16,43	62,986	59,787	55,0-83,0
Λινελαϊκό C18:2	22,41	14,695	17,333	3,5-21,0
Αραχιδικό C20:0	0,48	0,012	0,433	≤0,6
Λινολενικό C18:3	0,93	0,736	0,865	≤1,0
Εικοσενοϊκό C20:1	0,17	0,009	0,252	≤0,4
Βαχενικό C22:0	0	0,133	0,125	≤0,2
Λιγνοκηρικό C24:0	0,07	0,065	0,627	≤0,2
Σκουαλένιο		0,649	0,533	

Σχολιασμός Αποτελεσμάτων:

Παρατηρούμε ότι και στα 3 δείγματα τα αποτελέσματα είναι εντός των καθορισμένων ορίων. Συνεπώς αποκλείουμε και στις τρεις περιπτώσεις την ύπαρξη νοθείας στα ελαιόλαδα. Παρόλα αυτά το δείγμα 1 παρουσιάζει χαμηλή περιεκτικότητα σε ελαϊκό οξύ. Αυτό οφείλεται στην αποθηκewσή του για διάστημα πέραν του ενός χρόνου. Τα 2 επόμενα δείγματα παρουσιάζουν αξιόλογη συγκέντρωση σε ελαϊκό οξύ.

4.Ανάλυση: Προσδιορισμός Στερολών

Δείγμα 1

Ανοξείδωτη δεξαμενή που περιέχει μείγμα από εξαιρετικά παρθένα ελαιόλαδα διάρκειας αποθηκewσης ενός έτους. Το δείγμα αφορά στο ίδιο με το δείγμα 1 της παραγράφου 3.

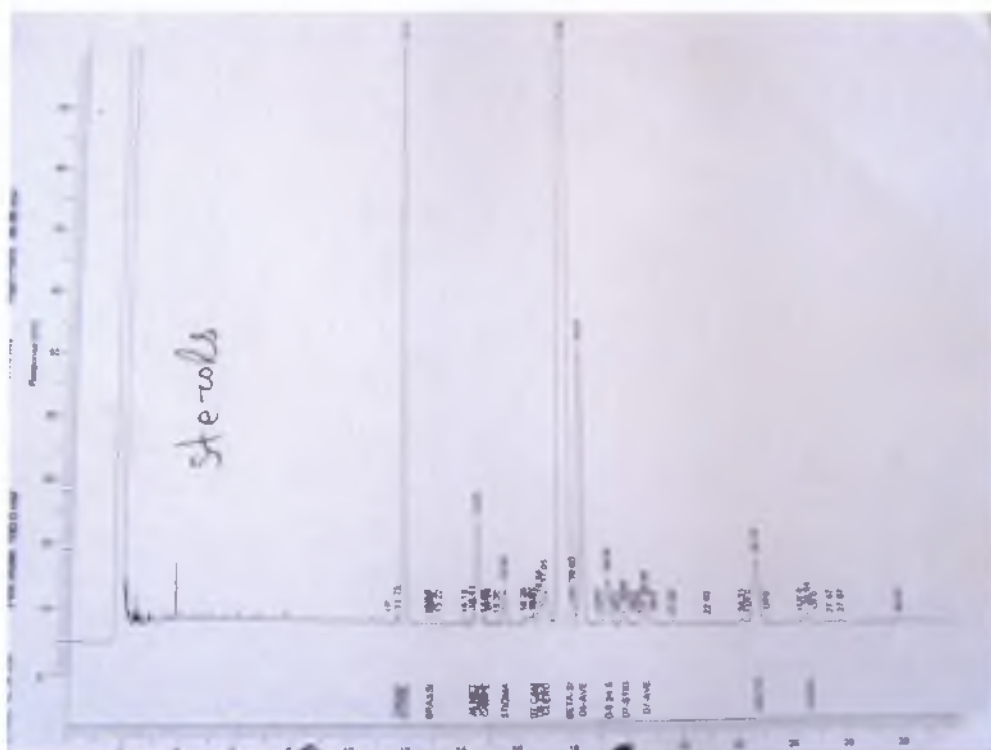
Πίνακας 7: Αποτελέσματα δείγματος 1.

Peak	time	area	Area %	Name
1	11.1417	1395	0.023	Cholesterol
--	11.5420	0	0.000	Cholestanol
2	12.7917	1241	0.020	Brassicasterol
3	13.4167	2617	0.042	24-metyleniocholest
4	13.8750	166910	0.2.695	Campesterol
5	14.0917	1821	0.029	Champestanol
6	14.3667	2856	0.046	
7	14.7583	25201	0.407	Stigmasterol

8	15.4333	3706	0.060	D-7 kambesterol
9	16.1917	34613	0.559	D5,23 stigmastadien
10	16.2583	31154	0.503	Clerosterol
--	17.0750	0	0.000	Sitostanol
11	17.2500	5108043	82.476	B-Sitosterol
12	17.6750	599330	9.677	D-5 Avenasterol
13	18.4083	49850	0.805	D-5-24
14	18.9000	14716	0.238	D-7 stigmastenol
15	19.6500	61718	0.997	D-17 avenasterol
16	23.3750	77402	1.250	Erithrodiol
17	24.8750	10821	0.175	uvaol

Σχολιασμός αποτελεσμάτων :

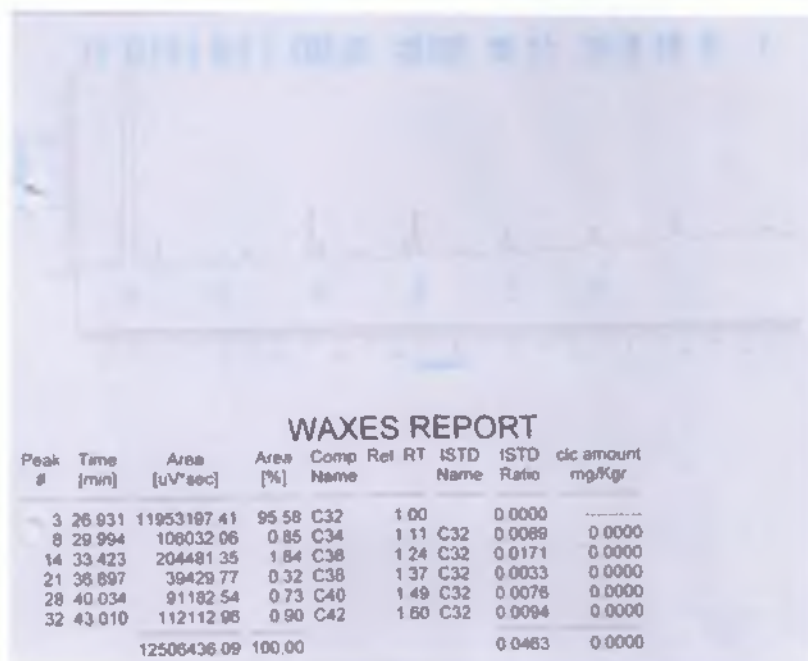
Το δείγμα διατηρεί τα όρια των στερολών του σε αποδεκτά επίπεδα. Επαναλαμβάνεται η διαπίστωση ότι το δείγμα δεν έχει υποστεί νοθεία.



Εικόνα 2 : Χρωματογράφημα στερολών.

5.Ανάλυση: Προσδιορισμός Κηρών

Το δείγμα αφορά σε ελαιόλαδο μείγματος ποικιλιών λαδολιάς και μανάκι με αποθήκευση διάρκειας 5 μηνών σε ανοξειδωτή δεξαμενή.



Εικόνα 3: Χρωματογράφημα κηρών .

Πίνακας 8 :Αποτελέσματα Δείγματος 1.

Χρόνος	Κηροί	Ποσότητα mg/Kgr
26,942	C ₃₂	2.2215
30,073	C ₃₄	15.4042
33,158	C ₃₆	12.8898
36,799	C ₃₈	8.0838
39,916	C ₄₀	6.9277
42,865	C ₄₂	9.4862
45,750	C ₄₄	5.1582
48,936	C ₄₆	
		60.17

Σύμφωνα με την νομοθεσία για τα βρώσιμα παρθένα ελαιόλαδα η περιεκτικότητα ενός ελαιόλαδου σε κηρούς πρέπει να είναι μικρότερη από 250 mg/Kgr

Σχολιασμός αποτελέσματος:

Το δείγμα 1 έχει συνολική περιεκτικότητα σε κηρούς 60,17 mg/Kgr. Συνεπώς δεν έχει υποβαθμιστεί και οι συνθήκες αποθήκευσης του είναι καλές.

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Το ελαιόλαδο είναι ένας φυσικός χυμός που λαμβάνεται από τον καρπό της ελιάς με μηχανικές διεργασίες, σε ήπιες συνθήκες, που δεν υποβαθμίζουν την βιολογική αξία των συστατικών του.

Αποτελείται από την λιπαρή φάση (σαπωνοποιήσιμα συστατικά) σε ποσοστό 98,0-99,5% και από τα μικροσυστατικά (ασαπωνοποιήτα συστατικά) σε ποσοστό 2,0-1,5%. Τα συστατικά που αποτελούν το σαπωνοποιήσιμο κλάσμα είναι τα λιπαρά οξέα και τα τριγλυκερίδια των λιπαρών οξέων. Το ασαπωνοποίητο κλάσμα, το οποίο είναι υπεύθυνο για το ιδιαίτερο άρωμα και την γεύση του ελαιόλαδου αποτελείται από τους υδρογονάνθρακες, τα καροτενοειδή, τις χλωροφύλλες, τις βιταμίνες, τις τοκοφερόλες, τις στερόλες, τα τριτερπενικά οξέα και τις τριτερπενικές αλκοόλες και διόλες, τις φαινόλες, τα φωσφολιπίδια και τους μη γλυκεριδικούς εστέρες των τριγλυκεριδίων.

Οι τέσσερις βασικές κατηγορίες του ελαιολάδου είναι το εξαιρετικά παρθένο ελαιόλαδο, το παρθένο ελαιόλαδο, το ελαιόλαδο και το πυρηνέλαιο.

Για την αξιολόγηση της ποιότητας του ελαιόλαδου τα κριτήρια τα οποία πρέπει να αξιολογηθούν είναι η ελεύθερη οξύτητα, η οξείδωση, το χρώμα και τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά του. Για την αξιολόγηση του χρώματος και των οργανοληπτικών χαρακτηριστικών του ελαιολάδου χρησιμοποιούνται οι ανθρώπινες αισθήσεις.

Κριτήρια όπως η οξύτητα και η οξείδωση του ελαιόλαδου για να αξιολογηθούν πρέπει να γίνουν οι κατάλληλες χημικές αναλύσεις του ελαιόλαδου. Με την διαδικασία των χημικών αναλύσεων μπορούμε να αξιολογήσουμε και άλλους παραμέτρους του ελαιόλαδου όπως τον αριθμό υπεροξειδίων, τις περιεχόμενες αλειφατικές αλκοόλες, τις στερόλες, την ερυθροδιόλη και την ουβαόλη, τον προσδιορισμό τριγλυκεριδίων και άλλα. Σκοπός όλων αυτών των αναλύσεων είναι η αξιολόγηση του ελαιόλαδου ως προς την ποιότητα του, καθώς και την καταλληλότητα του να χρησιμοποιηθεί ως τροφή.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

ΒΙΒΛΙΑ

1. Απόστολος Κ.Κυριτσάκης. **Ελαιόλαδο Συμβατικό & Βιολογικό, Βρώσιμη Ελιά-Πάστα Ελιάς**. Θεσσαλονίκη, 2007.
2. Antonio Garrido Fernandez, Pedro Garcia, Antonio Lopez, Francisco Noe, Apoyo Lopez. Διατροφικά χαρακτηριστικά του ελαιολάδου και της βρώσιμης ελιάς. **Η Εγκυκλοπαίδεια της ελιάς**. Ινστιτούτο Τεχνολογίας Γεωργικών Προϊόντων του Εθνικού Ιδρύματος Αγροτικής Ανάπτυξης.
3. Τεχνικές Ενόργανης ανάλυσης Ελαιόλαδου. **Η εγκυκλοπαίδεια της ελιάς**. Ινστιτούτο Τεχνολογίας Γεωργικών Προϊόντων του Εθνικού Ιδρύματος Αγροτικής Ανάπτυξης.
4. Αλέξανδρος Σ.Αλεξάκης. **Το ελαιόλαδο κα η παραγωγή του**. Εκδόσεις Μιχάλη Σιδέρη, Αθήνα, 1998.
5. Γεώργιος Δ. Καραουλάνης. **Εργαστηριακές Αναλύσεις και Ποιοτικός Έλεγχος στις Βιομηχανίες Τροφίμων**. Αθήνα, 2005.
6. Θ.Π.Χατζηγιάννου, Κ.Η.Ευσταθίου, Δ.Π.Νικολέλη. **Προβλήματα Αναλυτικής Χημείας**. Αθήνα 1984.

ΠΕΡΙΟΔΙΚΑ

7. Ελαιόκοσμος, τεύχος 2, 2008. Βιολειτουργικά συστατικά παρθένου ελαιολάδου. Σειραγάκης Γ.
8. Γεωργία-κτηνοτροφία, τεύχος 7, Σεπτέμβριος 1997. Χρήσιμες πρακτικές οδηγίες για τους επόμενους μήνες.
9. Ελαιοπαραγωγή, Ευριπος εκδοτική, 2006. Εργαστηριακός εξοπλισμός ποιοτικού ελέγχου ελαιόλαδου. Α.Κυριακουλέας.
10. Ελαιοπαραγωγή, Ευριπος εκδοτική, 2006. Το σύστημα της ιχνίλασημότητας στο ελαιόλαδο. Α.Κυριτσάκης, Κ.Κυριτσάκης και Χ.Παπαγρηγορίου.
11. Ελαιοπαραγωγή, Ευριπος εκδοτική, 2006. Η εμφάνιση της ελιάς στον ελλαδικό χώρο. Δρ.Ανάγια Σαρπάκη και Μαριάννα Χατζηδημητρίου.
12. Νέα Αγροτική Επιθεώρησης τεύχος 9/309 Σεπτέμβριος 1972. Η ελιά και η καλλιέργεια της. Παπασωτηρίου Δημήτρης.
13. Ελαιόκοσμος, τεύχος 2, 2008. Διατήρηση παραδοσιακών ελαιώνων. Κέντρου Μίνα.
14. Ελαιόκοσμος, τεύχος 4, 2008 ΠΟΠ & ΠΓΕ Ελαιόλαδα και Υγεία. Κατσαρός Νίκος.

ΑΛΛΟ ΥΛΙΚΟ

15. Γεώργιος Μπαλατσούρας. **Ελαιόλαδο σπορέλαια λίπη και επιτραπέζια ελιά**. Πρόχειρες διδακτικές σημειώσεις.
16. **Μέθοδος Οργανοληπτικής Αξιολόγησης του Παρθένου Ελαιολάδου**. Εισηγητής: Μαρία Λαζαράκη, χημικός Γεν. Γραμματείας Καταναλωτή-Υπουργείο Ανάπτυξης. Ημερίδα με θέμα «Τυποποίηση και Γευσιγνωσία ελαιολάδου», Πεζά 12 Δεκεμβρίου 2003.
17. Ενημερωτικό φυλλάδιο του Συνδέσμου Ελληνικών Βιομηχανιών Τυποποίησης Ελαιολάδου (ΣΕΒΙΤΕΛ), «**Επώνυμο ελαιόλαδο σημαίνει σιγουριά**».
18. Ενημερωτικό φυλλάδιο της Ελαιουργικής, «**Τα μυστικά του Ελαιόλαδου**».
Πρόγραμμα του Καν.(ΕΚ) 2080/2005 –Δράση Ε.ι.-Απόφαση 260268-31/3/06 Υπουργείο Αγροτικής Ανάπτυξης και Τροφίμων.
19. Ενημερωτικό φυλλάδιο της ελαιουργικής «**εξαιρετικά παρθένο ελαιόλαδο**, ανεκτίμητο σαν τη ζωή μας».
20. Ενημερωτικό φυλλάδιο του ΕΣΒΙΤΕ, «**Ελαιόλαδο, το υγρό χρυσάφι**».
21. Γραφείο Πληροφοριών Ελαιόλαδου. **Ελαιόλαδο, πηγή ζωής**.
22. **Ειδική δενδροκομία 2**, μέρος πρώτο πρόχειρες διδακτικές σημειώσεις για την ελαιοκομία. Δεκέμβριος 2004, για το τμήμα ΤΕΓΕΠ, σχολή ΣΤΕΓ Καλαμάτας.
23. **Προϊόντα Επεξεργασίας Ελαιολάδου**. Διδακτικές σημειώσεις Ματσατσίνης Γ. Τ.Ε.Ι. Καλαμάτας, Καλαμάτα 2004.
24. **Εμπορικό πρότυπο ελαιολάδου και πυρηνελαίου**. Διεθνές συμβούλιο ελαιοκομίας. Μαδρίτη, 2003.
25. **Εκπαιδευτικό υλικό τυποποίησης ελαιολάδου**. Καραθάνος Βάιος .Αθήνα 2007-2008. Συνεταιριστική ελαιουργική α.ε.
26. **Το ελαιόλαδο**. Κυριτσάκης Κ. Σεμινάριο. Σητεία, 2007.
27. **Η ελιά στην Αιτωλοακαρνανία**. Ενημερωτική έκδοση Νομαρχιακή Αυτοδιοίκηση Αιτωλοακαρνανίας, 2008.
28. Αντώνης Η. Καντάς. **Επίδραση του χρόνου συγκομιδής στην ποσότητα και αξία του παραγόμενου ελαιολάδου στις συνθήκες της Κέρκυρας**. Ινστιτούτο Ελαίας Κέρκυρας, 1998.
29. Οι συνεργάτες των ελαιοπαραγωγών. Περιοδική έκδοση της εφημερίδας Αγροτική Έκφραση για την Ελαιοτεχνία 2008.
30. Ποιοτικός έλεγχος Λιπών και Ελαίων. Εργαστηριακές Ασκήσεις. Εμμανουήλ Γ. Γαροφαλάκης, Τ.Ε.Ι. Αθήνας. Αθήνα 2003.

ΙΣΤΟΣΕΛΙΔΕΣ

31. Θάμρος για βαθύτερη γνώση γύρω από το ελαιόλαδο. Ένωση Αγροτικών Συνεταιρισμών Σητείας.
http://www.sgp-sitia.com/all-Dateien/A_MehrInfo2_gr.htm
32. Γεωργικές προειδοποιήσεις. Τεχνικό δελτίο. Θέμα : Ελιά . Σπύρος Βλειώρας ,2004.Υπουργείο Αγροτικής Ανάπτυξης και Τροφίμων.
<http://www.minagric.gr/greek/proeid/bolos/proeid041130.shtml>
33. Αναγνωρίστε τις κατηγορίες του ελαιόλαδου. Φιλιά Μυρτσίδου.
<http://www.gourmed.gr/greek/mediterraneandiet/show.asp?gid=9&nodeid=77&arid=8632>
34. Κρητικό Ελαιόλαδο. Η σημασία του στην προαγωγή της υγείας και την πρόληψη των ασθενειών. Χημική σύσταση ελαιόλαδου. Διαφορές με άλλα φυτικά έλαια. Ομοιότητες με το λίπος του μητρικού γάλακτος.
http://nutrition.med.uoc.gr/drastiriotites/oil_gr/ximiki_systasi.htm
35. Το Ελληνικό ελαιόλαδο.
http://hellonet.teithe.gr/GR/aboutgreece/greekproducts/ladi_gr.htm
36. Το Ελαιόλαδο. ΕΦΕΤ.
<http://www.efet.gr/elaiolado.html>
37. Εργασία των Γιακουμάκη Σοφία, Ανδρέου Κατερίνα, Ανδρέου Χρύσα, Αναγνώστου Γιώργος . Ελιά και ελαιόλαδο.
<http://www.kairatos.com.gr/elia2.htm>
38. Γιατί τελικά ελαιόλαδο και όχι άλλο λάδι.
<http://www.eleacreta.gr/oliveoil.html>
39. Ελαιόλαδο και υγεία.
http://www.nutria.gr/olive_details.asp?products_id=20&cat_id=15&cat_parent=0
40. Ελαιόλαδο: Ο ομφάλιος λώρος που μας συνδέει με τις ελληνικές γεύσεις Λαμπράκη Μυρσίνη.
<http://www.nline.gr/?p=215>
41. Ελαιόλαδο. Wikipedia
<http://el.wikipedia.org/wiki/%CE%95%CE%BB%CE%B1%CE%B9%CF%8C%CE%BB%CE%B1%CE%B4%CE%BF>
42. Λουτεΐνη. Wikipedia
<http://translate.google.gr/translate?hl=el&langpair=en%7Cel&u=http://en.wikipedia.org/wiki/Beta-Carotene>
43. Καροτένιο. New world encyclopedia
<http://translate.google.gr/translate?hl=el&langpair=en%7Cel&u=http://www.newworldencyclopedia.org/entry/Carotene>
44. Χλωροφύλλη. Answers. Com
<http://translate.google.gr/translate?hl=el&langpair=en%7Cel&u=http://www.answers.com/topic/chlorophyll>
45. Χλωροφύλλη β. Wikipedia

<http://translate.google.gr/translate?hl=el&langpair=en%7Cel&u=http://en.wikipedia.org/wiki/Chlorophyll>

46.Τοκοφερόλες.

<http://translate.google.gr/translate?hl=el&langpair=en%7Cel&u=http://www.rikenvitamin.jp/int/tocopherol/toc1.html>

KANONΙΣΜΟΙ

47.Μεθοδολογία προσδιορισμού της οξύτητας. Κανονισμός ΕΟΚ 2568/91 Παράρτημα II.

48.Μεθοδολογία προσδιορισμού του αριθμού υπεροξειδίων. κανονισμός (ΕΟΚ) 2568/91 Παράρτημα III.

49.Μεθοδολογία προσδιορισμού σύμφωνα με τον κανονισμό (ΕΟΚ) 2568/91 Παράρτημα IV.

50.Μεθοδολογία προσδιορισμού σύμφωνα με τον κανονισμό (ΕΟΚ) 2568/91 Παράρτημα V.

51.Μεθοδολογία προσδιορισμού ερυθροδιόλης και ουβαόλης σύμφωνα με τον κανονισμό (ΕΟΚ) 2568/91 Παράρτημα VI.

52.Μεθοδολογία προσδιορισμού σύμφωνα με τον κανονισμό (ΕΟΚ) 2568/91 Παράρτημα VII.

53.Μεθοδολογία προσδιορισμού σύμφωνα με τον κανονισμό (ΕΟΚ) 2568/91 Παράρτημα VIII.

54.Μεθοδολογία σύμφωνα με τον κανονισμό (ΕΟΚ) 2568/91 Παράρτημα IX.

55.Μεθοδολογία προσδιορισμού σύμφωνα με τον κανονισμό (ΕΟΚ) 2568/91 Παράρτημα XΑ.

56.Παρασκευή μεθυλεστέρων, λιπαρών οξέων σύμφωνα με το παράρτημα VI του κανονισμού (ΕΟΚ) ΑΡΙΘΜ. 72/77 Παράρτημα XB

57.Μεθοδολογία προσδιορισμού σύμφωνα με τον κανονισμό (ΕΟΚ) 2568/91 Παράρτημα XI.

58.Κανονισμός (ΕΚ) αριθ. 796/2002 της Επιτροπής, της 6ης Μαΐου 2002, περί τροποποιήσεως του κανονισμού (ΕΟΚ) αριθ. 2568/91 σχετικά με τον προσδιορισμό των χαρακτηριστικών των ελαιολάδων και των πυρηνελαίων καθώς και με τις σχετικές μεθόδους προσδιορισμού και τις συμπληρωματικές σημειώσεις που εμφανίζονται στο παράρτημα του κανονισμού (ΕΟΚ) αριθ. 2658/87 του Συμβουλίου, για τη δασμολογική και στατιστική ονοματολογία και το κοινό δασμολόγιο. Παράρτημα XIX

59.Κανονισμός (ΕΚ) αριθ. 2472/97 της Επιτροπής της 11ης Δεκεμβρίου 1997 για την τροποποίηση του κανονισμού (ΕΟΚ) αριθ. 2568/91 σχετικά με τον προσδιορισμό των χαρακτηριστικών των ελαιολάδων και των πυρηνελαίων καθώς και με τις σχετικές μεθόδους προσδιορισμού και του κανονισμού (ΕΟΚ) αριθ. 2658/87 του Συμβουλίου σχετικά με τη δασμολογική και στατιστική ονοματολογία και το κοινό δασμολόγιο