

ΤΕΙ ΠΕΛΟΠΟΝΝΗΣΟΥ  
ΣΧΟΛΗ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΓΕΩΠΟΝΙΑΣ ΚΑΙ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ ΚΑΙ  
ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ  
ΤΜΗΜΑ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ

**ΠΡΟΦΙΛ ΛΙΠΑΡΩΝ ΟΞΕΩΝ ΣΕ ΑΛΙΕΥΜΕΝΕΣ  
ΣΑΡΔΕΛΕΣ ΚΑΙ ΕΠΟΧΙΑΚΗ ΔΙΑΚΥΜΑΝΣΗ  
ΑΥΤΩΝ**

---

**ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ**

**ΔΕΣΠΟΙΝΑ ΑΝΤΕΚΕΛΙΔΗ**



**ΚΑΛΑΜΑΤΑ 2016**

ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ  
ΑΝΤΕΚΕΛΙΔΗ ΔΕΣΠΟΙΝΑ

ΤΕΙ ΠΕΛΟΠΟΝΝΗΣΟΥ  
ΣΧΟΛΗ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΓΕΩΠΟΝΙΑΣ ΚΑΙ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ ΚΑΙ  
ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ  
ΤΜΗΜΑ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ

**ΠΡΟΦΙΛ ΛΙΠΑΡΩΝ ΟΞΕΩΝ ΣΕ ΑΛΙΕΥΜΕΝΕΣ  
ΣΑΡΔΕΛΕΣ ΚΑΙ ΕΠΟΧΙΑΚΗ ΔΙΑΚΥΜΑΝΣΗ  
ΑΥΤΩΝ**

---

**ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ**

**ΔΕΣΠΟΙΝΑ ΑΝΤΕΚΕΛΙΔΗ**

**ΕΠΙΒΛΕΠΩΝ ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ: Δρ./κος ΓΕΩΡΓΙΟΣ ΖΑΚΥΝΘΙΝΟΣ**



**ΚΑΛΑΜΑΤΑ 2016**

## ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Τα λιπαρά οξέα ανήκουν στην μεγάλη κατηγορία των λιπιδίων. Είναι αλειφατικά καρβοξυλικά οξέα, υψίστης σημασίας για τον άνθρωπο. Ωστόσο ο ανθρωπινός οργανισμός αδυνατεί να παράγει τις απαιτούμενες ποσότητες για την κάλυψη των αναγκών του και έτσι θα πρέπει να τα λαμβάνει μέσω της τροφής του.

Για τον λόγο αυτό η εμπορική παραγωγή έχει στραφεί προς την παραγωγή ιχθυελαίων και συμπυκνωμάτων Ω-3 λιπαρών οξέων (EPA+DHA). Ο διαχωρισμός των λιπαρών οξέων γίνεται με διάφορες μεθόδους όπως η συμπλοκοποίηση ουρίας, η υπερκρίσιμη εκχύλιση, η κρυστάλλωση σε χαμηλές θερμοκρασίες η απόσταξη μορίων, η υδρόλυση λιπάσης αλλά και η μέθοδος πίεσης.

Στην παρούσα εργασία δείγματα σαρδέλας (από τον Μάιο μέχρι και τον Οκτώβριο) χρησιμοποιήθηκαν για την εκχύλιση και ανάλυση ελαίου ως προς το προφίλ και την εποχιακή διακύμανση των λιπαρών τους οξέων καθώς και της α-τοκοφερόλης (βιταμίνη E), η οποία λειτουργεί ως ισχυρό αντιοξειδωτικό των λιπαρών οξέων. Όλα τα δείγματα αφού θερμάνθηκαν, λυοφιλοποιήθηκαν, εκχυλίστηκαν μέσω της μεθόδου Soxhlet και τέλος φυγοκεντρίθηκαν με NaOH και H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> και στην συνέχεια με ζεόλιθο και αναλύθηκαν μέσω αέριου χρωματογραφίας με ανιχνευτή ιονισμού φλόγας (GC-FID).

Από τα αποτελέσματα των αναλύσεων φαίνεται πως τα μεγαλύτερα ποσοστά σε πολυακόρεστα λιπαρά οξέα εμφάνισε ο Σεπτέμβριος. Συγκεκριμένα το άθροισμα των EPA+DHA έφτασε το 30% του συνόλου των πολυακόρεστων λιπαρών οξέων, ενώ τα Ω6 λιπαρά οξέα τον Σεπτέμβρη ήταν στο 4,9%. Τα μονοακόρεστα λιπαρά οξέα εμφάνισαν την μεγαλύτερη συγκέντρωση τους τον Μάιο σε συγκέντρωση 25,7%, ενώ τα κορεσμένα λιπαρά οξέα τον Αύγουστο με συγκέντρωση 61,3%. Τα trans λιπαρά οξέα εμφάνισαν τις μικρότερες συγκεντρώσεις από τα υπόλοιπα λιπαρά οξέα, με το Σεπτέμβρη να εμφανίζει την μεγαλύτερη συγκέντρωση με 0,2%. Τέλος η α-τοκοφερόλη έδωσε την μεγαλύτερη συγκέντρωση τον Ιούλιο όπου έφτασε τα 356mg/kg.

*Λέξεις κλειδιά:* πολυακόρεστα, μονοακόρεστα, trans, λυοφιλίωση, εκχύλιση, φυγοκέντριση, ζεόλιθος, αέριος χρωματογραφία, α-τοκοφερόλη, μέθοδοι συγκέντρωσης.

## Πίνακας περιεχομένων

ΠΕΡΙΛΗΨΗ .....	3
ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ .....	7
ΕΙΣΑΓΩΓΗ .....	8
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1 <sup>ο</sup> : ΕΙΣΑΓΩΓΙΚΕΣ ΕΝΝΟΙΕΣ ΚΑΙ ΟΡΙΣΜΟΙ .....	9
1.1.ΛΙΠΑΡΑ ΟΞΕΑ.....	9
1.2.ΑΠΑΡΑΙΤΗΤΑ ΛΙΠΑΡΑ ΟΞΕΑ .....	9
1.3.ΛΙΠΑΡΑ ΟΞΕΑ ΙΧΘΥΩΝ .....	12
1.3.1.ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΠΟΥ ΕΠΗΡΕΑΖΟΥΝ ΤΗΝ ΛΙΠΟΠΕΡΙΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑ ΤΩΝ ΙΧΘΥΩΝ .....	13
1.4.ΟΦΕΛΗ ΤΩΝ Ω3 ΛΙΠΑΡΩΝ ΟΞΕΩΝ ΣΤΗΝ ΑΝΘΡΩΠΙΝΗ ΥΓΕΙΑ .....	17
1.4.1.ΣΤΕΦΑΝΙΑΙΑ ΝΟΣΟΣ .....	18
1.4.2.ΠΙΕΣΗ ΑΙΜΑΤΟΣ.....	18
1.4.3.ΤΡΙΓΛΥΚΕΡΙΔΙΑ .....	19
1.4.4.ΚΑΡΚΙΝΟΣ.....	19
1.4.5.ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΕΓΚΕΦΑΛΟΥ.....	19
1.4.6.ΕΜΒΡΥΑ ΚΑΙ ΒΡΕΦΗ .....	20
1.4.7.ΕΓΚΕΦΑΛΙΚΟ ΕΠΙΣΟΔΕΙΟ.....	20
1.5.ΕΝΔΕΙΚΤΙΚΕΣ ΗΜΕΡΙΣΙΕΣ ΠΡΟΣΛΗΨΕΙΣ Ω-3 ΛΙΠΑΡΩΝ ΟΞΕΩΝ .....	20
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2 <sup>ο</sup> : ΜΕΘΟΔΟΙ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ, ΠΑΡΑΛΑΒΗΣ ΚΑΙ ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΗΣ ΛΙΠΑΡΩΝ ΟΞΕΩΝ ΑΠΟ ΙΧΘΥΕΛΑΙΟ. ....	22
2.1.ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΠΡΟΦΙΛ ΛΙΠΑΡΩΝ ΟΞΕΩΝ ΣΤΟ ΕΛΑΙΟ ΣΑΡΔΕΛΑΣ (ΜΕΘΟΔΟΣ ΒΛΙΓΗ & DYER (1959)).....	22
2.1.ΠΑΡΑΓΩΓΗ ΜΕΘΥΛΕΣΤΕΡΩΝ ΛΙΠΑΡΩΝ ΟΞΕΩΝ ΩΣ ΠΡΟΤΥΠΑ .....	23
2.2.ΣΥΜΠΛΟΚΟΠΟΙΗΣΗ ΟΥΡΙΑΣ.....	23
2.3.ΥΠΕΡΚΡΙΣΙΜΗ ΕΚΧΥΛΙΣΗ .....	26
2.4.ΚΡΥΣΤΑΛΛΩΣΗ ΣΕ ΧΑΜΗΛΗ ΘΕΡΜΟΚΡΑΣΙΑ .....	27
2.5.ΑΠΟΣΤΑΞΗ ΜΟΡΙΩΝ .....	28
2.6.ΚΑΤΑΛΥΟΜΕΝΗ ΥΔΡΟΛΥΣΗ ΜΕ ΛΙΠΑΣΗ .....	29
2.7.ΑΛΛΕΣ ΜΕΘΟΔΟΙ .....	31
2.7.1.ΜΕΘΟΔΟΣ ΣΥΜΠΙΕΣΗΣ .....	31
2.7.2.ΜΕΘΟΔΟΣ ΞΗΡΗΣ ΑΠΟΔΟΣΗΣ .....	31

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3 <sup>ο</sup> : ΣΚΟΠΟΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ .....	33
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4 <sup>ο</sup> : ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΑ ΔΕΔΟΜΕΝΑ.....	34
4.1.ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ.....	34
4.1.1.ΔΕΙΓΜΑΤΑ ΣΑΡΔΕΛΑΣ.....	34
4.1.2.ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ.....	35
4.1.3.ΟΡΓΑΝΑ ΚΑΙ ΣΚΕΥΗ .....	35
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5 <sup>ο</sup> : ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ .....	37
5.1.ΘΕΡΜΙΚΗ ΕΠΕΞΑΡΓΑΣΙΑ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ (ΒΡΑΣΜΟΣ) .....	38
5.2.ΞΗΡΑΝΣΗ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ ΣΕ ΞΥΡΑΝΤΗΡΙΟ ΛΥΟΦΙΛΙΩΣΗΣ (FREEZE DRIER).....	39
5.2.1.ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΛΥΟΦΙΛΙΩΣΗΣ.....	39
5.3.ΕΚΧΥΛΙΣΗ ΙΧΘΥΕΛΑΙΟΥ (ΜΕΘΟΔΟΣ SOXHLET) .....	40
5.3.1.ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΕΚΧΥΛΙΣΗΣ .....	41
5.4.ΦΥΓΟΚΕΝΤΡΙΣΗ ΕΛΑΙΟΥ .....	42
5.4.1.ΦΥΓΟΚΕΝΤΡΙΣΗ ΜΕ NaOH ΚΑΙ H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub> .....	42
5.4.2.ΦΥΓΟΚΕΝΤΡΙΣΗ ΜΕ ΖΕΟΛΙΘΟ .....	43
5.5.ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΗ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ ΕΚΧΥΛΙΣΗΣ/ΦΥΓΟΚΕΝΤΡΙΣΗΣ.....	48
5.5.1.ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ/ ΠΟΣΟΤΗΤΑ ΔΕΙΓΜΑΤΟΣ ΠΟΥ ΧΡΗΣΙΜΟΠΟΙΗΘΗΚΕ.....	48
5.5.2.ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ/100gr ΔΕΙΓΜΑΤΟΣ .....	49
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 6 <sup>ο</sup> : ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ-ΣΥΖΗΤΗΣΗ .....	50
6.1.ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ ΑΕΡΙΟΥ ΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΑΣ ΜΕ ΑΝΙΧΝΕΥΤΗ ΙΟΝΙΣΜΟΥ ΦΛΟΓΑΣ ..50	
6.2.ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΛΙΠΑΡΩΝ ΟΞΕΩΝ .....	52
6.2.1.ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΑΝΑΛΥΣΗΣ ΔΕΙΓΜΑΤΟΣ ΜΑΪΟΥ .....	52
6.2.2.ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΑΝΑΛΥΣΗΣ ΔΕΙΓΜΑΤΟΣ ΙΟΥΝΙΟΥ.....	54
6.2.3.ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΑΝΑΛΥΣΗΣ ΔΕΙΓΜΑΤΟΣ ΙΟΥΛΙΟΥ .....	57
6.2.4.ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΑΝΑΛΥΣΗΣ ΔΕΙΓΜΑΤΟΣ ΑΥΓΟΥΣΤΟΥ .....	59
6.2.5.ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΑΝΑΛΥΣΗΣ ΔΕΙΓΜΑΤΟΣ ΣΕΠΤΕΜΒΡΙΟΥ.....	62
6.2.6.ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΑΝΑΛΥΣΗΣ ΔΕΙΓΜΑΤΟΣ ΟΚΤΩΒΡΙΟΥ.....	64
6.3.ΔΙΑΚΥΜΑΝΣΗ ΛΙΠΑΡΩΝ ΟΞΕΩΝ ΚΑΤΑ ΤΟ ΔΙΑΣΤΗΜΑ ΜΑΪΟΥ-ΟΚΤΩΒΡΙΟΥ .....	67
6.3.1.ΜΟΝΟΑΚΟΡΕΣΤΑ ΛΙΠΑΡΑ ΟΞΕΑ .....	67
6.3.2.ΚΟΡΕΣΜΕΝΑ ΛΙΠΑΡΑ ΟΞΕΑ.....	68
6.3.3.ΠΟΛΥΑΚΟΡΕΣΤΑ ΛΙΠΑΡΑ ΟΞΕΑ .....	68
6.3.4.TRANS ΛΙΠΑΡΑ ΟΞΕΑ .....	69
6.4.ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ Α-ΤΟΚΟΦΕΡΟΛΗΣ (ΒΙΤΑΜΙΝΗ Ε) .....	72

6.4.1.ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ/ΣΥΖΗΤΗΣΗ ΑΝΑΛΥΣΗΣ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ.....	72
6.5.ΔΙΑΚΥΜΑΝΣΗ Α-ΤΟΚΟΦΕΡΟΛΗΣ (ΒΙΤΑΜΙΝΗ Ε) ΚΑΤΑ ΤΟ ΔΙΑΣΤΗΜΑ ΜΑΪΟΥ-ΟΚΤΩΒΡΙΟΥ .....	76
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 7 <sup>ο</sup> : ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ/ΣΥΖΗΤΗΣΗ.....	78
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 8 <sup>ο</sup> : ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ .....	79
8.1.ΞΕΝΗ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....	79
8.2.ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....	80
ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ Α.....	83
ΦΩΤΟΓΡΑΦΙΚΟ ΥΛΙΚΟ ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗΣ ΠΟΡΕΙΑΣ.....	83
ΛΥΟΦΙΛΙΩΣΗ .....	83
ΕΚΧΥΛΙΣΗ SOXHLET.....	85
ΦΥΓΟΚΕΝΤΡΙΣΗ .....	87

## **ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ**

Για την διεκπεραίωση της παρούσας πτυχιακής εργασίας, θα ήθελα να ευχαριστήσω πρώτο απ' όλους τον καθηγητή μου, κύριο Ζακυνθινό Γεώργιο, για την εμπιστοσύνη που μου έδειξε, την συνεργασία καθώς και την πολύτιμη συμβολή του στην υλοποίηση της.

Θα ήθελα επίσης να απευθύνω της ευχαριστίες μου στον καθηγητή κύριο Κουτρομπή Φώτιο καθώς και την κυρία Τσαγκάρη Σταυρούλα για την πολύτιμη βοήθεια τους, καθώς και τον χρόνο που διέθεσαν για την εκτέλεση του εργαστηριακού τμήματος της πτυχιακής μου εργασίας.

Τέλος, θα ήθελα να πω ένα μεγάλο ευχαριστώ στους γονείς μου και τον αδερφό μου Γιώργο, οι οποίοι στήριξαν τις σπουδές μου με όλους τους δυνατούς τρόπους, φροντίζοντας για την καλύτερη δυνατή μόρφωση μου.

## ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Τα ψάρια είναι μία από τις παλαιότερες και πολυτιμότερες πηγές θρεπτικών συστατικών για την ανθρωπότητα. Η αξία των ψαριών έχει μία τάση να αυξάνεται μέρα με την μέρα μιας και αυξάνεται και η γνώση των καταναλωτών σχετικά με το θρεπτικό τους περιεχόμενο.

Ψάρια όπως το σκουμπρί, η σαρδέλα, ο τόνος και άλλα, είναι κάποιες από τις πλουσιότερες και φθηνότερες πηγές του διατροφικού συμπλέγματος των ω-3 λιπαρών οξέων, συμπεριλαμβανομένων των EPA και DHA. Τα δύο αυτά λιπαρά οξέα δεν μπορούν να βρεθούν σε άλλα θρεπτικά συστατικά πέραν αυτών των θαλασσινών. Σύμφωνα με αναφορές τα EPA και DHA προκαλούν βιοχημικές και φυσιολογικές μεταβολές στο ανθρώπινο σώμα, επιπλέον έχουν θεραπευτικές ή/και προληπτικές ιδιότητες που συμβάλλουν θετικά στην ανθρώπινη υγεία.

Έχει αναφερθεί πως και τα δύο είναι απαραίτητα θρεπτικά συστατικά τα οποία προστατεύουν το ανθρώπινο σώμα από πονοκεφάλους (όπως ημικρανίες), ορισμένους τύπους καρκίνου, διαβήτη, υψηλή χοληστερόλη και αρτηριακή πίεση καθώς και καρδιαγγειακές παθήσεις. Επιπλέον έχουν ευεργετικές ιδιότητες στις εγκύους μειώνοντας τον κίνδυνο πρόωρης γέννας και αποβολής. Τέλος τα EPA και DHA διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στην ανάπτυξη του νευρικού συστήματος των εμβρύων.

Μια πηγή από την οποία ο άνθρωπος παραλαμβάνει αυτά τα ουσιώδη λιπαρά οξέα είναι η κατανάλωση ιχθυελαίου. Για την παραγωγή ελαίων πλούσιων σε ω-3 λιπαρά ο διαχωρισμός των λιπαρών οξέων είναι δύσκολος. Τα ιχθυέλαια είναι σύνθετα μείγματα λιπαρών οξέων με διαφορετικά μήκη αλυσίδας και εξαρτώμενα από τις θερμοκρασίες σύνθεσης τους. Ως εκ τούτου, η παραγωγή συμπυκνωμάτων ελαίου αλιευμάτων με υψηλές συγκεντρώσεις EPA και DHA είναι το κύριο μέλημα των ερευνητών στον τομέα αυτό. Οι διαθέσιμες μέθοδοι για την παραγωγή των συμπυκνωμάτων αυτών είναι η συμπλοκοποίηση ουρίας, η υπερκρίσιμη εκχύλιση, η κρυστάλλωση χαμηλής θερμοκρασίας, η απόσταξη μορίων και η συγκέντρωση λιπάσης. Από τις παραπάνω μεθόδους η συμπλοκοποίηση ουρίας είναι η απλούστερη και πιο αποτελεσματική τεχνική για την απόκτηση συμπυκνωμάτων ω-3 λιπαρών οξέων υπό μορφή ελεύθερων λιπαρών οξέων.

Στην πειραματική πορεία της παρούσας εργασίας μελετήθηκε η παραλαβή, η απόσπηση, η λεύκανση καθώς και το προφίλ και η εποχιακή διακύμανση των λιπαρών οξέων και της α-τοκοφερόλης (βιταμίνη E) στο έλαιο σαρδέλας, δεδομένου ότι η σεζόν του συγκεκριμένου ψαριού αρχίζει την άνοιξη και τελειώνει στα μέσα του φθινοπώρου και πιο συγκεκριμένα τον μήνα Οκτώβριο, τα δείγματα που αναλύθηκαν ήταν από τον μήνα Μάιο μέχρι και τον Οκτώβρη.



## **ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1<sup>ο</sup>: ΕΙΣΑΓΩΓΙΚΕΣ ΕΝΝΟΙΕΣ ΚΑΙ ΟΡΙΣΜΟΙ**

### **1.1.ΛΙΠΑΡΑ ΟΞΕΑ**

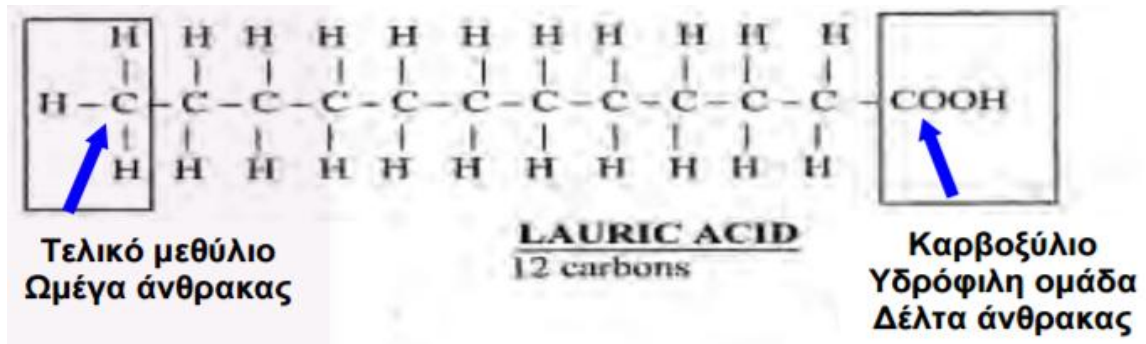
Τα λιπαρά οξέα ανήκουν στην μεγάλη κατηγορία των λιπιδίων, ως λιπίδια χαρακτηρίζονται τα βιομόρια τα οποία είναι αδιάλυτα στο νερό αλλά διαλυτά σε (μη πολικούς) οργανικούς διαλύτες ή και σε μείγματα αυτών με πολικούς διαλύτες.

Η κατάταξη αυτών των πολυπληθών και διαφορετικών βιομορίων στην κατηγορία των λιπιδίων γίνεται λόγω κάποιων κοινών τους σημείων καθώς και κάποιον βιολογικών τους δράσεων. Με βάση των βιολογικό τους ρόλο τα λιπίδια χωρίζονται σε λιπίδια με ιδιαίτερο βιολογικό ρόλο, σε δομικά και σε ενεργειακά (στην ομάδα αυτή ανήκουν και τα λιπαρά οξέα). Ωστόσο ο περισσότερο ικανοποιητικός τρόπος κατάταξης τους σήμερα είναι ανάλογα με τη δομή του σκελετού τους, έτσι έχουμε τα σύνθετα ή πολικά λιπίδια, τα οποία περιέχουν μία πολική ομάδα και με υδρόλυση δίνουν περισσότερα από δύο προϊόντα υδρόλυσης και τα απλά ή ουδέτερα λιπίδια, τα οποία απαρτίζονται από μη σαπωνοποιήσιμες ενώσεις. Στην τελευταία ομάδα που αναφέρθηκε ανήκουν και τα λιπαρά οξέα.

Τα λιπαρά οξέα είναι αλειφατικά καρβοξυλικά οξέα, δηλαδή αποτελούνται από μία αλυσίδα ατόμων άνθρακα (μη πολική) και μία καρβοξυλική ομάδα (πολική). Τα περισσότερα διαθέτουν γραμμική αλειφατική αλυσίδα, η οποία είναι είτε κορεσμένη, είτε περιέχει έναν ή και περισσότερους διπλούς δεσμούς αλλά μπορεί και να είναι υποκατεστημένη με διάφορους υποκαταστάτες. Η αλυσίδα τους αποτελείται συνήθως από άρτιο αριθμό ατόμων άνθρακα και το μήκος της ποικίλει από 4 έως και 60 άτομα άνθρακα. Ωστόσο τα πιο διαδεδομένα λιπαρά οξέα σε ευκαρυωτικούς και προκαρυωτικούς οργανισμούς έχουν 12 ή 20 άτομα άνθρακα. Επιπλέον από το μέγεθος της αλειφατικής τους αλυσίδας καθώς και από τον βαθμό κορεσμού της εξαρτώνται οι φυσικές τους ιδιότητες, ενώ από την άλλη ο βιολογικός τους ρόλος είναι να συμμετέχουν υπό την μορφή φωσφολιπιδίων στη δομή των μεμβρανών και επίσης με την μορφή των γλυκεριδίων επιτρέπουν στο κύτταρο την αποθήκευση της περίσσειας της παραγόμενης μεταβολικής τους ενέργειας.

### **1.2.ΑΠΑΡΑΙΤΗΤΑ ΛΙΠΑΡΑ ΟΞΕΑ**

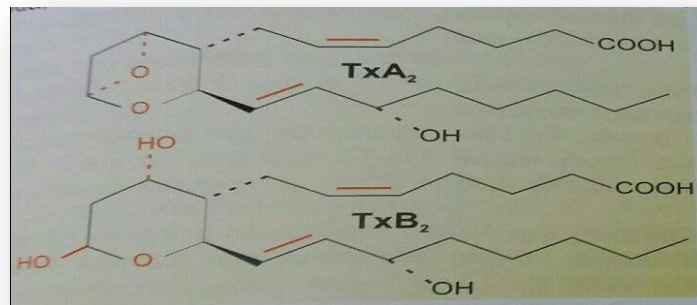
Ο ανθρώπινος οργανισμός παρότι διαθέτει σημαντικά ποσοστά πολυακόρεστων λιπαρών οξέων, δεν διαθέτει τα ένζυμα που θα του επέτρεπαν να εισάγει διπλούς δεσμούς μεταξύ του δέκατου ατόμου άνθρακα και του μεθυλικού άκρου της ανθρακικής αλυσίδας (Εικόνα 1) των λιπαρών οξέων. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα να μην έχει την δυνατότητα σύνθεσης σημαντικών λιπαρών οξέων που αποτελούν αφετηρία σύνθεσης πολυακόρεστων λιπαρών οξέων, τα οποία αποκαλούνται και απαραίτητα. Είναι σημαντικό να αναφερθεί πως τα τελευταία παράγονται από τον οργανισμό αλλά σε ποσότητες τέτοιες ούτως ώστε να μην μπορούν να καλύψουν τις ανάγκες του.



Πηγή: [http://www.iama.gr/ethno/oxea\\_files/oxea\\_Leuteris\\_Marinos.pdf](http://www.iama.gr/ethno/oxea_files/oxea_Leuteris_Marinos.pdf), ημερομηνία ανάκτησης 27/11/2016.

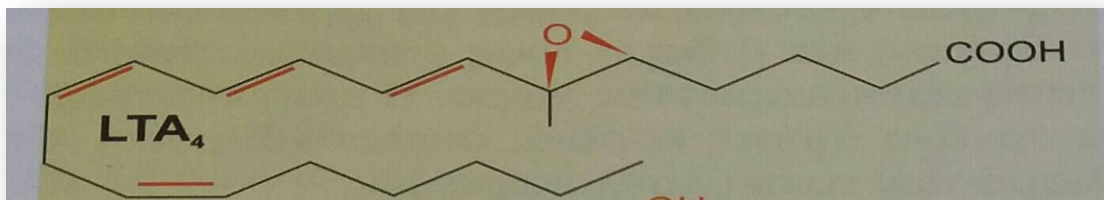
Εικόνα 1. Μορφή τελικού μεθυλικού άρθρου λιπαρών οξέων.

Η κατηγορία των απαραίτητων αυτών λιπαρών οξέων με τα οποία ασχολείται η παρούσα εργασία είναι τα εικοσανοειδή, των οποίων η ονομασία οφείλεται στο ότι είναι παράγωγα αραχιδονικού οξέος που έχουν είκοσι άτομα άνθρακα. Τα εικοσανοειδή κατηγοριοποιούνται σε τρεις ομάδες τα θρομβοξανία (Εικόνα 2), τα λευκοτριένια (Εικόνα 3), καθώς και τις προσταγλαδίνες (Εικόνα 4) με τις οποίες και ασχολείται η παρούσα εργασία.



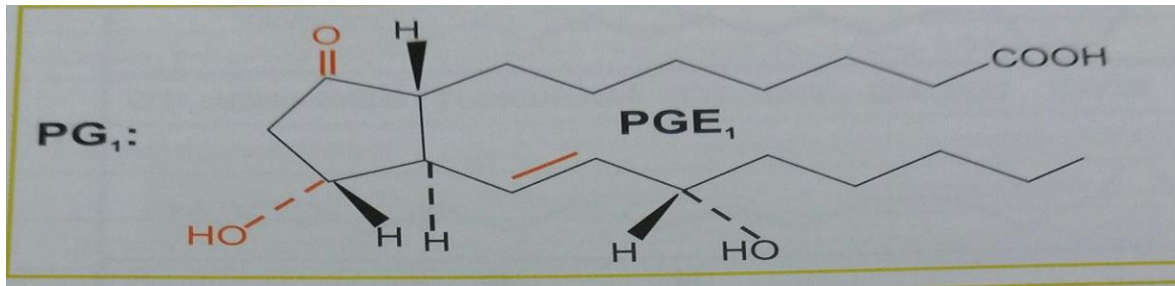
Πηγή: Κωνσταντίνος Α. Δημόπουλος, Σμαραγδή Αντωνοπούλου, 2009. Βασική Βιοχημεία, σελίδα 211.

Εικόνα 2. Δομές κύριων εκπροσώπων θρομβοξανίων.



Πηγή: Κωνσταντίνος Α. Δημόπουλος, Σμαραγδή Αντωνοπούλου, 2009. Βασική Βιοχημεία, σελίδα 211.

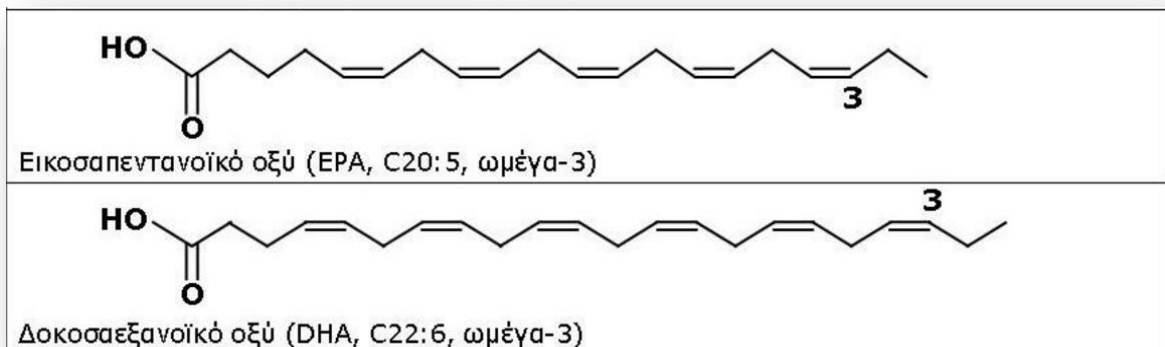
Εικόνα 3. Δομή λευκοτριένιου LTA<sub>4</sub>.



Πηγή: Κωνσταντίνος Α. Δημόπουλος, Σμαραγδή Αντωνοπούλου, 2009. Βασική Βιοχημεία, σελίδα 211.

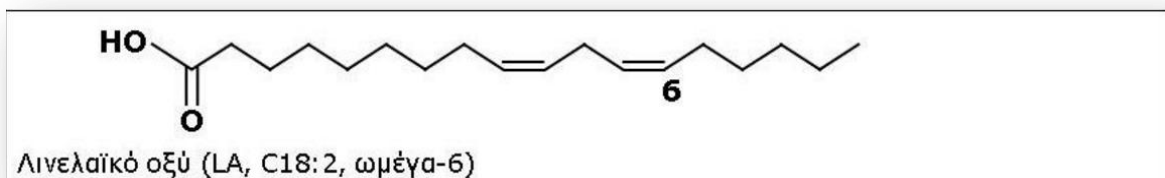
Εικόνα 4. Δομή προσταγλαδίνης  $PG_1$ .

Στις προσταγλαδίνες ανήκει το εικοσαπενταενοϊκό οξύ (EPA) ( $\omega$ -3) (Εικόνα 5), καθώς και το δοκοσαεξαενοϊκό οξύ (DHA) ( $\omega$ -3) (Εικόνα 5). Η ονομασία  $\omega$ -3 λιπαρά οξέα οφείλεται στο ότι πρώτος διπλός δεσμός εμφανίζεται στο τρίτο άτομο άνθρακα, εν αντιθέσει με τα  $\omega$ -6 λιπαρά οξέα, όπου ο πρώτος διπλός δεσμός βρίσκεται στο έκτο άτομο άνθρακα ξεκινώντας τη μέτρηση από το μεθυλικό άκρο που αναφέρεται ως  $\omega$ μέγα. Κύρια πηγή για την βιοσύνθεση των προσταγλαδίνων είναι το λινελαϊκό οξύ ( $\omega$ -6) (Εικόνα 6), το οποίο λόγω του ότι δεν συντίθεται από τον οργανισμό λαμβάνεται μέσω της τροφής.



Πηγή: <http://www.eufic.org/article/el/nutrition/fats/artid/importance-of-omega-3-and-omega-6-fatty-acids-greek/>, ημερομηνία ανάκτησης 27/11/2016.

Εικόνα 5. Δομή EPA & DHA  $\Omega$ -3 λιπαρών οξέων.



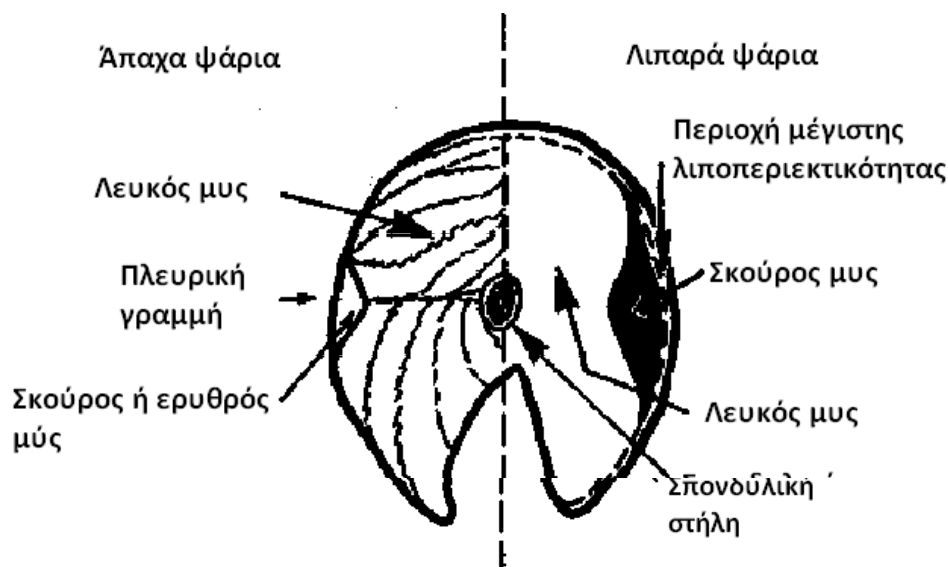
Πηγή: <http://www.eufic.org/article/el/nutrition/fats/artid/importance-of-omega-3-and-omega-6-fatty-acids-greek/>, ημερομηνία ανάκτησης 27/11/2016.

Εικόνα 6. Δομή λινελαϊκού οξέος.

### 1.3.ΛΙΠΑΡΑ ΟΞΕΑ ΙΧΘΥΩΝ

Τα EPA και DHA απαντώνται κυρίως σε θαλασσινά και λιγότερο στο κρέας, αυτό είναι ένα άμεσο αποτέλεσμα της φυτικής διατροφής τους μιας και τα ψάρια τρέφονται με μονοκύτταρους θαλάσσιους οργανισμούς όπως τα φύκια ή τα πλαγκτόν τα οποία συνθέτουν EPA και DHA. Έτσι η κατανάλωσή τους από τα μαλακόστρακα και τα ψάρια επιτρέπει την συσσώρευση των ωμέγα-3 λιπαρών οξέων στον ιστό τους. Τα μέρη των ψαριών όπου αποθηκεύονται τα λιπίδια ποικίλει μεταξύ των ειδών. Ωστόσο, τα λιπίδια εντοπίζονται κυρίως στους υποδόριους ιστούς, αλλά και σε μέρη όπως η κοιλιά, οι ιστοί των μυών και του ύπατος (Ackman, R.G.1989). Γενικότερα όσο προχωράμε από το κεφάλι προς την ουρά του ψαριού, η κατανομή των λιπιδίων μειώνεται.

Η ταξινόμηση των ψαριών ανάλογα με τα λιπίδια που περιέχουν έχει ως εξής: ψάρια τα οποία περιέχουν λιπαρά λιγότερο από 2% χαρακτηρίζονται ως άπαχα (το λίπος αποθηκεύεται στο ήπαρ, ενώ οι μύες περιέχουν μόλις 1% λίπος στις κυτταρικές μεμβράνες υπό μορφή φωσφολιπιδίων) , ενώ ψάρια με λίπος πάνω από 5% χαρακτηρίζονται ως λιπαρά (εκτός του ήπατος το λίπος αποθηκεύεται υπό μορφή εξωτερικών λιποσωμάτων στους μύς, όπως φαίνεται στην παρακάτω εικόνα).



Πηγή: Ν. Καλογερόπουλος, 2015. Ψάρια και Θαλασσινά, Βιοχημεία Τροφίμων, σελίδα 6.

Εικόνα 7: Μυϊκό σύστημα άπαχων και λιπαρών ψαριών

Κατά γενικό κανόνα, όσο πιο λιπαρό είναι ένα ψάρι, τόσο υψηλότερο είναι και το επίπεδο των ω-3 λιπαρών οξέων που περιέχει. Μεταξύ αυτών, ο σολομός, η ρέγκα, το σκουμπρί, ο γαύρος, η σαρδέλα και άλλα ψάρια που αναγράφονται στον πίνακα που ακολουθεί είναι καλές πηγές των ω-3 λιπαρών οξέων. Ορισμένα οστρακόδερμα είναι επίσης πλούσια σε ω-3, αλλά έχουν υψηλή συγκέντρωση σε χοληστερόλη η οποία αφαιρείται μόνο με τη χρήση εξανίου.

Πίνακας 1. Το περιεχόμενο σε ω-3 λιπαρά οξέα ψαριών και θαλασσινών βάση του Αμερικάνικου Υπουργείου Γεωργίας.

Το περιεχόμενο σε ω-3 λιπαρά οξέα ψαριών και θαλασσινών (οι ποσότητες είναι σε γρ. ανά 100 γρ. μερίδας)	
Σολομός Ατλαντικού (ιχθυοτροφείου, μαγειρεμένος, ξηρά θερμότητα)	1,8
Γαύρος (Ευρωπαϊκός, σε κονσέρβα με λάδι, στραγγισμένος)	1,7
Σαρδέλα (Ειρηνικού, σε κονσέρβα με τοματοχυμό, στραγγισμένη, ολόκληρη με οστά)	1,4
Ρέγγα (Ατλαντικού, τουρσί)	1,2
Σκουμπρί (Ατλαντικού, μαγειρεμένο, ξηρά θερμότητα)	1,0
Πέστροφα ιριδίζουσα (ιχθυοτροφείου, μαγειρεμένη, ξηρά θερμότητα)	1,0
Τόνος (λευκός, κονσερβοποιημένος με νερό, στραγγισμένος)	0,7
Βακαλάος μελανόχρωμος (Ατλαντικού, μαγειρεμένο, ξηρά θερμότητα)	0,5
Γλώσσα (μαγειρεμένη, ξηρά θερμότητα)	0,4
Βακαλάος μελανόγραμμαμος (μαγειρεμένος, ξηρά θερμότητα)	0,2
Βακαλάος Ατλαντικού (μαγειρεμένος, ξηρά θερμότητα)	0,1
Μύδι Ατλαντικού (μαγειρεμένο, υγρή θερμότητα)	0,7
Στρείδι Ατλαντικού (άγριο, μαγειρεμένο, ξηρά θερμότητα)	0,5
Γαρίδες (ανάμικτα είδη, μαγειρεμένες, υγρή θερμότητα)	0,3
Πηγή: Βάση δεδομένων για τρόφιμα του Αμερικάνικου Υπουργείου Γεωργίας (USDA) για πρότυπες αναφορές	
Πηγή: <a href="http://lifefhub.gr/%CF%893-%CE%BB%CE%B9%CF%80%CE%B1%CF%81%CE%B1-%CE%BF%CE%BE%CE%B5%CE%B1-%CE%BA%CE%B1%CE%B9-%CF%83%CE%B5-%CF%80%CE%BF%CE%B5%CF%83-%CF%84%CF%81%CE%BF%CF%86%CE%B5%CF%83-%CF%84%CE%B1-%CE%B2%CF%81%CE%B9/">http://lifefhub.gr/%CF%893-%CE%BB%CE%B9%CF%80%CE%B1%CF%81%CE%B1-%CE%BF%CE%BE%CE%B5%CE%B1-%CE%BA%CE%B1%CE%B9-%CF%83%CE%B5-%CF%80%CE%BF%CE%B5%CF%83-%CF%84%CF%81%CE%BF%CF%86%CE%B5%CF%83-%CF%84%CE%B1-%CE%B2%CF%81%CE%B9/</a>	

### 1.3.1. ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΠΟΥ ΕΠΗΡΕΑΖΟΥΝ ΤΗΝ ΛΙΠΟΠΕΡΙΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑ ΤΩΝ ΙΧΘΥΩΝ

Η γεωγραφική προέλευση, το είδος, η ηλικία, καθώς και η διατροφή είναι οι κύριοι παράγοντες οι οποίοι επηρεάζουν την λιποπεριεκτικότητα των ψαριών. Επιπλέον παράγοντες είναι η εποχή αλιείας, το τμήμα του σώματος και η ωοτοκία. Ιχθείς μεγάλης ηλικίας περιέχουν στη σάρκα τους περισσότερο λίπος και λιγότερο νερό απ' ό,τι ψάρια νεαρής ηλικίας. Επιπλέον την περίοδο μετανάστευσης και ωοτοκίας η λιποπεριεκτικότητα της σάρκας μειώνεται.

Όσον αφορά την διατροφή έχει αποδειχθεί πως τα ψάρια ιχθυοτροφείου είναι γενικά πιο λιπαρά από 'τι τα άγρια ψάρια, επομένως και πιο πλούσια σε ΕΡΑ και DHA (+15% κατά μέσο όρο). Αυτό οφείλεται στην ωριμότητα των δύο κατηγοριών, καθώς η αργή ανάπτυξη των άγριων ψαριών αυξάνει τους κινδύνους της απορρόφησης και αποθήκευσης των βαρέων μετάλλων στους ιστούς τους, σε αντίθεση με τα εκτρεφόμενα που μεγαλώνουν πιο γρήγορα. Μία σχετική έρευνα έλαβε χώρα από τον N.Kalogeropoulos et al., το 2012 της οποίας τα αποτελέσματα φαίνονται στον παρακάτω πίνακα. Η έρευνα αφορούσε τρία μέταλλα (Pb, Cd & Hg) τα οποία καθίστανται τοξικά σε νωπά ελληνικά ψάρια, καθώς και τα μέγιστα επιτρεπτά τους όρια βάση της Ευρωπαϊκής ένωσης κατά τα έτη 1881-2006.

Πίνακας 2. Επίπεδα Pb, Cd & Hg σε νωπά ελληνικά δείγματα και τα μέγιστα επιτρεπτά τους όρια βάση Ε.Ε.

Νωπά Δείγματα	Pb	EU 1881/2006	Cd	EU 1881/2006	Hg	EU 1881/2006
<b>Γάυρος</b>	0.03	<b>0.30</b>	0.01	<b>0.10</b>	0.15	<b>0.50</b>
<b>Σαρδέλα</b>	0.05	<b>0.30</b>	0.01	<b>0.10</b>	0.01	<b>0.50</b>
<b>Αθερίνα</b>	0.17	<b>0.30</b>	0.03	<b>0.05</b>	0.06	<b>0.50</b>
<b>Κουτσομούρα</b>	0.03	<b>0.30</b>	0.11	<b>0.05</b>	0.003	<b>1.00</b>
<b>Μύδι</b>	0.68	<b>1.50</b>	0.34	<b>1.00</b>	0.02	<b>0.50</b>
<b>Καλαμάρι</b>	0.02	<b>1.00</b>	0.34	<b>1.00</b>	0.05	<b>0.50</b>
<b>Γαρίδα</b>	0.13	<b>0.50</b>	0.24	<b>0.50</b>	0.03	<b>0.50</b>

**Πηγή:** Kalogeropoulos N, Karavoltos S, Sakellari A, Avramidou S, Dassenakis M, Scoullou M, 2012. Heavy metals in raw, fried and grilled Mediterranean finfish and shellfish. *Food and Chemical Toxicology* 50, 3702-3708

Από τον παραπάνω πίνακα φαίνεται πως η σαρδέλα περιέχει αρκετά μικρές ποσότητες βαρέων μετάλλων σε σχέση με τα υπόλοιπα είδη ψαριών, ενώ η κουτσομούρα εμφάνισε συγκέντρωση κάδμιου μεγαλύτερη από το μέγιστο επιτρεπτό όριο.

#### **1.3.1.1. ΤΕΧΝΙΚΕΣ ΘΕΡΜΙΚΗΣ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑΣ ΩΣ ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΠΟΥ ΕΠΗΡΕΑΖΟΥΝ ΤΗΝ ΛΙΠΟΠΕΡΙΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑ ΤΩΝ ΙΧΘΥΩΝ (ΜΕΛΕΤΕΣ ΠΕΡΙΠΤΩΣΗΣ).**

Πέραν των προαναφερθέντων παραγόντων αρκετές μελέτες έχουν αναφέρει αλλαγές στην περιεκτικότητα των εικοσιπεντανοϊκών (EPA) και δοκοσαεξαενοϊκών (DHA) λιπαρών οξέων κατά τη διάρκεια της κονσερβοποίησης καθώς και της θερμικής επεξεργασίας ψαριών, όπως το μαγείρεμα, το κάπνισμα, και το τηγάνισμα.

#### **ΚΟΝΣΕΡΒΟΠΟΙΗΣΗ**

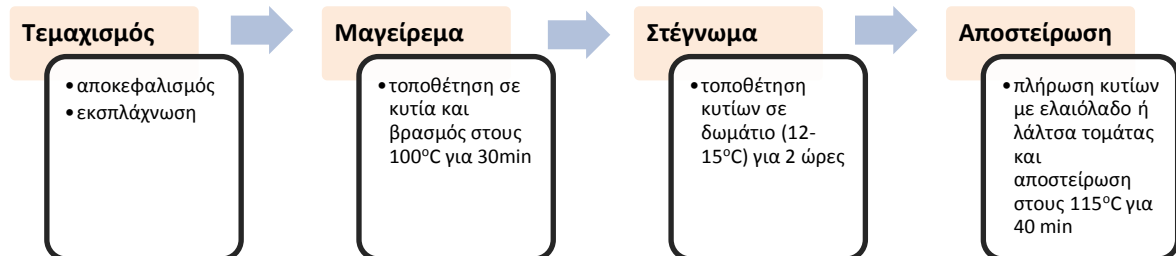
Στην περίπτωση της διαδικασίας κονσερβοποίησης, έχει μελετηθεί η σύνθεση των λιπαρών οξέων και λιπιδίων (Tarley et al. 2004), καθώς και η ποιότητα του τελικού προϊόντος ως συνάρτηση της μεθόδου συσκευασίας και της θερμοκρασίας αποθήκευσης της πρώτης ύλης. Είναι καλά τεκμηριωμένο ότι κατά τη διάρκεια διαδικασιών υψηλής θερμοκρασίας, ζημιές σε πολυακόρεστα λιπαρά οξέα μπορεί να οδηγήσουν σε πρωτογενή και δευτερογενή προϊόντα οξειδωσης λιπιδίων ( Maruf et al 1990. Boran κ.ά. 2006). Η οξείδωση των λιπιδίων εμφανίζεται κατά το στάδιο της ψύξης του μαγειρεμένου ψαριού, το οποίο μπορεί να επηρεάσει την ποιότητα της κονσερβοποιημένης σαρδέλας. Έτσι, η επίδραση της κονσερβοποίησης στη χημική σύνθεση των προϊόντων της θάλασσας έχει ερευνηθεί εκτενώς.

Σε μία σχετική μελέτη που έγινε από τους Salah Selmi et S. Sadok (2007) προσδιορίστηκε η επίδραση της κονσερβοποίησης και του ελαίου το οποίο επιστρώνεται, στα λιπίδια που βρίσκονται στη σάρκα της σαρδέλας μέσω προφίλ λιπαρών οξέων και δεικτών ποιότητας των λιπιδίων.



### ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ

Τα δείγματα της συγκεκριμένης μελέτης αποτελούνταν από δύο τύπους ψαριού τον *Sardinella aurita* και *Sardina pilchardus*. Τα ψάρια του δείγματος αρχικά ακολούθησαν τα βήματα του σχήματος που ακολουθεί παρακάτω:



Εικόνα 8. Βήματα κονσερβοποίησης σαρδέλας.

Μετά το τέλος της αποστείρωσης λήφθηκαν δοχεία (120gr) από κάθε είδος από την ίδια παρτίδα. Τα κυτία ανοίχθηκαν και αποστραγγίστηκαν προσεκτικά, τα τμήματα των μυών συνενώθηκαν, έγιναν κιμάς και τοποθετήθηκαν σε διηθητικό χαρτί για να απορροφηθούν πλήρως όλα τα υγρά πριν την ανάλυση.

Ακολούθησε εκχύλιση των λιπιδίων, 3gr ιστού (n=6 για κάθε είδος), με χλωροφόρμιο/μεθανόλη (2/1). Ένα κλάσμα του εκχυλίσματος σαπωνοποιήθηκε με 0,5N NaOH σε μεθανόλη, ακολούθησε μεθυλίωση σε 14% τριφθοριούχο βόριο σε μεθανόλη. Το μεθυλιωμένο δείγμα εκχυλίστηκε με εξάνιο. Όλες αυτές οι αντιδράσεις έγιναν 4 φορές για το κάθε δείγμα. Οι προκύπτοντες μεθυλεστέρες λιπαρών οξέων (FAMES) αναλύθηκαν με αέριο χρωματογραφία. Οι κορυφές συγκρίθηκαν με καμπύλες πρότυπων FAMES. Η σύγκριση της περιεκτικότητας των μυών σε λιπίδια και λιπαρά οξέα έγινε με τη χρήση SPSS.

### ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Όσον αφορά τους μύες του φρέσκου *S.Pilchardus* τα πολυακόρεστα λιπαρά οξέα αποτελούσαν το μεγαλύτερο μέρος των λιπαρών οξέων των μυών, αντίθετα στην περίπτωση του *S.aurita* το κλάσμα των πολυακόρεστων ήταν μικρότερο.

Το μαγείρεμα στα κλάσματα των κορεσμένων και μονοακόρεστων λιπαρών οξέων, ωστόσο δεν επηρέασε τα πολυακόρεστα λιπαρά οξέα του *S.Pilchardus*. Μετά την διαδικασία κονσερβοποίησης σε ελαιόλαδο και σάλτσα τομάτας το ποσοστό των λιπαρών οξέων μεταβλήθηκε σημαντικά. Τα κονσερβοποιημένα δείγματα έδειξαν υψηλότερες συγκεντρώσεις λιπαρών οξέων απ' ότι τα ωμά και τα μαγειρεμένα. Επίσης ήταν πιο πλούσια σε ελαϊκό (21.52-39%) και λινελαϊκό οξύ (10.54-7.94%). Ωστόσο έδειξαν χαμηλότερα ποσοστά EPA (3% *S.Pilchardus* & 4.15% *S.Aurita*) και DHA (5.12% *S. Pilchardus* & 25.79% *S.Aurita*).

Με άλλα λόγια τα λιπίδια στη σάρκα των ψαριών επηρεάστηκαν ελάχιστα επομένως μπορούμε να υποθέσουμε πως οι κονσέρβες μικρών πελαγικών ψαριών είναι μία καλή πηγή για  $\omega 3$  και  $\omega 6$  λιπαρά οξέα.

#### ΤΗΓΑΝΙΣΜΑ

##### ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ-ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ-ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Τα φιλέτα σαρδέλας τηγανίστηκαν για 4 λεπτά σε ελαιόλαδο θερμοκρασίας  $180^{\circ}\text{C}$ . Οι αναλογίες που χρησιμοποιήθηκαν ήταν 250gr ψαριού/ lit ελαιολάδου. Μετά το τηγάνισμα τα φιλέτα στραγγίστηκαν απαλά για περίπου 2 λεπτά (M.T. Garcia-Aria,2003).

Το τηγάνισμα άλλαξε σημαντικά τη σύνθεση των λιπαρών οξέων στα φιλέτα. Οι Sa'nchez-Muniz et al., 1992, είχαν αναφέρει πως η αλλαγή των λιπαρών οξέων σε ένα τρόφιμο κατά το τηγάνισμα ήταν συνέπεια της κλίσης των λιπαρών οξέων. Τα παρόντα αποτελέσματα έδειξαν πως το τηγάνισμα σε ελαιόλαδο με μία μέτρια περιεκτικότητα σε λινολεϊκό οξύ αύξησε σημαντικά την περιεκτικότητα των φιλέτων σε ελαϊκό και λινελαϊκό οξύ, που με τη σειρά τους αραίωσαν την συγκέντρωση των περισσότερων λιπαρών οξέων (M.T. Garcia-Aria,2003). Επιπλέον στα λιπαρά ψάρια όπως η σαρδέλα, λαμβάνει χώρα ανταλλαγή λίπους μεταξύ του ψαριού και του ελαίου τηγανίσματος με αποτέλεσμα να υπάρχει απώλεια συγκεκριμένων λιπαρών οξέων από τα ψάρια, όπως το εικοσιπενταενοϊκό και το δοκοσαεξανοϊκό οξύ (Sa'nchez-Muniz et al., 1992, Varela & Ruiz-Roso, 1992). Έτσι αυτό έχει ως αποτέλεσμα τα πολυακόρεστα λιπαρά οξέα να μειώνονται ενώ τα μονοακόρεστα λιπαρά οξέα και ο λόγος των  $\omega 6/\omega 3$  λιπαρών οξέων να αυξάνεται(M.T. Garcia-Aria,2003), (Πίνακας 3).

Πίνακας 3. Μεταβολές λιπαρών οξέων κατά το τηγάνισμα φιλέτων.

	Ωμό φιλέτο(gr/100gr φιλέτου)	Τηγανιτό φιλέτο(gr/100gr φιλέτου)
Μονοακόρεστα λιπαρά οξέα	4.55	12.5
Πολυακόρεστα λιπαρά οξέα	5.82	4.30
Ω-6 πολυακόρεστα λ.ο.	0.21	0.89
Ω-3 πολυακόρεστα λ.ο.	5.62	3.41
ω6/ω3	0.04	0.26

Πηγή: K. L. GALL, W. S. OTWELL, J. A. KOBURGER, and H. APPLIEDORF, 1983. Effects of Four Cooking Methods on the Proximate, Mineral and Fatty Acid Composition of Fish Fillets. JOURNAL OF FOOD SCIENCE-Volume 48.

#### ΨΗΣΙΜΟ ΣΕ ΦΟΥΡΝΟ

##### ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ-ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ-ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Φιλέτα σαρδέλας ψήθηκαν σε φούρνο στους  $200^{\circ}\text{C}$  για 20 λεπτά. Η διαδικασία ολοκληρώθηκε όταν η εσωτερική θερμοκρασία του φιλέτου, η οποία μετρήθηκε με ηλεκτρονικό θερμομέτρο χαλαζία, κυμάνθηκε στους  $60^{\circ}\text{C}$  με  $70^{\circ}\text{C}$ .

Τα λιπαρά ψάρια αποθηκεύουν το λίπος τους υπό μορφή τριγλυκεριδίων στους ερυθρούς και λευκούς μύες τους (Polvi, 1989). Έτσι οι αλλαγές των λιπαρών οξέων είναι



συνέπεια της δράσης της θερμοκρασίας στα τριγλυκερίδια των μυών, ευνοώντας έτσι την απώλεια τους.

Το ψήσιμο στον φούρνο επηρέασε ελάχιστα την περιεκτικότητα των φιλέτων σε λιπαρά οξέα. Αυτό το αποτέλεσμα είναι συνέπεια της χαμηλής απώλειας του λίπους κατά την διαδικασία ψησίματος. Ωστόσο ακόμα και οι μικρές αλλαγές που παρατηρήθηκαν στα διάφορα λιπαρά οξέα δεν ήταν ομοιογενής, αυτό συνέβη λόγω του ότι κάποιο λιπαρό οξύ μειωνόταν, κάποιο αυξανόταν και κάποιο παρέμενε αμετάβλητο. Δείγματα που αναθερμάνθηκαν σε φούρνο έδειξαν πως λόγω της θερμικής οξειδωσης που προκλήθηκε επηρεάστηκαν τα EPA και DHA, καθώς και αυξήθηκαν το ελαϊκό και παλμιτικό οξύ. Τα αποτελέσματα φαίνονται πιο αναλυτικά στον Πίνακα 4.

Πίνακας 4. Μεταβολές λιπαρών οξέων κατά το ψήσιμο φιλέτων.

	Ωμό φιλέτο(gr/100gr φιλέτου)	Ψητό φιλέτο σε φούρνο (gr/100gr φιλέτου)
Μονοακόρεστα λιπαρά οξέα	4.55	4.29
Πολυακόρεστα λιπαρά οξέα	5.82	5.47
Ω-6 πολυακόρεστα λ.ο.	0.21	0.20
Ω-3 πολυακόρεστα λ.ο.	5.62	5.27
ω6/ω3	0.04	0.04

Πηγή: K. L. GALL, W. S. OTWELL, J. A. KOBURGER, and H. APPLIEDORF, 1983. *Effects of Four Cooking Methods on the Proximate, Mineral and Fatty Acid Composition of Fish Fillets. JOURNAL OF FOOD SCIENCE-Volume 48.*

#### 1.4.ΟΦΕΛΗ ΤΩΝ Ω3 ΛΙΠΑΡΩΝ ΟΞΕΩΝ ΣΤΗΝ ΑΝΘΡΩΠΙΝΗ ΥΓΕΙΑ

Τα τελευταία χρόνια το ευρύ κοινό έχει μάθει την επίδραση του κόκκινου κρέατος σε ασθένειες όπως η υψηλή χοληστερόλη και οι καρδιαγγειακές παθήσεις οι οποίες έχουν ζωτική σημασία. Παράλληλα με αυτές τις εξελίξεις, ορισμένες μελέτες που διεξάγονται έχουν επισημάνει την θετική επίδραση της κατανάλωσης ψαριών στην ανθρώπινη υγεία και τους ισχυρισμούς σχετικά με τις θεραπευτικές δυνατότητες των EPA και DHA που είναι δύο κυρίαρχα ω-3 λιπαρά οξέα. Έχει αναφερθεί ότι αυτά τα λιπαρά οξέα υποδεικνύονται να είναι απαραίτητα θρεπτικά συστατικά που προστατεύουν το ανθρώπινο σώμα κατά των πονοκεφάλων, της ημικρανίας, του ρευματικού πυρετού, ορισμένων τύπων καρκίνου, διαβήτη, υψηλής χοληστερόλης, καρδιαγγειακών παθήσεων και ορισμένων αλλεργιών σε ενήλικες (*Calih Cibuk, et. al, 2014*).

Τα λιπίδια από θαλάσσιες πηγές θεωρείται ότι έχουν πολλές ιδιότητες που βελτιώνουν την υγεία, αυτό αποδίδεται σε μεγάλο βαθμό στις βιταμίνες και τα περιεχόμενα ω-3 λιπαρά οξέα τους (*AIDOS et al. 2002*). Ερευνητικές μελέτες έχουν αποδείξει ότι η κατανάλωση ψαριών αυξάνει τα επίπεδα του EPA και DHA στο αίμα τα οποία μειώνουν το ρυθμό της στεφανιαίας νόσου μέσω διαφορετικών δράσεων (*Sidhu, 2003*). Έχει βρεθεί ότι τα ιχθυέλαια βοηθούν στη μείωση της αρτηριακής πίεσης και τη μείωση της φλεγμονής (*Kris-Etherton et al. 2003*). Οι *Christensen et al. (1997)* βρήκαν ότι τα διαιτητικά ω-3

λιπαρά οξέα δρουν για την πρόληψη αρρυθμιών που μπορούν να οδηγήσουν σε αιφνίδιο καρδιακό θάνατο.

Επιπλέον μελέτες έχουν δείξει ότι το επίπεδο DHA στους ιστούς των πρόωρων βρεφών είναι χαμηλότερο από τα βρέφη που γεννιούνται στο τέλος της κανονικής περιόδου εγκυμοσύνης. Τα βρέφη που δεν έχουν ω-3 λιπαρά οξέα στη διατροφή τους έχουν ανεπαρκή όραση και ανάπτυξη των νευρικών ιστών. Έχει αναφερθεί επίσης ότι η ποσότητα των ω-3 λιπαρών οξέων στο ανθρώπινο γάλα είναι υψηλότερη για τις γυναίκες που καταναλώνουν ψάρια, και χαμηλότερη για τις χορτοφάγους (*Calih Cibuk, et. al, 2014*).

#### **1.4.1.ΣΤΕΦΑΝΙΑΙΑ ΝΟΣΟΣ**

Η στεφανιαία νόσος μπορεί να περιγραφεί ως μια διαδικασία τριών σταδίων (*Connor και Connor, 1997*). Κατά το 1<sup>ο</sup> στάδιο, τα λιπίδια πλούσια σε αθηροσκληρωτικές πλάκες μεγαλώνουν, συνοδευόμενα από τον πολλαπλασιασμό των μυϊκών κυττάρων και την διείσδυση των μονοκύτταρων και των μακροφάγων από το αίμα. Στο 2<sup>ο</sup> στάδιο η νόσος εκδηλώνεται κλινικά, λόγω του ότι η πλάκα μεγαλώνει και παρεμποδίζει την ροή του αίματος στις στεφανιαίες αρτηρίες. Στο 3<sup>ο</sup> και τελευταίο στάδιο, η ενδοθηλιακή φόδρα ξεκινά να έλκει, με αποτέλεσμα το σχηματισμό θρόμβου, ο οποίος οδηγεί σε έμφραγμα του μυοκαρδίου (*Connor και Connor, 1997*).

Μερικοί από τους σημαντικότερους παράγοντες κινδύνου που σχετίζονται με αθηροσκλήρωση είναι τα αυξημένα επίπεδα χοληστερόλης στο πλάσμα, τα μειωμένα επίπεδα των λιποπρωτεϊνών υψηλής πυκνότητας (HDL), τα αυξημένα επίπεδα των λιποπρωτεϊνών πολύ χαμηλής πυκνότητας (VLDL) , οι λιποπρωτεΐνες χαμηλής πυκνότητας (LDL), τα αυξημένα επίπεδα τριγλυκεριδίων και η υπέρταση.

Αρκετές μελέτες έχουν δείξει μία σχέση μεταξύ της κατανάλωσης ιχθυελαίου και του μειωμένου κινδύνου καρδιακής νόσου (*Bang and Dyerberg,1980, Dolocek and Grandits,1991,Keys,1980, Kromhout et al., 1985*), καθώς έχουν την τάση να μειώνουν τη χοληστερόλη του πλάσματος, την VLDL καθώς και την LDL και τα τριγλυκερίδια (*Connor and Connor, 1997, Gibson, 1988, Schmidt, 1997*). Επιπλέον μπορούν να αυξήσουν ελαφρώς τα επίπεδα της HDL στο πλάσμα (*Schmidt, 1997*).

#### **1.4.2.ΠΙΕΣΗ ΑΙΜΑΤΟΣ**

Όσον αφορά την πίεση του αίματος τα ω-3 φαίνεται να έχουν και εδώ θετική επίδραση, η οποία ωστόσο εξαρτάται από την δοσολογία (ω-3) που θα καταναλωθεί καθώς και από τον βαθμό υπέρτασης του ατόμου (*Hawe P.R., 1997*).

Έρευνες έχουν δείξει σημαντική μείωση της πίεσης του αίματος -3,4/ -2mm Hg σε υπερτασικά πειραματόζωα, τα οποία κατανάλωναν 5,6g ω-3/ημέρα (*Moris et. Al., 1993*). Επίσης οι Apple et. al. συμπέραναν πως μπορεί να επιτευχθεί μείωση της πίεσης του αίματος -5,5/3,5mm Hg με την κατανάλωση >3g ω-3/ημέρα.

Αν και αυτές οι αναλύσεις φαίνεται να δείχνουν μικρές μεταβολές στη πίεση του αίματος, δεν μπορεί να αγνοηθεί το γεγονός ότι όλες αυτές οι αλλαγές σημάδεψαν (θετικά)

τα ποσοστά θνησιμότητας από τη στεφανιαία νόσο και το εγκεφαλικό (*Nadine M. Zatsick & Paula Mayke, 2007*). Τέλος είναι σημαντικό να αναφερθεί πως το DHA φαίνεται να είναι περισσότερο αποτελεσματικό απ' ό τι το EPA (*Mori et. al., 2000*).

#### **1.4.3.ΤΡΙΓΛΥΚΕΡΙΔΙΑ**

Από μία συνολική αναθεώρηση ανθρωπιστικών σπουδών αναφέρθηκε πως ~4g ω-3 λιπαρών οξέων/ ημέρα μείωσαν την συγκέντρωση του ορρού των τριγλυκεριδίων κατά 25% με 30% με παράλληλη αύξηση όμως αύξησαν την LDL χοληστερόλη από 5% σε 10% και την HDL από 1% σε 3% (*Harris, W.S., 1997*).

Τα ω-3 λιπαρά οξέα μπορούν να έχουν έναν θεραπευτικό ρόλο στην καταπολέμηση της αισθητής υπερτριγλυκεριδαιμίας, μιας και τα δύο λιπαρά οξέα EPA και DHA έχουν την ίδια εξίσου μείωσης των τριγλυκεριδίων (*Grimsgaard et. al. 1997*).

Δόσεις 3 με 5g ω-3 λ.ο./ ημέρα μπορούν να αποδώσουν επιθυμητά αποτελέσματα μόνο υπό σταθερή πρόσληψη συμπληρωμάτων (*Ali Aberoumand, 2010*). Ωστόσο ασθενείς οι οποίοι καταναλώνουν >3g EPA και DHA/ ημέρα από συμπληρώματα θα πρέπει να το κάνουν μόνο υπό ιατρική παρακολούθηση, καθώς η πρόσληψη ποσοτήτων μεγαλύτερων της προαναφερθείσας μπορούν να οδηγήσουν σε υπερβολική αιμοραγία (*Uauy R. And P.Mena, 1999*).

#### **1.4.4.ΚΑΡΚΙΝΟΣ**

Όσον αφορά τον καρκίνο υπάρχει μία πειραματική απόδειξη κατά την οποία τα ω-6 λιπαρά οξέα μπορούν να αυξήσουν τον καρκίνο του μαστού, ενώ τα ω-3 μπορούν να καταστείλουν την μετάσταση του (*Rose, 1997, Rose & Connolly, 1990*). Επιπλέον τα ω-3 μπορούν να επιβραδύνουν την εξέλιξη του καρκίνου του προστάτη (*Karmali et al. 1987, Rose, 1997, Rose & Connolly, 1988*).

Πέραν των αποτελεσμάτων αυτών δεν υπάρχουν άλλα ευρήματα τα οποία αποδεικνύουν τις θετικές επιδράσεις των ω-3 λιπαρών οξέων κατά του καρκίνου για τον λόγο αυτό περαιτέρω είναι απαραίτητη περαιτέρω ερευνητική εργασία.

#### **1.4.5.ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΕΓΚΕΦΑΛΟΥ**

Ω-3 λιπαρά οξέα και κυρίως το DHA βρέθηκαν σε μεγάλες ποσότητες στις νευρικές συνάψεις του εγκεφάλου (*Rise, 1996*). Φαίνεται πως το συγκεκριμένο όμως λιπαρό οξύ παίζει σημαντικό ρόλο στην ανάπτυξη και τη λειτουργία του εγκεφάλου.

Αν και δεν είναι ακόμα σαφής ο ρόλος του στη λειτουργία του εγκεφάλου, η ανεπάρκεια και η στέρηση αυτού σχετίζονται με την μνήμη (*Sidhu, 1993, Tinoco, 1982*). Γενικά όμως κατανόηση της σημασίας των λιπαρών οξέων στην νευρολογική ανάπτυξη του εγκεφάλου έγινε μέσω μελετών των επιπτώσεων της διαθεσιμότητας των λιπαρών οξέων σε πειραματόζωα και σε ανθρώπινα βρέφη (*Burdge, 1998*). Τα αποτελέσματα των ερευνών αυτών επισημαίνουν πως η βέλτιστη νευρολογική ανάπτυξη και οι φυσιολογικές λειτουργίες του εγκεφάλου εξαρτώνται από την επαρκή ενσωμάτωση του DHA στην νευρική μεμβράνη κατά την διάρκεια της περιόδου ωρίμανσης της (*Burdge, 1998*).

#### 1.4.6.ΕΜΒΡΥΑ ΚΑΙ ΒΡΕΦΗ

Μια ακόμη ευεργετική ιδιότητα των λιπαρών οξέων είναι αυτή στην υγεία των εμβρύων και των νεογνών, αλλά και στις εγκύους, καθώς είναι άκρως σημαντικά για την προγεννητική και μεταγεννητική ανάπτυξη τους (Burdge, 1998). Σε μελέτη που έγινε, σε 12000 γυναίκες, από Δανούς επιστήμονες, διαπιστώθηκε πως το βάρος του πλακούντα, η περίμετρος της κεφαλή καθώς και το βάρος γέννησης των βρεφών αυξάνονταν με την αύξηση της εβδομαδιαίας κατανάλωσης ψαριών (Burdge, 1998, Olson, 1990).

Στα πρόωρα βρέφη η παροχή DHA και αραχιδονικού οξέος ήταν απαραίτητη (Carlson, 1991), διότι έχει αποδειχθεί πως σε περίπτωση απώλειας DHA και αραχιδονικού οξέος από την διατροφή των βρεφών, είτε αυτή γίνεται μέσω του θηλασμού είτε μέσω συμπληρωμάτων, είναι αδύνατον να συνεχιστεί η ανάπτυξη του εγκεφάλου, των ματιών και των νεύρων τους, στο επίπεδο το οποίο θα έπρεπε (Burdge, 1998, (Carlson et al., 1991).

#### 1.4.7.ΕΓΚΕΦΑΛΙΚΟ ΕΠΙΣΟΔΕΙΟ

Αρκετές επιστημονικές μελέτες έχουν διαπιστώσει μία σχέση μεταξύ της κατανάλωσης ψαριών και της μειωμένης εμφάνισης εγκεφαλικών επεισοδίων (Keli et al., 1994). Ωστόσο μερικοί ερευνητές έχουν αποτύχει στο να ανιχνεύσουν οποιαδήποτε σχέση μεταξύ της κατανάλωσης ψαριών και των εγκεφαλικών επεισοδίων (Morris et al., 1995, Orenca et al., 1996). Φαίνεται πως η επίπτωση των ω-3 λιπαρών οξέων στα εγκεφαλικά επεισόδια είναι αμφιλεγόμενη και χρειάζεται περαιτέρω έρευνα (Kipral S. Sidhu, 2003).

### 1.5.ΕΝΔΕΙΚΤΙΚΕΣ ΗΜΕΡΙΣΙΕΣ ΠΡΟΣΛΗΨΕΙΣ Ω-3 ΛΙΠΑΡΩΝ ΟΞΕΩΝ

Παρά τις διαφορές στις πηγές των ω-3 λιπαρών οξέων, είναι σημαντικό να καταναλώνεται μία μερίδα ψάρι, κατά προτίμηση λιπαρό ψάρι, τουλάχιστον μία φορά την εβδομάδα, προκειμένου να καλυφθούν οι απαιτήσεις σε EPA και DHA. Στον Πίνακα 5 αναγράφονται οι συνιστώμενες ποσότητες ημερήσιας πρόσληψης EPA+DHA από τους οργανισμούς WHO, FDA και AFSSA.

Πίνακας 5. Συνιστώμενες ποσότητες ημερήσιας πρόσληψης EPA+DHA από τους οργανισμούς WHO, FDA και AFSSA

Οργανισμός	Συνιστώμενη ημερήσια πρόσληψη (gr/ημέρα)
WHO	0,3-0,5
FDA (USA), CANADA	0,5
AFSSA (FRANCE)	0,12

**Πηγή:** *Fish Oil, Omega 3 Fatty Acids, EPA and DHA And the Whole Stinking Story!*  
By: Terry Lemerond

Σε αντίθεση με τα παραπάνω ο EFSA έχει καταλήξει στο συμπέρασμα πως η συμπληρωματική πρόσληψη 5gr ω-3 λιπαρών οξέων/ ημέρα δεν εγείρει ανησυχίες για την

ασφάλεια των ενηλίκων. Από επιστημονικές αξιολογήσεις ισχυρισμών υγείας που σχετίζονται με την πρόσληψη ω-3 λ.ο., φαίνεται πως πρόσληψη EPA και DHA μεταξύ 2 με 4gr ημερησίως μπορούν να διατηρήσουν τα κατάλληλα επίπεδα αρτηριακής πίεσης και τριγλυκεριδίων, ενώ πρόσληψη 250mg ημερησίως είναι επαρκής για την φυσιολογική καρδιακή λειτουργία ενηλίκων αλλά και παιδιών.

Πρέπει να σημειωθεί πως η πρόσληψη ω-3 λιπαρών οξέων από τρόφιμα δεν έχει συσχετιστεί με ανεπιθύμητες ενέργειες σε ενήλικες και παιδιά. Συγκεκριμένα οι ειδικοί υποστηρίζουν πως η συμπληρωματική πρόσληψη 5gr EPA και DHA ημερησίως δεν αυξάνει τον κίνδυνο για ασθένειες που προαναφέρθηκαν. Ωστόσο οι παρατηρούμενες προσλήψεις ω-3 λιπαρών οξέων στους πληθυσμούς της Ε.Ε. είναι σημαντικά χαμηλότερες από τα 5gr/ημέρα. Ενήλικες φαίνεται να καταναλώνουν περίπου 400 με 500mg/ ημέρα, ενώ τα παιδιά μέχρι 320 mg/ ημέρα. Ενώ τα μεγαλύτερα επίπεδα πρόσληψης φτάνουν τα 2.700 mg/ ημέρα για τους ενήλικες και 1.700 mg/ ημέρα για τα παιδιά.

## **ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2<sup>ο</sup>: ΜΕΘΟΔΟΙ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ, ΠΑΡΑΛΑΒΗΣ ΚΑΙ ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΗΣ ΛΙΠΑΡΩΝ ΟΞΕΩΝ ΑΠΟ ΙΧΘΥΕΛΑΙΟ.**

Μελέτες έχουν δείξει με σαφήνεια τη σημασία των πολυακόρεστων λιπαρών οξέων και τη θεραπευτική τους αξία για την ανθρώπινη υγεία (Kinsella, 1986). Το ψάρι είναι μία από τις πλουσιότερες πηγές διαιτητικών προμηθειών αυτών των λιπαρών οξέων. Για το λόγο αυτό η εμπορική παραγωγή έχει στραφεί προς την παραγωγή ελαίου αλιευμάτων όπως η σαρδέλα, ο τόνος, ο σολομός και το σκουμπρί. Ωστόσο η παραγωγή τέτοιου είδους προϊόντων με υψηλή συγκέντρωση ω-3 λιπαρών οξέων είναι δύσκολη, μιας και ο διαχωρισμός τους είναι δύσκολος, αφού τα ιχθυέλαια είναι σύνθετα μίγματα λιπαρών οξέων με διαφορετικά μήκη αλυσίδας και βαθμούς εγκαθίδρυσης. Οι κύριες διαφορές μεταξύ των ωμέγα-3 συμπληρωμάτων διατροφής εξαρτώνται κυρίως από το είδος των ψαριών των οποίων αποτελείται το προϊόν, τον τύπο του ιστού που χρησιμοποιείται ως πρώτη ύλη, εάν ή όχι το λάδι είναι καθαρό και η τελική μορφή του προϊόντος (κάψουλες λαδιού ή ξηρά δισκία). (Terry Lemerond, 2008).

Οι διαθέσιμες μέθοδοι παραγωγής τους περιλαμβάνουν την συμπλοκοποίηση ουρίας, την υπερκρίσιμη εκχύλιση, την κρυστάλλωση σε χαμηλές θερμοκρασίες, καθώς και την απόσταξη μορίων, τη υδρόλυση λιπάσης αλλά και τη μέθοδο πίεσης (pressing).

### **2.1.ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΠΡΟΦΙΛ ΛΙΠΑΡΩΝ ΟΞΕΩΝ ΣΤΟ ΕΛΑΙΟ ΣΑΡΔΕΛΑΣ (ΜΕΘΟΔΟΣ BLYGH & DYER (1959))**

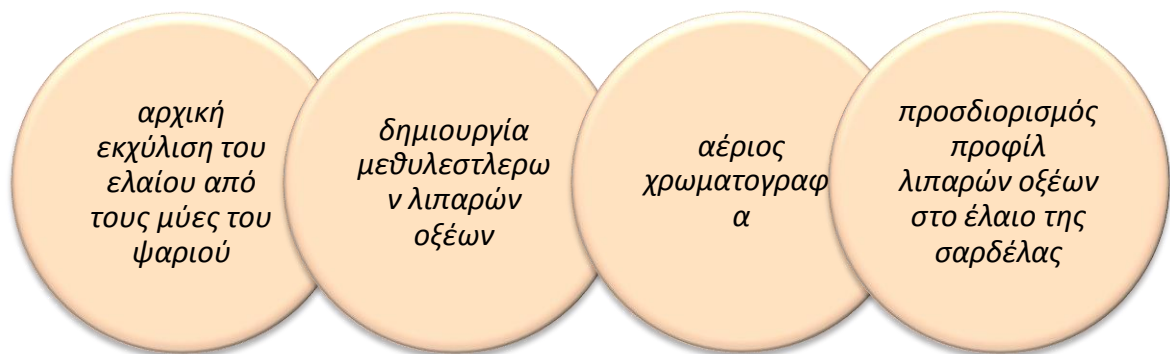
Προτού αρχίσει η εφαρμογή της οποιασδήποτε μεθόδου εκχύλισης ελαίου πρέπει να γίνει πρώτα καθορισμός του προφίλ των υπό μελέτη λιπαρών οξέων. Έτσι πριν την κυρίως εκχύλιση γίνεται μια σχετική προετοιμασία για τον καθορισμό του προφίλ των λιπαρών αυτών οξέων, αρχικά το έλαιο εκχυλίζεται από τους μύες της σαρδέλας μέσω της μεθόδου Bligh & Dyer (1959). Η μέθοδος αυτή είναι ουσιαστικά μια τροποποίηση της μεθόδου Folc et al. (1957), η οποία είναι μια εκχύλιση με ένα μίγμα διαλυτών (χλωροφόρμιου / μεθανόλης), που ακολουθείται από καθαρισμό των εκχυλισμάτων με διάλυμα KCl, το οποίο είναι επαρκώς πολικό για την αφαίρεση λιπιδίων από τις κυτταρικές μεμβράνες και τις λιποπρωτεΐνες, αλλά αρκετά μη πολικό για να διαλύει τα ουδέτερα λιπίδια. Μετά την τροποποίηση η μέθοδος έγινε πιο γρήγορη στη συνολική εκχύλιση των λιπιδίων καθώς και στον καθαρισμό τους, για τον προσδιορισμό του προφίλ τους.

Από μία πρώτη εκτίμηση της διαδικασίας αυτής φαίνεται πως κατά το 1<sup>ο</sup> στάδιο της εκχύλισης γίνεται καταστροφή της σχέσης των λιπιδίων και των συστατικών των κυττάρων, καθώς και η διάλυση των περισσότερο πολικών λιπιδίων. Στο 2<sup>ο</sup> στάδιο το χλωροφόρμιο με την σειρά του βελτιώνει περαιτέρω την διαλυτότητα των λιπιδίων. Στο 3<sup>ο</sup> και τελευταίο στάδιο το οποίο αποτελείται από ένα σύστημα 2 φάσεων μία κατώτερη φάση χλωροφόρμιου και μία ανώτερη νερού/μεθανόλης. Στο στάδιο αυτό τα λιπίδια διαχωρίζονται από τα μη-λιπίδια καθώς τα τελευταία πηγαίνουν από τη φάση χλωροφόρμιου στη φάση νερού/μεθανόλης. Πρέπει να σημειωθεί πως οι συνθήκες εκχύλισης θα πρέπει να επιλέγονται με τέτοιο τρόπο ώστε τα λιπίδια να εκχυλίζονται πλήρως στην οργανική φάση ενώ τα υπόλοιπα συστατικά να περνούν στην υδατική φάση.

## 2.1. ΠΑΡΑΓΩΓΗ ΜΕΘΥΛΕΣΤΕΡΩΝ ΛΙΠΑΡΩΝ ΟΞΕΩΝ ΩΣ ΠΡΟΤΥΠΑ

Μετά την ολοκλήρωση της εκχύλισης παρασκευάζονται μεθυλεστέρες λιπαρών οξέων με την προσθήκη ελαίου (0,1 g) σε ένα φιαλίδιο με 5 ml μεθανολικό ΝΒΟΗ (0,5 N) και εξάνιο (1 ml). Το φιαλίδιο στη συνέχεια θερμένεται σε ζέον υδατόλουτρο για 10 λεπτά. Μετά από αυτό το χρονικό διάστημα, το φιαλίδιο απομακρύνεται από το βραστό νερό και αφήνεται να ψυχθεί σε σχεδόν θερμοκρασία δωματίου. Στη συνέχεια, 2,175 ml μεθανολικού τριφθοριούχου βορίου (BF<sub>3</sub>) προστίθενται, ως καταλύτης, και το φιαλίδιο θερμένεται σε ζέον υδατόλουτρο. Μετά από 3 λεπτά, τα φιαλίδια ψύχονται και κορεσμένο διάλυμα χλωριούχου νατρίου (1 ml) και εξανίου (1 ml) προστίθενται στο φιαλίδιο. Το κάλυμμα τοποθετείται στο φιαλίδιο και το περιεχόμενο ανακινείται καλά. Το φιαλίδιο αφήνεται για 5 λεπτά και 0,2 ml του άνω στρώματος που περιέχει τους μεθυλεστέρες αφαιρείται και εγχύνεται στον αέριο χρωματογράφο (GC, Unicam 4600, UK).

Η αέριος χρωματογραφία προσδιορίζει τελικώς το προφίλ των λιπαρών οξέων (% του συνόλου των λιπαρών οξέων). Για την αέριο χρωματογραφία χρησιμοποιείται στήλη τηγμένου διοξειδίου του πυριτίου, ως αέριος φορέας χρησιμοποιείται το ήλιο και η θερμοκρασία στήλης είναι στους 190°C. Οι γραμμές αναγνώρισης γίνονται σύμφωνα με τους χρόνους κατακράτησης χρησιμοποιώντας τους μεθυλεστέρες λιπαρών οξέων ως πρότυπα. Όλα τα δείγματα πρέπει να εξετάζονται εις τριπλούν.



Εικόνα 9. Βήματα προσδιορισμού προφίλ λιπαρών οξέων στο ιχθυέλαιο.

## 2.2. ΣΥΜΠΛΟΚΟΠΟΙΗΣΗ ΟΥΡΙΑΣ

Η συμπλοκοποίηση ουρίας είναι η πιο αποτελεσματική και απλή τεχνική για την απόκτηση ω-3 συμπυκνωμάτων. Υπό τις καλύτερες συνθήκες μπορεί να δώσει συνολική περιεκτικότητα σε λιπαρά οξέα 92,3%. Προτού ξεκινήσει η συμπλοκοποίηση του ελαίου με ουρία γίνεται υδρόλυση της τριακυλγλυκερόλης (TAG), η υδρόλυση αυτή μπορεί να είναι είτε χημική είτε ενζυμική, και στις δύο περιπτώσεις ωστόσο το έλαιο χωρίζεται με αλκοολικό ΚΟΗ ή ΝαΟΗ σε λιπαρά οξέα και ασαπωνοποίητα συστατικά (στερόλες, βιταμίνες Α & D, ξενοβιοτικά) τα οποία είναι ανεπιθύμητα και απομακρύνονται. Η κάθε μία από τις υδρολύσεις αναγράφονται πιο αναλυτικά παρακάτω.

Στην περίπτωση της χημικής υδρόλυσης χρησιμοποιείται αλκοολικό ΚΟΗ ή ΝαΟΗ, τα οποία σαπωνοποιούν το έλαιο, στη συνέχεια προστίθεται αποσταγμένο νερό στο σαπωνοποιημένο πλεον μείγμα και αυτό με την σειρά του οξινίζεται με 3N ΗCl φτάνοντας σε μια τιμή pH ίση με 1. Το μείγμα εκχυλίζεται με εξάνιο, και τέλος το στρώμα εξανίου που πλέον περιέχει τα λιπαρά οξέα ξηραίνεται με τη χρήση άνυδρου θεικού νατρίου και ο διαλύτης (εξάνιο) εξατμίζεται στους 40°C υπό κενό.

Στην περίπτωση της ενζυμικής υδρόλυσης το έλαιο αναμειγνύεται με λιπάση διαλυμένη σε ρυθμιστικό διάλυμα φωσφατάσης. Στη συνέχεια προστίθεται σ' αυτό ΚΟΗ 0,5 N για να αδρανοποιηθούν τα λιπαρά οξέα πριν την εκχύλιση των γλυκεριδίων με εξάνιο. Έπειτα λαμβάνει χώρα και η εκχύλιση των ελεύθερων λιπαρών οξέων αφού πρώτα το pH τους έφτασε στο 1 με την προσθήκη 4N ΗCl. Αφού περάσουν 24 ώρες υδρόλυσης το μείγμα εκχυλίζεται πλήρως με εξάνιο και στην συνέχεια ακολουθεί η ίδια διαδικασία εξάτμισης του διαλύτη με την χημική υδρόλυση.

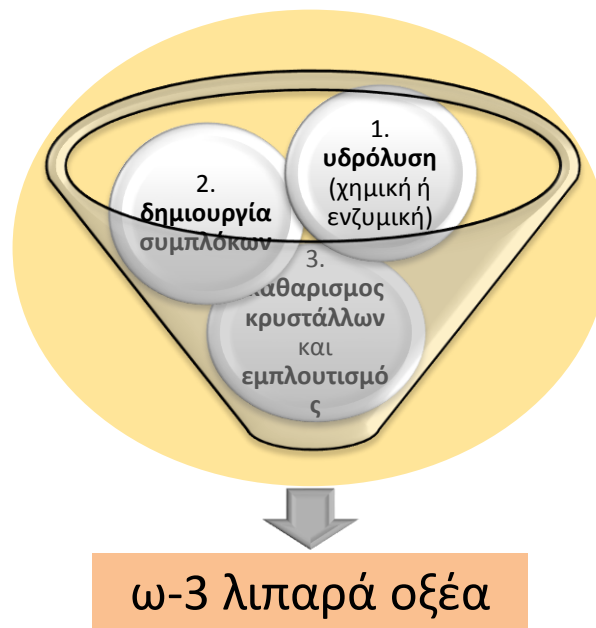
Όταν το στάδιο της υδρόλυσης λάβει τέλος το εκχύλισμα που περιέχει τα λιπαρά οξέα αναμειγνύεται με αιθανολικό δ/μα ουρίας για τον σχηματισμό συμπλοκών ουρίας. Τα σύμπλοκα αυτά μπορούν να αφαιρεθούν εύκολα με ψύξη και φιλτράρισμα κατά τη διάρκεια της κρυστάλλωσης. Πιο συγκεκριμένα, μετά την ανάμειξη το διάλυμα θερμαίνεται στους 60-70°C με ανάδευση μέχρις ότου το σύνολο του μίγματος μετατραπεί σε ένα διαυγές ομογενές διάλυμα. Αρχικά, το προϊόν ουρίας- λιπαρού οξέος αφήνεται να κρυσταλλωθεί σε θερμοκρασία δωματίου, (για περαιτέρω κρυστάλλωση χρησιμοποιούνται οι θερμοκρασίες των -10, -5, 1°C). Οι κρύσταλλοι που σχηματίζονται (που είναι το προϊόν ουρία-λιπαρό οξύ αναφέρεται επίσης ως κλάσμα συμπλοκοποίησης ουρίας) διαχωρίζονται από το υγρό με διήθηση υπό αναρρόφηση χρησιμοποιώντας ένα χωνί Buchner επενδεδυμένο με ένα λεπτό στρώμα υαλοβάμβακα. Το διήθημα αραιώνεται με ίσο όγκο νερού και οξινίζεται σε pH 2 - 3 με 6M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Ένας ίσος όγκος εξανίου στη συνέχεια προστίθεται στους κρυστάλλους και το μίγμα αναδεύεται καλά και μεταφέρεται σε μία χοάνη διαχωρισμού. Το στρώμα εξανίου, που περιέχει απελευθερωμένα λιπαρά οξέα, διαχωρίζεται από την υδατική στιβάδα που περιείχε ουρία. Η στιβάδα εξανίου πλένεται με αποσταγμένο νερό για να απομακρυνθούν τυχόν υπολείμματα της ουρίας, ως άλλα μέσα έκπλυσης εκτός του νερού μπορεί να χρησιμοποιηθεί αιθανόλη, μεθανόλη, φορμαμίδιο και ακετονιτρίλιο, ωστόσο δεν προτιμούνται λόγω του υψηλού κόστους αλλά και της τοξικότητάς τους. Στη συνέχεια ξηραίνεται πάνω από άνυδρο θειικό νάτριο και ο διαλύτης απομακρύνεται χρησιμοποιώντας ένα περιστροφικό εξατμιστήρα.

Σε σχετικές μελέτες που έγιναν μετά το τέλος της ξήρανσης παρατηρήθηκε σημαντική αύξηση στη συγκέντρωση των πολυακόρεστων λιπαρών οξέων. Πιο συγκεκριμένα το περιεχόμενο των PUFA αυξήθηκε 1,45 φορές από την αρχική του συγκέντρωση στο έλαιο της σαρδέλας. Τα EPA και DHA λιπαρά οξέα ήταν τα κυριότερα λιπαρά οξέα τα οποία εμφανίστηκαν μετά τη συμπλοκοποίηση ουρίας. Η συγκέντρωση του EPA ωστόσο ήταν μικρότερη από αυτή του DHA. Τα υψηλότερα ποσά του DHA και του EPA βρέθηκαν σε θερμοκρασίες από -10°C και 1 °C αντίστοιχα, όπου το DHA εμπλουτίστηκε από 17,45% σε 29,61% και το EPA από 15,39% σε 19,76%.



Όσον αφορά τα κορεσμένα και μονοακόρεστα λιπαρά οξέα τα αποτελέσματα δεν ήταν τα ίδια με αυτά των πολυακόρεστων μιας και στα πρώτα εμφανίστηκε μείωση της συνολικής συγκέντρωσης τους. Η μεγαλύτερη μείωση παρατηρήθηκε στους  $-15\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Φυσικά η πλήρης απομάκρυνση των κορεσμένων λιπαρών οξέων μπορεί να είναι αδύνατη καθώς είναι δύσκολο να πάρουμε απόδοση 100% εξαιτίας των λιπαρών οξέων μικρότερων αλυσίδων τα οποία είναι δύσκολο να συμπλοκοποιηθούν με ουρία. Αυτό συμβαίνει διότι τα λιπαρά οξέα μορφής C6 και ευθείας αλυσίδας δεν είναι εύκολο να δημιουργήσουν σύμπλοκα με την ουρία εξαιτίας των διπλών δεσμών που φέρουν, ωστόσο και αυτά της μορφής C14, C16 βραχύτερης αλυσίδα συμπλοκοποιούνται επίσης λιγότερο εύκολα, ενώ λιπαρά οξέα μακράς αλυσίδας μορφής C20, C22 συμπλοκοποιούνται ευκολότερα, έτσι το ποσοστό απόδοσης φτάνει στο 73%. Ως εκ τούτου η σταθερότητα του λιπαρού οξέως και της ουρίας εξαρτάται από την γεωμετρία των μορίων. Οποιαδήποτε απόκλιση από μια διάταξη ευθείας αποδυναμώνει την σταθερότητα του προϊόντος προσθήκης.

Τέλος είναι σημαντικό να ειπωθεί πως στη μέθοδο αυτή η αντίδραση της ουρίας, η οποία προστατεύει τα λιπαρά οξέα από την αυτοοξειδωση τους και τα βοηθάει να κρυσταλωθούν, καθώς και η θερμοκρασία της κρυστάλλωσης (πρέπει να είναι κάτω από  $13^{\circ}\text{C}$ ) έχουν μια σημαντική επίδραση στα αποτελέσματα του πειράματος. Συνήθως ο εμπλουτισμός των PUFA αντιδρά αντιστρόφως ανάλογα με τους δύο αυτούς παράγοντες. Ο εμπλουτισμός αυτός λαμβάνει χώρα λόγω του ότι όπως προαναφέρθηκε δεν μπορούν όλα τα λιπαρά οξέα να δημιουργήσουν σύμπλοκα με την ουρία επομένως φιλτράρονται (εμπλουτίζονται) για μεγαλύτερη απόδοση. Ωστόσο για να επιτευχθεί μια μέγιστη περιεκτικότητα DHA και EPA θα πρέπει οι πειραματικές μεταβλητές να ελέγχονται προσεκτικά.



Εικόνα 10. Βασικά βήματα συμπλοκοποίησης ουρίας.

### 2.3.ΥΠΕΡΚΡΙΣΙΜΗ ΕΚΧΥΛΙΣΗ

Η εκχύλιση του υπερκρίσιμου υγρού έχει καθιερωθεί σε παρτίδες καθώς και συνεχείς διεργασίες και γίνεται για τον εξευγενισμό των ιχθυελαίων καθώς αφαιρεί την χοληστερόλη, την βιταμίνη Ε και άλλα συστατικά τους. Η περιοχή στην οποία μια ουσία θεωρείται υπερκρίσιμο υγρό εξαρτάται από την κρίσιμη θερμοκρασία και πίεση του. Τα έλαια που προορίζονται για την διεργασία αυτή πρέπει πρώτα να υποστούν προετοιμασία εκχύλισης, υδρόλυσης και εστεροποίησης και στη συνέχεια εκχυλίζονται με διαλύτη (CO<sub>2</sub>) ο οποίος και έχει 30% μεγαλύτερη απόδοση από' τι η εκχύλιση με πίεση εν ψυχρώ.

Το CO<sub>2</sub> χρησιμοποιείται ως διαλύτης, λόγω του ότι επιτρέπει την απόκτηση προϊόντων απαλλαγμένα από διαλύτη αλλά και από τον κίνδυνο θερμικής αποικοδόμησης, είναι αδρανές, έχει χαμηλό κόστος, είναι μη εύφλεκτο, περιβαλλοντικά αποδεκτό καθώς και άμεσα διαθέσιμο. Το υπερκρίσιμο CO<sub>2</sub> (SC-CO<sub>2</sub>) μπορεί να τροποποιηθεί καταλλήλως ρυθμίζοντας τη πίεση του συστήματος για περισσότερη διαλυτότητα και εκλεκτικότητα ως προς τα πολυακόρεστα λιπαρά οξέα. Αυτή η επιλεκτικότητα παρουσιάζεται με βάση τον αριθμό των ανθράκων στην αλυσίδα και όχι με τον αριθμό των διπλών δεσμών.

Σε μελέτη που έγινε η λυοφιλιωμένη και κονιορτοποιημένη μάζα της σαρδέλας εκχυλίστηκε και το έλαιο συλλέχθηκε μέσα σε ογκομετρική φιάλη με 3ml αιθανόλης. Για να αυξηθεί η αποτελεσματικότητα της συλλογής του ελαίου η ογκομετρική φιάλη τοποθετήθηκε σε λουτρό πάγου κατά την εκχύλιση. Οι εκχύλιση έλαβε χώρα σε χρόνο 20 min στους 40-50-60°C και σε πιέσεις 150,250 και 350 atm. Οι παράμετροι επιλέχθηκαν σύμφωνα με τις παραμέτρους των προκαταρκτικών πειραμάτων και των αλληλεπιδράσεων μεταξύ των μεταβλητών. Κάτω από αυτές τις επιχειρησιακές συνθήκες ο ρυθμός εξαγωγής των κορεσμένων λιπαρών οξέων και των μονοακόρεστων λιπαρών οξέων ήταν υψηλότερος από αυτόν των πολυακόρεστων λιπαρών οξέων, τα βασικά αυτά λιπαρά οξέα αποτελούσαν το 70% του συνολικού ελαίου.

Το υψηλότερο ποσοστό παρατηρήθηκε στα 350bar και θερμοκρασία 60°C. Σε χαμηλότερες πιέσεις σε χαμηλότερες πιέσεις η διαλυτότητα του ελαίου θα επηρεαζόταν από την πίεση των ατμών του ελαίου, διότι το CO<sub>2</sub> δρα ως ιδανικό αέριο το οποίο δεν έχει ιδιαίτερα χαρακτηριστικά διαλύτη. Ωστόσο σε υψηλότερες πιέσεις η διαλυτότητα του ελαίου θα αυξανόταν λόγω της αυξημένης πυκνότητας του CO<sub>2</sub>. Λόγω του ότι πολλές παράμετροι μπορούν να επηρεάσουν το αποτέλεσμα της εκχύλισης η βελτιστοποίηση των πειραματικών συνθηκών είναι ένα κρίσιμο βήμα το οποίο θα βοηθούσε στην ανάπτυξη της μεθόδου. Γενικά ως οι πιο σημαντικοί παράγοντες θεωρούνται οι πιέσεις του ρευστού, οι θερμοκρασίες καθώς και ο χρόνος της εκχύλισης.

Εν κατακλείδι το υψηλότερο ποσοστό κορεσμένων και μονοακόρεστων λιπαρών οξέων στο έλαιο λαμβάνονται με εκχύλιση στους 50-60° C και πίεση 350bar, κάτι το οποίο δείχνει πως η διαλυτότητα του ιχθυελαίου αυξήθηκε με την αύξηση της πίεσης και της θερμοκρασίας. Τα υψηλότερα επίπεδα αυτών των παραμέτρων αύξησαν σημαντικά την απόδοση της εκχύλισης. Το μεγαλύτερο ποσοστό του εκχυλισμένου ελαίου αποτελούσαν από λιπαρά οξέα βραχείας αλυσίδας τα οποία τείνουν να μεταναστεύουν στη φάση του CO<sub>2</sub>. Με άλλα λόγια το λάδι που παρέμεινε στην κυτταρική ισορροπία μετά την εκχύλιση

περιείχε υψηλές συγκεντρώσεις πολυακόρεστων λιπαρών οξέων όπως τα DHA και EPA. Έτσι η εκχύλιση μπορεί να θεωρηθεί μία διαδικασία η οποία θα μπορούσε να χρησιμοποιηθεί για τον εμπλουτισμό του ιχθυελαίου.

#### **2.4.ΚΡΥΣΤΑΛΛΩΣΗ ΣΕ ΧΑΜΗΛΗ ΘΕΡΜΟΚΡΑΣΙΑ**

Η κρυστάλλωση χαμηλής θερμοκρασίας αναπτύχθηκε αρχικά για το διαχωρισμό ορισμένων TAG, λιπαρών οξέων, εστέρων και άλλων λιπιδίων τα οποία είναι πολύ διαλυτά σε οργανικούς διαλύτες σε θερμοκρασίες πάνω από 0°C, αλλά γίνονται ελάχιστα διαλυτά σε θερμοκρασίες κάτω των -80°C. Η διαδικασία κρυστάλλωσης χαμηλής θερμοκρασίας μπορεί να διεξαχθεί στο σκέτο υγρό υπό την απουσία ενός διαλύτη ή σε ένα επιλεγμένο / μίγμα διαλυτών.

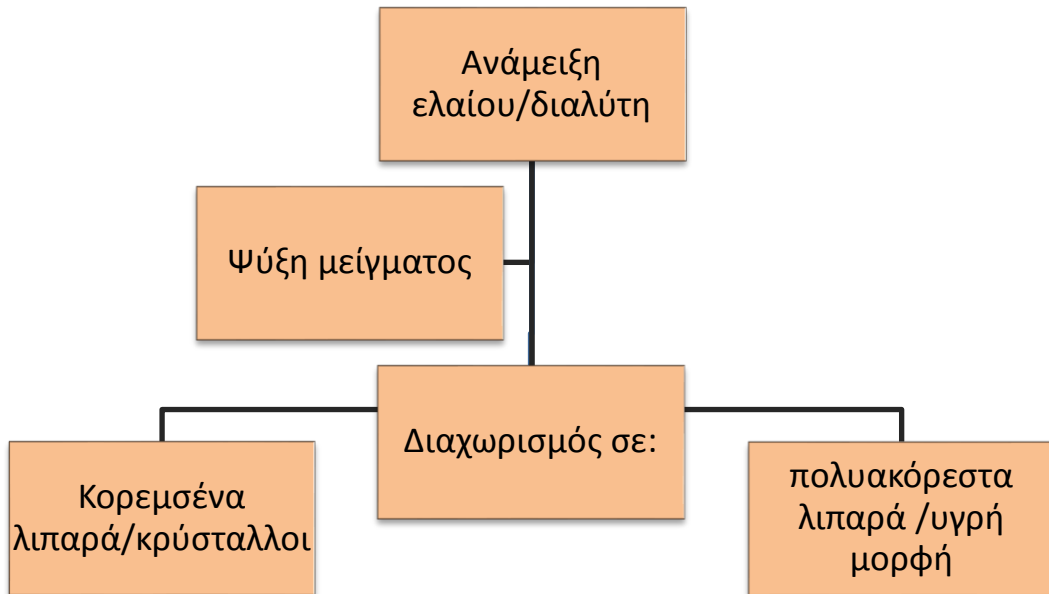
Εάν η κρυστάλλωση διεξάγεται υπό την παρουσία διαλύτη οι διαλύτες που μπορούν να χρησιμοποιηθούν είναι η μεθανόλη και η ακετόνη, επιπλέον έχουν γίνει και κάποιες προσπάθειες για την χρήση εξάνιου και μυρμηκικού μεθυλεστέρα. Έχει αναφερθεί ότι το είδος του διαλύτη καθώς και η θερμοκρασία έχουν ιδιαίτερη σημασία για την επίτευξη της βέλτιστης απόδοσης σε συγκέντρωση ω3 λιπαρών οξέων. Σε έρευνα που έγινε λιπαρά οξέα σε ελεύθερη μορφή υπέστησαν κρυστάλλωση με εξάνιο και ακετόνη σε θερμοκρασίες -60°C και -70°C, το εξάνιο εμφάνισε απόδοση σε περιεκτικότητα ω-3 λιπαρών οξέων 58,3% και 66,7%, ενώ η ακετόνη 56,7% και 46,8% αντίστοιχα. Ωστόσο έχει αποδειχθεί πως ο ρυθμός και η θερμοκρασία ψύξης δεν επηρεάζουν την απόδοση και το περιεχόμενο των EPA και DHA εξαιτίας τις σύνθεσης αυτών και επομένως η χρήση θερμοκρασιών δωματίου θα ήταν μια πρακτική επιλογή για τον διαχωρισμό και την παραγωγή συμπυκνωμάτων ω3 λιπαρών οξέων σε βιομηχανική κλίμακα. Η διαλυτότητα των λιπών σε οργανικούς διαλύτες μειώνεται καθώς αυξάνεται το μέσο μοριακό τους βάρος και αυξάνει με την αύξηση της ακορεστότητας τους. Οι Singleton & Stout μετά από μελέτες προσδιόρισαν την διαλυτότητα πολλών λιπαρών οξέων και εστέρων καταλήγοντας στους παρακάτω κανόνες:

**Πίνακας 6. Κανόνες Singleton & Stout**

<b>Κανόνες Singleton &amp; Stout</b>
<b>1.</b> Τα κορεσμένα οξέα μακρών αλυσίδων είναι λιγότερο διαλυτά από αυτά με μικρές αλυσίδες.
<b>2.</b> Τα κορεσμένα είναι λιγότερο διαλυτά από τα μονοακόρεστα και πολυακόρεστα λιπαρά.
<b>3.</b> Τα Trans ισομερή είναι λιγότερο διαλυτά από τα cis ισομερή.
<b>4.</b> Τα κανονικά οξέα είναι λιγότερο διαλυτά από τα διακλαδισμένα.

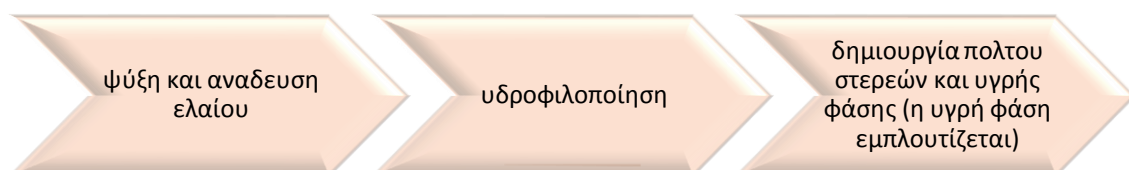
Η κρυστάλλωση των λιπαρών οξέων με τη χρήση διαλύτη αποτελεί απαραίτητη μέθοδο για την παρασκευή καθαρών λιπαρών οξέων. Αυτή η μέθοδος απαιτεί μικρό αριθμό βημάτων και τον πιο απλό εξοπλισμό. Η διαδικασία αποτελείται από ψύξη του ελαίου ή λιπαρών οξέων σε έναν από τους παραπάνω διαλύτες, για συγκεκριμένη χρονική περίοδο, και την αφαίρεση του κρυσταλλωμένου κλάσματος με φιλτράρισμα. Ο τύπος και ο βαθμός εγκαθίδρυσης των λιπαρών οξέων αλλάζει το σημείο τήξης και εκ τούτου ο διαχωρισμός μειγμάτων λιπαρών

οξέων καθίσταται δυνατός. Κορεσμένα λιπαρά οξέα μακράς αλυσίδας κρυσταλλώνονται σε χαμηλές θερμοκρασίες και στη συνέχεια τα πολυακόρεστα λιπαρά οξέα διαχωρίζονται σε υγρή μορφή.



Εικόνα 11. Βήματα κρυστάλλωσης σε χαμηλή θερμοκρασία με τη χρήση διαλύτη.

Τέλος η κρυστάλλωση απουσία ενός διαλύτη είναι μία διαδικασία πιο απλή καθώς λαμβάνει χώρα με τη χρήση της διαδικασίας Tirtiaux, η οποία περιλαμβάνει μία αργή ψύξη και αργή ανάδευση του ελαίου και στη συνέχεια υδροφιλοποίηση αυτού . Σε αυτή τη διαδικασία, η κρυστάλλωση παράγει έναν πολύ από στερεά και υγρά συστατικά, με τα τελευταία να εμπλουτίζονται με ω3 λιπαρά οξέα.



Εικόνα 12. Βήματα κρυστάλλωσης σε χαμηλή θερμοκρασία χωρίς τη χρήση διαλύτη.

## 2.5.ΑΠΟΣΤΑΞΗ ΜΟΡΙΩΝ

Αν και η απόσταξη είναι διαδικασία συνηθισμένη στη βιομηχανία χημικών, στη βιομηχανία τροφίμων περιορίζεται στη βιομηχανία αλκοολούχων ποτών καθώς και στον διαχωρισμό πτητικών συστατικών. Όταν ένα τρόφιμο, το οποίο περιέχει συστατικά τα οποία έχουν διαφορετική πτητικότητα, θερμανθεί, τότε αυτά που έχουν υψηλότερη πίεση ατμών, είναι δηλαδή είναι πιο πτητικά, απομακρύνονται και διαχωρίζονται πρώτα (Αρβανιτογιάννης Σ. Ιωάννης, Στρατάκος Χ. Αλέξανδρος, 2011).

Κατά καιρούς η απόσταξη έχει χρησιμοποιηθεί για τον μερικό διαχωρισμό μειγμάτων εστέρων λιπαρών οξέων. Η μέθοδος αυτή εκμεταλλεύεται τις διαφορές των λιπαρών οξέων ως προς το σημείο βρασμού και το μοριακό τους βάρος, υπό χαμηλές πιέσεις (*Brown, LB & Kolb D.X., 1955*). Είναι μία παλιά τεχνική η οποία απαιτεί υψηλές θερμοκρασίες, περίπου 250°C (*Berger, R. & McPherson, W., 1979*), αποστάξεις βραχείας διαδρομής ή μοριακές αποστάξεις χρησιμοποιούν χαμηλότερες θερμοκρασίες και σύντομα διαστήματα θέρμανσης. Ωστόσο η κλασματοποίηση εστέρων ιχθυελαίου είναι μία δύσκολη διαδικασία καθώς ο διαχωρισμός τους γίνεται λιγότερο αποτελεσματικός με την αύξηση του μοριακού τους βάρους (*Brevik H., 1992*).

Η πιο ευρέως χρησιμοποιούμενη διαδικασία απόσταξης στα ιχθυέλαια είναι η απόσταξη υπό μειωμένες πιέσεις, μέσω της οποίας γίνεται απόσταξη εξαιρετικά ακόρεστων λιπαρών. Οι *Stout et al.* έχουν επισημάνει την δυσκολία της εστιάζοντας στα ω-3 λιπαρά οξέα. Από έρευνα που οι ίδιοι διεξήγαγαν συγκέντρωσαν ένα 16% EPA υπό μορφή τριακυλγλυκεριδίων, το οποίο στη συνέχεια αυξήθηκε έως 28,4% με την απόσταξη αιθυλεστέρων. Από την άλλη πλευρά τα αποτελέσματα των συγκεντρώσεων του DHA ήταν ακόμη πιο δραματικά, καθώς η συγκέντρωση του υπό μορφή τριακυλγλυκερολών ήταν 17,3% ενώ στην συνέχεια με την απόσταξη αιθυλεστέρων έφτασε στο 43,9%.

Είναι σημαντικό να αναφερθεί πως εκτός από τις πιέσεις θα πρέπει να ελέγχονται και η θερμοκρασίες οι οποίες πρέπει να είναι μετρίως υψηλές καθώς τα πολυακόρεστα λιπαρά οξέα όπως τα ω-3 είναι επιρρεπή στην οξειδωση, τον πολυμερισμό και τον ισομερισμό των διπλών δεσμών τους (*Fereidoon Shahidi, 1998*). Ως εκ τούτου θα πρέπει να σχεδιαστεί μία μέθοδος η οποία θα επικεντρώνεται σε χαμηλές θερμοκρασίες καθώς και στη μείωση του χρόνου απόσταξης, για ελαχιστοποίηση των θερμικών βλαβών και απωλειών των λιπαρών οξέων.

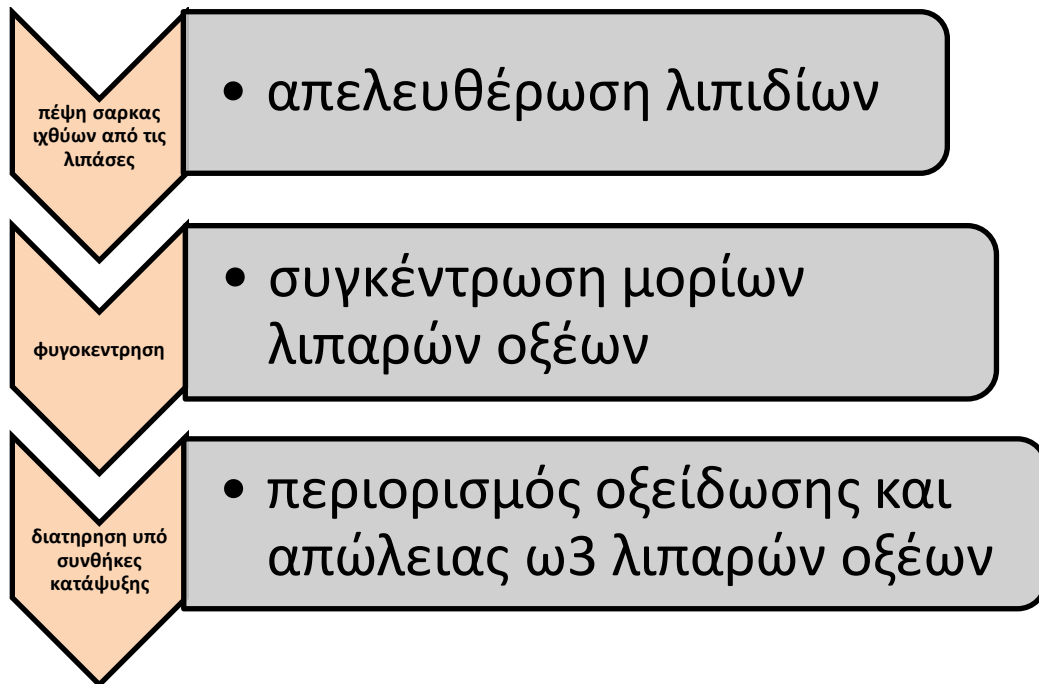
## 2.6.ΚΑΤΑΛΥΟΜΕΝΗ ΥΔΡΟΛΥΣΗ ΜΕ ΛΙΠΑΣΗ

Μια πιο φυσική μέθοδος απόκτησης συμπυκνωμάτων ω-3 λιπαρών οξέων είναι η χρήση ενζύμων, ονομαζόμενων λιπάσων, τα οποία έχουν την δυνατότητα να καταλύουν την εστεροποίηση και την υδρόλυση των λιπαρών οξέων, και τον οποίων η αποτελεσματικότητα επηρεάζεται από την επιλογή των πειραματικών συνθηκών (*Fereidoon Shahidi & Udaya N. Wanasundara, 1998*).

Η επιλεκτικότητα των λιπασών ως προς ένα λιπαρό οξύ EPA και DHA επιτρέπει τον διαχωρισμό και τη συγκέντρωσή τους από το υπόλοιπο τμήμα του θαλάσσιου ελαίου. Οι λιπάσες συχνά χρησιμοποιούνται για την διάκριση μεταξύ των EPA και DHA σε συμπυκνώματα που περιέχουν και τα δύο αυτά λιπαρά οξέα, παρέχοντας έτσι τη δυνατότητα παραγωγής συμπυκνωμάτων ω-3 λιπαρών οξέων στα οποία κυριαρχεί είτε το EPA, είτε το DHA (*Fereidoon Shahidi & Udaya N. Wanasundara, 1998*).

Η υδρόλυση με την βοήθεια λιπασών είναι μία ασφαλής μέθοδος επεξεργασίας ω-3 λιπαρών οξέων, η οποία μιμείται την λειτουργία των πεπτικών ενζύμων του οργανισμού. Στην πραγματικότητα τα ένζυμα χρησιμοποιούνται για την πέψη της σάρκας του ιχθύος

και στη συνέχεια απελευθερώνουν φυσικά τα λιπίδια συμπεριλαμβανομένων των ω-3 λιπαρών οξέων. Μέρος του ουδέτερου ελαίου και σχεδόν το σύνολο των φωσφολιπιδίων που περιέχουν EPA και DHA είναι ενσωματωμένα σε μία μερικώς υδρολυμένη πρωτεϊνική μήτρα, η οποία στη συνέχεια υφίσταται φυγοκέντρωση για να συγκεντρωθούν τα μόρια των λιπαρών οξέων. Στην συνέχεια περισυλλέγονται και διατηρούνται στην κατάψυξη, η οποία και περιορίζει την οξείδωση και την υποβάθμιση τους (Terry Lemerond, 2008).



Εικόνα 13. Καταλυόμενη υδρόλυση με λιπάση.

Τα τελευταία χρόνια η έρευνα σχετικά με τη χρήση μικροβιακών λιπασών για την απόκτηση ω-3 συμπυκνωμάτων μέσω υδρόλυσης ελαίου ιχθυων και αλλευματων έχει λάβει ιδιαίτερη προσοχή. Οι Tanaka et al. χρησιμοποίησαν έξι διαφορετικούς τύπους λιπασών (*Aspergillus niger*, AN, *Candida cylindracea*, CC, *Pseudonas spp.*, PS, *Chromobacterium viscosum*, CV, *Rhizopus delemer*, RD, *Rhizopus javanicus*, RJ) καταλήγοντας στο συμπέρασμα πως το ένζυμο CC ήταν το πιο αποτελεσματικό μιας και με αυτό η συγκέντρωση του DHA ήταν τρεις φορές περισσότερη από εκείνη που υπήρχε αρχικά στο έλαιο. Ενώ επιπλέον αναφέρουν πως το περιεχόμενο στο έλαιο EPA μειώθηκε κατά την υδρόλυση του από τις λιπάσες *Rhizopus spp*, *Rhuzopus delemer* και *Rhizopus javanicum*.

Οι Hoshino et al. έχουν χρησιμοποιήσει επίσης αρκετές λιπάσες για εκλεκτική υδρόλυση μουρουνέλαιο και ελαίου σαρδέλας, τα καλύτερα αποτελέσματα υδρόλυσης ελήφθησαν από την λιπάση *Aspergillus niger* καθώς και την *Candida cylindracea*. Οι δύο αυτές λιπάσες αύξησαν κατά 50% την παραγωγή του συνόλου των ω-3 λιπαρών οξέων. Ωστόσο καμία από τις λιπάσες δεν ήταν σε θέση να αυξήσει την περιεκτικότητα σε EPA.

Ένα ιαπωνικό δίπλωμα ευρεσιτεχνίας βασίστηκε στην ικανότητα διάκρισης των EPA και DHA από λιπάσες για την παραγωγή συμπυκνωμάτων ω-3 λιπαρών οξέων. Κατ' αυτό αιθυλεστέρες από διάφορα ιχθυέλαια, όπως αυτό της σαρδέλας, υδρολύθηκαν με λιπάσες

(CC, AN & *Mucor miehei*, MM). Η υδρόλυση αυτή έδωσε συμπυκνώματα αιθυλεστέρων με πάνω από 25% EPA και 17% DHA μετά τον διαχωρισμό των υδρολυομένων λιπαρών οξέων.

Εν κατακλείδι είναι σημαντικό να αναφερθεί πως κάθε λιπάση έχει διαφορετική δράση και επιλεκτικότητα στο κάθε λιπαρό οξύ, κάτι το οποίο καθιστά την επιλογή του σωστού ενζύμου για την υδρόλυση κρίσιμο παράγοντα.

## **2.7.ΑΛΛΕΣ ΜΕΘΟΔΟΙ**

### **2.7.1.ΜΕΘΟΔΟΣ ΣΥΜΠΙΕΣΗΣ**

Η πλειοψηφία ιχθυελαίων προέρχεται από μικρά πελαγικά είδη ψαριών (π.χ. σαρδέλα), όπου άλλα είναι περισσότερο και άλλα λιγότερα πλούσια σε EPA και DHA, τα προϊόντα και τα υπολείμματα επεξεργασίας των οποίων αποτελούν σημαντική πηγή λιπαρών οξέων (*Terry Lemerond, 2008*).

Τα τμήματα τα οποία συνήθως χρησιμοποιούνται για τη μέθοδο αυτή είναι τα υπολείμματα των εργασιών επεξεργασίας ιχθύων (κατάλοιπα φιλέτων, δέρματα, εντόσθια και χόνδροι). Η τεχνική συμπίεσης βασίζεται στη χρήση υψηλών θερμοκρασιών (85-95°C), οι οποίες μετουσιώνουν τις πρωτεΐνες του ψαριού μετά την πήξη τους από την θερμική επεξεργασία των 30 λεπτών. Η πρώτη ύλη εισάγεται μέσα σε πρέσες διαφόρων σχημάτων, ώστε να διαχωριστεί η υδατική φάση πρωτεΐνης, που περιέχει το έλαιο, από το στερεό υλικό σε περιέκτες. Στη συνέχεια, το νερό που έχει απομείνει από την αποστράγγιση και συμπίεση κατεργάζεται με ατμό, έτσι ώστε η φάση του ελαίου να μπορεί να διαχωριστεί περαιτέρω σε έναν άλλο περιέκτη. Το ιχθυέλαιο που συλλέγεται μπορεί να υποβληθεί σε μία επιπλέον φάση λεύκανσης με προσθήκη άμορφου διοξειδίου του πυριτίου και στη συνέχεια, σε απόσπηση με ένεση ατμού στους 200°C υπό μερικό κενό. Ένα τελικό στάδιο δύλισης μέσω ενεργού άνθρακα επιτρέπει επιπλέον απομάκρυνση βαρέων μετάλλων και διοξινών (*Terry Lemerond, 2008*).

Ωστόσο η διαδικασία αυτή έχει μια άμεση συνέπεια της καταστροφής των φωσφολιπιδίων, του συστήματος μεταφοράς του EPA και DHA, που απαιτούνται για να διεισδύσουν στην κυτταρική μεμβράνη (*Terry Lemerond, 2008*).

### **2.7.2.ΜΕΘΟΔΟΣ ΞΗΡΗΣ ΑΠΟΔΟΣΗΣ**

Η μέθοδος ξηρής απόδοσης χρησιμοποιείται συνήθως για την παρασκευή αλεύρων από υπολείμματα κρέατος και βρίσκει περιορισμένη χρήση στην παρασκευή ιχθυελαίων. χρησιμοποιείται κυρίως σε πρώτη ύλη η οποία έχει χαμηλή περιεκτικότητα σε λάδι και το οποίο είναι σε σχετικά μικρές ποσότητες (*George M. Pigott, 1967*).

Η διαδικασία αποτελείται από μαγείρεμα της πρώτης ύλης καθώς και ένα στάδιο ξήρανσης. Ολόκληρα ψάρια υποβάλλονται σε επεξεργασία σε έναν φούρνο τύπου ξηραντήρα, για ξήρανση υπό κενό, ενώ κατά τη διάρκεια της ξήρανσης μπορεί να χρησιμοποιηθεί ένας αναδευτήρας τύπου πτερυγίου για να αναδευεί αργά το υλικό. Η αποξηραμένη πλέον πρώτη ύλη, που σε αυτό το στάδιο περιέχει το λάδι, πηγαίνει σε ένα

υδραυλικό πιεστήριο που αφαιρεί το μεγαλύτερο μέρος του ελαίου (*George M. Pigott, 1967*)..

Ο πιο συνηθής τύπος εξοπλισμού είναι αυτός χωρητικότητας άνω των πέντε τόνων πρώτης ύλης, ενώ ο χρόνος διάρκειας της ξήρανσης είναι 5 με 6 ώρες. Αυτή η διαδικασία, όμως, αφήνει περίπου 10% του ελαίου στη σάρκα (*George M. Pigott, 1967*)..

Το έλαιο που ανακτάται από την μέθοδο αυτή έχει πιο σκούρο χρώμα σε σχέση με τα έλαια που ανακτώνται από τις υπόλοιπες μεθόδους. Ωστόσο μετά από μία σωστή διύλιση αλκανίων και λεύκανση με άργιλο, μπορεί να επιτευχθεί το επιθυμητό χρώμα (*George M. Pigott, 1967*)..

Η μέθοδος ξηρής απόδοσης είναι μία διαδικασία η οποία απαιτεί ιδιαίτερη εργασία καθώς και μεγαλύτερο κεφάλαιο απ' ότι οι άλλες συμβατικές μέθοδοι. Τέλος έχει το πλεονέκτημα της ευελιξίας καθώς μπορεί να χρησιμοποιηθεί σε μία ποικιλία πρώτων υλών πέραν αυτής των ιχθύων (*George M. Pigott, 1967*).



### **ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3<sup>ο</sup>: ΣΚΟΠΟΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ**

1. Ο προσδιορισμός του προφίλ των λιπαρών οξέων και της α-τοκοφερόλης (βιταμίνης Ε) σε αλιευμένες σαρδέλες.
2. Η εποχιακή διακύμανση των λιπαρών οξέων και της α-τοκοφερόλης (βιταμίνης Ε) σε αλιευμένες σαρδέλες.
3. Σύγκριση των αποτελεσμάτων μεταξύ των δειγμάτων ιχθυελαίου έτσι ώστε να βρεθεί η διαφορά μεταξύ των λιπαρών οξέων και της βιταμίνης Ε.
4. Την επίδραση της φυγοκέντρισης του ιχθυελαίου με ζεόλιθο, στην οσμή και το χρώμα του.

## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4<sup>ο</sup>: ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΑ ΔΕΔΟΜΕΝΑ

### 4.1. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

#### 4.1.1. ΔΕΙΓΜΑΤΑ ΣΑΡΔΕΛΑΣ

Για την διεκπεραίωση του πειραματικού μέρους εξετάστηκαν 6 δείγματα σαρδέλας (Μαΐου μέχρι και Οκτώβρη).



Δείγμα 1ο  
Μάιος  
2kg  
13-15cm



Δείγμα 2ο  
Ιούνιος  
2kg  
12-14cm



Δείγμα 3ο  
Ιούλιος  
2kg  
14cm



Δείγμα 4ο  
Αύγουστος  
2kg  
17-18cm



Δείγμα 5ο  
Σεπτέμβριος  
1kg  
11-12cm



Δείγμα 6ο  
Οκτώβριος  
2kg  
11-12cm

#### 4.1.2.ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ

Τα αντιδραστήρια που χρησιμοποιήθηκαν αναγράφονται παρακάτω:

- ✓ Εξάνιο, Analytical reagent grade, 95% n-Hexane, παραγωγός: Fisher Scientific UK.
- ✓ Διάλυμα NaOH 1N.
- ✓ Διάλυμα H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> 1N.
- ✓ Ζεόλιθος, Ζεόλιθος Θράκη™, υπεύθυνος κυκλοφορίας: ASTRA MEDICAL HELLAS SUPERFOODS Ε.Π.Ε.

Ο Ζεόλιθος είναι ένα φυσικό ένυδρο αργιλοπυριτικό υλικό με προικισμένες ιδιότητες από πλευράς χημειοσύνθεσης στοιχείων όσο και ικανότητας ιοντοανταλλαγής, δηλαδή ικανότητας να δεσμεύει άλλα στοιχεία και ακόμη ολόκληρες ενώσεις. Η δυνατότητα δέσμευσης ουσιών ανέρχεται έως τριάντα (30) τις εκατό του βάρους του. Στην πραγματικότητα αυτό συμβαίνει επειδή, είναι ένα από τα λίγα αρνητικά φορτισμένα ορυκτά στη φύση. Ακόμη είναι αρκετά σταθερό θερμικά έως τους 600°C. Η ιατρική χρήση του ζεόλιθου αφορά την κρυσταλλική μορφή του. Η δομική του μονάδα που είναι το πυριτίο είναι ηλεκτρικά ουδέτερη και με το δομικό αλουμίνιο παρουσιάζουν αρνητικό φορτίο σε όλη την κατά κάποιο τρόπο ειδικοί πόροι σαν κλουβιά τα οποία εγκλωβίζουν άλλα μόρια. Η κρυσταλλική δομή Ένα σημαντικό στοιχείο που αφορά την δομή του είναι ότι είναι πορώδες και τα συνδεδεμένα στοιχεία του δημιουργούν κενά μεταξύ τους ή αφήνουν κενά οπότε δημιουργούνται ιδιότητα της δέσμευσης άλλων μορίων αλλά και η χημική του σύνθεση μπορούν να αιτιολογήσουν γιατί οι ερευνητές που έχουν ασχοληθεί μαζί του έχουν προτείνει μια σειρά από ευεργετικές συμπεριφορές.

*Πηγή:*

[http://www.superfoods.gr/holistic\\_life/%CF%83%CF%85%CE%BC%CF%80%CE%BB%CE%B7%CF%81%CF%8E%CE%BC%CE%B1%CF%84%CE%B1-%CE%BF%CE%B4%CE%B7%CE%B3%CF%8C%CF%82-%CF%83%CF%85%CE%BC%CF%80%CE%BB%CE%B7%CF%81%CF%89%CE%BC%CE%AC%CF%84%CF%89%CE%BD/%CE%B6%CE%B5%CE%BF%CE%BB%CE%B9%CE%B8%CE%BF%CF%83/](http://www.superfoods.gr/holistic_life/%CF%83%CF%85%CE%BC%CF%80%CE%BB%CE%B7%CF%81%CF%8E%CE%BC%CE%B1%CF%84%CE%B1-%CE%BF%CE%B4%CE%B7%CE%B3%CF%8C%CF%82-%CF%83%CF%85%CE%BC%CF%80%CE%BB%CE%B7%CF%81%CF%89%CE%BC%CE%AC%CF%84%CF%89%CE%BD/%CE%B6%CE%B5%CE%BF%CE%BB%CE%B9%CE%B8%CE%BF%CF%83/)  
(28/9/2016)

#### 4.1.3.ΟΡΓΑΝΑ ΚΑΙ ΣΚΕΥΗ

- ✓ Κατσαρόλες.
- ✓ Πιάτα.
- ✓ Θερμόμετρο.
- ✓ Ποτήρια ζέσεως των 20 και 100ml.
- ✓ Ζυγός, 400gr.
- ✓ Γυάλινα χωνιά διήθησης.
- ✓ Έγχρωμα μπουκάλια αποθήκευσης.
- ✓ Ογκομετρικοί κύλινδροι των 250, 500 και 1000ml.
- ✓ Ογκομετρικές φιάλες των 500 και 1000ml.

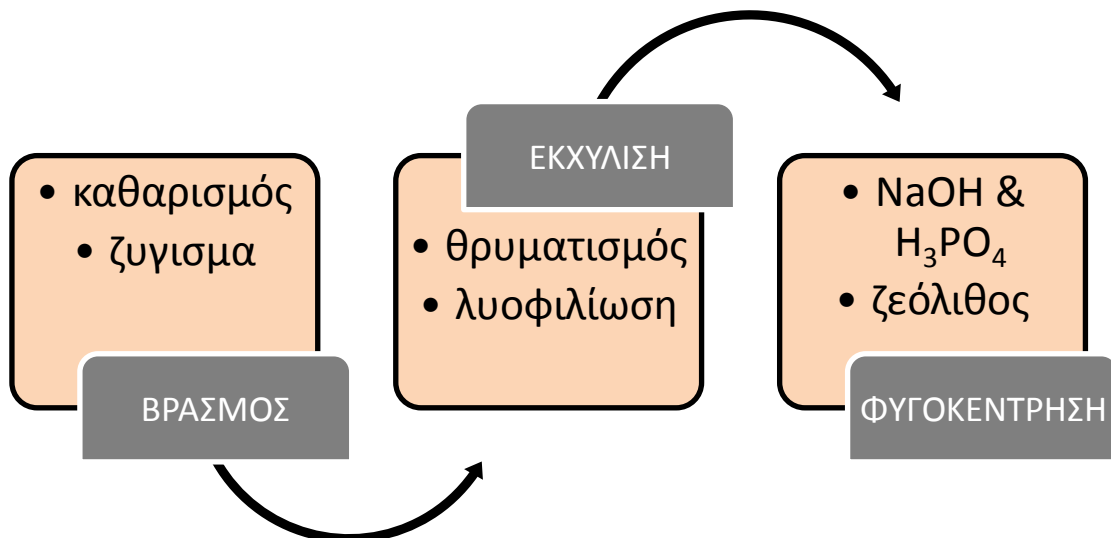
ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ  
ΑΝΤΕΚΕΛΙΔΗ ΔΕΣΠΟΙΝΑ

- ✓ Falcon των 12ml.
- ✓ Σιφόνια μετρήσεως των 5ml.
- ✓ Πιπέτες των 3ml.
- ✓ Εστία φωτιάς.
- ✓ Στατό.
- ✓ Λυοφιλωτής.
- ✓ Soxhlet 250ml.
- ✓ Απαγωγός.
- ✓ Γυάλινες ράβδοι.
- ✓ Κουτάλια.
- ✓ Φυγόκεντρος 3000 στροφών.

## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5<sup>ο</sup>: ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

Όλα τα δείγματα αρχικά ζυγίστηκαν, καθαρίστηκαν μέχρι να μείνει μόνο το καθαρό φιλέτο και ξανά ζυγίστηκαν. Έπειτα ακολούθησε βρασμός τους στους 100°C για 30 λεπτά. Τα δείγματα χωρίστηκαν σε μικρότερα επί μέρους δείγματα τα οποία και έμειναν στην κατάψυξη για μία ολόκληρη μέρα και στη συνέχεια λυοφιλοποιήθηκαν για 24 ώρες (ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ Α, Εικόνα Α1). Μετά την παραμονή τους στον λυοφιλωτή τα δείγματα ξανά ζυγίστηκαν για να υπολογιστεί η υγρασία που έχασαν (ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ Α, Εικόνα Α2). Έπειτα θρυμματίστηκαν σε μπλέντερ (ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ Α, Εικόνα Α3) και τοποθετήθηκαν στην Soxhlet για να εκχυλιστούν (ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ Α, Εικόνα Α4). Ως οργανικός διαλύτης εκχύλισης χρησιμοποιήθηκε εξάνιο (250ml για το κάθε δείγμα των 20 με 40gr). Στο τέλος της εκχύλισης, και αφού εξατμίστηκε ο διαλύτης, μετρήθηκε το βάρος του λαδιού που παράχθηκε καθώς και το υπόλειμμα ψαριού που έμεινε, για να επιβεβαιωθούν τα αποτελέσματα.

Στη συνέχεια όλα τα δείγματα ανά 3ml φυγοκεντρήθηκαν με 3ml υδροξείδιο του νατρίου (NaOH) 1N και 3ml φωσφορικό οξύ (H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>) 1N, στις 3000 στροφές για 30 λεπτά (ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ Α, Εικόνα Α8). Μετά από τον συγκερασμό της υπάρχουσας βιβλιογραφίας καταλήξαμε στο συμπέρασμα πως μία επιπλέον φυγοκέντριση του ελαίου με ζεόλιθο ήταν απαραίτητη για την λεύκανση και την απόσμηση του ελαίου, αλλά και για την επιπλέον απομάκρυνση βαρέων μετάλλων και διοξινών, που αναφέρθηκαν σε προηγούμενο κεφάλαιο. Η ποσότητα του ζεόλιθου που χρησιμοποιήθηκε είχε το μισό βάρος του εκάστοτε δείγματος.



Εικόνα 14. Διαδικασία εκχύλισης ελαίου

### 5.1.ΘΕΡΜΙΚΗ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ (ΒΡΑΣΜΟΣ)

Σκοπός της θερμικής επεξεργασίας της πρώτης ύλης είναι η απελευθέρωση του ελαίου από τους αποθηκευτικούς χώρους λίπους του ψαριού, αλλά και η προετοιμασία του για την μετέπειτα επεξεργασία που πρόκειται να υποστεί (Αρβανιτογιάννης Ιωάννης,2011). Η διαδικασία αυτή είναι μία άκρως σημαντική διαδικασία για ολόκληρη την παραγωγή ιχθυελαίου.

Μέχρι πρόσφατα, η γενική άποψη ήταν ότι καλύτερα αποτελέσματα θερμικής επεξεργασίας λαμβάνονταν όταν αυτή λάμβανε χώρα στους 100°C (Young, 1982). Νέες έρευνες, εντούτις, έχουν δείξει πως τα τοιχώματα των λιποκυττάρων καταστρέφονται πρώτου η θερμοκρασία ανέλθει στους 50 °C, με αποτέλεσμα το έλαιο να είναι ελεύθερο, και θεωρητικά να είναι εφικτός και ο διαχωρισμός του από το στερεό υλικό (Αρβανιτογιάννης Ιωάννης,2011).

Η θερμική επεξεργασία είναι πολλές φορές δύσκολο να ελεγχθεί (Bimbo, 2000). Η παραγωγή ενός θερμικά επεξεργασμένου τροφίμου, εξαρτάται από την ποιότητα της πρώτης ύλης καθώς και τις συνθήκες επεξεργασίας. Έτσι η πιο κοινή πρακτική ψησίματος της πρώτης ύλης είναι να θερμανθεί στους 95- 100 εντός 15 με 20 λεπτά. Από την άλλη η υπερβολική θερμική επεξεργασία θα πρέπει να αποφεύγεται καθώς μπορεί να οδηγήσει στη παρουσία μεγάλων ποσοτήτων αιωρούμενων σωματιδίων στο κολλώδες νερό, γεγονός που δυσχεραίνει την εξάτμιση που θα ακολουθήσει (Αρβανιτογιάννης Ιωάννης,2011). Η απόδειξη ότι η θερμική επεξεργασία είναι επιτυχής είναι η καλή συμπίεστικότητα της μάζας, η οποία οδηγεί στην αποτελεσματική απομάκρυνση του εμπεριεχόμενου υγρού και, συγκεκριμένα στα λιπαρά ψάρια, στην αποτελεσματική συλλογή ελαίου (Αρβανιτογιάννης Ιωάννης,2011).

Στην παρούσα εργασία η πρώτη ύλη θερμάνθηκε στους 100°C για 30 λεπτά, με βρασμό. Στο πίνακα που ακολουθεί (Πίνακας 7) φαίνεται η απώλεια βάρους του εκάστοτε δείγματος μετά τον καθαρισμό και την θερμική επεξεργασία του.

Πίνακας 7. Αποτελέσματα απώλειας βάρους δειγμάτων μετά την θερμική επεξεργασία.

ΔΕΙΓΜΑ	ΑΡΧΙΚΟ ΒΑΡΟΣ(kg)	ΒΑΡΟΣ ΜΕΤΑ ΤΗΝ ΘΕΡΜΙΚΗ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ(gr)
Μαΐου	2,67	775,0
Ιουνίου	2	666,7
Ιουλίου	2	792,2
Αυγούστου	2	690,5
Σεπτεμβρίου	1	666,0
Οκτωβρίου	2	1.152,0

## 5.2.ΞΗΡΑΝΣΗ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ ΣΕ ΞΥΡΑΝΤΗΡΙΟ ΛΥΟΦΙΛΙΩΣΗΣ (FREEZE DRIER)

Η μέθοδος λυοφιλίωσης των τροφίμων είναι μία μέθοδος ξήρανσης, η οποία συνίσταται την κατάψυξη του υπό ξήρανση υλικού και κατόπιν την εξάχνωση του σχηματισθέντος πάγου μέσα στο κατεψυγμένο υλικό, ώστε να παραχθεί αφυδατωμένο προϊόν.

Η ξήρανση συντελείται σε τρία στάδια. Αρχικά, λόγω της κατάψυξης το νερό απομακρύνεται από τα ενυδατωμένα συστατικά του τροφίμου με τη δημιουργία παγοκρυστάλλων. Κατόπιν με εξάχνωση οι κρύσταλλοι απομακρύνονται από την μάζα του τροφίμου. Τέλος αφού όλο το νερό, υπό μορφή πάγου, απομακρυνθεί, η παραμένουσα ποσότητα δεσμευμένου νερού απομακρύνεται με εξάτμιση η οποία γίνεται με αύξηση της θερμοκρασίας του υλικού μέσα στον θάλαμο του λυοφιλοποιητή.

Η απομάκρυνση του μεγαλύτερου μέρους του νερού με εξάχνωση, συντελεί στη δημιουργία προϊόντος με πορώδη υφή που συγχρόνως διατηρεί το σχήμα και το μέγεθος του αρχικού υλικού. Η συρρίκνωση του τροφίμου είναι αμελητέα και η αλλοίωση λόγω της θερμότητας είναι ελάχιστη. Η διατήρηση των πτητικών αρωματικών συστατικών είναι επίσης πολύ καλή και ο βαθμός επανυδάτωσης του προϊόντος πολύ υψηλός.

*Πηγή: Σημειώσεις εργαστηρίου Επεξεργασίας 2, Θ. Βαρζάκας, ΤΕΙ Πελοποννησου.*

### 5.2.1.ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΛΥΟΦΙΛΙΩΣΗΣ

Τα δείγματα σαρδέλας αφού χωρίστηκαν σε επιμέρους μικρότερα δείγματα, καταψύχθηκαν και στη συνέχεια παρέμειναν στο λυοφιλοποιητή για 24 ώρες.

Πίνακας 8. Συγκεντρωτικά αποτελέσματα λυοφιλίωσης δειγμάτων.

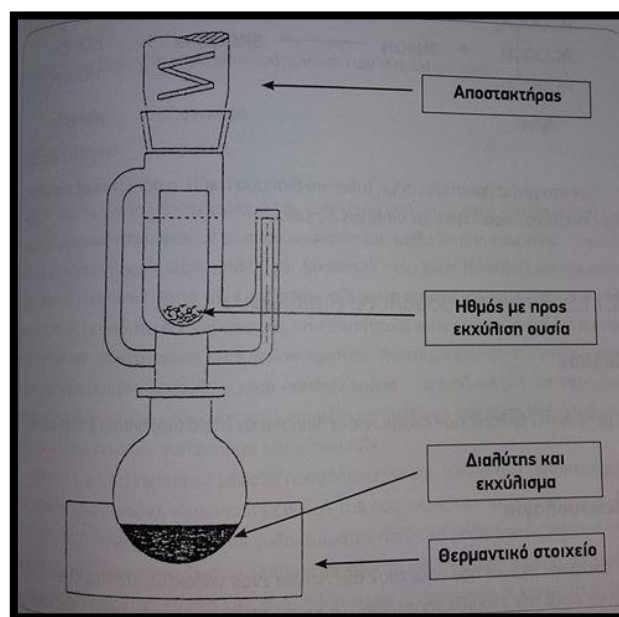
ΔΕΙΓΜΑ	ΑΡΧΙΚΟ ΒΑΡΟΣ (gr)	ΤΕΛΙΚΟ ΒΑΡΟΣ (gr)	ΥΓΡΑΣΙΑ ΠΟΥ ΧΑΘΗΚΕ (gr)	ΥΓΡΑΣΙΑ ΠΟΥ ΧΑΘΗΚΕ (%)
ΜΑΪΟΣ	775,0	290,8	484,2	62,5
ΙΟΥΝΙΟΣ	666,7	264,8	401,9	60,3
ΙΟΥΛΙΟΣ	792,2	217,6	574,6	72,5
ΑΥΓΟΥΣΤΟΣ	690,5	210,9	479,6	69,4
ΣΕΠΤΕΜΒΡΙΟΣ	666,0	154,2	511,8	76,8
ΟΚΤΩΒΡΙΟΣ	1.152,0	210,0	942,0	81,7

Στον παραπάνω πίνακα (Πίνακας 8) αναγράφονται περιληπτικά τα αποτελέσματα της λυοφιλίωσης των δειγμάτων. Όπως φαίνεται το μεγαλύτερο ποσοστό υγρασίας έχασε το δείγμα Οκτωβρίου, ενώ το μικρότερο ποσοστό το δείγμα του Ιουνίου.

### 5.3.ΕΚΧΥΛΙΣΗ ΙΧΘΥΕΛΑΙΟΥ (ΜΕΘΟΔΟΣ SOXHLET)

Ο ποσοτικός προσδιορισμός των λιπαρών ουσιών σε οποιοδήποτε δείγμα γίνεται με εκχύλιση του με έναν οργανικό διαλύτη. Για τα τρόφιμα η μέθοδος Soxhlet είναι ίσως η πιο διαδεδομένη μέθοδος υπολογισμού λίπους. Για να είναι αποτελεσματική η εκχύλιση θα πρέπει να έχει αφαιρεθεί πριν η υγρασία του δείγματος. Ενώ στη συνέχεια το δείγμα θα πρέπει να καταθρυμματιστεί. Ο θρυμματισμός του δείγματος γίνεται διότι με αυτόν τον τρόπο ο διαλύτης διαποτίζει ευκολότερα τα τεμμαχίδια του υπό εκχύλιση δείγματος και συμπαρασύρει έτσι τις λιπαρές ουσίες (Βαρζάκας Θ., σημειώσεις εργαστηρίου Επεξεργασίας II, ΤΕΙ Πελοποννήσου).

Μετά τον θρυμματισμό το δείγμα μεταφέρεται σε ειδική πορώδη θήκη (χωάνη), ενώ από πάνω τοποθετείται υδρόφιλος βάμβακας οποίος διατηρεί το δείγμα σταθερό κατά τη διαδικασία της εκχύλισης και αποτρέπει την μεταφορά τεμμαχιδίων στην υγρή φάση. Στη συνέχεια ο διαλύτης θερμαίνεται και φτάνει στον ψυκτήρα υπό την μορφή ατμών, εκεί συμπυκνώνεται και πέφτει υπό μορφή σταγονιδίων πάνω στο δείγμα διαποτίζοντας το. Οι σταγόνες συσσωρεύονται γύρω από το δείγμα στον εκχυλιστήρα της συσκευής και παραμένουν εκεί μέχρις ότου σχηματίσουν ελαιοδιάλυμα, το ύψος του οποίου φτάνει στο ύψος του πλευρικού σωλήνα (ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ Α, Εικόνα Α4, Α5). Τότε γίνεται σιφωνισμός δια μέσω του οποίου το περιεχόμενο του εκχυλιστήρα μεταφέρεται στον υποδοχέα της συσκευής (ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ Α, Εικόνα Α6) (Βαρζάκας Θ., σημειώσεις εργαστηρίου Επεξεργασίας II, ΤΕΙ Πελοποννήσου). Η διεργασία αυτή επαναλαμβάνεται συνεχώς για περίπου μία ώρα. Ο διαλύτης στη συνέχεια απομακρύνεται με εξάτμιση με αποτέλεσμα την παραμονή υπολείμματος στη φιάλη, το οποίο αποτελείται από το λίπος που υπήρχε αρχικά στο τρόφιμο (Σφλώμος Κ., 2011).



Πηγή: Χημεία Τροφίμων, Τόμος Ι, Κ. Σφλώμος, Αθήνα 2011.

Εικόνα 15. Προσδιορισμός λιπαρών υλών με τη μέθοδο Soxhlet.

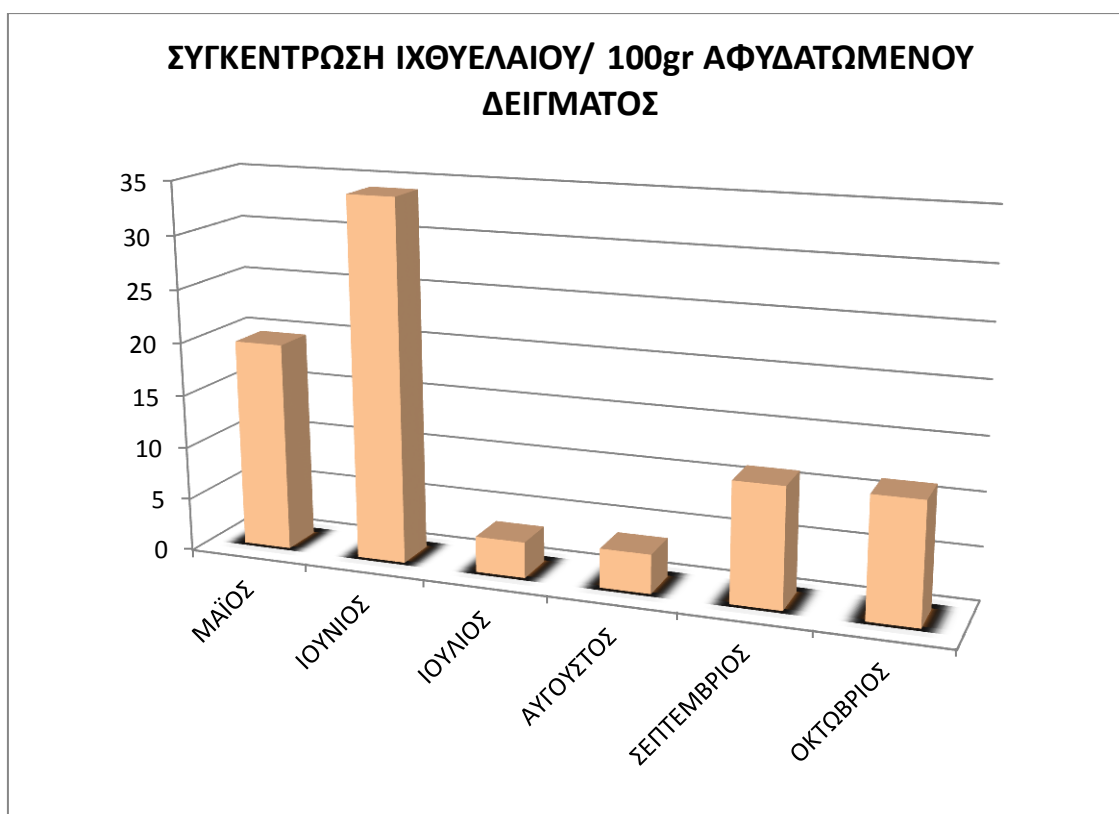


### 5.3.1. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΕΚΧΥΛΙΣΗΣ

Τα αρχικά δείγματα χωρίστηκαν σε επιμέρους μικρότερα δείγματα και εκχυλίστηκαν με εξάνιο. Η εκχύλιση του εκάστοτε δείγματος διήρκεσε 2-3 ώρες, παρακάτω (Πίνακας 9) φαίνονται τα αποτελέσματα της εκχύλισης.

Πίνακας 9. Αποτελέσματα εκχύλισης δειγμάτων.

ΔΕΙΓΜΑ	ΑΡΧΙΚΟ ΒΑΡΟΣ (gr)	ΤΕΛΙΚΟ ΒΑΡΟΣ (gr)	ΒΑΡΟΣ ΕΛΑΙΟΥ (gr)	ΕΛΑΙΟ ΑΝΑ 100gr ΔΕΙΓΜΑΤΟΣ (gr)
ΜΑΪΟΣ	290,8	213,80	57,40	19,7
ΙΟΥΝΙΟΣ	264,8	176,80	90,20	34,1
ΙΟΥΛΙΟΣ	217,6	209,50	7,43	3,4
ΑΥΓΟΥΣΤΟΣ	210,9	205,80	7,72	3,7
ΣΕΠΤΕΜΒΡΙΟΣ	154,2	141,24	17,40	11,3
ΟΚΤΩΒΡΙΟΣ	210,0	219,84	11,39	5,4



Εικόνα 16. Αποτελέσματα εκχύλισης.

Από την εκχύλιση και των έξι δειγμάτων φαίνεται πως την μεγαλύτερη συγκέντρωση ιχθυελαίου την έδωσε το δείγμα του Ιουνίου (Εικόνα 16). Με αρκετή διαφορά από το πρώτο, τη δεύτερη μεγαλύτερη συγκέντρωση έδωσε το δείγμα Μαΐου ενώ τις μικρότερες συγκεντρώσεις έδωσαν τα δείγματα του Ιουλίου και του Αυγούστου. Φυσικά τα αποτελέσματα αυτά δεν σχετίζονται με την συγκέντρωση των λιπαρών οξέων καθώς οι

αναφερόμενες ποσότητες ελαίου είναι πριν το στάδιο της φυγοκέντρισης και επομένως δεν έχει γίνει καθίζηση και απομάκρυνση των λιποπρωτεϊνών και άλλων υπολειμμάτων στο έλαιο.

#### 5.4. ΦΥΓΟΚΕΝΤΡΙΣΗ ΕΛΑΙΟΥ

Ο διαχωρισμός των στερεών από τα ρευστά μέσω της φυγοκέντρισης είναι μία συνηθισμένη διαδικασία στη βιομηχανία παραγωγής ιχθυελαίου. Η φυγοκέντριση είναι μία απλή διαδικασία καθαρισμού του ελαίου από τις λιποπρωτεΐνες και τα τυχόν υπολείμματα που παρέμειναν στο έλαιο μετά την εκχύλιση και απομάκρυνση του ελαίου. Επιπλέον έχει ως αποτέλεσμα την απόσπηση και τον αποχρωματισμό του ελαίου. Όσον αφορά τα μειονεκτήματα της, η φυγοκέντριση τείνει να δημιουργεί γαλακτώματα, δυσχεραίνοντας έτσι τον μετέπειτα διαχωρισμό του ελαίου.

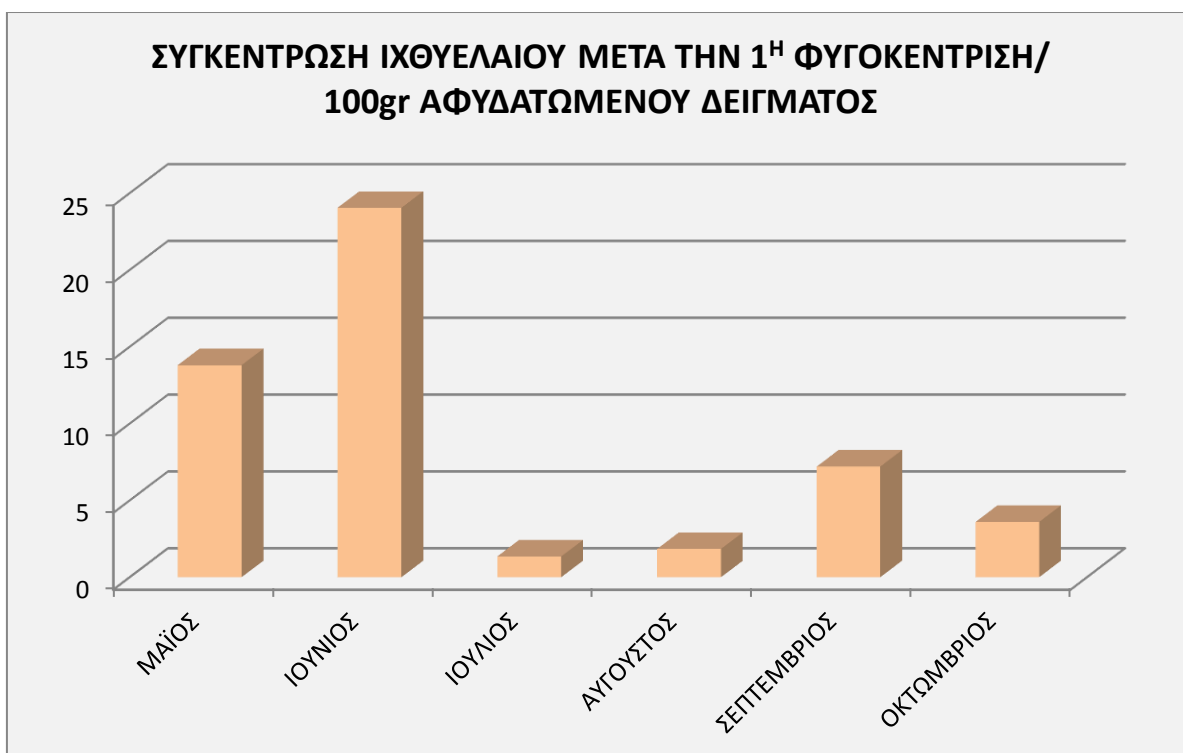
##### 5.4.1. ΦΥΓΟΚΕΝΤΡΙΣΗ ΜΕ NaOH ΚΑΙ H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>

Στην παρούσα εργασία, μετά την εκχύλιση το έλαιο φυγοκεντρίθηκε για πρώτη φορά με διάλυμα 1N καυστικού νατρίου (NaOH) και 1N φωσφορικό οξύ (H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>). Τα αποτελέσματα της πρώτης φυγοκέντρισης φαίνονται στον παρακάτω πίνακα (Πίνακας 10).

Πίνακας 10. Αποτελέσματα 1<sup>ης</sup> φυγοκέντρισης δειγμάτων.

ΔΕΙΓΜΑ	ΒΑΡΟΣ ΕΛΑΙΟΥ ΠΡΙΝ ΤΗ 1 <sup>η</sup> ΦΥΓΟΚΕΝΤΡΙΣΗ (gr)	ΒΑΡΟΣ ΕΛΑΙΟΥ ΜΕΤΑ ΤΗ 1 <sup>η</sup> ΦΥΓΟΚΕΝΤΡΙΣΗ (gr)	ΕΛΑΙΟ ΑΝΑ 100gr ΔΕΙΓΜΑΤΟΣ ΜΕΤΑ ΤΗ 1 <sup>η</sup> ΦΥΓΟΚΕΝΤΡΙΣΗ (gr)
ΜΑΪΟΣ	57,40	40,03	13,80
ΙΟΥΝΙΟΣ	90,20	63,68	24,04
ΙΟΥΛΙΟΣ	7,43	2,95	1,35
ΑΥΓΟΥΣΤΟΣ	7,72	3,90	1,84
ΣΕΠΤΕΜΒΡΙΟΣ	17,40	11,09	7,20
ΟΚΤΩΒΡΙΟΣ	11,39	7,54	3,60

Όπως φαίνεται από τον παραπάνω πίνακα, καθώς και από το γράφημα (Εικόνα 17) που ακολουθεί οι συγκεντρώσεις του ιχθυελαίου δεν άλλαξα ως προς την σειρά. Ωστόσο εμφανίστηκε αρκετά σημαντική διαφορά στην ποσότητα του κάθε δείγματος, αυτό οφείλεται στην απομάκρυνση των λιποπρωτεϊνών και άλλων υπολειμμάτων, καθώς και σε μικρό απώλειες ελαίου κατά την μεταφορά του από την φυγόκεντρο στους ειδικούς περιέκτες για την διατήρηση του μέχρι την επόμενη φυγοκέντριση με ζεόληθο.



Εικόνα 17. Αποτελέσματα πρώτης φυγοκέντρησης.

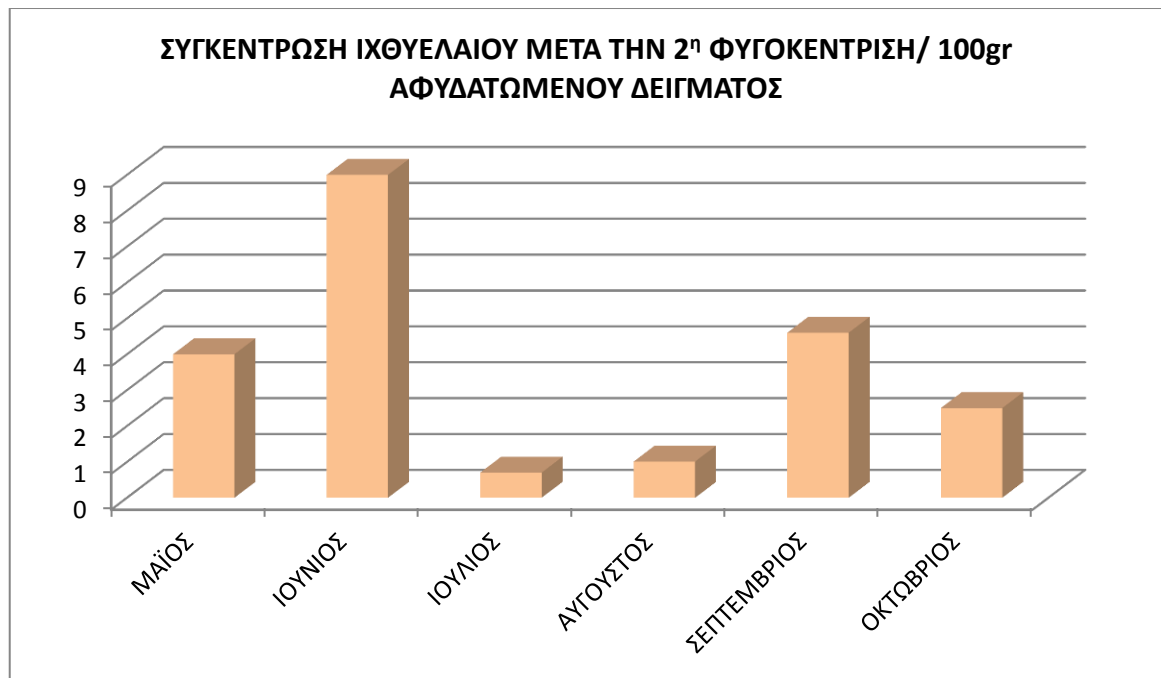
#### 5.4.2. ΦΥΓΟΚΕΝΤΡΗΣΗ ΜΕ ΖΕΟΛΙΘΟ

Η δεύτερη φυγοκέντρηση των δειγμάτων έγινε με ζεόλιθο για περαιτέρω απόσμιση και λεύκανση των δειγμάτων.

Στον πίνακα (Πίνακας 11) και το γράφημα (Εικόνα 18) που ακολουθούν φαίνονται οι μεταβολές στην ποσότητα του ελαίου μετά την 2<sup>η</sup> φυγοκέντρηση των δειγμάτων με ζεόλιθο.

Πίνακας 11. Αποτελέσματα 2<sup>ης</sup> φυγοκέντρησης δειγμάτων.

ΔΕΙΓΜΑ	ΒΑΡΟΣ ΕΛΑΙΟΥ ΠΡΙΝ ΤΗ 2 <sup>η</sup> ΦΥΓΟΚΕΝΤΡΙΣΗ (gr)	ΒΑΡΟΣ ΕΛΑΙΟΥ ΜΕΤΑ ΤΗΝ 2 <sup>η</sup> ΦΥΓΟΚΕΝΤΡΙΣΗ (gr)	ΕΛΑΙΟ ΑΝΑ 100gr ΔΕΙΓΜΑΤΟΣ ΜΕΤΑ ΤΗ 2 <sup>η</sup> ΦΥΓΟΚΕΝΤΡΙΣΗ (gr)
ΜΑΪΟΣ	40,03	11,43	4,00
ΙΟΥΝΙΟΣ	63,68	24,00	9,00
ΙΟΥΛΙΟΣ	2,95	1,50	0,70
ΑΥΓΟΥΣΤΟΣ	3,90	2,15	1,01
ΣΕΠΤΕΜΒΡΙΟΣ	11,09	7,05	4,60
ΟΚΤΩΒΡΙΟΣ	7,54	5,15	2,50



Εικόνα 18. Αποτελέσματα 2<sup>ης</sup> φυγοκέντρησης.

#### 5.4.2.1.ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΦΥΓΟΚΕΝΤΡΙΣΗΣ ΜΕ ΖΕΟΛΙΘΟ

Κατά το τέλος της φυγοκέντρισης των δειγμάτων παρατηρήθηκε μία σημαντική διαφορά στην οσμή καθώς και στο χρώμα τους. Για τον λόγο αυτό επιπλέον δείγματα εκχυλίστηκαν, με τον τρόπο που προαναφέρθηκε, με σκοπό την οργανοληπτική αξιολόγηση της οσμής των δειγμάτων μέσω της όσφρησης.

Τα δείγματα που μελετήθηκαν ήταν τρία, το πρώτο ήταν ιχθυέλαιο το οποίο δεν είχε υποστεί απολύτως καμία επεξεργασία μετά την εκχύλιση του, το δεύτερο δείγμα φυγοκεντρίθηκε καυστικό νάτριο (NaOH) και φωσφορικό οξύ ( $H_3PO_4$ ), ενώ το τελευταίο δείγμα φυγοκεντρίθηκε και αυτό αρχικά με NaOH και  $H_3PO_4$  και στη συνέχεια φυγοκεντρίθηκε για δεύτερη φορά με ζεόλιθο. Όλες οι φυγοκεντρίσεις διήρκησαν 30 λεπτά στις 3000 στροφές.

Για την βαθμολόγηση της οσμής του εκάστοτε δείγματος δημιουργήθηκε μία κλίμακα βαθμολόγησης (Εικόνα 13). Η κλίμακα αποτελούνταν από αριθμούς από το 0 έως το 5 και είχε την μορφή που ακολουθεί παρακάτω.



Εικόνα 13. Κλίμακα βαθμολόγησης της οσμής του ιχθυελαίου.

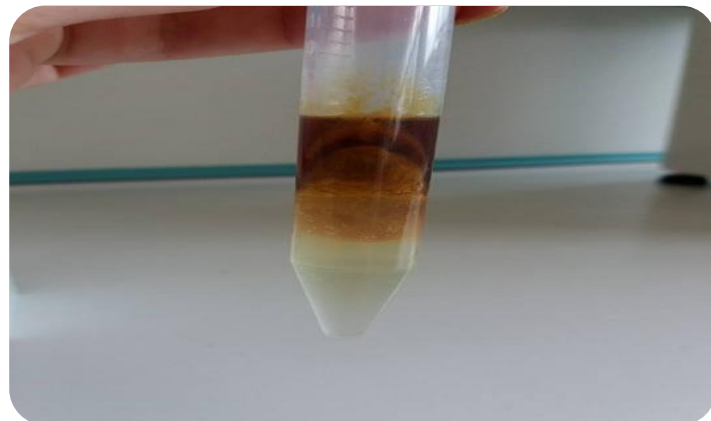
Όσο πιο δυνατή και δυσάρεστη ήταν η ένταση της οσμής του ιχθυελαίου η κλίμακα ανεβαίνει από το 0 προς το 5, ενώ όσο μειωνόταν η ένταση της η κλίμακα κατέβαινε από το 5 προς το 0.

Το πρώτο δείγμα (Εικόνα 19) είχε την πιο έντονη και δυσάρεστη μυρωδιά. Η μυρωδιά του θύμιζε έντονα αυτή των ιχθύων καθώς και έδινε την αίσθηση του καμένου λίπους κάνοντας το έτσι να φτάσει στην κορυφή της κλίμακας αγγίζοντας το 5. Επίσης είναι σημαντικό να αναφερθεί πως το χρώμα του ήταν πολύ σκούρο καφέ και καθόλου διαυγές όπως φαίνεται στην παρακάτω φωτογραφία.



Εικόνα 19. Ιχθυέλαιο αμέσως μετά την εκχύλιση του.

Το δεύτερο δείγμα είχε μία πιο ήπια μυρωδιά ιχθύων και καθόλου μυρωδιά καμένου λίπους φτάνοντας έτσι το 3 στη κλίμακα, ενώ το χρώμα του ήταν πιο ανοιχτό καφέ και διαυγές σε σχέση με το πρώτο δείγμα. Η αλλαγή της οσμής και του χρώματος οφείλεται στην απομάκρυνση των λιποπρωτεϊνών και των υπολειμμάτων που υπήρχαν στο αρχικό έλαιο, με τη χρήση διαλυμάτων  $\text{NaOH}$  και  $\text{H}_3\text{PO}_4$ .



Εικόνα 20. Ιχθυέλαιο μετά την φυγοκέντριση του με  $\text{NaOH}$  και  $\text{H}_3\text{PO}_4$

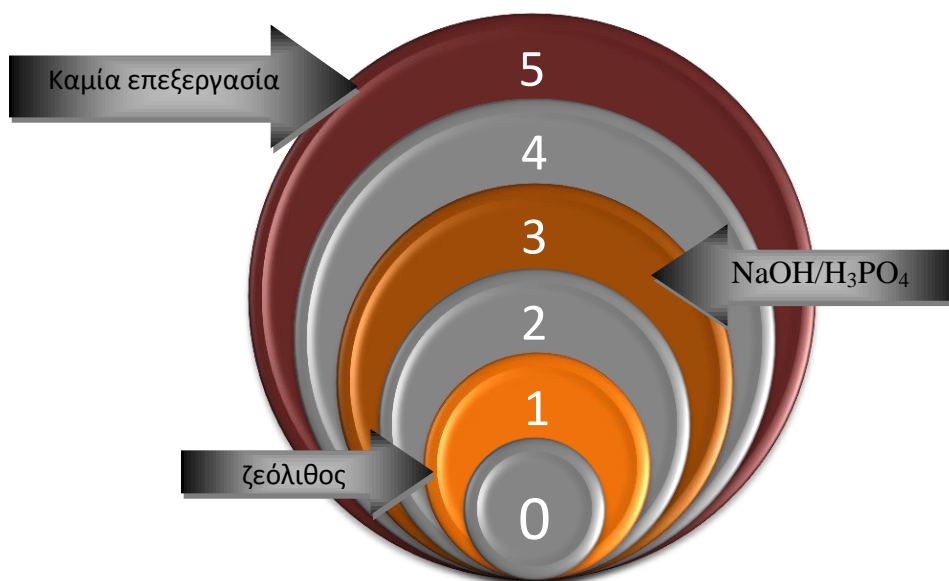
Στην Εικόνα 20 φαίνεται το δείγμα μετά την φυγοκέντριση του. Στο πάνω μέρος φαίνεται το καθαρό από λιποπρωτεΐνες έλαιο, ακριβώς από κάτω βρίσκεται το στρώμα των λιποπρωτεϊνών που διαχωρίστηκαν από το έλαιο, ενώ στην κατώτερη φάση βρίσκεται το διάλυμα  $\text{NaOH}/\text{H}_3\text{PO}_4$ .

Το τελευταίο δείγμα (Εικόνα 21) το οποίο υποβλήθηκε σε δύο φυγοκεντρίσεις ( $\text{NaOH}/\text{H}_3\text{PO}_4$  και ζεόλιθος), εμφάνισε την καλύτερη οσμή και όψη από τα δύο προηγούμενα δείγματα φτάνοντας στην κλίμακα το 1. Η τελικά φυγοκέντρωση με ζεόλιθο έδωσε στο έλαιο μία πιο ήπια μυρωδιά από ψάρι και ένα χρώμα μεταξύ πορτοκαλί και καφέ, το οποίο ήταν και αρκετά διαυγές. Το δείγμα φαίνεται παρακάτω για την καλύτερη κατανόηση της αλλαγής του χρώματος του.



Εικόνα 21. Ιχθυέλαιο μετά την φυγοκέντρωση του με ζεόλιθο.

. Παρακάτω δίνεται η κλίμακα βαθμολόγησης με τις τιμές και των τριών δειγμάτων.



Εικόνα 22. αποτελέσματα αξιολόγησης της οσμής και του χρώματος του ελαίου.

## 5.5.ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΗ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ ΕΚΧΥΛΙΣΗΣ/ΦΥΓΟΚΕΝΤΡΙΣΗΣ

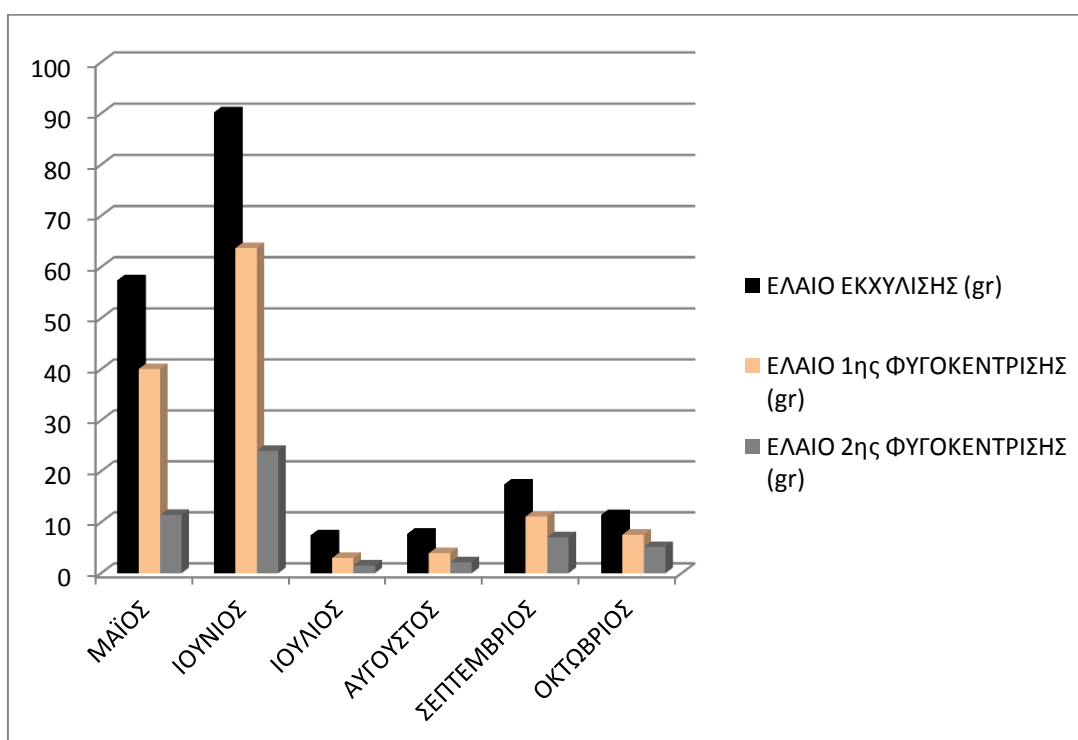
Παρατηρώντας τα αποτελέσματα των παραπάνω πινάκων φαίνεται πως κατά την διάρκεια των φυγοκεντρίσεων η ποσότητα του ελαίου μειώνεται σημαντικά σε σχέση με την αρχική της τιμή. Όπως προαναφέρθηκε αυτό οφείλεται στην απομάκρυνση των λιποπρωτεϊνών και άλλων στοιχείων που υπάρχουν μέσα στο έλαιο, αλλά και στην απώλεια μικρών ποσοτήτων ελαίου κατά την μετάγγιση του στους περιέκτες για την συντήρηση του.

Στο παρακάτω γράφημα (Εικόνα 23) φαίνονται συγκεντρωτικά τα αποτελέσματα των διεργασιών του ιχθυελαίου μετά την εκχύλιση του και πριν τον ποσοτικό και ποιοτικό προσδιορισμό των λιπαρών οξέων που αυτό περιείχε.

### 5.5.1.ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ/ ΠΟΣΟΤΗΤΑ ΔΕΙΓΜΑΤΟΣ ΠΟΥ ΧΡΗΣΙΜΟΠΟΙΗΘΗΚΕ

Πίνακας 12.Αποτελέσματα εκχύλισης και φυγοκεντρίσεων δειγμάτων που χρησιμοποιήθηκαν.

ΔΕΙΓΜΑ	ΕΛΑΙΟ ΕΚΧΥΛΙΣΗΣ (gr)	ΕΛΑΙΟ 1 <sup>ης</sup> ΦΥΓΟΚΕΝΤΡΙΣΗΣ (gr)	
		ΕΛΑΙΟ 1 <sup>ης</sup> ΦΥΓΟΚΕΝΤΡΙΣΗΣ (gr)	ΕΛΑΙΟ 2 <sup>ης</sup> ΦΥΓΟΚΕΝΤΡΙΣΗΣ (gr)
ΜΑΪΟΣ	57,40	40,03	11,43
ΙΟΥΝΙΟΣ	90,20	63,68	24,00
ΙΟΥΛΙΟΣ	7,43	2,95	1,50
ΑΥΓΟΥΣΤΟΣ	7,72	3,90	2,15
ΣΕΠΤΕΜΒΡΙΟΣ	17,40	11,09	7,05
ΟΚΤΩΒΡΙΟΣ	11,39	7,54	5,15



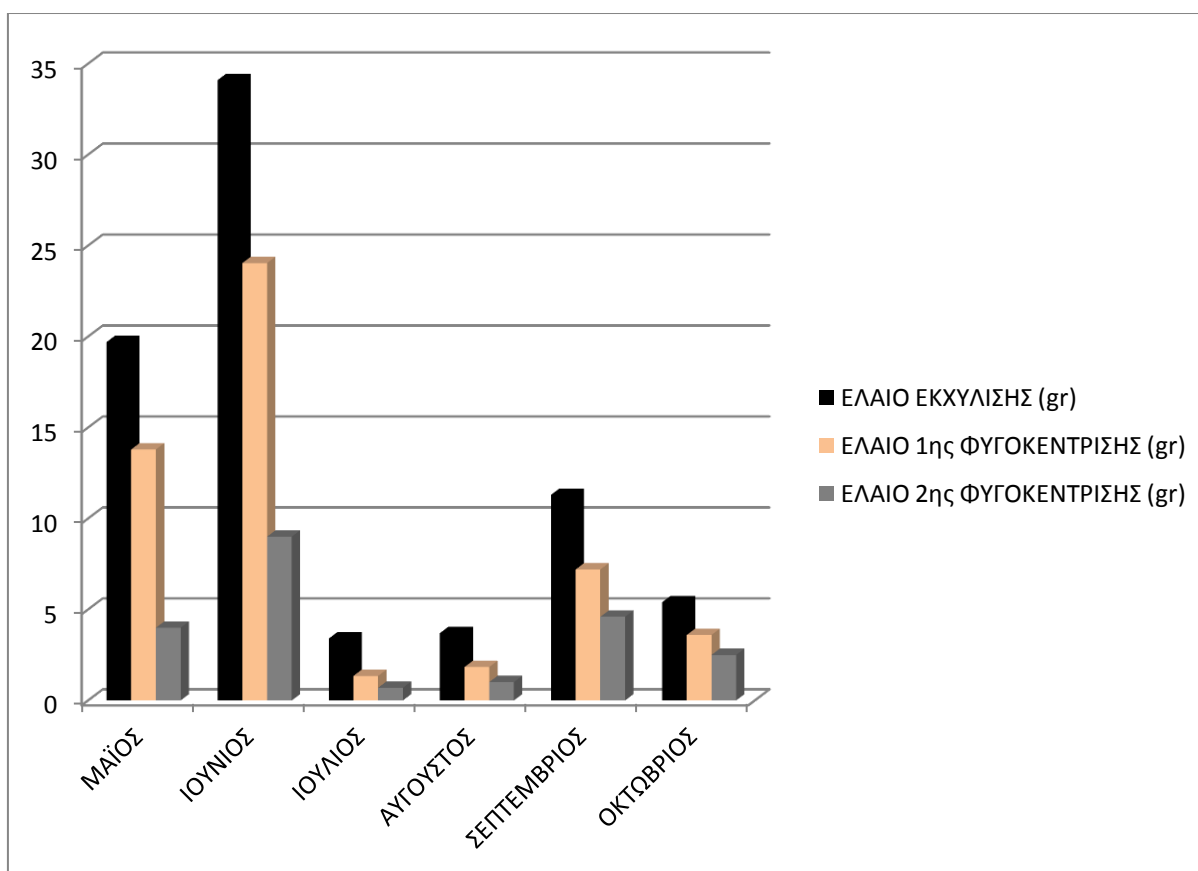
Εικόνα 23.Αποτελέσματα εκχύλισης και φυγοκεντρίσεων δειγμάτων που χρησιμοποιήθηκαν.



### 5.5.2.ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ/100gr ΔΕΙΓΜΑΤΟΣ

Πίνακας 13. Αποτελέσματα εκχύλισης και φυγοκεντρίσεων/ 100gr δείγματος.

ΔΕΙΓΜΑ	ΕΛΑΙΟ ΕΚΧΥΛΙΣΗΣ (gr)	ΕΛΑΙΟ 1 <sup>ης</sup> ΦΥΓΟΚΕΝΤΡΙΣΗΣ (gr)	ΕΛΑΙΟ 2 <sup>ης</sup> ΦΥΓΟΚΕΝΤΡΙΣΗΣ (gr)
ΜΑΪΟΣ	19,70	13,80	4,00
ΙΟΥΝΙΟΣ	34,10	24,04	9,00
ΙΟΥΛΙΟΣ	3,40	1,35	0,70
ΑΥΓΟΥΣΤΟΣ	3,70	1,84	1,01
ΣΕΠΤΕΜΒΡΙΟΣ	11,30	7,20	4,60
ΟΚΤΩΒΡΙΟΣ	5,40	3,60	2,50



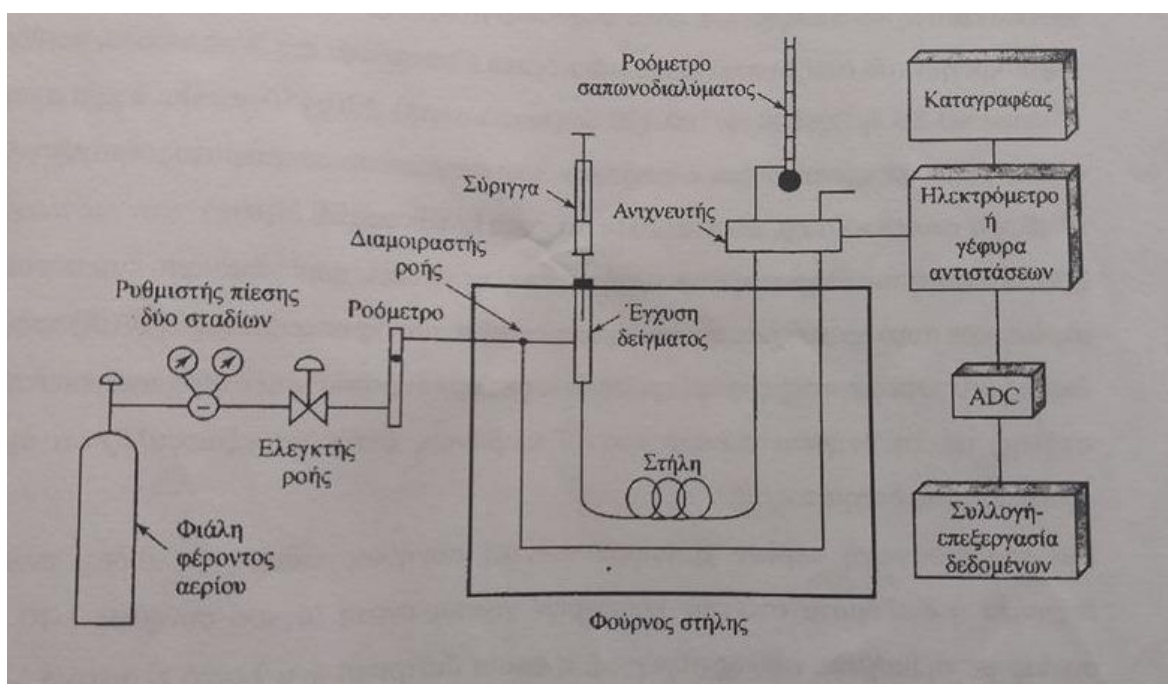
Εικόνα 24. Αποτελέσματα εκχύλισης και φυγοκεντρίσεων/ 100gr δείγματος.

## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 6<sup>ο</sup>: ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ-ΣΥΖΗΤΗΣΗ

### 6.1.ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ ΑΕΡΙΟΥ ΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΑΣ ΜΕ ΑΝΙΧΝΕΥΤΗ ΙΟΝΙΣΜΟΥ ΦΛΟΓΑΣ

Χρωματογραφική ορίζεται η τεχνική που χρησιμοποιείται για τον διαχωρισμό των συστατικών ενός δείγματος, στην οποία τα συστατικά κατανέμονται ανάμεσα σε δύο μη αναμιγνυόμενες φάσεις, η μία από τις οποίες είναι στατική, ενώ η άλλη κινείται (Παπαδογιάννης Ι., Σαμανίδου Β., 2001). Τα συστατικά του μείγματος μετακινούνται με την βοήθεια της κινητικής φάσης πάνω στην ακίνητη φάση με διαφορετική ταχύτητα και έτσι προκαλείται ο διαχωρισμός τους (Σημειώσεις εργαστηρίου ενόργανης χημικής ανάλυσης, Τει Πελοποννήσου, 2014).

Στην αέριο χρωματογραφία το δείγμα εξατμίζεται και εγχέεται στη κεφαλή μιας χρωματογραφικής στήλης. Η έκλυση πραγματοποιείται με ροή αδρανούς αερίου το οποίο αποτελεί την κινητή φάση και ο μόνος του ρόλος είναι η διακίνηση του αναλυτή κατά μήκος της στήλης (Σημειώσεις εργαστηρίου ενόργανης χημικής ανάλυσης, Τει Πελοποννήσου, 2014). Ενώ η αέρια χρωματογραφία βασίζεται στις ίδιες απλές αρχές στις οποίες στηρίζονται και όλες οι άλλες μορφές χρωματογραφίας, τα όργανα που χρησιμοποιεί είναι σημαντικά πολυπλοκότερα (Σημειώσεις εργαστηρίου ενόργανης χημικής ανάλυσης, Τει Πελοποννήσου, 2014). Στην εικόνα που ακολουθεί φαίνονται τα κυριότερα μέρη ενός αέριου χρωματογράφου.

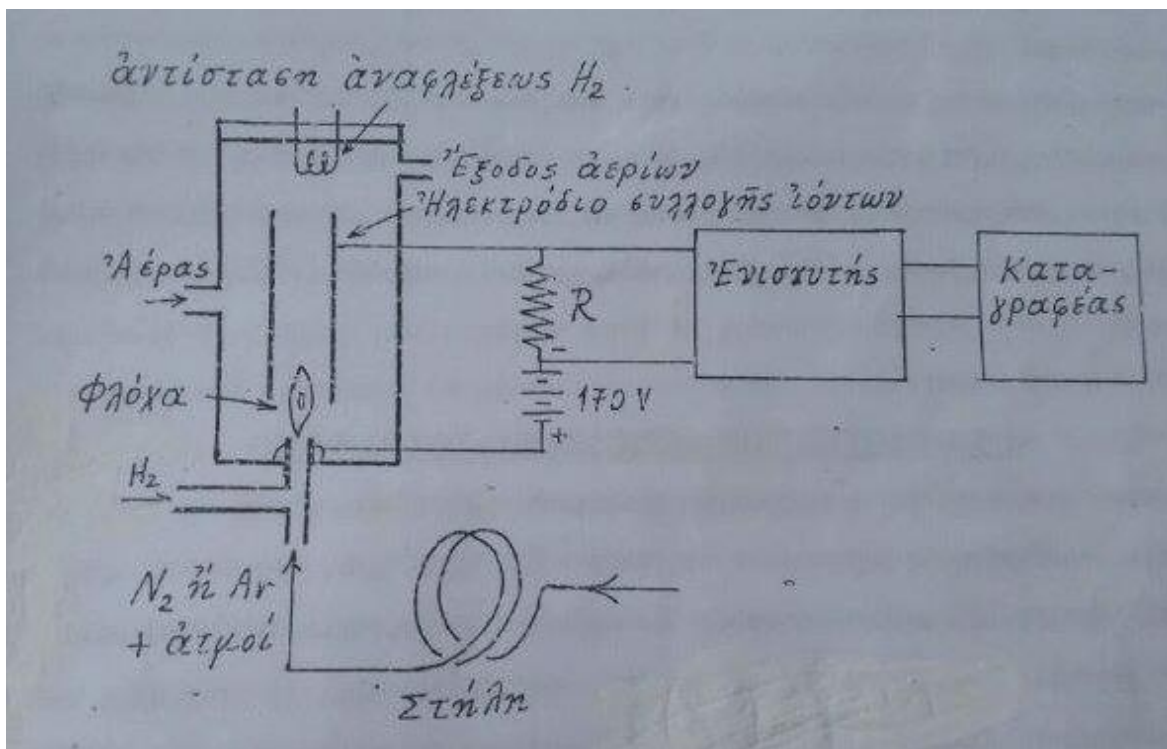


Πηγή: Σημειώσεις εργαστηρίου ενόργανης χημικής ανάλυσης, Τει Πελοποννήσου, 2014

Εικόνα 255. Κύρια μέρη αέριου χρωματογράφου.

Στην παρούσα εργασία η αέριος χρωματογραφία που χρησιμοποιήθηκε ήταν αέριος χρωματογραφία με ανιχνευτή ιονισμού φλόγας.

Ο ανιχνευτής ιονισμού φλόγας στηρίζεται στη συνεχή μέτρηση του ρεύματος ιονισμού μιας μικρής φλόγας υδρογόνου, το οποίο οφείλεται στον ιονισμό των αερίων.



Πηγή: Σημειώσεις εργαστηρίου ενόργανης χημικής ανάλυσης, Τει Πελοποννήσου, 2014

Εικόνα 16. Κύρια μέρη ανιχνευτή ιονισμού φλόγας.

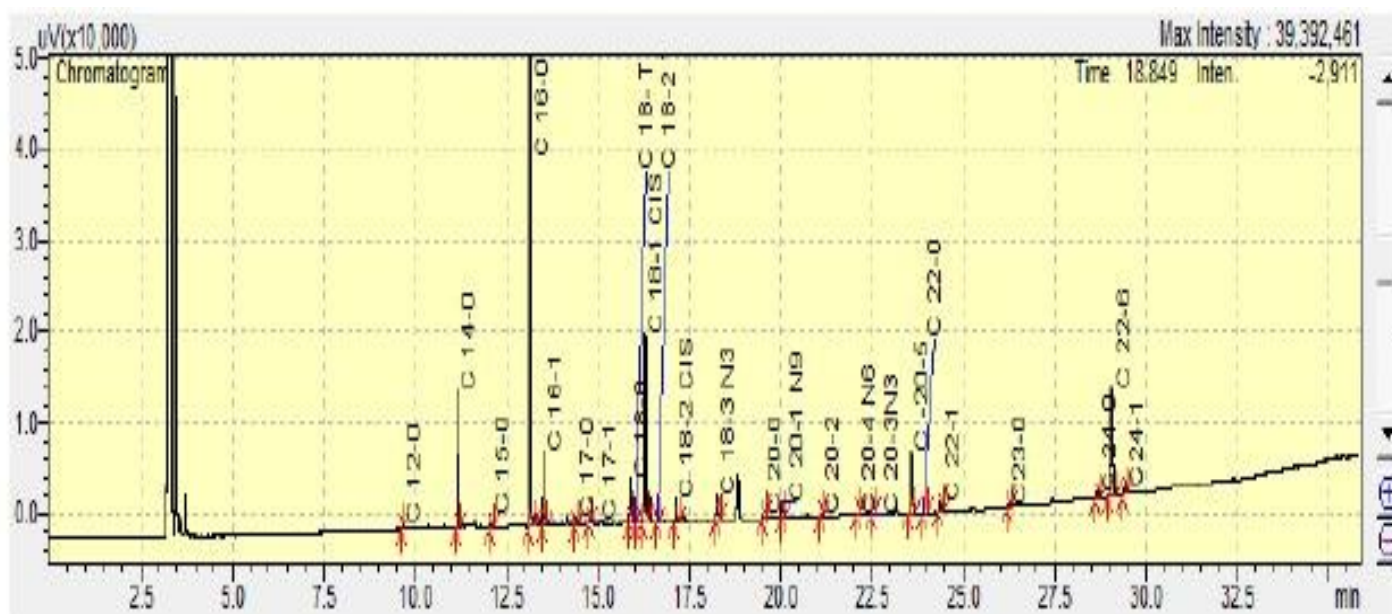
Το εξερχόμενο από τη στήλη αέριο διαβιβάζεται κατ' ευθείαν μέσα από την μικρή φλόγα υδρογόνου και όσο από την στήλη δεν βγαίνουν συστατικά του εξεταζόμενου μίγματος, ο ιονισμός της φλόγας είναι πολύ μικρός και οφείλεται μόνο στο  $H_2$  και στο φέρον αέριο (συνήθως  $N_2$  και  $Ar$ ). Όταν όμως βγαίνουν από τη στήλη οι ατμοί ενός συστατικού, αναμεμιγμένοι με  $N_2$  ή  $Ar$  αυτοί καίονται στη φλόγα, δημιουργώντας μεγάλο αριθμό ιόντων. Τα ιόντα αυτά συλλέγονται από κατάλληλο ηλεκτρόδιο, το δε αυτό αυξημένο ρεύμα ιονισμού προκαλεί μια αυξημένη διαφορά δυναμικού στα άκρα της αντιστάσεως  $R$ . Η διαφορά αυτή ενισχύεται και κατόπιν καταγράφεται δίνοντας το χρωματογράφημα.

Πηγή: Σημειώσεις εργαστηρίου ενόργανης χημικής ανάλυσης, Τει Πελοποννήσου, 2014

## 6.2.ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΛΙΠΑΡΩΝ ΟΞΕΩΝ

### 6.2.1.ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΑΝΑΛΥΣΗΣ ΔΕΙΓΜΑΤΟΣ ΜΑΙΟΥ

Έγινε προσδιορισμός του συνόλου των λιπαρών μέσω της αέριου χρωματογραφίας. Τα αποτελέσματα φαίνονται στο παρακάτω χρωματογράφημα (Εικόνα 17).



Εικόνα 17.Χρωματογράφημα προσδιορισμού λιπαρών οξέων στο έλαιο σαρδέλας κατά τον μήνα Μάιο.

Στον παρακάτω πίνακα (Πίνακας 14) φαίνονται οι % συγκεντρώσεις των παραμέτρων που εξετάστηκαν στο έλαιο σαρδέλας, σύμφωνα με το παραπάνω χρωματογράφημα.

Πίνακας 14. Παράμετροι που εξετάστηκαν κατά την ανάλυση του δείγματος Μαΐου.

Παράμετροι που εξετάστηκαν	%
C 4:0 butyric	0.0
C 6:0 Capronic	0.0
C 8:0 Caprylic	0.0
C 10:0 Capric	0.0
C 12:0 Lauric	0.3
C 14:0 myristic	7.6
C 14:1 myristoleic	0.0
C 15 Pendadecanoic	0.90
C 15:1 cis-10-pendadecanoic	0.0
C 16:0 palmitic	31.7

<b>C 16:1 palmitoleic</b>	<b>5.0</b>
<b>C 17:0 Heptadecanoic</b>	<b>0.7</b>
<b>C 17:1 cis-10 Heptadecanoic</b>	<b>0.2</b>
<b>C 18:0 stearic</b>	<b>4.1</b>
<b>C 18:1 trans</b>	<b>0.08</b>
<b>C 18:1 oleic</b>	<b>16.0</b>
<b>C 18:2 trans</b>	<b>0.1</b>
<b>C 18:2 linoleic</b>	<b>2.4</b>
<b>C 20:0 Arachidic</b>	<b>0.3</b>
<b>C 18:3n3 α-linolenic</b>	<b>2.8</b>
<b>C 20:1 cis-9-Eicosenoic acid</b>	<b>2.0</b>
<b>C 21:0 hemicosanoic</b>	<b>0.0</b>
<b>C 20:3 n3 eikosatrienoic</b>	<b>0.2</b>
<b>C 22:0 Behenic</b>	<b>0.2</b>
<b>C 20:3 n6 eikosatrienoic</b>	<b>0.0</b>
<b>C 20:4 n6 Arachidonic</b>	<b>0.4</b>
<b>C 22:1 Erucic</b>	<b>1.3</b>
<b>C 23:0 tricosanoic</b>	<b>0.3</b>
<b>C 22:2 docosadienoic</b>	<b>0.0</b>
<b>C 20:5n3 EPA</b>	<b>7.0</b>
<b>C 24:0 Lignoceric</b>	<b>0.6</b>
<b>C 24:1 nevronic</b>	<b>1.1</b>
<b>C 22:6 n3 DHA</b>	<b>14.6</b>

### 6.2.1.1.ΣΥΖΗΤΗΣΗ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ

Από τα παραπάνω αποτελέσματα δημιουργήθηκε ο παρακάτω συγκεντρωτικός πίνακας.

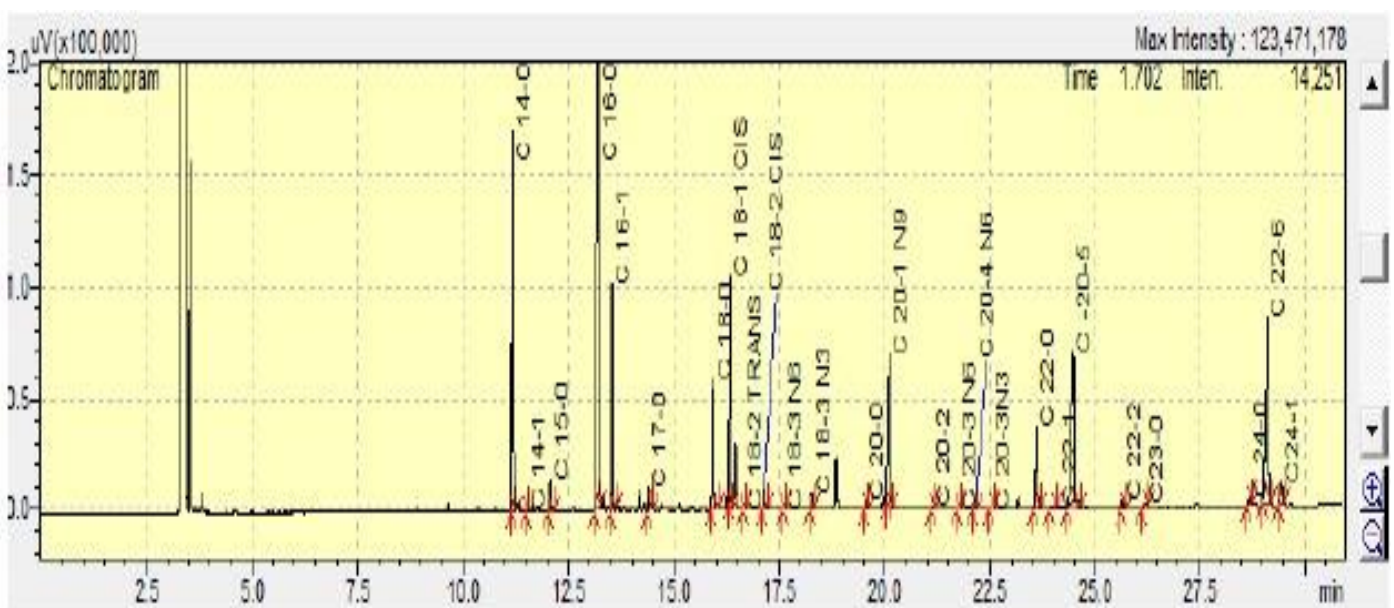
Πίνακας 15. Συγκεντρωτικά αποτελέσματα ανάλυσης.

Αποτελέσματα των εξετάσεων / Analysis report				
Παράμετροι που εξετάστηκαν Tested parameters	Αποτελέσματα Results	Μονάδες Units	Όρια που ισχύουν* Legislation limits	Μέθοδος ανάλυσης Method of analysis
Μονοακόρεστα %	25.7	%		GC-FID
Κορεσμένα %	46.7	%		
Πολυακόρεστα %	27.6	%	-	
Trans %	0,1	%		
Ω3	24.6	%	-	
Ω6	3.1	%	-	
EPA+DHA	21.6	%	-	

Από τα παραπάνω φαίνεται πως τα κορεσμένα μονοακόρεστα και πολυακορεστα λιπαρά οξέα φαίνεται να ξεπερνούν στο άθροισμά τους τα κορεσμένα. Ενώ από την άλλη πλευρά τα trans λιπαρά φαίνεται να υπάρχουν σε ελάχιστη ποσότητα μέσα στο έλαιο. Όσον αφορά τα Ω3 βρίσκονται σε ένα αρκετά καλό επίπεδο του 24,6% εκ τωου οποίου το 21,6% είναι τα λιπαρά οξέα EPA (7,0%) και DHA (14,6%), ενώ τα Ω6 ανέρχονται μόλις στο 3,1%.

### 6.2.2.ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΑΝΑΛΥΣΗΣ ΔΕΙΓΜΑΤΟΣ ΙΟΥΝΙΟΥ

Τα αποτελέσματα του παρακάτω χρωματογραφήματος είναι από το δεύτερο δείγμα (Ιουνίου).



Εικόνα 26.Χρωματογράφημα προσδιορισμού λιπαρών οξέων στο έλαιο σαρδέλας κατά τον μήνα Ιούνιο.

Παρακάτω (Πίνακας 16) αναφέρονται οι % συγκεντρώσεις των λιπαρών οξέων.

Πίνακας 16. Παράμετροι που εξετάστηκαν κατά την ανάλυση του δείγματος Ιουνίου.

<b>Παράμετροι που εξετάστηκαν</b>	<b>%</b>
<b>C 4:0 butyric</b>	<b>0.0</b>
<b>C 6:0 Capronic</b>	<b>0.0</b>
<b>C 8:0 Caprylic</b>	<b>0.0</b>
<b>C 10:0 Capric</b>	<b>0.0</b>
<b>C 12:0 Lauric</b>	<b>0.0</b>
<b>C 14:0 myristic</b>	<b>9.6</b>
<b>C 14:1 myristoleic</b>	<b>0.0</b>
<b>C 15 Pendadecanoic</b>	<b>0.90</b>
<b>C 15:1 cis-10-pendadecanoic</b>	<b>0.0</b>
<b>C 16:0 palmitic</b>	<b>27.7</b>
<b>C 16:1 palmitoleic</b>	<b>6.9</b>
<b>C 17:0 Heptadecanoic</b>	<b>0.7</b>
<b>C 17:1 cis-10 Heptadecanoic</b>	<b>0.0</b>
<b>C 18:0 stearic</b>	<b>4.8</b>
<b>C 18:1 trans</b>	<b>0.0</b>
<b>C 18:1 oleic</b>	<b>9.5</b>
<b>C 18:2 trans</b>	<b>0.1</b>
<b>C 18:2 linoleic</b>	<b>1.0</b>
<b>C 20:0 Arachidic</b>	<b>0.6</b>
<b>C 18:3n6 γ-linolenic</b>	<b>0.08</b>
<b>C 18:3n3 α-linolenic</b>	<b>0.7</b>
<b>C 20:1 cis-9-Eicosenoic acid</b>	<b>7.3</b>
<b>C 21:0 hemicosanoic</b>	<b>0.0</b>
<b>C 20:2 eicosadienoic</b>	<b>0.2</b>
<b>C 20:3 n3 eikosatrienoic</b>	<b>0.1</b>
<b>C 22:0 Behenic</b>	<b>4.4</b>



<b>C 20:3 n6 eikosatrienoic</b>	<b>0.0</b>
<b>C 20:4 n6 Arachidonic</b>	<b>0.3</b>
<b>C 22:1 Erucic</b>	<b>0.0</b>
<b>C 23:0 tricosanoic</b>	<b>0.3</b>
<b>C 22:2 docosadienoic</b>	<b>0.4</b>
<b>C 20:5n3 EPA</b>	<b>11.0</b>
<b>C 24:0 Lignoceric</b>	<b>0.3</b>
<b>C 24:1 nevrionic</b>	<b>0.5</b>
<b>C 22:6 n3 DHA</b>	<b>12.0</b>

#### 6.2.2.1.ΣΥΖΗΤΗΣΗ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ

Παρακάτω (Πίνακας 17) φαίνονται τα αποτελέσματα του δείγματος περιληπτικά.

Πίνακας 17. Συγκεντρωτικά αποτελέσματα ανάλυσης.

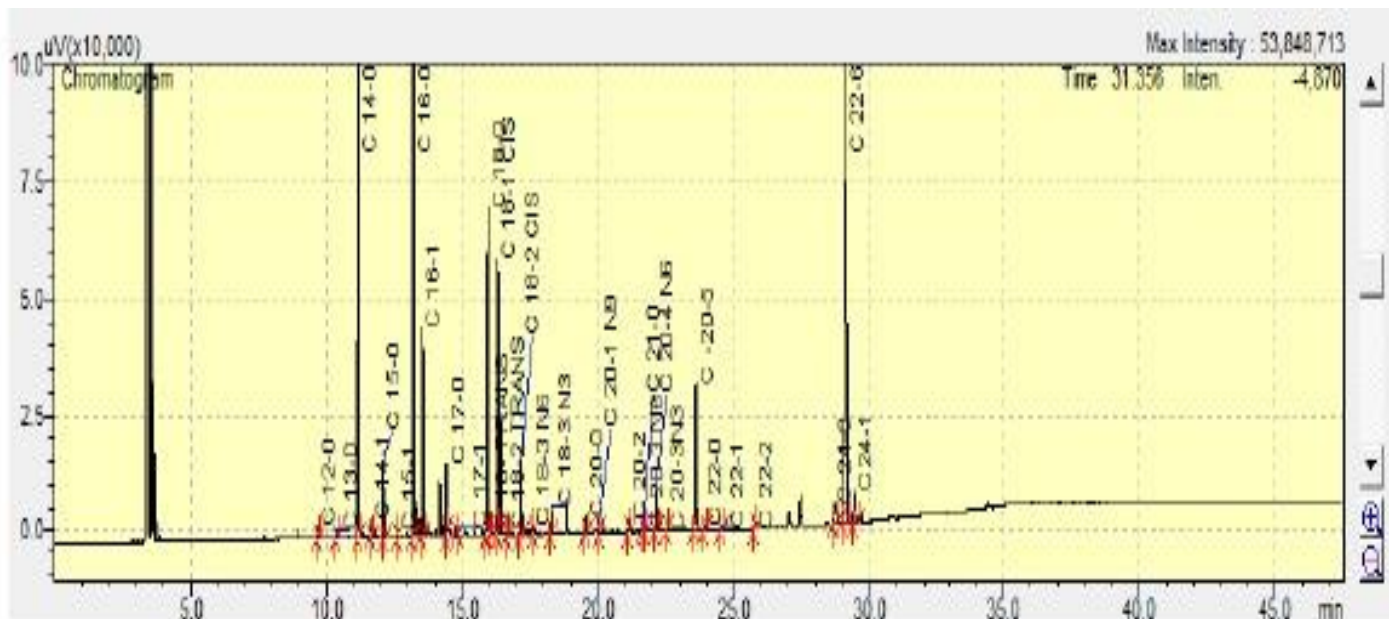
Αποτελέσματα των εξετάσεων / Analysis report				
Παράμετροι που εξετάστηκαν Tested parameters	Αποτελέσματα Results	Μονάδες Units	Όρια που ισχύουν* Legislation limits	Μέθοδος ανάλυσης Method of analysis
Μονοακόρεστα %	24.4	%		GC-FID
Κορεσμένα %	48.9	%		
Πολυακόρεστα %	26.7	%	-	
Trans %	0,1	%		
Ω3	23.8	%	-	
Ω6	2.1	%	-	
EPA+DHA	23.0	%	-	

Το δεύτερο δείγμα εμφάνισε σχετικά μικρή διαφορά μεταξύ των κορεσμένων και ακόρεστων λιπαρών οξέων. Τα trans λιπαρά είχαν και εδώ μικρή συγκέντρωση. Τα πολυακόρεστα στο δείγμα αυτό είχαν συγκέντρωση 26,1% των λιπαρών, εκ των οποίων τα 23,8% ήταν Ω3 συμπεριλαμβανομένων των EPA (11,0%) και DHA (12%) και τα 2,1% Ω6 λιπαρά οξέα.



### 6.2.3.ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΑΝΑΛΥΣΗΣ ΔΕΙΓΜΑΤΟΣ ΙΟΥΛΙΟΥ

Τα αποτελέσματα των λιπαρών οξέων του τρίτου δείγματος φαίνονται παρακάτω.



Εικόνα 27.Χρωματογράφημα προσδιορισμού λιπαρών οξέων στο έλαιο σαρδέλας κατά τον μήνα Ιούλιο.

Στον παρακάτω πίνακα ερμηνεύονται επ' ακριβώς τα αποτελέσματα του χρωματογραφήματος και τα λιπαρά οξέα τα οποία βρίσκονται στο έλαιο.

Πίνακας 18. Παράμετροι που εξετάστηκαν κατά την ανάλυση του δείγματος Ιουλίου.

Παράμετροι που εξετάστηκαν	%
C 4:0 butyric	0.0
C 6:0 Capronic	0.0
C 8:0 Caprylic	0.0
C 10:0 Capric	0.0
C 12:0 Lauric	0.24
C 14:0 myristic	9.6
C 14:1 myristoleic	0.32
C 15 Pentadecanoic	1.38
C 15:1 cis-10-pentadecanoic	0.12
C 16:0 palmitic	30.1
C 16:1 palmitoleic	13.5

<b>C 17:0 Heptadecanoic</b>	<b>1.3</b>
<b>C 17:1 cis-10 Heptadecanoic</b>	<b>0.2</b>
<b>C 18:0 stearic</b>	<b>8.7</b>
<b>C 18:1 trans</b>	<b>0.06</b>
<b>C 18:1 oleic</b>	<b>7.25</b>
<b>C 18:2 trans</b>	<b>0.1</b>
<b>C 18:2 linoleic</b>	<b>2.1</b>
<b>C 20:0 Arachidic</b>	<b>0.5</b>
<b>C 18:3n6 γ-linolenic</b>	<b>0.2</b>
<b>C 18:3n3 α-linolenic</b>	<b>0.74</b>
<b>C 20:1 cis-9-Eicosenoic acid</b>	<b>0.52</b>
<b>C 21:0 hemicosanoic</b>	<b>0.09</b>
<b>C 20:2 eicosadienoic</b>	<b>0.35</b>
<b>C 20:3 n3 eikosatrienoic</b>	<b>0.1</b>
<b>C 22:0 Behenic</b>	<b>0.2</b>
<b>C 20:3 n6 eikosatrienoic</b>	<b>0.1</b>
<b>C 20:4 n6 Arachidonic</b>	<b>1.3</b>
<b>C 22:1 Erucic</b>	<b>0.1</b>
<b>C 23:0 tricosanoic</b>	<b>0.0</b>
<b>C 22:2 docosadienoic</b>	<b>0.0</b>
<b>C 20:5n3 EPA</b>	<b>7.0</b>
<b>C 24:0 Lignoceric</b>	<b>1.1</b>
<b>C 24:1 nevronic</b>	<b>1.2</b>
<b>C 22:6 n3 DHA</b>	<b>22.6</b>

### 6.2.3.1.ΣΥΖΗΤΗΣΗ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ

Τα αποτελέσματα συγκεντρώθηκαν και αναγράφονται στον παρακάτω πίνακα (Πίνακας 19).

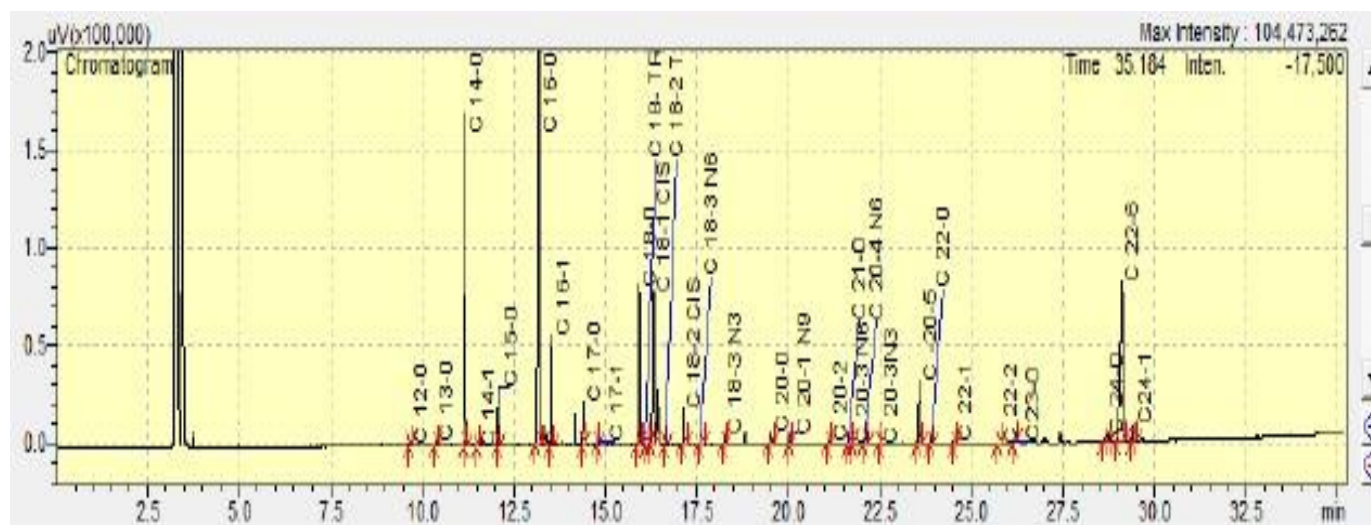
Πίνακας 19. Συγκεντρωτικά αποτελέσματα ανάλυσης .

Αποτελέσματα των εξετάσεων / Analysis report				
Παράμετροι που εξετάστηκαν Tested parameters	Αποτελέσματα Results	Μονάδες Units	Όρια που ισχύουν* Legislation limits	Μέθοδος ανάλυσης Method of analysis
Μονοακόρεστα %	13.9	%		GC-FID
Κορεσμένα %	53.0	%		
Πολυακόρεστα %	33.1	%		
Trans %	0.15	%	-	
Ω3	28.5	%	-	
Ω6	4.2	%	-	
EPA+DHA	27.7	%	-	

Στο δείγμα αυτό φαίνεται πως τα κορεσμένα λιπαρά οξέα βρίσκονται σε μεγαλύτερη συγκέντρωση από τα ακόρεστα χωρίς φυσικά, αυτό να σημαίνει πως η συγκέντρωση των ακόρεστων λιπαρών είναι μικρή. Τα πολυακόρεστα λιπαρά οξέα εμφάνισαν μεγαλύτερη συγκέντρωση από ότι το προηγούμενο δείγμα. Η συγκέντρωση του ανήλθε στο 33,1% εκ των οποίων το 28,5% ήταν Ω3 λιπαρά οξέα (EPA + DHA 27.7%) ενώ το 4,2% Ω6 λιπαρά οξέα. Τέλος τα trans λιπαρά εξακολουθούν να εμφανίζονται σε μικρές συγκεντρώσεις (0,15%).

### 6.2.4.ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΑΝΑΛΥΣΗΣ ΔΕΙΓΜΑΤΟΣ ΑΥΓΟΥΣΤΟΥ

Τα αποτελέσματα του Αυγούστου αναγράφονται στον παρακάτω πίνακα.



Εικόνα 28. χρωματογράφημα προσδιορισμού λιπαρών οξέων στο έλαιο σαρδέλας κατά τον μήνα Αύγουστο.

Οι καμπύλες του χρωματογραφήματος επεξηγούνται στον παρακάτω πίνακα.

Πίνακας 20. Παράμετροι που εξετάστηκαν κατά την ανάλυση του δείγματος Αυγούστου.

<b>Παράμετροι που εξετάστηκαν</b>	<b>%</b>
<b>C 4:0 butyric</b>	<b>0.0</b>
<b>C 6:0 Capronic</b>	<b>0.0</b>
<b>C 8:0 Caprylic</b>	<b>0.0</b>
<b>C 10:0 Capric</b>	<b>0.0</b>
<b>C 12:0 Lauric</b>	<b>0.17</b>
<b>C 14:0 myristic</b>	<b>11.6</b>
<b>C 14:1 myristoleic</b>	<b>0.0</b>
<b>C 15 Pendadecanoic</b>	<b>2.2</b>
<b>C 15:1 cis-10-pendadecanoic</b>	<b>0.0</b>
<b>C 16:0 palmitic</b>	<b>34.0</b>
<b>C 16:1 palmitoleic</b>	<b>4.5</b>
<b>C 17:0 Heptadecanoic</b>	<b>1.8</b>
<b>C 17:1 cis-10 Heptadecanoic</b>	<b>0.2</b>
<b>C 18:0 stearic</b>	<b>8.9</b>
<b>C 18:1 trans</b>	<b>0.04</b>
<b>C 18:1 oleic</b>	<b>8.6</b>
<b>C 18:2 trans</b>	<b>0.1</b>
<b>C 18:2 linoleic</b>	<b>2.0</b>
<b>C 20:0 Arachidic</b>	<b>0.9</b>
<b>C 18:3n6 γ-linolenic</b>	<b>0.5</b>
<b>C 18:3n3 α-linolenic</b>	<b>0.8</b>
<b>C 20:1 cis-9-Eicosenoic acid</b>	<b>0.8</b>
<b>C 21:0 hemicosanoic</b>	<b>0.1</b>
<b>C 20:2 eicosadienoic</b>	<b>0.3</b>
<b>C 20:3 n3 eikosatrienoic</b>	<b>0.1</b>
<b>C 22:0 Behenic</b>	<b>0.5</b>

<b>C 20:3 n6 eikosatrienoic</b>	<b>0.1</b>
<b>C 20:4 n6 Arachidonic</b>	<b>1.0</b>
<b>C 22:1 Erucic</b>	<b>0.2</b>
<b>C 23:0 tricosanoic</b>	<b>0.1</b>
<b>C 22:2 docosadienoic</b>	<b>0.0</b>
<b>C 20:5n3 EPA</b>	<b>4.5</b>
<b>C 24:0 Lignoceric</b>	<b>1.0</b>
<b>C 24:1 nevrionic</b>	<b>1.2</b>
<b>C 22:6 n3 DHA</b>	<b>13.7</b>

#### 6.2.4.1. ΣΥΖΗΤΗΣΗ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ

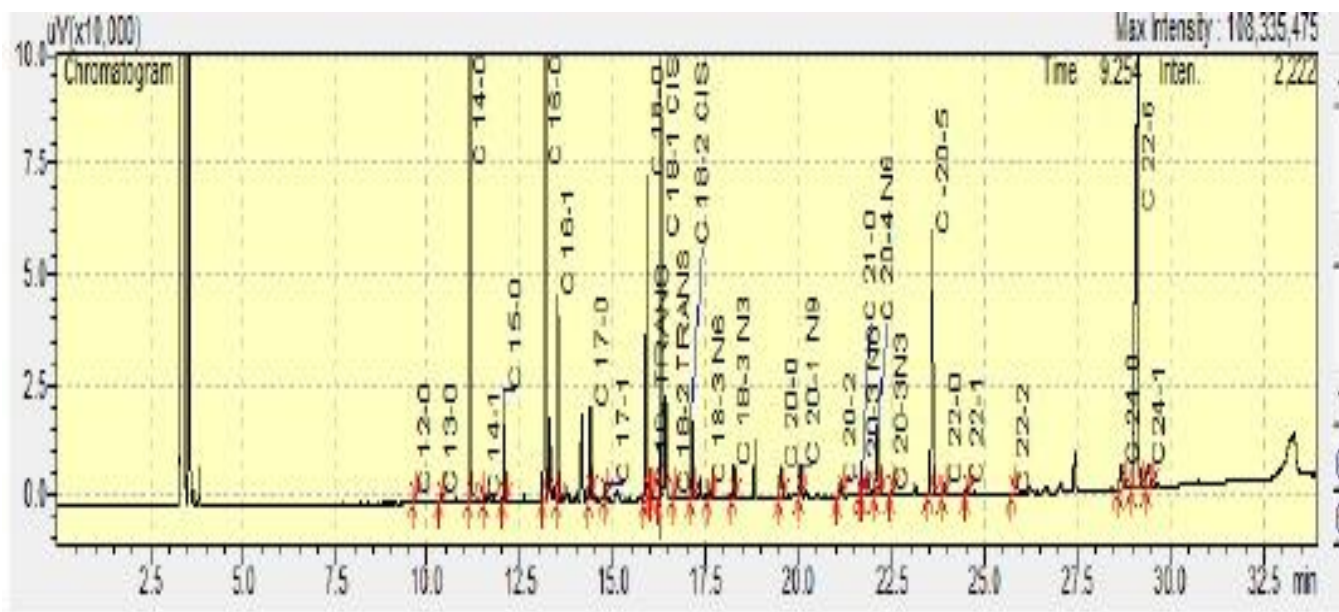
Πίνακας 21. Συγκέντρωτικά αποτελέσματα ανάλυσης.

Αποτελέσματα των εξετάσεων / Analysis report				
Παράμετροι που εξετάστηκαν Tested parameters	Αποτελέσματα Results	Μονάδες Units	Όρια που ισχύουν* Legislation limits	Μέθοδος ανάλυσης Method of analysis
Μονοακόρεστα %	15.4	%		GC-FID
Κορεσμένα %	61.3	%		
Πολυακόρεστα %	23.3	%	-	
Trans %	0.14	%		
Ω3	19.1	%	-	
Ω6	4.0	%	-	
EPA+DHA	18.3	%	-	

Ο Αύγουστος εμφάνισε σχετικά υψηλά επίπεδα κορεσμένων λιπαρών οξέων (61,3%) και σχετικά χαμηλά ποσοστά στα ακόρεστα λιπαρά οξέα (15,4% μονοακόρεστα, 23,3% πολυακόρεστα). Όσον αφορά τα πολυακόρεστα το 19,1% ήταν Ω3 λιπαρά οξέα εκ των οποίων το 18,3% ήταν τα EPA και DHA λιπαρά οξέα, ενώ τα Ω6 έαφτασαν μόλις το 4%.

### 6.2.5.ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΑΝΑΛΥΣΗΣ ΔΕΙΓΜΑΤΟΣ ΣΕΠΤΕΜΒΡΙΟΥ

Το προ-τελευταίο δείγμα που εξετάστηκε ήταν αυτό του Σεπτεμβρίου, του οποίου τα αποτελέσματα καταγράφονται παρακάτω.



Εικόνα 29. Χρωματογράφημα προσδιορισμού λιπαρών οξέων στο έλαιο σαρδέλας κατά τον μήνα Σεπτέμβριο.

Παρακάτω αναγράφονται οι παράμετροι που εξετάστηκαν και οι % συγκεντρώσεις τους στο δείγμα.

Πίνακας 22. Παράμετροι που εξετάστηκαν κατά την ανάλυση του δείγματος Σεπτεμβρίου.

Παράμετροι που εξετάστηκαν	%
C 4:0 butyric	0.0
C 6:0 Capronic	0.0
C 8:0 Caprylic	0.0
C 10:0 Capric	0.0
C 12:0 Lauric	0.15
C 14:0 myristic	6.4
C 14:1 myristoleic	0.02
C 15 Pentadecanoic	1.7
C 15:1 cis-10-pentadecanoic	0.0
C 16:0 palmitic	29.4
C 16:1 palmitoleic	3.5
C 17:0 Heptadecanoic	1.6

<b>C 17:1 cis-10 Heptadecanoic</b>	<b>0.3</b>
<b>C 18:0 stearic</b>	<b>7.3</b>
<b>C 18:1 trans</b>	<b>0.09</b>
<b>C 18:1 oleic</b>	<b>8.9</b>
<b>C 18:2 trans</b>	<b>0.1</b>
<b>C 18:2 linoleic</b>	<b>2.0</b>
<b>C 20:0 Arachidic</b>	<b>0.9</b>
<b>C 18:3n6 γ-linolenic</b>	<b>0.5</b>
<b>C 18:3n3 α-linolenic</b>	<b>0.9</b>
<b>C 20:1 cis-9-Eicosenoic acid</b>	<b>0.9</b>
<b>C 21:0 hemicosanoic</b>	<b>0.1</b>
<b>C 20:2 eicosadienoic</b>	<b>0.5</b>
<b>C 20:3 n3 eikosatrienoic</b>	<b>0.2</b>
<b>C 22:0 Behenic</b>	<b>0.3</b>
<b>C 20:3 n6 eikosatrienoic</b>	<b>0.1</b>
<b>C 20:4 n6 Arachidonic</b>	<b>1.8</b>
<b>C 22:1 Erucic</b>	<b>0.2</b>
<b>C 23:0 tricosanoic</b>	<b>0.0</b>
<b>C 22:2 docosadienoic</b>	<b>0.0</b>
<b>C 20:5n3 EPA</b>	<b>8.2</b>
<b>C 24:0 Lignoceric</b>	<b>1.1</b>
<b>C 24:1 nevronic</b>	<b>0.8</b>
<b>C 22:6 n3 DHA</b>	<b>21.8</b>



### 6.2.5.1.ΣΥΖΗΤΗΣΗ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ

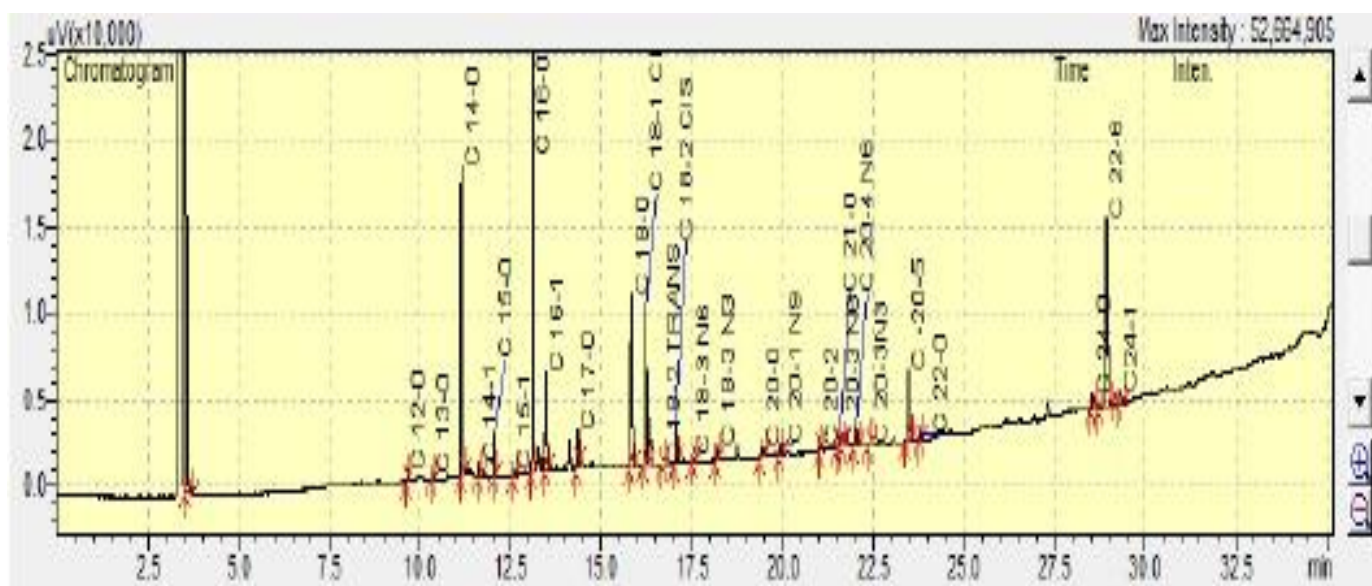
Πίνακας 23. Συγκεντρωτικά αποτελέσματα ανάλυσης.

Αποτελέσματα των εξετάσεων / Analysis report				
Παράμετροι που εξετάστηκαν Tested parameters	Αποτελέσματα Results	Μονάδες Units	Όρια που ισχύουν* Legislation limits	Μέθοδος ανάλυσης Method of analysis
Μονοακόρεστα %	14.8	%		GC-FID
Κορεσμένα %	49.2	%		
Πολυακόρεστα %	36.0	%		
Trans %	0.20	%		
Ω3	31.0	%	-	
Ω6	4.9	%	-	
EPA+DHA	30.0	%	-	

Το δείγμα Σεπτεμβρίου έδωσε αρκετά μεγάλη συγκέντρωση ακόρεστων λιπαρών οξέων (50,8%), εκ των οποίων το 36% ήταν πολυακόρεστα και το 14,8% μονοακόρεστα λιπαρά οξέα. Από τα πολυακόρεστα λιπαρά το 31,0% ήταν Ω3 λιπαρά οξέα (EPA + DHA 30%), ενώ τα Ω6 εμφάνισαν συγκέντρωση 4,9%. Τα κορεσμένα λιπαρά οξέα από την άλλη εμφάνισαν μικρότερη συγκέντρωση της τάξης του 49,2%, ενώ τα trans λιπαρά εμφάνισαν συγκέντρωση μόλις 0,20%.

### 6.2.6.ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΑΝΑΛΥΣΗΣ ΔΕΙΓΜΑΤΟΣ ΟΚΤΩΒΡΙΟΥ.

Το τελευταίο δείγμα που αναλύθηκε ήταν αυτό του Οκτωβρίου, του οποίου τα αποτελέσματα αναγράφονται παρακάτω.



Εικόνα 30. Χρωματογράφημα προσδιορισμού λιπαρών οξέων στο έλαιο σαρδέλας κατά τον μήνα Οκτώβριο.



Παρακάτω ακολουθούν οι συγκεντρώσεις των λιπαρών οξέων που εξετάστηκαν.

Πίνακας 25. Παράμετροι που εξετάστηκαν κατά την ανάλυση του δείγματος Οκτωβρίου.

<b>Παράμετροι που εξετάστηκαν</b>	<b>%</b>
<b>C 4:0 butyric</b>	<b>&lt;0.1</b>
<b>C 6:0 Capronic</b>	<b>&lt;0.1</b>
<b>C 8:0 Caprylic</b>	<b>&lt;0.1</b>
<b>C 10:0 Capric</b>	<b>&lt;0.1</b>
<b>C 12:0 Lauric</b>	<b>0.4</b>
<b>C 14:0 myristic</b>	<b>10.9</b>
<b>C 14:1 myristoleic</b>	<b>0.5</b>
<b>C 15 Pendadecanoic</b>	<b>1.7</b>
<b>C 15:1 cis-10-pendadecanoic</b>	<b>0.2</b>
<b>C 16:0 palmitic</b>	<b>30.4</b>
<b>C 16:1 palmitoleic</b>	<b>4.2</b>
<b>C 17:0 Heptadecanoic</b>	<b>1.6</b>
<b>C 17:1 cis-10 Heptadecanoic</b>	<b>0.1</b>
<b>C 18:0 stearic</b>	<b>9.0</b>
<b>C 18:1 trans</b>	<b>&lt;0.01</b>
<b>C 18:1 oleic</b>	<b>8.5</b>
<b>C 18:2 trans</b>	<b>0.03</b>
<b>C 18:2 linoleic</b>	<b>2.2</b>
<b>C 20:0 Arachidic</b>	<b>0.6</b>
<b>C 18:3n6 γ-linolenic</b>	<b>0.4</b>
<b>C 18:3n3 α-linolenic</b>	<b>0.9</b>
<b>C 20:1 cis-9-Eicosenoic acid</b>	<b>0.9</b>
<b>C 21:0 hemicosanoic</b>	<b>0.1</b>
<b>C 20:2 eicosadienoic</b>	<b>0.3</b>
<b>C 20:3 n3 eikosatrienoic</b>	<b>0.1</b>
<b>C 22:0 Behenic</b>	<b>0.5</b>

<b>C 20:3 n6 eikosatrienoic</b>	<b>0.1</b>
<b>C 20:4 n6 Arachidonic</b>	<b>1.4</b>
<b>C 22:1 Erucic</b>	<b>&lt;0.01</b>
<b>C 23:0 tricosanoic</b>	<b>&lt;0.01</b>
<b>C 22:2 docosadienoic</b>	<b>&lt;0.01</b>
<b>C 20:5n3 EPA</b>	<b>5.4</b>
<b>C 24:0 Lignoceric</b>	<b>1.9</b>
<b>C 24:1 nevrionic</b>	<b>1.3</b>
<b>C 22:6 n3 DHA</b>	<b>16.0</b>

#### 6.2.6.1.ΣΥΖΗΤΗΣΗ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ

Πίνακας 26. Συγκενρωτικά αποτελέσματα ανάλυσης.

Αποτελέσματα των εξετάσεων / Analysis report				
Παράμετροι που εξετάστηκαν Tested parameters	Αποτελέσματα Results	Μονάδες Units	Όρια που ισχύουν* Legislation limits	Μέθοδος ανάλυσης Method of analysis
Μονοακόρεστα %	15.7	%		GC-FID
Κορεσμένα %	57.1	%		
Πολυακόρεστα %	27.2	%	-	
Trans %	0.03	%		
Ω3	22.4	%	-	
Ω6	4.8	%	-	
EPA+DHA	21.4	%	-	

Το τελευταίο δείγμα έδωσε ένα σχετικά μεγάλο ποσοστό κορεσμένων λιπαρών οξέων της τάξης του 57,1%. Τα ακόρεστα λιπαρά οξέα έδωσαν μικρότερη συγκέντρωση (42,9%), εκ των οποίων το 15,7% ήταν μονοακόρεστα λιπαρά, ενώ το 27,2% πολυακόρεστα εκ των οποίων το 22,4% ήταν Ω3 λιπαρά οξέα (EPA + DHA 21,4%), ενώ το 4,8% ήταν Ω6 λιπαρά οξέα. Τα trans λιπαρά ανήλθαν μόλις στο 0,03%.

### 6.3.ΔΙΑΚΥΜΑΝΣΗ ΛΙΠΑΡΩΝ ΟΞΕΩΝ ΚΑΤΑ ΤΟ ΔΙΑΣΤΗΜΑ ΜΑΪΟΥ-ΟΚΤΩΒΡΙΟΥ

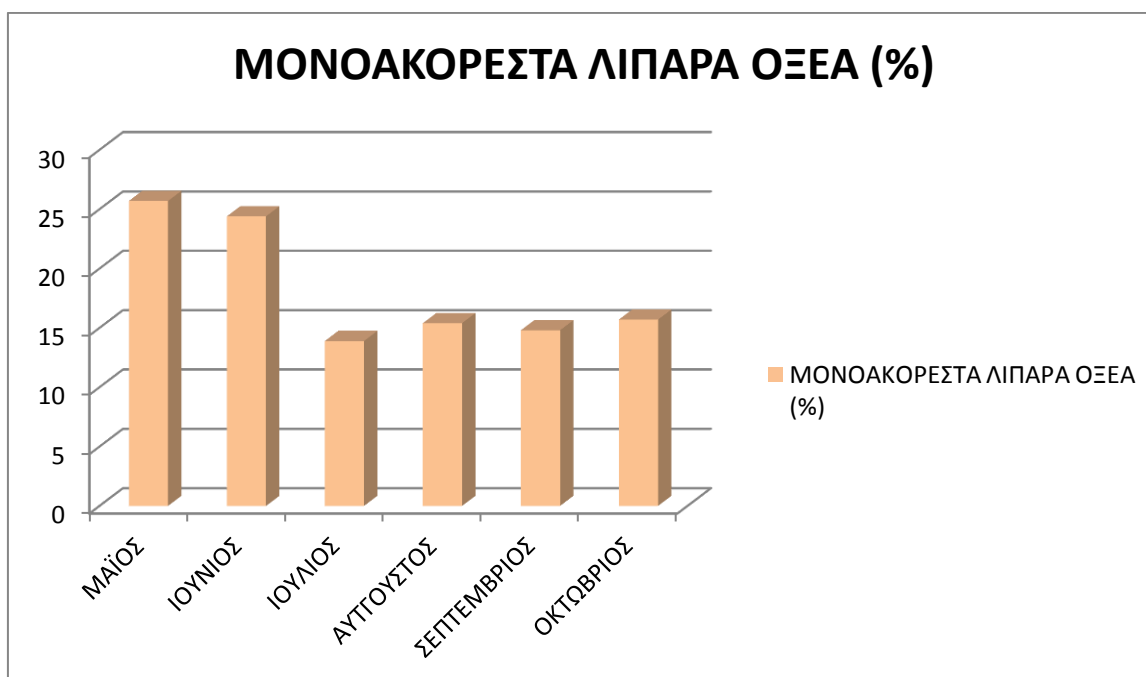
Σκοπός των παραπάνω αναλύσεων ήταν η καταγραφή της εποχιακής διακύμανσης των λιπαρών οξέων στο έλαιο των δειγμάτων σαρδέλας. Στους παρακάτω πίνακες φαίνεται η ποσοστιαία περιεκτικότητα του ιχθυελαίου στις διάφορες κατηγορίες λιπαρών οξέων.

Πίνακας 27. % περιεκτικότητες λιπαρών οξέων στο εκάστοτε δείγμα.

ΔΕΙΓΜΑ	ΜΟΝΟΑΚΟΡΕΣΤΑ ΛΙΠΑΡΑ ΟΞΕΑ (%)	ΚΟΡΕΣΜΕΝΑ ΛΙΠΑΡΑ ΟΞΕΑ (%)	ΠΟΛΥΑΚΟΡΕΣΤΑ ΛΙΠΑΡΑ ΟΞΕΑ (%)	TRANS ΛΙΠΑΡΑ ΟΞΕΑ (%)
ΜΑΪΟΣ	25,7	46,7	27,6	0,10
ΙΟΥΝΙΟΣ	24,4	48,9	26,7	0,11
ΙΟΥΛΙΟΣ	13,9	53,0	33,1	0,15
ΑΥΓΟΥΣΤΟΣ	15,4	61,3	23,3	0,14
ΣΕΠΤΕΜΒΡΙΟΣ	14,8	49,2	36,0	0,20
ΟΚΤΩΒΡΙΟΣ	15,7	57,1	27,2	0,03

#### 6.3.1.ΜΟΝΟΑΚΟΡΕΣΤΑ ΛΙΠΑΡΑ ΟΞΕΑ

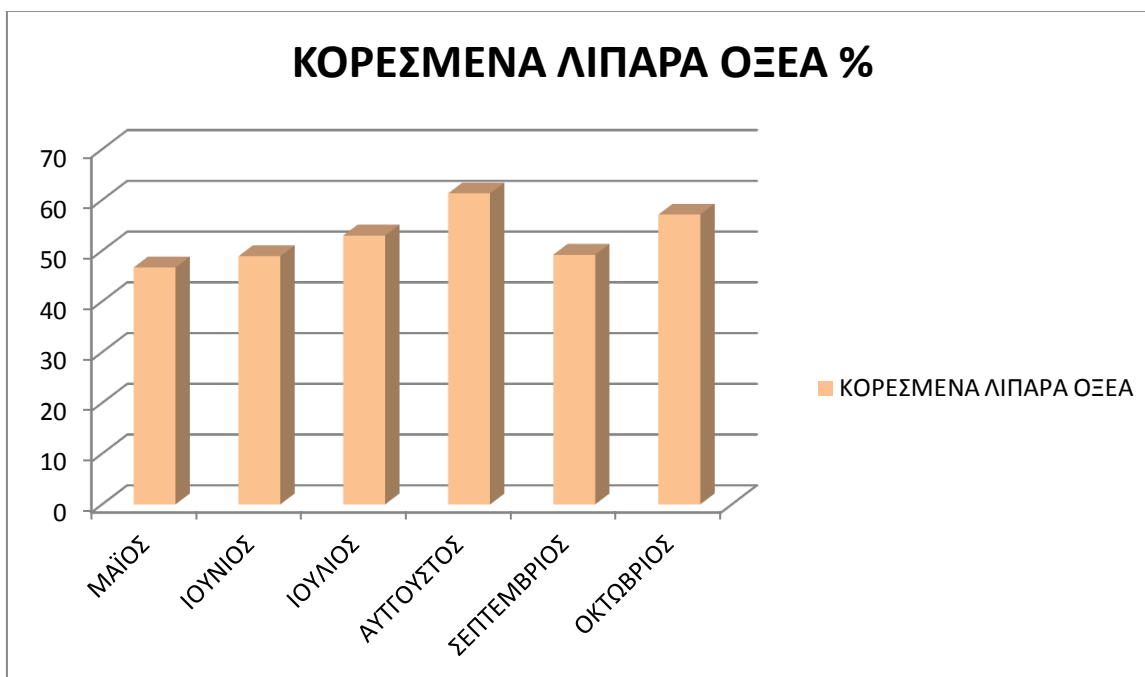
Την μεγαλύτερη περιεκτικότητα σε μονοακόρεστα λιπαρά οξέα την έδωσε το δείγμα Μαΐου (25,7%) και στη συνέχεια το δείγμα Ιουνίου (24,4%). Στη συνέχεια ακολουθούν τα δείγματα Οκτωβρίου (15,7%) και Αυγούστου (15,4%) των οποίων οι περιεκτικότητες εμφάνισαν ελάχιστη διαφορά μεταξύ τους. Ενώ τελευταία έρχονται τα δείγματα Σεπτεμβρίου (14,8%) και Ιουλίου (13,9). Τα αποτελέσματα φαίνονται και στο διάγραμμα που ακολουθεί.



Εικόνα 31. % περιεκτικότητα μονοακόρεστων λιπαρών οξέων στα δείγματα σαρδέλας.

### 6.3.2.ΚΟΡΕΣΜΕΝΑ ΛΙΠΑΡΑ ΟΞΕΑ

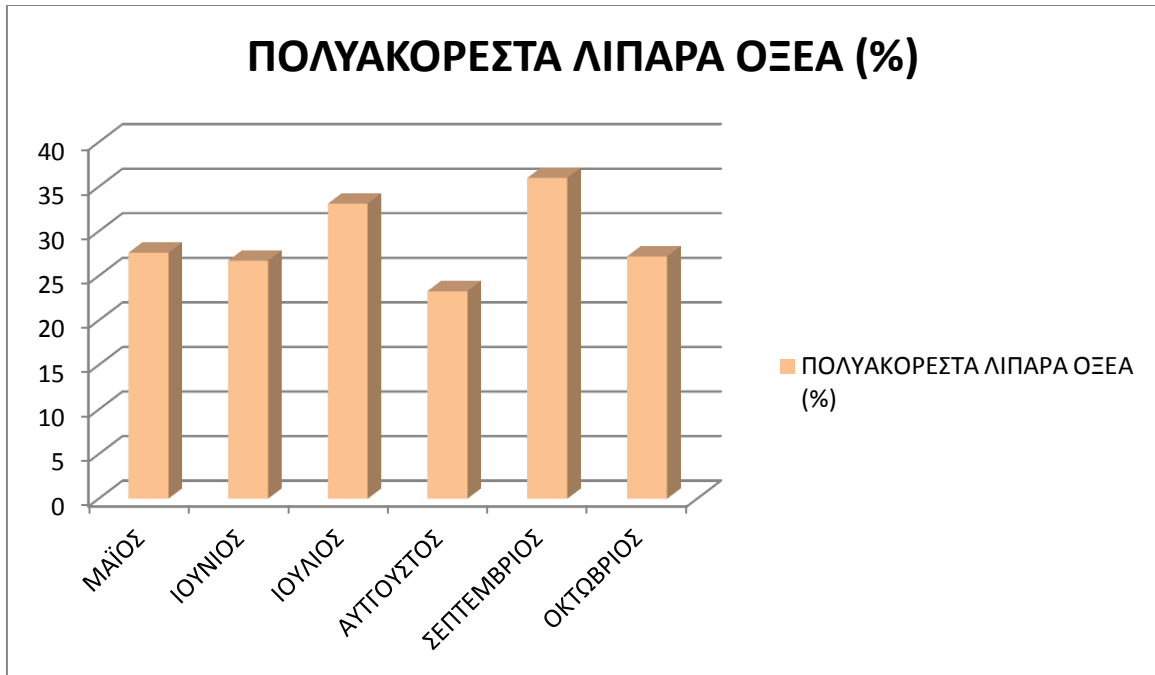
Όσον αφορά τα κορεσμένα λιπαρά οξέα των δειγμάτων την μεγαλύτερη συγκέντρωση με διαφορά έδωσε το δείγμα Αυγούστου με περιεκτικότητα 61,3%. Στη συνέχεια ακολούθησαν τα δείγματα Οκτωβρίου (57,1%) και Ιουλίου (53,0%). Ενώ τελευταία ήταν τα δείγματα Σεπτεμβρίου (49,2%), Ιουνίου (48,9%) και Μαΐου (46,7%). Τα αποτελέσματα φαίνονται και στο παρακάτω διάγραμμα.



Εικόνα 32.% περιεκτικότητα κορεσμένων λιπαρών οξέων στα δείγματα σαρδέλας.

### 6.3.3.ΠΟΛΥΑΚΟΡΕΣΤΑ ΛΙΠΑΡΑ ΟΞΕΑ

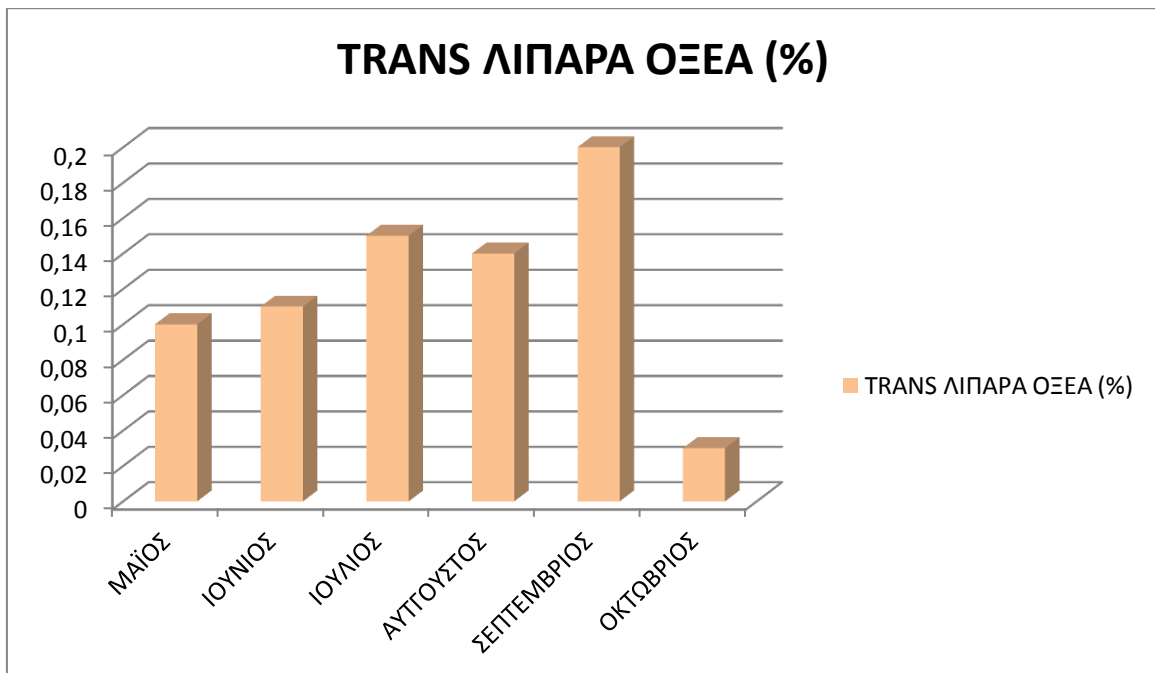
Το δείγμα Σεπτεμβρίου (36%) έδωσε το μεγαλύτερο ποσοστό σε πολυακόρεστα λιπαρά οξέα, ενώ ακολούθησε το δείγμα Ιουλίου (33,1%). Με μία μικρή διαφορά στις μεταξύ τους περιεκτικότητες ακολούθησαν οι μήνες Μάιος (27,6 %), Οκτώβριος (27,2%) και Ιούνιος (26,7%), ενώ το χαμηλότερο επίπεδο πολυακόρεστων λιπαρών οξέων το είχε ο Αύγουστος (23,3%).



Εικόνα 33. % περιεκτικότητα πολυακόρεστων λιπαρών οξέων στα δείγματα σαρδέλας.

#### 6.3.4. TRANS ΛΙΠΑΡΑ ΟΞΕΑ

Τα trans λιπαρά οξέα εμφάνισαν την μικρότερη περιεκτικότητα σε όλα τα δείγματα (Εικόνα 34). Το δείγμα Σεπτεμβρίου (0,20%) εμφάνισε το μεγαλύτερο ποσοστό trans λιπαρών οξέων, ενώ ακολούθησαν με μικρή διαφορά μεταξύ τους τα δείγματα Ιουλίου (0,15%), Αυγούστου (0,14%), Ιουνίου (0,11%) και Μαΐου (0,10%). Τέλος την μικρότερη συγκέντρωση trans λιπαρών οξέων εμφάνισε ο Οκτώβριος (0,03%).



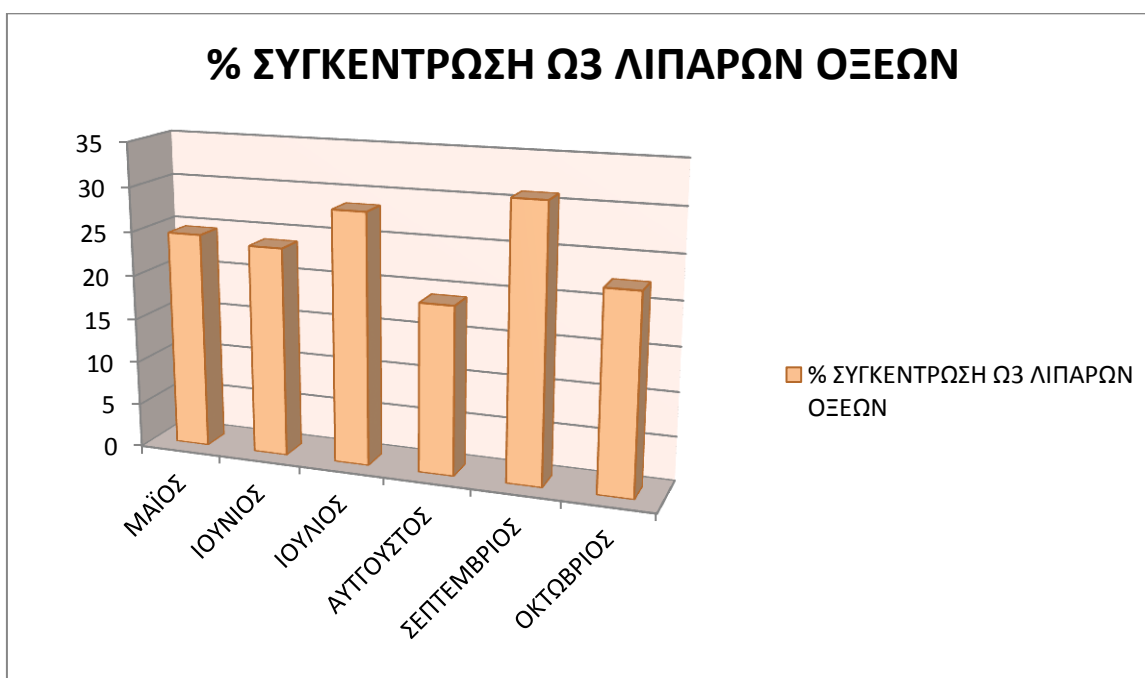
Εικόνα 34. % περιεκτικότητα trans λιπαρών οξέων στα δείγματα σαρδέλας.

Παραπάνω αναφέρθηκαν γενικά οι % περιεκτικότητες των δειγμάτων σε λιπαρά οξέα. Στον πίνακα (Πίνακας 28) που ακολουθεί αναγράφεται η περιεκτικότητα των δειγμάτων σε Ω3, Ω6 καθώς και σε EPA+DHA λιπαρά οξέα.

Πίνακας 28. % περιεκτικότητες δειγμάτων δε Ω3 και Ω6 λιπαρά οξέα.

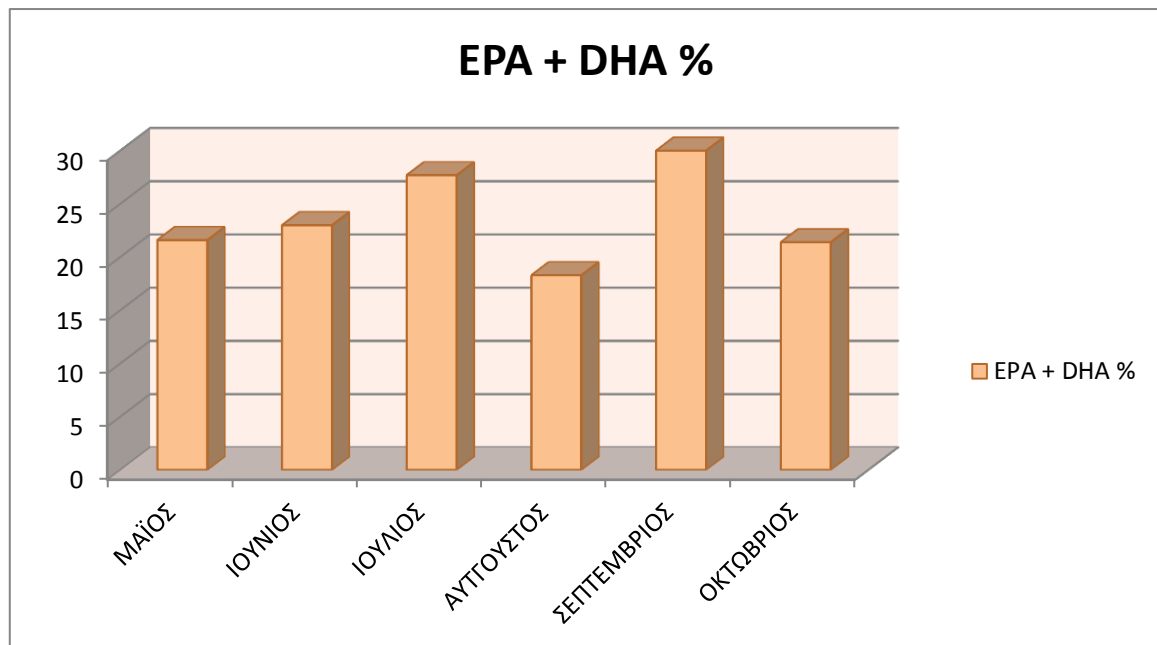
ΔΕΙΓΜΑ	Ω3 ΛΙΠΑΡΑ ΟΞΕΑ (%)	Ω6 ΛΙΠΑΡΑ ΟΞΕΑ (%)	EPA + DHA (%)
ΜΑΪΟΣ	24,6	3,1	21,6
ΙΟΥΝΙΟΣ	23,8	2,1	23,0
ΙΟΥΛΙΟΣ	28,5	4,2	27,7
ΑΥΓΟΥΣΤΟΣ	19,1	4,6	18,3
ΣΕΠΤΕΜΒΡΙΟΣ	31,0	4,9	30,0
ΟΚΤΩΒΡΙΟΣ	22,4	4,8	21,4

Από τον παραπάνω πίνακα (Πίνακας 28) φαίνεται πως σαρδέλες αλιευμένες τον Σεπτέμβριο (31%) έχουν το μεγαλύτερο ποσοστό Ω3 λιπαρών οξέων απ' ότι οι σαρδέλες των άλλων μηνών. Επιπλέον ο Αύγουστος (19,1%) έδωσε το χαμηλότερο ποσοστό σε σχέση με τους υπόλοιπους μήνες. Μετά τον Σεπτέμβριο ακολούθησε ο Ιούνιος (28,5%) με το δεύτερο μεγαλύτερο ποσοστό σε Ω3 λιπαρά οξέα. Ενώ ακολούθησαν με παρόμοια ποσοστά ο Μάιος (24,6%), ο Ιούνιος (23,8%) και ο Οκτώβριος (22,4%).



Εικόνα 35. % συγκέντρωση Ω3 λιπαρών οξέων στα δείγματα σαρδέλας.

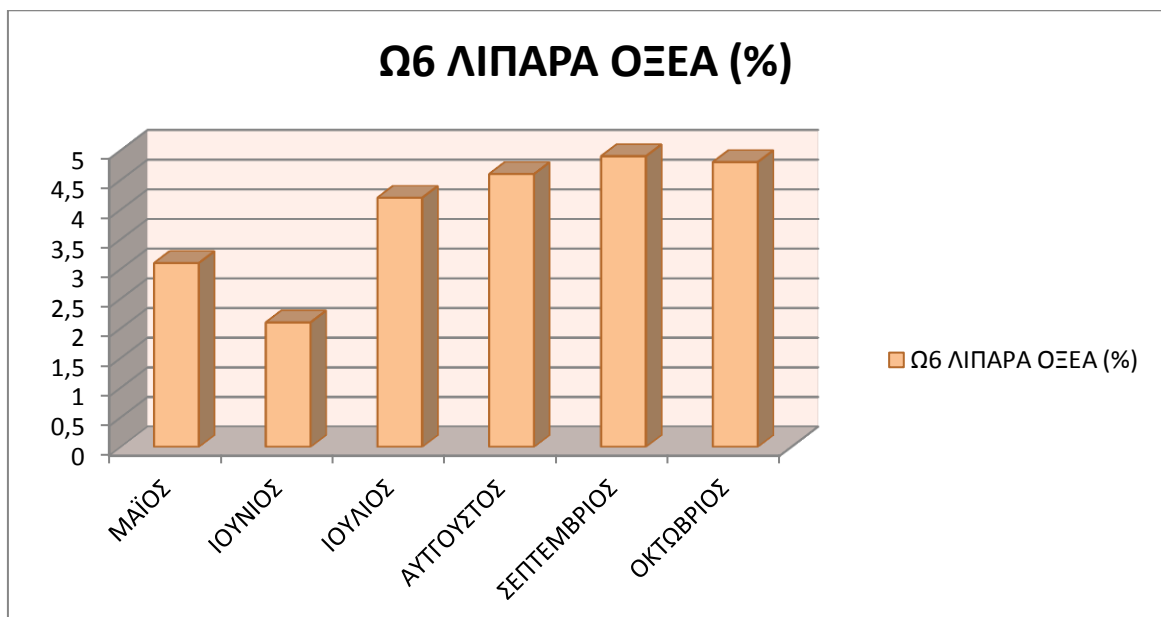
Το παραπάνω γράφημα (Εικόνα 35) αναφέρεται στο γενικό σύνολο των Ω3 λιπαρών οξέων που εμπεριέχονταν στο εκάστοτε δείγμα. Στο επόμενο γράφημα φαίνονται οι αλλαγές στις συγκεντρώσεις των απαραίτητων λιπαρών οξέων EPA + DHA. Οι συγκεντρώσεις που αναγράφονται αφορούν στο άθροισμα τους και όχι στο καθένα μεμονωμένα.



Εικόνα 36. % συγκεντρώσεις απαραίτητων λιπαρών οξέων στα δείγματα σαρδέλας

Όπως φαίνεται από το γράφημα ο Σεπτέμβριος (30%) εξακολουθεί να έχει τα πιο αυξημένα επίπεδα EPA + DHA, ενώ στη συνέχεια ακολουθεί ο Ιούλιος (27,7%). Στο γενικό σύνολο των Ω3 ο Μάιος έδωσε μεγαλύτερη συγκέντρωση απ' ότι ο Ιούνιος, κάτι το οποίο αλλάζει όταν αναφερόμαστε μεμονωμένα στο άθροισμα των EPA + DHA, καθώς ο Ιούνιος (23%) εμφάνισε μεγαλύτερη συγκέντρωση από τον Μάιο (21,6%). Τέλος ακολουθούν με τις χαμηλότερες περιεκτικότητες ο Οκτώβριος (21,4%) και ο Αύγουστος (18,3%).

Το τελευταίο γράφημα που ακολουθεί είναι αυτό των Ω6 λιπαρών οξέων τα οποία εμφανίζονται σε αρκετά μικρότερες συγκεντρώσεις από αυτές των Ω3 λιπαρών οξέων.



Εικόνα 37. % συγκεντρώσεις Ω6 λιπαρών οξέων στα δείγματα σαρδέλας.

Παρατηρώντας το παραπάνω γράφημα διαπιστώνουμε πως ο Σεπτέμβριος (4,9%) εξακολουθεί να κατέχει την πρώτη θέση, μιας και εμφάνισε και εδώ την μεγαλύτερη συγκέντρωση σε Ω6 λιπαρά οξέα. Στη συνέχεια με μικρή διαφορά ακολουθούν ο Οκτώβριος (4,8%), ο Αύγουστος (4,6%) και ο Ιούλιος (4,2%), ενώ τελευταίοι με εμφανή διαφορά ακολουθούν ο Μάιος (3,1%) και ο Ιούνιος (2,1%).

#### 6.4.ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ Α-ΤΟΚΟΦΕΡΟΛΗΣ (ΒΙΤΑΜΙΝΗ Ε)

Η α-τοκοφερόλη γνωστή και ως τοκοφερόλη, για πρώτη φορά περιγράφηκε το 1922 από τους Evans και Bishop ως βασικό συστατικό της διαίτας των ζώων. Σε αντίθεση με τις υπόλοιπες βιταμίνες που διαθέτουν μια καθορισμένη χημική δομή, η φυσική βιταμίνη Ε περιλαμβάνει δυο ομάδες λιποδιαλυτών ενώσεων με ανάλογη βιολογική δράση: τις ισομερείς α-,β-,γ- και δ- τοκοφερόλες και τις α-, β-, γ- και δ-τοκοτριενόλες.

Οι διάφορες μορφές τοκοφερολών και τοκοτριενολών βρίσκονται κυρίως στο φυτικό βασίλειο και κυρίως στα πράσινα μέρη των φυτών. Δεν μπορούν να συντεθούν από τον οργανισμό των ανθρώπων και των ζώων και πρέπει να λαμβάνονται αυτούσιες μέσω της τροφής. Η πιο διαδεδομένη μορφή είναι η α-τοκοφερόλη και περιέχεται κυρίως στα λαχανικά και μικρότερες ποσότητες απαντούν τα αυγά, το συκώτι, το βούτυρο και τα ψάρια. Από όλες τις μορφές, της α-τοκοφερόλης είναι αυτή που απορροφάται περισσότερο από τον ανθρώπινο οργανισμό.

Η βιολογική σημασία των βιταμινών Ε είναι πολλαπλή καθώς είναι αναγκαίες για την κυτταρική αναπνοή των ιστών, παίζουν σημαντικό ρόλο στη βιοσύνθεση άλλων απαραίτητων ενώσεων του οργανισμού και τέλος είναι ισχυρά αντιοξειδωτικά. Εμποδίζουν την οξείδωση των λιπών και των βιταμινών Α και D. Η αντιοξειδωτική τους δράση εμφανίζεται στα κύτταρα των φυτών και των ζώων, καθώς και στον πεπτικό σωλήνα των ζώων. Πολλοί ερευνητές θεωρούν την α-τοκοφερόλη ειδικότερα, ως το πλέον ισχυρό αντιοξειδωτικό που προφυλάσσει τις κυτταρικές μεμβράνες από την οξείδωση, αντιδρώντας με τις ελεύθερες ρίζες, οι οποίες προκύπτουν από τις υπεροξειδώσεις των λιπιδίων. Ωστόσο μπορεί να αυξήσει τον ρυθμό αυτοοξειδωσης των ακόρεστων λιπαρών οξέων όταν οι συγκεντρώσεις της είναι μεγαλύτερες από τη βέλτιστη κατά περίπτωση συγκέντρωση.

*Πηγή: Χημεία Τροφίμων, Τόμος Ι, Κ. Σφλώμος, Αθήνα 2011, (σελίδες 434-437).*

##### 6.4.1.ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ/ΣΥΖΗΤΗΣΗ ΑΝΑΛΥΣΗΣ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ

Η ανάλυση των δειγμάτων για τον προσδιορισμό της α-τοκοφερόλης έγινε με την ίδια χρωματογραφική μέθοδο που χρησιμοποιήθηκε για τον προσδιορισμό των λιπαρών οξέων. Τα χρωματογραφήματα καθώς και τα αποτελέσματα όλων των δειγμάτων φαίνονται παρακάτω.



Δείγμα Μαΐου:



Εικόνα 38: Χρωματογράφημα προσδιορισμού α-τοκοφερόλης δείγματος Μαΐου.

Πίνακας 29: Αποτελέσματα εξέτασης δείγματος Μαΐου.

Αποτελέσματα των εξετάσεων			
Παράμετροι που εξετάστηκαν	Αποτελέσματα	Μονάδες	Μέθοδος ανάλυσης
<i>α-τοκοφερόλη (βιταμίνη E)</i>	53,0	mg/kg	GC-FID

Το 1<sup>ο</sup> δείγμα (δείγμα Μαΐου) έδωσε μία αρκετά μεγάλη περιεκτικότητα α-τοκοφερόλης της τάξης των 53mg/kg.

Δείγμα Ιουνίου:



Εικόνα 39: Χρωματογράφημα προσδιορισμού α-τοκοφερόλης δείγματος Ιουνίου.

Πίνακας 30: Αποτελέσματα εξέτασης δείγματος Ιουνίου.

Αποτελέσματα των εξετάσεων			
Παράμετροι που εξετάστηκαν	Αποτελέσματα	Μονάδες	Μέθοδος ανάλυσης
<i>α-τοκοφερόλη (βιταμίνη E)</i>	35.8	mg/kg	GC-FID

Το δείγμα του Ιουνίου εμφάνισε μία από τις μικρότερες συγκεντρώσεις σε α-τοκοφερόλη η οποία έφτασε τα 35,8mg/kg.

Δείγμα Ιουλίου:



Εικόνα 40: Χρωματογράφημα προσδιορισμού α-τοκοφερόλης δείγματος Ιουλίου.

Πίνακας 31. Αποτελέσματα εξέτασης δείγματος Ιουλίου.

Αποτελέσματα των εξετάσεων			
Παράμετροι που εξετάστηκαν	Αποτελέσματα	Μονάδες	Μέθοδος ανάλυσης
<i>α-τοκοφερόλη (βιταμίνη E)</i>	356	mg/kg	GC-FID

Το δείγμα του Ιουλίου έδωσε την μεγαλύτερη συγκέντρωση σε α-τοκοφερόλη από όλα τα δείγματα που εξετάστηκαν. Η συγκέντρωση της α-τοκοφερόλης ήταν 356mg/kg.

Δείγμα Αυγούστου:



Εικόνα 41: Χρωματογράφημα προσδιορισμού α-τοκοφερόλης δείγματος Αυγούστου.

Πίνακας 32: Αποτελέσματα εξέτασης δείγματος Αυγούστου.

Αποτελέσματα των εξετάσεων			
Παράμετροι που εξετάστηκαν	Αποτελέσματα	Μονάδες	Μέθοδος ανάλυσης
<i>α-τοκοφερόλη (βιταμίνη E)</i>	80.0	mg/kg	<i>GC-FID</i>

Το 4<sup>ο</sup> σε σειρά δείγμα (δείγμα Αυγούστου) εμφάνισε τη δεύτερη μεγαλύτερη συγκέντρωση σε α-τοκοφερόλη η οποία ήταν 80,2mg/kg.

Δείγμα Σεπτεμβρίου:



Εικόνα 42: Χρωματογράφημα προσδιορισμού α-τοκοφερόλης δείγματος Σεπτεμβρίου.

Πίνακας 33: Αποτελέσματα εξέτασης δείγματος Σεπτεμβρίου.

Αποτελέσματα των εξετάσεων			
Παράμετροι που εξετάστηκαν	Αποτελέσματα	Μονάδες	Μέθοδος ανάλυσης
<i>α-τοκοφερόλη (βιταμίνη E)</i>	35.2	mg/kg	<i>GC-FID</i>

Το δείγμα του Σεπτεμβρη έδωσε τη μικρότερη συγκέντρωση σε α-τοκοφερόλη από όλα τα δείγματα που εξετάστηκαν. Η συγκέντρωση του δείγματος ήταν 35,2mg/kg.

Δείγμα Οκτωβρίου:



Εικόνα 43: Χρωματογράφημα προσδιορισμού α-τοκοφερόλης δείγματος Οκτωβρίου.

Πίνακας 34. Αποτελέσματα εξέτασης δείγματος Οκτωβρίου.

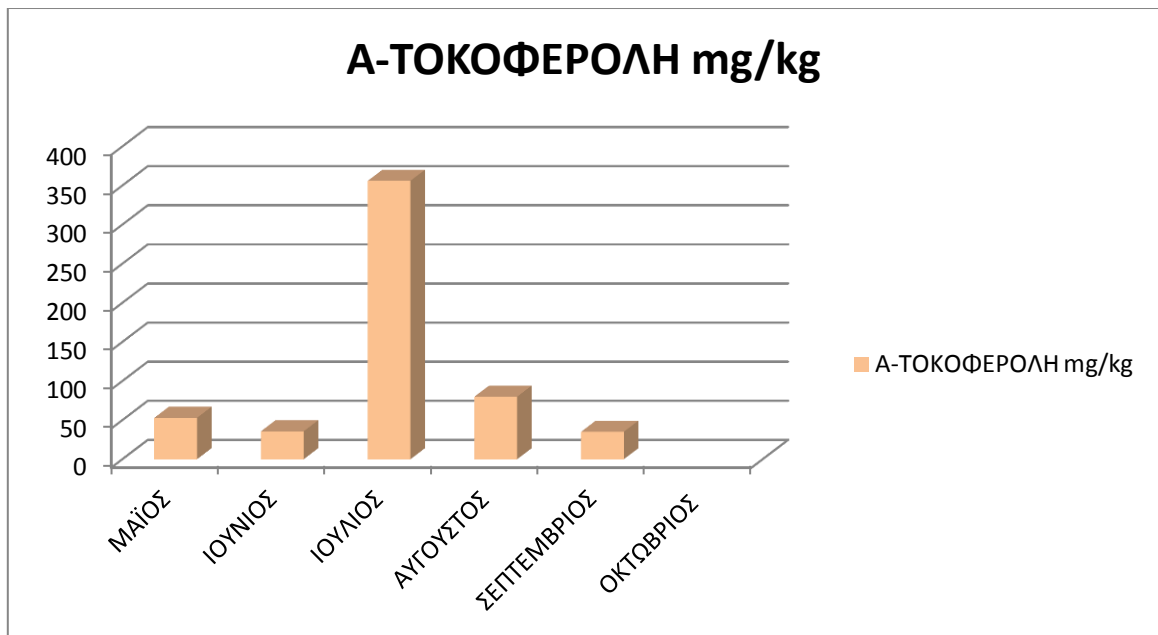
Αποτελέσματα των εξετάσεων			
Παράμετροι που εξετάστηκαν	Αποτελέσματα	Μονάδες	Μέθοδος ανάλυσης
α-τοκοφερόλη (βιταμίνη Ε)	38.3	mg/kg	GC-FID

Τελευταίο το δείγμα του Οκτώβρη έδωσε επίσης μια αρκετά μικρή συγκέντρωση α-τοκοφερόλης, της τάξης των 38,3mg/kg.

## 6.5.ΔΙΑΚΥΜΑΝΣΗ Α-ΤΟΚΟΦΕΡΟΛΗΣ (ΒΙΤΑΜΙΝΗ Ε) ΚΑΤΑ ΤΟ ΔΙΑΣΤΗΜΑ ΜΑΪΟΥ-ΟΚΤΩΒΡΙΟΥ

Βάσει των παραπάνω αποτελεσμάτων φαίνεται πως ο Ιούλιος εμφάνισε την μεγαλύτερη περιεκτικότητα σε α-τοκοφερόλη, η συγκέντρωση της οποίας έφτασε τα 356mg/kg. Στη συνέχεια με πολύ μεγάλη διαφορά ακολούθησαν ο Αύγουστος με 80mg/kg και ο Μάιος με 53mg/kg, ενώ τελευταίοι ακολούθησαν οι μήνες Οκτώβριος (38,3mg/kg), Ιούνιος (35,8mg/kg) και ο Σεπτέμβριος (35,2mg/kg).

Στο παρακάτω διάγραμμα (Εικόνα 44) απεικονίζεται η διαφορά στη περιεκτικότητα σε α-τοκοφερόλη των δειγμάτων.



Εικόνα 44. Διακύμανση α-τοκοφερόλης στα δείγματα ιχθυελαίου κατά το διάστημα Μαΐου-Οκτωβρίου.

## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 7<sup>ο</sup>: ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ/ΣΥΖΗΤΗΣΗ

- I. Έπειτα από την φυγοκέντριση του ελαίου, που εκχυλίστηκε από την σάρκα σαρδέλας, φαίνεται πως το έλαιο υπέστη σημαντικές αλλαγές ως προς την ποσότητα, την οσμή καθώς και την εμφάνιση του. Μετά την πρώτη φυγοκέντριση με NaOH και H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> μειώθηκε αισθητά η ποσότητα του ελαίου, επιπλέον υπέστη αλλαγές στο χρώμα καθώς έγινε πιο διαυγές και στην οσμή η οποία δεν ήταν πλέον τόσο έντονη. Ωστόσο την μεγαλύτερη και πιο αξιοσημείωτη διαφορά την έκανε η χρήση του ζεόλιθου κατά την δεύτερη φυγοκέντριση καθώς μείωσε αισθητά την έντονη και δυσάρεστη οσμή του ελαίου.
- II. Τα δείγματα ιχθυελαίου που εξετάστηκαν φαίνεται να διαφέρουν ως προς τις συγκεντρώσεις τους στα διάφορα λιπαρά οξέα. Συγκεκριμένα ως προς τα μονοακόρεστα λιπαρά οξέα ο Μάιος έδωσε την μεγαλύτερη συγκέντρωση, ενώ την μικρότερη συγκέντρωση εμφάνισε ο Ιούλιος. Όσον αφορά τα κορεσμένα λιπαρά οξέα ο Αύγουστος έδωσε ένα πολύ μεγάλο ποσοστό σε σχέση με τα υπόλοιπα δείγματα, ενώ το χαμηλότερο ποσοστό το έδωσε ο Μάιος. Τα πολυακόρεστα λιπαρά οξέα από την άλλη έκανα την μεγαλύτερη τους εμφάνιση στο δείγμα Σεπτεμβρίου, την μικρότερη συγκέντρωση εμφάνισε ο Αύγουστος. Τέλος τα trans λιπαρά οξέα εμφάνισαν τις μικρότερες συγκεντρώσεις από τα υπόλοιπα λιπαρά οξέα. Η συγκέντρωση στα δείγματα του ήταν ελάχιστη. Ο Σεπτέμβριος έδωσε και εδώ την μεγαλύτερη συγκέντρωση, ενώ ο Οκτώβριος εμφάνισε συγκέντρωση <0,1%.
- III. Από τις αναλύσεις των δειγμάτων φαίνεται επιπλέον πως ως προς τα Ω3 λιπαρά οξέα ο Σεπτέμβριος εμφάνισε την μεγαλύτερη συγκέντρωση και ο Αύγουστος την μικρότερη με διαφορά. Οι υπόλοιποι 4 μήνες εμφάνισαν παρόμοιες συγκεντρώσεις μεταξύ τους.
- IV. Τα πολυακόρεστα λιπαρά οξέα EPA & DHA εμφάνισαν επίσης σημαντικά υψηλό ποσοστό τον Σεπτέμβριο και το Ιούλιο, ενώ ο Αύγουστος έδωσε πάλι το μικρότερο ποσοστό.
- V. Τα Ω6 λιπαρά οξέα εμφανίστηκαν σε αρκετά μικρότερες ποσότητες από τα Ω3 λιπαρά οξέα. Ο μήνας Σεπτέμβριος εξακολουθεί να είναι και εδώ ο μήνας με τη μεγαλύτερη συγκέντρωση, τελευταίος έρχεται ο Ιούνιος.
- VI. Η α-τοκοφερόλη στα δείγματα ιχθυελαίου εμφάνισε την μεγαλύτερη συγκέντρωση με διαφορά το Ιούλιο, ενώ τον Σεπτέμβριο εμφάνισε την μικρότερη συγκέντρωση.
- VII. Είναι σημαντικό να αναφερθεί πως υπάρχει προοπτική για περαιτέρω χρήση του ζεόλιθου σε μεγαλύτερες θερμοκρασίες (180°C), με παράλληλη διύλιση εν κενό για περαιτέρω εξευγενισμό του ελαίου καθώς και για την παραλαβή ελαίου καλύτερης ποιότητας.

## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 8<sup>ο</sup>: ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

### 8.1.ΞΕΝΗ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Ali Aberoumand, 2010. The effects of fish oil and marine omega-3 fatty acids on human health- a review article. *World Journal of Fish and Marine Sciences* 2 (3): 226-231.
- Bruna L.F. Lopesa, Andrea P. Sanchez-Camargoa,c, Ana L.K. Ferreiraa, Renato Grimaldib, Losiane C. Paviania, Fernando A. Cabrala,2011. Selectivity of supercritical carbon dioxide in the fractionation of fish oil with a lower content of EPA + DHA. *The Journal of Supercritical Fluids*, 78-85.
- EFSA ,2012. EFSA assesses safety of long-chain omega-3 fatty acids. Ημερομηνία ανάκτησης 7 Σεπτεμβρίου 2016, από <https://www.efsa.europa.eu/en/press/news/120727>.
- Fereidoon Shahidi\* and Udaya N. Wanasundara, 1998. Omega-3 fatty acid concentrates: nutritional aspects and production technologies. *Trends in Food Science & Technology* 9, 230-240.
- FOPPE SMEDES and TORSTEN K. THOMASEN, 1996. Evaluation of the Bligh & Dyer Lipid Determination Method. *Marine Pollution Bulletin*, Vol. 32, Nos 8/9, pp. 681-688.
- George M. Pigott, 1967. Production of fish oil, chapter 13, reprinted from the book 'fish oils', pp. 187-192. Washington: United States department of the interior.
- Homayooni, B., Sahari, M. A. and Barzegar, M., 2014. Concentrations of omega-3 fatty acids from rainbow sardine fish oil by various methods. *International Food Research Journal* 21(2): 743-748.
- Jeremy M. Berg, John L. Tymoczko, Lubert Stryer, Βιοχημεία, τόμος I, Πανεπιστημιακές εκδόσεις Κρήτης, pp. 677-679.
- José L. Domingo, 2007. Omega-3 fatty acids and the benefits of fish consumption: Is all that glitters gold?, *Environment International* 33 ,993–998.
- K. L. GALL, W. S. OTWELL, J. A. KOBURGER, and H. APPLIEDORF, 1983. Effects of Four Cooking Methods on the Proximate, Mineral and Fatty Acid Composition of Fish Fillets. *JOURNAL OF FOOD SCIENCE*-Volume 48.



- Kalogeropoulos N, Karavoltsos S, Sakellari A, Avramidou S, Dassenakis M, Scoullou M, 2012. Heavy metals in raw, fried and grilled Mediterranean finfish and shellfish. *Food and Chemical Toxicology* 50, 3702-3708
- Kirpal S. Sidhu, 2003. Health benefits and potential risks related to consumption of fish or fish oil. *Regulatory Toxicology and Pharmacology* 38, 336–344.
- M.T. Garcí'a-Ariasa\*, E. A'lvarez Pontes<sup>b</sup>, M.C. Garcí'a-Linares<sup>a</sup>, M.C. Garcí'a-Ferna'ndeza, F.J. Sa' nchez-Muniz<sup>b</sup>, 2003. Cooking–freezing–reheating (CFR) of sardine (*Sardina pilchardus*) fillets. Effect of different cooking and reheating procedures on the proximate and fatty acid compositions. *Food Chemistry* 83, 349–356.
- N. Ga'mez-Mezaa, <sup>b,\*</sup>, J.A. Noriega-Rodri'guez<sup>a</sup>, L.A. Medina-Jua' reza<sup>b</sup>, J. Ortega-Garcí'aa, J. Monroy-Rivera<sup>b</sup>, F.J. Toro-Va' zquez<sup>c</sup>, H.S. Garcí'ab, O. Angulo-Guerrero<sup>b</sup>, 2003. Concentration of eicosapentaenoic acid and docosahexaenoic acid from fish oil by hydrolysis and urea complexation. *Food Research International* 36, 721–727.
- Nadine M. Zatsick and Paula Mayket, 2007. Fish oil getting to the heart of it. *The Journal for Nurse Practitioners – JNP*, pp. 104-109.
- Salah SELMI\* et S. SADOK, 2007. Change in lipids quality and fatty acids profile of two small pelagic fish: *sardinella aurita* and *sardina pilchardus* during canning process in olive oil and tomato sauce respectively. *Institut National des Sciences et Technologies de la Mer*, Vol. 34, pp. 91-97.
- Salih Çibuk<sup>1</sup>, Nurhayat Atasoy<sup>2,\*</sup>, Sema Kaptanoğlu<sup>1</sup>, 2014. The Study of Total Lipid Rate and Fatty Acids of Pearl Mullet (*Chalcalburnus Tarichii* P.1811) and Nutritional Importance in Van, Turkey. *Journal of Food and Nutrition Research*, Vol. 2, No. 1, 1-8.
- Terry Lemerond, 2008. Fish Oil, Omega 3 Fatty Acids, EPA and DHA And the Whole Stinking Story!

## 8.2.ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- EUFIC, 2003. Ωμέγα-3 λιπαρά οξέα: Πού μπορούμε να τα βρούμε; Ημερομηνία ανάκτησης 1 Αυγούστου 2016, από <http://www.eufic.org/article/el/nutrition/fats/artid/omega-3-fatty-acids/>



- EUFIC, 2008. Η σημασία των ω-3 και ω-6 λιπαρών οξέων. Ημερομηνία ανάκτησης 27 Νοεμβρίου 2016, από <http://www.eufic.org/article/el/nutrition/fats/artid/importance-of-omega-3-and-omega-6-fatty-acids-greek/>.
- Βαρζάκας Θ., Σημειώσεις εργαστηρίου Επεξεργασίας 2, ΤΕΙ Πελοποννήσου. Σελίδες 17-33 και 83-90.
- Γρηγόρης Διαμαντίδης, 1994. *Εισαγωγή στη βιοχημεία*. 2<sup>η</sup> έκδοση. Θεσσαλονίκη: University studio press. Σελίδες 191-211.
- Ε.Μαρίνος. Λιπαρά οξέα- Ωμέγα λιπαρά. Ημερομηνία ανάκτησης 27 Νοεμβρίου 2016, από [http://www.iama.gr/ethno/oxea\\_files/oxea\\_Leuteris\\_Marinos.pdf](http://www.iama.gr/ethno/oxea_files/oxea_Leuteris_Marinos.pdf).
- Ζακυνθινός Γεώργιος, 2011. ΖΕΟΛΙΘΟΣ. Ημερομηνία ανάκτησης 29 Σεπτεμβρίου 2016, από [http://www.superfoods.gr/holistic\\_life/%CF%83%CF%85%CE%BC%CF%80%CE%B%CE%B7%CF%81%CF%8E%CE%BC%CE%B1%CF%84%CE%B1-%CE%BF%CE%B4%CE%B7%CE%B3%CF%8C%CF%82-%CF%83%CF%85%CE%BC%CF%80%CE%BB%CE%B7%CF%81%CF%89%CE%BC%CE%AC%CF%84%CF%89%CE%BD/%CE%B6%CE%B5%CE%BF%CE%BB%CE%B9%CE%B8%CE%BF%CF%83/](http://www.superfoods.gr/holistic_life/%CF%83%CF%85%CE%BC%CF%80%CE%B%CE%B7%CF%81%CF%8E%CE%BC%CE%B1%CF%84%CE%B1-%CE%BF%CE%B4%CE%B7%CE%B3%CF%8C%CF%82-%CF%83%CF%85%CE%BC%CF%80%CE%BB%CE%B7%CF%81%CF%89%CE%BC%CE%AC%CF%84%CF%89%CE%BD/%CE%B6%CE%B5%CE%BF%CE%BB%CE%B9%CE%B8%CE%BF%CF%83/)
- Ιωάννης Καπόλος, Ιωακείμ Σπηλιόπουλος, Σοφία Αγριοπούλου, Λάμπρος Φαρμάκης, 2014. *Σημειώσεις εργαστηρίου «ΕΝΟΡΓΑΝΗΣ ΧΗΜΙΚΗΣ ΑΝΑΛΥΣΗΣ»*. Καλαμάτα: Τεχνολογικό Εκπαιδευτικό Ίδρυμα (Τ.Ε.Ι.) Πελοποννήσου.
- Ιωάννης Ν. Παπαδογιάννης, Βικτωρία Φ. Σαμανίδου, 2001. *Ενόργανη χημική ανάλυση*. Θεσσαλονίκη: εκδόσεις Πήγασος Ζ000. Σελίδες 327-328, 360.
- Ιωάννης Σ. Αρβανιτογιάννης, Αλέξανδρος Χ. Στρατάκος, 2011. *Τεχνολογίες επεξεργασίας και συσκευασίας τροφίμων*. Θεσσαλονίκη: University studio press. Σελίδες 505-511.
- Κωνσταντίνος Α. Δημόπουλος, Σμαραγδή Αντωνοπούλου, 2009. *Βασική Βιοχημεία*. 2<sup>η</sup> έκδοση. Αθήνα. Σελίδες 201-211.
- Κωνσταντίνος Σ. Σφλώμος, 2011. *Χημεία τροφίμων με στοιχεία διατροφής*. Τόμος Ι. Β έκδοση. Αθήνα: nota. Σελίδες 302-303, 437-438.
- Νίκος Καλογερόπουλος, 2015. Ψάρια και Θαλασσινά. Ημερομηνία ανάκτησης 1 Αυγούστου 2016, από

ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ  
ΑΝΤΕΚΕΛΙΔΗ ΔΕΣΠΟΙΝΑ

<https://eclass.hua.gr/modules/document/file.php/DIET157/%CE%A8%CE%91%CE%A1%CE%99%CE%91%20%26%20%CE%98%CE%91%CE%9B%CE%91%CE%A3%CE%A3%CE%99%CE%9D%CE%91%202015.pdf>.

## ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ Α

### ΦΩΤΟΓΡΑΦΙΚΟ ΥΛΙΚΟ ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗΣ ΠΟΡΕΙΑΣ

#### ΛΥΟΦΙΛΙΩΣΗ



Εικόνα Α1. Λυοφιλίωση δειγμάτων σαρδέλας.



Εικόνα Α2. Λυοφιλωμένο δείγμα σαρδέλας.



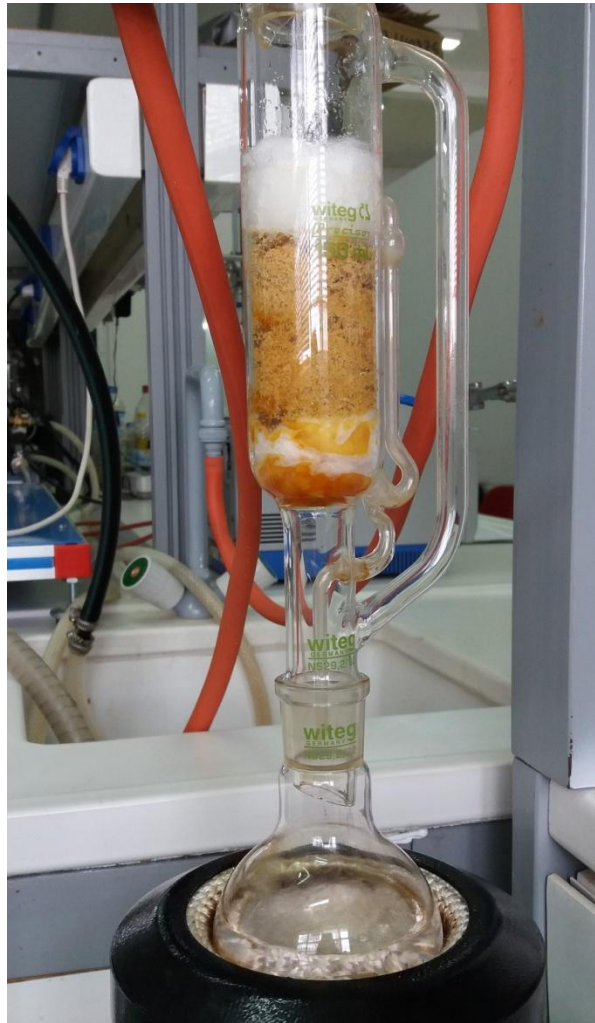
Εικόνα Α3. Θρυμματισμένο δείγμα μετά την λυοφιλίωση.



**ΕΚΧΥΛΙΣΗ ΣΟΧΗΛΕΤ**



Εικόνα Α4. Προετοιμασία του προς εκχύλιση δείγματος.



Εικόνα Α5. Εκχύλιση δείγματος σαρδέλας.



Εικόνα Α6. Συμφωνισμός εκχύλισης.

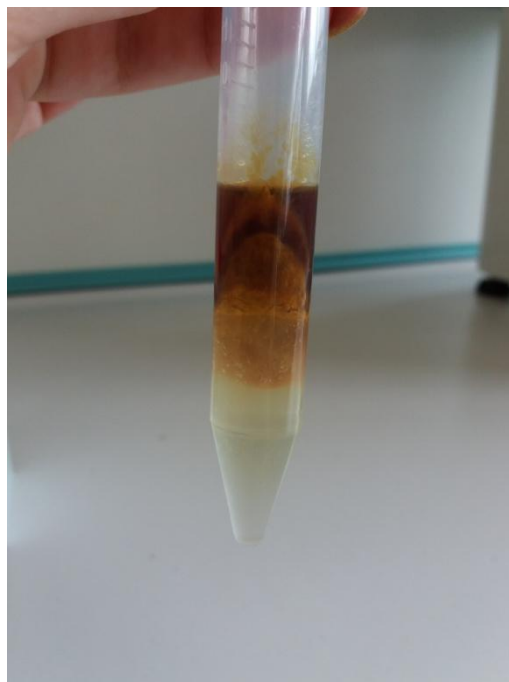


Εικόνα Α7. Δείγμα μετά το τέλος της εκχύλισης

**ΦΥΓΟΚΕΝΤΡΙΣΗ**



**Εικόνα Α8. Φυγόκεντρος.**



**Εικόνα Α9. Φυγοκεντριμένο δείγμα ιχθυελαίου με NaOH και H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>.**