

«ΜΕΛΕΤΗ ΠΡΟΕΛΕΥΣΗΣ ΕΛΑΙΟΛΑΔΟΥ ΜΕ  
ΦΑΣΜΑΤΟΣΚΟΠΙΑ ΦΘΟΡΙΣΜΟΥ»



ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

ΜΠΙΣΤΟΓΙΑΝΝΑΚΗ ΕΛΕΥΘΕΡΙΑ

ΕΠΙΒΛΕΠΩΝ ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ: ΣΠΗΛΙΟΠΟΥΛΟΣ ΙΩΑΚΕΙΜ

ΚΑΛΑΜΑΤΑ, ΙΟΥΝΙΟΣ 2016

«ΜΕΛΕΤΗ ΠΡΟΕΛΕΥΣΗΣ ΕΛΑΙΟΛΑΔΟΥ ΜΕ  
ΦΑΣΜΑΤΟΣΚΟΠΙΑ ΦΘΟΡΙΣΜΟΥ»

ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

ΜΠΙΣΤΟΓΙΑΝΝΑΚΗ ΕΛΕΥΘΕΡΙΑ

ΕΠΙΒΛΕΠΩΝ ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ: ΣΠΗΛΙΟΠΟΥΛΟΣ ΙΩΑΚΕΙΜ

ΚΑΛΑΜΑΤΑ, ΙΟΥΝΙΟΣ 2016

ΔΗΛΩΣΗ ΜΗ ΛΟΓΟΚΛΟΠΗΣ ΚΑΙ ΑΝΑΛΗΨΗΣ  
ΠΡΟΣΩΠΙΚΗΣ ΕΥΘΥΝΗΣ

Με πλήρη επίγνωση των συνεπειών του νόμου περί πνευματικών δικαιωμάτων, δηλώνω ενυπογράφως ότι είμαι αποκλειστικός συγγραφέας της παρούσας Πτυχιακής Εργασίας, για την ολοκλήρωση της οποίας κάθε βοήθεια είναι πλήρως αναγνωρισμένη και αναφέρεται λεπτομερώς στην εργασία αυτή. Έχω αναφέρει πλήρως και με σαφείς αναφορές, όλες τις πηγές χρήσης δεδομένων, απόψεων, θέσεων και προτάσεων, ιδεών και λεκτικών αναφορών, είτε κατά κυριολεξία είτε βάσει επιστημονικής παράφρασης. Αναλαμβάνω την προσωπική και ατομική ευθύνη ότι σε περίπτωση αποτυχίας στην υλοποίηση των ανωτέρω δηλωθέντων στοιχείων, είμαι υπόλογος έναντι λογοκλοπής, γεγονός που σημαίνει αποτυχία στην Πτυχιακή μου Εργασία και κατά συνέπεια αποτυχία απόκτησης του Τίτλου Σπουδών, πέραν των λοιπών συνεπειών του νόμου περί πνευματικών δικαιωμάτων. Δηλώνω, συνεπώς, ότι αυτή η Πτυχιακή Εργασία προετοιμάστηκε και ολοκληρώθηκε από εμένα προσωπικά και αποκλειστικά και ότι, αναλαμβάνω πλήρως όλες τις συνέπειες του νόμου στην περίπτωση κατά την οποία αποδειχθεί, διαχρονικά, ότι η εργασία αυτή ή τμήμα της δεν μου ανήκει διότι είναι προϊόν λογοκλοπής άλλης πνευματικής ιδιοκτησίας.

Μπιστογιαννάκη Ελευθερία

Υπογραφή

.....

08-06-2016

## ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΠΙΝΑΚΑΣ ΕΙΚΟΝΩΝ.....	5
ΕΥΡΕΤΗΡΙΟ ΠΙΝΑΚΩΝ.....	5
ΠΕΡΙΛΗΨΗ .....	6
ABSTRACT .....	7
ΠΡΟΛΟΓΟΣ.....	8
ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ.....	9
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1. ΤΟ ΕΛΑΙΟΛΑΔΟ.....	10
1.1 ΣΥΣΤΑΣΗ ΤΟΥ ΕΛΑΙΟΛΑΔΟΥ .....	10
1.2 ΤΑΞΙΝΟΜΗΣΗ ΕΛΑΙΟΛΑΔΩΝ.....	12
1.3 ΠΑΡΑΓΩΓΗ ΚΑΙ ΚΑΤΑΝΑΛΩΣΗ ΕΛΑΙΟΛΑΔΟΥ .....	12
1.4 ΟΞΕΙΔΩΣΗ ΕΛΑΙΟΛΑΔΟΥ.....	13
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2. ΦΑΣΜΑΤΟΣΚΟΠΙΑ ΦΘΟΡΙΣΜΟΥ (ΦΩΤΑΥΓΕΙΑ) .....	15
2.1 ΦΑΣΜΑΤΟΣΚΟΠΙΑ ΟΛΙΚΗΣ ΦΩΤΑΥΓΕΙΑΣ .....	17
2.2 ΦΑΣΜΑΤΟΜΕΤΡΟ ΦΘΟΡΙΣΜΟΥ.....	18
2.3. ΣΥΓΧΡΟΝΗ ΦΑΣΜΑΤΟΣΚΟΠΙΑ ΦΘΟΡΙΣΜΟΥ.....	20
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3. Η ΦΑΣΜΑΤΟΣΚΟΠΙΑ ΦΘΟΡΙΣΜΟΥ ΣΤΗ ΜΕΛΕΤΗ ΦΥΤΙΚΩΝ ΕΛΑΙΩΝ.....	23
3.1 ΦΘΟΡΙΖΟΝΤΑ ΣΥΣΤΑΤΙΚΑ ΕΛΑΙΟΛΑΔΟΥ ΚΑΙ ΑΛΛΩΝ ΕΛΑΙΩΝ .....	24
3.2 ΔΙΑΚΡΙΣΗ ΕΛΑΙΟΛΑΔΟΥ ΚΑΙ ΦΥΤΙΚΩΝ ΕΛΑΙΩΝ .....	27
3.3 ΔΙΑΚΡΙΣΗ ΕΛΑΙΟΛΑΔΩΝ ΔΙΑΦΟΡΕΤΙΚΗΣ ΠΟΙΟΤΗΤΑΣ.....	33
3.4 ΤΑΥΤΟΠΟΙΗΣΗ ΠΡΟΕΛΕΥΣΗΣ .....	34
3.5 ΔΙΑΚΡΙΣΗ ΕΞΕΥΓΕΝΙΣΜΕΝΩΝ ΚΑΙ ΜΗ ΕΞΕΥΓΕΝΙΣΜΕΝΩΝ ΕΛΑΙΟΛΑΔΩΝ .....	34
3.6 ΕΦΑΡΜΟΓΗ ΣΕ ΑΡΑΙΩΜΕΝΑ ΚΑΙ ΜΗ ΑΡΑΙΩΜΕΝΑ ΔΕΙΓΜΑΤΑ ΕΛΑΙΩΝ	36
3.7 ΕΦΑΡΜΟΓΕΣ ΓΙΑ ΤΗΝ ΠΑΡΑΚΟΛΟΥΘΗΣΗ ΤΗΣ ΟΞΕΙΔΩΣΗΣ .....	39
ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ.....	46
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4. ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ .....	47
4.1 ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ.....	47
4.2 ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ.....	50
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5. ΣΥΖΗΤΗΣΗ ΚΑΙ ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ.....	63
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....	66

## ΠΙΝΑΚΑΣ ΕΙΚΟΝΩΝ

Εικόνα 1.1: Οι φαινόλες υδροξυτυροσόλη και τυροσόλη.....	11
Εικόνα 1.2: Μέσος όρος κατανάλωσης κατ' άτομο, σε kg, σε χώρες της ΕΕ για τα έτη 1999-2000.....	13
Εικόνα 2.1: Σχηματική απεικόνιση της οργανολογίας ενός φασματόμετρου φθορισμού.....	18
Εικόνα 2.2: Μοντέλα διέγερσης-εκπομπής έξτρα παρθένου ελαιολάδου με χρήση διαφορετικού μεγέθους βήματος.....	19
Εικόνα 3.1: Φάσμα διέγερσης-εκπομπής έξτρα παρθένου ελαιολάδου (πράσινο, μπλε) και τοκοφερόλης (κόκκινο).....	25
Εικόνα 3.2: Μοντέλο διέγερσης-εκπομπής έξτρα παρθένου ελαιολάδου.....	27
Εικόνα 3.3: Δισδιάστατη απεικόνιση των φασμάτων ολικής σύγχρονης φωταύγειας παρθένου ελαιολάδου και πιθανών νοθευμάτων. Οι γκρι αποχρώσεις δείχνουν τις εντάσεις φθορισμού.....	29
Εικόνα 3.4: Φάσμα φθορισμού ελαιολάδου σύγχρονης σάρωσης με διαφορετικά διαστήματα μήκους κύματος. A: 20 nm, B: 40 nm, C: 60 nm, D: 80 nm.....	30
Εικόνα 3.5: Φάσμα φθορισμού σύγχρονης σάρωσης δειγμάτων ελαίων διαλυμένων σε n-εξάνιο, 1% v/v. $\Delta\lambda_1=10$ nm, $\Delta\lambda_2=20$ nm, $\Delta\lambda_3=30$ nm, $\Delta\lambda_4=40$ nm, $\Delta\lambda_5=50$ nm, $\Delta\lambda_6=60$ nm.....	32
Εικόνα 3.6: Μοντέλο διέγερσης-εκπομπής έξτρα παρθένου ελαιολάδου (a), αγνού ελαιολάδου (b), πυρηνέλαιου (c) και ηλιέλαιου (d).....	35
Εικόνα 3.7: (A) Φάσματα εκπομπής ελαιολάδου με $\lambda_{ex}=320$ nm. a) απευθείας φωτισμός, b) υπό γωνία με διόρθωση απορρόφησης, c) πολλαπλασιασμένο επί $10^6$ , d) υπό γωνία χωρίς διόρθωση απορρόφησης, (B) Φάσματα εκπομπής ελαιολάδου με $\lambda_{ex}=280$ nm. a) απευθείας φωτισμός, b) υπό γωνία χωρίς διόρθωση απορρόφησης και πολλαπλασιασμένο επί 3,7, c) εμπρόσθια όψη με διόρθωση δεύτερης τάξεως, d) υπό γωνία.....	36
Εικόνα 3.8: Σύγκριση των φασματικών ζωνών των δειγμάτων ελαίων σε διαφορετικές συγκεντρώσεις.....	37
Εικόνα 3.9: Φάσματα ολικής φωταύγειας αραβοσιτελαίου. (A) δείγμα αραιωμένο σε n-εξάνιο, 1% v/v, (B) χύδη λάδι.....	38
Εικόνα 3.10: Φάσμα φθορισμού εξαιρετικά παρθένο ελαιολάδου.....	43
Εικόνα 3.11: Φάσμα φθορισμού εξευγενισμένου ελαιολάδου. Συνεχής γραμμή: αμιγές εξευγενισμένο ελαιόλαδο. Διακεκομμένη γραμμή: εξευγενισμένο ελαιόλαδο με προσθήκη χλωροφύλλης.....	44
Εικόνα 3.12: Φάσματα δειγμάτων φυτικών ελαίων.....	45

## ΕΥΡΕΤΗΡΙΟ ΠΙΝΑΚΩΝ

Πίνακας 1: Ιδιότητες φθορισμού συστατικών ελαιολάδου.....	26
Πίνακας 2: Ελαιόλαδα από περιοχές του νομού Μεσσηνίας.....	48
Πίνακας 3: Ελαιόλαδα από περιοχές εκτός του νομού Μεσσηνίας.....	49
Πίνακας 4: Ρυθμίσεις Παραμέτρων / Set up Parameters.....	49

## ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Το ελαιόλαδο είναι το σημαντικότερο από τα βρώσιμα έλαια καθώς καταναλώνεται ευρέως ανά τον κόσμο και έχει υψηλή διατροφική αξία. Οι διάφορες ποιότητες ελαιολάδου ταξινομούνται ανάλογα με την επί τοις εκατό (%) οξύτητα. Το καλύτερης ποιότητας ελαιόλαδο είναι το εξαιρετικά παρθένο ελαιόλαδο. Ωστόσο, η νοθεία του είναι ένα φαινόμενο που συμβαίνει συχνά, και ως εκ τούτου είναι αντικείμενο μελέτης πολλών ερευνητών. Η ανάγκη για την ανίχνευση της νοθείας του με ελαιόλαδα κατώτερης ποιότητας ή άλλα έλαια, την ταυτοποίηση της προέλευσης καθώς και τον έλεγχο οξειδωσης και ποιοτικής υποβάθμισής του οδήγησαν στη χρήση φασματοσκοπικών τεχνικών, μία εκ των οποίων είναι η φασματοσκοπία φθορισμού. Η φασματοσκοπία φθορισμού ανιχνεύει τις ενώσεις που φθορίζουν στα τρόφιμα· στο ελαιόλαδο οι ενώσεις αυτές είναι οι πολυφαινόλες, οι χλωροφύλλες και οι τοκοφερόλες. Ωστόσο, το ελαιόλαδο καθώς και τα υπόλοιπα φυτικά έλαια είναι πολύπλοκα συστήματα, για αυτό η καλύτερη ανάλυσή τους επιτυγχάνεται με την τεχνική της σύγχρονης (synchronous) φασματοσκοπίας φθορισμού. Η τεχνική αυτή είναι κατάλληλη για την ανίχνευση διαφορετικών φθορίζόντων συστατικών την ίδια στιγμή, καθώς οι μονοχρωμάτορες διέγερσης και εκπομπής σαρώνουν ταυτόχρονα όλη την επιθυμητή περιοχή του φάσματος. Τα φάσματα που προκύπτουν από τις αναλύσεις δίνουν τα απαραίτητα στοιχεία ώστε να διαμορφωθεί η γενική εικόνα του εκάστοτε δείγματος. Οι διάφορες μελέτες που έχουν δημοσιευθεί αποδεικνύουν ότι είναι δυνατή η λήψη χρήσιμων πληροφοριών και η ταυτοποίηση των ελαίων με αυτή την τεχνική.

**Λέξεις κλειδιά:** εξαιρετικά παρθένο ελαιόλαδο, ανάλυση ελαιολάδου, αυθεντικότητα ελαιολάδου, σύγχρονη φασματοσκοπία φθορισμού

## ABSTRACT

Olive oil is the most important of edible oils as widely consumed around the world and has high nutritional value. Different oil grades are classified based on the percentage (%) acidity. The best quality olive oil is extra virgin olive oil. However, its fraud is a phenomenon that occurs frequently, and hence it is study of many researchers. The need to detect the adulteration of a lower quality oils or other oils, to identify the origin and the oxidation control and quality deterioration led to the use of spectroscopic techniques, one of which is fluorescence spectroscopy. Fluorescence spectroscopy detects compounds that fluoresce; in oil these compounds are polyphenols, chlorophylls and tocopherols. However, olive oil and other vegetable oils are complex systems; therefore, synchronous fluorescence spectroscopy is the best technique to study these systems. This technique is suitable for the detection of different fluorescent components at the same time as the excitation and emission monochromators simultaneously scan all the desired region of spectrum. The spectra resulting from the analyses give the necessary information to constitute the overall profile of the sample. Various studies have been published showing that is possible to obtain useful information and identification of oils with this technique.

**Keywords:** extra virgin olive oil, analysis of olive oil, authentication of olive oil, synchronous fluorescence spectroscopy

## ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Η φασματοσκοπία φθορισμού είναι, έπειτα από κατάλληλη προετοιμασία του δείγματος, μία από τις πιο ευαίσθητες και εκλεκτικές μεθόδους για την ποσοτική ανάλυση πολλών ενώσεων σε ένα εύρος αναλύσεων που καλύπτει οργανικές και ανόργανες αναλύσεις, βιοχημικές αναλύσεις, αναλύσεις γεωργικής και περιβαλλοντικής χημείας, δημόσιας υγείας και κλινικής παθολογίας (Sikorska *et. al.*, 2004). Οι ιδιότητες φθορισμού χαρακτηρίζονται από δύο βασικούς τύπους φασμάτων, τα οποία είναι το φάσμα διέγερσης και το φάσμα εκπομπής. Για ένα σύστημα που περιέχει ένα μοναδικό φθοροφόρο, η μορφή και η θέση των φασμάτων διέγερσης και εκπομπής δεν εξαρτώνται από τα αντίστοιχα μήκη κύματος διέγερσης και εκπομπής που έχουν οριστεί. Ωστόσο, για ένα σύστημα που περιέχει διάφορα φθορίζοντα συστατικά, τα φάσματα διέγερσης και εκπομπής εξαρτώνται από τις συγκεκριμένες τιμές μήκους κύματος διέγερσης και εκπομπής που χρησιμοποιείται για τις μετρήσεις. Ως εκ τούτου, σε συστήματα που περιέχουν πολλά φθορίζοντα στοιχεία, τα φάσματα μονού μήκους κύματος είναι ανεπαρκή για μια ολοκληρωμένη περιγραφή των ιδιοτήτων φθορισμού. Επομένως θα πρέπει να χρησιμοποιούνται οι πολυδιάστατες μέθοδοι μέτρησης (Sikorska *et. al.*, 2012). Τα λίπη και έλαια αποτελούν μια από τις κύριες κατηγορίες των προϊόντων διατροφής, καθώς περιέχουν πολλά θρεπτικά συστατικά (Sikorska *et. al.*, 2005b) και για αυτό το λόγο η μελέτη τους παρουσιάζει μεγάλο ενδιαφέρον. Για την παρούσα εργασία μελετήθηκαν δείγματα ελαιολάδου από διαφορετικές περιοχές με σύγχρονη φασματοσκοπία φθορισμού ώστε να προσδιοριστεί η προέλευσή τους. Ακόμη, αναφέρονται διάφορες έρευνες που έχουν πραγματοποιηθεί για τη μελέτη των ελαιολάδων και των άλλων φυτικών ελαίων.



## **ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ**

## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1. ΤΟ ΕΛΑΙΟΛΑΔΟ

Το ελαιόλαδο λαμβάνεται από τον καρπό του δέντρου της ελιάς. Το επιστημονικό όνομα για το ελαιόδεντρο είναι *Olea europaea L.* και προέρχεται από την ελληνική λέξη Ελέα, η οποία χρησιμοποιείται για να ορίσει το δέντρο της ελιάς. Η προέλευση της ελιάς είναι άγνωστη. Ωστόσο λέγεται ότι έχει εμφανιστεί κατά τους προϊστορικούς χρόνους στη νότια Μικρά Ασία, όπου τώρα υπάρχουν άφθονα δάση από άγρια ελαιόδεντρα και φαίνεται να έχει εξαπλωθεί από τη Συρία προς την Ελλάδα μέσω της Ανατολίας (Martí and Baldrich, 2005). Συγκεκριμένα υποστηρίζεται ότι η ελιά διαδόθηκε από τη Βόρεια Συρία στα ελληνικά νησιά και την ηπειρωτική Ελλάδα και έπειτα στην Ιταλία, τη Σικελία, τη Σαρδηνία και στις υπόλοιπες χώρες της Μεσογείου. Σήμερα, στη χώρα μας, απαντώνται αγριελιές από τις βουνοπλαγιές του Ολύμπου μέχρι τον Ψηλορείτη και από τα νησιά του Αιγαίου ως τα νησιά του Ιονίου Πελάγους (Κυριτσάκης, 2007).

Τα διάφορα ελαιόλαδα προέρχονται από πάρα πολλές ποικιλίες ελιάς, οι οποίες γενικά σχετίζονται με το έδαφος που παρέχει συγκεκριμένες αισθητικές και χημικές ιδιότητες (Dupuy *et al.*, 2005). Ο έλεγχος της ταυτότητας του ελαιολάδου βασίζεται στην αξιολόγηση πολλών παραμέτρων, μερικοί από τους οποίους είναι η οξύτητα, η σύνθεση λιπαρών οξέων, η τιμή υπεροξειδίου, η απορρόφηση UV, η περιεκτικότητα τρινολεΐνης, η σύνθεση των στερολών (Martí and Baldrich, 2005, Aparicio *et al.*, 2000, Sikorska *et al.*, 2012, Marini *et al.*, 2004) και η οργανοληπτική ανάλυση (Martí and Baldrich, 2005, Marini *et al.*, 2004).

### 1.1 ΣΥΣΤΑΣΗ ΤΟΥ ΕΛΑΙΟΛΑΔΟΥ

Το ελαιόλαδο αποτελείται κυρίως από τριακυλογλυκερόλες (τριγλυκερίδια), ενώ περιέχει μικρές ποσότητες ελεύθερων λιπαρών οξέων, γλυκερόλη, φωσφατίδια, χρωστικές, αρωματικές ενώσεις, στερόλες, άγνωστες ρητινώδης ουσίες και άλλα συστατικά. Αυτά τα συστατικά μπορούν να χωριστούν σε δύο κατηγορίες, το σαπωνοποιήσιμο κλάσμα που αποτελείται από τριγλυκερίδια, ελεύθερα λιπαρά οξέα και φωσφατίδια και το μη σαπωνοποιήσιμο κλάσμα που αποτελείται από υδρογονάνθρακες, στερόλες, τοκοφερόλες, λιπαρές αλκοόλες, φαινολικές ενώσεις, χρωστικές ουσίες, φωσφολιπίδια, πτητικές ενώσεις, διακυλογλυκερόλες και κήρους και καλύπτει ένα ποσοστό της τάξεως 0,5-1,5% (Martí and Baldrich, 2005).

Το κυριότερο συστατικό των υδρογονανθράκων είναι ο τριτερπενικός υδρογονάνθρακας σκουαλένιο, που αποτελεί την πρόδρομη ένωση της βιοσύνθεσης των στερολών. Ο προσδιορισμός του στο ελαιόλαδο μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την

εξακρίβωση πιθανής νοθείας του με άλλα έλαια. Οι τοκοφερόλες είναι ετεροκυκλικές ενώσεις μεγάλου μοριακού βάρους και δρουν ως φυσικά αντιοξειδωτικά. Ωστόσο, κατά τον εξυγενισμό του ελαιολάδου παρατηρούνται απώλειες στα επίπεδα της α-τοκοφερόλης έως και 50% (Κυριτσάκης, 2007).

Οι κυριότερες χρωστικές ουσίες που απαντούν στο ελαιόλαδο είναι τα καροτενοειδή, τα οποία οφείλονται για την κίτρινη απόχρωσή του, αλλά και οι χλωροφύλλες ακαι b, οι οποίες δίνουν το χαρακτηριστικό πράσινο χρώμα. Το κύριο συστατικό του καρπού, το οποίο μεταφέρεται και στο ελαιόλαδο είναι η ελευρωπαΐνη. Η ουσία αυτή είναι μια πολυφαινόλη που ανήκει σε μια ομάδα παραγώγων της κουμαρίνης, τα ιριδοειδή, και ευθύνεται για την πικρή γεύση. Η ελευρωπαΐνη μαζί με τις τοκοφερόλες και τις χλωροφύλλες είναι οι ουσίες που φθορίζουν και τις οποίες ανιχνεύει το φασματόμετρο φθορισμού. Από τις φαινόλες οι κυριότερες είναι η τυροσόλη και η υδροξυτυροσόλη (Εικ 1.1) και απαντούν στο ελαιόλαδο σε ελεύθερη και δεσμευμένη μορφή. Οι ουσίες αυτές παρέχουν σημαντική αντιοξειδωτική σταθερότητα στα ελαιόλαδα (Κυριτσάκης, 2007).



Εικόνα 1.1: Οι φαινόλες υδροξυτυροσόλη και τυροσόλη (Κυριτσάκης, 2007, σελ 87)

Η κύρια τριακυλογλυκερόλη που υπάρχει στο ελαιόλαδο είναι η τριελαΐνη και καλύπτει το 40% της συνολικής σύνθεσης. Αποτελείται από ένα μόριο γλυκερίνης με τρεις δεσμούς εστέρα. Τα κύρια λιπαρά οξέα που υπάρχουν ως γλυκερίδια στο ελαιόλαδο είναι το ελαϊκό οξύ, το λινελαϊκό οξύ, το παλμιτικό οξύ και το στεατικό οξύ (Martí and Baldrich, 2005). Το ελαϊκό οξύ υπάρχει σε υψηλότερες συγκεντρώσεις από τα υπόλοιπα λιπαρά οξέα και καλύπτει το 54-93,5% το συνόλου τους. Τα υπόλοιπα απαντώνται σε ποσοστό 1-23,6%, 7,1-21,1% και 0,3-3,8%, αντίστοιχα. Η διακύμανση που παρατηρείται πιθανόν οφείλεται στην ποικιλία και στην περιοχή καλλιέργειας της ελιάς. Ωστόσο, η επιτροπή Contex Alimentarius (1970) καθιέρωσε ελάχιστα και μέγιστα όρια για τα βασικά λιπαρά οξέα του ελαιολάδου. Συγκεκριμένα για το ελαϊκό από 56 έως 83%, για το λινελαϊκό από 3 έως 20% και για το παλμιτικό από 7 έως 20% (Κυριτσάκης, 2007).

Ακόμη στο ελαιόλαδο έχει βρεθεί και το ελεανολικό οξύ, το οποίο κατατάσσεται στα τριτερπενικά οξέα και σχετίζεται με τη σταθερότητα του ελαιολάδου. Βρίσκεται σε μεγαλύτερες συγκεντρώσεις στο πυρηνέλαιο από ότι στο ελαιόλαδο και ευθύνεται για τη

θολότητά του. Άλλα τριτερπενικά οξέα που απαντώνται σε ίχνη είναι το μασλινικό και το ουρσολικό (Κυριτσάκης, 2007).

## 1.2 ΤΑΞΙΝΟΜΗΣΗ ΕΛΑΙΟΛΑΔΩΝ

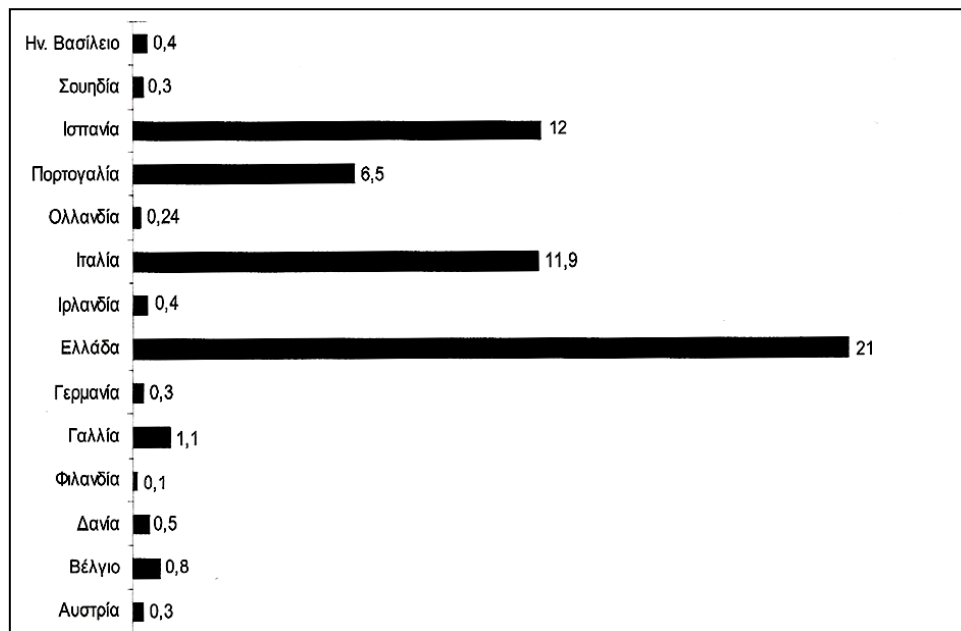
Τα ελαιόλαδα κατατάσσονται σε κατηγορίες και τιμολογούνται σύμφωνα με την οξύτητα, η οποία εκφράζεται σε επί τοις εκατό (%) ελαϊκό οξύ (Sikorska *et. al.*, 2012). Η κατηγορία «παρθένο ελαιόλαδο» περιλαμβάνει το εξαιρετικά ή έξτρα παρθένο ελαιόλαδο με οξύτητα 1,0g/100g, το παρθένο ελαιόλαδο με οξύτητα 2,0g/100g, το απλό παρθένο ελαιόλαδο με οξύτητα 3,3g/100g και το μειονεκτικό (lampante) παρθένο ελαιόλαδο με οξύτητα μεγαλύτερη από 3,3g/100g (Martí and Baldrich, 2005). Το «εξευγενισμένο ή ραφιναρισμένο ελαιόλαδο» λαμβάνεται από το παρθένο ελαιόλαδο έπειτα από μια διαδικασία ραφινάρισματος, η οποία δεν οδηγεί σε αλλοιώσεις της αρχικής δομής της γλυκερόλης. Το «ελαιόλαδο» ή «αγνό ελαιόλαδο» είναι ένα μίγμα παρθένου ελαιολάδου και ραφιναρισμένου ελαιολάδου. Τέλος, η κατηγορία «πυρηνέλαιο» περιλαμβάνει το ακατέργαστο πυρηνέλαιο, το ραφιναρισμένο πυρηνέλαιο και το πυρηνέλαιο και λαμβάνεται από την εκχύλιση του ελαιοπυρήνα με διάφορους διαλύτες (Martí and Baldrich, 2005).

Το πιο ακριβό είναι το υψηλής ποιότητας έξτρα παρθένο ελαιόλαδο και συχνά υπόκειται τόσο σε εσφαλμένη επισήμανση όσο και σε νοθεία (Sikorska *et. al.*, 2012). Σύμφωνα με το Διεθνές Συνέδριο Ελαιολάδου (IOOC 2003) το «παρθένο ελαιόλαδο» είναι το λάδι που παραλαμβάνεται από τον ελαιόκαρπο αποκλειστικά με μηχανικές ή άλλες φυσικές μεθόδους κάτω από συνθήκες που δεν οδηγούν στην αλλοίωσή του» (Poulli *et. al.*, 2007).

## 1.3 ΠΑΡΑΓΩΓΗ ΚΑΙ ΚΑΤΑΝΑΛΩΣΗ ΕΛΑΙΟΛΑΔΟΥ

Το ελαιόλαδο είναι πλέον το κυριότερο βρώσιμο λάδι που χρησιμοποιείται στη Μεσόγειο (Poulli *et. al.*, 2007) καθώς είναι ένα προϊόν με υπέροχο άρωμα, ευχάριστη γεύση και υψηλή θρεπτική αξία (Martí and Baldrich, 2005). Η λεκάνη της Μεσογείου αποτελεί τη σημαντικότερη περιοχή παραγωγής ελαιολάδου παγκοσμίως (Dupuy *et. al.*, 2005) καθώς είναι ένα από τα βασικά συστατικά της μεσογειακής διατροφής (Martí and Baldrich, 2005). Συγκεκριμένα, οι Ιταλοί, οι Ισπανοί και οι Έλληνες καταναλώνουν 29, 32 και 47 g, ανά άτομο την ημέρα, αντίστοιχα (Poulli *et. al.*, 2007) και ακολουθούν η Πορτογαλία, η Τυνησία, η Αλγερία και το Μαρόκο (Κυριτσάκης, 2007). Στη χώρα μας, η ποσότητα ελαιολάδου που καταναλώνεται έχει ξεπεράσει τα 20 kg ανά άτομο ετησίως (Εικ. 1.2) (Κυριτσάκης, 2007). Ακόμη, σύμφωνα με το Ισπανικό Υπουργείο Γεωργίας, Αλιείας και Τροφίμων το 2001 η συνολική παραγωγή ελαιολάδου στην Ισπανία ήταν 1.422.000 τόνοι (Martí and Baldrich,

2005), ενώ γενικά καλύπτει το 1/3 του συνόλου της παραγωγής των μεσογειακών χωρών (Κυριτσάκης, 2007). Επομένως, η τεράστια διατροφική και οικονομική σημασία αυτού του προϊόντος τροφής παρουσιάζει μεγάλο ενδιαφέρον για τον ποιοτικό του έλεγχο και την ανίχνευση πιθανής απάτης (Sikorska *et. al.*, 2012, Martí and Baldrich, 2005).



Εικόνα 1.2: Μέσος όρος κατανάλωσης κατ' άτομο, σε kg, σε χώρες της ΕΕ για τα έτη 1999-2000 (Κυριτσάκης, 2007, σελ. 20)

#### 1.4 ΟΞΕΙΔΩΣΗ ΕΛΑΙΟΛΑΔΟΥ

Η αναλογία κορεσμένων και ακόρεστων λιπαρών οξέων έχει σημαντικό ρόλο στη συμπεριφορά του ελαιολάδου (Martí and Baldrich, 2005, Kiritsakis, 1998). Σε σύγκριση με τα σπορέλαια, το παρθένο ελαιόλαδο έχει χαμηλά επίπεδα σε κορεσμένα (~16%) και υψηλά επίπεδα σε μονοακόρεστα λιπαρά οξέα και κυρίως ολεϊκό οξύ σε ποσοστό περίπου 64% (Poulli *et. al.*, 2007). Η υποβάθμιση της ποιότητάς του προκαλείται από την οξείδωση των ακόρεστων λιπαρών οξέων, η οποία συμβαίνει όταν κατά την αποθήκευσή του στο σκοτάδι έρχεται σε επαφή με το οξυγόνο. Ως αποτέλεσμα, τα απαραίτητα λιπαρά οξέα καταστρέφονται και οι λιποδιαλυτές βιταμίνες E (τοκοφερόλες) και A (β-καροτένιο) εξαφανίζονται (Martí and Baldrich, 2005, Kiritsakis, 1998), ενώ σχηματίζονται υδροϋπεροξειδία αλλά και πτητικές ενώσεις μέσω μιας διαδικασίας που περιλαμβάνει τις φάσεις έναρξης, διάδοσης και τερματισμού (Kongbonga *et. al.*, 2011). Τα προϊόντα οξείδωσης έχουν μια δυσάρεστη γεύση και οσμή και επηρεάζουν τη διατροφική αξία του ελαίου. Ωστόσο, η χαμηλή περιεκτικότητα σε πολυακόρεστα λιπαρά οξέα και η παρουσία φυσικών αντιοξειδωτικών, όπως οι φαινολικές ενώσεις, οι τοκοφερόλες και το β-καροτένιο στα ελαιόλαδα, τα προστατεύουν από την οξείδωση. Οι τέσσερις χρωστικές ουσίες που

περιέχονται στο ελαιόλαδο, οι χλωροφύλλες a και b και τα παράγωγά τους φαιοφυτίνες a και b, επίσης δρουν ως αντιοξειδωτικά στο σκοτάδι, αλλά έχουν οξειδωτική επίδραση παρουσία φωτός (φωτο-οξείδωση). Επομένως, όσο περισσότερο εκτίθενται στο φως, τόσο ταχύτερα μετατρέπονται τα συζευγμένα υδροϋπεροξειδία σε δευτερογενή προϊόντα οξείδωσης (Martí and Baldrich, 2005, Kiritsakis, 1998).

Οι διαδικασίες που εμπλέκονται στην παραγωγή ελαιολάδου έχουν επίσης επίδραση στη σταθερότητά τους. Η διαδικασία διύλισης αφαιρεί σχεδόν ολοκληρωτικά τις υπάρχουσες φαινολικές ενώσεις. Αυτό έχει σαν αποτέλεσμα το αγνό ελαιόλαδο και το πυρηνέλαιο, τα οποία υφίστανται διεργασίες εξευγενισμού κατά την παραγωγή τους, να είναι πιο επιρρεπή στην αποικοδόμηση από τα έξτρα παρθένα και παρθένα ελαιόλαδα (Martí and Baldrich, 2005).

## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2. ΦΑΣΜΑΤΟΣΚΟΠΙΑ ΦΘΟΡΙΣΜΟΥ (ΦΩΤΑΥΓΕΙΑ)

Φωταύγεια είναι η εκπομπή φωτός από οποιαδήποτε ουσία και παρατηρείται από ηλεκτρονικά διεγερμένες καταστάσεις. Η μοριακή φασματοσκοπία φθορισμού είναι ένας τύπος φωταύγειας όπου τα μόρια εκπέμπουν φως από μια διεγερμένη κατάσταση μετά την απορρόφηση ορατής ή υπεριώδους ακτινοβολίας. Στη διεγερμένη κατάσταση, το ηλεκτρόνιο στο διεγερμένο τροχιακό συνδέεται με το δεύτερο ηλεκτρόνιο στο τροχιακό της θεμελιώδους κατάστασης. Συνεπώς, η επιστροφή στη θεμελιώδη κατάσταση παρατηρείται ταχέως από την εκπομπή ενός φωτονίου (Martí and Baldrich, 2005). Η φασματοσκοπία μοριακής φωταύγειας καλύπτει ένα εύρος τεχνικών, στο οποίο περιλαμβάνονται ο μοριακός φθορισμός, ο φθορισμός και φωσφορισμός και η χημειοφωταύγεια (Θωμαΐδης, 2015).

Η φασματοσκοπία φθορισμού είναι ένα είδος φωταύγειας, μία διαδικασία κατά την οποία ένα μόριο διεγείρεται ηλεκτρονικά με απορρόφηση υπεριώδους (UV), ορατής (VIS) ή υπέρυθρης (IR) ακτινοβολίας και αποδιεγείρεται πίσω στην αρχική κατάσταση με εκπομπή ενός φωτονίου (Sikorska *et. al.*, 2012, Θωμαΐδης, 2015). Ο φθορισμός είναι η εκπομπή από μία διεγερμένη κατάσταση, στην οποία η ηλεκτρονιακή περιστροφή (spin) είναι ίση με εκείνη στην θεμελιώδη κατάσταση, και τυπικά ισούται με μηδέν (Sikorska *et. al.*, 2012).

Έντονο φθορισμό παρουσιάζουν οι ενώσεις που περιέχουν αρωματικές ομάδες, οι ενώσεις με αλειφατικές δομές υψηλής συζυγίας (Martí and Baldrich, 2005, Θωμαΐδης, 2015), οι περισσότεροι μη υποκατεστημένοι αρωματικοί δακτύλιοι, οι ενώσεις με μεγάλο αριθμό αρωματικών δακτυλίων και υψηλό βαθμό συμπύκνωσης (Θωμαΐδης, 2015) και οι ενώσεις που περιέχουν ομάδα καρβονυλίου (Martí and Baldrich, 2005). Εν αντιθέσει, οι απλές ετεροκυκλικές ενώσεις δε φθορίζουν, ενώ οι συμπυκνωμένες δομές βενζολίου με ετεροκυκλικό πυρήνα προκαλούν αύξηση του φθορισμού (Θωμαΐδης, 2015).

Η φασματοσκοπία φθορισμού έχει χρησιμοποιηθεί στο παρελθόν για τον προσδιορισμό της γνησιότητας του ελαιολάδου. Τα πλεονεκτήματα αυτής της τεχνικής είναι η ταχύτητα της ανάλυσης, η αποφυγή χρήσης διαλυτών και αντιδραστηρίων και η απαίτηση μικρών ποσοτήτων δείγματος (Martí and Baldrich, 2005).

Ένα ακόμη χαρακτηριστικό της φασματοσκοπίας φθορισμού, που τη διακρίνει από άλλες φασματοσκοπικές τεχνικές, είναι ο πολυδιάστατος χαρακτήρας της. Η διέγερση των μορίων προκύπτει από την απορρόφηση ακτινοβολίας σε ενέργεια που αντιστοιχεί στη διαφορά ενέργειας μεταξύ της αρχικής και της διεγερμένης κατάστασης ενός δεδομένου φθοροφόρου. Στη συνέχεια εκπέμπεται ακτινοβολία χαμηλότερης ενέργειας, χαρακτηριστική για το συγκεκριμένο μόριο, κατά την αποδιέγερσή του. Έτσι, οι ιδιότητες φθορισμού της κάθε ένωσης χαρακτηρίζονται από το φάσμα διέγερσης και το φάσμα εκπομπής. Αυτό το χαρακτηριστικό και το γεγονός ότι δεν είναι όλα τα μόρια που απορροφούν ακτινοβολία

φθορίζοντα, συμβάλλουν στην υψηλότερη εκλεκτικότητα του φθορισμού (Sikorska *et. al.*, 2012, Θωμαΐδης, 2015).

Τέλος, η συγκεκριμένη τεχνική ξεχωρίζει για την ευαισθησία της, η οποία είναι περίπου 100-1000 φορές υψηλότερη έναντι άλλων τεχνικών απορρόφησης, καθώς μπορεί να χρησιμοποιηθεί και για συγκεντρώσεις μικρότερες της τάξης του δισεκατομμυριοστού (parts per billion ή ppb) (Sikorska *et. al.*, 2012, Θωμαΐδης, 2015).

Πολλοί παράγοντες μπορούν να επηρεάσουν την ένταση του φθορισμού. Κάποιοι από αυτούς τους παράγοντες σχετίζονται με τη φύση και τη συγκέντρωση των φθοροφόρων (Sikorska *et. al.*, 2012). Στα πολύ πυκνά διαλύματα συμβαίνουν πολλές συγκρούσεις μεταξύ των μορίων που παράγουν φαινόμενα αυτο-απορρόφησης (Martí and Baldrich, 2005). Ακόμη, σχετίζονται με το μοριακό τους περιβάλλον (Sikorska *et. al.*, 2012), το pH (Θωμαΐδης, 2015) όταν το φθοροφόρο περιέχει όξινους ή βασικούς υποκαταστάτες (Martí and Baldrich, 2005) και τις επιπτώσεις της απορρόφησης (Sikorska *et. al.*, 2012). Κάποιοι άλλοι αφορούν το ιξώδες του διαλύτη και τη θερμοκρασία, των οποίων η μείωση ή αύξηση, αντίστοιχα, προκαλεί μείωση της έντασης φθορισμού (Martí and Baldrich, 2005, Θωμαΐδης, 2015) επειδή συμβαίνουν περισσότερες συγκρούσεις μεταξύ των μορίων (Martí and Baldrich, 2005). Ακόμη, η ένταση φθορισμού μειώνεται με χρήση διαλυτών με βαρέα άτομα (Θωμαΐδης, 2015). Στα σύνθετα φυσικά συστήματα, όπως τα έλαια, η παρουσία τους είναι απείρως σημαντική και έτσι πρέπει να λαμβάνονται υπ' όψιν κατά τη μέτρηση και την ερμηνεία των φασμάτων (Sikorska *et. al.*, 2012).

Για να υπάρχει αναλογία μεταξύ της έντασης φθορισμού και της συγκέντρωσης της φθορίζουσας ουσίας πρέπει η απορρόφηση στο μήκος κύματος διέγερσης να είναι μικρότερη από 0,05 και κοντά στο μηδέν στην περιοχή του φάσματος εκπομπής (Sikorska *et. al.*, 2012). Ωστόσο, κατά τη μέτρηση δειγμάτων υψηλότερης συγκέντρωσης παρατηρείται επίδραση των εσωτερικών φίλτρων (Martí and Baldrich, 2005), που οδηγεί στην εξασθένηση της έντασης εκπομπής λόγω της απορρόφησης του προσπίπτοντος φωτός διέγερσης και στην απορρόφηση του εκπεμπόμενου φωτός (Sikorska *et. al.*, 2012, Martí and Baldrich, 2005). Αυτό προκαλεί στρεβλώσεις στην ένταση και το σχήμα των φασμάτων. Για να αποφευχθούν οι επιδράσεις των εσωτερικών φίλτρων λόγω των υψηλών οπτικών πυκνοτήτων ή της θολότητας του δείγματος, θα πρέπει να χρησιμοποιηθεί κατάλληλη γεωμετρία φωτισμού του δείγματος. Η πιο συνήθης γεωμετρία που χρησιμοποιείται είναι η παρατήρηση υπό γωνία 90° αλλά είναι κατάλληλη μόνο για αραιωμένα δείγματα. Αντίθετα, για δείγματα με μεγάλες οπτικές πυκνότητες ο εμπρόσθιος φωτισμός είναι προτιμότερος (Sikorska *et. al.*, 2012, Zandomenighi *et. al.*, 2005), επειδή τα φάσματα φθορισμού επηρεάζονται λιγότερο από τα εσωτερικά φίλτρα (Martí and Baldrich, 2005).

Σύμφωνα με τον Christensen (Christensen *et. al.*, 2006) έχει αποδειχθεί ότι πρέπει να πληρούνται διάφορες προϋποθέσεις σε ένα ιδανικό σύστημα για μετρήσεις φθορισμού. Η



συγκέντρωση των φθοροφόρων ουσιών πρέπει να είναι επαρκώς χαμηλή και να υπάρχει γραμμική συσχέτιση με την ένταση του φθορισμού. Ακόμη, τα σήματα από κάθε ένα από τα φθορίζοντα συστατικά πρέπει να είναι ανεξάρτητα μεταξύ τους και η συμβολή σημάτων από παρεμβαλλόμενα είδη θα πρέπει να είναι ασήμαντη σε σύγκριση με το σήμα του φθοροφόρου που μελετάται (Sikorska *et. al.*, 2012).

Γενικά, η φασματοσκοπία φθορισμού παρέχει τα βέλτιστα μοντέλα για τον προσδιορισμό της τιμής ανισιδίνης, των ολιγομερών, του βαθμού ιωδίου και της συγκέντρωσης βιταμίνης E (Sikorska *et. al.*, 2012). Ακόμη, έχει χρησιμοποιηθεί μεταξύ άλλων για την ταυτοποίηση και ποσοτικοποίηση πολυαρωματικών υδρογονανθράκων, για το χαρακτηρισμό, τη διαφοροποίηση και την κατάταξη φυσικής οργανικής ύλης, για την ανάλυση και το χαρακτηρισμό φαρμακευτικών ουσιών καθώς και για την παρατήρηση των ιδιοτήτων του φθορισμού μεταλλικών στοιχείων (Sikorska *et. al.*, 2004).

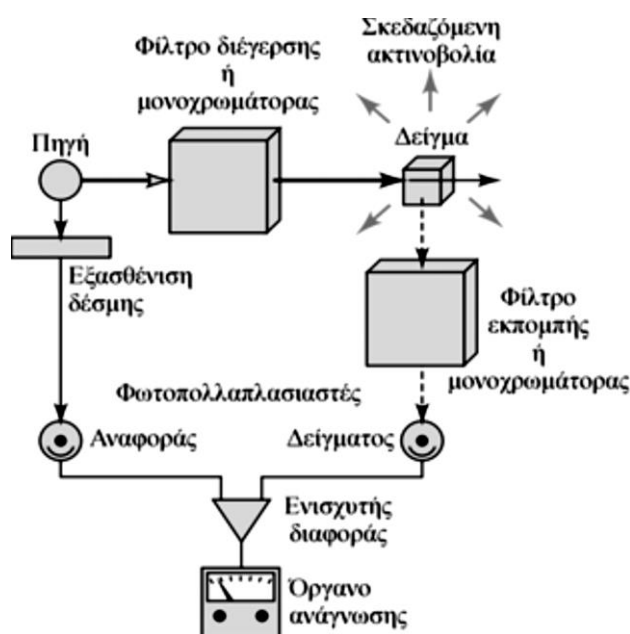
## 2.1 ΦΑΣΜΑΤΟΣΚΟΠΙΑ ΟΛΙΚΗΣ ΦΩΤΑΥΓΕΙΑΣ

Η μέθοδος της φασματοσκοπίας ολικής φωταύγειας παρουσιάζει μία εναλλακτική λύση έναντι των χρονοβόρων και πολυέξοδων τεχνικών, όπως είναι η αέρια ή η υγρή χρωματογραφία, η φασματοσκοπία μάζας και άλλες μέθοδοι κλασσικής χημείας (Sikorska *et. al.*, 2004). Είναι μία τεχνική ικανή να παρέχει πληροφορίες σχετικά με την κατάσταση των ελαίων καθώς και την επίδραση της φωτο-οξειδωσης και της θερμικής οξειδωσης (Martí and Baldrich, 2005, Kiritsakis, 1998). Το φάσμα ολικής φωταύγειας ή τοπίο φθορισμού είναι μια τεχνική, την οποία εισήγαγε πρώτος ο Weber το 1961. Μετά την πρώτη εφαρμογή της σε βρώσιμα έλαια από τους Wolfbeis και Leiner το 1984, έχει εντόνως χρησιμοποιηθεί για την εξερεύνηση του φθορισμού των ελαίων (Sikorska *et. al.*, 2012).

Η φασματοσκοπία ολικής φωταύγειας συνεπάγεται την ταυτόχρονη απόκτηση φασμάτων πολλαπλών μηκών κύματος διέγερσης και εκπομπής, προκειμένου να αυξηθεί η επιλεκτικότητα της μεθόδου (Sikorska *et. al.*, 2003). Τα δεδομένα που προκύπτουν από το τρισδιάστατο φάσμα του μοντέλου εκπομπής-διέγερσης (Sikorska *et. al.*, 2005a, Martí and Baldrich, 2005), παρέχουν το συνολικό προφίλ του δείγματος σε όλο το εύρος μήκους κύματος διέγερσης και εκπομπής (Sikorska *et. al.*, 2003, Sikorska *et. al.*, 2005a). Το κύριο πλεονέκτημά είναι ότι μπορούν να εξαχθούν περισσότερες πληροφορίες σχετικά με τα φθορίζοντα είδη, επειδή οι ζώνες προκύπτουν σε μια ευρύτερη εξεταζόμενη περιοχή (Martí and Baldrich, 2005). Επομένως, η φασματοσκοπία ολικής φωταύγειας περιγράφει εξ' ολοκλήρου τα φθορίζοντα συστατικά του μίγματος και χρησιμεύει ως ένα μοναδικό δακτυλικό αποτύπωμα για την ταυτοποίηση και το χαρακτηρισμό του εξεταζόμενου δείγματος (Sikorska *et. al.*, 2012).

## 2.2 ΦΑΣΜΑΤΟΜΕΤΡΟ ΦΘΟΡΙΣΜΟΥ

Τα φάσματα φθορισμού προκύπτουν από το αντίστοιχο όργανο, το φασματόμετρο φθορισμού ή φθοροσίμετρο. Είναι ένα όργανο απόλυτα ελεγχόμενο από ηλεκτρονικό υπολογιστή που χρησιμοποιεί έναν διπλό μονοχρωμάτορα διέγερσης και έναν μονό μονοχρωμάτορα εκπομπής (Poulli *et. al.*, 2007). Όπως φαίνεται στην εικόνα 2.1, τα βασικά μέρη του οργάνου είναι η πηγή ακτινοβολίας που χρησιμοποιείται για να διεγείρει το φθορισμό (Θωμαΐδης, 2015), τα φίλτρα και οι δύο σχαρωτοί μονοχρωμάτορες (Θωμαΐδης, 2015), όπου ο ένας βρίσκεται στην διαδρομή του διεγείροντος φωτός και ο άλλος στη διαδρομή του εκπεμπόμενου φθορισμού (Martí and Baldrich, 2005), τα διαμερίσματα κυψελίδων, όπου τοποθετείται η κυψελίδα με το δείγμα (Θωμαΐδης, 2015) και τέλος, ένας ανιχνευτής για τη μέτρηση της έντασης του φθορισμού (Martí and Baldrich, 2005).



Εικόνα 2.1: Σχηματική απεικόνιση της οργάνολογίας ενός φασματόμετρου φθορισμού (Θωμαΐδης, 2015, σελ. 7)

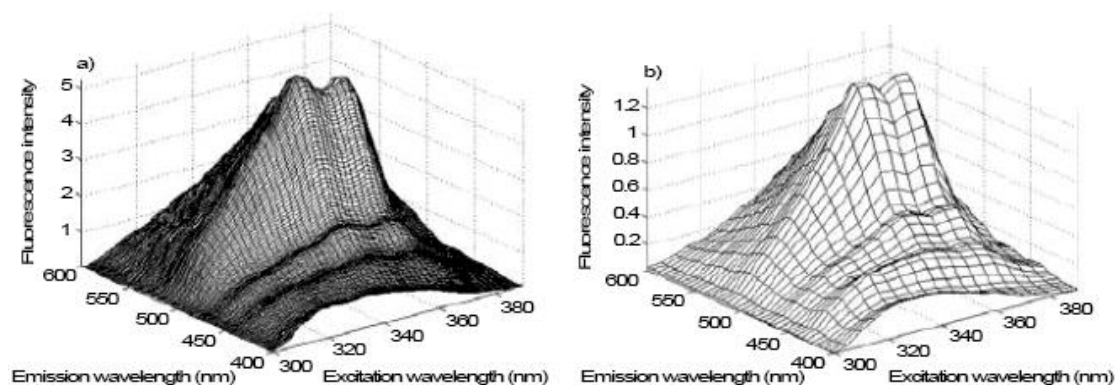
Η λειτουργία ενός μονοχρωμάτορα είναι να απομονώσει ένα μικρό εύρος μήκους κύματος φωτός από ένα ευρύ φάσμα. Ο μονοχρωμάτορας διέγερσης επιλέγει ένα μικρό εύρος μήκους κύματος για να διεγείρει το δείγμα και ο μονοχρωμάτορας εκπομπής επιλέγει ένα μικρό εύρος μήκους κύματος για την ανίχνευση της εκπομπής φωταύγειας και την απόρριψη του ανεπιθύμητου φωτός (Martí and Baldrich, 2005). Η συνήθης πρακτική στη φασματοσκοπία φθορισμού είναι η χρήση παρόμοιου πλάτους σχισμής (slit) και στις δύο πλευρές, διέγερσης και εκπομπής, του μονοχρωμάτορα. Ωστόσο με τη χρήση στενής σχισμής στην πλευρά διέγερσης η ανάλυση βελτιώνεται, ενώ ταυτόχρονα, χρησιμοποιώντας μια ευρύτερη σχισμή στην πλευρά εκπομπής, η ευαισθησία δεν επηρεάζεται (Patra *et. al.*, 2002).

Το band-pass είναι μια ρύθμιση του οργάνου, που χρησιμοποιείται για να ορίσει ταυτόχρονα τόσο το εύρος των μηκών κύματος όσο και την ποσότητα του φωτός που περνάει μέσα από τους μονοχρωμάτορες. Καθώς το band-pass αυξάνεται, αυξάνεται και η ευαισθησία της μέτρησης, επειδή περισσότερο φως περνά μέσα από το δείγμα. Ωστόσο, η επιλεκτικότητα, δηλαδή η ανάλυση των κορυφών, μειώνεται επειδή η περιοχή μήκους κύματος του φωτός διευρύνεται (Martí and Baldrich, 2005).

Το μέγεθος του βήματος καθορίζει τον αριθμό των σημείων που πρέπει να καταγράφονται και επηρεάζει τη χρόνο διεξαγωγής της ανάλυσης. Στην εικόνα 2.2 παρουσιάζονται τα μοντέλα διέγερσης-εκπομπής του ίδιου έξτρα παρθένου ελαιολάδου που λαμβάνονται με τη χρήση διαφορετικού μεγέθους βήματος. Προφανώς, κάποιες πληροφορίες χάνονται όταν το μέγεθος βήματος είναι αυξημένο, ενώ ο μειωμένος αριθμός σημείων που καταγράφονται επιταχύνει τη ανάλυση (Martí and Baldrich, 2005).

Το φως που εκπέμπεται από τον λαμπτήρα προκαλεί στρεβλώσεις στα φάσματα διέγερσης, επειδή η κατανομή της έντασης αυτού του φωτός εξαρτάται από το μήκος κύματος. Επιπλέον, η αποτελεσματικότητα των μονοχρωματόρων και η ευαισθησία του ανιχνευτή εξαρτώνται από το μήκος κύματος, το οποίο παραμορφώνει τα φάσματα εκπομπής. Ωστόσο, το ίδιο το λογισμικό του οργάνου περιλαμβάνει συντελεστές διόρθωσης για να διορθώσει αυτές τις αποκλίσεις (Martí and Baldrich, 2005).

Για τη ρύθμιση του εύρους που θα συμπεριλαμβάνεται στο μοντέλο διέγερσης-εκπομπής, πρέπει να λαμβάνεται υπ' όψιν το γεγονός ότι τα μήκη κύματος εκπομπής κάτω από το μήκος κύματος διέγερσης δεν εμφανίζουν κανένα φθορισμό, επειδή η εκπεμπόμενη ενέργεια είναι πάντα χαμηλότερη από την ενέργεια διέγερσης (Martí and Baldrich, 2005).



Εικόνα 2.2: Μοντέλα διέγερσης-εκπομπής έξτρα παρθένου ελαιολάδου με χρήση διαφορετικού μεγέθους βήματος (Martí and Baldrich, 2005, σελ. 38)

Για τον προσδιορισμό του πραγματικού φάσματος εκπομπής, πρέπει να λαμβάνονται υπόψη η κβαντική απόδοση του ανιχνευτή, το εύρος ζώνης του μονοχρωμάτορα και η αποδοτικότητα μετάδοσης του μονοχρωμάτορα (Martí and Baldrich, 2005).

Η ένταση φθορισμού είναι μια ταυτόχρονη λειτουργία των μηκών κύματος διέγερσης και εκπομπής. Στη συμβατική φασματοσκοπία φθορισμού οι τιμές έντασης του φάσματος εκπομπής λαμβάνονται με διατήρηση του μήκους κύματος διέγερσης ( $\lambda_{ex}$ ) σταθερό ενώ τα μήκη κύματος εκπομπής ( $\lambda_{em}$ ) σαρώνονται. Ομοίως, οι τιμές έντασης του φάσματος διέγερσης λαμβάνονται διατηρώντας το μήκος κύματος εκπομπής σταθερό ενώ τα μήκη κύματος διέγερσης σαρώνονται. Κατά τη μέτρηση πολλών φασμάτων εκπομπής σε διάφορα μήκη κύματος διέγερσης ή αντίστροφα, λαμβάνεται ένα τρισδιάστατο τοπίο φθορισμού, το λεγόμενο μοντέλο φθορισμού διέγερσης-εκπομπής (Patra *et. al.*, 2002, Martí and Baldrich, 2005). Ωστόσο, υπάρχει και η δυνατότητα ταυτόχρονης σάρωσης του μονοχρωμάτορα εκπομπής και διέγερσης, γνωστή ως σύγχρονη σάρωση φθορισμού ή σύγχρονη φασματοσκοπία φθορισμού (SFS) (Patra *et. al.*, 2002).

### 2.3. ΣΥΓΧΡΟΝΗ ΦΑΣΜΑΤΟΣΚΟΠΙΑ ΦΘΟΡΙΣΜΟΥ

Η μοριακή φασματοσκοπία φθορισμού είναι μια ευαίσθητη τεχνική για τον χαρακτηρισμό των εδώδιμων ελαίων, όμως δεν είναι κατάλληλη για την ανάλυση πολυσύνθετων δειγμάτων, λόγω των αλληλοεπικαλύψεων των ζωνών διέγερσης και εκπομπής. Σε αυτές τις περιπτώσεις χρησιμοποιείται η σύγχρονη (synchronous) φασματοσκοπία φθορισμού καθώς και οι δύο μονοχρωμάτορες διέγερσης και εκπομπής σαρώνουν ταυτόχρονα (Roulli *et. al.*, 2007). Με τις σύγχρονες τεχνικές φθορισμού μπορούν να διερευνηθούν πολυσύνθετα συστήματα, όπως πρότεινε ο Lloyd (Lloyd, 1971). Η δυνατότητα ανάλυσης πολύπλοκων μειγμάτων, χωρίς προσφυγή σε επίπονες διαδικασίες διαχωρισμού, είναι εξαιρετικά χρήσιμη για τις συνήθεις αναλύσεις. Η συγκεκριμένη μέθοδος βρίσκει εφαρμογή στην εκτίμηση της ποιότητας των ελαιολάδων ήδη από τις αρχές του 20ού αιώνα (Sikorska *et. al.*, 2012) και έχει χρησιμοποιηθεί ευρέως ως ένα εργαλείο για τον έλεγχο και την ταυτοποίηση της ποιότητας των βρώσιμων ελαίων (Sikorska *et. al.*, 2003).

Οι μετρήσεις φθορισμού απλού μήκους κύματος περιορίζονται στην ικανότητά της τεχνικής να αναλύει δείγματα πολλών συστατικών όταν παρουσιάζονται σε μεγάλο βαθμό επικαλυπτόμενα φάσματα διέγερσης ή /και εκπομπής (Patra *et. al.*, 2002). Η σύγχρονη φασματοσκοπία φθορισμού παρέχει λύσεις στο πρόβλημα των επικαλυπτόμενων φασματικών ζωνών μειώνοντας τα φασματικά πλάτη τους (Sikorska *et. al.*, 2012). Ο Lloyd εισήγαγε αυτή την τεχνική το 1971 και έπειτα, ο Vo-Dinh εφάρμοσε τη βασική θεωρία και πρότεινε

πειραματικές διαδικασίες για τη μέτρηση των σημάτων φθορισμού πολύπλοκων δειγμάτων και άλλων πληροφοριών (Patra *et. al.*, 2002).

Η σύγχρονη φασματοσκοπία φθορισμού είναι μία γρήγορη, εκλεκτική και σχετικά απλή τεχνική για τον χαρακτηρισμό μοριακών περιβαλλόντων, πολύ πιο ευαίσθητη έναντι άλλων φασματοσκοπικών μεθόδων. Η τεχνική αυτή δύναται να εφαρμοστεί απευθείας σε ένα προϊόν τροφίμου δίνοντας πολλές πληροφορίες για το εκάστοτε δείγμα (Sikorska *et. al.*, 2003), σε αντίθεση με την απλή φασματοσκοπία φθορισμού όπου κατά την εφαρμογή της σε πολύπλοκα φυσικά συστήματα, η επιλεκτικότητα των συμβατικών τεχνικών φθορισμού φαίνεται να είναι ανεπαρκής (Sikorska *et. al.*, 2004). Στη σύγχρονη φασματοσκοπία φθορισμού η ταυτόχρονη απόκτηση πολλαπλών μηκών κύματος διέγερσης και εκπομπής, αυξάνει την επιλεκτικότητα της μεθόδου (Sikorska *et. al.*, 2003).

Τα φάσματα ολικής σύγχρονης φωταύγειας λαμβάνονται με γραφική παράσταση της έντασης του φθορισμού σε συνάρτηση με το μήκος κύματος διέγερσης και το διάστημα του μήκους κύματος. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα την αύξηση της φασματικής επιλεκτικότητας και τον ευκολότερο και καλύτερο χαρακτηρισμό των πολυσύνθετων δειγμάτων (Poulli *et. al.*, 2007).

Η σύγχρονη φασματοσκοπία φθορισμού έχει περιγραφεί ως μια τεχνική για τη βελτίωση της εκλεκτικότητας της συμβατικής φασματοσκοπίας, αξιοποιώντας πλήρως την ικανότητα να μεταβάλλει αμφοτέρωτα τα μήκη κύματος διέγερσης και εκπομπής κατά τη διάρκεια της ανάλυσης. Οι μονοχρωμάτορες διέγερσης και εκπομπής σαρώνονται ταυτόχρονα και συγχρονίζονται έτσι ώστε να διατηρείται μεταξύ τους μια σταθερή διαφορά μήκους κύματος ( $\Delta\lambda$ ) (Sikorska *et. al.*, 2003). Σε κάθε περίπτωση επιλέγεται ένα συγκεκριμένο διάστημα ώστε να παρατηρείται σήμα μόνο όταν ταιριάζει με το διάστημα μεταξύ μιας ζώνης απορρόφησης και μιας ζώνης εκπομπής μέχρι να καταγραφεί ένα πλήρες φάσμα (Patra *et. al.*, 2002). Η επιλογή της κατάλληλης διαφοράς των μηκών κύματος διέγερσης και εκπομπής είναι πολύ σημαντική για την επιτυχία της ανάλυσης και συνήθως γίνεται εμπειρικά (Sikorska *et. al.*, 2003). Καθώς η ένταση εκπομπής είναι συνάρτηση του μήκους κύματος διέγερσης και το διάστημα μήκους κύματος ορίζει την αντιστοίχιση της ζώνης απορρόφησης και εκπομπής, λαμβάνεται μια οξύτερη κορυφή στα φάσματα της σύγχρονης φασματοσκοπίας σε σύγκριση με τα συμβατικά φάσματα (Patra *et. al.*, 2002).

Η σύγχρονη σάρωση είναι πολύ χρήσιμη για την ανάλυση των μιγμάτων των φθοριζουσών ενώσεων, επειδή τα χαρακτηριστικά τόσο της διέγερσης όσο και της εκπομπής περιλαμβάνονται σε ένα ενιαίο φάσμα. Παρόλο που παρέχει λιγότερες πληροφορίες από το μοντέλο διέγερσης-εκπομπής, μπορεί ακόμα να παρουσιάσει μια βιώσιμη εναλλακτική λύση για το σύνολο των μετρήσεων της φωταύγειας λόγω της απλότητας και της ταχύτητάς της (Sikorska *et. al.*, 2012).

Ανάλογα με το ρυθμό σάρωσης είναι πιθανοί τρεις βασικοί τύποι της τεχνικής. Στην περίπτωση που ο ρυθμός σάρωσης είναι σταθερός για τους δύο μονοχρωμάτορες και επομένως διατηρείται ένα σταθερό διάστημα μήκους κύματος εκπομπής και διέγερσης, η τεχνική αυτή είναι γνωστή ως σταθερού μήκους κύματος σύγχρονη φασματοσκοπία. Αυτή η τεχνική είναι πολύ απλή και η πιο συχνά χρησιμοποιούμενη. Σε άλλη περίπτωση τα μήκη κύματος διέγερσης και εκπομπής μπορεί να μεταβάλλονται ταυτόχρονα κατά τέτοιο τρόπο ώστε μια σταθερή διαφορά συχνότητας να διατηρείται μεταξύ τους. Αυτή η τεχνική, γνωστή ως σταθερής ενέργειας σύγχρονη φασματοσκοπία, δεν έχει χρησιμοποιηθεί πολύ. Τέλος, είναι πιθανό τα μήκη κύματος διέγερσης και εκπομπής να μεταβάλλονται ταυτόχρονα αλλά με διαφορετικούς ρυθμούς. Η τεχνική είναι ευρέως γνωστή με το όνομα μεταβλητής γωνίας σύγχρονη φασματοσκοπία και, επίσης δεν έχει χρησιμοποιηθεί σε πολλές εφαρμογές (Patra *et. al.*, 2002).

Τα κύρια χαρακτηριστικά της σύγχρονης φασματοσκοπίας, τα οποία την καθιστούν προτιμότερη από άλλες αντίστοιχες τεχνικές, είναι η στένωση της φασματικής ζώνης και η απλοποίηση των φασμάτων εκπομπής καθώς η σύγχρονη τεχνική επιτρέπει στις ισχυρότερες κορυφές να αυξηθούν εκλεκτικά με τη χρήση κατάλληλου διαστήματος μήκους κύματος. Τέλος, σημαντικό χαρακτηριστικό είναι και η συρρίκνωση του φάσματος, διότι από αναλυτική άποψη, το σύνολο του φάσματος μπορεί να μην είναι υψηλού ενδιαφέροντος και πολλές από τις λεπτομέρειες δεν είναι δυνατό να εξεταστούν με αποτέλεσμα η παρουσία τους να οδηγεί σε σύγχυση του συνολικού φάσματος λόγω των επικαλύψεων (Patra *et. al.*, 2002).

Παρά το γεγονός ότι τα φάσματα της σύγχρονης φασματοσκοπίας είναι στενότερα και εντονότερα σε σχέση με τα συμβατικά φάσματα φθορισμού, είναι πάντα δυνατό να αποφευχθεί η φασματική επικάλυψη για ορισμένα μίγματα πολλών συστατικών. Ωστόσο, ο συνδυασμός των φασμάτων αυτών με τη μέθοδο πολλαπλών μεταβλητών επιτρέπει την απλή και γρήγορη ανάλυση χωρίς την ανάγκη διαχωρισμού του μίγματος (Patra *et. al.*, 2002).

Τα μεμονωμένα φασματικά μοτίβα, χαρακτηριστικά των ελαίων, εξαρτώνται από το προφίλ διέγερσης και εκπομπής των φθοριζόντων συστατικών, όντας μοναδικά για κάθε δείγμα ή μίγμα. Έτσι, ένα φάσμα σύγχρονης σάρωσης περιέχει περισσότερες πληροφορίες από ένα συμβατικό φάσμα διέγερσης ή εκπομπής (Sikorska *et. al.*, 2003).

Η ολική σύγχρονη φασματοσκοπία φθορισμού και το μοντέλο διέγερσης-εκπομπής είναι παρόμοιες τεχνικές, ωστόσο τα προφίλ των καμπυλών τους είναι διαφορετικά. Έτσι η ολική σύγχρονη φασματοσκοπία μπορεί να προσφέρει έναν εναλλακτικό τρόπο παρουσίασης της απόκρισης φθορισμού συμπτυκνωμένων πολύπλοκων φθοριζόντων δειγμάτων (Patra *et. al.*, 2002).

### ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3. Η ΦΑΣΜΑΤΟΣΚΟΠΙΑ ΦΘΟΡΙΣΜΟΥ ΣΤΗ ΜΕΛΕΤΗ ΦΥΤΙΚΩΝ ΕΛΑΙΩΝ

Τα φυτικά έλαια, όπως το ελαιόλαδο, αποτελούν μια σημαντική ομάδα τροφίμων για τα οποία εφαρμόστηκε με επιτυχία η φασματοσκοπία φθορισμού (Sikorska *et. al.*, 2012). Η ανάλυση φθορισμού των ελαιολάδων εκμεταλλεύεται την παρουσία φυσικών φθοριζόντων συστατικών, όπως οι φαινολικές ουσίες, οι τοκοφερόλες, οι φαιοφυτίνες καθώς και τα προϊόντα οξειδωσης τους (Sikorska *et. al.*, 2012). Τα έλαια είναι πολύπλοκα συστήματα και, ως εκ τούτου, οι συμβατικές τεχνικές φθορισμού, στηριζόμενες στην καταγραφή μόνο του φάσματος εκπομπής ή διέγερσης, είναι συχνά ανεπαρκείς. Σε τέτοιες περιπτώσεις εφαρμόζονται η συνολική φωταύγεια ή οι σύγχρονες τεχνικές σάρωσης φθορισμού, βελτιώνοντας τη δυναμική ανάλυσης των μετρήσεων φθορισμού (Sikorska *et. al.*, 2012).

Το παρθένο ελαιόλαδο λόγω του αρώματος, της ευχάριστης γεύσης και της υψηλής διατροφικής του αξίας έχει υψηλή τιμή. Αυτό το καθιστά στόχο στην αγορά για νοθεία με λάδια χαμηλότερης τιμής και ποιότητας (Poulli *et. al.*, 2007), ειδικότερα όταν φέρει ετικέτα προστατευόμενης ονομασίας προέλευσης (Dupuy *et. al.*, 2005). Στα έλαια που χρησιμοποιούνται συχνά για τη νοθεία του παρθένου ελαιολάδου περιλαμβάνονται το αραβοσιτέλαιο, το ηλιέλαιο, το κραμβέλαιο (λάδι Canola), το σογιέλαιο, (Poulli *et. al.*, 2007), έλαια ξηρών καρπών, συνθετικά προϊόντα γλυκερόλης (Sikorska *et. al.*, 2012) καθώς και τα χαμηλής ποιότητας ελαιόλαδο και πυρηνέλαιο (Poulli *et. al.*, 2007).

Στις εφαρμογές φθορισμού για την ανάλυση ελαιολάδων περιλαμβάνεται η διάκριση μεταξύ διαφορετικών βαθμίδων ποιότητας, η ανίχνευση νοθείας, ο έλεγχος ταυτότητας των παρθένων ελαιολάδων (Sikorska *et. al.*, 2012, Martí and Baldrich, 2005, Aparicio *et. al.*, 2000), η ποσοτικοποίηση των φθοροφόρων συστατικών, η παρακολούθηση της οξειδωσης που προκαλείται από το φώς και τη θερμοκρασία και η παρατήρηση των ποιοτικών αλλαγών κατά την αποθήκευση (Sikorska *et. al.*, 2012).

Σήμερα, ένα από τα σημαντικότερα προβλήματα στη βιομηχανία γεωργικών ειδών και τροφίμων είναι να οριστούν αντικειμενικά εργαλεία για τον προσδιορισμό της προέλευσης των πρώτων υλών, καθώς και των τελικών προϊόντων, ώστε να καταστεί δυνατή η παρακολούθηση των προϊόντων από τον παραγωγό στον καταναλωτή (Dupuy *et. al.*, 2005). Ποικίλες μέθοδοι έχουν χρησιμοποιηθεί για την ανίχνευση της νοθείας, από κλασική χημεία μέχρι χρωματογραφικές μεθόδους που βασίζονται στην ποσοτικοποίηση των λιπαρών οξέων, των τριγλυκερολών, των στερολών και των υδρογονανθράκων (Poulli *et. al.*, 2007). Πρόσφατα, φασματοσκοπικές τεχνικές, οι οποίες είναι γρήγορες και εύκολες, χρησιμοποιήθηκαν σε συνδυασμό με αναλύσεις πολλών μεταβλητών για την ανίχνευση της νοθείας (Poulli *et. al.*, 2007).

Σύμφωνα με δεδομένα που έχουν δημοσιευθεί προκύπτει το συμπέρασμα ότι οι ιδιότητες φθορισμού εξαρτώνται από το βαθμό ποιότητας των ελαιολάδων. Για μια συγκεκριμένη κατηγορία, τα φάσματα των διαφόρων δειγμάτων εμφανίζουν μικρές διαφορές, όμως τα γενικά χαρακτηριστικά παραμένουν παρόμοια, επιτρέποντας την αναγνώριση και ταυτοποίηση των δειγμάτων ελαιολάδου (Sikorska *et. al.*, 2012). Ωστόσο, για δείγματα των οποίων τα φάσματα δεν ακολουθούν τη γενική εικόνα του τύπου τους, είναι δύσκολο να αποφασιστεί αν αυτό οφείλεται σε μεγάλη υποβάθμιση αυτών των ελαίων ή εάν έχουν υποβληθεί σε κάποια δόλια πρακτική. Προκειμένου να εντοπιστεί η αιτία αυτής της συμπεριφοράς, θα πρέπει να είναι διαθέσιμα τα δεδομένα που σχετίζονται με τη σύνθεσή τους (Martí and Baldrich, 2005).

### 3.1 ΦΘΟΡΙΖΟΝΤΑ ΣΥΣΤΑΤΙΚΑ ΕΛΑΙΟΛΑΔΟΥ ΚΑΙ ΑΛΛΩΝ ΕΛΑΙΩΝ

Τα φυτικά έλαια ως γνωστόν περιέχουν και άλλες κατηγορίες ενώσεων εκτός από τοκοφερόλες και χλωροφύλλες. Στην ομάδα των καροτενοϊδών περιλαμβάνονται τα καροτένια και οι ξανθοφύλλες, που είναι μη πολικοί υδρογονάνθρακες οξυγονωμένοι στα ακραία άτομα άνθρακα. Μια μεγάλη ποικιλία δευτερευόντων συστατικών που υπάρχουν στα παρθένα ελαιόλαδα και ανήκουν σε διαφορετικές κατηγορίες φαινολικών ενώσεων είναι τα φαινολικά οξέα, οι φαινολικές αλκοόλες, το υδροξυϊσοχρωμάνιο, τα σεκοϊριδοειδή, οι λιγνάνες και τα φλαβονοειδή. Οι περισσότερες από τις πολυφαινόλες είναι φθορίζουσες ουσίες που απορροφούν σε ένα εύρος μήκους κύματος από 260 έως 310 nm και εκπέμπουν κοντά στην UV-περιοχή και κυρίως στα 310-370nm (Sikorska *et. al.*, 2012).

Μια άλλη ομάδα συστατικών των φυτικών ελαίων εμπεριέχει τις πολυφαινόλες, στις οποίες έχει γίνει αντικατάσταση ενός ή περισσότερων αρωματικών δακτυλίων από ομάδες υδροξυλίων. Κάποιες από αυτές τις ενώσεις ενδεχομένως να εμπλέκονται στην παρατηρούμενη εκπομπή (Sikorska *et al.*, 2004). Οι διακεκριμένες περιοχές στα φάσματα φθορισμού, μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως δείκτες για τη διαφοροποίηση των ελαίων και την παρακολούθηση της ποιότητάς τους με μεγάλη ακρίβεια (Sikorska *et al.*, 2003).

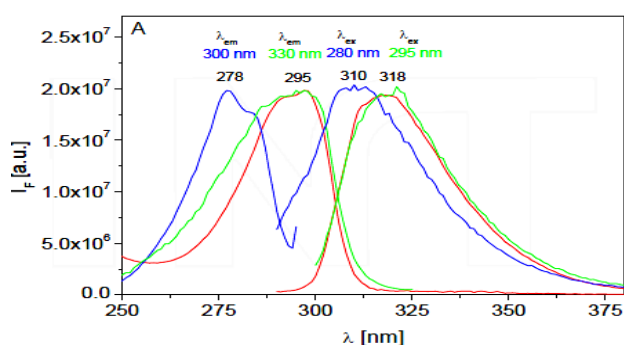
Οι τοκοφερόλες εμφανίζονται στα περισσότερα φυτικά έλαια σε ποικίλες αναλογίες από 70 έως 1900 mg/kg (Sikorska *et al.*, 2004). Το σύμπλεγμα της βιταμίνης E περιλαμβάνει τις τέσσερις φυσικές τοκοφερόλες, οι οποίες είναι οι α-τοκοφερόλη, β-τοκοφερόλη, γ-τοκοφερόλη και δ-τοκοφερόλη, και τις τέσσερις τοκοτριενόλες αT3, βT3, γT3 και δT3. Οι ενώσεις αυτές παρουσιάζουν παρόμοιες ιδιότητες στο φθορισμό λόγω της ομοιότητας στη δομή τους (Sikorska *et. al.*, 2012). Από όλες τις τοκοφερόλες αυτή που υπερισχύει στο ελαιόλαδο είναι η α-τοκοφερόλη. Αυτή η παρατήρηση επιβεβαιώνεται καθώς η αντίστοιχη ζώνη που εμφανίζεται στο φάσμα του ελαιολάδου είναι παρόμοια με εκείνη του φάσματος



ολικής φωταύγειας του διαλύματος της  $\alpha$ -τοκοφερόλης σε n-εξάνιο. Το φάσμα της βιταμίνης E παρουσιάζει μία μέγιστη τιμή εκπομπής στα 320 nm, ενώ κάτι αντίστοιχο συμβαίνει και στο φάσμα του ελαιολάδου. Ακόμη, έχει διαπιστωθεί ότι τα προϊόντα της οξειδωσης των R- $\alpha$ -, R- $\beta$ -, R- $\gamma$ - και R- $\delta$ - τοκοφερολών, οι R- $\alpha$ -, R- $\beta$ -, R- $\gamma$ - και R- $\delta$ - τοκοφερολοκινόνες, είναι μη φθορίζουσες ουσίες (Sikorska *et. al.*, 2012).

Η ταυτοποίηση της προέλευσης των ζωνών εκπομπής βασίζεται κυρίως στη σύγκριση των φασμάτων των καθαρά χημικών φθορίζοντων συστατικών. Οι ιδιότητες φθορισμού των ενώσεων που εμφανίζονται σε έλαια παρατίθενται στον Πίνακα 1. Στα ελαιόλαδα περιέχονται σημαντικές ποσότητες φαινολικών ενώσεων, των οποίων η συγκέντρωση μειώνεται σημαντικά στα εξευγενισμένα έλαια (Sikorska *et. al.*, 2012).

Αμφότερες οι τοκοφερόλες και οι φαινολικές ενώσεις συμβάλλουν στην εκπομπή μικρού μήκους κύματος στα φάσματα του ελαιολάδου, με τη συμβολή της τοκοφερόλης να κυριαρχεί στα εξευγενισμένα έλαια. Οι ακριβείς θέσεις των μεγίστων εκπομπής σε μικρό μήκος κύματος διαφέρουν ελαφρά μεταξύ των διαφόρων ελαίων, το οποίο μπορεί να οφείλεται σε διαφορές στην εκάστοτε σύνθεση της τοκοφερόλης. Στα έλαια που λαμβάνονται με φυσικές μεθόδους (ψυχρή έκθλιψη), όπως αυτά της ελιάς, του λιναρόσπορου και της ελαιοκράμβης, το μέγιστο φθορισμού μετατοπίζεται προς μικρότερα μήκη κύματος συγκριτικά με εκείνο στα φάσματα εξευγενισμένων ελαίων, υποδεικνύοντας τη διαφορά αυτών των δύο τύπων ελαιολάδου στη συγκεκριμένη φασματική περιοχή. Τα ελαιόλαδα περιέχουν σαφώς μεγαλύτερα ποσά φαινολικών ενώσεων, τα οποία μειώνονται σημαντικά στα εξευγενισμένα (Sikorska *et. al.*, 2012).



**Εικόνα 3.1:** Φάσμα διέγερσης-εκπομπής έξτρα παρθένου ελαιολάδου (πράσινο, μπλε) και τοκοφερόλης (κόκκινο) (Sikorska *et. al.*, 2012, σελ 71)

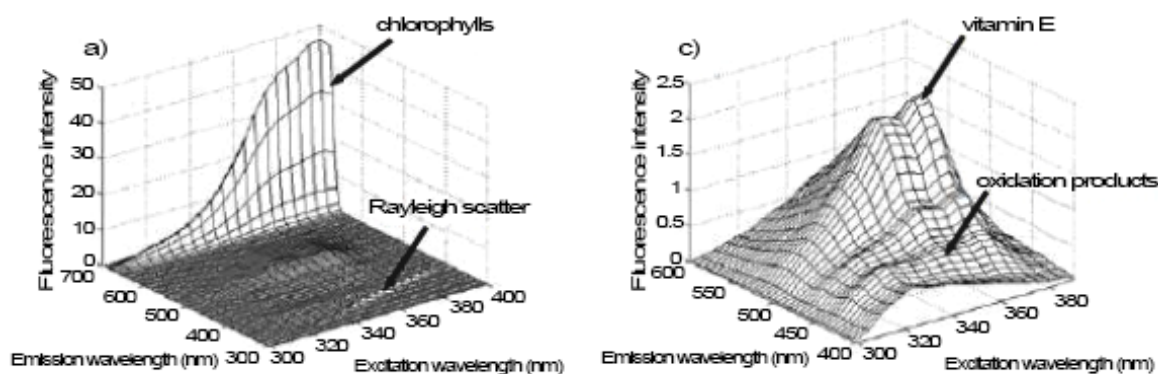
Λόγω των παρόμοιων ιδιοτήτων φθορισμού των τοκοφερολών και ορισμένων φαινολικών ενώσεων, η εκπομπή τους εμφανίζεται ως μία μονή ευρεία ζώνη. Τα φάσματα διέγερσης και εκπομπής του εξαιρετικά παρθένου ελαιολάδου ταυτίζονται με τα αντίστοιχα φάσματα της  $\alpha$ -τοκοφερόλης (Εικ. 3.1) (Sikorska *et. al.*, 2012).

Πίνακας 1: Ιδιότητες φθορισμού συστατικών ελαιολάδου (Sikorska *et. al.*, 2012, σελ 70)

	Solvent	$\lambda_{ab}$ [nm]	$\epsilon$ [dm <sup>3</sup> mol <sup>-1</sup> cm <sup>-1</sup> ]	Solvent	$\lambda_{ex}$ [nm]	$\lambda_{em}$ [nm]
<b>Vitamin E</b>						
$\alpha$ -Tocopherol <sup>a</sup>	ethanol	292	3265	n-hexane	295	320
$\beta$ -Tocopherol <sup>a</sup>	ethanol	296	3725	n-hexane	297	322
$\delta$ -Tocopherol <sup>a</sup>	ethanol	298	3515	n-hexane	297	322
$\gamma$ -Tocopherol <sup>a</sup>	ethanol	298	3809	n-hexane	297	322
$\alpha$ -Tocotrienol <sup>a</sup>	ethanol	292	3652	n-hexane	290	323
$\beta$ -Tocotrienol <sup>a</sup>	ethanol	292	3540	n-hexane	290	323
$\delta$ -Tocotrienol <sup>a</sup>	ethanol	297	3403	n-hexane	292	324
$\gamma$ -Tocotrienol <sup>a</sup>	ethanol	297	3737	n-hexane	290	324
<b>Chlorophylls</b>						
Chlorophyll <i>a</i> <sup>b,c,d</sup>	acetone	430	94700	ether	436	668
				acetone	405	669
				9:1 acetone/water	430 <sup>e</sup>	669
Chlorophyll <i>b</i> <sup>b,c,d</sup>	acetone	455	131000	ether	436	648
				acetone	405	652
				9:1 acetone/water	458 <sup>e</sup>	653
Pheophytin <i>a</i> <sup>b,c,d</sup>	acetone	409	101800	ether	436	673
				9:1 acetone/water	406 <sup>e</sup>	671
Pheophytin <i>b</i> <sup>b,c,d</sup>	acetone	434	145000	ether	436	661
				9:1 acetone/water	435 <sup>e</sup>	658
Pheophorbide <i>a</i> <sup>b,c,d</sup>	acetone	409	119200	-	-	-
				667	55200	-
<b>Phenolic compounds</b>						
Oleuropein	ethanol/n-hexane	282	-	ethanol/n-hexane	270	310
Vanillic acid <sup>e</sup>				methanol	270	349
Syringic acid <sup>e</sup>					270	361
Gallic acid <sup>e</sup>					270	382
p-Coumaric acid <sup>e</sup>						416
o-Coumaric acid <sup>e</sup>					270	426
Cinnamic acid <sup>e</sup>					270	420
Tyrosol <sup>e</sup>					270	420
Caffeic acid <sup>e</sup>					270	457

Οι Wolfbeis και Leiner το 1984 όρισαν ότι εκτός από τις τοκοφερόλες και τις χλωροφύλλες, το παριναρικό οξύ μπορεί επίσης να εμπλέκεται στην εκπομπή των φυτικών ελαίων (Sikorska *et. al.*, 2012). Όσον αφορά τα ελαιόλαδα, ο φθορισμός που εκπέμπουν στη φυσική μορφή τους σχετίζεται με τη βιταμίνη E, τα προϊόντα οξείδωσης και τις χλωροφύλλες. Όπως φαίνεται στην εικόνα 3.2, η κορυφή της χλωροφύλλης είναι πολύ πιο έντονη από τα άλλα φθορίζοντα στοιχεία (Martí and Baldrich, 2005). Η ομάδα της χλωροφύλλης περιλαμβάνει τις χλωροφύλλες a και b, και τις φαιοφυτίνες a και b, που προέρχονται από τις χλωροφύλλες με απώλεια μαγνησίου. Η παρουσία τους είναι χαρακτηριστική στα παρθένα ελαιόλαδα, ενώ μειώνεται σε ίχνη στα εξευγενισμένα έλαια (Sikorska *et. al.*, 2012).

Στο παρθένο ελαιόλαδο υπάρχουν, επίσης, άγλυκα ελευρωπαϊνης σε αρκετά υψηλές ποσότητες. Το φάσμα φθορισμού σύγχρονης σάρωσης καθαρής ελευρωπαϊνης με  $\Delta\lambda=10$  nm εμφανίζει μία μέγιστη κορυφή κοντά στα 289 nm και μεταβάλλεται κατά περίπου 5 nm σε σύγκριση με την αντίστοιχη ζώνη φθορισμού που παρατηρείται στο παρθένο ελαιόλαδο. Βέβαια η εκπομπή αυτή που παρατηρείται, μπορεί να προέρχεται και από παράγωγα της ελευρωπαϊνης, με ελαφρώς διαφορετικές ιδιότητες εκπομπής (Sikorska *et. al.*, 2012).



Εικόνα 3.2: Μοντέλο διέγερσης-εκπομπής έξτρα παρθένο ελαιόλαδο (Martí and Baldrich, 2005, σελ 40)

### 3.2 ΔΙΑΚΡΙΣΗ ΕΛΑΙΟΛΑΔΟΥ ΚΑΙ ΦΥΤΙΚΩΝ ΕΛΑΙΩΝ

Τα φυτικά έλαια είναι κατά κύριο λόγο (95-98%) εστέρες τρι-οξέων γλυκερόλης, γνωστά ως τριγλυκερίδια. Το υπόλοιπο 5-2% αποτελείται από σύνθετα μίγματα δευτερευουσών ενώσεων ενός ευρέος φάσματος χημικών τάξεων, συμπεριλαμβανομένων των λιπαρών αλκοολών, κηρών, εστέρων, υδρογονανθράκων, πτητικών, χρωστικών και φαινολικών ενώσεων, γλυκεριδικών ενώσεων, φωσφολιπιδίων και τριτερπενικών οξέων (Sikorska *et. al.*, 2004, Cheikhousman *et. al.*, 2005, Sikorska *et. al.*, 2005a). Οι ενώσεις αυτές έχουν σημαντική επίδραση στην ποιότητα των ελαίων. Οι τοκοφερόλες και τα καροτενοειδή

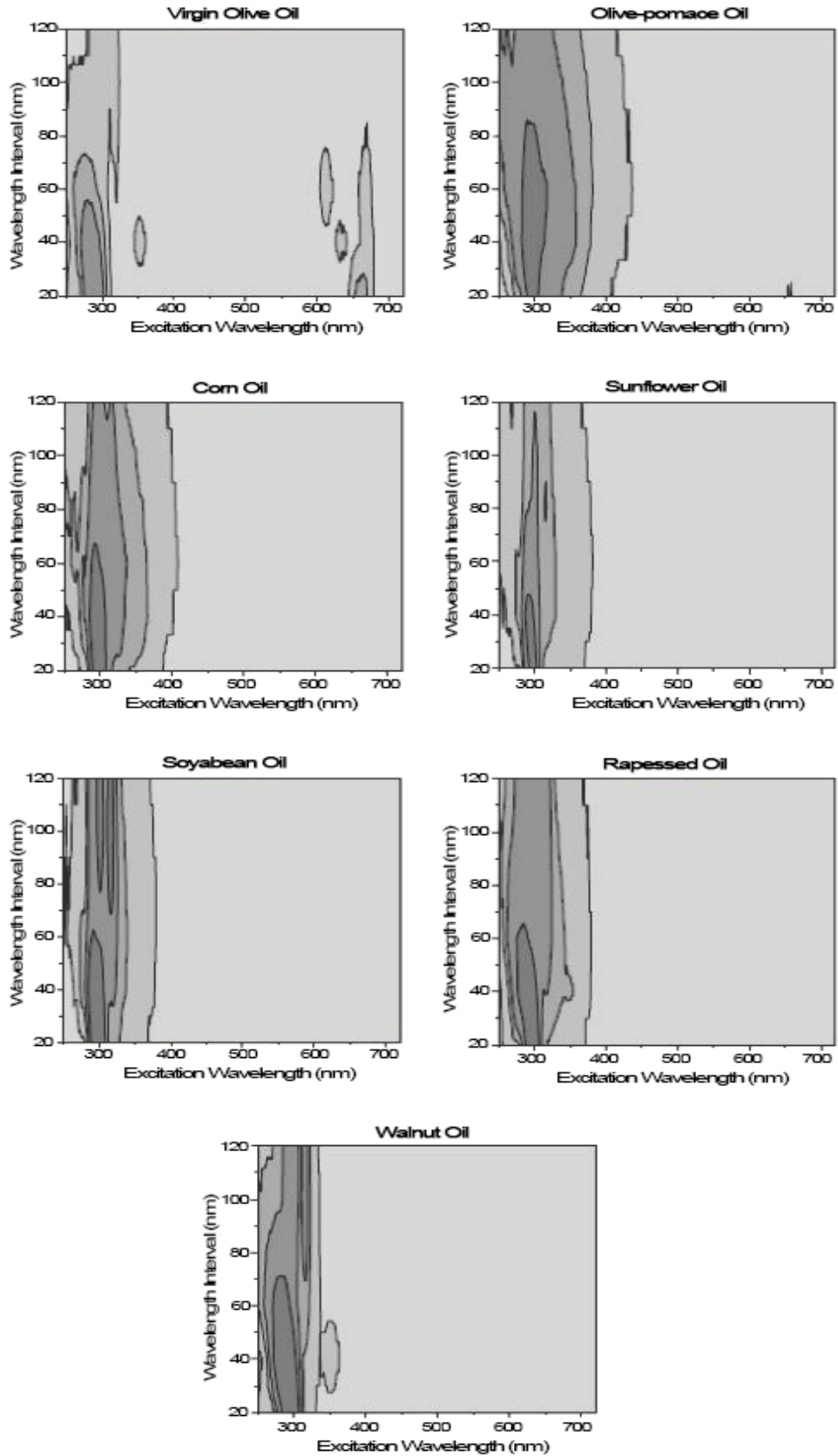
επηρεάζουν την οξειδωτική σταθερότητά τους, ενώ οι χλωροφύλλες είναι υπεύθυνες για τη φωτο-οξειδωσή τους (Sikorska *et. al.*, 2005a). Για το λόγο αυτό, ο χαρακτηρισμός των ενώσεων αυτών έχει μεγάλη σημασία για τον καθορισμό της ποιότητας, την ανίχνευση της νοθείας και την κατανόηση της συμπεριφοράς των ελαίων κατά τη διάρκεια της αποθήκευσης και επεξεργασίας τους (Sikorska *et. al.*, 2004).

Τα παρθένα ελαιόλαδα διακρίνονται από τα υπόλοιπα βρώσιμα έλαια από την παρουσία δευτερευόντων συστατικών, στα οποία ανήκουν οι φαινόλες, τα φαινολικά οξέα, τα ιριδοειδή (ελευρωπαΐνη και παράγωγα αυτής) και οι λιγνάνες. Κάποιες από αυτές τις ενώσεις είναι ισχυρά αντιοξειδωτικά, που προσδίδουν στο λάδι σταθερότητα έναντι της οξειδωσης (Duru *et. al.*, 2005). Οι ενώσεις αυτές λόγω της μοριακής τους δομής είναι άριστοι ανιχνευτές φθορισμού (Sikorska *et. al.*, 2012). Ωστόσο, το ελαιόλαδο διακρίνεται από τα υπόλοιπα έλαια λόγω της πολύ υψηλής έντασης ζώνης της χλωροφύλλης (Sikorska *et. al.*, 2005).

Σε άλλη μελέτη με τη μέθοδο της φασματοσκοπίας φθορισμού επιτεύχθηκε η ανίχνευση πυρηνέλαιου, αραβοσιτέλαιου, ηλιέλαιου, σογιέλαιου, κραμβέλαιου και καρυδέλαιου σε παρθένο ελαιόλαδο (Poulli *et. al.*, 2007). Το φάσμα του παρθένου ελαιολάδου εμφάνισε μια διπλή ζώνη φθορισμού στην περιοχή μεταξύ των 275-297 nm και μια απλή ζώνη στα 660 nm, σε αντίθεση με τα φάσματα των άλλων ελαίων, που εμφάνισαν μία έντονη ζώνη κοντά στα 300 nm και μία πιο λεπτή κοντά στα 325 nm (Sikorska *et. al.*, 2012, Poulli *et. al.*, 2007). Μόνο τα ολικά φάσματα φθορισμού του ελαιολάδου, παρουσίασαν μια φασματική ζώνη κοντά στα 660 nm, η οποία οφείλεται σε χρωστικές ουσίες της ομάδας της χλωροφύλλης (Εικ. 3.3). Επιπλέον, όλα τα δείγματα που μελετήθηκαν εμφάνισαν μια φασματική ζώνη πάνω από τα 315 nm. Αυτή η ζώνη θα μπορούσε να αποδοθεί στο λινελαϊκό οξύ, ενώ έχει υποδειχθεί ότι η διαφοροποίηση των παρθένων ελαιολάδων από τα χαμηλής ποιότητας έλαια μπορεί να επιτευχθεί σε αυτή την περιοχή μήκους κύματος (Sikorska *et. al.*, 2012, Poulli *et. al.*, 2007).

Τα αποτελέσματα της έρευνας έδειξαν ότι ο αριθμός των φασματικών ζωνών αυξάνεται κατά μήκος του διαστήματος του μήκους κύματος, ενώ οι περισσότερες εντάσεις φθορισμού μειώνονται (Εικ. 3.4). Το παρθένο ελαιόλαδο παρουσίασε μια επίπεδη φασματική απόκριση κατά τη χρήση διαστήματος μήκους κύματος  $\Delta\lambda$  20 nm ή μικρότερο (Poulli *et. al.*, 2007). Με την τεχνική αυτή είναι δυνατή η ανίχνευση πυρηνέλαιου σε ποσοστό 2,6%, αραβοσιτέλαιου στο 3,8%, ηλιέλαιου στο 4,3%, σογιέλαιου στο 4,2%, κραμβέλαιο στο 3,6% και καρυδέλαιου στο 13,8% σε παρθένο ελαιόλαδο (Sikorska *et. al.*, 2012, Poulli *et. al.*, 2007).

Η ανίχνευση της νοθείας του ελαιολάδου από άλλα φυτικά έλαια πραγματοποιήθηκε από τον Scott και τους συνεργάτες του. Η ανάλυση έγινε σε μη αραιωμένα δείγματα ελαίων.

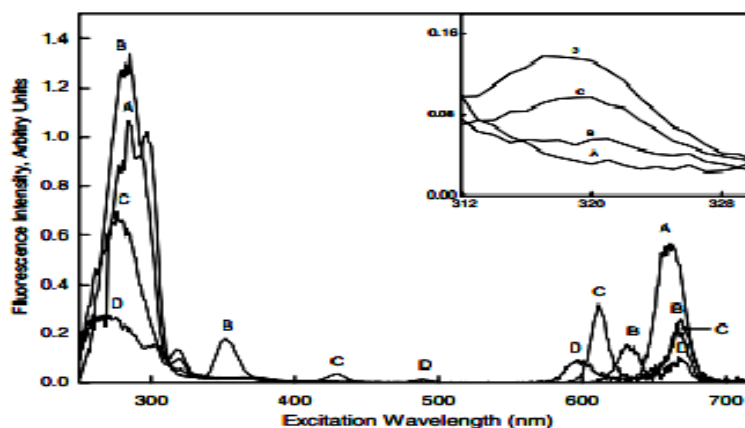


Εικόνα 3.3: Δισδιάστατη απεικόνιση των φασμάτων ολικής σύγχρονης φωταύγειας παρθένου ελαιολάδου και πιθανών νοθευμάτων. Οι γκρι αποχρώσεις δείχνουν τις εντάσεις φθορισμού (Poulli *et. al.*, 2007, σελ 372)

Τα αποτελέσματα της συγκεκριμένης έρευνας οδήγησαν στο συμπέρασμα ότι η νοθεία με αγνό ελαιόλαδο, ηλιέλαιο και κραμβέλαιο, ήταν ανιχνεύσιμη μόνο για επίπεδα μεγαλύτερα του 10% v/v (Scott *et al.*, 2003).

Η προσθήκη εξευγενισμένου ελαιόλαδου, ηλιέλαιου, βαμβακέλαιου, σογιέλαιου, αραβοσιτελαίου και πυρηνέλαιου σε ποσοστό 5 και 10% σε διαφορετικά δείγματα παρθένου ελαιόλαδου επιφέρει αύξηση στις εντάσεις φθορισμού αυτών των κορυφών κατά 28-32% με 5% προσθήκη και κατά 18-23% με 10% προσθήκη φυτικών ελαίων (Kyriakidis and Skarkalis, 2000).

Το φουντουκέλαιο είναι χημικά παρόμοιο με το παρθένο ελαιόλαδο και για αυτό το λόγο καθίσταται δύσκολη η ανίχνευσή του σε χαμηλά επίπεδα συγκέντρωσης με πρότυπες μεθόδους. Η ανίχνευση αυτού του τύπου νοθείας είναι δυνατή χρησιμοποιώντας τη μέθοδο της φασματοσκοπίας φθορισμού. Η τεχνική εφαρμόστηκε για τη διάκριση εξευγενισμένου φουντουκέλαιου και εξευγενισμένου ελαιολάδου (Sayago *et. al.*, 2007). Η παρουσία του εξευγενισμένου φουντουκέλαιου ήταν δυνατό να ανιχνευθεί σε επίπεδα μεγαλύτερα του 9%, βάση των φασμάτων διέγερσης και εκπομπής (Sikorska *et. al.*, 2012).



Εικόνα 3.4: Φάσμα φθορισμού ελαιολάδου σύγχρονης σάρωσης με διαφορετικά διαστήματα μήκους κύματος. A: 20 nm, B: 40 nm, C: 60 nm, D: 80 nm (Poulli *et. al.*, 2007, σελ 371)

Στα πλαίσια μιας ακόμα μελέτης εφαρμόστηκε τεχνική της ολικής σύγχρονης φωταύγειας για την ανίχνευση της νοθείας παρθένου ελαιολάδου με ηλιέλαιο από την Πουλλή και τους συνεργάτες της το 2006. Το φάσμα του ηλιέλαιου παρουσίασε μία ζώνη φθορισμού στα 325-385 nm, η οποία αποδίδεται στο λινολεϊκό οξύ. Αντιθέτως, το φάσμα του παρθένου ελαιολάδου παρουσίασε μόνο μικρά σήματα στην συγκεκριμένη περιοχή μήκους κύματος (Sikorska *et. al.*, 2012). Το φάσμα φθορισμού σύγχρονης σάρωσης, που λήφθηκε για το δείγμα παρθένου ελαιολάδου με ηλιέλαιο, εμφάνισε μία διπλή ζώνη στα 275 και 297 nm και μία ακόμη απλή ζώνη στα 660 nm, σε αντίθεση με το φάσμα του ηλιέλαιου, που εμφάνισε

μία ισχυρή κοντά στα 300 nm και μία ασθενή ζώνη στα 325 nm. Τα όρια ανίχνευσης φτάνουν το ποσοστό του 3,6% και 3,4% βάρος κατά όγκο (w/v) χρησιμοποιώντας διάστημα μήκους κύματος 20 nm και 80 nm αντίστοιχα (Sikorska *et al.*, 2012).

Η φασματοσκοπία φθορισμού θα μπορούσε να προσφέρει μια ευαίσθητη προσέγγιση για τον προσδιορισμό της ποιότητας του σογιέλαιου, του αραβοσιτέλαιου, του ηλιέλαιου και του ελαιολάδου. Η εφαρμογή αυτής της μεθόδου για εξαιρετικά παρθένα ελαιόλαδα παρουσιάζει μεγάλες δυνατότητες, διότι τα πιο ενδιαφέροντα συστατικά, οι βιοφαινόλες και η βιταμίνη E, είναι φθορίζοντα μόρια (Cheikhousman *et al.*, 2005).

Οι τεχνικές ολικής φωταύγειας και φωταύγειας σύγχρονης σάρωσης μελετήθηκαν ως προς την ικανότητά τους να χαρακτηρίζουν και να διαφοροποιούν τα βρώσιμα έλαια, μεταξύ των οποίων το σογιέλαιο, το ηλιέλαιο, το κραμβέλαιο, το φυστικέλαιο, το ελαιόλαδο, το σταμφέλαιο, το λινέλαιο και το αραβοσιτέλαιο. Τα ολικά φάσματα φωταύγειας όλων των ελαίων εμφάνισαν μεταβολές παρά την ομοιότητά τους. Η ανάλυση αυτών των φασμάτων έδειξε ότι οι χημικές ενώσεις που είναι υπεύθυνες για την εκπομπή αυτή στα διαφορετικά έλαια, μπορεί να ανήκουν στην ίδια κατηγορία, με ελαφρώς διαφορετική δομή που εξηγεί τις διακυμάνσεις. Ωστόσο και οι εντάσεις φθορισμού των συγκεκριμένων συστατικών παρουσίασαν διαφορές (Sikorska *et al.*, 2005a).

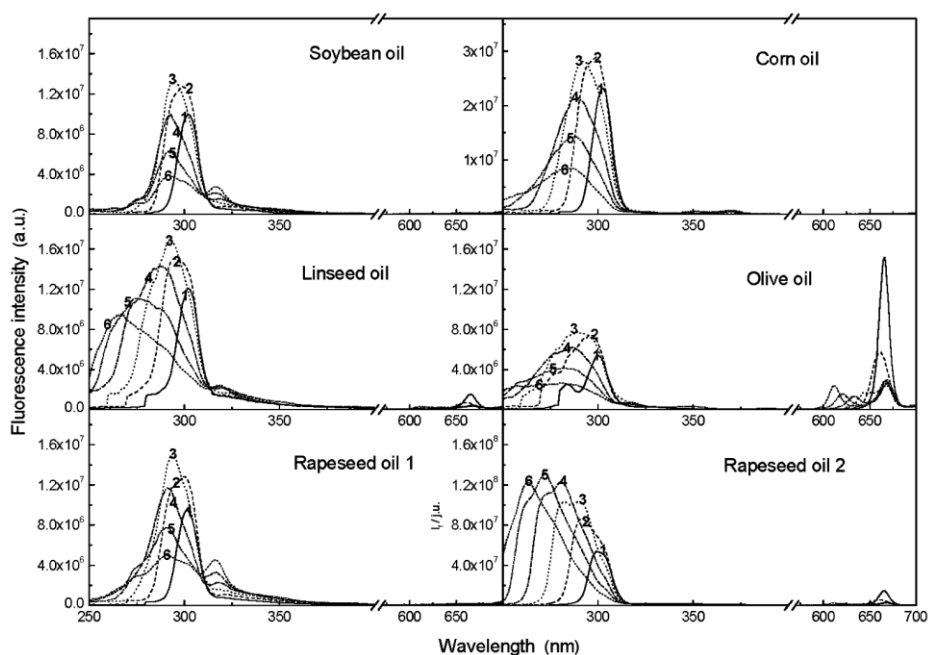
Σε όλα τα φάσματα εμφανίστηκε μια έντονη κορυφή που αποδίδεται στις τοκοφερόλες. Στο φάσμα του αραβοσιτέλαιου, του σογιέλαιου, του ηλιέλαιου και του λινέλαιου η ζώνη εκπομπής της τοκοφερόλης ήταν σχετικά έντονη. Στο αντίστοιχο φάσμα του κραμβέλαιου παρατηρήθηκε μια μέτριας έντασης ζώνη, ενώ στου σταμφέλαιου, του ελαιολάδου και του φυστικέλαιου παρατηρήθηκε μια ασθενής ζώνη. Στο ενδιάμεσο φάσμα μήκους κύματος διέγερσης και εκπομπής παρουσιάστηκαν, σε ορισμένα έλαια, πρόσθετες ζώνες που προέκυψαν από άγνωστες ενώσεις (Sikorska *et al.*, 2005a).

Σε άλλη μελέτη διερευνήθηκαν τα φθοροφόρα συστατικά των βρώσιμων ελαίων, με σκοπό το διαχωρισμό διαφορετικών τύπων ελαίων. Για κάθε δείγμα ελαίου λήφθηκε ένα φάσμα φθορισμού σύγχρονης σάρωσης με διαστήματα μήκους κύματος 10, 30, 60 και 80 nm. Η σχετικά έντονη ζώνη που παρατηρήθηκε σε κάθε φάσμα αποδίδεται στην εκπομπή των τοκοφερολών και τοκοτριενολών (Sikorska *et al.*, 2003). Η χαμηλής έντασης ζώνη, που εμφανίστηκε σε μεγάλο μήκος κύματος στο φάσμα του ελαιόλαδου και του λινέλαιου, είναι χαρακτηριστική του φθορισμού των χρωστικών της ομάδας της χλωροφύλλης (Sikorska *et al.*, 2005a).

Τα αποτελέσματα της ανάλυσης έδειξαν ότι με διαφορετικές τιμές διαστήματος μήκους κύματος γίνεται διαφορετικός διαχωρισμός των κατηγοριών των ελαίων. Για διάστημα 10 nm, οι διάφορες κατηγορίες ελαίων παρουσίασαν ομοιότητες, ενώ ο καλύτερος διαχωρισμός επιτεύχθηκε με διάστημα 30 nm για τα περισσότερα έλαια, εκτός από το αραβοσιτέλαιο και το λινέλαιο. Για διάστημα 60 nm και 80 nm επιτεύχθηκε καλός

διαχωρισμός για όλα τα λάδια. Ενδιαφέρον παρουσιάζει η παρατήρηση ότι το κραμβέλαιο και το λινέλαιο ήταν σαφώς διαχωρισμένα από τα υπόλοιπα, ανεξάρτητα από την τιμή του διαστήματος μήκους κύματος (Sikorska *et al.*, 2005a).

Μια σχετικά έντονη φασματική ζώνη, που παρουσιάζουν τα φάσματα φθορισμού στην περιοχή των 300-350 nm αποδίδεται στις τοκοφερόλες και τις τοκοτριενόλες. Μια επιπλέον ζώνη σε μεγαλύτερο μήκος κύματος, κοντά στα 660 έως 700 nm, που παρουσιάζουν τα φάσματα φθορισμού ελαιόλαδου, λινέλαιου και κραμβέλαιου τύπου 2 (Εικ. 3.5), είναι χαρακτηριστική του φθορισμού των χρωστικών ουσιών της ομάδας της χλωροφύλλης (Sikorska *et al.*, 2003). Τα συγκεκριμένα λάδια παραλαμβάνονται με φυσικές μεθόδους, όπως η ψυχρή έκθλιψη και φαίνεται να έχουν μέγιστο απορρόφησης μετατοπισμένο προς μικρότερα μήκη κύματος σε σύγκριση με τα άλλα λάδια υποδεικνύοντας μεταβολές στη χημική σύνθεση, που ενδεχομένως προκύπτουν από διαφορές στην τεχνολογία παραγωγής (Sikorska *et al.*, 2004).



Εικόνα 3.5: Φάσμα φθορισμού σύγχρονης σάρωσης δειγμάτων ελαίων διαλυμένων σε n-εξάνιο, 1% v/v.  $\Delta\lambda_1=10$  nm,  $\Delta\lambda_2=20$  nm,  $\Delta\lambda_3=30$  nm,  $\Delta\lambda_4=40$  nm,  $\Delta\lambda_5=50$  nm,  $\Delta\lambda_6=60$  nm (Sikorska *et al.*, 2003, σελ 110)

Τα φάσματα φθορισμού που αντιστοιχούν στο σογιέλαιο, το λινέλαιο και το κραμβέλαιο τύπου 1, εμφανίζουν μία χαμηλής έντασης φασματική ζώνη, η οποία στο φάσμα του σογιέλαιου και του κραμβέλαιου τύπου 1 είναι παρόμοια, γεγονός που υποδηλώνει την ύπαρξη ίδιων ή παρόμοιων φθοροφόρων (Sikorska *et al.*, 2004).

Τέλος, μία ξεχωριστή ζώνη χαμηλής έντασης εμφανίζεται στο φάσμα φθορισμού του αραβοσιτελαίου, χαρακτηριστική του δείγματος. Με την αύξηση του διαστήματος μήκους



κύματος παρατηρείται διεύρυνση της ζώνης της τοκοφερόλης. Περαιτέρω αύξηση του διαστήματος προκαλεί μείωση της έντασης συνοδευόμενη από επιπλέον διεύρυνση, σε όλα τα λάδια με μόνη εξαίρεση το κραμβέλαιο τύπου 2 (Sikorska *et al.*, 2003).

### 3.3 ΔΙΑΚΡΙΣΗ ΕΛΑΙΟΛΑΔΩΝ ΔΙΑΦΟΡΕΤΙΚΗΣ ΠΟΙΟΤΗΤΑΣ

Όπως έχει ήδη προαναφερθεί, η νοθεία των παρθένων ελαιολάδων έχει αποτελέσει κοινή πρακτική απάτης που περιλαμβάνει και την προσθήκη ελαιολάδων κατώτερης ποιότητας, όπως το εξευγενισμένο ελαιόλαδο και το πυρηνέλαιο (Sikorska *et al.*, 2012). Ωστόσο, οι διαφορετικές ποιότητες ελαιολάδου παρουσιάζουν διαφορές ως προς τη σύνθεση, οι οποίες μπορούν να ανιχνευθούν από το φθορισμό τους. Επομένως, το μοντέλο φθορισμού διέγερσης-εκπομπής μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως αποτύπωμα για το χαρακτηρισμό τους.

Η σύγχρονη τεχνική φθορισμού εφαρμόστηκε για την ταξινόμηση των παρθένων ελαιολάδων, ανάλογα με την ποιότητά τους (Poulli *et al.*, 2005). Στα πλαίσια της έρευνας μελετήθηκε ο φθορισμός παρθένου και μειονεκτικού ελαιολάδου, χρησιμοποιώντας φάσματα ολικής φωταύγειας, σύγχρονης φωταύγειας και ολικής σύγχρονης φωταύγειας. Το φάσμα ολικής φωταύγειας παρουσίασε διαφορετικά σχήματα και εντάσεις ζωνών για τις δύο κατηγορίες των ελαίων. Το φάσμα του μειονεκτικού ελαιόλαδου εμφάνισε ευρεία κορυφή εκπομπής. Το φάσμα ολικής σύγχρονης φωταύγειας εμφάνισε κορυφές εκπομπής, που εξαρτιόνταν από το διάστημα μήκους κύματος, και για τις δύο κατηγορίες ελαίων. Ωστόσο, το μειονεκτικό ελαιόλαδο παρουσίασε επιπλέον φθορισμό, που δεν παρατηρήθηκε στο παρθένο ελαιόλαδο. Το συμπέρασμα που προκύπτει υποδηλώνει ότι ο παρατηρούμενος φθορισμός προέρχεται από το ελαϊκό οξύ (Sikorska *et al.*, 2012).

Οι Dankowska και Małeczka (2009) εφάρμοσαν τη φασματοσκοπία φθορισμού για την ανίχνευση της νοθείας έξτρα παρθένου ελαιολάδου με απλό παρθένο ελαιόλαδο. Στο φάσμα φθορισμού σύγχρονης σάρωσης του δείγματος εμφανίστηκε μία στενή ζώνη φθορισμού στα 330 nm, που αποδίδεται στις τοκοφερόλες και μία έντονη ζώνη με μια κορυφή κοντά στα 665 nm, που αποδίδεται σε ενώσεις της ομάδας της χλωροφύλλης. Τα ελάχιστα όρια ανίχνευσης αγγίζουν το 8,9% με διάστημα μήκους κύματος 60 nm και το 8,4% με διάστημα μήκους κύματος 80 nm (Sikorska *et al.*, 2012).

Το μοντέλο φθορισμού διέγερσης-εκπομπής χρησιμοποιήθηκε επίσης για τη μελέτη ισπανικού έξτρα παρθένου, παρθένου, καθαρού ελαιολάδου και πυρηνέλαιου, με σκοπό τη διερεύνηση της σχέσης μεταξύ του φθορισμού του ελαίου και των συμβατικών παραμέτρων ποιότητας. Η ανίχνευση του έξτρα παρθένου ελαιολάδου ήταν ιδιαίτερα χαμηλή στα πρώιμα στάδια και σε ελάχιστα οξειδωμένα ελαιόλαδα (Sikorska *et al.*, 2012). Έχει αποδειχθεί ότι η νοθεία εξαιρετικού παρθένου ελαιολάδου με πυρηνέλαιο μπορεί να ανιχνευθεί με μετρήσεις

φθορισμού, διότι μια τέτοια νοθεία αυξάνει την ένταση φθορισμού σε εκπομπές κάτω των 500 nm. Αυτό οφείλεται στην υψηλή περιεκτικότητα των προϊόντων οξειδωσης στα πυρηνέλαια (Martí and Baldrich, 2005).

### 3.4 ΤΑΥΤΟΠΟΙΗΣΗ ΠΡΟΕΛΕΥΣΗΣ

Η κατάταξη των παρθένων ελαιολάδων σύμφωνα με την ποικιλία ή/και τη γεωγραφική τους προέλευση είναι ιδιαίτερης σημασίας για τους παραγωγούς, τους εισαγωγείς και αλλά και τους καταναλωτές (Sikorska *et. al.*, 2012).

Σε έρευνα που πραγματοποιήθηκε από τη Guimet και τους συνεργάτες της το 2005, επιτεύχθηκε η ανίχνευση της νοθείας του έξτρα παρθένου ελαιολάδου προστατευόμενης ονομασίας προέλευσης “Siurana” από αγνό ελαιόλαδο. Το “Siurana” παράγεται σε συγκεκριμένη περιοχή στη Νότια Καταλονία της Ισπανίας. Η νοθεία ανιχνεύθηκε σε ποσοστό 5% με στατιστική ανάλυση με τη μέθοδο ελαχίστων τετραγώνων (Sikorska *et. al.*, 2012).

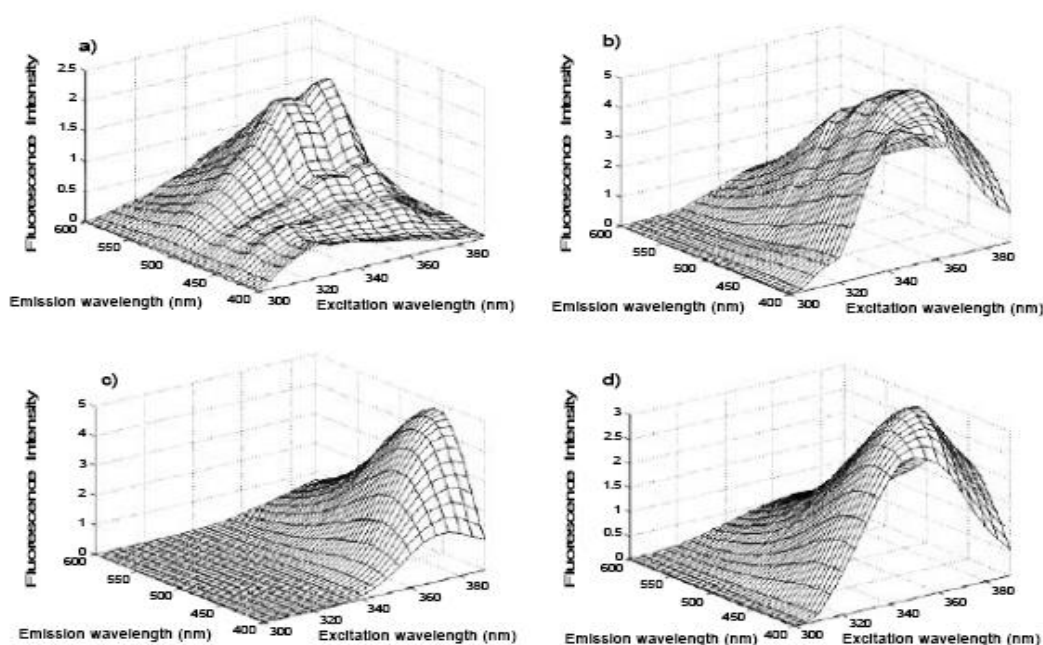
Η σύγχρονη φασματοσκοπία φθορισμού διέγερσης-εκπομπής χρησιμοποιήθηκε για τον προσδιορισμό της προέλευσης παρθένων ελαιολάδων της Γαλλίας με προστατευόμενη ονομασία προέλευσης. Όλα τα φάσματα εμφάνισαν παρόμοια προφίλ με μεταβολές στην ένταση και τα μέγιστα του μήκους κύματος. Κάποιες ασθενείς ζώνες που παρουσιάστηκαν, ενδεχομένως οφείλονται στα προϊόντα οξειδωσης της βιταμίνης E (Dupuy *et. al.*, 2005). Τα φάσματα παρουσίασαν ζώνες φθορισμού λόγω των χλωροφυλλών a και b και των φαιοφυτινών a και b. Επίσης παρουσίασαν ζώνες που αποδίδονται στις τοκοφερόλες και τις φαινολικές ενώσεις, οι οποίες χαρακτηρίζουν τα παρθένα ελαιόλαδα σε σύγκριση με άλλα βρώσιμα έλαια (Dupuy *et. al.*, 2005). Το σύνολο των αποτελεσμάτων έδειξε ότι είναι πιθανό η τοκοφερόλη και οι φαινολικές ενώσεις να αποτελούν ιδιαίτερα χαρακτηριστικά της ακριβούς γεωγραφικής προέλευσης. Σε κάθε φάσμα φθορισμού ελαιολάδου, ήταν δυνατό να βρεθεί ένα δακτυλικό αποτύπωμα που να αφορά την προέλευση. Επομένως αυτή η προσέγγιση μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την ιχνηλασιμότητα των παρθένων ελαιολάδων προστατευόμενης ονομασίας προέλευσης (Dupuy *et. al.*, 2005).

### 3.5 ΔΙΑΚΡΙΣΗ ΕΞΕΥΓΕΝΙΣΜΕΝΩΝ ΚΑΙ ΜΗ ΕΞΕΥΓΕΝΙΣΜΕΝΩΝ ΕΛΑΙΟΛΑΔΩΝ

Η φασματοσκοπία φθορισμού όντας οικονομική και εύκολη μέθοδος, έχει εφαρμοστεί σε φυτικά έλαια με σκοπό την ανάλυση τους, με έμφαση στο διαχωρισμό μεταξύ των εξευγενισμένων και μη εξευγενισμένων ελαίων (Kongbonga *et. al.*, 2011). Το έξτρα

παρθένο ελαιόλαδο παρουσιάζει χαρακτηριστικό κίτρινο φθορισμό που οφείλεται στις χλωροφύλλες, σε αντίθεση με το εξευγενισμένο που παρουσιάζει μπλε φθορισμό, λόγω της μεταβολής του περιεχομένου της χλωροφύλλης κατά τη διεργασία εξευγενισμού. Με αυτή τη μέθοδο είναι δυνατή η ανίχνευση της νοθείας των έξτρα παρθένων ελαιολάδων με εξευγενισμένα έλαια σε επίπεδο 5% (Sikorska *et. al.*, 2012).

Στην εικόνα 3.3 παρουσιάζεται ο φθορισμός ενός έξτρα παρθένου ελαιολάδου, ενός αγνού ελαιολάδου, ενός πυρηνέλαιου και ενός ηλιέλαιου. Το υψηλότερο περιεχόμενο σε βιταμίνη E στα έξτρα παρθένα ελαιόλαδα (Εικ. 3.6α) προκαλεί την υψηλότερη ένταση φθορισμού των φασμάτων τους. Από την άλλη πλευρά, τα φάσματα των ελαίων που υφίστανται διεργασίες εξευγενισμού (Εικ 3.6b-d) παρουσιάζουν μία ευρεία κορυφή, η οποία οφείλεται σε μεγάλες ποσότητες προϊόντων οξειδωσης (Martí and Baldrich, 2005).



**Εικόνα 3.6:** Μοντέλο διέγερσης-εκπομπής έξτρα παρθένου ελαιολάδου (a), αγνού ελαιολάδου (b), πυρηνέλαιου (c) και ηλιέλαιου (d) (Martí and Baldrich, 2005, σελ 41)

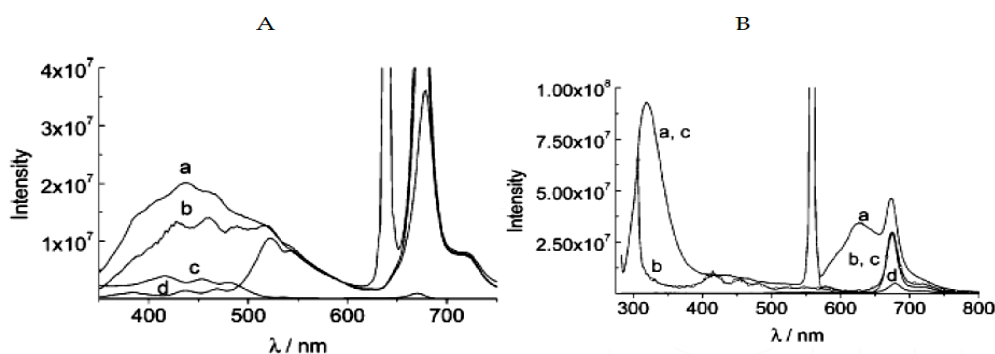
Ο Giungato μελέτησε τα φάσματα ολικής φωταύγειας παρθένων και εξευγενισμένων ελαιολάδων. Τα φάσματα των παρθένων ελαιολάδων εμφάνισαν μια ζώνη εκπομπής που αποδίδεται στις τοκοφερόλες και μια ακόμη ζώνη που αποδίδεται στην εκπομπή της χλωροφύλλης. Στα φάσματα των εξευγενισμένων ελαιολάδων παρατηρήθηκε η ζώνη εκπομπής της τοκοφερόλης, ενώ η εκπομπή της χλωροφύλλης ήταν μη ανιχνεύσιμη (Sikorska *et al.*, 2005a).

### 3.6 ΕΦΑΡΜΟΓΗ ΣΕ ΑΡΑΙΩΜΕΝΑ ΚΑΙ ΜΗ ΑΡΑΙΩΜΕΝΑ ΔΕΙΓΜΑΤΑ ΕΛΑΙΩΝ

Στα φάσματα μεταξύ αραιωμένων και μη αραιωμένων δειγμάτων μπορεί να προκύψουν διαφορές λόγω των υψηλών συγκεντρώσεων των φθοροφόρων ουσιών στα πυκνά δείγματα λαδιού και των μοριακών αλληλεπιδράσεων, όπως είναι η απόσβεση και η μεταφορά ενέργειας, οι οποίες μεταβάλλουν τα χαρακτηριστικά του φθορισμού (Sikorska *et. al.*, 2012).

Το συνολικό φάσμα φθορισμού των αραιωμένων έξτρα παρθένων ελαιολάδων, μετρούμενο με τη χρήση φθορισμού υπό γωνία, παρουσίασε δύο έντονες ζώνες, μία σε μικρό μήκος κύματος και μία σε μεγαλύτερο. Ωστόσο τα φάσματα του εξευγενισμένου ελαιολάδου εμφάνισαν μια πρόσθετη μπάντα στην ενδιάμεση περιοχή. Η ζώνη στο μεγάλο μήκος κύματος ήταν ασθενέστερη σε ένταση στο εξευγενισμένο ελαιόλαδο σε σύγκριση με το παρθένο ελαιόλαδο (Sikorska *et. al.*, 2012).

Τα φάσματα των ίδιων αλλά μη αραιωμένων ελαίων, μετρήθηκαν με απευθείας οριζόντιο φωτισμό και παρουσίασαν σαφώς διαφορετικά πρότυπα φθορισμού. Στα φάσματα του έξτρα παρθένου ελαιολάδου παρατηρήθηκαν επιπλέον φασματικές ζώνες, ενώ η αναλογία της έντασης φθορισμού των ζωνών σε μικρά και μεγάλα μήκη κύματος είναι μικρότερη σε σύγκριση με το φάσμα του αντίστοιχου αραιωμένου δείγματος. Το φάσμα του μη αραιωμένου εξευγενισμένου ελαιολάδου εμφάνισε μία ευρεία ζώνη, ενώ παρατηρήθηκε μόνο ένα ίχνος εκπομπής σε μικρό μήκος κύματος (Sikorska *et. al.*, 2012).



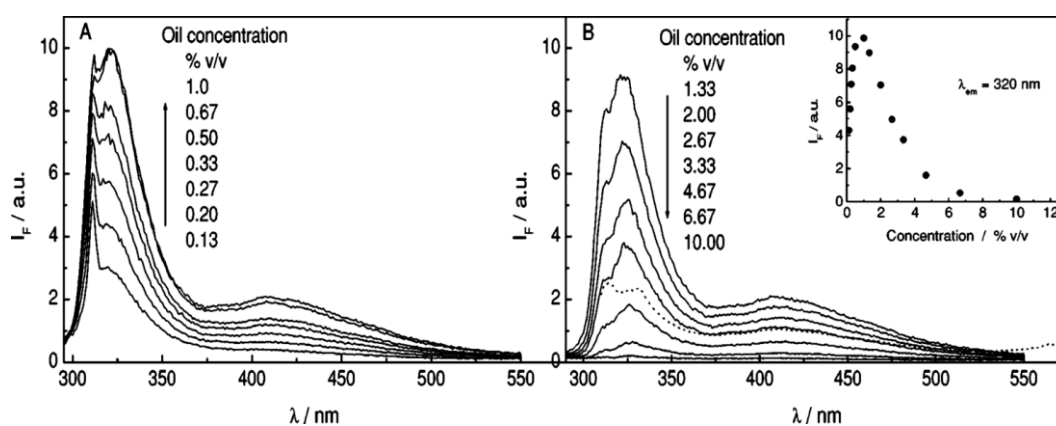
Εικόνα 3.7: (A) Φάσματα εκπομπής ελαιολάδου με  $\lambda_{ex}=320$  nm. a) απευθείας φωτισμός, b) υπό γωνία με διόρθωση απορρόφησης, c) πολλαπλασιασμένο επί  $10^6$ , d) υπό γωνία χωρίς διόρθωση απορρόφησης, (B) Φάσματα εκπομπής ελαιολάδου με  $\lambda_{ex}=280$  nm. a) απευθείας φωτισμός, b) υπό γωνία χωρίς διόρθωση απορρόφησης και πολλαπλασιασμένο επί 3,7, c) εμπρόσθιας όψης με διόρθωση δεύτερης τάξεως, d) υπό γωνία (Sikorska *et. al.*, 2012, σελ 66)

Ο Zandomeneghi και οι συνεργάτες του (2005), σε εμπειριστατωμένες μελέτες, σύγκριναν τα φάσματα εκπομπής μη αραιωμένου έξτρα παρθένου ελαιόλαδου με υπό γωνία φωτισμό και με απευθείας οριζόντιο φωτισμό. Η απορρόφηση των δειγμάτων, με εξαίρεση

την ευρεία περιοχή φθορισμού της χλωροφύλλης, παρουσίασε σημαντικές διαφορές στον αριθμό, το σχήμα, την ένταση και τη θέση των ζωνών στα φάσματα του ίδιου ελαιολάδου (Εικ. 3.7). Είναι σημαντικό ότι τα φάσματα που προέκυψαν από τη χρήση οριζόντιου φωτισμού επηρεάστηκαν λιγότερο από την αυτο-απορρόφηση και έτσι παρείχαν αξιόπιστες πληροφορίες σχετικά με τον τύπο και τη συγκέντρωση των φθοροφόρων ουσιών (Sikorska *et al.*, 2012).

Η Sikorska και οι συνεργάτες της μελέτησαν διάφορα φυτικά έλαια. Τα αμιγή δείγματα μελετήθηκαν με απευθείας πρόσκρουση της ακτινοβολίας στο δείγμα, ενώ τα αραιωμένα με υπό γωνία φωτισμό. Τα δείγματα που χρησιμοποιήθηκαν αραιωμένα σε η-εξάνιο, παρουσίασαν στα φάσματά τους μια έντονη κορυφή που αποδίδεται στην παρουσία τοκοφερολών. Αντίθετα τα φάσματα φθορισμού των μη αραιωμένων δειγμάτων εμφάνισαν κορυφές που αποδίδονταν στη χλωροφύλλη, ενώ οι αντίστοιχες κορυφές της τοκοφερόλης ήταν λιγότερο έντονες (Sikorska *et al.*, 2004). Ακόμη, η σύγκριση των φασμάτων των αμιγών και των αραιωμένων δειγμάτων έδειξε ότι η ένταση του φθορισμού του ελαίου αυξάνει όσο αυξάνεται η συγκέντρωση, με μέγιστη ένταση να επιτυγχάνεται σε περίπου 1% v/v. Σε υψηλότερες συγκεντρώσεις, η ένταση του φθορισμού μειώνεται και παρατηρούνται αλλαγές του σχήματος της ζώνης φθορισμού (Εικ. 3.8). Αυτές οι επιπτώσεις μπορούν να προκύψουν από μοριακές αλληλεπιδράσεις σε συμπυκνωμένα δείγματα, καθώς και από επιδράσεις των εσωτερικών φίλτρων (Sikorska *et al.*, 2004).

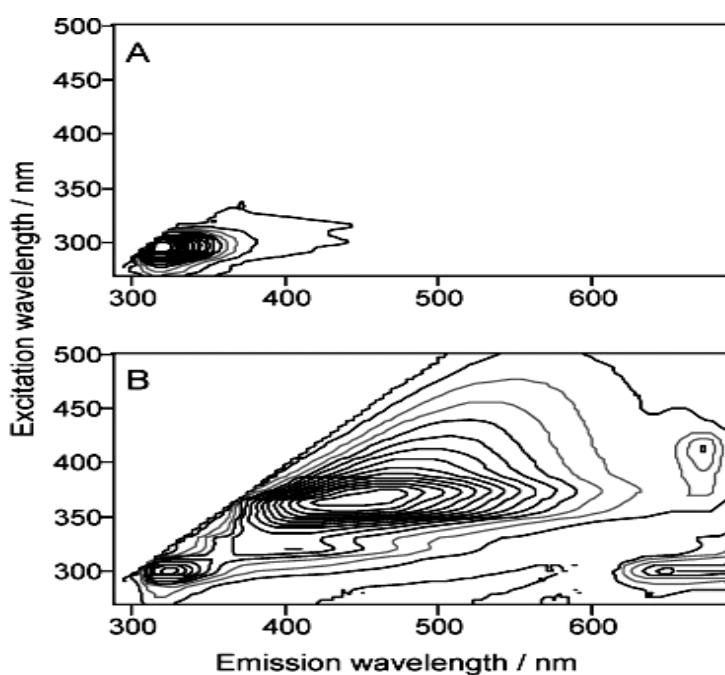
Η παρουσία φθοροφόρων πλην τοκοφερολών και φαιοφυτίνων στα φάσματα φθορισμού αμιγών ελαίων καταγράφηκε χρησιμοποιώντας τη διάταξη απευθείας φωτισμού. Σε αυτά τα φάσματα, η ένταση της ζώνης εκπομπής τοκοφερόλης ήταν μειωμένη σε σύγκριση με αραιωμένα δείγματα. Αντιθέτως, ο φθορισμός της χλωροφύλλης ήταν πιο έντονος και παρουσιάστηκε σε όλα τα έλαια με εξαίρεση του αραβοσιτέλαιο και το εξυγενισμένο κραμβέλαιο. Κατά συνέπεια, η ανάλυση με ευθεία διάταξη περιείχε περισσότερες πληροφορίες, σε σύγκριση με την υπό γωνία διάταξη (Sikorska *et al.*, 2004).



Εικόνα 3.8: Σύγκριση των φασματικών ζωνών των δειγμάτων ελαίων σε διαφορετικές συγκεντρώσεις (Sikorska *et al.*, 2004, σελ 27)

Σε άλλη μελέτη εφαρμόστηκε ο φθορισμός σύγχρονης σάρωσης με οριζόντιο και υπό γωνία φωτισμό, με στόχο τον έλεγχο της απόδοσής τους στο χαρακτηρισμό και τη διάκριση μεταξύ των διαφόρων βρώσιμων ελαίων. Επιπλέον, μελετήθηκε η δυνατότητα ποσοτικής αξιολόγησης της συνολικής περιεκτικότητας σε τοκοφερόλη με τη χρήση φασμάτων φθορισμού σύγχρονης σάρωσης αραιωμένων ή μη αραιωμένων ελαίων (Sikorska *et. al.*, 2005b).

Τα φάσματα ολικής φωταύγειας αραιωμένου σε n-εξάνιο ή χύδην αραβοσιτέλαιου φαίνεται στην εικόνα 3.9. Η σχετικά έντονη ζώνη, που παρατηρήθηκε στα φάσματα των αραιωμένων δειγμάτων ελαίου αποδίδεται σε τοκοφερόλες, ενώ μια ασθενέστερη ζώνη φθορισμού που παρουσιάστηκε στα φάσματα των εξευγενισμένων ελαίων αποδίδεται στα προϊόντα οξείδωσης των ελαίων. Ο φθορισμός που παρατηρήθηκε στο φάσμα του έξτρα παρθένου ελαιολάδου μπορεί να οφείλεται σε φαινολικές ενώσεις, όπως το γαλλικό οξύ, το βανιλλικό οξύ και το υδροκαφεϊκό οξύ. Επίσης, προέκυψε ότι τα κύρια συστατικά που είναι υπεύθυνα για την εκπομπή σε μικρά μήκη κύματος στα φάσματα των εξευγενισμένων ελαίων είναι οι τοκοφερόλες (Sikorska *et. al.*, 2005b).



Εικόνα 3.9: Contour plots των φασμάτων ολικής φωταύγειας αραβοσιτέλαιου. (A) δείγμα αραιωμένο σε n-εξάνιο, 1% v/v, (B) χύδην λάδι (Sikorska *et. al.*, 2005b, σελ 3)

Η συγκέντρωση των δειγμάτων των ελαίων έχει έντονη επίδραση στα φάσματα φθορισμού, καθώς οι υψηλότερες συγκεντρώσεις ελαίου αντιστοιχούν σε ισχυρότερη εκπομπή της τοκοφερόλης. Ωστόσο, σε πιο συμπυκνωμένα δείγματα, η ένταση της εκπομπής της τοκοφερόλης μειώνεται και τα φάσματα αποκαλύπτουν την παρουσία άλλων

φθοριζόντων ουσιών, οι οποίες δεν παρατηρήθηκαν στα φάσματα των αραιωμένων δειγμάτων (Sikorska *et. al.*, 2005b). Έτσι, τα φάσματα των χύδην δειγμάτων παρέχουν περισσότερες πληροφορίες σχετικά με τα φθοροφόρα που υπάρχουν στα λάδια. Τα φάσματα φθορισμού σύγχρονης σάρωσης των χύδην δειγμάτων υποδεικνύουν την παρουσία τριών κύριων περιοχών εκπομπής, τη ζώνη που αποδίδεται στις τοκοφερόλες, μια άλλη που αποδίδεται στις χλωροφύλλες και μία ευρεία ζώνη εκπομπής στην ενδιάμεση περιοχή, που παρουσιάζει πολλά μέγιστα, γεγονός που υποδηλώνει την παρουσία φθοριζουσών ουσιών. Αυτή η ζώνη εκπομπής φαίνεται να είναι η σημαντικότερη για τη διάκριση των ελαίων, διότι παρουσιάζει μεταβλητότητα ανάλογα με το είδος του ελαίου (Sikorska *et. al.*, 2005b).

### 3.7 ΕΦΑΡΜΟΓΕΣ ΓΙΑ ΤΗΝ ΠΑΡΑΚΟΛΟΥΘΗΣΗ ΤΗΣ ΟΞΕΙΔΩΣΗΣ

Η φασματοσκοπία ολικής φωταύγειας εκτός από το χαρακτηρισμό και τη διαφοροποίηση των βρώσιμων ελαίων εφαρμόζεται και στην παρακολούθηση της επίδρασης της οξειδωσης των ελαίων στην ποιότητά τους καθώς τα φθοροφόρα συστατικά των ελαιολάδων είναι ενώσεις που εμπλέκονται στην οξειδωση (Sikorska *et al.*, 2004, Martí and Baldrich, 2005, Kiritsakis, 1998). Η οξειδωση των λιπιδίων είτε λόγω έκθεσης του ελαίου στο φως είτε σε θερμοκρασία, προκαλεί αλλαγές στον τύπο και τη συγκέντρωση των μορίων του, μεταβάλλοντας τα χαρακτηριστικά ποιότητας, όπως υφή, γεύση, διάρκεια ζωής, εμφάνιση και διατροφικό προφίλ. Ακόμη είναι δυνατό να οδηγήσει στην παραγωγή τοξικών ενώσεων, κυρίως αλδεϊδών και κετονών μέσω μιας σύνθετης σειράς ριζικών αντιδράσεων. Συνεπώς, και οι δύο τύποι οξειδωσης παράγουν γενική μείωση της έντασης φθορισμού, η οποία μπορεί να προκύψει από την αποσύνθεση των φθοροφόρων ουσιών. Η ευαισθησία των λιπιδίων στην οξειδωση είναι μια σημαντική αιτία της αλλοίωσης της ποιότητας διαφόρων φυσικών και επεξεργασμένων τροφίμων (Sikorska *et al.*, 2004).

Αποτέλεσμα της θερμικής οξειδωσης είναι οι χαρακτηριστικές αλλαγές στο φάσμα φθορισμού σύγχρονης σάρωσης καθώς η ένταση των φασματικών ζωνών της τοκοφερόλης και της χλωροφύλλης μειώνεται ενώ ταυτόχρονα εμφανίζεται μία νέα ζώνη εκπομπής. Αντίθετα, η φωτο-οξειδωση των ελαιολάδων οδηγεί σε μείωση της έντασης των ζωνών της τοκοφερόλης και της χλωροφύλλης χωρίς να εμφανίζονται νέες ζώνες (Sikorska *et al.*, 2003).

Σε έρευνα που πραγματοποιήθηκε για τη μελέτη της φωτο-οξειδωσης αμιγών δειγμάτων ελαιολάδου, τα δείγματα εκτέθηκαν απευθείας στο φως δύο λαμπτήρων βολφραμίου για 176 ώρες σε θερμοκρασία 20°C, ενώ για τη μελέτη της θερμικής οξειδωσης τα δείγματα θερμάνθηκαν στους 200°C σε σκοτεινό μέρος για 20 ώρες. Τα φάσματα φθορισμού των ελαίων που υπέστησαν φωτο-οξειδωση παρουσίασαν μειωμένη ένταση στο

φθορισμό της τοκοφερόλης και της χλωροφύλλης, λόγω αλλαγών στην ποιότητα που εξαρτώνται από το εκάστοτε λάδι (Sikorska *et al.*, 2004).

Κατά το μαγείρεμα τα φυτικά έλαια υφίστανται πολύπλοκες χημικές αντιδράσεις, οι οποίες ως γνωστόν επηρεάζουν και υποβαθμίζουν τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά, τις θρεπτικές ιδιότητες και την ασφάλεια των ελαίων. Τέτοιες αντιδράσεις είναι η οξείδωση των πολυακόρεστων λιπαρών οξέων και της βιταμίνης E, ο ισομερισμός των *cis* και *trans* λιπαρών οξέων, η κατάτμηση σε δευτερογενή προϊόντα υπεροξειδωσής, η κυκλοποίηση και ο πολυμερισμός των οξειδωμένων λιπιδίων (Cheikhousman *et. al.*, 2005). Η οξείδωση των λιπιδίων είναι μια πολύπλοκη διαδικασία, στην οποία τα πολυακόρεστα λιπίδια αντιδρούν με μοριακό οξυγόνο και σχηματίζουν υδροϋπεροξειδία λιπιδίων. Τα έλαια που περιέχουν πολυακόρεστα λιπαρά οξέα υφίστανται αυθόρμητη υπεροξειδωση μέσω της θερμικής αντίδρασης αυτοξειδωσης (Sikorska *et al.*, 2004). Ωστόσο το εξαιρετικά παρθένο ελαιόλαδο θεωρείται ιδιαίτερα σταθερό κατά τη διάρκεια της θέρμανσης, ιδιότητα που αποδίδεται στο υψηλό περιεχόμενο σε ελαϊκό οξύ (55-88%) και χαμηλό σε πολυακόρεστα λιπαρά οξέα (2-21%), καθώς και στην παρουσία εξαιρετικά αντιοξειδωτικών πολυφαινολών (Cheikhousman *et. al.*, 2005).

Σε έρευνα που πραγματοποιήθηκε για την επίδραση της θερμοκρασίας στην οξείδωση χρησιμοποιήθηκαν εξευγενισμένο ηλιέλαιο υψηλού ελαϊκού περιεχομένου, έξτρα παρθένο ελαιόλαδο, καλλυντικό αργανέλαιο και εξευγενισμένο αραβοσιτέλαιο, τα οποία περιέχουν 5%, 21%, 30% και 56% πολυακόρεστα λιπαρά οξέα, αντίστοιχα. Η ένταση των καμπυλών που αντιστοιχεί στα προϊόντα οξείδωσης, αυξάνεται με τη θερμοκρασία στο πλούσιο σε πολυακόρεστα λιπαρά οξέα λάδι (Kongbonga *et. al.*, 2011).

Το φάσμα του εξευγενισμένου ηλιέλαιου υψηλού ελαϊκού περιεχομένου δεν παρουσίασε αλλαγή στην ένταση καθώς είναι πολύ σταθερό στη θέρμανση. Τα φάσματα του αργανέλαιου και του έξτρα παρθένου ελαιολάδου πριν τη θερμοκρασία παρουσίασαν όμοιο αποτέλεσμα, το οποίο αποδίδεται στο ότι και τα δύο λάδια παράγονται με ψυχρή έκθλιψη. Ωστόσο μετά τη θέρμανση οι κορυφές των προϊόντων οξείδωσης εμφανίστηκαν πιο έντονες στο φάσμα του αργανέλαιου λόγω της αύξησης των προϊόντων αυτών. Οι καμπύλες των σχετικών εντάσεων της βιταμίνης E παρουσιάζουν σημαντικές διακυμάνσεις στις θέσεις των προϊόντων οξείδωσης. Η σταθερότητα των ελαίων στη θέρμανση αυξάνεται όσο το ποσοστό των πολυακόρεστων λιπαρών οξέων μειώνεται (Kongbonga *et. al.*, 2011).

Το αντικείμενο μιας ακόμη μελέτης ήταν η επίδραση της θέρμανσης στους 100, 150 και 190°C έξτρα παρθένο ελαιόλαδο, πυρηνέλαιου, σησαμελαίου, αραβοσιτελαίου, ηλιέλαιου, σογιέλαιου και ενός εμπορικού μίγματος ελαίων (Πουλλή και συνεργάτες της, 2009). Οι διαφορές στο φθορισμό εκτιμήθηκαν με μέτρηση των ολικών φασμάτων φθορισμού σύγχρονης σάρωσης, στην περιοχή διέγερσης 250-720 nm. Η καταγραμμένη ένταση φθορισμού κάτω από τα 315 nm μειώθηκε κατά τη θέρμανση, προφανώς λόγω της



κατανάλωσης φαινολικών αντιοξειδωτικών από τις ρίζες των λιπιδίων. Η μείωση των ζωνών φθορισμού στα 250 έως 350 nm και στα 350 έως 400 nm για το εξαιρετικό παρθένο ελαιόλαδο και το πυρηνέλαιο, αντίστοιχα, ήταν ισοδύναμη με τη μείωση της αντιοξειδωτικής ικανότητας. Οι ζώνες στα ολικά φάσματα φθορισμού σύγχρονης σάρωσης κάτω από τα 350 nm εξαφανίστηκαν κατά τη διάρκεια της θέρμανσης, ενώ εκείνες στα 600 έως 700 nm επίσης μειώθηκαν, πιθανώς λόγω της αποσύνθεσης των αντιοξειδωτικών ενώσεων και της χλωροφύλλης, αντίστοιχα. Οι ζώνες στο εύρος 400 έως 450 nm αυξήθηκαν, πιθανώς λόγω του σχηματισμού των δευτερογενών προϊόντων οξείδωσης (Sikorska *et. al.*, 2012).

Η φασματοσκοπία φθορισμού χρησιμοποιήθηκε ως μια ταχεία τεχνική για την αξιολόγηση της ποιότητας του θερμικά επεξεργασμένου έξτρα παρθένου ελαιολάδου (Cheikhousman *et. al.*, 2005). Τα δείγματα θερμάνθηκαν στους 170°C για 3 ώρες. Στα φάσματα η ζώνη εκπομπής στα 330 nm αποδόθηκε στη βιταμίνη E και σε μερικές φθορίζουσες πολυφαινόλες. Αυτός ο φθορισμός μειώθηκε κατά τη διαδικασία θέρμανσης, με συνεχή εκθετική αποσύνθεση. Πράγματι, τα προϊόντα αποικοδόμησης που παράγονται κατά τη θέρμανση, και ιδιαίτερα οι ενώσεις που σχηματίζονται από την αντίδραση μεταξύ αμινοφωσφολιπιδίων και αλδεϋδων, φθορίζουν σε αυτό το εύρος μήκους κύματος (Sikorska *et. al.*, 2012).

Σε άλλη έρευνα μελετήθηκε η θερμική υποβάθμιση των έξτρα παρθένων ελαιολάδων (Tena και συνεργάτες της, 2009). Το δείγμα του παρθένου ελαιολάδου θερμάνθηκε σε 190°C για 94 ώρες σε κύκλους των 8 ωρών ανά ημέρα. Η ένταση του φθορισμού μειώθηκε κατά τη διάρκεια της οξείδωσης και παρατηρήθηκε βαθοχρωμική μετατόπιση από τα 350-360 nm στα 420-440 nm. Οι παρατηρούμενες μεταβολές στο φασματικό προφίλ αποδίδονται στη μείωση των τοκοφερολών και φαινολών και η αύξηση των προϊόντων οξείδωσης της βιταμίνης E συσχετίζεται με τις σταθερές K<sub>232</sub> και K<sub>270</sub> και τα προϊόντα υδρόλυσης. Ο φθορισμός που παρατηρήθηκε αποδόθηκε στις τοκοφερόλες και τις πολυφαινόλες. Η ένταση της ζώνης που σχετίζεται με τις χλωροφύλλες και τις φαιοφυτίνες ελαττώθηκε εκθετικά με το χρόνο της θερμικής οξείδωσης (Sikorska *et. al.*, 2012).

Το εξαιρετικά παρθένο ελαιόλαδο είναι πολύ σταθερό στο σκοτάδι, ενώ παρουσιάζει ευαισθησία στην οξείδωση κάτω από υπεριώδη ακτινοβολία. Η θερμο-οξείδωση και φωτο-οξείδωση του ελαιολάδου μελετήθηκε από την Πουλλή και τους συνεργάτες της το 2009, σε δείγματα έξτρα παρθένου ελαιολάδου, απλού ελαιολάδου και πυρηνέλαιου. Στο φάσμα φθορισμού του εξαιρετικά παρθένου ελαιολάδου οι φασματικές ζώνες μειώθηκαν κατά την οξείδωση, ενώ ο φθορισμός σε μεγαλύτερο μήκος κύματος αυξήθηκε κατά τη διάρκεια των πρώτων 8 ωρών και στη συνέχεια παρέμεινε σχεδόν σταθερός για 12 ώρες. Στο φάσμα του απλού ελαιολάδου οι πρώτες ζώνες φθορισμού μειώθηκαν κατά την οξείδωση, ενώ οι άλλες αυξήθηκαν κατά την αρχική περίοδο και στη συνέχεια παρέμειναν σχεδόν σταθερές. Επίσης, οι ζώνες φθορισμού του πυρηνελαίου μειώθηκαν κατά την αρχική περίοδο του πειράματος

και, στη συνέχεια, παρατηρήθηκε μια μικρή αύξηση. Όλα τα ελαιόλαδα παρουσιάζουν φασματικές ζώνες στην περιοχή 550 έως 700 nm, που αποδίδονται στις χρωστικές ουσίες της χλωροφύλλης και είναι έντονες στο έξτρα παρθένο ελαιόλαδο και με πολύ χαμηλή ένταση στο πυρηνέλαιο. Οι ζώνες αυτές μειώθηκαν σημαντικά λόγω της φθοράς των χρωστικών της χλωροφύλλης που εμπλέκονται στην φωτο-οξειδωση. Τέλος, η ένταση φθορισμού που αποδίδεται στις χλωροφύλλες μειώθηκε σημαντικά, ενώ οι ζώνες φθορισμού σε μικρότερα μήκη κύματος αυξήθηκαν (Sikorska *et. al.*, 2012).

Η τεχνική της φασματοσκοπίας φθορισμού εφαρμόστηκε για την παρακολούθηση των μεταβολών παρθένου ελαιόλαδου κατά την αποθήκευση από την Sikorska και τους συνεργάτες της το 2008. Τα δείγματα αποθηκεύτηκαν για διάστημα 12 μηνών σε καθαρές πράσινες γυάλινες φιάλες σε σκοτάδι ή εκτεθειμένα στο φως. Στο ολικό φάσμα φθορισμού, η ένταση των εκπομπών που αποδόθηκε στις τοκοφερόλες και τις χρωστικές ουσίες της ομάδας της χλωροφύλλης, μειώθηκε κατά την αποθήκευση. Στα φάσματα των ελαίων που ήταν εκτεθειμένα στο φως εμφανίστηκαν πρόσθετες ζώνες σε μήκη κύματος στο ενδιάμεσο φάσμα διέγερσης και εκπομπής. Οι φασματικές ζώνες που αποδίδονται σε τοκοφερόλες, χλωροφύλλες και σε φαινολικές ενώσεις παρατηρήθηκαν στα φάσματα φθορισμού σύγχρονης σάρωσης (Sikorska *et. al.*, 2012).

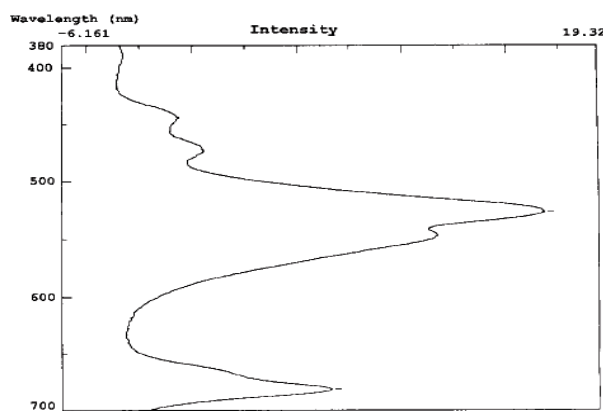
Η υψηλή αναλογία βιταμίνης E έναντι των πολυακόρεστων λιπαρών οξέων στα ελαιόλαδα υποδεικνύει μια καλή προστατευτική ιδιότητα των διπλών δεσμών των λιπαρών οξέων, τα οποία είναι ευαίσθητα στην οξειδωση. Αυτή η αναλογία είναι πολύ υψηλή σε σύγκριση με άλλα έλαια όπως το ηλιέλαιο, το κραμβέλαιο και το εξευγενισμένο σογιέλαιο. Οι φαινολικές ενώσεις φαίνεται να είναι πιο αποτελεσματικές από τη βιταμίνη E στην προστασία του ελαιολάδου από την οξειδωση, επομένως δρουν ως σταθεροποιητές της βιταμίνης E κατά τη διάρκεια της θέρμανσης του ελαιολάδου (Cheikhousman *et. al.*, 2005).

Σκοπός μιας αντίστοιχης μελέτης ήταν η αξιολόγηση της δυνατότητας της φασματοσκοπίας φθορισμού να παρέχει πληροφορίες για την εξέλιξη της ποιότητας εξαιρετικά παρθένων ελαιολάδων κατά τη θέρμανση, προβλέποντας την οξειδωση των πολυφαινολών και της βιταμίνης E καθώς και την υποβάθμιση των υδροϋπεροξιδών. Μετά από 180 λεπτά, λιγότερο από το 10% της υδροξυτυροσόλης, αλλά περίπου 40-50% της τυροσόλης είχε παραμείνει στα έλαια. Αυτή η σταθερότητα της τυροσόλης παρατηρήθηκε επίσης κατά την μακροχρόνια αποθήκευση σε θερμοκρασία δωματίου και κατά τη διάρκεια της οξειδωσης εξαιρετικά παρθένων ελαιολάδων, ενώ οι ποσότητες των παραγώγων της υδροξυτυροσόλης μειώθηκαν γρήγορα. (Cheikhousman *et. al.*, 2005).

Η ποσότητα της βιταμίνης E μειώθηκε επίσης εκθετικά κατά τη θέρμανση. Ο ρυθμός αποικοδόμησής της ήταν χαμηλότερος από της υδροξυτυροσόλης αλλά υψηλότερος από της τυροσόλης. Στο τέλος της διαδικασίας θέρμανσης, 28 και 39% της βιταμίνης E οξειδώθηκε στα δύο δείγματα εξαιρετικά παρθένου ελαιολάδου. Φαίνεται ότι η υδροξυτυροσόλη είναι το

κύριο αντιοξειδωτικό στα εξαιρετικά παρθένα ελαιόλαδα και, ως εκ τούτου, προστατεύει την τυροσόλη και τη βιταμίνη E από την οξείδωση, εξηγώντας τη σχετική σταθερότητα τους κατά τη θέρμανση για 3 ώρες στους 170°C. Επομένως, θα μπορούσε να διαδραματίσει σημαντικό ρόλο στην προστασία του ελαίου κατά τις διεργασίες θερμικής οξείδωσης. Τα ποσά υδροϋπεροξειδίων επίσης μειώθηκαν εκθετικά, πιθανώς ως αποτέλεσμα της μετατροπής σε δευτερογενή προϊόντα υπεροξειδωσίας. Τα φάσματα φθορισμού των εξαιρετικά παρθένων ελαιολάδων λήφθηκαν σε διαφορετικούς χρόνους θέρμανσης, έτσι, η υποβάθμιση των πολυφαινόλων και της βιταμίνης E θα μπορούσε να παρακολουθείται με την τεχνική της φασματοσκοπίας φθορισμού (Cheikhousman *et. al.*, 2005).

Οι Νικόλαος Κυριακίδης και Παύλος Σκαρκαλής μελέτησαν τα φάσματα φθορισμού ορισμένων ελαιολάδων, μεταξύ των οποίων ήταν το ελαιόλαδο, το πυρηνέλαιο, το εξευγενισμένο ελαιόλαδο, το αραβοσιτέλαιο, το σογιέλαιο, το ηλιέλαιο και το βαμβακέλαιο. Για να αποφευχθούν πιθανές παρεμβολές διαλυτών, τα δείγματα που χρησιμοποιήθηκαν δεν υποβλήθηκαν σε καμία προεργασία. Για να επιτευχθεί ραγδαία αλλοίωση, τα δείγματα των ελαιολάδων τοποθετήθηκαν σε υδατόλουτρο 70°C με ένα ρεύμα αέρα να κατευθύνεται από μία αντλία κενού προς την επιφάνεια του λαδιού μέσω μιας πιπέτας Pasteur (Kyriakidis and Skarkalis, 2000).



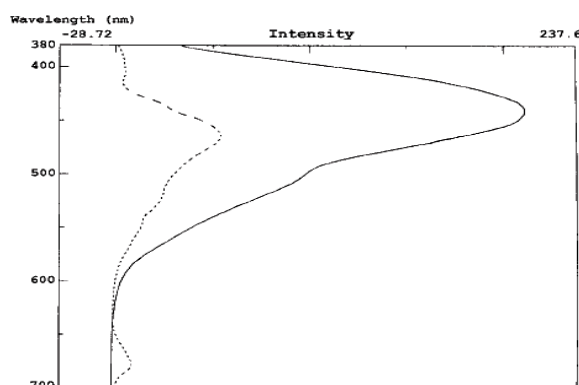
Εικόνα 3.10: Φάσμα φθορισμού εξαιρετικά παρθένου ελαιολάδου (Kyriakidis and Skarkalis, 2000, σελ 1436)

Τα φάσματα φθορισμού όλων των φυτικών ελαίων ήταν παρόμοια μεταξύ τους, καθώς εμφάνισαν μία μόνο ευρεία κορυφή με μία βάση εύρους 400-550 nm και μία κορυφή εύρους 430-450 nm. Ωστόσο, το φάσμα του εξαιρετικά παρθένου ελαιολάδου (Εικ. 3.10) παρουσίασε ξεχωριστό ενδιαφέρον καθώς αποτελούνταν από τρεις φασματικές ζώνες, μία χαμηλής έντασης διπλή ζώνη στα 440 και 455 nm η οποία φαίνεται να σχετίζεται με την ένταση της απορρόφησης του ελαιολάδου, μία ισχυρή στα 525 nm λόγω της βιταμίνης E και μία μέτριας έντασης στα 681 nm, η οποία αποδίδεται στις χλωροφύλλες. Η προσθήκη

επιπλέον χλωροφύλλης στα δείγματα είχε ως αποτέλεσμα την αύξηση της κορυφής (Kyriakidis and Skarkalis, 2000).

Από την άλλη, κατά την θέρμανση του παρθένου ελαιολάδου, η ίδια κορυφή μειώθηκε δραματικά, παράλληλα με τη μείωση του πράσινου χρώματος του δείγματος. Η ασθενής ζώνη στο φάσμα φθορισμού του καλής ποιότητας εξαιρετικού παρθένου ελαιολάδου, που περιέχει κυρίως μονοακόρεστα λιπαρά οξέα και υψηλή περιεκτικότητα σε φαινολικά αντιοξειδωτικά, οφείλεται στην περιεκτικότητα της τοκοφερόλης και στο πολύ χαμηλό ποσοστό των προϊόντων οξείδωσης. Από την άλλη, η πολύ μεγάλη κορυφή φθορισμού που παρουσιάστηκε σε όλα τα υπόλοιπα φυτικά έλαια, είναι δυνατό να οφείλεται στα υψηλά ποσοστά των πολυακόρεστων λιπαρών οξέων και στα πολύ υψηλότερα ποσοστά των προϊόντων οξείδωσής τους (Kyriakidis and Skarkalis, 2000).

Στα φάσματα εκπομπής του εξευγενισμένου ελαιολάδου και του ελαιολάδου που υπέστη θέρμανση σημειώθηκε μείωση της έντασης της ισχυρής ζώνης. Ωστόσο η ζώνη αυτή μειώθηκε με την προσθήκη χλωροφύλλης στο δείγμα (Εικ. 3.11). Αντιθέτως στο φάσμα του εξαιρετικά παρθένου ελαιολάδου με θέρμανση η ένταση της κορυφής αυξήθηκε με ταυτόχρονη μείωση της τιμής της χλωροφύλλης. Συνεπώς, η χλωροφύλλη λειτουργεί ως καταστολέας του φθορισμού (Kyriakidis and Skarkalis, 2000).

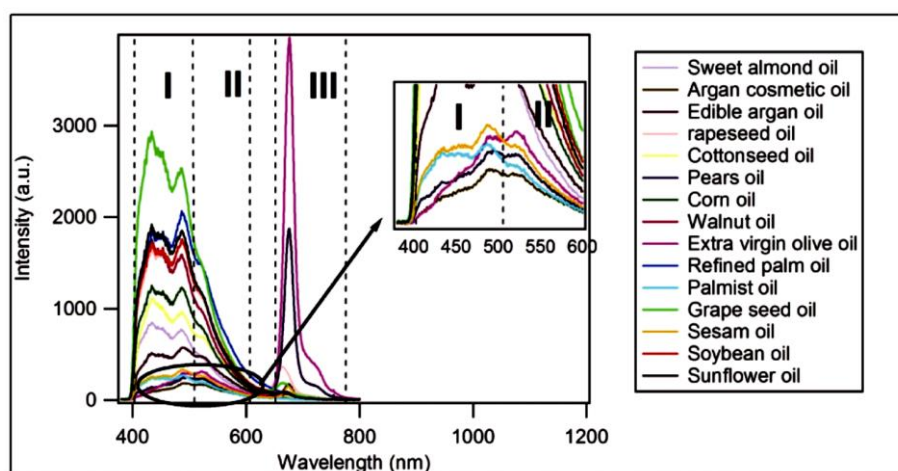


**Εικόνα 3.11:** Φάσμα φθορισμού εξευγενισμένου ελαιολάδου. Συνεχής γραμμή: αμιγές εξευγενισμένο ελαιόλαδο. Διακεκομμένη γραμμή: εξευγενισμένο ελαιόλαδο με προσθήκη χλωροφύλλης (Kyriakidis and Skarkalis, 2000,σελ 1436)

Ο Kongbonga και οι συνεργάτες του μελέτησαν με την φασματοσκοπία φθορισμού τις διαφορές μεταξύ του καλλυντικού και του βρώσιμου αργανέλαιου λόγω της θέρμανσης του δεύτερου κατά την παραγωγή του. Ακόμη, μελετήθηκε η σταθερότητα στην οξείδωση λόγω θέρμανσης του ηλιέλαιου συγκριτικά με το εξαιρετικά παρθένο ελαιόλαδο, το κοσμητολογικό αργανέλαιο και το εξευγενισμένο αραβοσιτέλαιο. Σκοπός της έρευνας ήταν να παρουσιάσουν την ικανότητα της φασματοσκοπίας φθορισμού να χαρακτηρίζει φυτικά έλαια και να ανιχνεύει αλλοιώσεις στην ποιότητά τους μέσω μετρήσεων της αναλογίας των

προϊόντων οξείδωσης και των αντιοξειδωτικών και να προσδιορίσουν την επίδραση της θερμοκρασίας στην ποιότητα των ελαίων (Kongbonga *et. al.*, 2011).

Σε άλλη έρευνα μελετήθηκε έλαιο γλυκού αμυγδάλου, αραβοσιτέλαιο, σησαμέλαιο, ηλιέλαιο, εξαιρετικά παρθένο ελαιόλαδο, αργανέλαιο, βαμβακέλαιο, σογιέλαιο, εξευγενισμένο φοινικέλαιο, κραμβέλαιο, καρυδέλαιο, έλαιο αχλαδιού και σπόρων σταφύλης. Τα φάσματα φθορισμού όλων των δειγμάτων παρουσίασαν παρόμοιες κορυφές εκπομπής (Εικ. 3.12). Αυτή η παρατήρηση οδηγεί στο συμπέρασμα ότι η διαδικασία οξείδωσης είναι παρόμοια σε όλα τα φυτικά έλαια. Ωστόσο στα φάσματα των μη εξευγενισμένων ελαίων οι σχετικές εντάσεις των καμπυλών ήταν ασθενείς και ακόμη ασθενέστερες στο φάσμα του εξαιρετικά παρθένου ελαιολάδου (Kongbonga *et. al.*, 2011).



Εικόνα 3.12: Φάσματα δειγμάτων φυτικών ελαίων (Kongbonga *et. al.*, 2011, σελ 694)

Στα φυτικά έλαια η παρουσία των φυσικών αντιοξειδωτικών προϊόντων, όπως η βιταμίνη E, οι φαινολικές ενώσεις και τα καροτενοειδή, είναι καταλυτική στο να εξουδετερώνουν τη διαδικασία της οξείδωσης. Για τη συγκεκριμένη έρευνα οι συντελεστές της επιστημονικής ομάδας χρησιμοποίησαν τη βιταμίνη E, διότι υπάρχει σε σημαντικά ποσοστά σε όλα τα δείγματα και είναι αρκετά ορατή σε όλα τα φάσματα. Ακόμη, όταν χάνει την αντιοξειδωτική της ικανότητα είναι δυνατό να συντίθεται πάλι από άλλες ενώσεις. Επομένως το ποσό της βιταμίνης E στα φυτικά έλαια μπορεί να χρησιμοποιηθεί για τη διάγνωση της κατάστασης των ελαίων (Kongbonga *et. al.*, 2011).

# **ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ**

## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4. ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ

### 4.1 ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

Στα πλαίσια της έρευνας μελετήθηκαν 41 δείγματα εξαιρετικά παρθένων ελαιολάδων της Πελοποννήσου και Κρήτης. Από το σύνολο των δειγμάτων τα 29 χορηγήθηκαν από ελαιοτριβεία του νομού Μεσσηνίας και πιο συγκεκριμένα από τις περιοχές Καλαμάτα, Χριστοφιλαίικα, Μυρτοποταμιά, Κάμπος, Αβιοχώρι, Αμφεία, Πήδημα, Μελιγαλάς, Σιάμος, Ρίγκλια Λεύκτρου, Βλαχόπουλο, Διαβολίτσι, Ελληνοκλήσια, Χριστιανούπολη, Χαροκοπιό, Αμφιθέα, Αρφαρά, Αρτεμισία, Πεταλίδι και Φυλιατρά. Από τα υπόλοιπα δείγματα τα 7 χορηγήθηκαν από ελαιοτριβεία της Αιγιαλείας, το ένα από ελαιοτριβείο της Σπάρτης και τα άλλα 4 αγοράστηκαν από τοπικό κατάστημα. Στους Πίνακες 2 και 3 παρατίθενται αναλυτικά όλα τα δείγματα και οι περιοχές προέλευσής τους. Τα δείγματα αποθηκεύτηκαν στο σκοτάδι σε θερμοκρασία δωματίου μέχρι την ημέρα της ανάλυσης. Σκοπός της έρευνας ήταν η επιτυχής αναγνώριση της προέλευσης του εκάστοτε ελαιολάδου με τη μελέτη των φθοριζόντων ενώσεων που εμπεριέχονται σε αυτό.

Για την ελαχιστοποίηση της επίδρασης των εσωτερικών φίλτρων κατά την ανάλυση, τα δείγματα αραιώθηκαν σε n-εξάνιο. Για την παρασκευή τους ζυγίστηκαν  $0,10 \pm 0,01$  g ελαιολάδου και διαλύθηκαν σε 10 ml n-εξανίου, με τελική συγκέντρωση 1% w/v.

Μετά την παρασκευή του δείγματος μια μικρή ποσότητα τοποθετήθηκε στην κυψελίδα με προσοχή. Η γεωμετρία που χρησιμοποιήθηκε ήταν υπό γωνία φωτισμός, επομένως η κυψελίδα δεν έπρεπε να φέρει σε καμία πλευρά της υπολείμματα σταγονιδίων ή δακτυλικά αποτυπώματα. Απαραίτητη ήταν και η τοποθέτηση του ειδικού πώματος, διότι το n-εξάνιο είναι οργανικός διαλύτης και εξατμίζεται πολύ γρήγορα.

Το φασματόμετρο φθορισμού ελέγχεται από ηλεκτρονικό υπολογιστή, επομένως ρυθμίστηκαν οι παράμετροι στο αντίστοιχο πρόγραμμα (Πίνακας 4). Για τη λήψη τρισδιάστατων φασμάτων με σύγχρονο Δλ, η περιοχή σάρωσης που επιλέχθηκε ήταν από 250 έως 700 nm με διάστημα μήκους κύματος 20 nm. Ακόμη ρυθμίστηκε αύξηση του διαστήματος κατά 10 nm σε κάθε σάρωση, ώστε κάθε μία να έχει διαφορετικό σημείο ενεργοποίησης και να καταγραφούν όλες οι ουσίες που εκπέμπουν σε διαφορετικά μήκη κύματος. Η ταχύτητα σάρωσης ρυθμίστηκε στα 50 nm/min και πραγματοποιήθηκαν επτά συνεχόμενες σαρώσεις με Δλ 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80. Το εύρος της σχισμής του μονοχρωμάτορα επιλέχθηκε στην τιμή 4 και για τους δύο μονοχρωμάτορες διέγερσης και εκπομπής. Για κάθε ελαιόλαδο πραγματοποιήθηκαν τρεις επαναληπτικές μετρήσεις και λήφθηκαν τρία τρισδιάστατα φάσματα φθορισμού.

Τρισδιάστατα φάσματα γνωστά και ως μοντέλα διέγερσης-εκπομπής ή φάσματα ολικής φωταύγειας, είναι αυτά στα οποία ο ένας άξονας αντιπροσωπεύει το μήκος κύματος

διέγερσης, ο δεύτερος το μήκος κύματος εκπομπής και ο τρίτος την ένταση. Τα φάσματα αυτά δίνουν μια πλήρη περιγραφή των φθοριζόντων συστατικών του μίγματος και παρουσιάζουν διαφορετικά χαρακτηριστικά για διάφορα έλαια (Sikorska *et al.*, 2003). Εναλλακτικά, τα τρισδιάστατα φάσματα μπορούν να μετατραπούν σε δύο διαστάσεων χάρτες ισοψών καμπυλών (contour plots), όπου ο ένας άξονας αναπαριστά την εκπομπή και ο άλλος το μήκος κύματος διέγερσης (Sikorska *et al.*, 2004).

<b>Πίνακας 2: Ελαιόλαδα από περιοχές του νομού Μεσσηνίας</b>			
1	Καλαμάτα. Παραγωγή 2013-2014	24	Βλαχόπουλο
2	Χριστοφιλαίικα	25	Διαβολίτσι
3	Μυρτοποταμιά	26	Ελληνοκλήσια
4	Κάμπος	27	Χριστιανόπουλο
5	Αβιοχώρι	28	Χαροκοπιό
6	Αμφεία	29	Αμφιθέα
7	<u>Καλαμάτα. Ποικιλία Κορωνέικη. Αβία</u>	30	Αρφαρά
8	Πήδημα. Δεξαμενή 1	31	Αρτεμισία. 2015
9	Πήδημα. Δεξαμενή 2	32	<u>Εξαιρετικό Παρθένο Ελαιόλαδο. Προστατευόμενη Ονομασία Προέλευσης Καλαμάτα</u>
10	Πήδημα. Δεξαμενή 4	35	Πεταλίδι 1. Μπαλί
11	Πήδημα. Δεξαμενή 7	36	Πεταλίδι 2. Καταράχι
12	Καλάματα. Παραγωγή 2014-2015	37	Πεταλίδι 3. Καρυά
13	<u>Κορωνέικη Ποικιλία. Μινέρβα, Χωριό</u>	38	Πεταλίδι 4. Πετρόλακα
14	Μελιγαλάς 1	39	Πεταλίδι 5. Κήπος
15	Σιάμο	40	Φυλιατρά
23	Ριγκλιά Λεύκτρου	41	Φυλιατρά (Χριστιάνος)



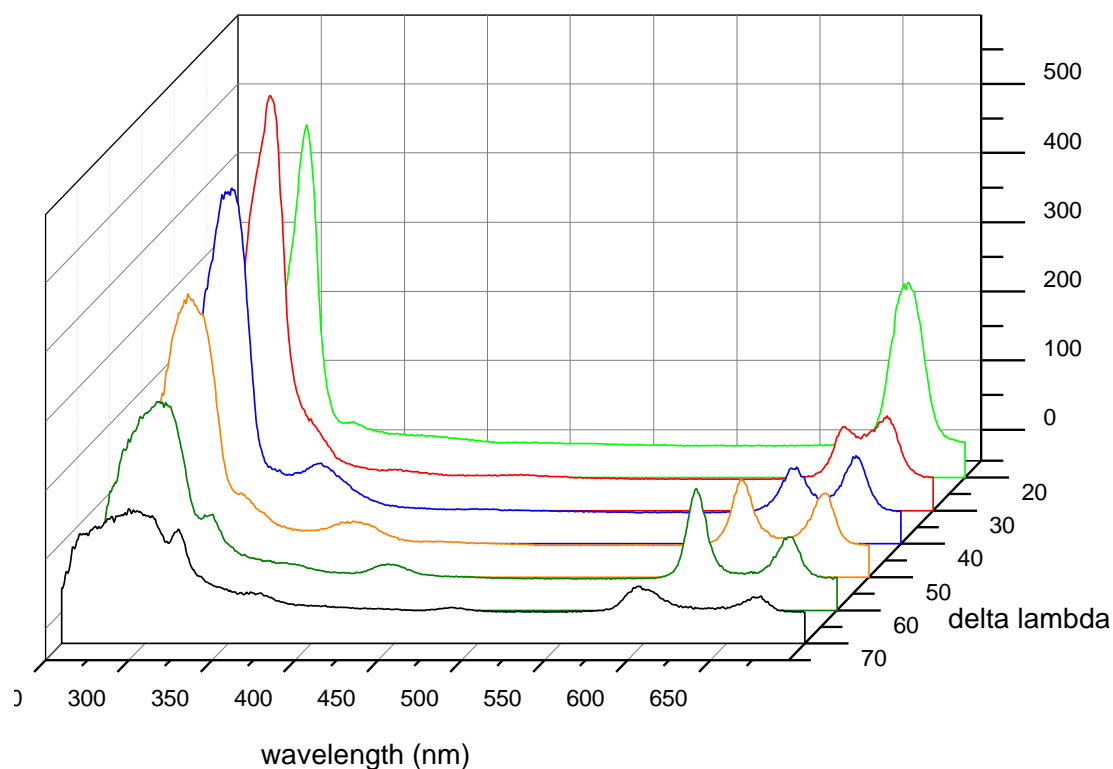
<b>Πίνακας 3: Ελαιόλαδα από περιοχές εκτός του νομού Μεσσηνίας</b>			
16	Αιγιαλεία 1. Αγ. Νικολάκης	21	Αιγιαλεία 6. Βουλομένο
17	Αιγιαλεία 2	22	Αιγιαλεία 6
18	Αιγιαλεία 3. Μελίσι	33	<u>Εξαιρετικό Παρθένο Ελαιόλαδο. Προστατευόμενη Ονομασία Προέλευσης Σητεία Λασιθίου Κρήτης</u>
19	Αιγιαλεία 4. Αράχωβα		
20	Αιγιαλεία 5	34	Μολάοι. 2015

<b>Πίνακας 4: Ρυθμίσεις Παραμέτρων / Set up Parameters</b>			
Έναρξη/ Start	250 nm	Διάστημα μήκους κύματος/ Delta Lambda	20 nm
Λήξη/ End	700 nm	Αύξηση Διαστήματος μήκους κύματος/ Delta Lambda Increment	10 nm
Πλάτος σχισμής μονοχρωμάτορα Διέγερσης/ Excitation Slit	4 nm	Ταχύτητα Σάρωσης/ Scan Rate	50 nm/minute
Πλάτος σχισμής μονοχρωμάτορα Εκπομπής/ Emission Slit	4 nm	Αριθμός Σαρώσεων/ Number of Scan	7

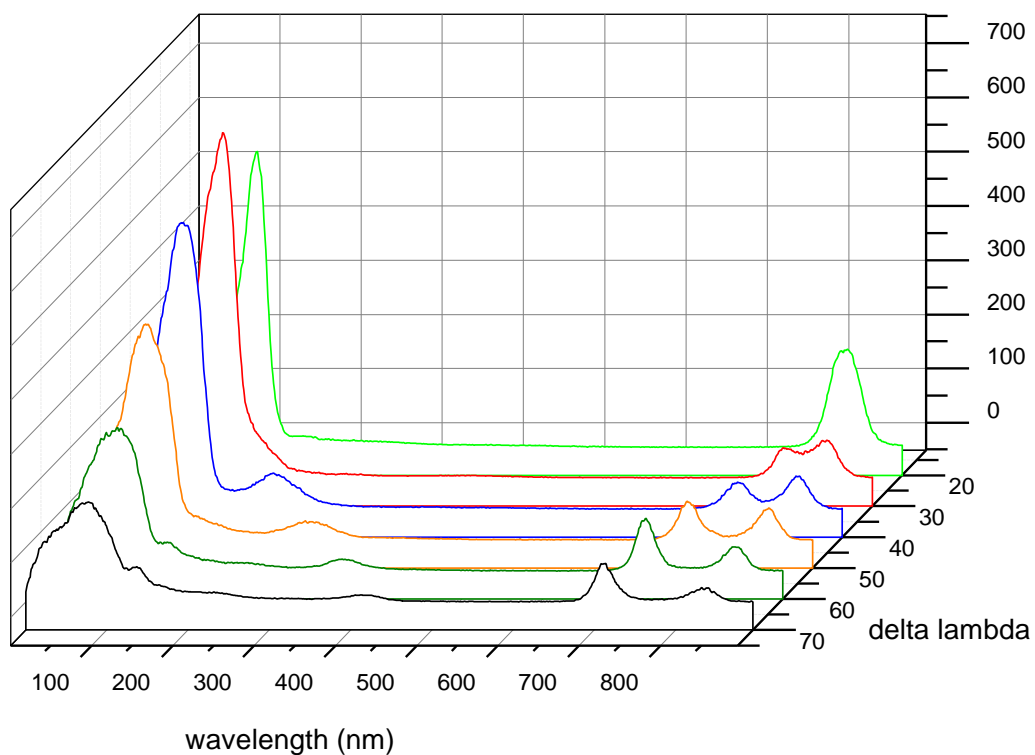
## 4.2 ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

### Α. Φάσματα σύγχρονου φθορισμού ελαιολάδων από περιοχές της Πελοποννήσου και της Κρήτης.

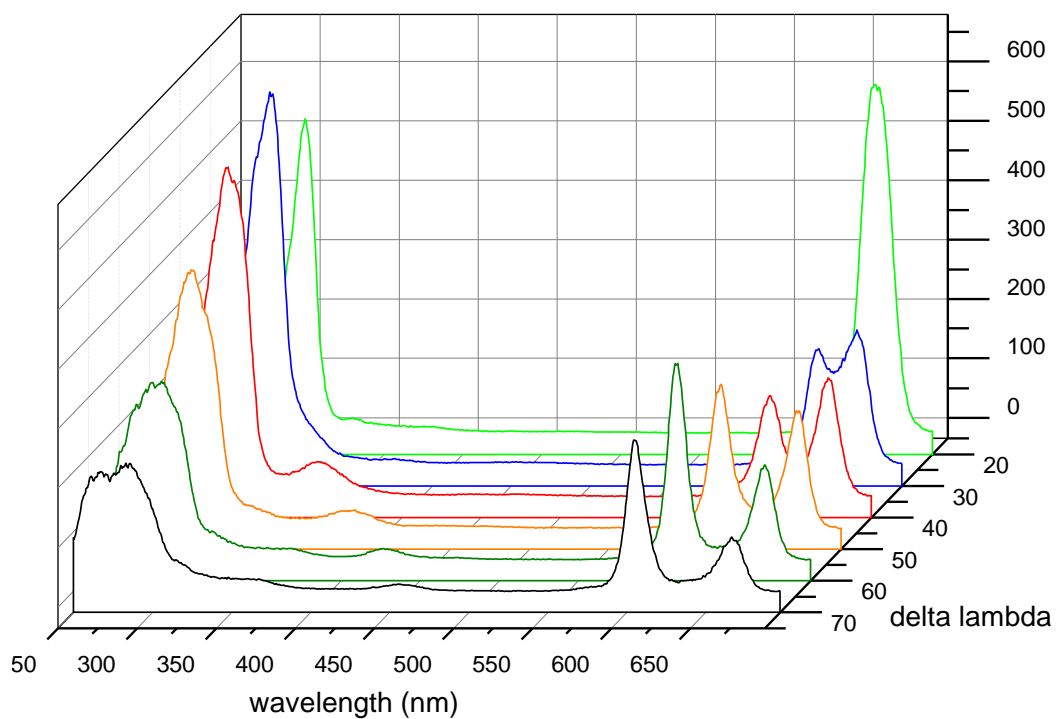
Παρακάτω παρουσιάζονται τα φάσματα σύγχρονου φθορισμού για τα ελαιόλαδα 1, 15, 16, 33 και 34, από τις περιοχές Καλαμάτα Μεσσηνίας, Σιάμο Μεσσηνίας, Άγιος Νικολάκης Αιγιαλείας, Σητεία Λασιθίου και Μολάοι Σπάρτης. Τα φάσματα απεικονίζουν το φθορισμό για διαστήματα μήκους κύματος ( $\Delta\lambda$ ) 20, 30, 40, 50, 60 και 70 (Σχ. 1-5)



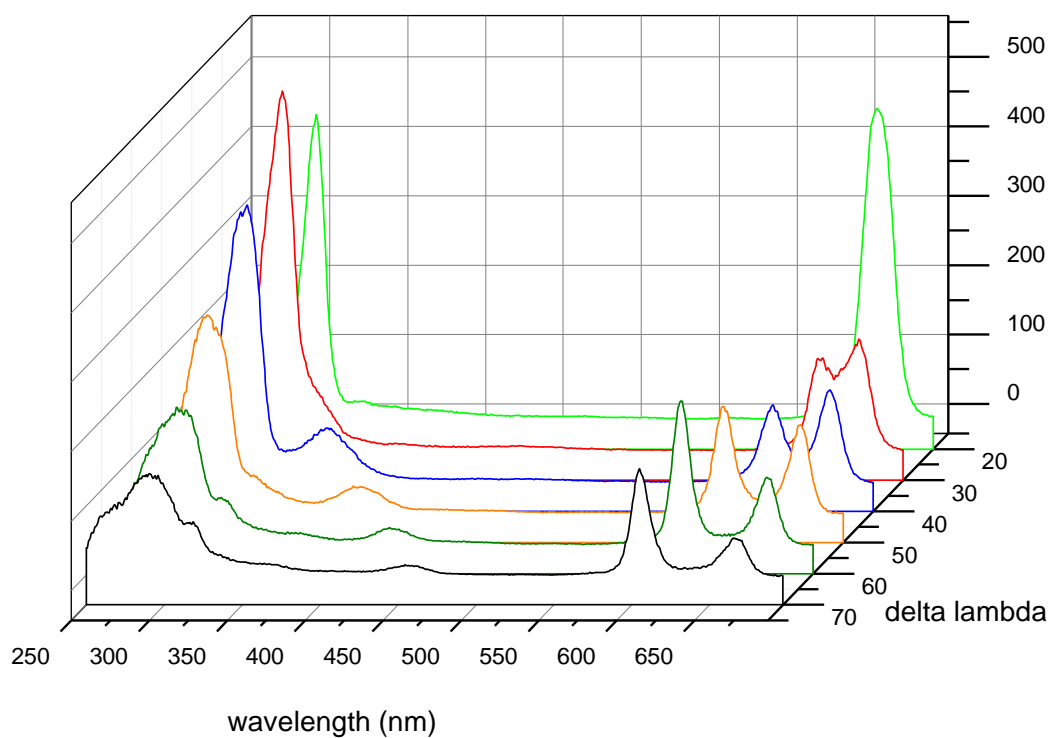
Σχήμα 1: Φάσματα σύγχρονου φθορισμού ελαιόλαδου 1 για διάφορα διαστήματα μήκους κύματος ( $\Delta\lambda$ )



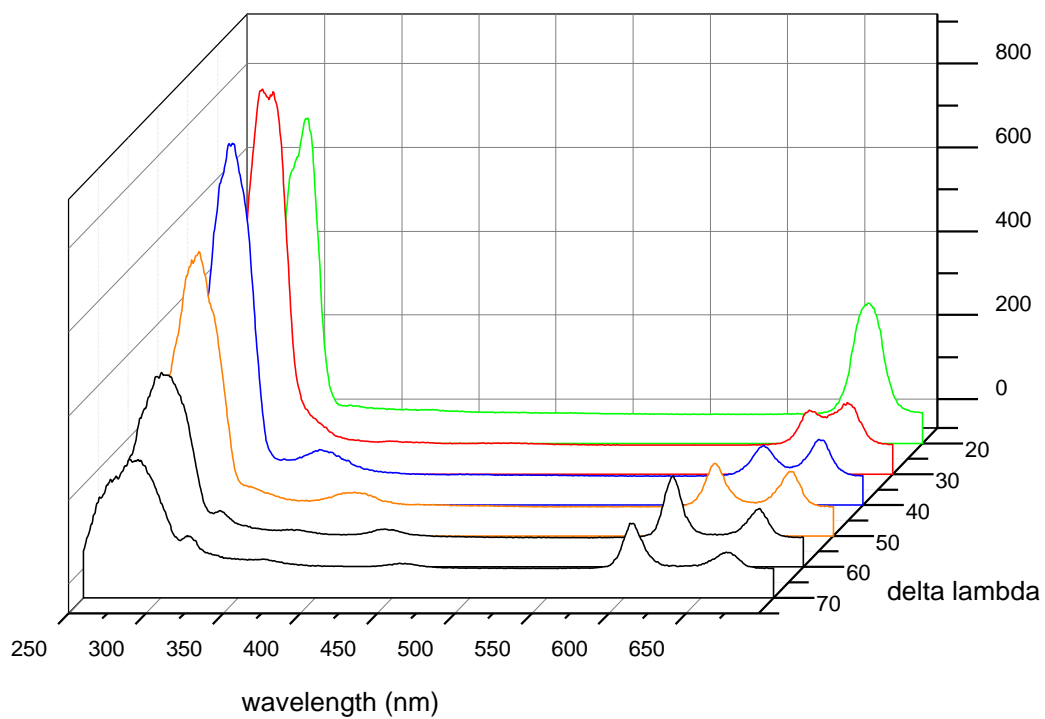
Σχήμα 2: Φάσματα σύγχρονου φθορισμού ελαιόλαδου 15 για διάφορα διαστήματα μήκους κύματος ( $\Delta\lambda$ )



Σχήμα 3: Φάσματα σύγχρονου φθορισμού ελαιόλαδου 16 για διάφορα διαστήματα μήκους κύματος ( $\Delta\lambda$ )

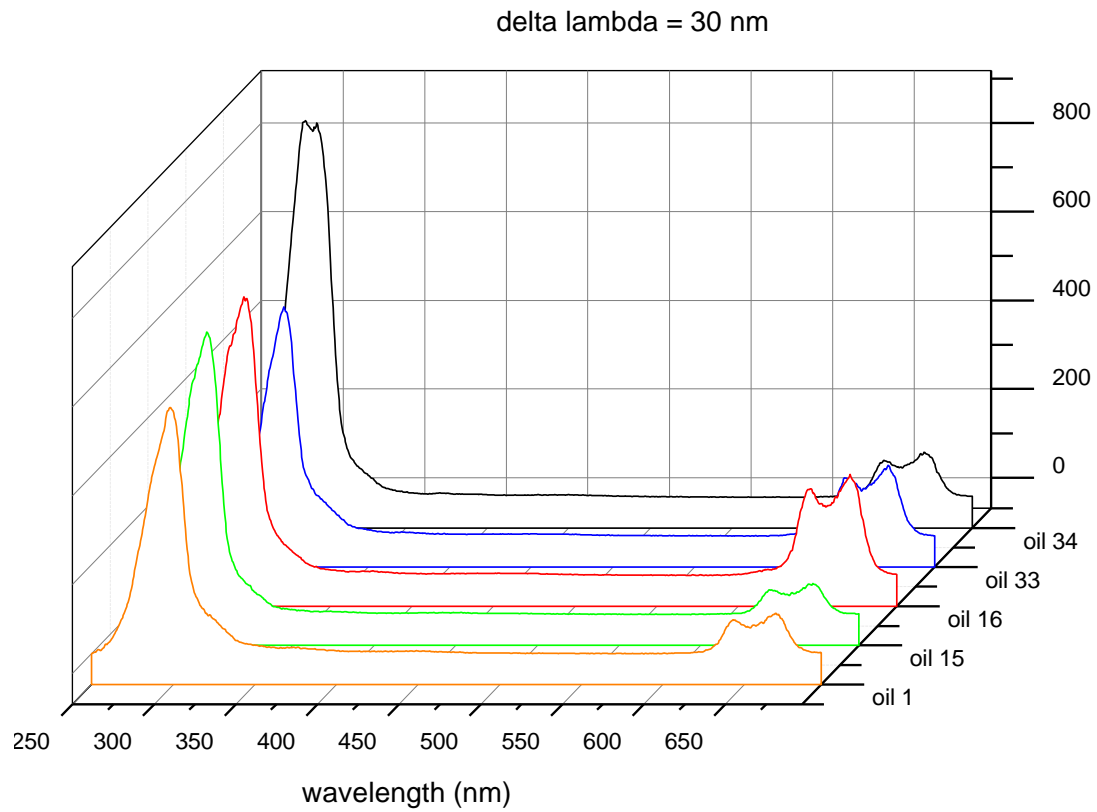


Σχήμα 4: Φάσματα σύγχρονου φθορισμού ελαιόλαδου 33 για διάφορα διαστήματα μήκους κύματος ( $\Delta\lambda$ )

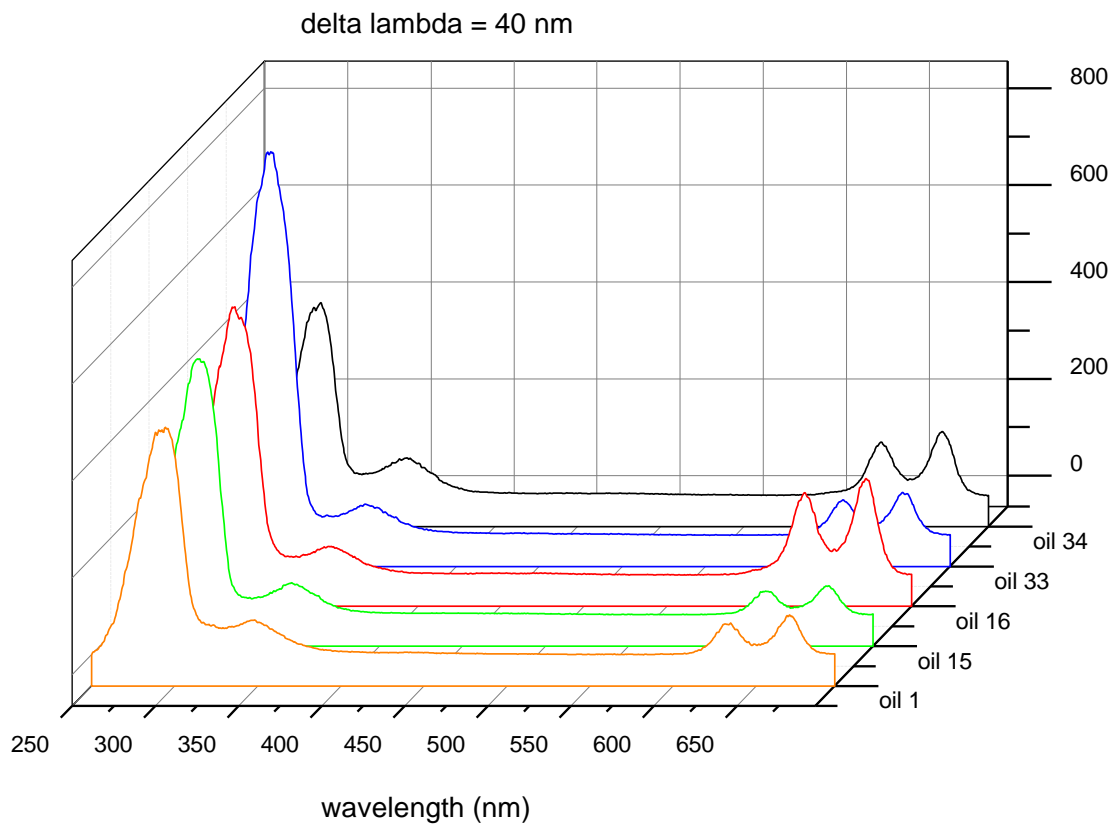


Σχήμα 5: Φάσματα σύγχρονου φθορισμού ελαιόλαδου 34 για διάφορα διαστήματα μήκους κύματος ( $\Delta\lambda$ )

Στη συνέχεια, συγκρίνονται τα ίδια ελαιόλαδα μεταξύ τους, για διάστημα μήκους κύματος  $\Delta\lambda=30$  nm (Σχ. 6) και  $\Delta\lambda=40$  nm (Σχ. 7).

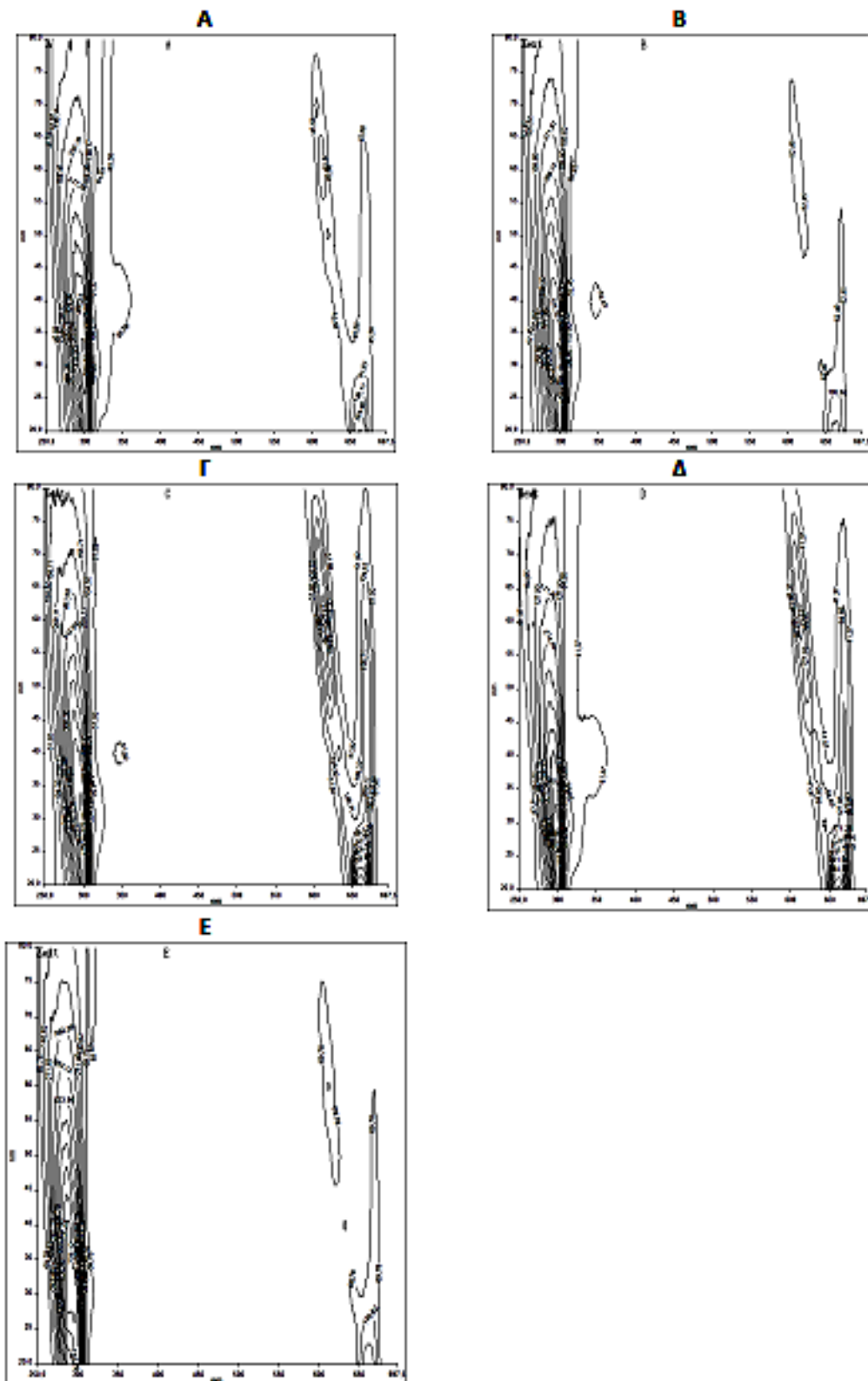


Σχήμα 6: Σύγκριση φασμάτων σύγχρονου φθορισμού των ελαιόλαδων 1, 15, 16, 33 και 34 για  $\Delta\lambda=30$  nm



**Σχήμα 7: Σύγκριση φασμάτων σύγχρονου φορισμού των ελαιόλαδων 1, 15, 16, 33 και 34 για  $\Delta\lambda=40$  nm**

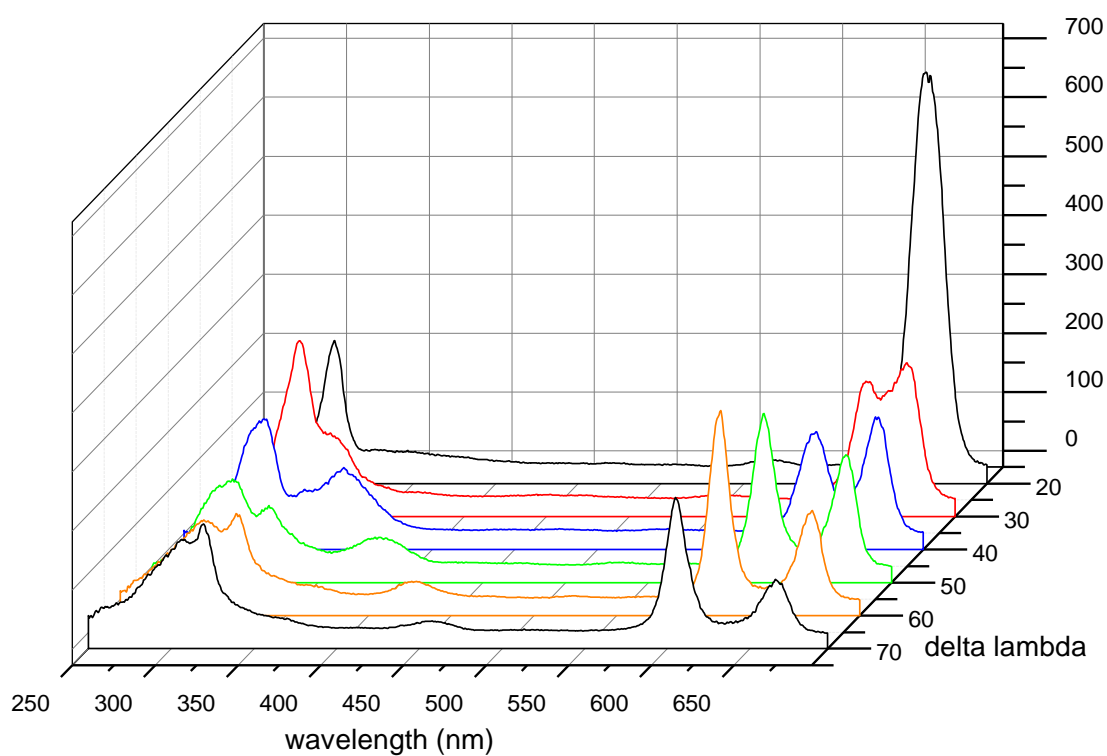
Ακολουθούν τα contour plots, που αντιστοιχούν στα φάσματα των ελαιολάδων 1, 15, 16, 33 και 34 και απεικονίζουν την κάτοψη των φασμάτων σε συγκεκριμένο ύψος.



Σχήμα 8: Contour plots του ελαιολάδου 1 (Α), ελαιολάδου 15 (Β), ελαιολάδου 16 (Γ), ελαιολάδου 33 (Δ) και του ελαιολάδου 34 (Ε)

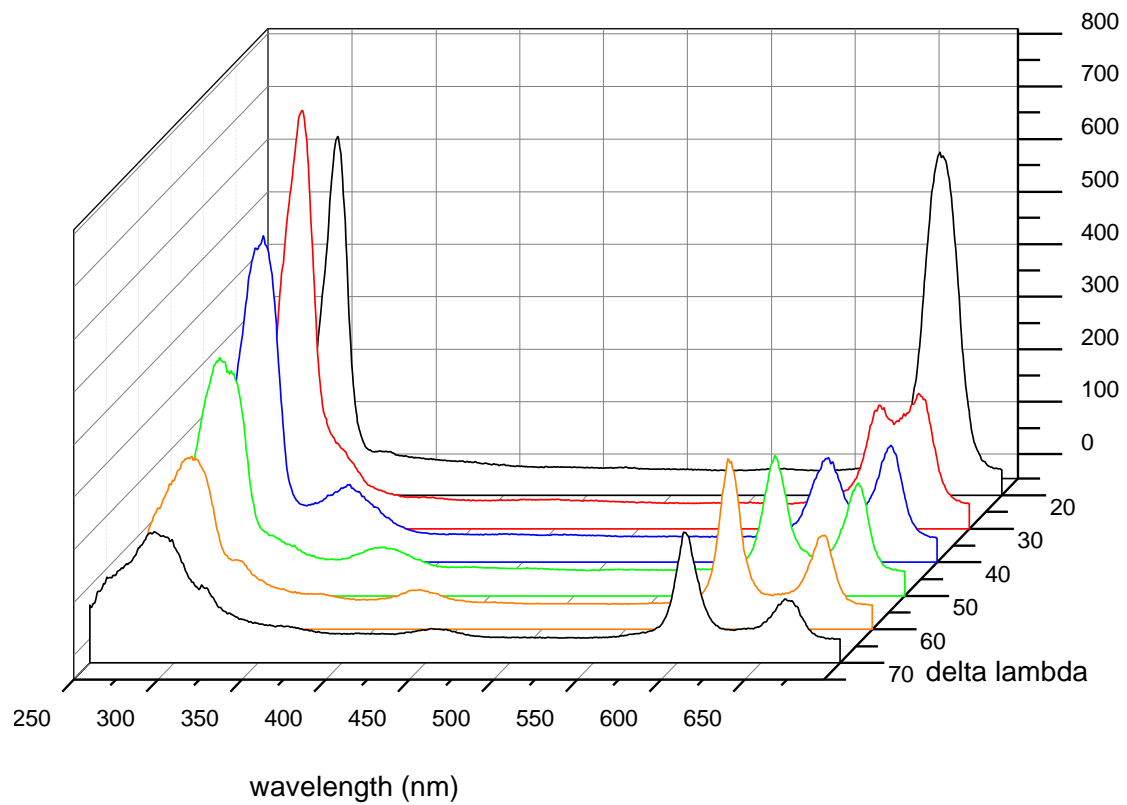
## **B. Φάσματα σύγχρονου φθορισμού ελαιολάδων από διάφορες περιοχές του νομού Μεσσηνίας.**

Παρακάτω παρουσιάζονται τα φάσματα σύγχρονου φθορισμού για τα ελαιόλαδα 4, 25, 28, 31, 35 και 40, από τις περιοχές Κάμπος, Διαβολίτσι, Χαροκοπιό, Αρτεμισία, Πεταλίδι και Φιλιατρά του νομού Μεσσηνίας. Τα φάσματα απεικονίζουν το φθορισμό για διαστήματα μήκους κύματος ( $\Delta\lambda$ ) 20, 30, 40, 50, 60 και 70 (Σχ. 9-14)

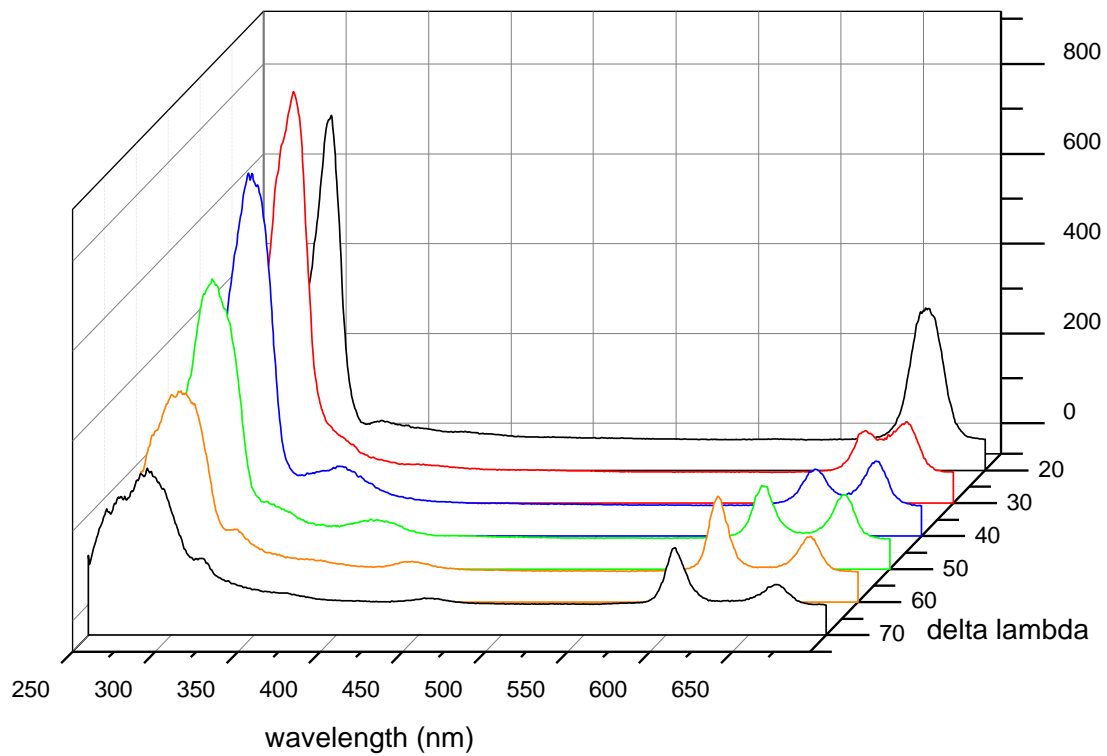


**Σχήμα 9:** Φάσματα σύγχρονου φθορισμού ελαιόλαδου 4 για διάφορα διαστήματα μήκους κύματος ( $\Delta\lambda$ )

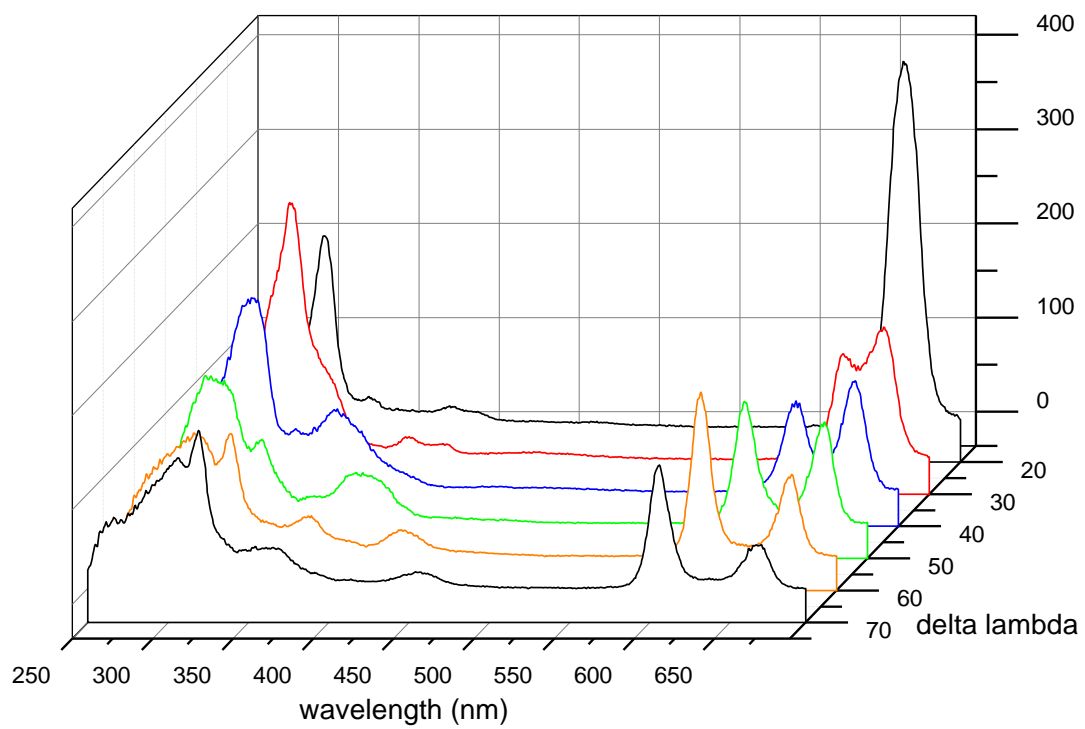




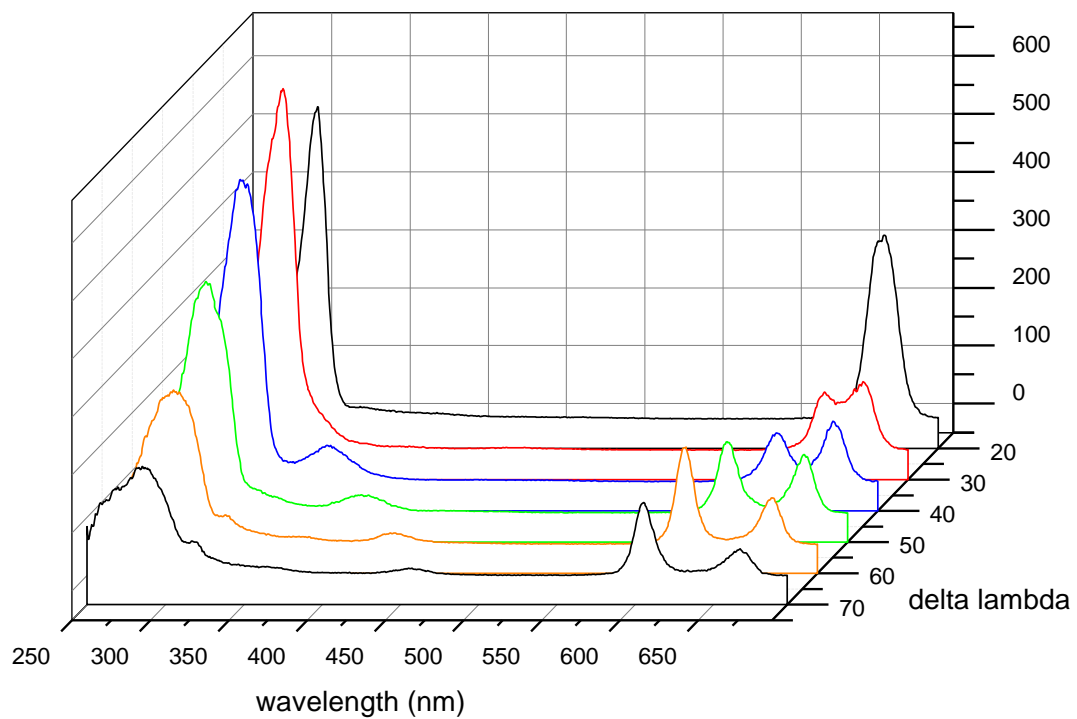
**Σχήμα 10:** Φάσματα σύγχρονου φθορισμού ελαιόλαδου 25 για διάφορα διαστήματα μήκους κύματος ( $\Delta\lambda$ )



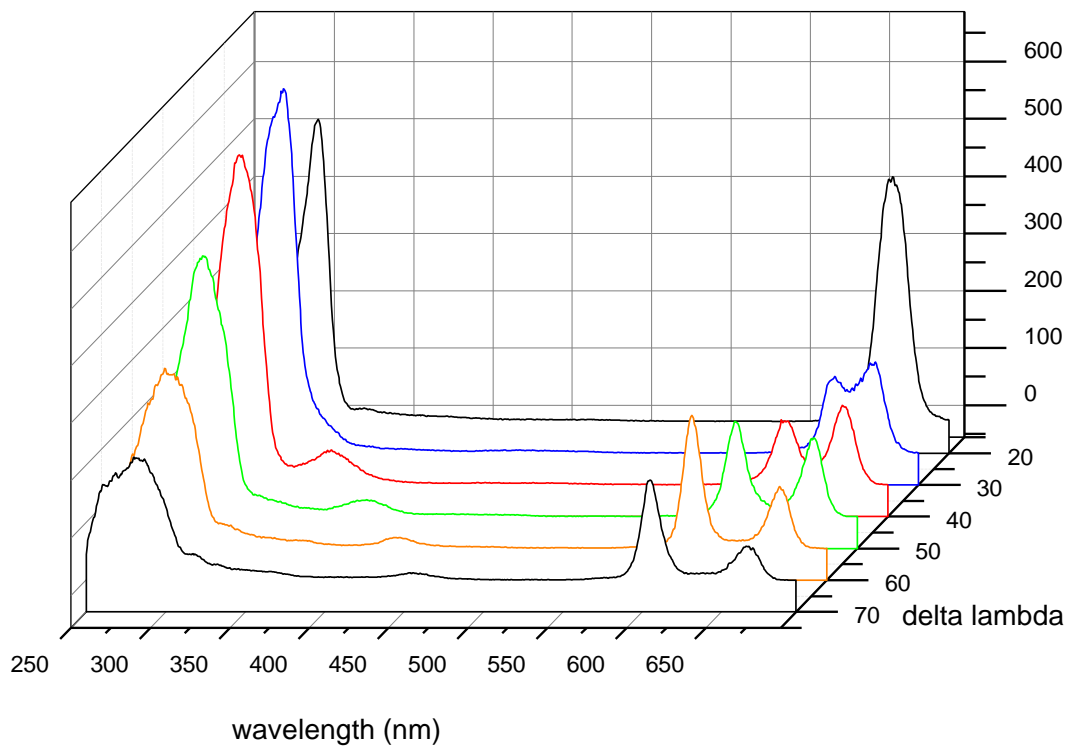
**Σχήμα 11:** Φάσματα σύγχρονου φθορισμού ελαιόλαδου 28 για διάφορα διαστήματα μήκους κύματος ( $\Delta\lambda$ )



Σχήμα 12: Φάσματα σύγχρονου φθορισμού ελαιόλαδου 31 για διάφορα διαστήματα μήκους κύματος ( $\Delta\lambda$ )

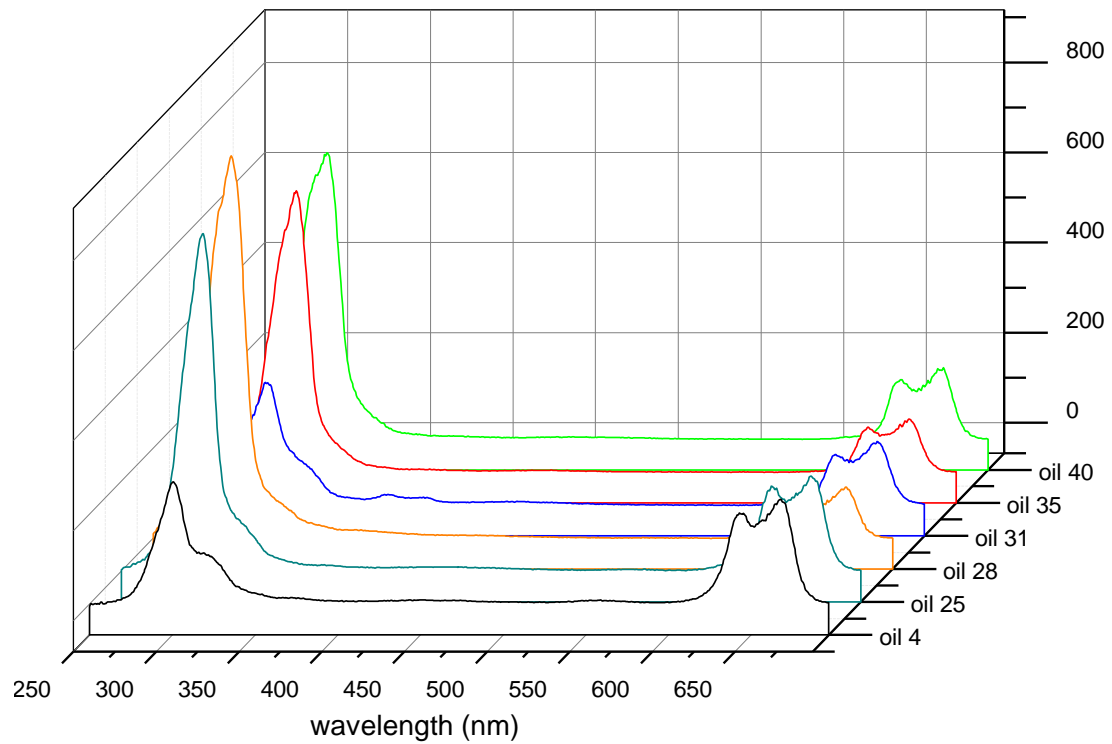


Σχήμα 13: Φάσματα σύγχρονου φθορισμού ελαιόλαδου 35 για διάφορα διαστήματα μήκους κύματος ( $\Delta\lambda$ )

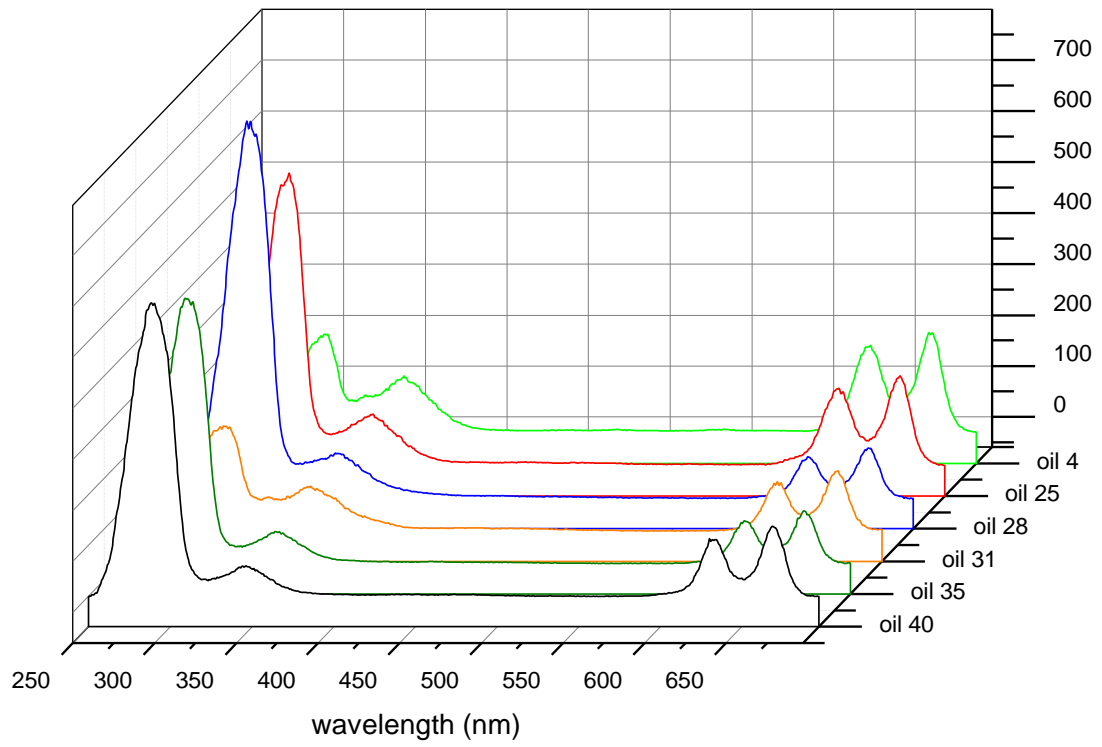


**Σχήμα 14: Φάσματα σύγχρονου φθορισμού ελαιόλαδου 40 για διάφορα διαστήματα μήκους κύματος ( $\Delta\lambda$ )**

Στη συνέχεια, συγκρίνονται τα ίδια ελαιόλαδα μεταξύ τους, για διάστημα μήκους κύματος  $\Delta\lambda=30$  nm (Σχ. 15) και  $\Delta\lambda=40$  nm (Σχ. 16).

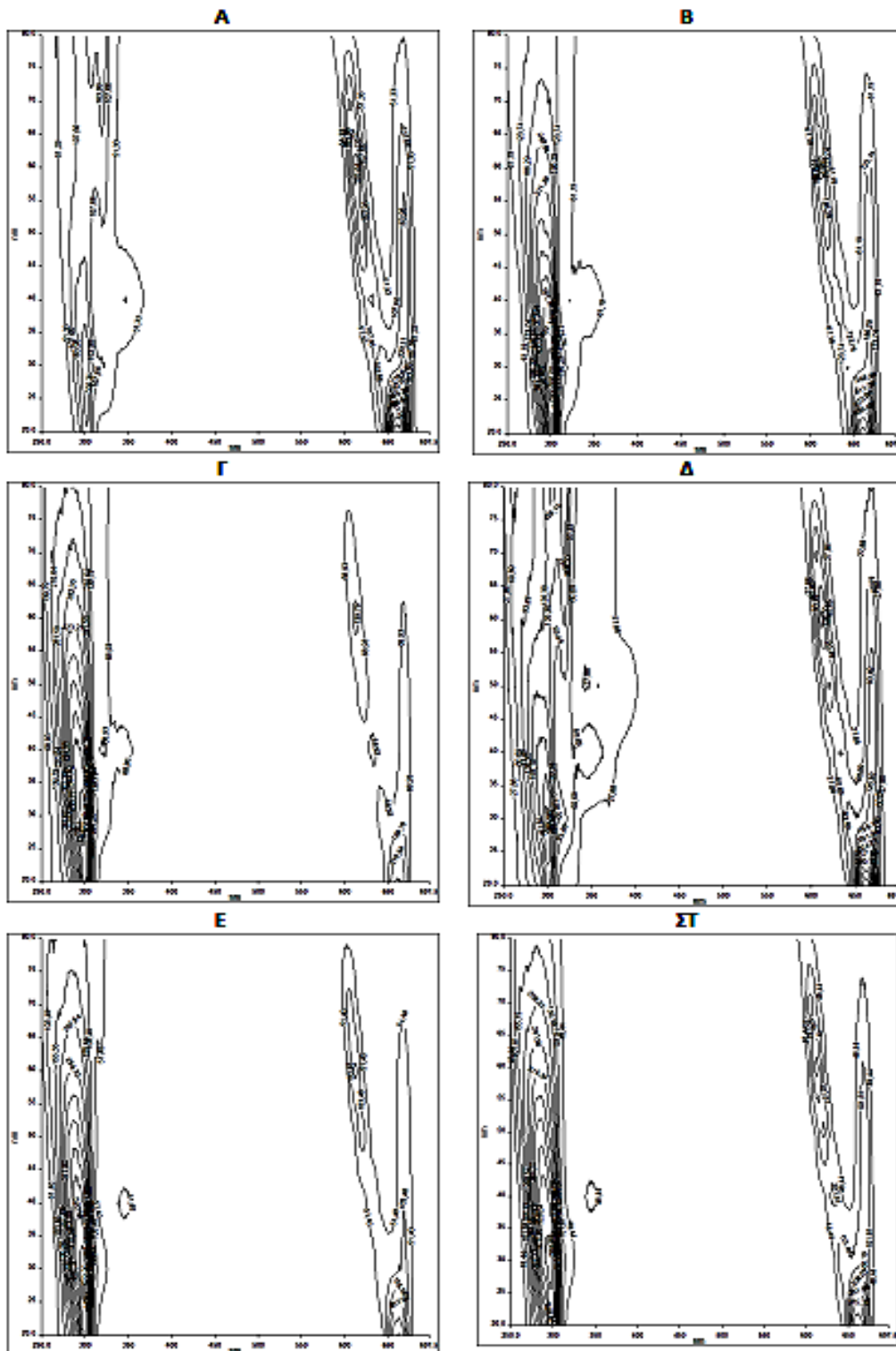


Σχήμα 15: Σύγκριση φασμάτων σύγχρονου φθορισμού των ελαιόλαδων 4, 25, 28, 31, 35 και 40 για  $\Delta\lambda=30$  nm



Σχήμα 16: Σύγκριση φασμάτων σύγχρονου φθορισμού των ελαιόλαδων 4, 25, 28, 31, 35 και 40 για  $\Delta\lambda=40$  nm

Ακολουθούν τα contour plots, που αντιστοιχούν στα φάσματα των ελαιολάδων 4, 25, 28, 31, 35 και 40 και απεικονίζουν την κάτοψη των φασμάτων σε συγκεκριμένο ύψος.



Σχήμα 17: Contour plots του ελαιολάδου 4 (Α), ελαιολάδου 25 (Β), ελαιολάδου 28 (Γ), ελαιολάδου 31 (Δ), ελαιολάδου 35 (Ε) και ελαιολάδου 40 (ΣΤ)

## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5. ΣΥΖΗΤΗΣΗ ΚΑΙ ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Τα φάσματα φθορισμού των ελαιολάδων παρέχουν πληροφορίες για τα φθοροφόρα (τοκοφερόλες, φαινολικές ενώσεις, και χλωροφύλλες) που είναι σημαντικά για την ποιότητα τους (Sikorska *et al.*, 2012). Λόγω της μοριακής τους δομής, που περιέχει διπλούς δεσμούς, οι τοκοφερόλες, τοκοτριενόλες και χλωροφύλλες είναι καλοί ανιχνευτές φθορισμού. Η περιεκτικότητα σε τοκοφερόλη και σε χλωροφύλλη είναι επίσης μια σημαντική παράμετρος ελέγχου της ποιότητας στη βιομηχανία βρώσιμων ελαίων (Sikorska *et al.*, 2004). Τα φάσματα αυτά μπορούν να χρησιμοποιηθούν είτε για την παρακολούθηση επιλεγμένων συστατικών ή για τον προσδιορισμό των γενικών χαρακτηριστικών του δείγματος και μπορεί να χρησιμεύσει ως φασματικό αποτύπωμα (Sikorska *et al.*, 2012).

Η φασματοσκοπία φθορισμού χρησιμοποιήθηκε για τον χαρακτηρισμό διαφόρων τύπων ελαίου και αποδείχθηκε ότι παρά τις γενικές ομοιότητες στα χαρακτηριστικά φθορισμού, τα διάφορα είδη των ελαίων παρουσιάζουν μοναδικές ιδιότητες εκπομπής, οι οποίες μπορεί να χρησιμεύουν ως δακτυλικά αποτυπώματα για την αναγνώριση και την πιστοποίηση τους (Sikorska *et al.*, 2005b).

Το είδος και η ποσότητα των χρωστικών ουσιών στα φυτικά έλαια εξαρτάται από το είδος, την ποικιλία, την κατάσταση ωριμότητας και τις αγρονομικές συνθήκες και υφίστανται σημαντικές αλλαγές κατά την αποθήκευση και την προετοιμασία των βρώσιμων ελαίων. Επομένως, τα χαρακτηριστικά φθορισμού των ελαίων δύνανται να χρησιμοποιηθούν για τον έλεγχο της ταυτότητας των προϊόντων αυτών, καθώς και την παρακολούθηση της ποιότητας τους (Sikorska *et al.*, 2004).

Μια μέθοδος ανάλυσης πολύπλοκων μιγμάτων, που δεν απαιτεί το διαχωρισμό τους, είναι εξαιρετικά χρήσιμη για τη βιομηχανία. Επιπλέον, η φασματοσκοπία φθορισμού παρέχει υψηλή ευαισθησία, απλότητα και επιλεκτικότητα, χαρακτηριστικά που είναι σημαντικά για τις χημικές αναλύσεις. Ωστόσο, η απόκτηση των contour plots, με χρήση συμβατικών φασματόμετρων φθορισμού, είναι χρονοβόρα καθώς απαιτεί μεγάλο αριθμό συμβατικών σαρώσεων εκπομπής για κάθε δείγμα. Η σύγχρονη σάρωση φθορισμού παρέχει τη δυνατότητα για το χαρακτηρισμό των διάφορων βρώσιμων ελαίων με μια ενιαία σάρωση. Το φάσμα ολικής φωταύγειας μπορεί να χρησιμοποιηθεί σαν ένα δακτυλικό αποτύπωμα του εκάστοτε ελαίου (Sikorska *et al.*, 2003).

Ωστόσο, η φασματοσκοπία φθορισμού δεν παρέχει πληροφορίες όσον αφορά τα μη-φθορίζοντα συστατικά, τα οποία αποτελούν και την πλειοψηφία των συστατικών των ελαίων. Επιπλέον, η εφαρμογή αυτής της τεχνικής για την αναγνώριση βασίζεται στην υπόθεση ότι διαφορετικά έλαια θα περιέχουν διαφορετικές συγκεντρώσεις των φθορίζόντων ενώσεων και διαφορετικές φθορίζουσες ενώσεις. Πρόσφατα αποτελέσματα έχουν δείξει ότι υπάρχουν

ορισμένες ομάδες φθοριζουσών ουσιών, σε φυτικά έλαια διαφορετικών προελεύσεων και υποβάλλονται σε διαφορετική επεξεργασία κατά τη διάρκεια του κύκλου παρασκευής (Sikorska *et al.*, 2004).

Η φασματοσκοπία διέγερσης-εκπομπής μπορεί να εφαρμοστεί άμεσα σε δείγματα ελαιολάδων για την απόκτηση πληροφοριών σχετικά με τα χαρακτηριστικά τους. Η χρήση του μοντέλου διέγερσης- εκπομπής είναι πιο επωφελής από την καταγραφή ενός ενιαίου φάσματος φθορισμού σε ένα μήκος κύματος διέγερσης, διότι λαμβάνονται περισσότερες πληροφορίες σχετικά με τις φθορίζουσες ουσίες, βελτιώνοντας τη διαφοροποίηση μεταξύ των τύπων ελαίου (Martí and Baldrich, 2005).

Από τα φάσματα που λήφθηκαν με τη σύγχρονη φασματοσκοπία φθορισμού, στα πλαίσια της παρούσας μελέτης, εξάγονται συμπεράσματα για τα διάφορα ελαιοάδα. Όσον αφορά τη σύγκριση των φασμάτων των ελαιολάδων 1, 15, 16, 33 και 34 από περιοχές της Πελοποννήσου και της Κρήτης, φαίνεται ότι για διαφορετικά διαστήματα μήκους κύματος Δλ παρατηρούνται αλλαγές στο σχήμα και το μέγεθος των καμπυλών. Σε όλα τα λάδια (Σχ. 1-5), η ένταση της εκπομπής των τοκοφερολών, που διακρίνεται στην περιοχή των 270 έως 320 nm, είναι πιο ισχυρή για Δλ 30 nm και 40 nm. Η εκπομπή των πολυφαινολών, κοντά στα 370 nm, διακρίνεται καλύτερα για Δλ= 40 nm. Ωστόσο, οι χλωροφύλλες και οι άλλες χρωστικές, που εκπέμπουν σε μήκη κύματος 600-680 nm περίπου, διαχωρίζονται καλύτερα για Δλ=40 nm ή μεγαλύτερο. Επομένως το Δλ επηρεάζει τη συμπεριφορά των ελαίων, διότι όλες οι ουσίες δεν φθορίζουν με την ίδια ένταση σε όλα τα μήκη κύματος. Ακόμη, παρατηρείται ότι όσο αυξάνεται το Δλ, οι καμπύλες μετατοπίζονται προς μεγαλύτερα μήκη κύματος.

Κατά τη σύγκριση όλων των φασμάτων για συγκεκριμένο Δλ (Σχ. 6 και 7), παρατηρούνται ομοιότητες στο σχήμα, αλλά διαφορές στην ένταση των καμπυλών, μεταξύ των διαφορετικών ελαιολάδων, ανάλογα με την προέλευση. Φαίνεται ότι, για διάστημα μήκους κύματος Δλ=40 nm η διάκριση είναι εμφανώς καλύτερη από ότι για Δλ=30 nm. Ακόμη, παρατηρώντας τα contour plots των φασμάτων (Σχ. 8), είναι ξεκάθαρο ότι κανένα ελαιοάδο δεν είναι ίδιο με κάποιο άλλο. Συγκεκριμένα στα contour plots, απεικονίζονται οι κορυφές των εκπομπών, λειτουργώντας ως δακτυλικά αποτυπώματα.

Παρόμοια συμπεράσματα εξάγονται και από τη σύγκριση των φασμάτων των ελαιολάδων 4, 25, 28, 31, 35 και 40 της Μεσσηνίας (Σχ. 9-14). Ωστόσο, ενδιαφέρον παρουσιάζει η πολύ χαμηλή ένταση της εκπομπής των τοκοφερολών στο φάσμα του ελαιολάδου 4 (Σχ. 9) και στο φάσμα του ελαιολάδου 31 (Σχ. 12). Τα contour plots και αυτών των φασμάτων (Σχ. 17) υποδεικνύουν ότι και τα ελαιοάδα της Μεσσηνίας παρουσιάζουν διαφορές μεταξύ τους, καθώς προέρχονται από διαφορετικές περιοχές.

Επομένως, η σύγχρονη φασματοσκοπία φθορισμού είναι μια υποσχόμενη τεχνική για τη διάκριση της προέλευσης των ελαιολάδων, και ειδικότερα, για την πιστοποίηση της αυθεντικότητας του ελαιολάδου προστατευόμενης ονομασίας προέλευσης (Π.Ο.Π)



Μεσσηνίας. Ωστόσο, για την καλύτερη διάκριση, είναι απαραίτητη η λήψη περισσότερων δεδομένων και η στατιστική ανάλυση.

## ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

Copyright Εθνικών και Καποδιστριακών Πανεπιστημίων Αθηνών, Νικόλαος Θωμαΐδης 2015. Νικόλαος Θωμαΐδης. «Ενόργανη Ανάλυση ΙΙ». Έκδοση: 1.0. Αθήνα 2015.

Διαθέσιμο στη δικτυακή διεύθυνση: <http://opencourses.uoa.gr/courses/CHEM104>

Κυριτσάκης Α. (2007). *Ελαιόλαδο. Συμβατικό & Βιολογικό. Βρώσιμη ελιά- Πάστα ελιάς*. 4<sup>η</sup> Έκδοση. Θεσσαλονίκη: Copy City. pp. 1-2, 15, 20, 45-46, 65-66, 71-72, 74-75, 77-78, 83, 85-87.

Aparicio R. and Aparicio-Ruiz R. (2000). Authentication of vegetable oils by chromatographic techniques. *Journal of Chromatography A*, 881, pp. 93-114.

Armanino C., Leardi R., Lanteri S. and Modi G. (1989). Chemometric analysis of Tuscan olive oils. *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems*, 5, pp. 343-354.

Cheikhousman R., Zude M., Bouveresse D. J. R., Le'ger C. L. Rutledge D. N. and Birlouez-Aragon I. (2005). Fluorescence spectroscopy for monitoring deterioration of extra virgin olive oil during heating. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 382, pp 1438-1443.

Christensen J., Norgaard L., Bro R. and Engelsen S. B. (2006). Multivariate Autofluorescence of Intact Food Systems. *Chemical Reviews*, 106 (6), pp. 1979-1994

Dupuy N. le Dreäau Y., Ollivier D., Artaud J., Pinatel C. and Kister J. (2005). Origin of French Virgin Olive Oil Registered Designation of Origins Predicted by Chemometric Analysis of Synchronous Excitation-Emission Fluorescence Spectra. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53, pp. 9361-9368.

Kiritsakis A.K. ed. (1998). Deterioration of olive oil. In: *Olive oil. From the tree to the table*. 2nd. ed. Trumbull: Food & Nutrition Press. pp. 155-190.

Kongbonga M Y. G, Ghalila H., Onana M. B., Majdi Y., Lakhdar Z. B., Mezlini H. and Sevestre-Ghalila S. (2011). Characterization of Vegetable Oils by Fluorescence Spectroscopy. *Food and Nutrition Sciences*, 2, pp. 692-699.

Kyriakidis N. B. and Skarkalis R. (2000). Fluorescence Spectra Measurement of Olive Oil and Other Vegetable Oils. *Journal of AOAC International*, 83, pp. 1435-1439.

Marini F., Balestrieri F., Bucci R., Magri A.D., Magri A.L. and Marini D. (2004). Supervised pattern recognition to authenticate Italian extra virgin olive oil varieties. *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems*, 73, pp. 85-93.

Lloyd J. B. F. (1971). Synchronized Excitation of Fluorescence Emission Spectra. *Nature (London) Physical Science*, 231, pp. 64-65

Martí R. B and Baldrich J. F. (2005). Olive oil characterization using excitation emission fluorescence spectroscopy and three-way methods of analysis. Tarragona, 2005. pp. 17-22, 33-42, 107-113, 197, 199

Patra D. and Mishra A.K. (2002). Recent developments in multi-component synchronous fluorescence scan analysis. *Trends in analytical chemistry*, 21, pp. 787-798.

Poulli K. I., Mousdis G. A. and Georgiou C. A. (2007). Rapid synchronous fluorescence method for virgin olive oil adulteration assessment. *Elsevier, Food Chemistry* 105, pp. 369-375.

Scott S. M., James D., Ali Z., O'Hare W. T. and Rowell F. J. (2003). Total luminescence spectroscopy with pattern recognition for classification of edible oils. *The Analyst*, 128 (7), pp. 966-973.

Sikorska E., Romaniuk A., Khmelinskii I., Sikorski M. and Koziol J. (2003). Characterization of edible oils using Synchronous Scanning Fluorescence Spectroscopy. *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences*, 12, pp. 108-112.

Διαθέσιμο στη δικτυακή διεύθυνση:

[http://journal.pan.olsztyn.pl/pdf/2003/2s/Pages%20from%20suppl2\\_2003-22.pdf](http://journal.pan.olsztyn.pl/pdf/2003/2s/Pages%20from%20suppl2_2003-22.pdf)

Sikorska E., Romaniuk A., Khmelinskii I. V., Herance R., Bourdelande J. V., Sikorski M. and Koziol J. (2004). Characterization of Edible Oils Using Total Luminescence Spectroscopy. *Journal of Fluorescence*, 14, pp. 25-35.

Sikorska E., Górecki T., Khmelinskii V., Sikorski M. and Koziół J. (2005a). Classification of edible oils using synchronous scanning fluorescence spectroscopy. *Elsevier, Food Chemistry* 89, pp. 217–225.

Sikorska E., Gliszczyńska-Świgło A., Khmelinskii I. and Sikorski M. (2005b). Synchronous Fluorescence Spectroscopy of Edible Vegetable Oils. Quantification of Tocopherols. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53, pp 6988–6994.

Sikorska E., Khmelinskii I. and Sikorski M. (2012). Analysis of Olive Oils by Fluorescence Spectroscopy: Methods and Applications. In: Boskou D. ed. *Olive Oil - Constituents, Quality, Health Properties and Bioconversions*. Croatia: INTECH. pp. 63-88.

Διαθέσιμο στη δικτυακή διεύθυνση: <http://www.intechopen.com/books/olive-oil-constituents-quality-health-properties-and-bioconversions/analysis-of-olive-oils-by-fluorescence-spectroscopy-methods-and-applications>

Zandomenighi M., Carbonaro L. and Caffarata C. (2005). Fluorescence of Vegetable Oils: Olive Oils. C. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53, pp. 759-766.