

ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΚΟ ΕΚΠΑΙΔΕΥΤΙΚΟ ΙΔΡΥΜΑ ΚΑΛΑΜΑΤΑΣ
ΤΜΗΜΑ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ

ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ
«ΜΕΛΕΤΗ ΟΞΕΙΔΩΣΗΣ ΕΛΑΙΟΛΑΔΟΥ ΜΕ
ΦΑΣΜΑΤΟΣΚΟΠΙΑ ΦΘΟΡΙΣΜΟΥ»



ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ : ΤΖΩΡΤΖΙΝΑ ΡΑΧΗ

ΕΠΙΒΛΕΨΗ: Ι. ΣΠΗΛΙΟΠΟΥΛΟΣ

ΚΑΛΑΜΑΤΑ 2016

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά, τον κύριο Ι. Σπηλιόπουλο, υπεύθυνο καθηγητή για την πτυχιακή μου εργασία, για την υπόδειξη του θέματος, την καθοδήγηση και τις συμβουλές του, κυρίως για την συγγραφή αυτής.

Τέλος θέλω να ευχαριστήσω τους γονείς μου για τη στήριξη των επιλογών μου και την υπομονή τους..

«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.

ΡΑΧΗ ΤΖΩΡΤΖΙΝΑ

Υπογραφή

..../09/2016

Ημερομηνία

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

		Σελ.
	ΠΕΡΙΛΗΨΗ	7
	ΛΕΞΕΙΣ ΚΛΕΙΔΙΑ	8
	ABSTRACT	9
	ΕΙΣΑΓΩΓΗ	10
ΚΕΦ		
1^ο.	ΕΛΑΙΟΔΕΝΤΡΟ	
1.1.	ΙΣΤΟΡΙΚΑ ΣΤΟΙΧΕΙΑ ΤΟΥ ΕΛΑΙΟΔΕΝΤΡΟΥ	11
1.2.	ΣΗΜΑΣΙΑ ΤΗΣ ΕΛΑΙΟΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑΣ ΣΤΗΝ ΕΛΛΑΔΑ	12
2^ο.	Ο ΚΑΡΠΟΣ ΤΗΣ ΕΛΙΑΣ	
2.1.	ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΤΟΥ ΕΛΑΙΟΚΑΡΠΟΥ	13
2.2.	ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΚΙ ΩΡΙΜΑΝΣΗ ΤΟΥ ΚΑΡΠΟΥ	13
2.3.	ΣΥΣΤΑΤΙΚΑ ΤΟΥ ΕΛΑΙΟΚΑΡΠΟΥ	14
2.3.1.	Ελαιόλαδο	15
2.3.2.	Νερό	15
2.3.3.	Πολυφαινόλες κι Ελευρωπαΐνη	15
2.3.4.	Σάκχαρα	16
2.3.5.	Πρωτεΐνες	16
2.3.6.	Βιταμίνες	16
2.3.7.	Άλλα συστατικά ελαιόκαρπου	16
2.4.	ΠΑΡΑΛΑΒΗ ΕΛΑΙΟΛΑΔΟΥ ΑΠΟ ΤΟΝ ΕΛΑΙΟΚΑΡΠΟ	17
3^ο.	ΕΛΑΙΟΛΑΔΟ	
3.1.	ΣΥΣΤΑΣΗ ΕΛΑΙΟΛΑΔΟΥ	18
3.1.1.	Σαπωνοποιήσιμο κλάσμα	19
3.1.2.	Ασαπωνοποίητο κλάσμα	20
3.2.	ΝΟΜΟΘΕΣΙΑ	25
3.3.	ΚΑΤΗΓΟΡΙΕΣ ΕΛΑΙΟΛΑΔΩΝ	28
3.3.1.	Παρθένα ελαιόλαδα	28
3.3.2.	Εξευγενισμένο (ραφινέ) ελαιόλαδο	29
3.3.3.	Ελαιόλαδο αποτελούμενο από εξευγενισμένα ελαιόλαδα και παρθένα ελαιόλαδα	29
3.3.4.	«Βιομηχανοποιήσιμο ελαιόλαδο» και «Βιομηχανικό ελαιόλαδο»	29

3.4.	ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ - ΚΡΙΤΗΡΙΑ ΠΟΙΟΤΗΤΑΣ ΕΛΑΙΟΛΑΔΩΝ	29
3.4.1.	Φυσικοχημικά χαρακτηριστικά ελαιολάδων	30
3.4.2.	Κριτήρια ποιότητας	35
	3.4.2.1. Οργανοληπτική αξιολόγηση παρθένων ελαιολάδων	35
	3.4.2.2. Οξύτητα	36
	3.4.2.3. Αριθμός υπεροξειδίων	37
	3.4.2.4. Φασματοφωτομετρική εξέταση στο υπεριώδες	38
3.4.3.	Κριτήρια Γνησιότητας	40
3.4.4.	Κριτήρια Επιμολύνσεων	40
4^ο.	ΟΞΕΙΔΩΣΗ ΕΛΑΙΩΝ	
4.1.	ΟΡΙΣΜΟΣ ΟΞΕΙΔΩΣΗΣ ΛΙΠΙΔΙΩΝ	41
4.2.	ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΣ ΟΞΕΙΔΩΣΗΣ ΛΙΠΙΔΙΩΝ	41
4.3.	ΜΕΘΟΔΟΙ ΜΕΤΡΗΣΗΣ ΤΗΣ ΟΞΕΙΔΩΣΗΣ ΤΩΝ ΛΙΠΙΔΙΩΝ	43
	4.3.1. Μέτρηση Απορρόφησης Οξυγόνου	43
	4.3.1.1. Αύξηση βάρους	43
	4.3.1.2. Μέθοδος πρόσληψης οξυγόνου του υπερκείμενου χώρου /Headspace Oxygen Uptake	44
	4.3.2. Μέτρηση αλλαγής Αντιδρώντων	44
	4.3.3. Μέτρηση των Πρωτογενών Προϊόντων οξείδωσης	45
	4.3.3.1. Δείκτης υπεροξειδίων / Peroxide Value (PV)	45
	4.3.3.1.α. Ιωδομετρική Τιτλοδότηση	45
	4.3.3.1.β. Σύμπλοκα Ιόντων Σιδήρου/ Ferric Ion Complexes (FOX)	46
	4.3.3.1.γ. Κατά Fourier μέθοδος μετασχη- ματισμού υπερύθρης Φασματοσκοπία (FTIR)	47
	4.3.3.2. Μέτρηση των συζυγών Διενίων και Τριενίων	48
	4.3.4. Μέτρηση των Δευτερογενών Προϊόντων Οξείδωσης	48
	4.3.4.1. Ανάλυση θειο- βαρβιτουρικού οξέος (TBA)	49
	4.3.4.2. Τιμή p - ανισιδίνης (p - AnV)	50
	4.3.4.3. Τιμή ΤΟΤΟΧ	50
	4.3.4.4. Καρβονύλια	51
	4.3.4.5. Δείκτης σταθερότητας ελαιολάδου / Oil Stability Index (OSI)	52
	4.3.4.6. Υδρογονάνθρακες και μέθοδος φθορισμού	54
	4.3.5. Μέτρηση των Ελευθέρων Ριζών	54
	4.3.6. Άλλες μέθοδοι	56
	4.3.6.1. Θερμιδομετρία Διαφορικής Σάρωσης / Differential Scanning Calorimetry (DSC)	56
	4.3.6.2. Φασματοσκοπία Πυρηνικού Μαγνητικού Συντονισμού / Nuclear Magnetic Resonance (NMR) Spectroscopy	56

	4.3.6.3. Οργανοληπτική αξιολόγηση	57
4.4.	Συμπέρασμα	57
5 ^ο .	ΦΑΣΜΑΤΟΣΚΟΠΙΑ ΦΘΟΡΙΣΜΟΥ (φωταύγεια)	
5.1.	ΓΕΝΙΚΑ	58
5.2.	ΘΕΩΡΙΑ ΤΟΥ ΦΘΟΡΙΣΜΟΥ ΚΑΙ ΤΟΥ ΦΩΣΦΟΡΙΣΜΟΥ	58
5.2.1.	Διεγερμένες καταστάσεις που παράγουν Φθορισμό ή Φωσφορισμό	58
5.2.2.	Ενεργειακά διαγράμματα μορίων που εμφανίζουν φωταύγεια	59
5.2.3.	Μηχανισμοί Αποδιέργησης	60
5.2.4.	Παράμετροι που επηρεάζουν τον Φθορισμό και τον Φωσφορισμό	61
	5.2.4.i. Κβαντική απόδοση	61
	5.2.4.ii. Επίδραση δομής στο φθορισμό	62
	5.2.4.iii. Επίδραση δομικής ακαμψίας	62
	5.2.4.iv. Επίδραση της θερμοκρασίας και του διαλύτη	62
	5.2.4.v. Επίδραση pH	62
	5.2.4.vi. Επίδραση του διαλυμένου οξυγόνου	62
	5.2.4.vii. Επίδραση της συγκέντρωσης	63
5.2.5.	Οργανολογία	63
	5.2.5.1. Φθορισμόμετρο - Φασματοφθορισμόμετρο	63
	5.2.5.2. Διαφορές Φθορισμομέτρου - Φασματοφθορισμομέτρου	64
5.2.6.	Εφαρμογές Φθορισμομετρίας	64
	5.2.6.1. Χαρακτηριστικά των μεθόδων Φωταύγεια	64
	5.2.6.2. Φθορισμομετρικός προσδιορισμός Ανόργανων ενώσεων	65
	5.2.6.3. Φθορισμομετρικός προσδιορισμός Οργανικών ενώσεων	66
5.3.	ΕΦΑΡΜΟΓΕΣ ΣΤΗΝ ΜΕΛΕΤΗ ΤΩΝ ΕΛΑΙΟΛΑΔΩΝ	66
5.3.1.	Γενικά	66
5.3.2.	Εφαρμογή στην ταυτοποίηση του ελαιόλαδου κι άλλων ελαίων	66
5.3.3.	Εφαρμογή στον έλεγχο της νοθείας των ελαιολάδων με άλλα φυτικά έλαια	68
5.3.4.	Εφαρμογή στην μέτρηση της υποβάθμισης των ελαιολάδων, λόγω οξειδωσης	70
5.4.	ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ ΤΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ ΤΗΣ ΟΞΕΙΔΩΣΗΣ ΤΟΥ ΕΛΑΙΟΛΑΔΟΥ ΜΕ ΦΑΣΜΑΤΟ-ΣΚΟΠΙΑ ΦΘΟΡΙΣΜΟΥ	71
5.4.1.	Σκοπός και περιεχόμενο του πειράματος	71
5.4.2.	Πειραματικό μέρος	72
	5.4.2.1. Προετοιμασία	72

	5.4.2.2. Ογκομέτρηση / Προδιορισμός Peroxide value	72
	5.4.2.3. Τιμή ανισιδίνης/ANISIDINE VALUES	73
	5.4.2.4. Φασματοσκοπία φθορισμού	74
5.4.3.	Αποτελέσματα	75
	5.4.3.1. Αριθμός υπεροξειδίων	75
	5.4.3.2. Τιμή Ανισιδίνης	76
	5.4.3.3. Αποτελέσματα Φθοροσίμετρου	78
	5.4.3.3.α. Φάσματα ολικού φθορισμού με διέγερση στα 350 nm για διάφορους χρόνους θέρμανσης στους 120° C	78
	5.4.3.3.β. Φάσματα σύγχρονου φθορισμού για διάφορα Δλ, χωρίς θέρμανση και για διάφορους χρόνους θέρμανσης στους 120oC	81
	5.4.3.3.γ. Contour plots	91
5.4.4.	Συμπέρασμα	95
	Βιβλιογραφία	97

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Στην μελέτη που ακολουθεί ερευνήθηκε η οξειδωτική αλλοίωση του ελαιολάδου με την βοήθεια της φασματοσκοπίας φθορισμού και του προσδιορισμού Peroxide Values . Τα έλαια που μελετήθηκαν ήταν εξαιρετικά παρθένα ελαιόλαδα που κυκλοφορούν στο εμπόριο, στο τέλος του χρόνου ζωής τους . Πραγματοποιήθηκαν συνολικά τρία πειραματικά μέρη: αριθμός υπεροξειδίων, τιμή ανισιδίνης και σύγχρονη φασματοσκοπία φθορισμού, για καθένα από τα τέσσερα ελαιόλαδα, τα οποία είχαν υποστεί θερμική επεξεργασία 0,2,4 και 6 ωρών στους 120° C.

Η αξιολόγηση των αποτελεσμάτων και των τριών πειραματικών μερών, έδωσε σαφές το συμπέρασμα της επιτάχυνσης της οξείδωσής τους με την πάροδο του χρόνου θέρμανσής τους.

ΛΕΞΕΙΣ ΚΛΕΙΔΙΑ

Φυτικά έλαια, Ελαιόλαδο, Εξαιρετικά παρθένο ελαιόλαδο, Οξείδωση, Ανάλυση ελαιολάδου , φασματοσκοπία φθορισμού, σύγχρονη (synchronous) φασματοσκοπία φθορισμού , total luminescence spectroscopy.

ABSTRACT

The following study investigates the oxidative degradation of the oil with the use of fluorescence spectroscopy and identification of Peroxide Values. The samples that were tested were extra virgin olive oils at the end of their known shelf life. Three experiment stages were performed: peroxide value, anicidine value and fluorescence spectroscopy , in each sample during the 0,2,4 and 6 hours of heat treatment at 120° C.

The evaluation of all 3 experiment stages has given the clear conclusion of the acceleration of their oxidation during their thermal treatment.

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Το ελαιόλαδο λόγω των ιδιαίτερων οργανοληπτικών και θρεπτικών ιδιοτήτων του, σε συνδυασμό με το κόστος παραγωγής του, δημιουργεί ένα δυναμικό και ανταγωνιστικό εμπορικό τομέα, που αποδίδει σχετικά υψηλές τιμές σε σχέση με τις περισσότερες άλλες φυτικές λιπαρές ουσίες.

Ως εκ τούτου, η παρακολούθηση των ποιοτικών του χαρακτηριστικών, καθώς και της γνησιότητάς του, είναι ένα θέμα που απασχόλησε και απασχολεί όχι μόνο την κοινότητα των παραγωγών, αλλά και το εμπόριο.

Γι αυτό και τα χαρακτηριστικά του ελαιολάδου που σχετίζονται με τα ποιοτικά κριτήρια και κριτήρια γνησιότητας, καθώς και οι μέθοδοι ελέγχου, αποτελούν αντικείμενο συνεχούς μελέτης κι εξέλιξης.

Στο παρόν με την χρήση τριών πειραματικών μερών: αριθμός υπεροξειδίων, τιμή ανισιδίνης και σύγχρονη φασματοσκοπία φθορισμού, σε τέσσερα ελαιόλαδα στο τέλος του χρόνου ζωής τους, τα οποία είχαν υποστεί θερμική επεξεργασία 0,2,4 και 6 ωρών στους 120° C, μελετήθηκε κι επιβεβαιώθηκε η επιτάχυνση της οξειδωσής τους με την πάροδο του χρόνου θέρμανσής τους.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1°. ΕΛΑΙΟΔΕΝΤΡΟ

1.1. ΙΣΤΟΡΙΚΑ ΣΤΟΙΧΕΙΑ ΤΟΥ ΕΛΑΙΟΔΕΝΤΡΟΥ

Η ελιά είναι ένα από τα αρχαιότερα καλλιεργούμενα δένδρα στον κόσμο, καθώς η καλλιέργειά της χρονολογείται γύρω στο 6.000 π.Χ. (Ήπειρος), όπως διαπιστώθηκε με την συμβολή της Παλαιοντοβοτανικής και την καταγραφή γυρεοκόκκων ελιάς από την νεολιθική εποχή (Ψιλάκη Μ. *et al.*, 1999α).

Η ιστορία της ελιάς αρχίζει πριν από την επινόηση της γραφής. Θεωρείται από τους ιστορικούς ότι προέρχεται από τις περιοχές της Συρίας και της Μικράς Ασίας κι από εκεί εξαπλώθηκε σε όλη τη λεκάνη της Μεσογείου, την Ελλάδα, τα βόρεια παράλια της Αφρικής, την Ισπανία και την Τουρκία. Σύμφωνα με άλλες μαρτυρίες, η ελιά προέρχεται από την Αφρική (Αίγυπτο-Αβησσυνία) και από εκεί διαδόθηκε στην Κύπρο και τα βόρεια παράλια της Αφρικής, από τους Φοίνικες, που πιθανώς την μετέφεραν και στα Ελληνικά νησιά. Πηγές από την Αιγυπτιακή βιβλιογραφία, αλλά κι ανεύρεση καρπών ελιάς σε αιγυπτιακούς τάφους (από το 2.000 π.Χ.), μαρτυρούν την καλλιέργειά της στην Αίγυπτο. Ανεξάρτητα από την προέλευση και τον τρόπο διάδοσής της είναι γεγονός ότι η καλλιέργειά της εξαπλώθηκε σε μεγάλη έκταση στην Ευρωπαϊκή ήπειρο και για τον λόγο αυτό ονομάζεται "Ελιά η Ευρωπαϊκή" (*Olea europaea*) (Κυριτσάκης Α., 2007α).

Η ιστορία αναφέρει ότι η εισαγωγή της ελιάς στην αρχαία Ελλάδα έγινε από την Αίγυπτο με πρωτοβουλία του μυθικού βασιλιά Κέκροπα. Πολλοί συγγραφείς, όπως ο Πλίνιος, ο Ηρόδοτος, ο Αισχύλος, έχουν αναφερθεί την καλλιέργεια της ελιάς στην αρχαία Ελλάδα, συνδέοντας και το δέντρο και τα προϊόντα της με όλες τις πτυχές της καθημερινής ζωής των αρχαίων Ελλήνων, όπως η διατροφή, η θρησκεία, ο διάκοσμος. Η ελιά αποτελούσε γι' αυτούς σύμβολο ειρήνης, σοφίας και νίκης. Σύμφωνα με την αρχαία ελληνική παράδοση, πατρίδα της ελιάς είναι η Αθήνα και η πρώτη ελιά φυτεύτηκε από την Αθηνά στην Ακρόπολη. (Ψιλάκη Μ. *et al.*, 1999β). Σημαντικά ευρήματα επιβεβαιώνουν ότι καλλιεργήθηκε στην Κρήτη από την Μινωική εποχή και ίσως αποτελούσε την πηγή πλούτου του Μινωικού πολιτισμού (3.500π.Χ.-1.000π.Χ.) (Κυριτσάκης Α., 2007β), αλλά και του Μυκηναϊκού πολιτισμού (Θερίος Ι., 2005), (Σαρπάκη Α. *et al*, 2006).

Κατά την περίοδο των Ισπανικών κατακτήσεων, ιεραπόστολοι μετέφεραν το αμπέλι και την ελιά στην Καλιφόρνια, μετά την ανακάλυψή της Αμερικής το 1492, για τροφή αλλά και για τελετουργική χρήση. Στους περασμένους αιώνες, η καλλιέργεια της ελιάς έχει εξαπλωθεί στη Βόρεια και Νότια Αμερική, στην Ιαπωνία, τη Ν. Ζηλανδία και την Αυστραλία.

Η χρήση του ελαιολάδου είναι γνωστή σε πολλές θρησκείες και πολιτισμούς. Χρησιμοποιείται πολλές φορές κατά τη διάρκεια θρησκευτικών τελετών, όπως π.χ. στο μυστήριο της βάπτισης ή στο να αλείφονται οι νεκροί σε πολλούς πολιτισμούς. Το ελαιόλαδο χρησιμοποιήθηκε επίσης για να χριστούν οι νέοι βασιλείς των Ελλήνων και των Ιουδαίων. Επίσης, ενώ οι Έλληνες στεφάνωναν τους νικητές των αγώνων με κλαδιά ελιάς.

1.2. ΣΗΜΑΣΙΑ ΤΗΣ ΕΛΑΙΟΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑΣ ΣΤΗΝ ΕΛΛΑΔΑ

Η ελαιοκαλλιέργεια αποτελεί μια από τις πιο παραδοσιακές και περισσότερο διαδεδομένες γεωργικές καλλιέργειες στην Ελλάδα, δεδομένου ότι το οικολογικό περιβάλλον της χώρας μας είναι άριστο για την καλλιέργεια της ελιάς, ειδικά στις παραθαλάσσιες περιοχές της ηπειρωτικής Ελλάδας και στα νησιά. Η ελαιοκαλλιέργεια έχει πολύ μεγάλη κοινωνική και οικονομική σημασία, αφού αποδίδει εισόδημα σε πολλές αγροτικές οικογένειες, συμβάλλει στην καλύτερη αξιοποίηση ορισμένων φτωχών κατηγοριών εδάφους, καθώς και στη διατήρηση μιας έστω ελάχιστης γεωργικής δραστηριότητας σε πολλές άγονες περιοχές της χώρας, πράγμα που συντελεί στη συγκράτηση μέρους του πληθυσμού σ' αυτές (Κυριτσάκης Α., 2007γ).

Το ελαιόλαδο αποτελεί σημαντικό κομμάτι της ελληνικής οικονομίας καθώς καλύπτει το 9% της αξίας αγροτικής παραγωγής στην Ελλάδα (έναντι 1% στην Ευρώπη). Η Ελλάδα είναι η τρίτη μεγαλύτερη παραγωγός ελαιολάδου παγκοσμίως μετά την Ισπανία και την Ιταλία, (Iconomou D. *et al.*, 2010), με παραγωγή της τάξης των 0,3 εκατ. Τόνων (ΕΤΕ, Μάιος 2015). Κατά τη διάρκεια των τελευταίων 57 ετών, η παγκόσμια παραγωγή ελαιολάδου έχει σχεδόν τριπλασιαστεί από το 1 εκατομμύριο τόνους το 1958/59 σε περίπου 3 εκατομμύρια τόνους το 2015/16 (<http://www.olivenews.gr/el/article/7059/οδοιπορικό/57>)

Παγκοσμίως καλλιεργούνται περισσότερα από 750 εκατομμύρια ελαιόδεντρα, με το 95% αυτών στις Μεσογειακές χώρες. Η μεγαλύτερη παραγωγή ελαιολάδου προέρχεται από τη νότια Ευρώπη, τη βόρειο Αφρική και την Εγγύς Ανατολή. Από την Ευρωπαϊκή παραγωγή, το 93% προέρχεται από την Ισπανία, την Ιταλία και την Ελλάδα (<http://www.prosodol.gr/?q=el/node/204>)

Το ελαιόλαδο πλέον, αποτελεί σημαντικό κομμάτι στη διατροφή των Μεσογειακών λαών (Ferro-Luzzi A. *et al.*, 1989) και για το λόγο αυτό η κατανάλωσή του αυξάνεται ραγδαία στις υπόλοιπες χώρες όπως στις ΗΠΑ, Καναδά, Ιαπωνία και Αυστραλία (Boskou D., 1996). Σύμφωνα με τις τελευταίες εκτιμήσεις του Υπουργείου Γεωργίας των ΗΠΑ (USDA) η παγκόσμια παραγωγή ελαιολάδου θα αγγίξει τους 2.880.000 τόνους το 2015/16, λίγο παραπάνω από τους 2.440.000 τόνους του 2014/15, θα σημειώσει δηλαδή αύξηση 18% . Για την παραγωγή της ΕΕ εκτιμά ότι αυτή θα φτάσει τους 2.100.000 τόνους (+35,4%). (<http://www.olivenews.gr/el/article/7219,β>).

Η Ελλάδα είναι μεν η τρίτη μεγαλύτερη ελαιοπαραγωγός χώρα στον κόσμο, μετά την Ιταλία και την Ισπανία , αλλά με κριτήριο την ποιότητα όμως, η Ελλάδα κατατάσσεται πρώτη στον κόσμο, καθώς σύμφωνα με στοιχεία του Συνδέσμου Ελληνικών Βιομηχανιών Τυποποίησης Ελαιολάδου (Σ.Ε.ΒΙ.Τ.ΕΛ.), πάνω από το 70% της Ελληνικής παραγωγής ελαιολάδου είναι εξαιρετικά παρθένο ελαιόλαδο. Σήμερα στην Ελλάδα στις εξαγωγές υπερτερεί το χύμα ελαιόλαδο (αντιστοιχεί σε ποσοστό 90% των συνολικών εξαγωγών ελαιολάδου της χώρας).

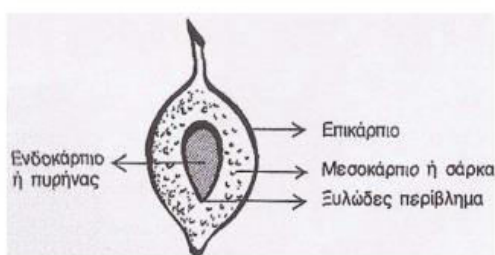
Σύμφωνα με τα νέα του δεδομένα που έχει στη διάθεσή του το Σ.Ε.ΒΙ.Τ.ΕΛ., η παραγωγή ελαιολάδου το 2015/2016 για την Ελλάδα εκτιμάται θα κυμανθεί στους 250.000 με 260.000 τόνους, σε αντίθεση με την καταστροφική σεζόν 2013/2014 όπου δεν ξεπέρασε τους 120.000 με 130.000 τόνους.¹ (<http://www.sevitel.gr/node/52>).

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2°. Ο ΚΑΡΠΟΣ ΤΗΣ ΕΛΙΑΣ

2.1. ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΤΟΥ ΕΛΑΙΟΚΑΡΠΟΥ

Τα χαρακτηριστικά του καρπού, όπως δηλαδή είναι το χρώμα, το σχήμα, ο βαθμός ανάπτυξης, παρουσιάζουν μια μεγάλη ποικιλία, η οποία έχει άμεση σχέση με το περιβάλλον, την προέλευση και το βάρος του καρπού, που κυμαίνεται από 1-8 γραμμάρια. Η απόδοση των καρπών σε ελαιόλαδο, καθώς και η ποιότητά του, εξαρτάται από την ποικιλία των ελαιόδεντρων και τις συνθήκες καλλιέργειας.

Ο καρπός του δέντρου της ελιάς έχει σχήμα ωσειδές και αποτελείται από τρία μέρη: στο επικάρπιο, στο μεσοκάρπιο και στο ενδοκάρπιο (σχήμα 2.1) (Κυριτσάκης Α., 2007,δ).



Σχήμα 2.1: Μέρη ελαιοκάρπου (Κυριτσάκης Α., 2007)

2.2. ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΚΙ ΩΡΙΜΑΝΣΗ ΤΟΥ ΚΑΡΠΟΥ

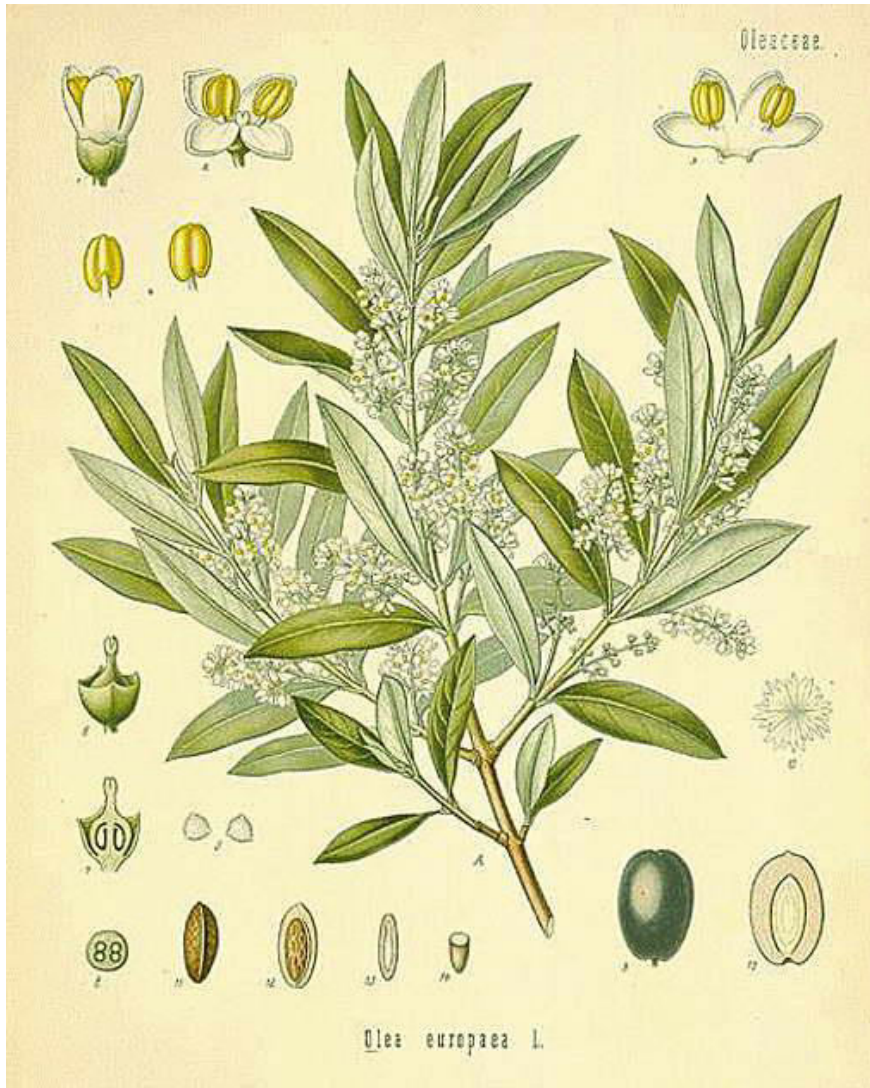
Ο ελαιόκαρπος αρχίζει να σχηματίζεται μετά τη γονιμοποίηση των ανθέων (Εικόνα 2.2.), αλλά ωριμάζει από το φθινόπωρο μέχρι το χειμώνα. Το πρώτο μέρος το οποίο αναπτύσσεται στον καρπό είναι ο πυρήνας (ενδοκάρπιο) κι ακολουθεί με γρήγορο ρυθμό η ανάπτυξη της σάρκας. Γενικά, η διαμόρφωση όλων των τμημάτων του καρπού (μεσοκάρπιο, ενδοκάρπιο) πραγματοποιείται από το Μάιο μέχρι και το δεύτερο δεκαήμερο του Ιουλίου ή και λίγο αργότερα.

Όταν το ενδοκάρπιο ολοκληρώσει την ανάπτυξή του, αρχίζει η ανάπτυξη του μεσοκαρπίου, που ολοκληρώνεται το φθινόπωρο ή το χειμώνα. Κατά τη διάρκεια της αύξησης του καρπού η περιεκτικότητα σε άζωτο αυξάνεται στο σάρκωμα και ελαττώνεται στο ξυλώδες επικάρπιο. Ο καρπός αρχίζει να ωριμάζει τον Οκτώβρη, όπου και γίνεται η συγκομιδή, αν η παραγωγή προορίζεται για βρώση. Σιγά σιγά οι ελιές αρχίζουν να μαυρίζουν μέχρι το Δεκέμβρη όπου και συλλέγονται αν πρόκειται να καταναλωθούν σαν αλατισμένες ή μαύρες τουρσί ή να σταλούν για παραγωγή ελαιόλαδου (Κυριτσάκης Α., 2007,ε).

Οι ποικιλίες ελιάς που προορίζονται στην παραγωγή του λαδιού, είναι μεσαίου μεγέθους και περιέχουν περισσότερο λάδι και λιγότερα σάκχαρα, σε αντίθεση με τις επιτραπέζιες ελιές, συνήθως μεγαλύτερου μεγέθους.

Ο ρυθμός ανάπτυξης του ελαιόδεντρου, η πορεία και ο χρόνος ωρίμανσης επηρεάζονται από διάφορους παράγοντες (Σφακιωτάκης Ε., 1987), οι κυριότεροι από τους οποίους είναι:

1. Η ηλικία του ελαιόδεντρου
2. Η ποικιλία
3. Η υγιεινή κατάσταση του ελαιόδεντρου
4. Οικολογικοί παράγοντες : η υγρασία , η θερμοκρασία ,το φως ,οι άνεμοι , η δροσιά, το χιόνι και η πάχνη, η επίδραση της φυσικής και χημικής σύστασης του εδάφους.



Εικόνα 2.1.: Φύλλα, άνθη, καρπός *Olea europaea*

2.3. ΣΥΣΤΑΤΙΚΑ ΤΟΥ ΕΛΑΙΟΚΑΡΠΟΥ

Τα κύρια συστατικά της σάρκας της ελιάς είναι: , το νερό, το ελαιόλαδο, τα σάκχαρα, οι πρωτεΐνες, τα κόμμεα-ρητίνες, τα οργανικά οξέα, οι ταννίνες, η ελευρωπαΐνη, τα ανόργανα συστατικά , κ.ά., τα κυριότερα των οποίων αναφέρονται αναλυτικά στις επόμενες παραγράφους (Κυριτσάκης Α., 2007,στ).

2.3.1. Ελαιόλαδο

Το ελαιόλαδο λάδι αντιπροσωπεύει το 17% - 35% του βάρους της νωπής ελιάς κι επηρεάζει την συνεκτικότητα του καρπού. Ο σχηματισμός του αρχίζει μετά τα μέσα Ιουλίου. Από το 2^ο δεκαήμερο του Ιουλίου και μετά αρχίζει βαθμιαία η αύξηση των ελαιοσταγονιδίων, τόσο στην σάρκα, όσο και στον πυρήνα. Η σύνθεση του ελαιολάδου περιγράφεται στην παράγραφο 3.1. του 3^{ου} κεφαλαίου.

2.3.2. Νερό

Ένα από τα κύρια συστατικά του ελαιόκαρπου, που αντιπροσωπεύει το 70% του βάρους της ελιάς. Η ποσότητα του νερού στο νωπό ελαιόκαρπο έχει ιδιαίτερη σημασία, γιατί επηρεάζει σημαντικά το σχήμα του : το σχήμα του είναι κανονικό όταν τα κύτταρα βρίσκονται σε πλήρη σπαργή και συρρικνώνεται όταν το ποσοστό του νερού είναι λιγότερο.

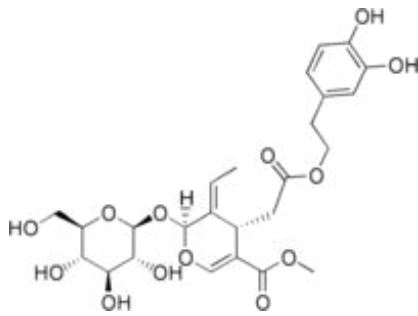
Μετά από μελέτες ανακάλυψαν για τη σχέση νερού – λαδιού στον ελαιόκαρπο : όσο αυξάνεται η ελαιοπεριεκτικότητα, τόσο ελαττώνεται η περιεκτικότητα του νερού (Ποντίκης Κ., 2000).

Μέσα στο νερό του κυτταρικού χυμού βρίσκονται διαλυμένα τα σάκχαρα, οι πολυφαινόλες/η ελευρωπαΐνη, τα οργανικά οξέα, οι ταννίνες κι άλλα συστατικά. Η ποσότητα του νερού που περιέχεται στον ελαιόκαρπο εξαρτάται από το στάδιο ανάπτυξής του, την ποικιλία και τις συνθήκες οι οποίες επικρατούν κατά την ωρίμανση.

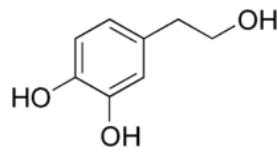
2.3.3. Πολυφαινόλες κι Ελευρωπαΐνη

Η συγκέντρωση πολυφαινολών στις επιτραπέζιες ελιές είναι υψηλή, φθάνοντας μέχρι 6% στην ξηρά ουσία και είναι εμφανώς υψηλότερη από ότι στο ελαιόλαδο. Οι πιο άφθονες πολυφαινόλες στην πρώτη ύλη είναι η ελευρωπαΐνη (σχήμα 2.2.) και η υδροξυτυροσόλη (σχήμα 2.3.) και τα παράγωγά τους, η οξική υδροξυτυροσόλη, οι λιγνάνες, τα φαινολικά οξέα και τα φλαβονοειδή λουτεολίνη (σχήμα 2.4.) και απιγενίνη. Η ελευρωπαΐνη και η υδροξυτυροσόλη θεωρείται ότι δίνουν στο δέντρο της ελιάς αντοχή κατά των βλαβών από έντομα και βακτήρια.

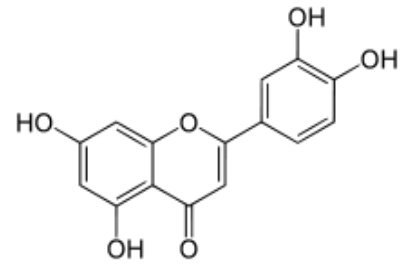
Η ελευρωπαΐνη, το πικρό σεκοϊριδοειδές συστατικό της ελιάς και του ελαιολάδου, αποτελεί το κύριο πολυφαινολικό συστατικό της ελιάς, με μεγάλη σημασία, γιατί συμβάλλει καθοριστικά στο χρώμα και τη γεύση του καρπού αυτού (Boskou *et al.*, 2006α). Στον ώριμο καρπό, η περιεκτικότητά της είναι μικρότερη και στον υπερώριμο φτάνει σε χαμηλά επίπεδα και πολλές φορές δεν συναντάται καθόλου. Αυτός είναι και ο λόγος για το οποίο οι ώριμες ελιές πικρίζουν λιγότερο από τις άγουρες. Το χρώμα των μαύρων ώριμων ελιών οφείλεται, μερικά τουλάχιστον, στα προϊόντα οξειδωσης της ελευρωπαΐνης. Η ελευρωπαΐνη ανακαλύφθηκε το 1908 από τους Bourquelot και Vintilesco και παρουσιάζει από θρεπτική άποψη πολυάριθμες ιδιότητες, ακόμη και φαρμακευτικές.



Σχήμα 2.2.:
Ελευρωπαΐνη



Σχήμα 2.3.:
Υδροξυτυροσόλη



Σχήμα 2.4.:
Λουτεολίνη

2.3.4. Σάκχαρα

Απλά σάκχαρα όπως είναι η γλυκόζη, η φρουκτόζη, η μανόζη, η γαλακτόζη και η σακχαρόζη υπάρχουν στον καρπό της ελιάς. Η σακχαρόζη συναντάται σε πολύ μικρές ποσότητες και σχεδόν εξαφανίζεται με την υπερωρίμανση του καρπού. Στο σπέρμα του ενδοκαρπίου διαπιστώθηκε η παρουσία της γλυκόζης και σε μικρότερες ποσότητες της φρουκτόζης.

2.3.5. Πρωτεΐνες

Ο ελαιόκαρπος περιέχει πρωτεΐνες σε μία συγκέντρωση 1,5 – 3%. Η περιεκτικότητα αυτή εξαρτάται από το στάδιο ωριμότητας και την ποικιλία. Στον ελαιοπυρήνα η ποσότητα σε πρωτεΐνες είναι κάπως μεγαλύτερη και κυμαίνεται από 2%–5% και πολλές φορές πέρα από τα όρια αυτά.

Στις πρωτεΐνες του ελαιόκαρπου, περιέχονται σχεδόν όλα τα κύρια αμινοξέα που συναντώνται στους άλλους φυτικούς ιστούς. Κατά την εξαγωγή του ελαίου οι πρωτεΐνες σχηματίζουν γαλάκτωμα με τις λιπαρές ουσίες εμποδίζοντας έτσι το ελαιόλαδο που παράγεται να είναι διαυγές.

2.3.6. Βιταμίνες

Απαντώνται κυρίως οι βιταμίνες C στο επικάρπιο, και οι A1, B1, B2 και D στο μεσοκάρπιο και στο σπέρμα.

Οι επιτραπέζιες ελιές είναι πλούσιες σε τοκοφερόλες και τοκοτριενόλες. Η αφθονότερη είναι η α-τοκοφερόλη, με συγκέντρωση περίπου 35 mg/kg.

2.3.7. Άλλα συστατικά του ελαιόκαρπου

Στη σάρκα του καρπού της ελιάς συναντώνται επίσης και **ανόργανα στοιχεία** όπως είναι ο σίδηρος, το ασβέστιο, το κάλιο και ορισμένα άλλα, με το κάλιο να υπερτερεί των άλλων.

Στον καρπό της ελιάς συναντώνται και **ορισμένα οξέα** όπως είναι το οξικό, το οξαλικό, το μηλονικό, το φουμαρικό, το γαλακτικό, το τρυγικό, το μηλικό και το κιτρικό, είτε σε μορφή αλάτων είτε σαν ελεύθερα.

Όσο αφορά τις **χρωστικές**, σε πολύ μικρή αναλογία, λιποδιαλυτές, κυρίως χλωροφύλλες, καροτενοειδή, και υδροδιαλυτές, κυρίως ανθοκυανίνες (Αλυγιζάκης Μ., 1982, α). Ο πράσινος καρπός περιέχει χλωροφύλλες, ο φυσικά ώριμος περιέχει ανθοκυανίνες, ενώ ο μαύρος μελανίνες, που σχηματίζονται από την οξείδωση των φαινολικών ουσιών. Έτσι το χρώμα του καρπού από αρχικά πράσινο, μεταβάλλεται σε πορφυρό ή μαύρο, εξαιτίας της αλλαγής των χρωστικών,

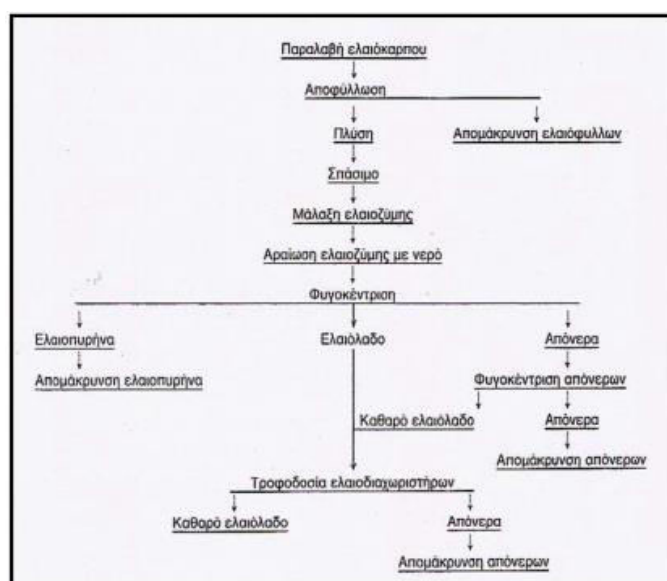
2.4. ΠΑΡΑΛΑΒΗ ΕΛΑΙΟΛΑΔΟΥ ΑΠΟ ΤΟΝ ΕΛΑΙΟΚΑΡΠΟ

Ο ελαιόκαρπος, που οδηγείται για επεξεργασία στα ελαιοτριβεία, θα πρέπει να πληροί συγκεκριμένες προδιαγραφές, οι οποίες είναι:

- δεν πρέπει να περιέχει ξένες ύλες,
- δεν πρέπει να έχει προσβολές από δάκο σε ποσοστό μεγαλύτερο του 5%,
- δεν πρέπει να περιέχει αλλοιωμένους καρπούς — σπασμένες ελιές — σάπιες κ.τ.λ.- σε ποσοστό μεγαλύτερο του 5%.

Η επεξεργασία του ελαιόκαρπου στα ελαιοτριβεία γίνεται το πολύ μέσα σε 3 ημέρες κατά ανώτατο όριο από τη συλλογή του, έτσι ώστε να μην αλλοιώνονται τα οργανοληπτικά του χαρακτηριστικά, που θα έχει ως αποτέλεσμα την παραγωγή υποβαθμισμένου ελαιόλαδου. Η άμεση επεξεργασία του ελαιόκαρπου έχει ως αποτέλεσμα την παραμονή σε υψηλά επίπεδα των αρωματικών συστατικών και των φαινολικών ενώσεων, ενώ ταυτόχρονα δεν αυξάνονται διάφορα λιπολυτικά ένζυμα.

Η επεξεργασία του ελαιόκαρπου γίνεται σε κλασικά ή φυγοκεντρικά ελαιοτριβεία, που διασφαλίζουν κατά τη μάλαξη θερμοκρασίες της ελαιόπαστας μικρότερες από 21°C, όπως και σε όλες τις άλλες φάσεις επεξεργασίας. Τα βασικά στάδια που περιλαμβάνει η επεξεργασία του ελαιόκαρπου για την παραγωγή ελαιολάδου σε ελαιουργείο φυγοκεντρικού τύπου, παρουσιάζονται σχηματικά στο σχήμα 2.5. (Κυριτσάκης Α., 2007, ζ).



Σχήμα 2.5.: Σχηματική απόδοση των βασικών σταδίων επεξεργασίας του ελαιόκαρπου σε ελαιουργείο φυγοκεντρικού τύπου

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3°. ΕΛΑΙΟΛΑΔΟ

3.1. ΣΥΣΤΑΣΗ ΕΛΑΙΟΛΑΔΟΥ

Το ελαιόλαδο όπως και κάθε λιπαρή ύλη, είναι κυρίως μείγμα τριγλυκεριδίων, δηλαδή τριεστέρων της γλυκερόλης με ανώτερα λιπαρά οξέα. Μερικά από τα λιπαρά οξέα είναι ακόρεστα, ενώ άλλα είναι κορεσμένα. Εκτός από τα τριγλυκερίδια, το ελαιόλαδο περιέχει μικρές ποσότητες και από άλλα συστατικά που προέρχονται από τον ελαιόκαρπο ή σχηματίζονται κατά την παραλαβή του (Απ. Κυριτσάκης, 2007 η/ Boskou *et al.*, 2006,β / Fedeli E., 1997), όπως:

- ◆ Ελεύθερα λιπαρά οξέα (προϊόντα υδρόλυσης των τριγλυκεριδίων)
- ◆ Φωσφατίδια (ή φωσφολιπίδια)
- ◆ Στερόλες
- ◆ Αλειφατικές αλκοόλες
- ◆ Φαινόλες
- ◆ Τοκοφερόλες
- ◆ Χρωστικές
- ◆ Πτητικές οργανικές ενώσεις
- ◆ Διάφορες ρητινοειδής και ζελατινοειδείς ουσίες, κ.τ.λ.

Τα συστατικά του ελαιολάδου, διακρίνονται σε σαπωνοποιήσιμα (τριγλυκερίδια, φωσφολιπίδια, ελεύθερα λιπαρά οξέα κ.α) και ασαπωνοποίητα (υδρογονάνθρακες, αλειφατικές αλκοόλες, στερόλες, φαινόλες, κα). Το 99% περίπου των συστατικών είναι σαπωνοποιήσιμα και το υπόλοιπο μη σαπωνοποιήσιμα (σχήμα 3.1., Εφέτ 2015,β). Παρά το γεγονός ότι το μη σαπωνοποιήσιμο κλάσμα είναι ποσοτικά μικρό, τα συστατικά του διαδραματίζουν σημαντικό διατροφικό και βιολογικό ρόλο (Κυριτσάκης Α.,2007, η).



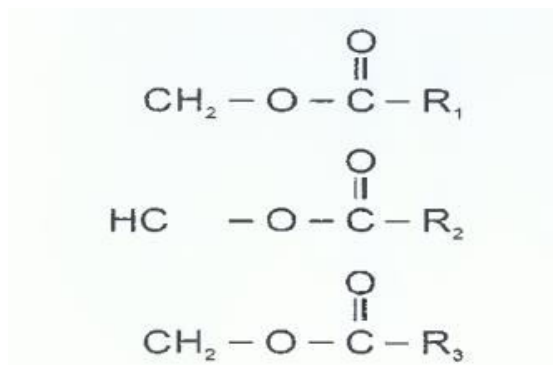
Σχήμα 3.1.: σχηματική παρουσίαση συστατικών σαπωνοποιήσιμου κι ασαπωνοποίητου κλάσματος ελαιολάδου

3.1.1. Σαπωνοποιήσιμο κλάσμα

Το ελαιόλαδο είναι μίγμα διαφόρων ουσιών, με κυριότερα τα:

α. Τριγλυκερίδια.

Τα τριγλυκερίδια είναι εστέρες της γλυκερίνης με τρία λιπαρά οξέα (σχήμα 3.2.) κι από αυτήν ακριβώς τη σύνθεση λαμβάνουν και το χαρακτηριστικό τους όνομα τριγλυκερίδια (Bezerianos *et al.*, 2003). Είναι υπεύθυνα για την λιπαρή αίσθηση στην αφή και το στόμα. Τα τριγλυκερίδια που υπερισχύουν είναι η τριελαΐνη, η παλμιτοδιελαΐνη, η στεατοδιελαΐνη, η παλμιτολινολεϋλοελαΐνη και η λινολεϋλοδιελαΐνη, με την τριελαΐνη να αποτελεί το 43,5% του συνόλου των τριγλυκεριδίων. Η διάσπαση των τριγλυκεριδίων σε ελεύθερα λιπαρά οξέα είναι αυτή που δίνει την οξύτητα. Όσο χαμηλότερη είναι η ελεύθερη οξύτητα τόσο και η ποιότητα του ελαιολάδου είναι καλύτερη.



Σχήμα 3.2.: Δομή τριγλυκεριδίου (Κυριτσάκης 2007)

β. Λιπαρά οξέα

Τα **λιπαρά οξέα** κατατάσσονται σε κεκορεσμένα και σε ακόρεστα. Από τον αριθμό των διπλών δεσμών κατατάσσουμε τα λιπαρά οξέα σε μονοακόρεστα (με ένα διπλό δεσμό) και πολυακόρεστα (με περισσότερους από έναν διπλούς δεσμούς). Διαφορές υπάρχουν ως προς τη ρευστότητα. Τα κεκορεσμένα είναι κατά κανόνα στερεά, ενώ τα ακόρεστα ρευστά.

Το μεγαλύτερο ποσοστό των λιπαρών οξέων του ελαιολάδου συνίσταται από ακόρεστα οξέα (Μπαλατσούρας Δ. Γ. 1997). Μεταξύ αυτών το μονοακόρεστο ελαϊκό (18:1) περιέχεται σε μεγαλύτερη ποσότητα. Το δεύτερο κατά σειρά ακόρεστο λιπαρό οξύ του ελαιολάδου είναι το λινελαϊκό (18 :2). Τα άλλα ακόρεστα οξέα, λινολενικό (18:3), αραχιδονικό (20:4) και το παλμιτελαϊκό (16:1) συναντώνται, στο ελαιόλαδο, σε πολύ μικρές ποσότητες.

Από τα κορεσμένα οξέα σε μεγαλύτερο ποσοστό συναντάται το παλμιτικό (16:0) και ακολουθεί το στεατικό (18:0).

Τα κύρια γλυκερίδια του ελαιολάδου είναι αυτά του ελαϊκού οξέος, που μόνα τους αποτελούν το 70 - 80 % του βάρους του λαδιού. Επειδή τα γλυκερίδια αυτά είναι υγρά σε θερμοκρασία δωματίου, το ελαιόλαδο, στο σύνολο του παραμένει σε υγρή κατάσταση στις συνήθεις θερμοκρασίες δωματίου.

Η εκατοστιαία διακύμανση της περιεκτικότητας του ελαιολάδου, σε λιπαρά οξέα, βάσει του Κανονισμού (ΕΟΚ) αριθ. 2568/91-ενοποιημένο του 2014 , έχει ως ακολούθως:

Μυριστικό (14:0)	Μέγιστο 0,03 %
Παλμιτικό (16 : 0)	7,5 - 20,0 %
Παλμιτελαϊκό (16:1)	0,3 - 3,5 %
Στεατικό (18:0)	0,5-5,0%
Ελαϊκό (18: 1)	56.0 - 85.0%
Λινελαϊκό (18 : 2)	3,5 - 20,0%
Λινολενικό (18:3)	Μέγιστο 1,0 %
Αραχιδικό (20 : 0)	Μέγιστο 0,6 %
Εικοσαενικό (20 : 1)	Μέγιστο 0,4 %
Βεχενικό (22 : 0)	Μέγιστο 0,2 %
Λιγνοκηρικό (24 : 0)	Μέγιστο 0,2 %

Η σύσταση του ελαιολάδου όπως και των άλλων φυτικών ελαίων σε λιπαρά οξέα, δεν είναι σταθερή. Παράγοντες όπως οι πιο κάτω και διάφοροι άλλοι, επηρεάζουν τη σύσταση του ελαιολάδου σε λιπαρά οξέα (Christakis G. *et al*, 1980 / Frezzoti G. *et al.*, 1956) :

- ◆ Η ποικιλία της ελιάς
- ◆ Οι εδαφοκλιματολογικές συνθήκες της περιοχής
- ◆ Ο βαθμός ωριμότητας του καρπού και διάφοροι άλλοι, επηρεάζουν τη σύσταση του ελαιολάδου σε λιπαρά οξέα .

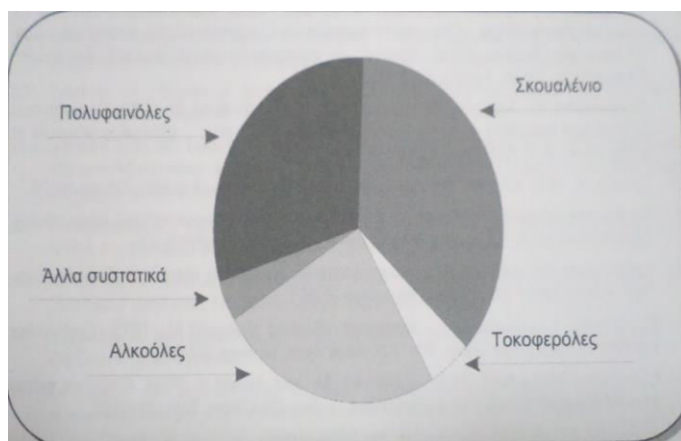
γ. Φωσφολιπίδια

Η συγκέντρωσή τους στο ελαιόλαδο είναι πολύ μικρή και προέρχονται από τον πυρήνα του ελαιόκαρπου. Τα φωσφολιπίδια που απαντούν στο ελαιόλαδο είναι κυρίως η λεκιθίνη και η κεφαλίνη. Το ελαϊκό οξύ είναι το κυριότερο από τα λιπαρά οξέα που συνθέτουν το μόριο των φωσφολιπιδίων του ελαιόλαδου.

3.1.2. Ασαπνωποίητο κλάσμα

Το ελαιόλαδο περιέχει μικρές ποσότητες μη γλυκεριδικά συστατικά , τα οποία αναφέρονται ως δευτερεύοντα ή ήσσονα συστατικά. Ορισμένα από αυτά αποτελούν το ασαπνωποίητο κλάσμα. Η ποσότητα και η σύσταση του κλάσματος αυτού εξαρτώνται κατά κύριο λόγο από τον τρόπο που έχει γίνει η παραλαβή του. Έτσι ελαιόλαδο που έχει παραληφθεί με υδρολυτική πίεση , έχει χαμηλότερη περιεκτικότητα σε ασαπνωποίητα συστατικά από αυτό που παραλαμβάνεται με εκχύλιση ((Fedeli, 1997).

Τα κυριότερα από τα συστατικά που περιέχονται στο ασαπνωποίητο κλάσμα του ελαιολάδου είναι : οι Φαινόλες και η Ελευρωπαΐνη, οι Τοκοφερόλες, οι Στερόλες, τα Τριτερπενικά οξέα, τα Φωσφολίπη, τα Πτητικά συστατικά, οι Υδρογονάνθρακες, οι Χρωστικές, και είναι υπεύθυνα για τις κυριότερες γευστικές και οσφραντικές ιδιότητές του. Όπως φαίνεται στο σχήμα 3.3. οι φαινόλες (πολυφαινόλες) είναι τα σημαντικότερα συστατικά του ασαπνωποίητου κλάσματος του ελαιολάδου. Τα μη σαπνωποιησίμα συστατικά μειώνονται κατά τον χρόνο αποθήκευσης του ελαιολάδου, με ιδιαίτερη μείωση στα καροτενοειδή και τις συνολικές φαινόλες, μετά από 12 μήνες αποθήκευσης.



Σχήμα 3.3.: Μη σαπωνοποιήσιμα συστατικά του ελαιολάδου.

α. Φαινόλες

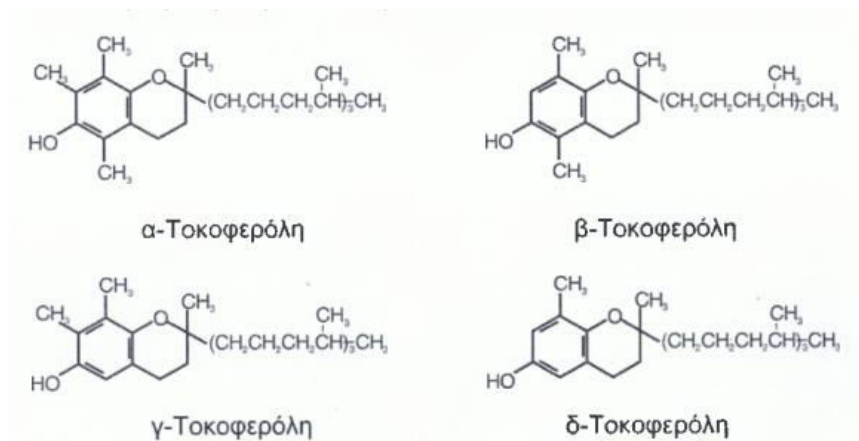
Οι φαινόλες είναι μια σημαντική κατηγορία φυσικών αντιοξειδωτικών που συναντώνται στο ελαιόλαδο και μάλιστα σε σημαντική ποσότητα. Οι κυριότερες από τις φαινόλες που συναντώνται στο ελαιόλαδο είναι η τυροσόλη και η υδροxyτυροσόλη. Η τελευταία παρουσιάζει αξιόλογη αντιοξειδωτική δράση (Vazquez R. *et al*, 1976). Επίσης έχουν ανιχνευθεί και φαινολικά οξέα όπως είναι το καφεϊκό, το πρωτοκατεχικό και διάφορα άλλα (Vazquez R. *et al*, 1976/ 1997). Η παρουσία τους ενισχύει σημαντικά την αντοχή του ελαιολάδου στην οξείδωση. Είναι υπεύθυνες για την πικρή γεύση και το κάψιμο στο λαιμό στα φρέσκα ελαιόλαδα.

Η Ελαιευρωπαϊνή είναι μια φαινολική ένωση στο ελαιόλαδο, η οποία του δίνει την χαρακτηριστική πικρή γεύση. Η ποσότητά της ποικίλει ανάλογα με το είδος της ελιάς, το κλίμα και την τεχνική της παραλαβής του ελαιολάδου από τον καρπό. Με την αποθήκευση του ελαιολάδου η περιεκτικότητα σε Ελευρωπαϊνή μειώνεται λόγω ενζυματικής υδρόλυσης και η γεύση του ελαιολάδου χάνει τη φρουτώδη και πικρή γεύση του. Η Ελευρωπαϊνή παρουσιάζει παράλληλη δράση με τις φαινόλες, όσον αφορά την αντιοξειδωτική της δράση. Επιπλέον στην ελευρωπαϊνή αποδίδονται: Αντιυπερτασική δράση, Αντιφλεγμονώδη ενέργεια, Αντιβιοτική δράση, Χωνευτική δράση.

β. Τοκοφερόλες

Οι τοκοφερόλες είναι ετεροκυκλικές ενώσεις μεγάλου μοριακού βάρους. Διάφορα είδη τοκοφερολών έχουν προσδιορισθεί στο ελαιόλαδο :οι τοκοφερόλες α, β, γ, δ, ε και ζ. (σχήμα 3.4.) . Από αυτές η α βρίσκεται σε ποσοστό 88,5%, η β και γ σε ποσοστό 9.9% και η δ σε ποσοστό 1.6% (Fedeli E., 1997).

Όλες οι τοκοφερόλες αποτελούν φυσικά αντιοξειδωτικά των λαδιών αφού παρουσιάζουν αντιοξειδωτική δράση, η οποία αυξάνεται από την α προς τη δ (Bezerianos *et al*, 2003, β). Η σταθερότητα μάλιστα του ελαιολάδου στην οξείδωση οφείλεται, κατά μεγάλο μέρος, στην παρουσία τοκοφερολών. Εκτός από την αντιοξειδωτική τους δράση οι τοκοφερόλες παρουσιάζουν και βιταμινική ενέργεια , η οποία αυξάνεται αντίθετα με την αντιοξειδωτική τους ικανότητα, δηλαδή από τη δ προς την α.



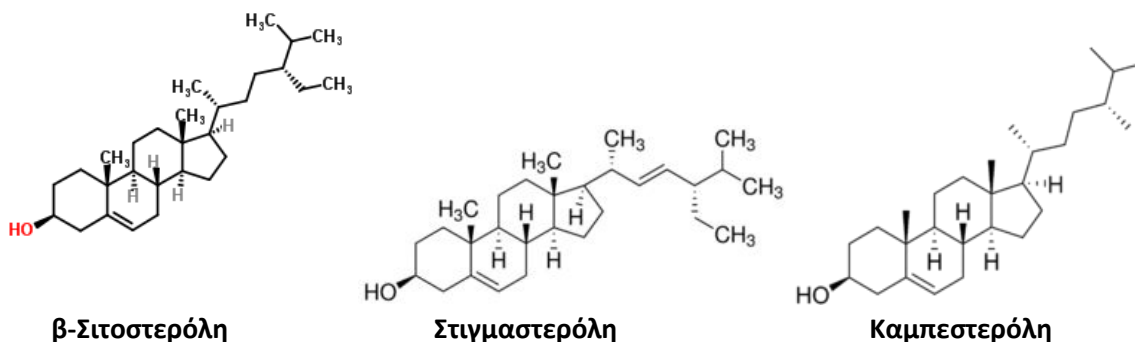
Σχήμα 3.4.: Χημικές δομές τοκοφερολών που υπάρχουν στο ελαιόλαδο (Κυριτσάκης, 2007)

Σύμφωνα με τους Fedeli E. *et al*, 1993, η συγκέντρωση σε τοκοφερόλες είναι υψηλότερη αν οι ελιές συλλεχθούν κατά την πρώτη περίοδο της συγκομιδής, ενώ προς το τέλος της περιόδου συγκομιδής οι τοκοφερόλες είναι σημαντικά μειωμένες.

γ. Στερόλες

Οι στερόλες μπορούν να χαρακτηρισθούν σαν τα δακτυλικά αποτυπώματα κάθε λαδιού. Τα κύρια συστατικά του στερολικού κλάσματος είναι η χοληστερόλη, η καμπεστερόλη, η στιγμαστερόλη, β - σιτοστερόλη (σχήμα 3.5.), βρασσικαστερόλη και δ-7 Στιγμαστερόλη. Σύμφωνα με τους Βοσκου *et al*, 1975, το Ελληνικό ελαιόλαδο περιέχει ίχνη χοληστερόλης, 2,0% καμπεστερόλη, 0,5% σιγμαστερόλη, 89,5% β-σιτοστερόλη και 8% ανεμαστερόλη. Είναι γεγονός ότι η β - σιτοστερόλη καλύπτει σχεδόν το σύνολο του στερολικού κλάσματος των ελαιολάδων (Fedeli E., 1997) και έχει υποχοληστερολεμικές ικανότητες. Η συνολική περιεκτικότητα του ελαιολάδου σε στερόλες κυμαίνεται από 180-265 mg/100g (Kiritsakis A., 1998). Κατά το χρόνο αποθήκευσης του ελαιολάδου και με την αύξηση της οξείδωσης, παρατηρείται μείωση της περιεκτικότητας, σε στερόλες (Leone *et al*, 1976).

Οι στερόλες εμποδίζουν την αφομοίωση της χοληστερίνης και χαμηλώνουν τη στάθμη της στο αίμα. Εκτός αυτού έχουν προστατευτικές ικανότητες έναντι στον καρκίνο.



Σχήμα 3.5.: Χημικές δομές τοκοφερολών: β-Σιτοστερόλη, Στιγμαστερόλη, Καμπεστερόλη

δ. Τριτερπενικά οξέα

Στο ελαιόλαδο έχει βρεθεί ένα τριτερπενικό οξύ, που ανήκει στην σειρά της α-αμυρίνης, το ελεανολικό οξύ, το οποίο έχει συσχετιστεί με την οξειδωτική σταθερότητα του ελαιολάδου. Άλλα τριτερπενικά οξέα που απαντούν σε ίχνη είναι το μασλινικό και το ουρσολικό.

δ. Φωσφολιπίδια

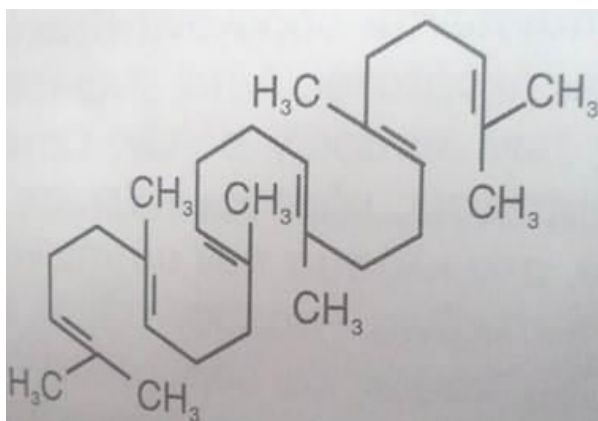
Το ελαιόλαδο περιέχει μικρή ποσότητα φωσφολιπιδίων, που κυμαίνεται από 40 -135 ppm. Η μεγαλύτερη ποσότητα των φωσφολιπιδίων προέρχεται από τον πυρήνα του ελαιοκάρπου. Τα φωσφολιπίδια που συναντώνται συνήθως στο ελαιόλαδο είναι η λεκιθίνη και η κεφαλίνη, των οποίων η αφομοίωση ενισχύει τις φωσφορούχες ουσίες του εγκεφάλου και των ιστών του ανθρώπινου οργανισμού (Κυριτσάκης Α., 2007,θ).

στ. Πτητικές ενώσεις

Το ελαιόλαδο έχει χαρακτηριστικό άρωμα και πολλή ευχάριστη γεύση, που οφείλεται στην παρουσία μεγάλου αριθμού γευστικών και αρωματικών συστατικών που είναι πτητικά, όπως υδρογονάνθρακες, αλδεύδες, και αλειφατικές αλκοόλες. Η μεγαλύτερη συγκέντρωση των αρωματικών συστατικών του ελαιολάδου παρατηρείται κατά την περίοδο που ο ελαιοκάρπος έχει αρχίσει να αλλάζει χρώμα από πράσινο - κίτρινο σε μελανοϊώδες. Το στάδιο αυτό συμπίπτει με τη μεγαλύτερη περιεκτικότητα σε ελαιόλαδο και με την περισσότερη συγκέντρωση αρωματικών συστατικών.

στ.ι. Υδρογονάνθρακες

Στο ασαπνωποίητο κλάσμα του ελαιολάδου υπάρχουν διάφοροι υδρογονάνθρακες, εν μέρει κορεσμένοι κι εν μέρει ακόρεστοι, αλλά κι αρωματικοί υδρογονάνθρακες όπως το ναφθαλίνιο και τα παράγωγά του (Fedeli, 1997). Επίσης παραφίνες με 11-30 άτομα άνθρακα και υδρογονάνθρακες με διακλαδισμένη αλυσίδα αποτελούν συστατικά του κλάσματος αυτού. Όμως το κύριο συστατικό του κλάσματος των υδρογονανθράκων του ελαιολάδου είναι ο τριτερπενικός υδρογονάνθρακας "σκουαλενίο" (πολυακόρεστος υδρογονάνθρακας με 30 άτομα άνθρακα) (σχήμα 3.6.), που σύμφωνα με τους Gutfinger *et al*, 1974, κυμαίνεται στα 250-925 mg/100g. Οι υδρογονάνθρακες συμβάλλουν αντιοξειδωτικά στο ελαιόλαδο και έχει αποδειχθεί ότι κλάσμα αυτών σε άλλα λάδια αυξάνει την αντιοξειδωτική αντοχή των τελευταίων.



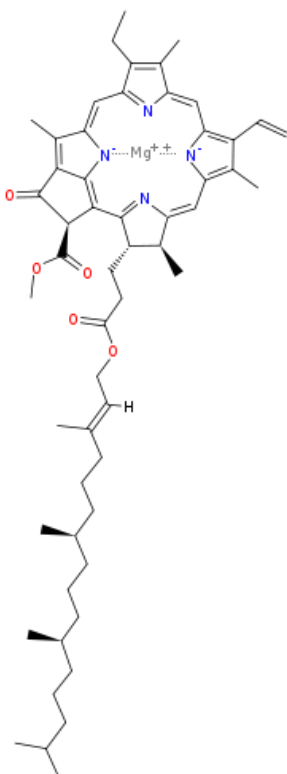
Σχήμα 3.6.: Τύπος σκουαλενίου (Κυριτσάκης 2007)

Σύμφωνα με τους ερευνητές Ciusa *et al*, 1974, η περιεκτικότητα σε υδρογονάνθρακες, είναι μεγαλύτερη στις άγουρες και χαμηλότερη στις ώριμες ελιές. Μεγαλύτερο ποσοστό συναντάται στο φλοιό και λιγότερο στη σάρκα.

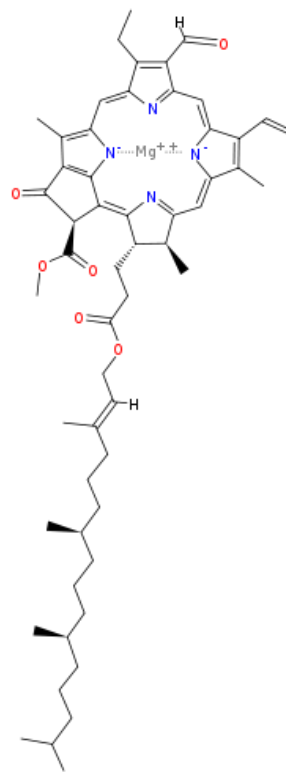
ζ. Χρωστικές ουσίες

Η **χλωροφύλλη a** (σχήμα 3.7.) και **b** (σχήμα 3.8.) είναι οι κυριότερες από τις διάφορες χρωστικές ουσίες, που συναντώνται στο ελαιόλαδο και είναι αυτές που του δίνουν το χαρακτηριστικό πράσινο χρώμα του. Η **a** μορφή είναι κυανοπράσινη, ενώ η **b** κιτρινοπράσινη. Με την πρόοδο της ωρίμανσης του ελαιοκάρπου καθώς και με το χρόνο αποθήκευσης του ελαιολάδου μειώνεται η περιεκτικότητα του ελαιολάδου σε χλωροφύλλες (Interesse F.S. *et al*, 1971). Οι χλωροφύλλες αποτελούν την κύρια αιτία της οξειδωτικής αλλοίωσης, αν αυτό έλθει σε επαφή με το φως (Kiritsakis A.K. *et al*, 1985), μια κι αποικοδομούνται εύκολα και μετατρέπονται στις αντίστοιχες φαιοφυτίνες.

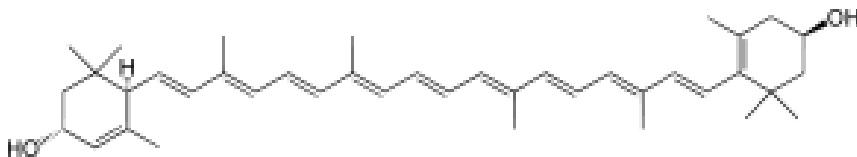
Στο ελαιόλαδο απαντούν επίσης διάφορα καροτενοειδή, με κυριότερα την λουτεΐνη ($C_{40}H_{56}O_2$) (σχήμα 3.9.), το α και β -καροτένιο. Το επικρατέστερο από αυτά είναι το β -καροτένιο (σχήμα 3.10.), που αποτελεί το 85% του συνόλου των καροτένιων και ακολουθεί το α -καροτένιο (15%) (Αλυγιζάκης Μ., 1982,β).



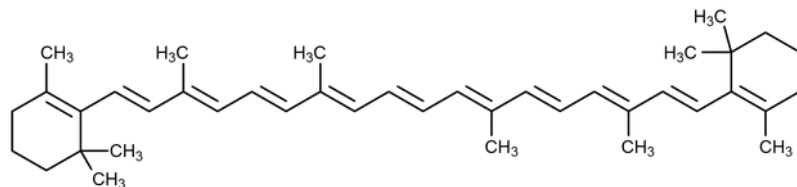
Σχήμα 3.7.:
χλωροφύλλη a



Σχήμα 3.8.:
χλωροφύλλη b



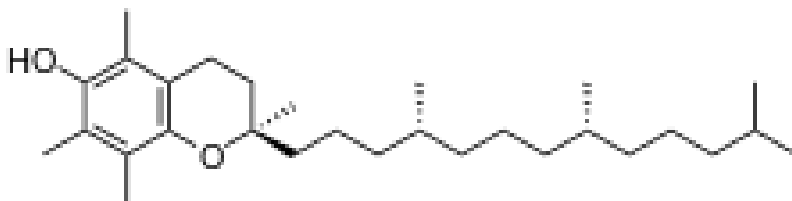
Σχήμα 3.9.: Λουτεΐνη



Σχήμα 3.10.: β-Καροτένιο

η. Βιταμίνες

Η βιταμίνη E (σχήμα 3.11.) και η προβιταμίνη A (β-καροτένιο) είναι οι βιταμίνες που απαντώνται στο ελαιόλαδο.



Σχήμα 3.11.: βιταμίνη E

3.2. ΝΟΜΟΘΕΣΙΑ

Το ελαιόλαδο λόγω των ιδιαίτερων οργανοληπτικών και θρεπτικών ιδιοτήτων του, σε συνδυασμό με το κόστος παραγωγής του, δημιουργεί ένα δυναμικό και ανταγωνιστικό εμπορικό τομέα, που αποδίδει σχετικά υψηλές τιμές σε σχέση με τις περισσότερες άλλες φυτικές λιπαρές ουσίες

Έχοντας υπ' όψιν αυτή την κατάσταση της αγοράς του ελαιολάδου, ο Κανονισμός (ΕΚ) αριθ. 1019/2002 για την εμπορία του ελαιολάδου, εισάγει ειδικές απαιτήσεις επισήμανσης, συμπληρώνοντας αυτές που προβλέπονται από την Οδηγία 2000/13/ΕΚ, για προσέγγιση των νομοθεσιών των κρατών μελών σχετικά με τη σήμανση, την παρουσίαση και τη διαφήμιση των τροφίμων. Στις 13 Ιανουαρίου 2012 εκδόθηκε ο Κανονισμός (ΕΕ) αριθ.29/2012, ο οποίος καταργεί τον Κανονισμό (ΕΚ) αριθ. 1019/2002, αλλαγή που έγινε καθαρά και μόνο για να ενσωματώσει τις προηγούμενες

αναθεωρήσεις του Κανονισμού 1019/2002 και επί της ουσίας δεν επιφέρει αλλαγές στα όσα προέβλεπε ο Κανονισμός 1019/2002.

Με την Κ.Υ.Α αριθ. 323902 (ΦΕΚ 2026/τ.Β'/18-09-09), καθορίζονται τα αναγκαία συμπληρωματικά μέτρα για την εφαρμογή του Κανονισμού 1019/2002 (και κατ' επέκταση του Κανονισμού 29/2012), για τις προδιαγραφές εμπορίας του ελαιολάδου. Η ως άνω απόφαση καθορίζει τις προδιαγραφές εμπορίας σε επίπεδο λιανικού εμπορίου για το «εξαιρετικό παρθένο ελαιόλαδο», το «παρθένο ελαιόλαδο», το «ελαιόλαδο αποτελούμενο από εξευγενισμένα ελαιόλαδα και παρθένα ελαιόλαδα» και το «πυρηνέλαιο» (ως ορίζονται στον καν (ΕΚ) 1308/2013 του Συμβουλίου. Οι διατάξεις της ΚΥΑ 323902/2009 εφαρμόζονται επίσης και στις απευθείας πωλήσεις των παραπάνω ελαίων από τους παραγωγούς και ελαιοτριβείς προς τον τελικό καταναλωτή.

Στον παρακάτω πίνακα 3.1., αναφέρεται η εθνική και ευρωπαϊκή νομοθεσία, που αφορά σε προδιαγραφές ποιότητας και επισήμανση του ελαιολάδου

(http://www.efet.gr/portal/page/portal/efetnew/enterprises/enterprises_info)

(<http://www.minagric.gr/index.php/el/component/content/article/54-greek-content/fitikisparagwqis/elialadi/1774-nomothesia-elia-ladi>)

Πίνακας 3.1: Εθνική και ευρωπαϊκή νομοθεσία, σχετικά με προδιαγραφές ποιότητας και επισήμανση του ελαιολάδου

ΝΟΜΟΘΕΣΙΑ		
Αντικείμενο	Αριθμός	Τίτλος
ΠΡΟΤΥΠΑ ΕΜΠΟΡΙΑΣ	Κανονισμός 29/2012	Εκτελεστικός Κανονισμός (ΕΕ) αριθ. 29/2012 της Επιτροπής της 13ης Ιανουαρίου 2012 για τα πρότυπα εμπορίας του ελαιολάδου
	Κανονισμός 1335/2013	Εκτελεστικός Κανονισμός (ΕΕ) αριθ. 1335/2013 της Επιτροπής της 13 ^{ης} Δεκεμβρίου 2013 σχετικά με την τροποποίηση του εκτελεστικού κανονισμού (ΕΕ) αριθ. 29/2012 για τα πρότυπα εμπορίας του ελαιολάδου
	Κανονισμός 1019/2002	Κανονισμός (ΕΚ) αριθ. 1019/2002 της Επιτροπής της 13ης Ιουνίου 2002 για τις προδιαγραφές εμπορίας του ελαιολάδου (αντικαταστάθηκε από τον Κανονισμό 29/2012)
	Κανονισμός 1308/2013	Κανονισμός (ΕΕ) αριθ. 1308/2013 του Ευρωπαϊκού Κοινοβουλίου και του Συμβουλίου της 27ης Δεκεμβρίου 2013 για τη θέσπιση κοινής οργάνωσης των αγορών γεωργικών και την κατάργηση των κανονισμών (ΕΟΚ) αριθ.92/72, (ΕΟΚ) αριθ.234/79, (ΕΚ) αριθ. 1037/2001 και (ΕΚ) αριθ. 1234/2007 του Συμβουλίου
	ΚΥΑ 323902/2009 Απόφαση αριθ. Α2-718 (ΦΕΚ 2090/Β' /31.07.2014)	Συμπληρωματικά μέτρα εφαρμογής του Κανονισμού (ΕΚ) 1019/2002 της Επιτροπής για τις προδιαγραφές εμπορίας του ελαιολάδου (ΦΕΚ 2026/Β'-18.09.2009) Κωδικοποίηση Κανόνων Διακίνησης και Εμπορίας Προϊόντων και Παροχής Υπηρεσιών (Κανόνες Δι.Ε.Π.Υ.).
ΠΡΟΔΙΑΓΡΑΦΕΣ ΠΟΙΟΤΗΤΑΣ	Κανονισμός 2568/91	Κανονισμός (ΕΟΚ) αριθ. 2568/91 της Επιτροπής της 11ης Ιουλίου 1991 σχετικά με τον προσδιορισμό των χαρακτηριστικών των ελαιολάδων και των πυρηνελαιίων καθώς και με τις μεθόδους προσδιορισμού
	Κανονισμός 299/2013	Εκτελεστικός Κανονισμός (ΕΕ) αριθ. 299/2013 της Επιτροπής της 26ης Μαρτίου 2013 για την τροποποίηση του κανονισμού (ΕΟΚ) αριθ. 2568/1991 σχετικά με τον προσδιορισμό των χαρακτηριστικών των ελαιολάδων και των πυρηνελαιίων καθώς και με τις μεθόδους προσδιορισμού
	Κανονισμός 1348/2013	Εκτελεστικός Κανονισμός (ΕΕ) αριθ. 1348/2013 της Επιτροπής της 16ης Δεκεμβρίου 2013 για την τροποποίηση του κανονισμού (ΕΟΚ) αριθ. 2568/1991 σχετικά με τον προσδιορισμό των χαρακτηριστικών των ελαιολάδων και των πυρηνελαιίων καθώς και με τις μεθόδους
		προσδιορισμού
ΕΠΙΣΗΜΑΝΣΗ	Κανονισμός 1169/2011	Κανονισμός (ΕΕ) αριθ. 1169/2011 του Ευρωπαϊκού Κοινοβουλίου και του Συμβουλίου, της 25ης Οκτωβρίου 2011 , σχετικά με την παροχή πληροφοριών για τα τρόφιμα στους καταναλωτές
	Κανονισμός 1924/2006	Κανονισμός (ΕΚ) αριθ. 1924/2006 του Ευρωπαϊκού Κοινοβουλίου και του Συμβουλίου της 20ής Δεκεμβρίου 2006 σχετικά με τους ισχυρισμούς επί θεμάτων διατροφής και υγείας που διατυπώνονται για τα τρόφιμα

3.3. ΚΑΤΗΓΟΡΙΕΣ ΕΛΑΙΟΛΑΔΩΝ

Οι περιγραφές και οι ορισμοί του ελαιολάδου, καθώς και η ονομασία του, αποτελούν ουσιαστικό στοιχείο του καθεστώτος της αγοράς, θέτοντας πρότυπα ποιότητας και παρέχοντας στους καταναλωτές επαρκή πληροφόρηση για το προϊόν.

Στο παράρτημα VII του κανονισμού (ΕΕ) αριθ. 1308/2013 προβλέπονται η περιγραφή και ο ορισμός των ελαιολάδων και των πυρηνελαίων που διατίθενται στο εμπόριο στο εσωτερικό κάθε κράτους μέλους, καθώς και όσον αφορά τις ενδοκοινοτικές συναλλαγές και τις συναλλαγές με τις τρίτες χώρες. Η χρήση των περιγραφών και των ορισμών του ελαιολάδου και του πυρηνελαίου που εμφανίζονται στο παράρτημα VII (ΜΕΡΟΣ VIII) του εν λόγω κανονισμού, είναι υποχρεωτική όσον αφορά την εμπορία των εν λόγω προϊόντων εντός της Κοινότητας, καθώς και στο εμπόριο με τρίτες χώρες, εφόσον είναι συμβατή με διεθνείς υποχρεωτικούς κανόνες. Μόνον οι παρακάτω κατηγορίες ελαιολάδου επιτρέπεται να διακινούνται και να πωλούνται ενδοκοινοτικά σε επίπεδο λιανικού Εμπορίου, εφόσον περιγράφονται και ορίζονται ως εξής:

3.3.1. Παρθένα ελαιόλαδα

Έλαια που λαμβάνονται από τον ελαιόκαρπο αποκλειστικά με μηχανικές ή άλλες φυσικές μεθόδους υπό συνθήκες ιδίως θερμικές, οι οποίες δεν συνεπάγονται αλλοίωση του ελαίου και τα οποία δεν έχουν υποστεί άλλη επεξεργασία πλην της πλύσης, της καθίζησης, της φυγοκέντρησης και της διήθησης, εξαιρουμένων των ελαίων που έχουν ληφθεί μετά από επεξεργασία με διαλύτη ή με μεθόδους επανεστεροποίησης και κάθε μίγματος με έλαια άλλης φύσης.

Τα έλαια αυτά κατατάσσονται στις ακόλουθες κατηγορίες και λαμβάνουν τις ακόλουθες ονομασίες:

α) Εξαιρετικό παρθένο ελαιόλαδο:

Παρθένο ελαιόλαδο του οποίου η περιεκτικότητα σε ελεύθερα λιπαρά οξέα, εκφραζόμενη σε ελαϊκό οξύ, δεν υπερβαίνει τα 0,8 g ανά 100 g και του οποίου τα άλλα ιδιαίτερα χαρακτηριστικά του είναι σύμφωνα με τα προβλεπόμενα για την κατηγορία αυτή.

β) Παρθένο ελαιόλαδο:

Παρθένο ελαιόλαδο του οποίου η περιεκτικότητα σε ελεύθερα λιπαρά οξέα, εκφραζόμενη σε ελαϊκό οξύ, δεν υπερβαίνει τα 2 g ανά 100 g και του οποίου τα άλλα ιδιαίτερα χαρακτηριστικά είναι σύμφωνα με τα προβλεπόμενα για την κατηγορία αυτή.

γ) Μειονεκτικό (LAMPANTE) παρθένο ελαιόλαδο:

παρθένο ελαιόλαδο του οποίου η ελεύθερη οξύτητα, εκφραζόμενη σε ελαϊκό οξύ, είναι ανώτερη των 2 g ανά 100g και του οποίου τα λοιπά χαρακτηριστικά είναι σύμφωνα προς τα προβλεπόμενα για την κατηγορία αυτή.

3.3.2. Εξευγενισμένο (ραφινέ) ελαιόλαδο

Ελαιόλαδο λαμβανόμενο από εξευγενισμό παρθένου ελαιολάδου, του οποίου η ελεύθερη οξύτητα, εκφραζόμενη σε ελαιϊκό οξύ, δεν υπερβαίνει τα 0,3g ανά 100g και του οποίου τα λοιπά χαρακτηριστικά είναι σύμφωνα με τα προβλεπόμενα για την κατηγορία αυτή.

3.3.3. Ελαιόλαδο αποτελούμενο από εξευγενισμένα & παρθένα ελαιόλαδα

Έλαιο που αποτελείται από ανάμειξη εξευγενισμένου ελαιόλαδου και παρθένων ελαιόλαδων, εκτός από το ελαιόλαδο λαμπάντε, του οποίου η περιεκτικότητα σε ελεύθερα λιπαρά οξέα, εκφραζόμενη σε ελαιϊκό οξύ, δεν υπερβαίνει το 1 g ανά 100 g και του οποίου τα άλλα ιδιαίτερα χαρακτηριστικά είναι σύμφωνα με τα προβλεπόμενα για την κατηγορία αυτή.

3.3.4. «Βιομηχανοποιήσιμο ελαιόλαδο» και «Βιομηχανικό ελαιόλαδο»

Η ονομασία «**βιομηχανοποιήσιμο ελαιόλαδο**» δίνεται σε ελαιόλαδο και ελαιόλαδο εξευγενισμένο (ραφινέ) με δυσάρεστους οργανοληπτικούς χαρακτήρες ή/και οξύτητα εκφρασμένη σε ελαιϊκό οξύ μεγαλύτερη από τα αντίστοιχα καθοριζόμενα όρια. Το βιομηχανοποιήσιμο ελαιόλαδο μπορεί να υποστεί τις επεξεργασίες που επιτρέπονται από το άρθρο 70 του Κώδικα Τροφίμων και με την προϋπόθεση ότι μετά την επεξεργασία θα πληρούν τους όρους του Κώδικα Τροφίμων και Ποτών.

Η ονομασία «**Βιομηχανικό ελαιόλαδο**» δίνεται σε ελαιόλαδο που δεν είναι δυνατόν με οποιοδήποτε τρόπο και οποιαδήποτε επεξεργασία να χρησιμοποιηθεί ως πρώτη ύλη για την παρασκευή προϊόντων διατροφής. Στην κατηγορία αυτή υπάγονται ελαιόλαδα που έχουν παλμιτικό οξύ σε θέση 2 των τριγλυκεριδίων ανώτερο του 2,2% (έχουν υποστεί αλλοίωση της μοριακής τους σύστασης), χωματέλαια, μουργέλαια κλπ. Αυτά μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως πρώτη ύλη για την Παρασκευή διαφόρων άλλων προϊόντων όπως σαπούνια, γλυκερίνη.

Ελαιόλαδα κάθε είδους των οποίων τα χαρακτηριστικά δημιουργούν αμφιβολίες για την κανονικότητα του δείγματος, τίθενται στην κρίση του Α. Χ. Σ. προς γνωμοδότηση.

3.4. ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ - ΚΡΙΤΗΡΙΑ ΠΟΙΟΤΗΤΑΣ ΕΛΑΙΟΛΑΔΩΝ

«Ελαιόλαδο» χαρακτηρίζεται το έλαιο που λαμβάνεται από τους καρπούς της ελαίας της Ευρωπαϊκής (OLEA EUROPEA) , με μέσα αποκλειστικά μηχανικά και μεθόδους ή επεξεργασίες οπωσδήποτε φυσικές, σε θερμοκρασίες που να μην προκαλούν αλλοίωση του ελαίου.

3.4.1. Φυσικοχημικά χαρακτηριστικά ελαιολάδων

Για να καταστεί δυνατός ο διαχωρισμός μεταξύ των διαφόρων τύπων ελαίου, έχουν καθοριστεί τα φυσικοχημικά χαρακτηριστικά κάθε ελαίου, καθώς και τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά των παρθένων ελαίων, κατά τρόπο που να διασφαλίζεται η γνησιότητα και η ποιότητα των εν λόγω προϊόντων, με την επιφύλαξη των υπολοίπων διατάξεων, οι οποίες αφορούν αυτό το θέμα.

Στο Παράρτημα Ι του Κανονισμού 2568/91 (πίνακες 3.2.α , 3.2.β, 3.2.γ και 3.2.δ), παρατίθενται οι τιμές των φυσικοχημικών χαρακτηριστικών όλων των κατηγοριών ελαιολάδου και πυρηνελαίου καθώς και οι τιμές των οργανοληπτικών χαρακτηριστικών των παρθένων ελαίων.

Εκτός από τα ανωτέρω χαρακτηριστικά, επιπρόσθετες φυσικές και χημικές σταθερές του ελαιολάδου κάθε κατηγορίας , βάσει του Κώδικα Τροφίμων και Ποτών, άρθρο 71, είναι οι εξής:

-Δείκτης διάθλασης (n^{20})	: 1,4677 - 1,4705
-Αριθμός σαπωνοποίησης (mgKOH/g ελαίου)	: 184 - 196
-Αριθμός ιωδίου (Wijs)	: 75 - 94

Οι ονομασίες και οι ορισμοί των ελαιολάδων, που προβλέπονται στο παράρτημα VII του κανονισμού (ΕΕ) αριθ. 1308/2013, είναι υποχρεωτικές για τη διάθεση των προϊόντων αυτών στο εμπόριο για τις ενδοκοινοτικές συναλλαγές και τις εισαγωγές από τρίτες χώρες. Όσον αφορά τις εξαγωγές προς τρίτες χώρες και τα εισαγόμενα προς μεταποίηση και επανεξαγωγή σε τρίτες χώρες προϊόντα, οι ανωτέρω ονομασίες και ορισμοί δεν είναι υποχρεωτικοί, εφ' όσον οι πράξεις αυτές τελούνται υπό διοικητικό έλεγχο. Στο λιανικό εμπόριο μπορούν να διατίθενται μόνο το εξαιρετικό παρθένο ελαιόλαδο, το παρθένο ελαιόλαδο και το ελαιόλαδο .

Σύμφωνα με τα παραπάνω πρότυπα, οι παράμετροι που χρησιμοποιούνται για την προστασία του ελαιολάδου και την αξιολόγηση της ποιότητάς του, μπορούν να χωρισθούν στις παρακάτω κατηγορίες:

- _ Κριτήρια ποιότητας
- _ Κριτήρια γνησιότητας
- _ Κριτήρια επιμολύνσεων

ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΤΟΥ ΕΛΑΙΟΛΑΔΟΥ

Κατηγορία	Αθιολεπτάρες λιπαρών οξέων (FAEE) mg/kg (*)	Οξίνια (%) (*)	Αριθμός υπεροξειδίων O ₂ / Kg (*)	Κηροί mg/kg (**)	Μονοσαμτικό 2-γλυκερόλιο (%)	Στημιστά υδιόνια mg/kg (1)	Διαφορά μεταξύ ECN42 (HPLC) και ECN42 (2) (θεορητικός υπολογισμός)	K ₂₃₂ (*)	K ₂₃₈ ή K ₂₇₀ (*)	ΔΚ (*)	Οργανοληπτική εξέταση Διάμεση τιμή των ελαττωμάτων (Md) (*)	Οργανοληπτική εξέταση Διάμεση τιμή του φρουτούδου (Mf) (*)
1. Εξαιρετικό παρθένο ελαιόλαδο	FAEE ≤ 40 (ελαστοκομική περίοδος 2013-2014) (3) FAEE ≤ 35 (ελαστοκομική περίοδος 2014-2015) FAEE ≤ 30 (ελαστοκομική περίοδος μετά το 2015)	≤ 0,8%	≤ 20%	C ₄₂ + C ₄₄ + C ₄₆ ≤ 150	≤ 0,9 εάν ολικό παλάμιτικό οξύ % ≤ 14%	≤ 0,05	≤ 0,2	≤ 2,50	≤ 0,22	≤ 0,01	Md = 0	Mf > 0
					≤ 1,0 εάν ολικό παλάμιτικό οξύ % > 14%							
2. Παρθένο ελαιόλαδο	—	≤ 2,0	≤ 20%	C ₄₂ + C ₄₄ + C ₄₆ ≤ 150	≤ 0,9 εάν ολικό παλάμιτικό οξύ % ≤ 14%	≤ 0,05	≤ 0,2	≤ 2,60	≤ 0,25	≤ 0,01	Md ≤ 3,5	Mf > 0
					≤ 1,0 εάν ολικό παλάμιτικό οξύ % > 14%							
3. Ελαιόλαδο λαμπάντε	—	> 2,0%	—	C ₄₀ + C ₄₂ + C ₄₄ + C ₄₆ ≤ 300 (4)	≤ 0,9 εάν ολικό παλάμιτικό οξύ % ≤ 14%	≤ 0,50	≤ 0,3	—	—	—	Md = 3,5 (5)	—
					≤ 1,1 εάν ολικό παλάμιτικό οξύ % > 14%							

Πίνακας 3.2.α: Παράρτημα Ι/ Καν. 2568/91, ενοποιημένος/01.03.2014 , με τις τιμές των φυσικοχημικών χαρακτηριστικών όλων των κατηγοριών ελαιολάδου και πυρηνελαίου καθώς και οι τιμές των οργανοληπτικών χαρακτηριστικών των παρθένων ελαίων.

Κατηγορία	Λιθουλαιστερές λιπαρών οξέων (FAEE) mg/kg (*)	Οξύτητα (%) (*)	Αριθμός υπεροξειδίων mEq O ₂ / Kg (*)	Κηροί mg/kg (**)	Μονοσαμμιτικό 2-γλυκερύλιο (%)	Στηνισσαοδιένια mg/kg (1)	Διαφορά μεπαξέρ ECN42 (HPLC) και ECN42 (2) (θεωρητικός υπολογισμός)	K ₂₃₂ (*)	K ₂₆₈ ή K ₂₇₀ (*)	ΔΚ (*)	Οργανοληπτική εξέταση Διάμεση τιμή των ελαττωμάτων (Md) (*)	Οργανοληπτική εξέταση Διάμεση τιμή του φρουαδόδους (Mf) (*)
4. Εξενγενισμένο ελαιόλαδο	—	≤ 0,3	≤ 5	C ₄₀ + C ₄₂ + C ₄₄ + C ₄₆ ≤ 350	≤ 0,9 εάν ολικό παλάμιτικό οξύ % ≤ 14%	—	≤ 0,3	—	≤ 1,10	≤ 0,16	—	—
					≤ 1,1 εάν ολικό παλάμιτικό οξύ % > 14%							
5. Σύνθετο ελαιόλαδο αποτελούμενο από εξενγενισμένα και παρθένα ελαιόλαδα	—	≤ 1,0	≤ 15	C ₄₀ + C ₄₂ + C ₄₄ + C ₄₆ ≤ 350	≤ 0,9 εάν ολικό παλάμιτικό οξύ % ≤ 14%	—	≤ 0,3	—	≤ 0,90	≤ 0,15	—	—
					≤ 1,0 εάν ολικό παλάμιτικό οξύ % > 14%							
6. Ακατέργαστο πυρηνέλαιο	—	—	—	C ₄₀ + C ₄₂ + C ₄₄ + C ₄₆ > 350 (6)	≤ 1,4	—	≤ 0,6	—	—	—	—	—
					≤ 1,4							
7. Εξενγενισμένο πυρηνέλαιο	—	≤ 0,3	≤ 5	C ₄₀ + C ₄₂ + C ₄₄ + C ₄₆ > 350	≤ 1,4	—	≤ 0,5	—	≤ 2,00	≤ 0,20	—	—
					≤ 1,4							

Πίνακας 3.2.β: Παράρτημα Ι/ Καν. 2568/91, ενοποιημένος/01.03.2014 , με τις τιμές των φυσικοχημικών χαρακτηριστικών όλων των κατηγοριών ελαιολάδου και πυρηνελαίου καθώς και οι τιμές των οργανοληπτικών χαρακτηριστικών των παρθένων ελαίων.

Κατηγορία	Λιθολατέρες λιπαρών οξέων (FAEE) mg/kg (*)	Οξύτητα (%) (*)	Αριθμός υπεροξειδίων mEq O ₂ /Kg (*)	Κηροί mg/kg (**)	Μονοσαλιλικό 2-γλυκερόλαο (%)	Στηνμαστιάδινα mg/kg (†)	Διαφορά μεταξὺ ECN42 (HPLC) και ECN42 (θεορητικός υπολογισμός)	K ₂₃₂ (*)	K ₂₀₈ ή K ₂₇₀ (*)	ΔΚ (*)	Οργανοληπτική εξέταση τιμῆ των ελαττωμάτων (Md) (*)	Οργανοληπτική εξέταση Διάμεση τιμῆ των φρουτοδότης (Mf) (*)
8. Πιρηνέλαιο	—	≤ 1,0	≤ 15	C ₄₀ + C ₄₂ + C ₄₄ + C ₄₆ > 350	≤ 1,2	—	≤ 0,5	—	≤ 1,70	≤ 0,18	—	—

(†) Αθροισμα των ισομερών που θα μπορούσαν να διαχωριστούν (ή όχι) με τριχοειδή στήλη.

(‡) Το ελαιόλαδο πρέπει να συμμορφώνεται με τη μέθοδο που αναφέρεται στο παράρτημα XXa.

(§) Το όριο αυτό ισχύει για τα ελαιόλαδα που έχουν παραχθεί από την 1η Μαρτίου 2014 και έπειτα.

(¶) Τα έλαια με περιεκτικότητα σε κηρούς μεταξύ 300 και 350 mg/kg θεωρούνται ελαιόλαδα λαμπάντε, εάν η περιεκτικότητά σε ολικές αλειφαιτικές αλκοόλες είναι μικρότερη ή ίση με 350 mg/kg ή εάν η εκατοστιαία αναλογία ερυθροδιολής και σφβαλλής είναι μικρότερη ή ίση με 3,5%.

(*) Η όταν η διάμεση τιμή των ελαττωμάτων είναι μεγαλύτερη από 3,5 ή όταν αυτή είναι μικρότερη ή ίση με 3,5 και η διάμεση τιμή του φρουτοδότης ισούται με 0.

(†) Τα έλαια με περιεκτικότητα σε κηρούς μεταξύ 300 και 350 mg/kg θεωρούνται ακατέργαστα πιρηνέλαια, εάν η περιεκτικότητά σε ολικές αλειφαιτικές αλκοόλες υπερβαίνει τα 350 mg/kg και η εκατοστιαία αναλογία ερυθροδιολής και σφβαλλής υπερβαίνει το 3,5%.

Κατηγορία	Σύσταση σε λιπαρά οξέα (†)						Ολική ισομερή του trans-λινολεϊκού + trans-λινολενικού οξέος (%)	Σύσταση σε στερόλες							
	Μυριστικό (%)	Λινολεϊκό (%)	Αραχιδικό (%)	Εικοσενικό (%)	Βεζενικό (%)	Λιγνοκερικό (%)		Ολική ισομερή του trans-λινολεϊκού + trans-λινολενικού οξέος (%)	Χοληστερόλη (%)	Βραστικοστερόλη (%)	Καμπεστερόλη (%)	Στηνμαστιάδινα (%)	Φαινόμενη β-στυστερόλη (%) (‡)	δ-7 Στυμιαστένολη (%) (‡)	Ολικές στερόλες (mg/kg)
1. Εξάρετικο παρθένο ελαιόλαδο	≤ 0,03	≤ 1,00	≤ 0,60	≤ 0,40	≤ 0,20	≤ 0,20	≤ 0,05	≤ 0,5	≤ 0,1	≤ 4,0	< καμπ.	≥ 93,0	≤ 0,5	≥ 1 000	≤ 4,5
2. Παρθένο ελαιόλαδο	≤ 0,03	≤ 1,00	≤ 0,60	≤ 0,40	≤ 0,20	≤ 0,20	≤ 0,05	≤ 0,5	≤ 0,1	≤ 4,0	< καμπ.	≥ 93,0	≤ 0,5	≥ 1 000	≤ 4,5
3. Ελαιόλαδο λαμπάντε	≤ 0,03	≤ 1,00	≤ 0,60	≤ 0,40	≤ 0,20	≤ 0,20	≤ 0,10	≤ 0,5	≤ 0,1	≤ 4,0	—	≥ 93,0	≤ 0,5	≥ 1 000	≤ 4,5 (‡)
4. Εξευγενισμένο ελαιόλαδο	≤ 0,03	≤ 1,00	≤ 0,60	≤ 0,40	≤ 0,20	≤ 0,20	≤ 0,30	≤ 0,5	≤ 0,1	≤ 4,0	< καμπ.	≥ 93,0	≤ 0,5	≥ 1 000	≤ 4,5

Πίνακας 3.2-γ: Παράρτημα Ι του Καν. 2568/91, ενοποιημένος/01.03.2014 με τις τιμές των φυσικοχημικών χαρακτηριστικών όλων των κατηγοριών ελαιολάδου .

Κατηγορία	Σύσταση σε λιπαρά οξέα (1)						Ολική ισομερή του trans-λινελαϊκού + trans-λινολενικού οξέος (%)	Σύσταση σε στερόλες					Ερυθροδιόλη και ουβαόλη (%) (**)		
	Μυριστικό (%)	Λινολενικό (%)	Αραχιδικό (%)	Εικοσενικό (%)	Βεγενικό (%)	Λιγνοπριλικό (%)		Ολική ισομερή του trans-λινελαϊκού οξέος (%)	Χοληστερόλη (%)	Βρασιδικστερόλη (%)	Καμπεστερόλη (%)	Στημαστερόλη (%)		Φαινόμενη β-σιτοστερόλη (%) (2)	δ-7 Στημαστερόλη (%) (2)
5. Σύνθετο ελαιόλαδο αποτελούμενο εξευγενισμένα παρθένα ελαιόλαδα	≤ 0,03	≤ 1,00	≤ 0,60	≤ 0,40	≤ 0,20	≤ 0,20	≤ 0,20	≤ 0,30	≤ 0,5	≤ 0,1	≤ 4,0	≥ 93,0	≤ 0,5	≥ 1 000	≤ 4,5
6. Ακατέργαστο πυρηνέλιο	≤ 0,03	≤ 1,00	≤ 0,60	≤ 0,40	≤ 0,30	≤ 0,20	≤ 0,20	≤ 0,10	≤ 0,5	≤ 0,2	≤ 4,0	≥ 93,0	≤ 0,5	≥ 2 500	> 4,5 (3)
7. Εξευγενισμένο πυρηνέλιο	≤ 0,03	≤ 1,00	≤ 0,60	≤ 0,40	≤ 0,30	≤ 0,20	≤ 0,40	≤ 0,35	≤ 0,5	≤ 0,2	≤ 4,0	≥ 93,0	≤ 0,5	≥ 1 800	> 4,5
8. Πυρηνέλιο	≤ 0,03	≤ 1,00	≤ 0,60	≤ 0,40	≤ 0,30	≤ 0,20	≤ 0,40	≤ 0,35	≤ 0,5	≤ 0,2	≤ 4,0	≥ 93,0	≤ 0,5	≥ 1 600	> 4,5

(1) Περιεκτικότητα σε όλα λιπαρά οξέα (%): πολυμυτικό: 7,50-20,00· παλμιτικό: 0,30-3,50· δεκαπεντανοϊκό: ≤ 0,30· δεκαεπτανοϊκό: ≤ 0,30· στατικό: 0,50-5,00· ελαϊκό: 55,00-83,00· λινολεϊκό: 3,50-21,00.

(2) Βλ. προσάρτημα του παρόντος παραρτήματος.

(3) Φαινόμενη β-σιτοστερόλη: δ-5,23-στημαστερόλη + β-σιτοστερόλη + ελεροστερόλη + β-σιτοστερόλη - σιτοστερόλη - σιτοστερόλη + δ-5-αβενιαστερόλη + δ-5,24-στημαστερόλη.

(4) Τα έλαια με περιεκτικότητα σε κηρούς μεταξύ 300 και 350 mg/kg θεωρούνται ελαιόλαδα λαμψάντε, εάν η περιεκτικότητα σε ολικές αλειφατικές αλκοόλες είναι μικρότερη ή ίση με 350 mg/kg ή εάν η εκατοστιαία αναλογία ερυθροδιόλης και ουβαόλης είναι μικρότερη ή ίση με 3,5%.

(5) Τα έλαια με περιεκτικότητα σε κηρούς μεταξύ 300 και 350 mg/kg θεωρούνται ακατέργαστα πυρηνέλια, εάν η περιεκτικότητα σε ολικές αλειφατικές αλκοόλες υπερβαίνει τα 350 mg/kg και η εκατοστιαία αναλογία ερυθροδιόλης και ουβαόλης υπερβαίνει το 3,5%.

Σημειώσεις:

α) Τα αποτελέσματα των αναλύσεων πρέπει να εκφράζονται με τον αριθμό δεκαδικών ψηφίων που προβλέπεται για κάθε χαρακτηριστικό. Το τελευταίο αριθμητικό ψηφίο πρέπει να αυξάνεται κατά μία μονάδα, εάν το επόμενο ψηφίο είναι μεγαλύτερο από 4.

β) Αρκεί έστω και ένα χαρακτηριστικό να μην ανταποκρίνεται στις αναγραφόμενες τιμές για να καταταχθεί το ελαιόλαδο σε άλλη κατηγορία ή να δηλωθεί ότι δεν είναι καθαρό για τους σκοπούς του παρόντος κανονισμού.

γ) Τα αναφερόμενα στην ποιότητα του ελαιολάδου χαρακτηριστικά που σημειώνονται με αστερίσκο (*) υποδηλώνουν ότι: - προκειμένου για ελαιόλαδο λαμψάντε, τα δύο σχετικά όρια μπορούν να διαφέρουν συγχρόνως από τις αναγραφόμενες τιμές, - προκειμένου για παρθένο ελαιόλαδο, η διαφορά ενός τουλάχιστον από τα όρια αυτά από τις αναγραφόμενες τιμές συνεπάγεται αλλαγή κατηγορίας, το ελαιόλαδο όμως εξακολουθεί να κατατάσσεται σε μία από τις κατηγορίες παρθένο ελαιόλαδου.

δ) Τα χαρακτηριστικά που σημειώνονται με διπλό αστερίσκο (**) υποδηλώνουν ότι, για όλα τα είδη πυρηνελαίων, τα δύο σχετικά όρια μπορούν να διαφέρουν συγχρόνως από τις αναγραφόμενες τιμές.

Πίνακας 3.2.6 Παράρτημα Ι του Καν. 2568/91, ενοποιημένος/01.03.2014 με τις τιμές των φυσικοχημικών χαρακτηριστικών όλων των κατηγοριών ελαιολάδου .

3.4.2. Κριτήρια Ποιότητας

Η ποιότητα του ελαιολάδου επηρεάζεται σημαντικά από πληθώρα παραγόντων, που είναι δυνατό να επιδρούν ακόμη και κατά το στάδιο ανάπτυξης του καρπού, κατά την επαφή του με παράσιτα, μικροοργανισμούς, υγρασία, οξυγόνο, έντονο φως, θερμοκρασία και προσδιορίζεται με την μέτρηση ορισμένων φυσικοχημικών παραμέτρων όπως η οξύτητα, ο αριθμός υπεροξειδίων και η απορρόφηση στο υπεριώδες (K₂₇₀/K₂₃₂/ΔK). Για τα παρθένα ελαιόλαδα στα κριτήρια ποιότητας συμπεριλαμβάνεται και η οργανοληπτική αξιολόγηση.

3.4.2.1. Οργανοληπτική αξιολόγηση παρθένων ελαιολάδων

Οργανοληπτική αξιολόγηση είναι η ανίχνευση και περιγραφή των ποιοτικών και ποσοτικών οσφραντικο-γευστικών χαρακτηριστικών του παρθένου ελαιολάδου, χρησιμοποιώντας τις ανθρώπινες αισθήσεις και η ταξινόμηση αυτού σύμφωνα με τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά.

Η οργανοληπτική αξιολόγηση του ελαιολάδου γίνεται βάσει των γενικών κανόνων όπως έχει καθορισθεί από τον ΙΟΟC (International Olive Oil Council –Διεθνής οργανισμός Ελαιολάδου) και περιγράφεται στον κανονισμό 2568/91 . Χρησιμοποιείται μία ομάδα 8-12 δοκιμαστών επιλεγμένων, εκπαιδευμένων και ελεγχόμενων και εφαρμόζεται μόνον για την ταξινόμηση των παρθένων ελαιολάδων, σύμφωνα με την αντιλαμβανόμενη ένταση του επικρατέστερου ελαττώματος και την παρουσία ή όχι του φρουτώδους. Οι κριτές πρέπει να είναι σε θέση να αποδώσουν την παρουσία διαφόρων θετικών/αρνητικών χαρακτηριστικών στο ελαιόλαδο, καθώς και να καταγράψουν την ένταση του κάθε χαρακτηριστικού, σε μια μη βαθμονομημένη κλίμακα μήκους 100 mm, που κυμαίνεται από το 0 έως το 10. Τα δεδομένα της έντασης υποβάλλονται σε στατιστική επεξεργασία, για να υπολογιστεί η διάμεση τιμή για κάθε θετική/αρνητική ιδιότητα.

Τα τριγλυκερίδια είναι υπεύθυνα για την λιπαρή αίσθηση στην αφή και στο στόμα. Τα κορεσμένα λιπαρά οξέα είναι συνήθως στερεά, ενώ τα ακόρεστα υγρά. Το σπουδαιότερο όμως κλάσμα στο οποίο οφείλονται οι γευστικο-οσφραντικές ιδιότητες του ελαιολάδου είναι το ασαπωνοποίητο κλάσμα κυρίως στα : υδρογονάνθρακες, αλδεΐδες, αλκοόλες, κετόνες, εστέρες, κλπ. Τέλος, το χρώμα του καθορίζεται από τις περιεχόμενες χρωστικές ουσίες (καροτένια, χλωροφύλλες κλπ.).

Στην Ευρωπαϊκή νομοθεσία (Καν(ΕΚ) 796/02, 2002), που υιοθέτησε την εισήγηση του ΙΟΟC, προβλέπονται τα παρακάτω για τις γευστικές ιδιότητες:

Θετικές οργανοληπτικές ιδιότητες:

- _ Φρουτώδες
- _ Πικρό
- _ Πικάντικο

Αρνητικές οργανοληπτικές ιδιότητες:

- | | |
|-------------------|-------------------------------|
| _ Ατροχάδο/Μούργα | _ Μουχλιασμένο - νοτισμένο |
| _ Πικάντικο | _ Κρασώδες- ξυδάτο/Οξινο-ξινό |

- | | |
|---------------|-------------------|
| _ Μεταλλικό | _ Ψημένο ή καμένο |
| _ Ταγγό | _ Άχυρο — ξύλο |
| _ Χονδροειδές | _ Λιπαντικά |
| _ Απόνερα | _ Άλμη |
| _ Σπάρτο | _ Χωματίλα |
| _ Σκουλήκι | _ Αγγούρι |
| _ Υγρό ξύλο | |

Παράγοντες που επηρεάζουν αρνητικά τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά:

- Παραλαβή του ελαιολάδου από κακής ποιότητας ελαιόκαρπο, ελαιόκαρπο αποθηκευμένο σε κακές συνθήκες, ακατάλληλη αποθήκευση του ελαιολάδου, κακές διαδικασίες κατά την παραγωγή.
- Παρθένα ελαιόλαδα τα οποία προέρχονται από ελαιόκαρπο που δεν ελαιοποιήθηκε άμεσα ή παραλήφθηκε με ακατάλληλες τεχνικές (υψηλές θερμοκρασίες , ακάθαρτο σύστημα ελαιοποίησης, κλπ.) , ελαιόλαδα που αποθηκεύτηκαν σε ακατάλληλους χώρους, αλλά και ελαιόλαδα των οποίων έχει λήξει η διάρκεια ζωής και εμφανίζουν συγκεκριμένα ελαττώματα όπως μούχλα, μούργα , ταγγό κ.α.

Αντίθετα, παρθένο ελαιόλαδο **με θετικά οργανοληπτικά** χαρακτηριστικά παραλαμβάνεται όταν:

- Εφαρμόζονται καλές πρακτικές στην καλλιέργεια, τη συγκομιδή, την αποθήκευση, την έκθλιψη του ελαιοκάρπου και την παραγωγή του ελαιολάδου, αποφεύγοντας την ενζυματική οξείδωση.
- Προστατεύεται το ελαιόλαδο από το φως, την υψηλή θερμοκρασία, τον αέρα και τα ίχνη μεταλλικών στοιχείων, αποφεύγοντας την χημική οξείδωση
- Αποφεύγεται η αποθήκευση του ελαιολάδου για μεγάλο χρονικό διάστημα.

3.4.2.2. Οξύτητα

Ως Ελεύθερη Οξύτητα στο ελαιόλαδο ορίζεται ο προσδιορισμός της περιεκτικότητας του ελαιολάδου σε ελεύθερα λιπαρά οξέα και εκφράζεται σε γραμμάρια ελαϊκού οξέος ανά 100 γραμμάρια ελαιολάδου. Ένα ειδικό ένζυμο, η λιπάση, που βρίσκεται στον καρπό της ελιάς, δρα λιπολυτικά ειδικά στις θέσεις 1 και 3 των τριγλυκεριδίων και έχει σαν αποτέλεσμα την παραγωγή ελεύθερων λιπαρών οξέων (που είναι υπεύθυνα για την οξύτητα στο ελαιόλαδο) και μονο- και δι- γλυκεριδίων.

Παράγοντες που επηρεάζουν την ελεύθερη οξύτητα

Η εφαρμογή καλής βιομηχανικής πρακτικής κατά την διάρκεια παραγωγής του ελαιολάδου, έχει σαν αποτέλεσμα την παραλαβή ελαιολάδου με χαμηλή οξύτητα. Υψηλότερη οξύτητα αποκτούν τα ελαιόλαδα όταν ο ελαιόκαρπος έχει αποθηκευτεί για παρατεταμένο χρονικό διάστημα, όπου διευκολύνεται η ανάπτυξη ικανού αριθμού

μικροοργανισμών, με αποτέλεσμα την αύξηση της υδρόλυσης των γλυκεριδίων και την παραγωγή ελεύθερων λιπαρών οξέων. Παράλληλα, σε μικρότερο ποσοστό, παράγονται λιπαρά οξέα μικράς αλυσίδας (οξικό, προπιονικό, βουτυρικό, ισοβουτυρικό κ.ά.), τα οποία μαζί με άλλες δυσάρεστες στην οσμή ουσίες, αποδίδουν στο έλαιο χαρακτηριστική οσμή που είναι γνωστή και ως ατροχάδο (Suarez M. , 1975 / Κυριτσάκης Α., 1993,ι) .

Η υδρόλυση των τριγλυκεριδίων, αποτέλεσμα της οποίας είναι η αύξηση της οξύτητας του ελαιολάδου, μπορεί να επηρεαστεί από πολλούς παράγοντες μεταξύ των οποίων είναι: ο βαθμός ωρίμανσης, η υγρασία, η θερμοκρασία, τα ένζυμα και οι μικροοργανισμοί. Η επαφή των τριγλυκεριδίων με το νερό, έχει σαν συνέπεια την υδρόλυση. Συνεπώς, η επίδραση υψηλής υγρασίας δημιουργεί προβλήματα, τόσο άμεσα καθώς προάγει τη διαδικασία της υδρόλυσης, όσο και έμμεσα υποβοηθώντας τη δράση των λιπολυτικών ενζύμων και μικροοργανισμών (Suarez M. 1975 / Michelakis S., 1990) .

Η λιπάση δρα λιπολυτικά στον καρπό της ελιάς, ειδικότερα στις κυψελίδες που έχουν καταστραφεί. Επιπλέον, η λιπολυτική της δράση αυξάνεται σημαντικά σε θερμοκρασίες μεταξύ 35 και 40 °C, ενώ μειώνεται με την πτώση της θερμοκρασίας.

Η υδρόλυση λαμβάνει χώρα κατά κύριο λόγο πριν την εξαγωγή του ελαιολάδου. Συνεπώς, η οξύτητα εξαιτίας αυτής μεταβάλλεται πολύ λίγο μετά την εξαγωγή του από τον ελαιόκαρπο.

Με βάση τα όσα προαναφέρθηκαν, **είναι δυνατό να παραχθούν ελαιόλαδα χαμηλής οξύτητας όταν:**

- Ο ελαιόκαρπος είναι υγιής, χωρίς να έχουν καταστραφεί οι κυψελίδες, χωρίς να έχει εντομολογικές προσβολές (Kiritsakis A. *et al*, 1984).
- Ο χρόνος παραμονής του ελαιοκάρπου μετά τη συγκομιδή του μέχρι τη μεταφορά του στο ελαιοτριβείο, καθώς και ο χρόνος παραμονής αυτού στο ελαιοτριβείο περιοριστούν στο ελάχιστο.
- Η αποθήκευση του ελαιοκάρπου στο ελαιοτριβείο να γίνεται σε δροσερό, καλά αεριζόμενο και προστατευμένο χώρο (αποφυγή υγρασίας και άλλων δυσμενών συνθηκών).

3.4.2.3. Αριθμός υπεροξειδίων

Τα υπεροξείδια είναι χημικές ενώσεις που δημιουργούνται από την επίδραση του οξυγόνου στο ελαιόλαδο. Ο αριθμός των υπεροξειδίων οφείλεται στα υδροϋπεροξείδια, τα οποία είναι προϊόντα του πρωτογενούς σταδίου οξειδωσης των ακόρεστων λιπαρών οξέων των τριγλυκεριδίων. Όταν το ελαϊκό οξύ ή οι εστέρες του οξειδωθούν, σχηματίζονται τέσσερα υδροϋπεροξείδια σε ίσες ποσότητες (Dugan L.R. , 1976) . Τα κορεσμένα λιπαρά του ελαιόλαδου οξειδώνονται όταν εκτεθούν σε δραστικές συνθήκες κι αφού έχουν οξειδωθεί το ελαϊλό οξύ και τα άλλα ακόρεστα οξέα του.

Η οξειδωση μπορεί να είναι ενζυματική ή χημική.

Η ενζυματική οξειδωση οφείλεται στην δράση των λιποξειδασών, ενζύμων που υπάρχουν στον ελαιόκαρπο. Όταν το ελαιόλαδο διαχωρίζεται από τα απόνερα στο

ελαιοτριβείο, αυτά τα ένζυμα που είναι υδατοδιαλυτές πρωτεΐνες απομακρύνονται με τα απόνερα. Με αυτό τον τρόπο το ελαιόλαδο παύει να υπόκειται στην δράση των ενζύμων.

Η χημική οξείδωση γίνεται κατά την διάρκεια της συντήρησης του ελαιολάδου μέσω ενός μηχανισμού σχηματισμού ελεύθερων ριζών.

Τα υψηλά υπεροξειδία υποδηλώνουν ότι το ελαιόλαδο έχει υποστεί οξειδωτικές ή άλλες αλλοιώσεις και συνδέονται με μείωση της διάρκειας ζωής του. Συνεπώς, ο προσδιορισμός της συγκέντρωσης των υπεροξειδίων μας επιτρέπει την εξαγωγή συμπερασμάτων για την ηλικία και το είδος της αποθήκευσης (υπό τις ενδεδειγμένες ή μη συνθήκες) του ελαιολάδου.

Παράγοντες που επηρεάζουν το αριθμό υπεροξειδίων

Η εφαρμογή ορθών γεωργικών πρακτικών κατά την καλλιέργεια και συγκομιδή, η τήρηση ορθών πρακτικών αποθήκευσης, καθώς και η εφαρμογή των κανόνων ορθής βιομηχανικής πρακτικής καθ' όλη τη διαδικασία παραγωγής του ελαιολάδου στο ελαιοτριβείο, προάγουν την παραγωγή ελαιολάδου με χαμηλό αριθμό υπεροξειδίων. Τα ένζυμα της λιποξειδάσης δρουν οξειδωτικά όσο υπάρχει επαφή ανάμεσα στο λάδι και στα απόνερα, είτε λόγω του ότι οι κυψελίδες έχουν σπάσει κατά συγκομιδή και αποθήκευση ή κατά την διάρκεια του σπασίματος και των λειτουργιών της αλέσεως. Η δράση των λιποξειδασών ποικίλλει ανάλογα με την θερμοκρασία, αλλά αυτά τα ένζυμα είναι ενεργά ακόμη και στους $-40\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Η χημική οξείδωση ευνοείται από το φως, την υψηλή θερμοκρασία, την παρουσία οξυγόνου (Κυριτσάκης Α., 2007,κ) και μεταλλικών στοιχείων (Fedeli *et al* 1973).

Με βάση τα όσα προαναφέρθηκαν, **είναι δυνατό να παραχθούν ελαιόλαδα με χαμηλό αριθμό υπεροξειδίων όταν:**

- Εφαρμόζονται καλές πρακτικές στην καλλιέργεια, τη συγκομιδή, την αποθήκευση, την έκθλιψη του ελαιοκάρπου και την παραγωγή του ελαιολάδου, αποφεύγοντας την ενζυματική οξείδωση.
- Το ελαιόλαδο προστατεύεται από το φως, την υψηλή θερμοκρασία, τον αέρα και τα ίχνη μεταλλικών στοιχείων, αποφεύγοντας τη χημική οξείδωση.

3.4.2.4. Φασματοφωτομετρική εξέταση στο υπεριώδες

Η φασματοφωτομετρική εξέταση στο υπεριώδες είναι οι απορροφήσεις στα μήκη κύματος 232nm και 270nm, συμβατικά παριστώμενες με Κ. Ο δείκτης ΔΚ ορίζεται ως μαθηματική σχέση υπολογισμού συντελεστών απορρόφησης υπεριώδους ακτινοβολίας.

Οι Bartolomeo D. και Sergio R. (1969) παρατήρησαν ότι ορισμένα πρωτογενή προϊόντα οξείδωσης του ελαιολάδου παρουσιάζουν μέγιστο απορρόφησης σε μήκος κύματος 232nm, ενώ ορισμένα δευτερογενή προϊόντα οξείδωσης του ελαιολάδου παρουσιάζουν μέγιστο απορρόφησης σε μήκος κύματος 270 nm. Επομένως:

Η απορρόφηση στα 232nm οφείλεται στα:

- Υδροϋπεροξειδία, τα οποία παράγονται σε ένα πρωταρχικό στάδιο οξείδωσης.
- Συζυγή διένια, τα οποία παράγονται σε μια ενδιάμεση κατάσταση οξείδωσης.

(Η τιμή του συντελεστή απορρόφησης K_{232} αυξάνεται όταν ο ελαιόκαρπος αποθηκεύεται για πολλές ημέρες μέχρι την έκθλιψή του και το ελαιόλαδο έχει αποθηκευτεί σε ακατάλληλες συνθήκες).

Η απορρόφηση στα 270nm οφείλεται στις:

- Καρβονυλικές ομάδες (κετόνες και αλδεΐδες), οι οποίες είναι δευτερογενή προϊόντα οξειδωσης.
- Συζυγή τριένια, τα οποία παράγονται όταν το ελαιόλαδο υποβάλλεται σε βιομηχανική επεξεργασία.

Η τιμή του συντελεστή απορρόφησης K_{270} εξαρτάται από το πόσο φρέσκο είναι το ελαιόλαδο. Παλαιά ελαιόλαδα ή μείγματα με παλαιά ελαιόλαδα έχουν αυξημένες τιμές του K_{270} . Επιπλέον, η τιμή του K_{270} είναι πολύ χαμηλή αμέσως μετά την εμφιάλωση και αυξάνεται με την πάροδο της ηλικίας του ελαιολάδου. Η έκθεση του ελαιολάδου στην ηλιακή ακτινοβολία ή σε υψηλές θερμοκρασίες επιταχύνουν την πρόοδο της γήρανσης.

Η απορρόφηση στα 270nm και ο δείκτης ΔΚ, εκτός από κριτήρια ποιότητας μπορούν να χρησιμοποιηθούν και ως κριτήρια γνησιότητας.

Η Σταθερά ΔΚ (ή ο δείκτης ΔΚ):

Ο δείκτης ΔΚ είναι κριτήριο διάκρισης της ποιότητας και καθαρότητας των ελαιολάδων. Για τον προσδιορισμό αυτού του δείκτη συνδυάζονται οι τιμές K_{270} και K_{232} σε έναν τύπο φυσικής και συγκρίνονται με μία τιμή εξαιρετικού παρθένου ελαιολάδου. Η τιμή ΔΚ μπορεί σε περίπτωση διαφορών να είναι θετική ή αρνητική.

Πρακτική σημασία: **Η Σταθερά δείχνει κάθε ανάμιξη με άλλο ελαιόλαδο, που δεν είναι "εξαιρετικό παρθένο".**

Παράγοντες που επηρεάζουν την απορρόφηση στο υπεριώδες, σαν κριτήριο ποιότητας Λαμβάνοντας υπ' όψιν το γεγονός ότι οι ουσίες που είναι υπεύθυνες για την απορρόφηση στο υπεριώδες (ως κριτήριο ποιότητας), είναι προϊόντα οξειδωτικών αντιδράσεων, είναι προφανές ότι ο αέρας, το φως, η θερμοκρασία και τα ίχνη μεταλλικών στοιχείων είναι παράγοντες που επηρεάζουν την απορρόφηση στο υπεριώδες (Κυριτσάκης Α., 2007,κ, Fedeli *et al*, 1973).

Συνεπώς, η παρατεταμένη αποθήκευση του ελαιολάδου πρέπει να αποφεύγεται, ενώ κατά τη διάρκεια της αποθήκευσής του θα πρέπει να λαμβάνεται μέριμνα ώστε το ελαιόλαδο:

- να προστατεύεται από το φώς.
- να προστατεύεται από τον αέρα.
- να μεταγγίζεται προσεκτικά κατά τη διαδικασία απομάκρυνσης του στερεού

υπολείμματος που έχει κατακαθίσει, αποφεύγοντας επαφή με τον αέρα και έκθεση στο φως.

- να μην αποθηκεύεται σε σιδερένια βαρέλια.
- να φυλάσσεται σε καθαρούς και δροσερούς χώρους.
- να αποθηκεύεται σε γυάλινους περιέκτες, που θα φυλάσσονται σε σκοτεινό μέρος.

3.4.3. Κριτήρια Γνησιότητας

Προκειμένου να συλλεχθούν πληροφορίες σχετικές με την γνησιότητα του ελαιολάδου, προσδιορίζονται διάφορες παράμετροι ελέγχου, οι οποίες χαρακτηρίζονται ως κριτήρια γνησιότητας, όπου μέσω αυτών ανιχνεύεται η παρουσία σπορελαίων ή άλλων ξένων ελαίων στο υπό εξέταση ελαιολάδο. Η ανίχνευση στηρίζεται στις διαφορές που υπάρχουν στην σύνθεση των ελαιολάδων και του προστιθέμενου άλλου ελαίου. Η προστασία της αυθεντικότητας του ελαιολάδου επιτυγχάνεται με την χρήση μεγάλου αριθμού κριτηρίων γνησιότητας

(Παράρτημα I του Κανονισμού 2568/91 (πίνακες 3.2.α, 3.2.β, 3.2.γ, 3.2.δ/http://www.efet.gr/portal/page/portal/efetnew/enterprises/enterprises_info).

Τα κριτήρια γνησιότητας μπορούν να ταξινομηθούν σε 3 κατηγορίες, σύμφωνα με την χρήση τους στον έλεγχο της αυθεντικότητας, όπως καταγράφονται στον Πίνακα 3.3. :

Κατηγορία I: Ανίχνευση άλλων φυτικών ελαίων	Κατηγορία II Ανίχνευση πυρηνελαίων	Κατηγορία III Ανίχνευση ραφινარიσμένων ελαίων
<ul style="list-style-type: none">• Προσδιορισμός ασαπωνοποιήτου κλάσματος• Προσδιορισμός στερολών• Προσδιορισμός λιπαρών οξέων• Προσδιορισμός trans λιπαρών οξέων• Προσδιορισμός ΔΕCΝ42• Προσδιορισμός κεκορεσμένων οξέων στην β-θέση των τριγλυκεριδίων	<ul style="list-style-type: none">• Προσδιορισμός ερυθροδιόλης και ουβαόλης• Προσδιορισμός αλειφατικών αλκοολών• Προσδιορισμός κηρών	<ul style="list-style-type: none">• Απορρόφηση στο υπεριώδες• Προσδιορισμός trans λιπαρών οξέων• Προσδιορισμός στιγμασταδιενίου

Πίνακας 3.3.: κατηγορίες κριτηρίων γνησιότητας του ελαιολάδου

3.4.4. Κριτήρια Επιμολύνσεων

Αφορούν την μη υπέρβαση της επιτρεπόμενης ποσότητας των επιτρεπόμενων φυτοπροστατευτικών σκευασμάτων, όπως καθορίζονται από τους ισχύοντες κανονισμούς της Ευρωπαϊκής ένωσης (Κανονισμός 396/2005).

Επίσης αφορά σε έλεγχο για παρουσία ξένων σωμάτων, άρα την σωστή τήρηση του HACCP κατά την παραγωγική διαδικασία

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4^ο. ΟΞΕΙΔΩΣΗ ΕΛΑΙΩΝ

Διαιτητικά λίπη, που απαντώνται εκ φύσεως σε πρώτες ύλες τροφίμων ή προστίθενται κατά τη διάρκεια της επεξεργασίας των τροφίμων, παίζουν σημαντικό ρόλο στη διατροφή και τη γεύση. Εν τω μεταξύ, η οξείδωση των λιπιδίων είναι μια σημαντική αιτία της επιδείνωσης της ποιότητας των τροφίμων και ήταν μια πρόκληση τόσο για τους παρασκευαστές, όσο και για τους επιστήμονες τροφίμων.

4.1. ΟΡΙΣΜΟΣ ΟΞΕΙΔΩΣΗΣ ΛΙΠΙΔΙΩΝ

Τα λιπίδια (λιπαρά οξέα, τριγλυκερίδια, κλπ) υφίστανται αντίδραση οξειδοαναγωγής, αντίδραση με οξειδωτικούς παράγοντες / οξειδωτικά. Σε γενικές γραμμές εμφανίζουν προσθήκη "οξυγόνου" ή απώλεια "υδρογόνου" και μετατρέπονται σε «οξειδωμένη μορφή». Η ύπαρξη των ακόρεστων λιπαρών οξέων σε έλαια και λίπη, είναι η αιτία για την οξείδωση των λιπιδίων. Ανάλογα με την μορφή του προϊόντος, η οξείδωση των λιπιδίων περιλαμβάνει οξείδωση των βαρέων ελαίων (μαγειρικό λάδι) και οξείδωση των λιπιδίων σε προϊόντα γαλακτώματος (γαλάκτωμα, όπως βουτύρου και μαργαρίνης, γαλάκτωμα όπως το γάλα, το παγωτό, σούπα, σάλτσες, μαγιονέζα, κλπ).

Ανάλογα με τον μηχανισμό και τις συνθήκες κάτω από τις οποίες διεξάγεται, η οξείδωση των λιπιδίων μπορεί να καταταχθεί στις ακόλουθες κατηγορίες: αυτο-οξείδωση, φωτοοξείδωση, θερμική οξείδωση και ενζυματική οξείδωση, οι περισσότερες εκ των οποίων αφορούν κάποιο είδος ελεύθερης ρίζας ή οξυγόνου (Vercellotti J.R. *et al*, 1992).

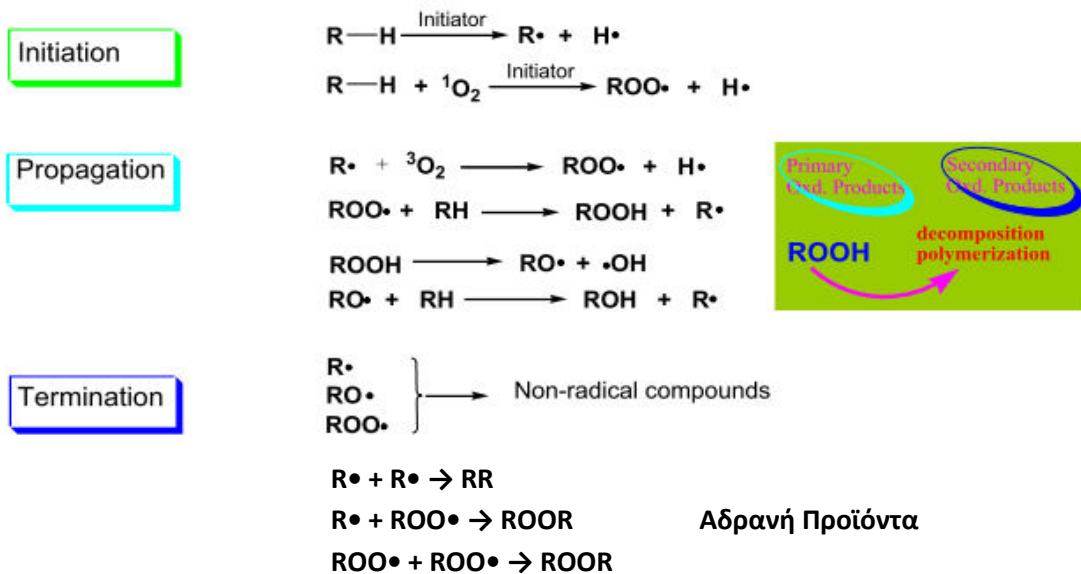
Οι εξωτερικοί παράγοντες που επηρεάζουν την οξείδωση των λιπιδίων μπορεί να είναι: το οξυγόνο, το φως (φωτο-οξείδωση), τη θερμότητα (αυτο-οξείδωση), οι Ευαισθητοποιητές (χρωστικές ουσίες, κλπ φωτοοξείδωση), τα ένζυμα (οξείδωση λιποξυγενάσης), τα μεταλλικά ιόντα (όλοι οι τρόποι οξείδωσης), οι Μεταλλοπρωτεΐνες, οι μικροοργανισμοί, κ.λπ. . Οδηγούν στην ανάπτυξη των δυσάρεστων οσμών και την απώλεια ουσιαδών αμινοξέων, λιποδιαλυτών βιταμινών κι άλλων βιοδραστικών.

4.2. ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΣ ΟΞΕΙΔΩΣΗΣ ΛΙΠΙΔΙΩΝ

Σε γενικές γραμμές, η οξείδωση των λιπιδίων περιλαμβάνει 3 στάδια (Kamal-Eldin A. *et al*, 2003):

- **έναρξη/ εκκίνηση/ Initiation** (το ακόρεστο λιπαρό οξύ αντιδρά με τον εκκινητή για τη δημιουργία ρίζας),
- **διάδοση/ Propagation** (η ρίζα αντιδρά με άλλα λιπαρά οξέα για να εξαπλωθεί σαν αλυσιδωτή αντίδραση) και
- **τερματισμός/ Termination** (υψηλής συγκέντρωσης ρίζες που αλληλεπιδρούν μεταξύ τους για την δημιουργία μη ριζικών ενώσεων).

Το πρωτογενές προϊόν οξείδωσης που σχηματίζεται στο πρώτο στάδιο, μπορεί να αποσυντεθεί περαιτέρω (σχηματίζει μικρότερες πτητικές ενώσεις όπως αλδεΐδες, κετόνες, αλκοόλες, κλπ) ή να πολυμερισθεί (δημιουργία διμερών ή ολιγομερών) (σχήμα 4.1.).



Σχήμα 4.1.: Γενικός μηχανισμός οξείδωσης των λιπιδίων: Όπου **RH** = λιπαρό οξύ, **R•, ROO•** = ελεύθερες ρίζες, **ROOH** = υπεροξειδία, **RR, ROOR** = προϊόντα τελικής αντίδρασης

Η Αυτο-οξείδωση είναι η πιο κοινή διαδικασία, που οδηγεί σε οξειδωτική αλλοίωση και ορίζεται ως η αυθόρμητη αντίδραση του ατμοσφαιρικού οξυγόνου με τα λιπίδια (Gordon M., 2001,a). Η διαδικασία μπορεί να επιταχυνθεί σε υψηλότερες θερμοκρασίες, όπως αυτές που σημειώνονται κατά την διάρκεια τηγανίσματος και ονομάζεται θερμική οξείδωση, με αυξήσεις σε περιεχόμενο ελεύθερων λιπαρών οξέων και πολικής ύλης, αφρού, χρώματος και το ιξώδους (Perkins E. G., 1992). Τα ακόρεστα λιπαρά οξέα είναι γενικά αυτά που επηρεάζονται από τέτοιες αντιδράσεις και είτε απαντώνται ως ελεύθερα λιπαρά οξέα, τριγλυκερίδια (καθώς ως διγλυκερίδια ή μονοακυλγλυκερίνες), είτε ως φωσφολιπίδια (Gordon M., 2001,a). Έχει γίνει δεκτό ότι τόσο η αυτο-οξείδωση, όσο και η θερμική οξείδωση των ακόρεστων λιπαρών οξέων, λαμβάνει χώρα μέσω μιας ελεύθερης ριζικής αλυσιδωτής αντίδρασης, η οποία προχωρά μέσα από τα τρία ανωτέρω στάδια.

Καθώς η οξείδωση προχωρά κανονικά πολύ αργά κατά το αρχικό στάδιο, ο χρόνος που απαιτείται για να φθάσει σε ξαφνική αύξηση ο ρυθμός οξείδωσης αναφέρεται ως η περίοδος επαγωγής (Velasco J. *et al*, 2004). Λιπαρά υδροϋπεροξειδία έχουν ταυτοποιηθεί ως πρωτογενή προϊόντα της αυτο-οξείδωσης. Η αποικοδόμηση των υδροϋπεροξειδίων αποδίδει αλδεΐδες, κετόνες, αλκοόλες, υδρογονάνθρακες, πτητικά οργανικά οξέα κι εποξικές ενώσεις, γνωστές ως δευτερογενή προϊόντα οξείδωσης. Αυτές οι ενώσεις, μαζί με ελεύθερες ρίζες, αποτελούν τις βάσεις για τη μέτρηση της οξειδωτικής υποβάθμισης των λιπιδίων των τροφίμων. Αυτό το κεφάλαιο έχει ως στόχο να διερευνήσει τις τρέχουσες μεθόδους για τη μέτρηση της οξείδωσης των λιπιδίων στα λιπίδια των τροφίμων.

4.3. ΜΕΘΟΔΟΙ ΜΕΤΡΗΣΗΣ ΤΗΣ ΟΞΕΙΔΩΣΗΣ ΤΩΝ ΛΙΠΙΔΙΩΝ

Η Οξείδωση των λιπιδίων είναι ένας σημαντικός δείκτης για να υποδηλώσει την ποιότητα των ελαίων και λιπών και τα προϊόντων που περιέχουν λιπίδια, διότι τα οξειδωμένα λιπίδια, όχι μόνο χαλούν την οσμή και την γεύση των προϊόντων, αλλά επίσης δημιουργούν πολλές βλαβερές βιολογικές επιδράσεις για την ανθρώπινη υγεία. Προϊόντα υπεροξείδωσης έχουν επισημανθεί ως επιβλαβή για την υγεία, λόγω αποδεικτικών στοιχείων για καρκινογενέσεις και αθηρωματικές διαταραχές, για την μεταβολή της σύνθεσης των κυτταρικών μεμβρανών ή για την μείωση στις λιποπρωτεΐνες υψηλής πυκνότητας.

Ως εκ τούτου, η παρακολούθηση της οξείδωσης των λιπιδίων και των επιπέδων της, καθώς και η παρακολούθηση της προόδου της οξείδωσης των λιπιδίων, είναι η καθημερινή μέριμνα των εταιρειών παραγωγής λιπών. Η ανάπτυξη γρήγορων, αξιόπιστων, εύκολων και ακριβών προηγμένων τεχνικών, είναι επίσης ένας σημαντικός τομέας της έρευνας.

Πολλές αναλυτικές μέθοδοι χρησιμοποιούνται για τη μέτρηση της οξείδωσης των λιπιδίων στα τρόφιμα. Ωστόσο, δεν υπάρχει ενιαία και τυποποιημένη μέθοδος για την ανίχνευση όλων των οξειδωτικών αλλαγών σε όλα τα συστήματα τροφίμων, επομένως, είναι απαραίτητο να επιλέγουμε μια σωστή και κατάλληλη μέθοδο για την κάθε συγκεκριμένη εφαρμογή.

Οι διαθέσιμες μέθοδοι για την παρακολούθηση της οξείδωσης των λιπιδίων στα τρόφιμα, μπορούν να ταξινομηθούν σε πέντε ομάδες, με βάση το τι μετράται: η απορρόφηση του οξυγόνου, η απώλεια των αρχικών υποστρωμάτων, ο σχηματισμός ελεύθερων ριζών, και ο σχηματισμός πρωτογενών και δευτερογενών προϊόντων οξείδωσης.

Ένας αριθμός φυσικών και χημικών δοκιμών, συμπεριλαμβανομένων των εργαστηριακών αναλύσεων, έχουν χρησιμοποιηθεί στα εργαστήρια και στη βιομηχανία, για τη μέτρηση των διαφόρων παραμέτρων οξείδωσης των λιπιδίων (Shahidi F. *et al*, 2005). Αυτές περιλαμβάνουν:

4.3.1. Μέτρηση Απορρόφησης Οξυγόνου

4.3.1.1. Αύξηση βάρους

Η απορρόφηση του οξυγόνου κατά το αρχικό στάδιο της οξείδωσης, έχει σαν αποτέλεσμα την αύξηση του βάρους του ελαίου ή του λίπους, το οποίο θεωρητικά παραπέμπει στον βαθμό οξείδωσής του. Θερμαίνοντας ένα έλαιο και ελέγχοντας περιοδικά την αύξηση του βάρους, είναι μια από τις παλαιότερες μεθόδους αξιολόγησης της σταθερότητας της οξείδωσης (Antolovich M. *et al*, 2002)

Τα δείγματα αφού προθερμανθούν σε αδρανή ατμόσφαιρα, ζυγίζονται, τοποθετούνται σε κλίβανο χωρίς κυκλοφορία αέρα, θερμαίνονται στην επιθυμητή θερμοκρασία και μετά εξαγονται από τον κλίβανο σε διαφορετικά χρονικά διαστήματα κι αφού κρυώσουν σε θερμοκρασία περιβάλλοντος, επαναζυγίζονται. Η περίοδος επαγωγής μπορεί να ληφθεί με την χάραξη της καμπύλης της αύξησης του βάρους έναντι του χρόνου αποθήκευσης. Σε ορισμένες περιπτώσεις, ο χρόνος που απαιτείται για την επίτευξη αύξησης βάρους κατά 0,5

%, λαμβάνεται ως δείκτης της σταθερότητας ελαίου (Niklova I. *et al*, 2001/ Antolovich M. *et al*, 2002).

Η μέθοδος αυτή είναι χωρίς κόστος εξοπλισμού και προσφέρει υψηλή ικανότητα και ταχύτητα επεξεργασίας των δειγμάτων χωρίς περιορισμούς. Όμως η συνεχής θέρμανση των δειγμάτων μπορεί να δώσει μη επαναλήψιμα αποτελέσματα, είναι χρονοβόρα και απαιτεί συνεχή παρουσία των αναλυτών (Shahidi F. *et al*, 2002). Είναι χρήσιμη μόνο όταν εξετάζονται υψηλά ακόρεστα έλαια, όπως ιχθυέλαια και φυτικά έλαια που περιέχουν υψηλή περιεκτικότητα σε πολυακόρεστα λιπαρά οξέα.

4.3.1.2. Μέθοδος πρόσληψης οξυγόνου του υπερκείμενου χώρου /Headspace Oxygen Uptake

Εκτός από την μέθοδο αύξησης βάρους, η κατανάλωση οξυγόνου μπορεί να μετρηθεί άμεσα με την παρακολούθηση της πτώσης της πίεσης του οξυγόνου. Ένα δείγμα ελαίου τοποθετείται σε ένα κλειστό δοχείο που περιέχει επίσης ορισμένη ποσότητα οξυγόνου, σε υψηλές θερμοκρασίες συνήθως περίπου 100 °C. Η μείωση της πίεσης στο εσωτερικό του δοχείου, η οποία οφείλεται στην κατανάλωση οξυγόνου παρακολουθείται συνεχώς και καταγράφεται αυτόματα. Η περίοδος επαγωγής ως σημείο της μέγιστης αλλαγής στον ρυθμό πρόσληψης του οξυγόνου, μπορεί να υπολογιστεί. Η ονομασία της συσκευής για την εν λόγω μέθοδο είναι ο Oxidograph, όπου η μεταβολή της πίεσης στο δοχείο αντίδρασης μετράται ηλεκτρονικά μέσω μετατροπών πίεσης (Shahidi F. *et al*, 2002/Gordon M., 2001,b). Η κατανάλωση οξυγόνου μπορεί επίσης να μετρηθεί με ηλεκτροχημική ανίχνευση στις αλλαγές στη συγκέντρωση του οξυγόνου. Ωστόσο, η ανάλυση των δεδομένων των γραφημάτων που ελήφθησαν, ήταν το σημείο συμφόρησης για την τεχνική αυτή. Η χρήση μιας ημιαυτόματης πολαρογραφικής μεθόδου έχει προταθεί ως βελτίωση της εν λόγω μεθόδου (Genot C. *et al*, 1994).

Η μέθοδος headspace oxygen είναι απλή και αναπαραγώγιμη και μπορεί να είναι η καλύτερη αναλυτική μέθοδος για την αξιολόγηση της οξειδωτικής σταθερότητας των λιπών και ελαίων. Η εφαρμογή της σε προϊόντα τροφίμων πλην λιπών κι ελαίων είναι περιορισμένη, λόγω του ότι η οξείδωση των πρωτεϊνών επίσης απορροφά οξυγόνο (Melton S. L., 1983).

4.3.2. Μέτρηση αλλαγής Αντιδρώντων

Η οξείδωση των λιπιδίων μπορεί επίσης να αξιολογηθεί με ποσοτική μέτρηση της απώλειας των αρχικών υποστρωμάτων. Σε τρόφιμα που περιέχουν λίπη ή έλαια, τα ακόρεστα λιπαρά οξέα είναι τα κύρια αντιδρώντα, των οποίων η σύνθεση αλλάζει σημαντικά κατά τη διάρκεια της οξείδωσης. Οι αλλαγές αυτές παρέχουν ένα έμμεσο τρόπο μέτρησης της έκτασης της οξείδωσης των λιπιδίων (Melton S. L., 1983). Στη μέθοδο αυτή, οι λιπίδια εκχυλίζονται από τα τρόφιμα, εάν είναι απαραίτητο, και εν συνεχεία μετατρέπονται σε παράγωγα, κατάλληλα για χρωματογραφική ανάλυση. Οι μεθυλεστέρες των λιπαρών οξέων (FAME) είναι τα παράγωγα που χρησιμοποιούνται συχνά για τον προσδιορισμό της σύνθεσης των λιπαρών οξέων, συνήθως με αέρια χρωματογραφία (GC) (Fruhworth G.O. *et al*, 2003). Ομοίως, το

ποσοστό του ιωδίου , το οποίο αντανακλά την απώλεια του κορεσμού, μπορεί επίσης να χρησιμοποιηθεί ως ένας δείκτης της λιπιδικής οξειδωσης(Hudson B. J. F., 1983).

Η μέτρηση των αλλαγών στη σύνθεση λιπαρών οξέων είναι χρήσιμη για την ταυτοποίηση των λιπιδίων και των λιπαρών οξέων που εμπλέκονται σε αντιδράσεις οξειδωσης (Shahidi F. *et al.*, 2002). Ωστόσο, επειδή η κατανομή των ακόρεστων λιπαρών οξέων διαφέρει στα διάφορα συστήματα τροφίμων, ο διαχωρισμός των λιπιδίων σε ουδέτερα λιπίδια, όπως γλυκολιπίδια, φωσφολιπίδια και άλλες κατηγορίες, μπορεί να είναι απαραίτητος (Melton S. L., 1983). Είναι ένας μη ευαίσθητος τρόπος αξιολόγησης και η εφαρμογή αυτής της μεθόδου είναι περιορισμένη, λόγω της αδυναμίας της να χρησιμεύσει ως δείκτης οξειδωσης για περισσότερα κορεσμένα λιπίδια (Shahidi F. *et al.*, 2002). Παρ'όλα αυτά, η χρησιμότητά του για τη μέτρηση της οξειδωσης των υψηλά ακόρεστων ελαίων δεν μπορεί να υποτιμηθεί.

4.3.3. Μέτρηση των Πρωτογενών Προϊόντων οξειδωσης

4.3.3.1. Δείκτης υπεροξειδίων / Peroxide Value (PV)

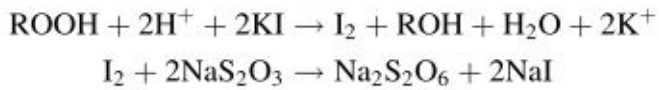
Η οξείδωση των λιπιδίων περιλαμβάνει το συνεχή σχηματισμό υδροϋπεροξειδίων ως πρωταρχικά προϊόντα οξειδωσης, τα οποία μπορούν να διασπώνται σε μια ποικιλία μη-πητικών και πητικών δευτερογενών προϊόντων (Melton S. L., 1983). Ο ρυθμός σχηματισμού των υπεροξειδίων αντισταθμίζει τον ρυθμό της αποσύνθεσής τους κατά τη διάρκεια του αρχικού σταδίου της οξειδωσης, και αντιστρέφεται σε μεταγενέστερα στάδια. Ως εκ τούτου, η τιμή υπεροξειδίου (PV) είναι ένας δείκτης της οξειδωτικής αλλαγής στα αρχικά στάδια. Ωστόσο, μπορεί κανείς να εκτιμήσει αν ένα λιπίδιο είναι στο στάδιο ανάπτυξης ή μείωσης της συγκέντρωσης των υδροϋπεροξειδίων, με την παρακολούθηση της ποσότητας των υδροϋπεροξειδίων ως συνάρτηση του χρόνου (Shahidi F. *et al.*, 2002).

Αναλυτικές μέθοδοι για τη μέτρηση των υδροϋπεροξειδίων σε λίπη και έλαια μπορούν να ταξινομηθούν σε εκείνα που προσδιορίζουν το συνολικό ποσό των υδροϋπεροξειδίων και σε αυτά που βασίζονται σε χρωματογραφικές τεχνικές, δίνοντας λεπτομερείς πληροφορίες σχετικά με τη δομή και την ποσότητα των ειδικών υδροϋπεροξειδίων που υπάρχουν σε ένα συγκεκριμένο δείγμα ελαίων (Dobarganes M. C. *et al*, 2002). Το PV αντιπροσωπεύει τη συνολική περιεκτικότητα υδροϋπεροξειδίων και είναι ένας από τους πιο κοινούς ποιοτικούς δείκτες των λιπών και ελαίων κατά την παραγωγή και την αποθήκευση (Antolovich M. *et al*, 2002) . Ένας αριθμός μεθόδων έχουν αναπτυχθεί για τον προσδιορισμό της PV, μεταξύ των οποίων οι πιο κοινές που χρησιμοποιούνται είναι : η ιωδομετρική τιτλοδότηση, η φασματοφωτομετρική μέτρηση ιόντων τρισθενούς σιδήρου και η υπέρυθη φασματοσκοπία (Yildiz G., 2003) .

4.3.3.1.α. Ιωδομετρική Τιτλοδότηση

Η ιωδομετρική μέθοδος τιτλοδότησης , βασίζεται στην οξείδωση του ιόντος I⁻ από τα υδροϋπεροξειδία (ROOH) και είναι η βάση των πρόσφατων πρότυπων μεθόδων προσδιορισμού του PV (Antolovich M. *et al*, 2002). Στη μέθοδο αυτή, ένα κορεσμένο διάλυμα ιωδιούχου καλίου προστίθεται σε δείγματα ελαίου για να αντιδράσει με τα υδροϋπεροξειδία

. Το ιώδιο που ελευθερώνεται (I₂) τιτλοδοτείται στη συνέχεια με ένα τυποποιημένο διάλυμα θειικού νατρίου και άμυλο ως δείκτη τελικού σημείου (Antolovich M. *et al*, 2002/ Shahidi F. *et al*, 2002). Το PV λαμβάνεται με υπολογισμό και καταγράφεται σε χιλιοστοϊσοδύναμα οξυγόνου ανά χιλιόγραμμο δείγματος (meq / kg). Ο επίσημος προσδιορισμός περιγράφεται κατά IUPAC. Οι χημικές αντιδράσεις που λαμβάνουν χώρα είναι οι ακόλουθες:



Αν και είναι η πιο κοινή μέθοδος για την μέτρηση του PV, έχει αρκετά μειονεκτήματα: η διαδικασία είναι χρονοβόρα και με πολύ εργασία . Όπως περιγράφεται από τους Ruiz *et al*. 2001, η δοκιμασία περιλαμβάνει έξι στάδια: ακριβή ζύγιση του δείγματος, διάλυση των λιπιδίων σε χλωροφόρμιο, οξίνιση με οξικό οξύ, προσθήκη ιωδιούχου καλίου, επώαση για 5 λεπτά ακριβώς και τιτλοδότηση με θειικό νάτριο . Απαιτείται μεγάλη ποσότητα δείγματος και παράγεται σημαντική ποσότητα των αποβλήτων (Ruiz *et al*, 2001). Επιπλέον, η πιθανή απορρόφηση του ιωδίου κατά μήκος των ακόρεστων δεσμών και η οξειδωση του ιωδίου από το διαλυμένο οξυγόνο, είναι μεταξύ των πιθανών μειονεκτημάτων αυτής της μεθόδου (Antolovich M. *et al*, 2002/ Shahidi F. *et al*, 2002). Εκτός αυτού, η έλλειψη ευαισθησίας, οι πιθανές παρεμποδίσεις και οι δυσκολίες για τον καθορισμό του τελικού σημείου τιτλοδότησης, είναι επίσης βασικοί περιορισμοί (Dobarganes M. C. *et al*, 2002). Για να ξεπεραστούν αυτά τα μειονεκτήματα, νέες μέθοδοι με βάση την ίδια αντίδραση έχουν αναπτυχθεί, όπου κάποιες άλλες τεχνικές έχουν υιοθετηθεί ως τροποποίηση της κλασικής ιωδομετρικής ανάλυσης, όπως ο χρωματομετρικός προσδιορισμός στα 560 nm (Asakawa T. *et al*, 1978), ο ποτενσιομετρικός προσδιορισμός τελικού σημείου (S. Hara S. *et al*, 1998) και ο φασματοφωτομετρικός προσδιορισμός του I₃ χρωμοφόρου στα 290 nm ή στα 360 nm (Hicks M. *et al*, 1979) . Επιπλέον, μια ηλεκτροχημική τεχνική έχει χρησιμοποιηθεί ως εναλλακτική λύση για το στάδιο τιτλοδότησης , προκειμένου να αυξηθεί η ευαισθησία για τον προσδιορισμό των χαμηλών PV, με αναγωγή του ιωδίου που απελευθερώνεται σε ένα ηλεκτρόδιο από πλατίνα που διατηρείται σε ένα σταθερό δυναμικό (Shahidi F. *et al*, 2002).

4.3.3.1.β. Σύμπλοκα Ιόντων Σιδήρου/ Ferric Ion Complexes (FOX)

Άλλες χημικές μέθοδοι που βασίζονται στην οξείδωση των ιόντων του δισθενούς σιδήρου (Fe²⁺) σε ιόντα σιδήρου (Fe³⁺) , σε όξινο μέσο και το σχηματισμό συμπλόκων σιδήρου, έχουν επίσης ευρέως γίνει αποδεκτές. Αυτές οι μέθοδοι μετρούν με φασματοφωτομετρία την ικανότητα των υδροϋπεροξειδίων να οξειδώσουν τα ιόντα δισθενούς σιδήρου , τα οποία σχηματίζουν σύμπλοκα είτε με θειοκυανικό είτε με πορτοκαλί ξυλενόλη (Eymard S. *et al*, 2003/ Jiang Z. Y. *et al*, 1991/ Wolff S. P., 1994).

Τα σύμπλοκα σιδήρου με θειοκυανικό είναι κόκκινο-ιώδη και δείχνουν ισχυρή απορρόφηση στα 500-510 nm (Dobarganes M. C. *et al*, 2002). Η μέθοδος αυτή είναι απλή , αναπαραγώγιμη και πιο ευαίσθητη από την πρότυπη ιωδομετρική μέθοδο κι έχει

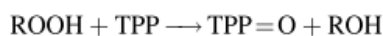
χρησιμοποιηθεί για τη μέτρηση της οξειδωσης των λιπιδίων στα γαλακτοκομικά προϊόντα, λίπη, έλαια και λιποσώματα (Dobarganes M. C. *et al*, 2002/).

Η μέθοδος μέτρησης της οξειδωσης του σιδήρου μέσω της πορτοκαλί ξυλενόλης (FOX) χρωστικής, χρησιμοποιεί την χρωστική αυτή για να σχηματισθεί ένα μπλε-μωβ σύμπλοκο με μέγιστη απορρόφηση στα 550-600 nm (Dobarganes M. C. *et al*, 2002). Αυτή η μέθοδος είναι ταχεία, φθηνή, και δεν είναι ευαίσθητη στο ατμοσφαιρικό οξυγόνο ή το φως (DeLong J. M. *et al*, 2002). Μπορεί να ποσοτικοποιήσει με συνέπεια χαμηλότερα επίπεδα υδροϋπεροξειδίου, ενώ υπάρχει καλή συμφωνία αποτελεσμάτων μεταξύ του προσδιορισμού FOX και της ιωδομετρικής μεθόδου (DeLong J. M. *et al*, 2002). Η μέθοδος FOX έχει προσαρμοστεί επιτυχώς σε μια ποικιλία εφαρμογών. Ωστόσο, επειδή πολλοί παράγοντες όπως : η ποσότητα του δείγματος, ο διαλύτης που χρησιμοποιείται και η πορτοκαλί ξυλενόλη, μπορεί να επηρεάζουν το συντελεστή απορρόφησης, απαιτείται η γνώση της φύσης των υδροϋπεροξειδίων που υπάρχουν στο δείγμα και ο προσεκτικός έλεγχος των συνθηκών που χρησιμοποιούνται, για να έχουμε ακριβείς μετρήσεις (Dobarganes M. C. *et al*, 2002).

4.3.3.1.γ. Φασματοσκοπία υπερύθρου με μετασχηματισμό Fourier (FTIR)

Έχει αναγνωρισθεί ότι τα υδροϋπεροξειδία μπορούν να προσδιορισθούν ποσοτικά με φασματοσκοπία υπερύθρου IR, μέσω της μέτρησης των χαρακτηριστικών τους O-H στη ζώνη που εκτείνεται η απορρόφησή τους (Sedman J. *et al* 1997). Μια ζώνη απορρόφησης στα περίπου 2,93 μm υποδεικνύει την παραγωγή υδροϋπεροξειδίων, ενώ η αντικατάσταση ενός ατόμου υδρογόνου σε ένα διπλό δεσμό ή ο πολυμερισμός, ευθύνονται για την εξαφάνιση μιας ζώνης στα 3.20 μm . Ο σχηματισμός αλδευδών, κετονών ή οξέων, δημιουργεί μια επιπλέον ζώνη στα 5,72 μm . Επιπλέον, cis-, trans-ισομερή και ο σχηματισμός συζυγιακών διενίων, μπορεί να ανιχνευθούν μέσω της μεταβολής στην ζώνη απορρόφησης στην περιοχή από 10 μm έως 11 μm (Shahidi F. *et al*, 2002).

Μία ταχεία μέθοδος (FTIR) με βάση την στοιχειομετρική αντίδραση της τριφαινυλοφωσφίνης (TPP) με υδροϋπεροξειδία, έχει αναπτυχθεί με επιτυχία για τον προσδιορισμό του PV των βρώσιμων ελαίων (Dong J. *et al*, 1997), παράγουν οξείδιο τριφαινυλοφωσφίνης (TPPO), το οποίο έχει έντονη απορρόφηση στην ζώνη 542 cm^{-1} , στο φάσμα του μέσου- IR (Dobarganes M. C. *et al*, 2002/ Ruiz *et al*. 2001). Η ένταση της ζώνης μετράται και μετατρέπεται σε τιμή υπεροξειδίων. Η χημική αντίδραση που λαμβάνει χώρα είναι η ακόλουθη:



Η φασματοσκοπία FTIR είναι μια απλή, γρήγορη και πολύ ακριβής μέθοδος. Δείχνει άριστη συσχέτιση με την ιωδομετρική μέθοδο και αποφεύγονται τα προβλήματα διάθεσης του διαλύτη και του αντιδραστηρίου που σχετίζονται με την πρότυπη υγρή χημική (Ruiz *et al*, 2001/ Dong J. *et al*, 1997). Η μέθοδος FTIR παρέχει έναν αυτοματοποιημένο, αποτελεσματικό και χαμηλού κόστους τρόπο για την αξιολόγηση της οξειδωσης σε έλαια που υποβάλλονται σε θερμική καταπόνηση και έχει αποκτήσει μεγάλο ενδιαφέρον για τον έλεγχο της ποιότητας

στη βιομηχανία (Kiritsakis A. *et al*, 2002 / Dobarganes M. C. *et al*, 2002) . Ωστόσο, υπάρχει μια ανάγκη για να χαρακτηριστούν οι φασματικές αλλαγές, να γίνεται ανάθεση σε μήκη κύματος σε πιο κοινά παραγόμενα μοριακά είδη, καθώς και να υπάρχει πρόσβαση σε πιθανές φασματικές διασταυρούμενες παρεμβολές (Kiritsakis A. *et al*, 2002).

4.3.3.2. Μέτρηση των συζυγών Διενίων και Τριενίων

Το 1933 ανακαλύφθηκε ότι ο σχηματισμός των συζευγμένων διενίων σε λίπη ή έλαια, δημιουργεί μια κορυφή απορρόφησης στα 230-235 nm στην υπεριώδη (UV) περιοχή. Στην δεκαετία του 1960, η παρακολούθηση της σύζευξης των διενίων προέκυψε ως χρήσιμη τεχνική για την μελέτη της οξειδωσης των λιπιδίων (Antolovich M.*et al*, 2002). Κατά τη διάρκεια του σχηματισμού των υπεροξειδίων από τα ακόρεστα λιπαρά οξέα, παράγονται τυπικά συζευγμένα διένια, λόγω της αναδιάταξης των διπλών δεσμών. Τα συζυγή διένια που προκύπτουν εμφανίζουν μία έντονη απορρόφηση στα 234 nm, ενώ παρομοίως συζευγμένα τριένια απορροφούν στα 268 nm μm (Shahidi F. *et al*, 2002). Μια αύξηση στην υπεριώδη απορρόφηση, αντανακλά θεωρητικά το σχηματισμό των πρωτογενών προϊόντων οξειδωσης σε λίπη και έλαια. Έχει βρεθεί καλή συσχέτιση μεταξύ των συζευγμένων διενίων και της τιμής των υπεροξειδίων (Wanasundara U. N. *et al*, 1995,a).

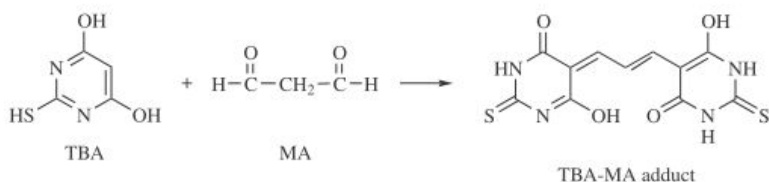
Η υπεριώδης ανίχνευση των συζυγών διενίων είναι απλή, γρήγορη, δεν απαιτεί χημικά αντιδραστήρια και απαιτούνται μικρές ποσότητες δειγμάτων . Ωστόσο, αυτή η μέθοδος έχει λιγότερη εξειδίκευση και ευαισθησία από ό, τι η μέτρηση PV (Dobarganes M. C. *et al* , 2002/ Gordon M., 2001,a). Επιπλέον, τα αποτελέσματα μπορεί να επηρεαστούν από την παρουσία ενώσεων που απορροφούν στην ίδια περιοχή, όπως καρροτενοειδή (Shahidi F. *et al*, 2002). Για να αποφευχθούν αυτές οι παρεμβάσεις, έχει προταθεί μια εναλλακτική μέθοδος φασματοσκοπικής μέτρησης συζυγών προϊόντων οξειδωσης (COPs). Σε αυτή τη μέθοδο, υδροϋπεροξειδία και ορισμένα προϊόντα αποσύνθεσης μετατρέπονται σε περισσότερο συζευγμένα χρωμοφόρα με αναγωγή και επακόλουθη αφυδάτωση. Οι συγκεντρώσεις των συζυγών τριενίων και τετραενίων που προκύπτουν , προσδιορίζονται από τις αντίστοιχες απορροφήσεις τους στα 268 nm και 301 nm και εκφράζονται ως τιμές COP (Shahidi F. *et al*, 2002).

4.3.4. Μέτρηση των Δευτερογενών Προϊόντων Οξειδωσης

Τα πρωτογενή προϊόντα οξειδωσης (υδροϋπεροξειδία) είναι ασταθή και επιρρεπή σε διάσπαση . Ένα πολύπλοκο μείγμα πτητικού, μη πτητικού και πολυμερούς, δευτερογενών προϊόντων οξειδωσης, σχηματίζεται μέσω αντιδράσεων αποσύνθεσης, παρέχοντας διάφορους δείκτες οξειδωσης των λιπιδίων. Δευτερογενή προϊόντα οξειδωσης περιλαμβάνουν αλδεΐδες, κετόνες, αλκοόλες, υδρογονάνθρακες, πτητικά οργανικά οξέα και εποξικές ενώσεις, μεταξύ άλλων. Μέθοδοι για την εκτίμηση της οξειδωσης των λιπιδίων με βάση τον σχηματισμό τους είναι:

4.3.4.1. Ανάλυση θειο- βαρβιτουρικού οξέος (TBA)

Η δοκιμή με θειοβαρβιτουρικό οξύ (TBA) προτάθηκε πριν από 40 χρόνια και είναι σήμερα μια από τις πλέον χρησιμοποιούμενες μεθόδους για την ανίχνευση της οξειδωτικής υποβάθμισης των τροφίμων που περιέχουν λιπαρά (Kishida E. *et al*, 1993). Κατά τη διάρκεια της οξείδωσης των λιπιδίων, η μηλονοδιαλδεϋδης (MA), ένα μικρό συστατικό των λιπαρών οξέων με 3 ή περισσότερους διπλούς δεσμούς, σχηματίζεται λόγω της υποβάθμισης των πολυακόρεστων λιπαρών οξέων. Συνήθως χρησιμοποιείται ως δείκτης της διαδικασίας οξείδωσης των λιπιδίων, τόσο για την έγκαιρη εμφάνιση καθώς συμβαίνει η οξείδωση, όσο και για την ευαισθησία της αναλυτικής μεθόδου (Cesa S., 2004). Σε αυτή τη μέθοδο, η MA αντιδρά με το θειοβαρβιτουρικό οξύ (TBA) για να σχηματίσει ένα ροζ σύμπλοκο MA-TBA (εικόνα 7) που μετράται φασματοφωτομετρικά στο μέγιστο απορρόφησής του στα 530-535 nm. (σχήμα 4.2.) (Perkins E. G., 1992/ Jardine D. *et al*, 2002).



Σχήμα 4.2.: αντίδραση TBA με MA

Η έκταση της οξείδωσης αναφέρεται ως η τιμή TBA και εκφράζεται σε χιλιοστόγραμμα MA ισοδύναμα ανά χιλιόγραμμα δείγματος ή ως μικρογραμμομόρια MA ισοδύναμα ανά γραμμάριο δείγματος. Θα πρέπει, ωστόσο, να σημειωθεί ότι αλκάνια και αλκαδιένια αντιδρούν επίσης με το αντιδραστήριο TBA και παράγουν ένα ροζ χρώμα. Έτσι, ο όρος ουσίες που αντιδρούν με το θειοβαρβιτουρικό οξύ (TBARS), χρησιμοποιείται σήμερα αντί της MA.

Η δοκιμή TBA μπορεί να διεξαχθεί με διάφορες διαδικασίες, μεταξύ των οποίων τέσσερις έχουν χρησιμοποιηθεί πιο συχνά. Αυτά περιλαμβάνουν: δοκιμή σε ολόκληρο το δείγμα, δοκιμή σε ένα υδατικό ή όξινο εκχύλισμα του δείγματος, δοκιμή σε ένα απόσταγμα ατμού και δοκιμή σε λιπαρά που εκχυλίζονται από ένα δείγμα (Hoyland D. V. *et al*, 1991).

Η μέθοδος TBA χρησιμοποιείται συχνά για την αξιολόγηση της οξειδωτικής κατάστασης μιας ποικιλίας τροφίμων, παρά τους περιορισμούς της, όπως η έλλειψη εξειδίκευσης και ευαισθησίας. Όπως έχει ήδη σημειωθεί, πολλές άλλες ουσίες μπορεί να αντιδράσουν με το αντιδραστήριο TBA και συνεισφέρουν στην απορρόφηση, προκαλώντας μια υπερεκτίμηση της έντασης του συμπλόκου χρώματος. Παρεμβολές μπορεί να προέλθουν από πρόσθετη απορρόφηση άλλων κετονών, κετοστεροειδών, οξέων, εστέρων, πρωτεϊνών, σακχαρόζης, ουρίας, πυριδιενίων, ...κλπ, που αναφέρονται επίσης ως TBARS (Jardine D. *et al* 2002). Επίσης, η παρουσία προσμίξεων βαρβιτουρικό οξέος στο αντιδραστήριο TBA μπορεί να παράγει πρόσθετα προϊόντα, ενώ νιτρώδη μπορεί να παρέμβουν στη δοκιμή TBA. Προκειμένου να βελτιωθεί η εξειδίκευση και ευαισθησία της δοκιμής TBA, διάφορες τροποποιήσεις στις αρχικές διαδικασίες TBA έχουν προταθεί, συμπεριλαμβανομένης της μείωσης της θερμοκρασίας θέρμανσης για να σταθεροποιηθεί το κίτρινο χρώμα του

συμπλόκου αλδεΐδης-TBA, της προσθήκης αντιοξειδωτικών στο δείγμα σε μια προσπάθεια να αποφευχθεί η οξείδωση κατά τη διάρκεια της δοκιμής (54), της εκχύλισης της MA προ του σχηματισμού του χρωμογόνου, της απευθείας ανάλυσης FTIR των TBARS, και της χρήσης HPLC για να διαχωριστεί το σύμπλεγμα πριν από τη μέτρηση ή τον χαρακτηρισμό των μεμονομένων ειδών TBARS (Jardine D. *et al*, 2002/ M. Antolovich *et al*, 2002) .

Παρά τους περιορισμούς της, η δοκιμή TBA παρέχει ένα εξαιρετικό μέσο για την αξιολόγηση της οξείδωσης των λιπιδίων σε τρόφιμα, ειδικά σε μια συγκριτική βάση. Ωστόσο, η χρήση της σε χύμα έλαια είναι λιγότερο κοινή από την αποκαλούμενη τιμή της p-ανισιδίνης (p-AnV) .

4.3.4.2. Τιμή p - ανισιδίνης (p - AnV)

Η μέθοδος μέτρησης της τιμής της p-ανισιδίνης (p-AnV) μετρά την περιεκτικότητα σε αλδεΐδες (κυρίως 2-αλκάνια και 2,4-αλκαδιένια) , που παράγονται κατά την αποδόμηση των υπεροξειδίων των υδρογονανθράκων. Βασίζεται στην χρωματική αντίδραση p-μεθοξανιλίνης (ανισιδίνης) με αλδεϋδικές ενώσεις (Doleschall F. *et al*, 2002). Η αντίδραση αυτή υπό όξινες συνθήκες, αποδίδει κιτρινωπά προϊόντα, που απορροφούν στα 350 nm (Shahidi F. *et al*, 2002/ Gordon M., 2001). Το χρώμα ποσοτικοποιείται και μετατρέπεται σε p-AnV, που ορίζεται ως η απορρόφηση του διαλύματος που προκύπτει από την αντίδραση 1 g λίπους στο διάλυμα ισοοκτανίου (100 ml) με p-ανισιδίνη (0,25% σε παγόμορφο οξικό οξύ) (Gordon M., 2001). Αυτή η δοκιμή είναι περισσότερο ευαίσθητη σε ακόρεστες αλδεΐδες, παρά σε κορεσμένες αλδεΐδες, γιατί τα χρωματισμένα προϊόντα από ακόρεστες αλδεΐδες απορροφούν πιο έντονα σ' αυτό το μήκος κύματος (Gordon M., 2001). Ωστόσο, συσχετίζεται καλά με την ποσότητα των συνολικών πτητικών ουσιών (Doleschall F. *et al*, 2002). Το p-AnV είναι ένας αξιόπιστος δείκτης της οξειδωτικής τάγγισης σε λίπη και έλαια και λιπαρά τρόφιμα (van der Merwe G. H. *et al* , 2003). Μια πολύ σημαντική συσχέτιση μεταξύ του p-AnV και τιμών οσμής και PV έχει βρεθεί (List G. R. *et al*, 1974). Παρ 'όλα αυτά, μερικοί συγγραφείς έχουν δηλώσει ότι η p-AnV είναι συγκρίσιμη μόνο εντός του ίδιου τύπου ελαίου , γιατί η αρχική AnV ποικίλλει μεταξύ των πηγών ελαίου (Guillen *et al* 2002). Για παράδειγμα, έλαια με υψηλά επίπεδα πολυακόρεστων λιπαρών οξέων μπορεί να έχουν υψηλότερο AnV ακόμα και όταν είναι φρέσκα (White P. J., 1995).

Η μέθοδος αυτή χρησιμοποιείται λιγότερο συχνά στη Βόρεια Αμερική, αλλά ευρέως στην Ευρώπη (Dong J. *et al*, 1997), ιδίως ως μέρος του αριθμού ολικής οξείδωσης. Προσοχή πρέπει να υπάρχει κατά την εκτέλεση της δοκιμής αυτής, λόγω της τοξικότητας της ανισιδίνης (Doleschall F. *et al* , 2002).

4.3.4.3. Τιμή TOTOX

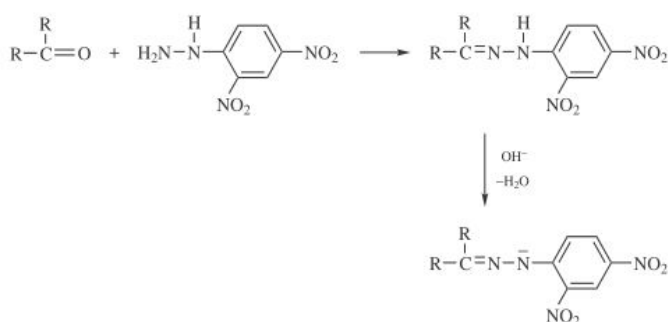
Η τιμή Totox, είναι η μέτρηση της συνολικής οξείδωσης, συμπεριλαμβανομένων των πρωτογενών και δευτερογενών προϊόντων οξείδωσης. Είναι ένας συνδυασμός των PV και p-AnV:

$$\text{Totox value} = 2 \text{ PV} + \text{p-AnV}$$

Κατά τη διάρκεια της οξείδωσης των λιπιδίων, συχνά παρατηρείται ότι το PV ανεβαίνει πρώτα και στη συνέχεια πέφτει ως διάσπαση υδροϋπεροξειδίων (Stauffer C., 1996). Οι PV και p-AnV αντικατοπτρίζουν το επίπεδο οξείδωσης σε πρώιμα και μεταγενέστερα στάδια της αντίδρασης οξείδωσης, αντίστοιχα. Η τιμή Totox μετρά και τα υδροϋπεροξειδία και τα προϊόντα διάσπασής τους και παρέχει μια καλύτερη εκτίμηση της προοδευτικής οξειδωτικής φθοράς των λιπών και ελαίων (Stauffer C., 1996). Ωστόσο, η τιμή ολικής οξείδωσης δεν έχει καμία επιστημονική βάση, γιατί είναι ένας συνδυασμός δύο δεικτών με διαφορετικές διαστάσεις (7). Πρόσφατα, οι Wanasundara U. N. *et al.*, 1995,b, χρησιμοποίησαν τιμές TBA και όρισαν το Totox_{TBA} ως 2PV+ TBA χρησιμοποιώντας τη δοκιμή TBA στη θέση της δοκιμασίας p-AnV.

4.3.4.4. Καρβονύλια

Οι ενώσεις καρβονυλίου, συμπεριλαμβανομένων των αλδευδών και των κετονών, είναι τα δευτερεύοντα προϊόντα οξείδωσης που παράγονται από την αποικοδόμηση των υδροϋπεροξειδίων και υποδηλώνεται ότι είναι οι κύριοι συντελεστές για την απόκλιση σε επίπεδο γεύσης, που σχετίζονται με την τάγγιση πολλών προϊόντων διατροφής (Antolovich M. *et al*, 2002). Στη μέθοδο αυτή, το συνολικό περιεχόμενο καρβονυλίου μετράται με μία χρωματομετρική διαδικασία, 2,4-δινιτροφαιλυδραζόνης. Οι καρβονυλικές ενώσεις που σχηματίζονται κατά τη διάρκεια της οξείδωσης των λιπιδίων αντιδρούν με 2,4-δινιτροφαιλυδραζίνη (DNPH), ακολουθούμενη από την αντίδραση των υδραζονών που προκύπτουν με Αλκάλια (σχήμα 4.3.). Τα τελικά χρωματισμένα προϊόντα στη συνέχεια αναλύονται φασματοφωτομετρικά σ' ένα δεδομένο μήκος κύματος (Shahidi F. *et al*, 2002/ Melton S.L., 1983).



Σχήμα 4.3.: αντίδραση καρβονυλικών ενώσεων με 2,4-δινιτροφαιλυδραζίνη (DNPH), ακολουθούμενη από την αντίδραση των υδραζονών που προκύπτουν με Αλκάλια.

Πολλές παραλλαγές αυτής της μεθόδου χρησιμοποιούν εναλλακτικό διαλύτη, αντιδραστήριο, μήκος κύματος, ή κατεργασία. Ο προσδιορισμός της συνολικής περιεκτικότητας καρβονυλίων έχει χρησιμοποιηθεί σε διάφορες μελέτες οξειδωτικής σταθερότητας. Ωστόσο, η μέθοδος αυτή έχει επικριθεί επειδή οι συνθήκες προσδιορισμού προκαλούν αποικοδόμηση των υδροϋπεροξειδίων σε παράγωγα καρβονυλίου, δίνοντας εσφαλμένα αποτελέσματα (Guillen M. D *et al*, 2002). Καρβονύλια που παράγονται από την οξείδωση της πρωτεΐνης μπορεί επίσης να οδηγήσουν σε υψηλότερες τιμές από εκείνες που

αναμένονται μόνο από την οξείδωση των λιπιδίων. Η προσθήκη τριφαινυλοφωσφίνης (TPP) πριν από τον προσδιορισμό του καρβονυλίου, έχει προταθεί για να αποφευχθεί η παρεμβολή από τα υδροϋπεροξειδία. Τα υδροϋπεροξειδία μειώνονται από την TPP, και ούτε η TPP ούτε η TPPO (τα προϊόντα οξείδωσης του TPP) παρεμβαίνουν στην μέτρηση του περιεχόμενου καρβονυλίου. Στην αξιολόγηση της ποιότητας των χρησιμοποιούμενων λιπών τηγανίσματος, όπου καρβονύλια μικρής αλυσίδας ήδη έχουν αφαιρεθεί με απόσταξη στην υψηλή θερμοκρασία τηγανίσματος, μπορούν εκλεκτικά να βελτιωθούν με τον προσδιορισμό των υψηλότερων καρβονυλικών ενώσεων, αντί των συνολικών καρβονυλίων. HPLC χρησιμοποιείται για το διαχωρισμό των παραγώγων DNPH των υψηλότερων καρβονυλίων, από εκείνα των καρβονυλικών ενώσεων μικρής αλυσίδας (Schulte E., 2002).

Εκτός από την ανίχνευση της συνολικής περιεκτικότητας σε καρβονύλιο, η ανάλυση των επιμέρους καρβονυλικών ενώσεων προτιμάται για την παρακολούθηση της οξείδωσης των λιπιδίων, όπως η Hexanal, που χρησιμεύει ως αξιόπιστος δείκτης της οξείδωσης των λιπιδίων σε τρόφιμα πλούσια σε ω6 λιπαρά οξέα (Shahidi F. *et al*, 2002).

Πιο πρόσφατα, μια έμμεση ενζυμο-συνδεδεμένη δοκιμασία ανοσοπροσρόφησης (ELISA) έχει αναπτυχθεί για να παρακολουθεί η οξείδωση των λιπιδίων μέσω της ποσοτικοποίησης των προσαγωγών εξανάλης-πρωτεΐνης, που αναγνωρίζονται από πολυκλωνικά ή μονοκλωνικά αντισώματα (Goodridge C.F. *et al*, 2003). Άλλες ενώσεις καρβονυλίου, συμπεριλαμβανομένων της προπανάλης, πεντανάλης, δεκαδιενάλης, κ.λπ., χρησιμοποιούνται επίσης για την αξιολόγηση της οξείδωσης των λιπιδίων στα τρόφιμα. Για παράδειγμα, η προπανάλη συνιστάται ως δείκτης για την οξείδωση των λιπιδίων στα τρόφιμα που είναι πλούσια σε ω3 λιπαρά οξέα, όπως τα ιχθυέλαια (Wanasundara U. N. *et al*, 1995,c). Σε γενικές γραμμές, είναι σημαντικό να χρησιμοποιούνται κατάλληλοι δείκτες, για την εκτίμηση της οξειδωτικής υποβάθμισης των διαφορετικών συστημάτων τροφίμων.

4.3.4.5. Δείκτης σταθερότητας ελαιολάδου / Oil Stability Index (OSI)

Κατά τη διάρκεια της οξείδωσης των λιπιδίων, πτητικά οργανικά οξέα, κυρίως μυρμηκικό οξύ και οξικό οξύ, παράγονται ως δευτερογενή πτητικά προϊόντα οξειδώσεως σε υψηλές θερμοκρασίες, ταυτόχρονα με υδροϋπεροξειδία (Kiritsakis A. *et al*, 2002). Επιπλέον, άλλα δευτερογενή προϊόντα, συμπεριλαμβανομένων αλκοολών και καρβονυλικών ενώσεων, μπορούν να οξειδωθούν περαιτέρω προς καρβοξυλικά οξέα. Η μέθοδος του δείκτη σταθερότητας ελαίου (OSI), μετρά τον σχηματισμό των πτητικών οξέων με παρακολούθηση της αλλαγής στην ηλεκτρική αγωγιμότητα, όταν λύματα από οξειδωμένα έλαια διέρχονται μέσω του νερού (Gordon M., 2001). Η τιμή OSI ορίζεται ως το σημείο της μέγιστης μεταβολής του ρυθμού οξείδωσης, που οφείλεται στην αύξηση της αγωγιμότητας από το σχηματισμό των πτητικών οργανικών οξέων κατά την οξείδωση των λιπιδίων (Miura K. *et al*, 2002). Ωστόσο, αυτή η μέθοδος απαιτεί ένα κάπως υψηλότερο επίπεδο οξείδωσης (PV > 100) για να ληφθούν μετρήσιμα αποτελέσματα σε σχέση με άλλες μεθόδους στις οποίες τα υδροϋπεροξειδία είναι τα πιο σημαντικά προϊόντα που σχηματίζονται και ανιχνεύονται (de la Presa-Owens *et al*, 1995). Επομένως, για να προσδιοριστεί η σταθερότητα του ελαίου στο εργαστήριο, ειδικά για ορισμένα έλαια τα οποία είναι σταθερά υπό κανονικές συνθήκες, η

διαδικασία οξείδωσης επιταχύνεται με έκθεση των δειγμάτων ελαίου σε αυξημένες θερμοκρασίες, παρουσία περίσσειας ποσότητας αέρα ή οξυγόνου (Canizares-Macias M. P. *et al*, 2004). Η μέθοδος OSI διαφοροποιείται από την αποθήκευση σε συνθήκες περιβάλλοντος, χρησιμοποιώντας μια ροή αέρα και υψηλές θερμοκρασίες για την επιτάχυνση της οξείδωσης (de la Presa-Owens *et al*, 1995). Το OSI είναι μια αυτοματοποιημένη ανάπτυξη της μεθόδου του ενεργού οξυγόνου (AOM), επειδή και οι δύο χρησιμοποιούν την αρχή της επιταχυνόμενης οξείδωσης. Παρ'όλα αυτά, η δοκιμή OSI μετρά τις μεταβολές στην αγωγιμότητα που προκαλείται από ιοντικά πτητικά οξέα, ενώ το PV καθορίζεται στην AOM (Shahidi F. *et al*, 2002).

Δύο είδη εξοπλισμού διατίθενται στο εμπόριο για τον καθορισμό των τιμών OSI, η Rancimat (Metrohm Ltd.) και ο εξοπλισμός οξειδωτικής σταθερότητας (Omnion Inc.). Η Rancimat είναι μια ταχεία αυτοματοποιημένη μέθοδος, η οποία συμφωνεί και με την AOM (de la Presa-Owens *et al*, 1995). Στην δοκιμασία Rancimat, μια ροή αέρα διοχετεύεται μέσα από ένα θερμαινόμενο έλαιο, συνήθως στους 100 °C ή παραπάνω. Για τα ιχθυέλαια, θερμοκρασίες τόσο χαμηλές όσο οι 80 °C χρησιμοποιούνται συχνά. Οι πτητικές ενώσεις που σχηματίζονται κατά τη διάρκεια της ταχείας οξείδωσης, συλλέγονται σε απεσταγμένο νερό, αυξάνοντας την αγωγιμότητα του νερού. Η μεταβολή της αγωγιμότητας χαράσσεται αυτομάτως και η περίοδος επαγωγής του ελαίου ή ο χρόνος που απαιτείται για την επίτευξη καθορισμένης αγωγιμότητας καταγράφονται (Kiritsakis A., 2002). Η δοκιμασία Rancimat δίνει τη δυνατότητα συνεχούς παρακολούθησης της διαδικασίας οξείδωσης. Όπως αναφέρθηκε από τους Faroop *et al* 2003., η ανάλυση με την μέθοδο Rancimat είναι τέσσερις έως πέντε φορές ταχύτερη από εκείνη του AOM. Πολύ καλός συσχετισμός έχει βρεθεί μεταξύ Rancimat και συζευγμένων διενίων (Canizares-Macias M. P. *et al*, 2004).

Ωστόσο, το κύριο μειονέκτημα αυτής της μεθόδου είναι ότι μόνο οκτώ δείγματα μπορεί να περιλαμβάνονται σε κάθε παρτίδα. Ο εξοπλισμός μέτρησης της οξειδωτικής σταθερότητας, λειτουργεί με την ίδια αρχή όπως η Rancimat, και έχει την ικανότητα της ταυτόχρονης ανάλυσης μέχρι και 24 δειγμάτων. Διάφορες τροποποιήσεις έχουν προταθεί για την αξιολόγηση της οξείδωσης των λιπιδίων με τη μέθοδο OSI. Αυτές περιλαμβάνουν τη χρήση των βοηθητικών πηγών ενέργειας, όπως τα μικροκύματα για να μειωθεί ο χρόνος ανάλυσης (Canizares-Macias M. P. *et al*, 2004) και ένας συνδυασμός της μεθόδου OSI με χρωματογραφία, για να αποκτήσουν συγκεκριμένες πληροφορίες σχετικά με τα πτητικά προϊόντα. Τα πτητικά συστατικά που παγιδεύονται κατά τη διάρκεια της μέτρησης από την δοκιμασία Rancimat, μπορούν να αναλυθούν με GC-υπερκείμενου χώρου (HS-GC), με FID και GC-MS για την ποσοτικοποίηση των επιμέρους πτητικών, βελτιώνοντας έτσι την ειδικότητα της αξιολόγησης (Boyd L. C. *et al*, 1998).

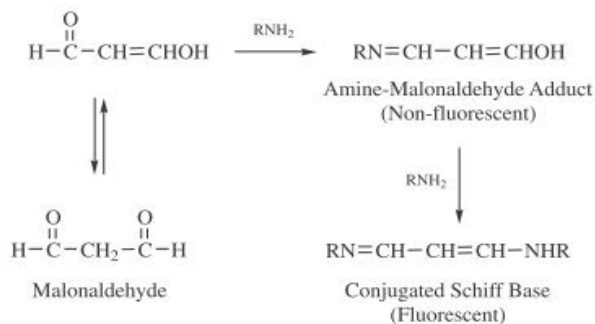
Αν και η μέθοδος OSI είναι χρήσιμη για τον έλεγχο της ποιότητας των ελαίων, δεν συνιστάται για τη μέτρηση της αντιοξειδωτικής δράσης για ορισμένους λόγους. Οι υψηλές θερμοκρασίες που χρησιμοποιούνται δεν επιτρέπουν αξιόπιστες προβλέψεις της αντιοξειδωτικής αποτελεσματικότητας σε χαμηλότερες θερμοκρασίες. Πτητικά αντιοξειδωτικά μπορούν να σαρώνονται έξω από το λάδι, από τον αέρα που ρέει υπό τις

συνθήκες της δοκιμής, καθώς επίσης και η αποικοδόμηση των ελαίων επιδεινώνεται σοβαρά όταν πλησιάσει το καταληκτικό σημείο (Gordon M., 2001).

4.3.4.6. Υδρογονάνθρακες και μέθοδος φθορισμού

Ο σχηματισμός των κορεσμένων υδρογονανθράκων, ειδικά βραχείας αλυσίδας (C1-C5) υδρογονανθράκων, όπως αιθάνιο, προπάνιο και πεντάνιο, μπορεί να μετρηθεί για την παρακολούθηση της οξείδωσης των λιπιδίων, όταν αλδεΐδες είναι είτε απύσες ή μη ανιχνεύσιμες (Melton S. L., 1983/ Shahidi F. *et al*, 2002). Η περιεκτικότητα σε πεντάνιο, που προσδιορίζεται με τεχνικές GC, υπήρξε μια χρήσιμη παράμετρος για την εκτίμηση της τάγγισης λιπών κι ελαίων, καθώς και λυοφιλοποιημένων μυών σε τρόφιμα. Σημαντικές συσχετίσεις υπήρχαν μεταξύ επιπέδου πεντανίου και βαθμολογίας ταγγής οσμής (Shahidi F. *et al*, 2002).

Έχει παρατηρηθεί ότι το περιεχόμενο των δευτερογενών προϊόντων οξείδωσης, όπως η μαλοναλδεΐδη (MA), μειώνεται με την αυξημένη οξείδωση των λιπιδίων, το οποίο μπορεί να εξηγηθεί από την περαιτέρω αντίδραση του MA με πρωτεΐνες. Το MA αντιδρά με ενώσεις που περιέχουν πρωτοταγείς αμινομάδες (πρωτεΐνες, αμινοξέα, DNA, φωσφολιπίδια), για να σχηματίσει φθορίζοντα προϊόντα (σχήμα 4.4.) (Wold J. P. *et al*, 2000). Μία δοκιμασία φθορισμού έχει επιτυχώς χρησιμοποιηθεί για την εκτίμηση της οξείδωσης των λιπιδίων σε τρόφιμα με μυϊκό ιστό και βιολογικούς ιστούς.



Σχήμα 4.4. : Το MA αντιδρά με ενώσεις που περιέχουν πρωτοταγείς αμινομάδες (πρωτεΐνες, αμινοξέα, DNA, φωσφολιπίδια), για να σχηματίσει φθορίζοντα προϊόντα

Εκτός από την MA, υδροϋπεροξειδία και άλλες αλδεΐδες αντιδρούν επίσης με αμινο-ενώσεις παράγοντας διάφορα προϊόντα φθορισμού με διαφορετική διέγερση και μέγιστα εκπομπής (Wold J. P. *et al*, 2000). Σημαντικές συσχετίσεις υπήρχαν μεταξύ αυτής της μεθόδου και της τιμής TBA καθώς και το επίπεδο απορρόφησης οξυγόνου, και φαίνεται να είναι ένας αξιόπιστος δείκτης της οξειδωτικής επιδείνωσης των μυών σε τρόφιμα, ειδικά σε λυοφιλιωμένα προϊόντα (Wold J. P. *et al*, 2000).

4.3.5. Μέτρηση των Ελευθέρων Ριζών

Τα αρχικά βήματα της λιπιδικής οξείδωσης περιλαμβάνουν αλυσιδωτές αντιδράσεις των ελεύθερων ριζών ως σημαντικά βραχύβια ενδιάμεσα προϊόντα. Το επίπεδο οξείδωσης των

λιπών και ελαίων μπορεί να μετρηθεί άμεσα με την ανίχνευση του σχηματισμού ριζών. Οι μέθοδοι που βασίζονται στην ανίχνευση ριζών ή στην τάση για το σχηματισμό των ριζών, παρέχουν μια καλή ένδειξη για την έναρξη της οξειδωσης των λιπιδίων. (Andersen M.L. *et al* , 2002/ Carlsen C. U. *et al*, 2001).

Το Ηλεκτρονικό spin συντονισμού (ESR), που αναφέρεται επίσης κι ως φασματοσκοπία ηλεκτρονίων παραμαγνητικού συντονισμού (EPR) , βασίζεται στις παραμαγνητικές ιδιότητες των μη συζευγμένων ηλεκτρονίων σε ρίζες και έχει αναπτυχθεί για την εκτίμηση του σχηματισμού των ελεύθερων ριζών που προέρχονται από τα πρώτα στάδια της οξειδωσης και την έναρξη της πρωτογενούς οξειδωσης (Andersen M.L. *et al*, 2002). Η δοκιμασία μετρά την απορρόφηση της ενέργειας μικροκυμάτων όταν ένα δείγμα τοποθετείται σε ένα μεταβαλλόμενο μαγνητικό πεδίο (Shahidi F *et al*, 2002). Η ποσοτικοποίηση της συγκέντρωσης των ριζών περιπλέκεται σε σύγκριση με σταθερές παραμαγνητικές ενώσεις, όπως μεταβατικά μέταλλα και ρίζες νιτροξυλίου (Andersen M.L. *et al*, 2002). Ωστόσο, οι σύντομες διάρκειες ζωής και η χαμηλή συγκέντρωση σταθερής κατάστασης των υψηλά αντιδρώντων ριζών που προέρχονται από τα λιπίδια, καθιστούν δύσκολο τον προσδιορισμό αυτών των ριζών σε συγκεντρώσεις χαμηλότερες από την ελάχιστη ανιχνεύσιμη συγκέντρωση των 10^{-9} M (Andersen M.L. *et al*, 2002). Για να ξεπεραστεί αυτό το πρόβλημα, διάφορες προσεγγίσεις έχουν χρησιμοποιηθεί, συμπεριλαμβανομένων της ραδιόλυσης παλμού και της UV φωτόλυσης, συστημάτων συνεχούς ροής και την παγίδευση spin , μεταξύ των οποίων η παγίδευση spin είναι η πιο ευρέως διαδεδομένη διαδικασία (Antolovich M., *et al* 2002). Η τεχνική παγίδευσης spin επιτρέπει τη συσσώρευση των ανιχνεύσιμων συγκεντρώσεων των μακροβιότερων ριζών με προσθήκη σε δείγματα ενός παράγοντα παγίδευσης spin, η οποία αντιδρά με ελεύθερες ρίζες για να σχηματίσει πιο σταθερές προσαγωγές spin, αλλά συχνά εις βάρος της ικανότητας να εντοπίσει την αρχική ρίζα (Antolovich M. *et al*, 2002/ Andersen M.L. *et al*, 2002). Νιτρώδεις και νιτρικές ενώσεις είναι οι πιο κοινές παγίδες spin, οδηγώντας και οι δύο σε τύπου νιτροξυλίου spin προσαγωγές, όπως α-φαινυλ-τριτο-βουτυλ-νιτρόνη (PBN) (σχήμα 4.5.) (Andersen M.L. *et al*, 2002).



Σχήμα 4.5. : Σχηματισμός ρίζας νιτροξυλίου.

Η φασματοσκοπία ESR έχει μεγάλη αξία για τη μελέτη των αρχικών σταδίων της λιπιδικής οξειδωσης και για την πρόβλεψη της οξειδωτικής σταθερότητας των λιπών και ελαίων . Έχει υψηλή ευαισθησία και επιτρέπει ήπιες συνθήκες με την εφαρμογή σημαντικά χαμηλών θερμοκρασιών , ενώ απαιτεί λίγη παρασκευαστική διαδικασία του δείγματος. Η ESR έχει επίσης χρησιμοποιηθεί για την αξιολόγηση της αντιοξειδωτικής δράσης (Andersen M.L. *et al*, 2002). Παρ 'όλα αυτά , παγίδες spin που χρησιμοποιήθηκαν στην δοκιμή ESR έχει αναφερθεί να παρουσιάζουν πολύ διαφορετικές αποδόσεις παγίδευσης για διαφορετικές ρίζες και

δείχνουν τόσο προ- οξειδωτική και αντιοξειδωτική δράση (M. Antolovich, *et al* 2002/ Halliwell B. *et al*, 1999). Επιπλέον, ακόμα και με αυτούς τους περιορισμούς, φασματοσκοπία ESR είναι μια κατάλληλη μέθοδος για τη μέτρηση της οξείδωσης των λιπιδίων στα τρόφιμα και στους βιολογικούς ιστούς.

Η εν λόγω μέθοδος περιγράφεται αναλυτικά στο επόμενο κεφάλαιο: ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5ο ΦΑΣΜΑΤΟΣΚΟΠΙΑ ΦΘΟΡΙΣΜΟΥ (φωταύγεια)

4.3.6. Άλλες μέθοδοι

4.3.6.1. Θερμιδομετρία Διαφορικής Σάρωσης / Differential Scanning Calorimetry (DSC)

Κατά τη διάρκεια της οξείδωσης των λιπιδίων, τα λίπη ή τα έλαια εμφανίζουν μια σειρά από θερμικά επαγόμενες μεταβάσεις, όπως η μεταφορά των μορίων οξυγόνου σε ακόρεστα λιπαρά οξέα (Εξώθερμη διεργασία). Η τεχνική θερμιδομετρίας διαφορικής σάρωσης (DSC), η οποία βασίζεται στη θερμική απελευθέρωση των αντιδράσεων οξείδωσης, έχει τη δυνατότητα, ως μια μη χημική μέθοδος, της αξιολόγησης της οξειδωτικής σταθερότητας των λιπών και ελαίων, υποδεικνύοντας την έναρξη της προηγμένης οξείδωσης (τερματισμός) (Velasco J. *et al*, 2004). Παρέχει πληροφορίες για το μοναδικό προφίλ της ενέργειας, η οποία μετρά συγκεκριμένα τη θερμοκρασία και τη ροή θερμότητας που συνδέονται με την οξείδωση των λιπιδίων, ως συνάρτηση του χρόνου και της θερμοκρασίας (Tan C. P. *et al*, 1999). Η μέθοδος χρησιμοποιεί ισοθερμικές ή μη ισοθερμικές συνθήκες και μια ροή οξυγόνου ως αέριο καθαρισμού, με θερμιδομετρητή, που μετρά την ροή θερμότητας εντός (ενδοθερμική) ή εκτός (εξώθερμη) του δείγματος ελαίου που υποβάλλεται σε αλλαγές οξείδωσης (Velasco J. *et al*, 2004).

Το DSC είναι ένα μια ευαίσθητη, αποτελεσματική και συνεπής μέθοδος για τον χαρακτηρισμό της ποιότητας των λαδιών σε διαφορετικά στάδια της οξείδωσης (Kiritsakis A. *et al*, 2002). Είναι απλή και γρήγορη, και δεν απαιτεί διαλύτη ή χημικό αντιδραστήριο.

4.3.6.2. Φασματοσκοπία Πυρηνικού Μαγνητικού Συντονισμού / Nuclear Magnetic Resonance (NMR) Spectroscopy

Η φασματοσκοπία Υψηλής ανάλυσης ^1H NMR, στην οποία άτομα υδρογόνου (πρωτόνιο, ^1H) προσδιορίζονται με την θέση τους στα μόρια τριακυλγλυκερόλης (TAG), χρησιμοποιείται για την αξιολόγηση της οξειδωτικής υποβάθμισης των λιπών και ελαίων. Η αρχή της NMR είναι ότι τα άτομα υδρογόνου σε ένα ισχυρό μαγνητικό πεδίο απορροφούν ενέργεια, στο εύρος ραδιοσυχνοτήτων, ανάλογα με το μοριακό περιβάλλον τους, όπου οι αλλαγές γίνονται κατά τη διάρκεια της διαδικασίας οξείδωσης. (Shahidi F. *et al*, 2002). Αυτές οι αλλαγές μπορεί να παρακολουθηθούν με φασματοσκοπία NMR ως αντανάκλαση του επιπέδου οξείδωσης των λιπιδίων των τροφίμων.

Η φασματοσκοπία NMR είναι μια ταχεία, μη καταστρεπτική και αξιόπιστη τεχνική για την μέτρηση της οξείδωσης των λιπιδίων. Μετρά ταυτόχρονα τόσο τις πρωτογενείς, όσο και τις δευτερογενείς οξειδωτικές μεταβολές στα έλαια και παρέχει συγκεκριμένες πληροφορίες

για το οξειδωτικό περιοχές στα μόρια TAG . Έτσι , η φασματοσκοπία NMR θεωρείται το πιο κατάλληλο μέσο για την εκτίμηση της οξείδωσης των λιπιδίων από τους χημικούς προσδιορισμούς (Diehl B. W. L., 1998/ Medina I. *et al*, 1998).

4.3.6.3. Οργανοληπτική αξιολόγηση

Όπως περιγράφεται στην 3.4.2.1.

4.4. Συμπέρασμα

Η οξείδωση των λιπιδίων μπορεί να αξιολογηθεί με πολλούς τρόπους, μεταξύ των οποίων ο συνηθέστερος είναι η αλλαγή στα αρχικά αντιδραστήρια και ο σχηματισμός προϊόντων οξείδωσης . Εν τω μεταξύ η οργανοληπτική ανάλυση αξιολογεί τόσο το υποκειμενικό όσο σε ορισμένες περιπτώσεις και τις αντικειμενικές μετρήσεις της οξειδωτικής αλλαγής στα τρόφιμα. Κάθε μέθοδος παρουσιάζει και πλεονεκτήματα και μειονεκτήματα, επομένως είναι σημαντικό να επιλεγεί η πιο κατάλληλη μέθοδος, αναλόγως με το υπό διερεύνηση σύστημα και την κατάσταση της ίδιας της οξείδωσης. Η χρήση δύο ή περισσότερων μεθόδων αξιολόγησης τόσο των πρωτογενών όσο και των δευτερογενών προϊόντων οξείδωσης συνιστάται.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5^ο.

ΦΑΣΜΑΤΟΣΚΟΠΙΑ ΦΘΟΡΙΣΜΟΥ (φωταύγεια)

5.1. ΓΕΝΙΚΑ

Τρεις είναι οι τεχνικές της Μοριακής Φωταύγειας: ο Μοριακός Φθορισμός, ο Φωσφορισμός και η Χημειοφωταύγεια (Θωμαΐδης Ν., 2015)

Στην Φωτοφωταύγεια, η διέγερση προκαλείται από την απορρόφηση των φωτονίων (φθορισμός – φωσφορισμός).

Χημειοφωταύγεια παράγεται όταν μια χημική αντίδραση παράγει ένα ηλεκτρονικά διεγερμένο σωματίδιο, το οποίο εκπέμπει φως κατά την επιστροφή του στη βασική κατάσταση ή όταν μεταφέρει την ενέργειά του σε ένα άλλο σωματίο, το οποίο παράγει εκπομπή φωτός.

Αντιδράσεις φωταύγειας συναντώνται σε μεγάλο αριθμό βιολογικών συστημάτων, όπου το φαινόμενο καλείται **βιοφωταύγεια**. Παραδείγματα οργανισμών που παρουσιάζουν βιοφωταύγεια είναι η πυγολαμπίδα, ο θαλάσσιος πανσές, ορισμένες μέδουσες, βακτήρια, πρωτόζωα και οστρακόδερμα.

5.2. ΘΕΩΡΙΑ ΤΟΥ ΦΘΟΡΙΣΜΟΥ ΚΑΙ ΤΟΥ ΦΩΣΦΟΡΙΣΜΟΥ

Στον Φθορισμό Συντονισμού η ακτινοβολία απορροφάται και επανεκπέμπεται χωρίς μεταβολή της συχνότητας.

5.2.1. Διεγερμένες καταστάσεις που παράγουν Φθορισμό ή Φωσφορισμό

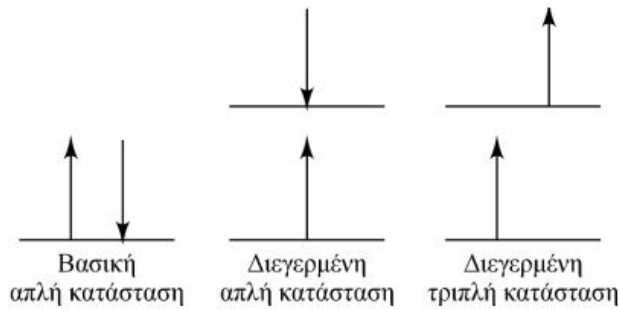
Για την κατανόηση των διαφορών των δύο φαινομένων φωτοφωταύγειας, είναι σημαντική η κατανόηση των όρων ηλεκτρονικό spin και διεγερμένες απλές ή τριπλές καταστάσεις.

* **Ηλεκτρονικό spin**: Ισχύει η απαγορευτική αρχή του Pauli, που δηλώνει ότι σε ένα άτομο δύο ηλεκτρόνια δεν μπορούν να έχουν και τους τέσσερις κβαντικούς αριθμούς ίδιους.

* **Διεγερμένες απλές ή τριπλές καταστάσεις**: Μια μοριακή ηλεκτρονική κατάσταση, στην οποία όλα τα spin είναι συζευγμένα, καλείται απλή. Αντίθετα, η βασική κατάσταση μιας ελεύθερης ρίζας είναι μια διπλή κατάσταση επειδή το μονό ηλεκτρόνιο μπορεί να αποκτήσει δύο προσανατολισμούς εντός μαγνητικού πεδίου.

Όταν ένα από τα συζευγμένα ηλεκτρόνια ενός μορίου διεγείρεται σε υψηλότερα ενεργειακά επίπεδα, σχηματίζεται μια απλή ή μια τριπλή κατάσταση. Στην διεγερμένη απλή κατάσταση το ενεργειακά ανυψωμένο ηλεκτρόνιο εξακολουθεί να αποτελεί ζεύγος με το

ηλεκτρόνιο της βασικής κατάστασης ως προς τα spin τους, ενώ στην τριπλή τα spin γίνονται παράλληλα (σχήμα 5.1.) (Θωμαΐδης Ν., 2015).

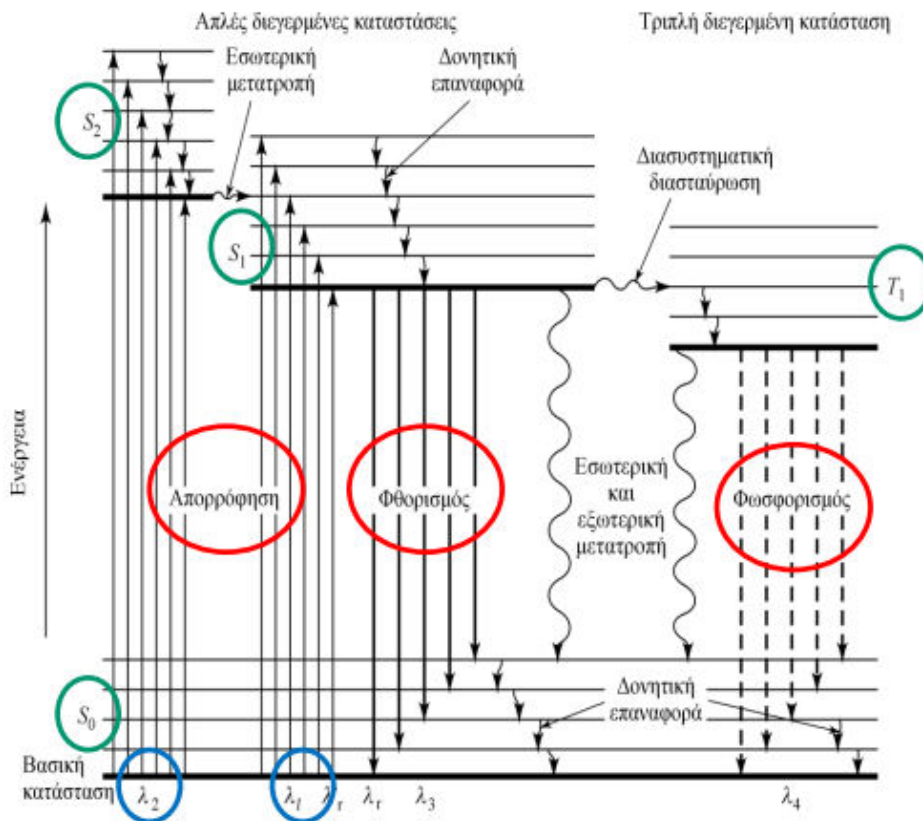


Σχήμα 5.1. : απεικόνιση διεγερμένης απλής κατάστασης/ τα spin εξακολουθούν να αποτελούν ζεύγος , ενώ στην τριπλή τα spin γίνονται παράλληλα

5.2.2. Ενεργειακά διαγράμματα μορίων που εμφανίζουν φωταύγεια

Η απορρόφηση της υπεριώδους και ορατής ακτινοβολίας από τα μόρια οφείλεται στις ηλεκτρονιακές μεταβάσεις από τη βασική ενεργειακή κατάσταση του μορίου (S_0) στις διεγερμένες καταστάσεις (Θωμαΐδης Ν., 2015) :

S_1 και S_2 = η πρώτη και δεύτερη ηλεκτρονιακή κατάσταση και T_1 = η πρώτη διεγερμένη τριπλή ηλεκτρονιακή κατάσταση (10^{-14} έως 10^{-1} s για απορρόφηση φωτονίου).

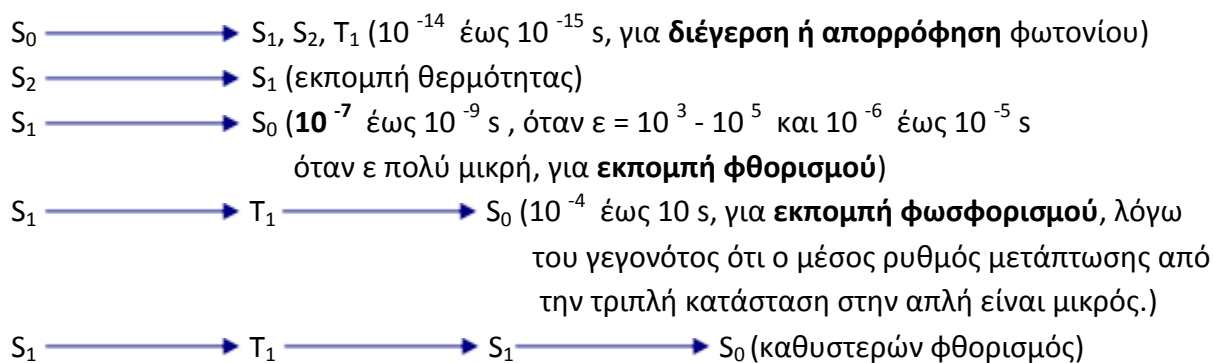


Σχήμα 5.2. : Βασική και διεγερμένη ηλεκτρονιακή κατάσταση μορίου.

Όπως φαίνεται στο σχήμα 5.2., η διέγερση του μορίου μπορεί να επιτευχθεί με απορρόφηση ακτινοβολίας γύρω από το μήκος κύματος λ_1 ($S_0 \rightarrow S_1$) και λ_2 ($S_0 \rightarrow S_2$). Η διαδικασία διέγερσης μπορεί να προκαλέσει τη μετάβαση σε οποιαδήποτε από τις διάφορες διεγερμένες δονητικές καταστάσεις. Η απευθείας μετάβαση στην τριπλή κατάσταση έχει μικρή πιθανότητα να συμβεί (απαγορευμένη μετάπτωση).

Ρυθμοί απορρόφησης και εκπομπής:

Από τη διεγερμένη κατάσταση τα μόρια αποβάλλοντας ένα ποσοστό της ενέργειας με τη μορφή θερμότητας, λόγω σύγκρουσης με τα μόρια του διαλύτη, μεταπίπτουν στην πρώτη διεγερμένη κατάσταση S_1 . Ακολούθως, η αποβολή ενέργειας μπορεί να ακολουθήσει διάφορους μηχανισμούς, που σχηματικά δίνονται στο σχήμα 5.3., με αποτέλεσμα τον φθορισμό ή φωσφορισμό των ενώσεων.



Σχήμα 5.3.: Ρυθμοί απορρόφησης και εκπομπής

Η προτιμώμενη πορεία προς τη βασική κατάσταση είναι αυτή που ελαχιστοποιεί τον χρόνο ζωής της διεγερμένης κατάστασης

5.2.3. Μηχανισμοί Αποδιέγερσης

> **Δονητική επαναφορά:** ένα μόριο κατά την ηλεκτρονιακή διέγερση μπορεί να ανυψωθεί σε οποιοδήποτε δονητικό επίπεδο. Η περίσσεια της δονητικής ενέργειας χάνεται λόγω κρούσεων. Η εμφάνιση φθορισμού περιλαμβάνει πάντα μετάπτωση από το κατώτατο δονητικό επίπεδο σε μια διεγερμένη ηλεκτρονιακή κατάσταση. Ωστόσο πάντα το ηλεκτρόνιο μπορεί να επιστρέψει σε οποιοδήποτε δονητικό επίπεδο της βασικής κατάστασης, από όπου μεταπίπτει προς το χαμηλότερο δονητικό επίπεδο της βασικής ηλεκτρονιακής κατάστασης (Θωμαΐδης Ν., 2015).

> **Εσωτερική μετατροπή:** Περιγράφει ενδομοριακούς μηχανισμούς με τους οποίους ένα μόριο καταλήγει σε ενεργειακά χαμηλότερη ηλεκτρονιακή κατάσταση χωρίς εκπομπή ακτινοβολίας. Ο ακριβής μηχανισμός δεν είναι γνωστός. Η εσωτερική μετατροπή είναι ιδιαίτερα αποδοτική όταν δύο ηλεκτρονικά επίπεδα βρίσκονται αρκετά κοντά, ώστε να επικαλυφθούν μέσω των δονητικών επιπέδων.

> **Εξωτερική μετατροπή ή κρουστική απόσβεση:** Η αποδιέγερση μπορεί να περιλαμβάνει αλληλεπίδραση με μεταφορά ενέργειας μεταξύ μορίου και μορίων διαλύτη ή άλλου συστατικού. **Οι συνθήκες που ευνοούν τη μείωση του αριθμού κρούσεων (χαμηλή θ και υψηλό ιξώδες), οδηγούν σε ενίσχυση του φθορισμού.**

> **Διασυστηματική διασταύρωση:** Είναι ο μηχανισμός κατά τον οποίο το spin ενός διεγερμένου ηλεκτρονίου αναστρέφεται, με αποτέλεσμα να αλλάζει η πολλαπλότητα του μορίου (**απλή → τριπλή**). Η πιθανότητα αυτής της μετάπτωσης αυξάνει όταν τα δονητικά επίπεδα των δύο καταστάσεων επικαλύπτονται. Το φαινόμενο είναι συνηθέστερο σε μόρια με βαρεία άτομα, όπως το I ή το Br (επίδραση βαρέως ατόμου). Η **παρουσία παραμαγνητικών μορίων**, όπως το διαλυμένο O₂, ενισχύει το φαινόμενο με συνέπεια τη **μείωση φθορισμού**.

> **Φωσφορισμός:** Μετά τη διασυστηματική διασταύρωση σε μια τριπλή κατάσταση, μπορεί να ακολουθήσει αποδιέγερση με εσωτερική ή εξωτερική μετατροπή ή φωσφορισμό. Οι εσωτερικές και εξωτερικές μετατροπές ανταγωνίζονται αποτελεσματικά το φωσφορισμό, **έτσι η εκπομπή του φωσφορισμού παρατηρείται μόνο σε χαμηλές θ, σε ιξώδη διαλύματα ή σε μόρια ακινητοποιημένα σε επιφάνειες στερεών.**

5.2.4. **Παράμετροι που επηρεάζουν τον Φθορισμό και τον Φωσφορισμό** (Θωμαΐδης Ν., 2015)

5.2.4.ι. **Κβαντική απόδοση**

$$\Phi = \frac{\text{Αριθμός μορίων που φωταυγάζουν}}{\text{Συνολικός αριθμός των διεγερμένων μορίων}}$$

$$\Phi = \frac{k_f}{k_f + k_i + k_{ec} + k_{ic} + k_{pd} + k_d}$$

όπου: Φ η απόδοση φθορισμού και k x οι σταθερές σχετικών ταχυτήτων των μηχανισμών που αναφέρθηκαν προηγουμένως.

Οι σταθερές k_f, k_{pd}, k_d, εξαρτώνται κυρίως από **χημική δομή**, ενώ οι υπόλοιπες επηρεάζονται ισχυρά από το **περιβάλλον** και λιγότερο από τη δομή.

Φ → 1 για μόρια με υψηλά επίπεδα φθορισμού

Φ → 0 για μόρια με χαμηλά επίπεδα φθορισμού

Φθορισμός κυρίως παρατηρείται σε μεταπτώσεις π* → π και π* → n, ενώ μεταπτώσεις σ* → σ σπάνια δίνουν φθορισμό. Ισχυρότερος φθορισμός εμφανίζεται σε μεταπτώσεις διέγερσης π* → π επειδή η κβαντική απόδοση είναι μεγαλύτερη. Αυτό οφείλεται:

- Η ε των μεταπτώσεων π → π* είναι μεγαλύτερη από αυτή των n → π*, έτσι ο χρόνος ζωής τους είναι μικρότερος (και η k_f **μεγαλύτερη**)

- Η σταθερά της διασυστηματικής διασταύρωσης k_i είναι **μικρότερη** στις μεταπτώσεις π → π*

5.2.4.ii. Επίδραση δομής στο φθορισμό

Έντονο φθορισμό παρουσιάζουν :

1. Οι ενώσεις που περιέχουν αρωματικές ομάδες με χαμηλά ενεργειακά επίπεδα μεταπτώσεων $\pi \rightarrow \pi^*$,
2. Οι ενώσεις με αλειφατικές δομές υψηλής συζυγίας,
3. Οι περισσότεροι μη υποκατεστημένοι αρωματικοί δακτύλιοι,
4. Οι ενώσεις με μεγάλο αριθμό αρωματικών δακτυλίων και υψηλό βαθμό συμπύκνωσης.

Οι απλές ετεροκυκλικές ενώσεις δεν φθορίζουν.

Οι συμπυκνωμένες δομές βενζολίου με ετεροκυκλικό πυρήνα προκαλούν αύξηση του ϵ και κατά συνέπεια του φθορισμού.

Η υποκατάσταση στον βενζολικό δακτύλιο προκαλεί μετατοπίσεις στο μήκος κύματος των κορυφών απορρόφησης και αντίστοιχες αλλαγές στις κορυφές φθορισμού. **Η υποκατάσταση επηρεάζει την απόδοση φθορισμού.**

5.2.4.iii. Επίδραση δομικής ακαμψίας

Έχει αποδειχτεί εμπειρικά ότι **ο φθορισμός ευνοείται σε μόρια με άκαμπτη δομή.**

Η ευκαμψία σε ένα μόριο προκαλεί ενίσχυση της εσωτερικής μετατροπής και συνεπώς αύξηση της πιθανότητας για μη ακτινοβόλο αποδιέγερση. Ένα τμήμα ενός εύκαμπτου μορίου μπορεί να εμφανίσει δονήσεις χαμηλής συχνότητας σε σχέση με άλλα τμήματα και να προκαλέσει μερική απώλεια ενέργειας.

5.2.4.iv. Επίδραση της θερμοκρασίας και του διαλύτη

1. **Αύξηση της Θερμοκρασίας :** έχει ως συνέπεια την μείωση της Έντασης Φθορισμού, λόγω αύξησης των κρούσεων και πιθανότητας αποδιέγερσης με **εξωτερική μετατροπή.**
2. **Αύξηση του ιξώδους του διαλύτη :** έχει ως συνέπεια την μείωση της Έντασης Φθορισμού, λόγω αύξησης της πιθανότητας αποδιέγερσης με **εξωτερική μετατροπή.**
3. **Έχουμε μείωση της Έντασης Φθορισμού,** σε διαλύτες με βαρέα άτομα (Br ή I).
(Θωμαΐδης Ν., 2015)

5.2.4.v. Επίδραση pH

Ο φθορισμός σε ενώσεις με όξινους ή βασικούς υποκαταστάτες συνήθως εξαρτάται από το pH. Τόσο το μήκος κύματος, όσο και η ένταση της εκπομπής μπορεί να είναι διαφορετικά για τον ιοντισμένο και μη ιοντισμένο τύπο της ένωσης. Επομένως συχνά σε φθορισμομετρικές μεθόδους απαιτείται αυστηρός έλεγχος του pH.

5.2.4.vi. Επίδραση του διαλυμένου οξυγόνου

Η παρουσία του συνήθως μειώνει την ένταση φθορισμού, διότι διευκολύνει τη διασυστηματική διασταύρωση.

5.2.4.vii. Επίδραση της συγκέντρωσης

Η ένταση φθορισμού F είναι ανάλογη προς την ισχύ της ακτινοβολίας της δέσμης διέγερσης, που απορροφάται από το σύστημα:

$$F = K'(P_0 - P)$$

όπου P_0 η ισχύς της προσπίπτουσας ακτινοβολίας και P η ισχύς της εξερχόμενης ακτινοβολίας μετά από διαδρομή b μέσα στο υλικό. **Η σταθερά K' εξαρτάται από τη κβαντική απόδοση** του μηχανισμού φθορισμού. Η συσχέτιση της F με τη συγκέντρωση c της φθορίζουσας ουσίας με γραμμομοριακή απορροφητικότητα ϵ , γράφουμε το νόμο του Beer στη μορφή:

$$\frac{P}{P_0} = 10^{-\epsilon bc} \quad F = K' P_0 (1 - 10^{-\epsilon bc})$$

Ο εκθετικός όρος της σχέσης αυτής μπορεί να αναπτυχθεί σε σειρά Maclaurin, οπότε έχουμε:

$$F = K' P_0 (2,303\epsilon bc - \frac{(2,303\epsilon bc)^2}{2!} + \frac{(2,303\epsilon bc)^3}{3!} \dots)$$

Εφόσον το $2,303 \epsilon bc = A < 0,05$, όλοι οι όροι μετά τον πρώτο μπορούν να παραληφθούν. Επομένως προκύπτει η εξίσωση:

$$F = 2,303K' \epsilon bc P_0 = K'' c$$

- * Επομένως για $A < 0,05$ η ισχύς του φθορισμού είναι ανάλογη της συγκέντρωσης.
- * Για την αρνητική απόκλιση της καμπύλης αναφοράς σε υψηλές συγκεντρώσεις υπεύθυνοι είναι δύο ακόμα παράγοντες:
 - * (α) Οι συγκρούσεις μεταξύ διεγερμένων μορίων, οπότε μεταφέρεται ενέργεια στα μόρια του διαλύτη χωρίς εκπομπή ακτινοβολίας (αυτοαπόσβεση), και
 - * (β) Η επικάλυψη της κορυφής απορρόφησης από το μήκος κύματος εκπομπής (αυτοαπορρόφηση).

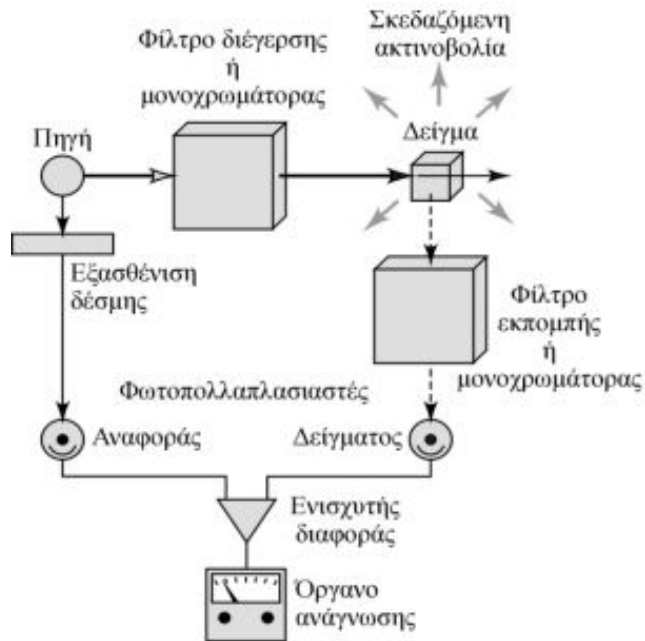
5.2.5. Οργανολογία

5.2.5.1. Φθορισμόμετρο, Φασματοφθορισμόμετρο

Στο σχήμα 5.4., παρουσιάζονται τα βασικά τμήματα ενός φθορισμόμετρου ή ενός φασματοφθορισμόμετρου.

Αναλυτικά ένα φθορισμόμετρο ή ένα φασματοφθορισμόμετρο αποτελείται από τα εξής μέρη:

- > Πηγές ακτινοβολίας
- > Φίλτρα και μονοχρωμάτορες
- > Κυψελίδες και διαμερίσματα κυψελίδων



Σχήμα 5.4.: βασικά τμήματα ενός φθορισμόμετρου ή ενός φασματοφθορισμόμετρου.

5.2.5.2. Διαφορές Φθορισμομέτρου - Φασματοφθορισμομέτρου

* Τα **φθορισμόμετρα** φίλτρου είναι σχετικά **απλά και φθηνά** και μπορούν να χρησιμοποιηθούν για ποσοτικές φθορισμομετρικές αναλύσεις. Για την επιλογή του μήκους κύματος της ακτινοβολίας διέγερσης και εκπομπής χρησιμοποιούνται **φίλτρα απορρόφησης ή φίλτρα συμβολής**. Γενικά τα φθορισμόμετρα είναι συμπαγή, ανθεκτικά και εύχρηστα όργανα.

* Τα **φασματοφθορισμόμετρα** είναι ικανά να παράγουν τόσο φάσματα διέγερσης όσο και φάσματα εκπομπής. Στα όργανα αυτά χρησιμοποιούνται **δύο μονοχρωμάτορες φράγματος**. Η ακτινοβολία από τον πρώτο μονοχρωμάτορα τεμαχίζεται, μέρος αυτής φτάνει στον φωτοπολλαπλασιαστή αναφοράς και μέρος οδηγείται προς το δείγμα. Η προκύπτουσα ακτινοβολία, μετά την ανάλυση της ανιχνεύεται και μετρείται από δεύτερο φωτοπολλαπλασιαστή. Τα λαμβανόμενα φάσματα δεν είναι εντελώς συγκρίσιμα με αυτά που λαμβάνονται με άλλα όργανα, επειδή το αποτέλεσμα δεν εξαρτάται μόνο από την ένταση φθορισμού, αλλά και από τα χαρακτηριστικά της λυχνίας, του μεταλλάκτη και των μονοχρωματόρων. Για το λόγο αυτό είναι απαραίτητη η λήψη διορθωμένων φασμάτων.

5.2.6. Εφαρμογές Φθορισμομετρίας

5.2.6.1. Χαρακτηριστικά των μεθόδων Φωταύγειας:

- * Εγγενής Ευαισθησία: Τα όρια ανίχνευσης είναι της τάξης $\mu\text{g}/\text{kg}$ (ppb) – $\mu\text{g}/\text{L}$
- * Μεγάλες γραμμικές περιοχές
- * Έντονες παρεμποδίσεις από τη μήτρα του δείγματος

* Οι μετρήσεις φωταύγειας συνδυάζονται με χρωματογραφικές τεχνικές: Συχνά προηγείται διαχωρισμός πριν τη μέτρηση, άρα έχουμε ανιχνευτές στη χρωματογραφία (κυρίως HPLC) που βασίζονται σε μετρήσεις φωταύγειας (κυρίως ανιχνευτές φθορισμού) (Θωμαΐδης Ν., 2015).

Οι μέθοδοι φωταύγειας έχουν μεγαλύτερη ευαισθησία, χαμηλότερα όρια ανίχνευσης, αλλά χειρότερη ακρίβεια και επαναληψιμότητα, από τις μεθόδους απορρόφησης.

Η ευαισθησία μιας τέτοιας μεθόδου μπορεί να βελτιωθεί με αύξηση του Ρ₀ ή με περαιτέρω ενίσχυση του F.

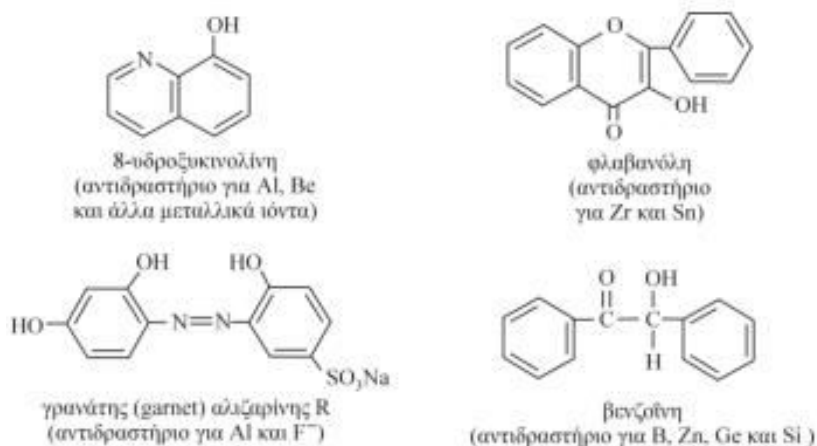
Αντίθετα στη φασματοφωτομετρία, αύξηση του Ρ₀ οδηγεί σε αύξηση του Ρ, άρα η Α δεν επηρεάζεται.

5.2.6.2. Φθορισμομετρικός προσδιορισμός Ανόργανων ενώσεων

* Δύο τύποι ανόργανων φθορισμομετρικών μεθόδων υπάρχουν : Οι άμεσες που περιλαμβάνουν το σχηματισμό μιας φθορίζουσας χηλικής ένωσης και τη μέτρηση της εκπομπής της και αυτές που βασίζονται στη μείωση φθορισμού, οφειλόμενη στην απόσβεση που ασκεί η προσδιοριζόμενη ουσία. Η τελευταία εφαρμόζεται ευρέως στην ανάλυση ανιόντων.

* Λίγα κατιόντα σχηματίζουν φθορίζουσες χηλικές ενώσεις λόγω της παραμαγνητικής τους ιδιότητας και λόγω του γεγονότος ότι τα σύμπλοκα των μετάλλων μετάπτωσης χαρακτηρίζονται από πολύ πυκνά ενεργειακά επίπεδα, που αυξάνουν την πιθανότητα αποδιέγερσης με εσωτερική μετατροπή.

* Τα καλύτερα φθορισμομετρικά αντιδραστήρια για αναλύσεις κατιόντων είναι εκείνα που έχουν αρωματική δομή με δύο ή περισσότερες δραστικές ομάδες δότες (σχήμα 5.5.), που επιτρέπουν το σχηματισμό χηλικών ενώσεων με μεταλλικά ιόντα (Θωμαΐδης Ν., 2015).



Σχήμα 5.5.: Φθορισμομετρικά αντιδραστήρια με αρωματική δομή

5.2.6.3. Φθορισμομετρικός προσδιορισμός Οργανικών ενώσεων

Μεγάλος αριθμός εφαρμογών: Ευρεία χρήση στην ανάλυση τροφίμων, φαρμάκων, φυτικών και φυσικών προϊόντων. Η ευαισθησία και εκλεκτικότητα της τεχνικής την καθιστά πολύτιμο εργαλείο στα πεδία αυτά.

5.3. ΕΦΑΡΜΟΓΕΣ ΣΤΗΝ ΜΕΛΕΤΗ ΤΩΝ ΕΛΑΙΟΛΑΔΩΝ

5.3.1. Γενικά

Τα φάσματα φθορισμού των ελαιολάδων περιέχουν πληροφορίες σχετικά με φθοροφόρα (τοκοφερόλες, φαινολικές ενώσεις, και χλωροφύλλες), που είναι σημαντικά για την ποιότητα των ελαίων. Τα φάσματα μπορεί να χρησιμοποιηθούν είτε για την παρακολούθηση επιλεγμένων συστατικών, είτε να καθορίσουν γενικά χαρακτηριστικά του δείγματος, που μπορεί να χρησιμεύσουν ως φασματικό αποτύπωμα, ως δείκτες δηλαδή για την διαφοροποίηση των ελαίων και την παρακολούθηση της ποιότητας τους με έναν υψηλό βαθμός ακρίβειας.

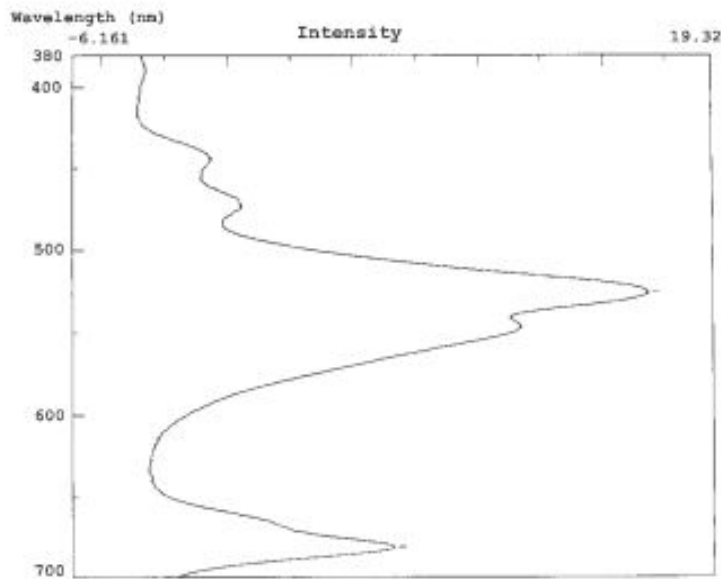
Η ανασκόπηση στοιχείων της βιβλιογραφίας αποδεικνύουν ότι οι μετρήσεις φθορισμού διεξάγονται άμεσα σε δείγματα ελαιολάδου με επακόλουθη πολυπαραγοντική ανάλυση των δεδομένων, που μπορεί να χρησιμοποιηθεί αποτελεσματικά για την ποιοτική και ποσοτική ανάλυση, ως μια έγκυρη εναλλακτική λύση στις συμβατικές χημικές μεθόδους, για την αξιολόγηση της ποιότητας.

5.3.2. Εφαρμογή στην ταυτοποίηση του ελαιόλαδου κι άλλων ελαίων

Τα φάσματα φθορισμού κάποιων κοινών φυτικών ελαίων, όπως το εξαιρετικό παρθένο ελαιόλαδο, το πυρηνέλαιο, το εξευγενισμένο ελαιόλαδο, το αραβοσιτέλαιο, το σογιέλαιο, το ηλιέλαιο, το βαμβακέλαιο, κι άλλα, εξετάστηκαν στη φυσική τους κατάσταση, με μήκος κύματος $\lambda = 360 \text{ nm} - 370 \text{ nm}$ ως ακτινοβολία διέγερσης.

Όλα τα φυτικά έλαια που εξετάστηκαν, εκτός από έξτρα παρθένο ελαιόλαδο, έδειξαν μία ισχυρή ζώνη φθορισμού στα 430-450 nm.

Το εξαιρετικό παρθένο ελαιόλαδο έδωσε ένα ενδιαφέρον διαφορετικό φάσμα φθορισμού, που αποτελείται από 3 περιοχές: μια χαμηλή διπλής έντασης στα 445 και 475 nm, μία ισχυρή στα 525 nm, και μια μέτριας έντασης στα 681 nm. Η περιοχή στα 681 nm προσδιορίστηκε ως η περιοχή της χλωροφύλλης. Η ζώνη στα 525 nm προέρχεται εν μέρει από τη βιταμίνη E. Η χαμηλή διπλής έντασης στα 445 και 475 nm συσχετίζεται με την ένταση απορρόφησης στα 232 και 270 nm του ελαιολάδου. Οι μετρήσεις αυτών των φασμάτων φθορισμού ήταν σύντομη (περίπου 5 λεπτά) και εύκολη και θα μπορούσε πιθανώς να χρησιμοποιηθεί ταυτοποίηση και την αυθεντικότητα του παρθένου ελαιολάδου (Kyriakidis N. *et al*, 2000) (σχήμα 5.6.).



Σχήμα 5.6.: Φάσμα φθορισμού εξαιρετικά παρθένου ελαιολάδου , με οξύτητα 0,67 και K270=0,11

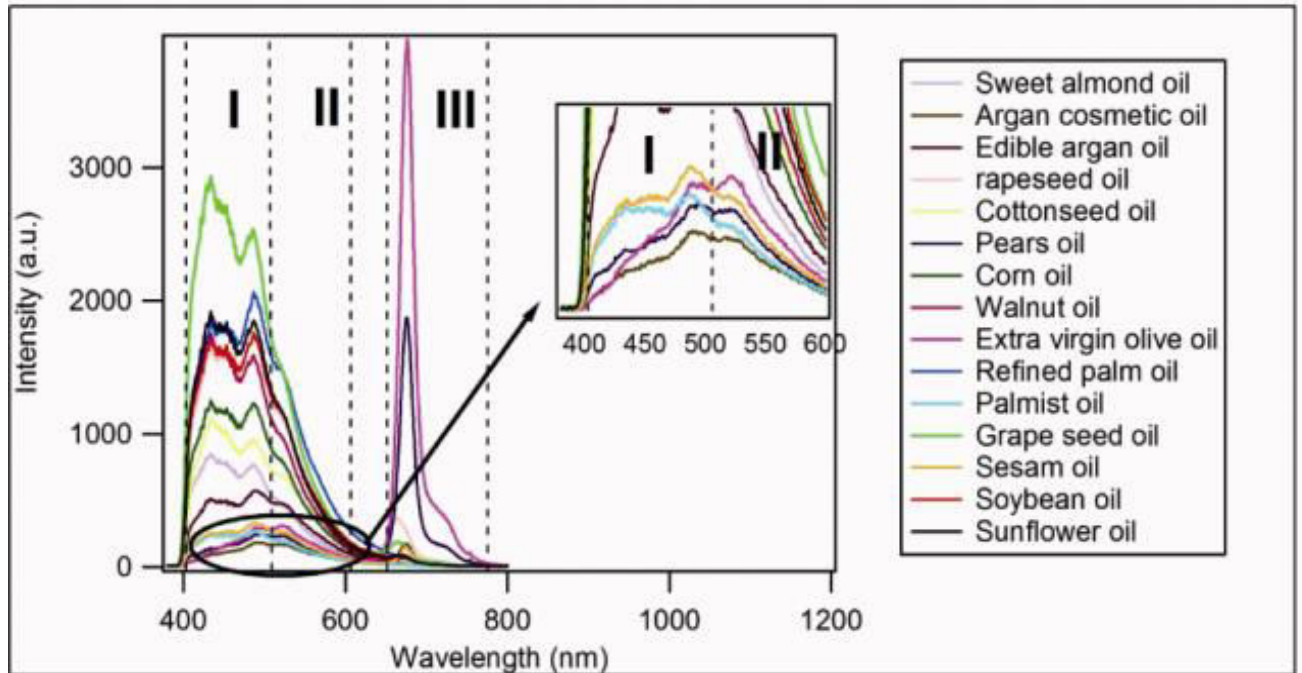
Το ίδιο διαπιστώθηκε και βάσει του δημοσιεύματος των Gilbert Y. *et al*, 2011, όπου όλα τα έλαια , πλην του εξαιρετικά παρθένου ελαιόλαδου είχαν , ξεταζόμενα στη φυσική τους κατάσταση με μήκος κύματος $\lambda = 370 \text{ nm}$, λίγο πολύ το ίδιο φάσμα φθορισμού : παρουσίασαν παρόμοιες κορυφές των εκπομπών, που ομαδοποιούνται σε τρεις περιοχές που σχετίζονται με την εκπομπή :

- Περιοχή I: προϊόντα οξείδωσης
- Περιοχή II: βιταμίνη E (γύρω στα 525nm)
- Περιοχή III: χλωροφύλλες

Ένα αντιπροσωπευτικό φάσμα αυτής της ομάδας ελαίων παρουσιάζεται στο σχήμα 5.7. . Τα φάσματα φθορισμού τους έχουν μόνο μία ευρεία κορυφή με ένα πλάτος βάσης στα 400-550 nm, και μια κορυφή σε πλάτος 430 έως 450 nm. Η ένταση της κορυφής ήταν μεταξύ στις 100 και 400 μονάδες (Gilbert Y. *et al*, 2011).

Με βάση τα δημοσιευμένα στοιχεία , μπορεί κανείς να συμπεράνει ότι οι ιδιότητες φθορισμού εξαρτώνται από την η κατηγορία ποιότητας των ελαιολάδων (Kyriakidis N. *et al* , 2000 / Roulli K.I. *et al* , 2007) .

Για μια επιλεγμένη κατηγορία ποιότητας , τα φάσματα μπορεί να δείξουν μικρές διαφορές μεταξύ των δειγμάτων , όμως, τα γενικά χαρακτηριστικά παραμένουν παρόμοια , και επιτρέπουν την αναγνώριση και εξακρίβωση της γνησιότητας των δειγμάτων ελαίου.



Σχήμα 5.7.: Φάσματα δειγμάτων ελαίων , που δείχνουν τις διάφορες περιοχές , I : 400nm-500nm, II: 500nm-600nm, III: 650nm-730nm

5.3.3. Εφαρμογή στον έλεγχο της νοθείας των ελαιολάδων με άλλα φυτικά έλαια

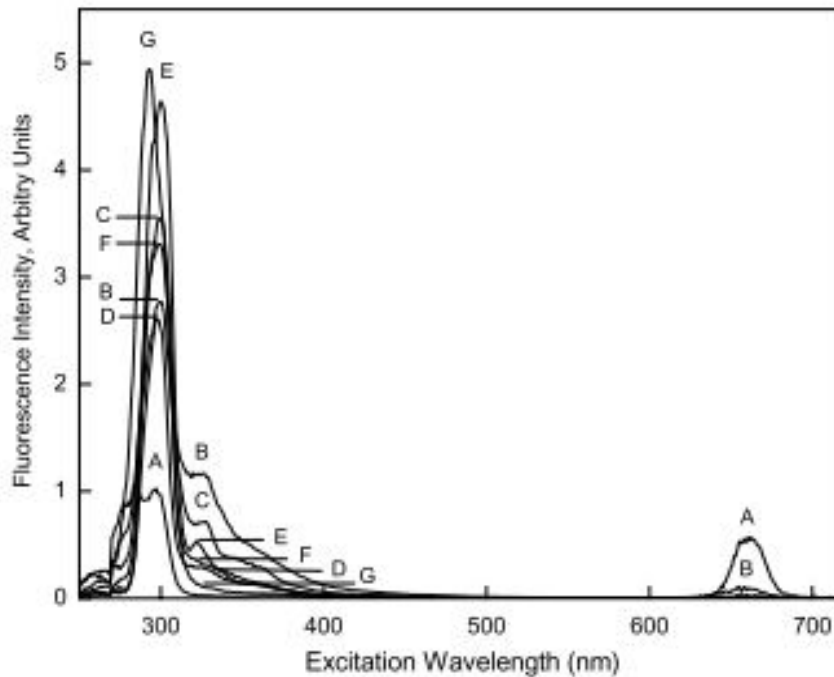
Η μέθοδος του ολικού φθορισμού ή φθορισμού απλής διέγερσης δεν είναι κατάλληλη για την ανάλυση σύνθετων δειγμάτων πολλαπλών συστατικών, χωρίς προηγούμενο διαχωρισμό, λόγω της σοβαρής επικάλυψης των ζωνών διέγερσης και εκπομπής . Σε τέτοιες περιπτώσεις, η σύγχρονη μέθοδος φθορισμού (SyF) αποδεικνύεται ωφέλιμη , καθώς και οι δύο οι μονοχρωμάτορες διέγερσης και εκπομπής σαρώνονται ταυτόχρονα με τέτοιο τρόπο, ώστε ένα σταθερό διάστημα διατηρείται μεταξύ μηκών κύματος εκπομπής και διέγερσης (Δλ). Με την χρήση κατάλληλου Δλ, η SyF μειώνει τις φασματικές επικαλύψεις στενεύοντας τις φασματικές ζώνες και απλοποιεί τα φάσματα.

Χρησιμοποιώντας τα φάσματα της συνολικής σύγχρονης μεθόδου φθορισμού (TSyF: total synchronous fluorescence spectra), μπορεί να γίνει διακριτή η διαφοροποίηση του παρθένου ελαιόλαδου από το πυρηνέλαιο, καλαμπόκι, ηλιάνθο, σόγια, ελαιοκράμβη και ελαίων καρυδιών, που χρησιμοποιούνται συνήθως για την νοθεία του ελαιολάδου. Η ανωτέρω διάκριση πιστοποιήθηκε σε έλεγχο τριάντα ενός δειγμάτων μίγματος παρθένου ελαιόλαδου με κάθε ένα παράγοντα νοθείας, που παρασκευάστηκαν με έμφαση στις χαμηλές συγκεντρώσεις (Poulli *et al*, 2007).

Τα δείγματα που παρασκευάστηκαν αραιώθηκαν σε 1 % w / v σε η-εξάνιο . Τα φάσματα της συνολικής σύγχρονης μεθόδου φθορισμού αποκτήθηκαν μεταβάλλοντας το μήκος κύματος διέγερσης στην περιοχή 250-720 nm και το Δλ στην περιοχή από 20 έως 120 nm ,

(σχήμα 5.8.). Αποδείχθηκε ότι οι προσμίξεις μπορεί να διακριθούν από το παρθένο ελαιόλαδο, χρησιμοποιώντας ένα Δλ των 20 nm και περιοχή μήκους κύματος διέγερσης : 315-400, 315-392, 315-375, 315 με 365, 315 - 375 και 315 - 360 , για πυρηνέλαιο, καλαμπόκι, ηλιάνθο, σόγια, ελαιοκράμβη και ελαίου καρυδιών αντίστοιχα. Το Παρθένο ελαιόλαδο δείχνει μια διπλή κορυφή στην περιοχή 275-297 nm και μια κορυφή στα 660 nm, που θα μπορούσε να αποδοθεί στις χρωστικές ουσίες των ομάδων της χλωροφύλλης , ενώ σε φασματική περιοχή μεγαλύτερη από τα 315 nm δεν υπάρχει καμιά φασματική απόκριση.

Ως εκ τούτου , η διαφοροποίηση των προσμίξεων επιτυγχάνεται χρησιμοποιώντας μία περιοχή μήκους κύματος μεγαλύτερο από 315 .

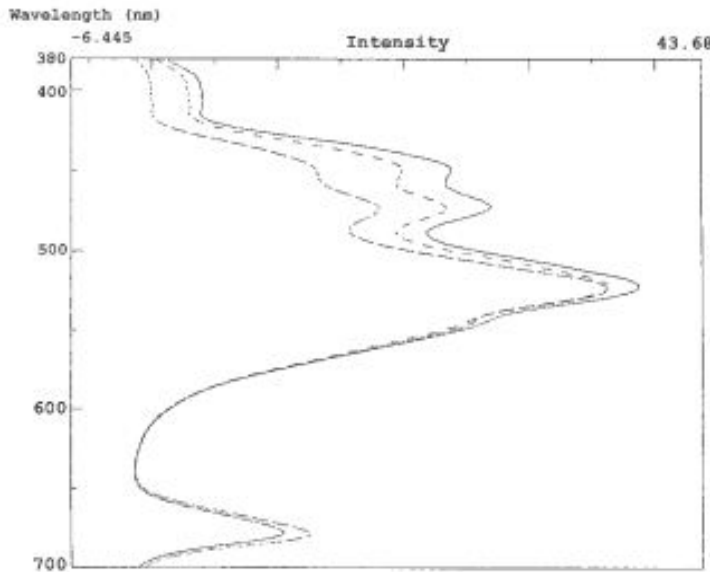


Σχήμα 5.8.: Φάσματα φθορισμού δειγμάτων Εξαιρετικά παρθένου ελαιόλαδου (A), πυρηνέλαιου (B), αραβοσιτελαίου (C), ηλιέλαιου (D), σογιέλαιου (E), ελαιοκράμβης (F) και καρυδέλαιου (G), που έχουν διαλυθεί σε n-εξάνιο (1% w/v) σε διάστημα μήκους κύματος 20 nm

Το μοντέλο μερικής παλινδρόμησης ελαχίστων τετραγώνων χρησιμοποιήθηκε για την ποσοτικοποίηση της νοθείας σε ποσοστά ανίχνευσης του πυρηνελαίου, καλαμποκέλαιου, ηλιάνθου, σόγιας, ελαιοκράμβης και καρυδέλαιο στο παρθένο ελαιόλαδο σε επίπεδα 2,6%, 3,8%, 4,3%, 4,2%, 3,6% και 13,8% (w/w), αντίστοιχα. (Poulli *et al*, 2007).

Οι μεγάλες διαφορές μεταξύ των φασμάτων φθορισμού του παρθένου ελαιόλαδου και όλων των άλλων φυτικών ελαίων (συμπεριλαμβανομένου του εξευγενισμένου ελαιόλαδου), οδήγησε στην μελέτη της επίδρασης της προσθήκης διαφόρων φυτικών ελαίων, στο φάσμα φθορισμού του παρθένου ελαιόλαδου . Σε μια σειρά προκαταρκτικών πειραμάτων , εξευγενισμένο ελαιόλαδο , ηλιέλαιο , βαμβακέλαιο , σογιέλαιο , αραβοσιτέλαιο, και πυρηνέλαιο προστέθηκαν σε ποσοστό 5 και 10 % σε διαφορετικά

δείγματα του παρθένου ελαιολάδου , και μετρήθηκαν οι αλλαγές στις εντάσεις των κορυφών φθορισμού στα 445 και 455 nm. Σε όλες τις περιπτώσεις , εντάσεις φθορισμού από αυτές τις κορυφές αυξήθηκαν (σχήμα 5.9.). Σχετικές μετρήσεις σε παρθένο ελαιόλαδο έδειξαν ότι οι εντάσεις φθορισμού από αυτές τις κορυφές αυξήθηκαν κατά 28-32 % με την προσθήκη 5% φυτικών ελαίων και κατά 18-23 % με προσθήκη 10% φυτικών ελαίων (Kyriakidis N. *et al*, 2000) .



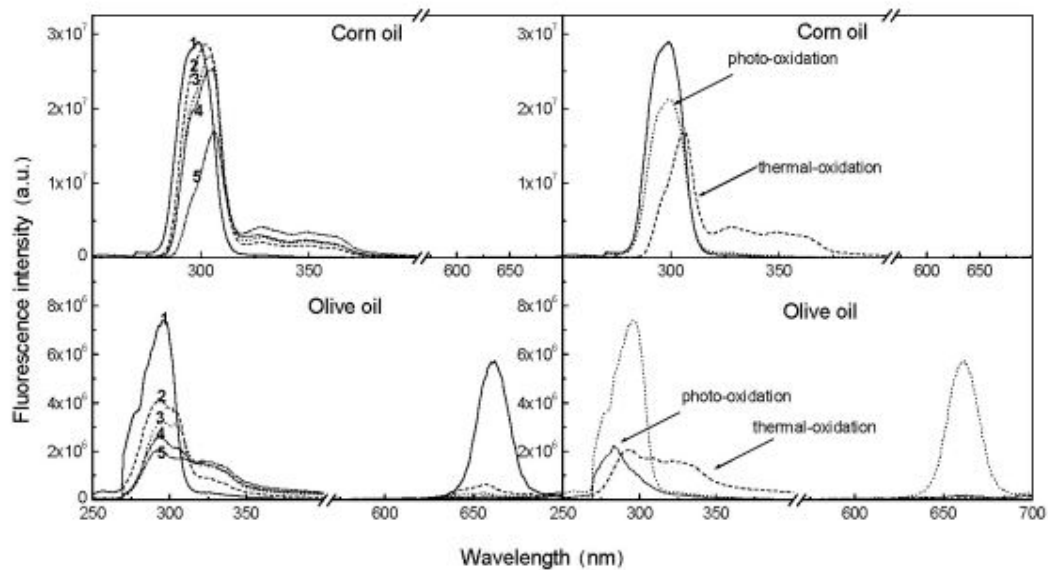
Σχήμα 5.9.: Φάσματα Φθορισμού έξτρα παρθένου ελαιόλαδου πριν και μετά την προσθήκη του εξευγενισμένου ελαιολάδου . (A) Κατώτερη διακεκομμένη γραμμή : έξτρα παρθένο ελαιόλαδο / (B) Ανώτερη διακεκομμένη γραμμή: έξτρα παρθένο ελαιόλαδο με 5 % προσθήκη εξευγενισμένου ελαιόλαδου / (Γ) συνεχής γραμμή : έξτρα παρθένο ελαιόλαδο με 10 % προσθήκη εξευγενισμένου ελαιόλαδου .

5.3.4. Εφαρμογή στην μέτρηση της υποβάθμισης των ελαιολάδων, λόγω οξείδωσης

Η φασματοσκοπία φθορισμού σάρωσης χρησιμοποιείται και ως εργαλείο για την ποιότητα των ελαιολάδων . Τα χαρακτηριστικά φάσματα υφίστανται σημαντικές αλλαγές που προκύπτουν από τη θερμική οξείδωση και φωτοοξείδωση των ελαίων. Η μέθοδος συνίσταται στην παρακολούθηση και την ποσοτικοποίηση των μικροποσοτήτων συστατικών φωταύγειας , όπως τοκοφερόλες , χλωροφύλλες και πολυφαινόλες. Η μέθοδος δεν απαιτεί στάδια διαχωρισμού.

Ως αποτέλεσμα της θερμικής οξείδωσης , παρατηρούνται χαρακτηριστικές αλλαγές με τη σύγχρονη φασματοσκοπία φθορισμού : η ένταση της ζώνης της τοκοφερόλης και της χλωροφύλλης μειώνεται , και ταυτόχρονα μια νέα μπάντα εκπομπής εμφανίζεται στην περιοχή μήκους κύματος 320-380 nm. Σε αντίθεση, η φωτο- οξείδωση του καλαμποκέλαιου

και του ελαιόλαδου οδηγεί σε μείωση της έντασης των φασμάτων της τοκοφερόλης και χλωροφύλλης, χωρίς να εμφανίζονται νέες μπάντες (Sikorska *et al*, 2003) (σχήμα 5.10.) .



Σχήμα 5.10.: Αριστερά: Αλλαγές στα φάσματα φθορισμού του αραβοσιτελαίου (επάνω) και του ελαιόλαδου (κάτω) κατά τη διάρκεια της θερμικής οξείδωσης, μετά από 1-0, 2-5, 3-10, 4-15, 5-20 h θέρμανσης (στους 200 ° C). Δεξιά: Επίδραση της φωτο- και θερμικής οξείδωσης στα φάσματα φθορισμού του καλαμποκέλαιου (επάνω) και το ελαιόλαδου (κάτω).

5.4. ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΤΜΗΜΑ ΤΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ ΤΗΣ ΟΞΕΙΔΩΣΗΣ ΤΟΥ ΕΛΑΙΟΛΑΔΟΥ ΜΕ ΦΑΣΜΑΤΟΣΚΟΠΙΑ ΦΘΟΡΙΣΜΟΥ

5.4.1. Σκοπός και περιεχόμενο του πειράματος

Η εκτίμηση του βαθμού και του χρόνου οξείδωσης του ελαιόλαδου με την βοήθεια βεβαιασμένης θέρμανσης, μπορεί να προσφέρει χρήσιμες πληροφορίες στις εταιρείες παραγωγής και τυποποίησης του ελαιόλαδου, αλλά και στις υπηρεσίες που ασκούν τον επίσημο έλεγχο τροφίμων.

Στην παρούσα εργασία, έγινε έλεγχος σε 4 εξαιρετικά παρθένα ελαιόλαδα διαφορετικών brand name.

Για το σκοπό αυτό χρησιμοποιήθηκαν τεχνικές, όπως ο προσδιορισμός peroxide values, η φασματομετρία υπεριώδους και η φθορισμομετρία. Εξετάστηκαν τα αντίστοιχα φάσματα και έγιναν ποσοτικοί υπολογισμοί απορροφήσεων σε συγκεκριμένα μήκη κύματος με τη βοήθεια εξωτερικού προτύπου.

5.4.2. Πειραματικό μέρος

5.4.2.1. Προετοιμασία

Όλα τα ελαιόλαδα που χρησιμοποιήθηκαν, πριν την έναρξη του πειράματος υποβλήθηκαν σε θέρμανση στους 120°C για 2,4 και 6 ώρες αντίστοιχα. Οι μετρήσεις πραγματοποιήθηκαν στην κατάσταση των 0 ωρών θέρμανσης (αρχική κατάσταση) αρχικά και στην συνέχεια στις 2, 4 και 6 ώρες ξεχωριστά.

5.4.2.2. Ογκομέτρηση - Προσδιορισμός Peroxide values

i. Όργανα:

- Προχοΐδα
- Κωνικές φιάλες 250ml
- Ογκομετρικοί κύλινδροι
- Ζυγός
- Ογκομετρική φιάλη
- Πιπέτες Pasteur

ii. Αντιδραστήρια :

- Οξικό οξύ
- Χλωροφόρμιο
- Διάλυμα Ιωδιούχου Καλίου (KI) κορεσμένο : Σε 20 ml νερό διαλύουμε 29 g KI στο σκοτάδι. Μια μικρή ποσότητα κρυστάλλων πρέπει να παραμείνει αδιάλυτη. Αλλιώς προσθέτουμε λίγο ακόμα KI.

Το διάλυμα πρέπει να έχει παρασκευαστεί ελάχιστο χρονικό διάστημα πριν της μετρήσεις και να αποθηκεύεται στο σκοτάδι.

- Θειοθειικό νάτριο $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 0,01M (0.01N) ή 0,1 M (0.01N)
- Δείκτης αμύλου 1% : 1g αμύλου διαλύονται σε 100ml νερό με την βοήθεια θέρμανσης και ανάδευση.

iii. Διαδικασία

1. Ζυγίζονται $3,0 \pm 0,0001$ g λαδιού σε κωνική φιάλη των 250ml, η οποία πωματίζεται.
2. Προστίθενται 10 ml χλωροφορμίου και αναδεύεται για να διαλυθεί το λάδι.
3. Προστίθενται 15ml οξικού οξέος.
4. Προστίθενται 1ml κορεσμένου διαλύματος KI.
5. Η φιάλη πωματίζεται και αναδεύεται για 1 λεπτό.
6. Αφήνεται για 5 λεπτά στο σκοτάδι.
7. Προστίθενται 75 ml νερό.

8. Ογκομετρείται με διάλυμα Θειοθειικού νατρίου $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 0,01M (αν αναμένονται τιμές PV κάτω από 20 mol/L) ή 0,1M (αν αναμένονται τιμές PV πάνω από 20 mol/L). Όταν το έντονο χρώμα του διαλύματος γίνει απαλό κίτρινο προστίθενται 2,5ml δείκτη αμύλου (εάν το λάδι δεν είναι οξειδωμένο δεν σχηματίζεται έντονο καφέ χρώμα I_2 και ο δείκτης αμύλου προστίθεται από την αρχή). Η διαδικασία της ογκομέτρησης συνεχίζεται μέχρι να εξαφανιστεί το μπλέ χρώμα που σχηματίστηκε.
9. Πριν από κάθε μέτρηση εκτελείται τυφλή ογκομέτρηση χρησιμοποιώντας τις ίδιες ποσότητες και αντιδραστήρια εκτός του λαδιού. Δεν πρέπει να καταναλωθούν περισσότερα από 0,5ml διαλύματος Θειοθειικού νατρίου $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 0,01M.
10. Για κάθε ελαιόλαδα πραγματοποιείται δύο φορές η μέτρηση.
11. Καταγράφονται τα αποτελέσματα και καθαρίζονται τα όργανα.

5.4.2.3. Τιμή ανισιδινής (ANISIDINE VALUES)

i. Όργανα :

- Ογκομετρικές φιάλες 25ml
- Σιφώνιο
- Πιπέτες 1ml και 10ml
- Falcon
- Φασματοφωτόμετρο ορατού-υπεριώδους διπλής δέσμης

ii. Αντιδραστήρια :

- Ισοοκτάνιο
- Οξικό οξύ 100%
- Θειικό νάτριο (Na_2SO_4) άνυδρο
- 4-μεθοξυανιλίνη (π-ανισιδίνη) : Παρασκευάζεται φρέσκο διάλυμα κάθε φορά.

Ζυγίζονται $0,125 \pm 0,0001$ g π-ανισιδίνη και τοποθετούνται σε ογκομετρική φιάλη των 50ml και διαλύονται σε λίγο Οξικό οξύ 100%. Στη συνέχεια η φιάλη συμπληρώνεται με Οξικό οξύ 100% μέχρι την χαραγή. Ελέγχεται η απορρόφηση του αντιδραστηρίου στα 350 nm με τυφλό Ισοοκτάνιο η οποία δεν πρέπει να υπερβαίνει τα 0,2, διαφορετικά απορρίπτεται. Το διάλυμα αποθηκεύεται στους 0-4°C στο σκοτάδι.

iii. Διαδικασία

1. Διάλυμα λαδιού: Ζυγίζονται με ακρίβεια 1,5 g λαδιού μέσα σε ογκομετρική φιάλη των 25 ml. Προστίθενται 5-10 ml Ισοοκτάνιο και ανακινείται μέχρι να διαλυθεί το λάδι και τέλος συμπληρώνεται μέχρι την χαραγή με Ισοοκτάνιο.
2. Οι δύο κυψελίδες του φασματοφωτόμετρου γεμίζονται με τυφλό Ισοοκτάνιο και ακολουθεί μηδενισμός του οργάνου.
3. Η μία κυψελίδα πλένεται με ακετόνη ώστε να ξαναχρησιμοποιηθεί μετά από κάθε μέτρηση.

4. Μέτρηση control : Μεταφέρονται σε δοκιμαστικό σωλήνα A με πιπέτα 5ml Ισοοκτάνιο και προστίθεται 1ml διαλύματος ανισιδίνης και ανακινείται έντονα. Το διάλυμα αφήνεται στο σκοτάδι για 10 λεπτά. Κατόπιν μεταφέρεται στην κενή κυψελίδα μικρή ποσότητα διαλύματος ώστε να ξεπλυθεί αρχικά και στην συνέχεια γεμίζεται ολόκληρη και τοποθετείται στην υποδοχή του οργάνου. Γίνεται φωτομέτρηση του διαλύματος με τυφλό Ισοοκτάνιο και καταγράφεται ως αρχική απορρόφηση (A2).

5. Λευκός προσδιορισμός διαλύματος : Μεταφέρονται σε falcon (ή δοκιμαστικό σωλήνα) με πιπέτα ακριβώς 5ml διαλύματος λαδιού και προστίθενται 1ml Οξικό οξύ 100% και ανακινείται έντονα. Το διάλυμα αφήνεται στο σκοτάδι για 9 λεπτά. Κατόπιν μεταφέρεται στην κυψελίδα (ξεπλένεται αρχικά με το διάλυμα) και φωτομετρείται μέσα σε 2 λεπτά (συνολικός χρόνος 8+2 = 10 λεπτά) με τυφλό Ισοοκτάνιο στα 350 nm. Καταγράφεται ως απορρόφηση A0 .

6. Μέτρηση δείγματος : Μεταφέρονται σε falcon (ή δοκιμαστικό σωλήνα) με πιπέτα ακριβώς 5ml δείγματος λαδιού και προστίθενται 1ml διαλύματος ανισιδίνης και ανακινείται έντονα. Το διάλυμα αφήνεται στο σκοτάδι για 9 λεπτά. Κατόπιν μεταφέρεται στην κυψελίδα (ξεπλένεται αρχικά με το διάλυμα) και φωτομετρείται μέσα σε 2 λεπτά (συνολικός χρόνος 8+2 = 10 λεπτά) με τυφλό Ισοοκτάνιο στα 350 nm. (Απορρόφηση A1 πρέπει να είναι 0,2-0,8 διαφορετικά πυκνώνεται ή αραιώνεται το δείγμα).

5.4.2.4. Φασματοσκοπία φθορισμού

i. Όργανα :

- Φθορισμόμετρο
- Κυψελίδα κρυστάλλου
- Ογκομετρική φιάλη 10ml
- Πιπέτες Pasteur

ii. Αντιδραστήρια :

- Εξάνιο

iii. Διαδικασία

1. Ζυγίζονται $0,100 \pm 0,001$ gr λάδι σε ογκομετρική φιάλη των 10 ml και προστίθεται σταδιακά εξάνιο μέχρι την χαραγή (διάλυμα 1 %).

2. Τα φάσματα ολικού φθορισμού (Total Luminescence Spectra) ελήφθησαν με μήκος κύματος διέγερσης (excitation wavelength) 350 nm στα 370-700 nm.

3. Τα φάσματα συγχρονου φθορισμού (synchronous fluorescence) ελήφθησαν στα 270-700 nm για $\Delta\lambda = 10, 30, 50, 70$.

5.4.3. Αποτελέσματα

Για λόγους ευελιξίας, τα τέσσερα εξαιρετικά παρθένα ελαιόλαδα που χρησιμοποιήθηκαν, έχουν κωδικοποιηθεί ως ακολούθως:

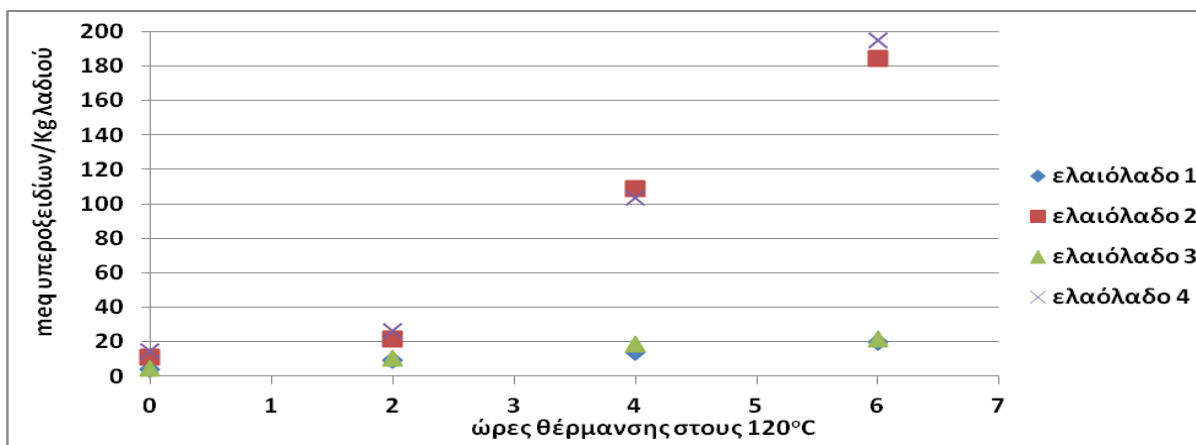
- 1 = εξαιρετικά παρθένο ελαιόλαδο Καλαμάτας
- 2 = Κολυμβάρι Χανίων εξαιρετικά παρθένο ελαιόλαδο
- 3 = εξαιρετικά παρθένο ελαιόλαδο ΑΒ
- 4 = Χανιά εξαιρετικά παρθένο ελαιόλαδο

5.4.3.1. Αριθμός Υπεροξειδίων

Ο αριθμός των υπεροξειδίων που μετρήθηκε ανά δείγμα μετά από θέρμανση στους 120°C, για 0, 2, 4 και 6 ώρες, καταγράφονται στον πίνακα 5.1. και στο αντίστοιχο σχήμα 5.11.

Πίνακας 5.1.: Αριθμός των υπεροξειδίων ανά δείγμα μετά από θέρμανση στους 120°C, για 0, 2, 4 και 6 ώρες

	αριθμός υπεροξειδίων (meq υπεροξειδίων/Kg λαδιού)	αριθμός υπεροξειδίων (meq υπεροξειδίων/Kg λαδιού)	αριθμός υπεροξειδίων (meq υπεροξειδίων/Kg λαδιού)	αριθμός υπεροξειδίων (meq υπεροξειδίων/Kg λαδιού)
ώρες στους 120°C	ελαιόλαδο 1	ελαιόλαδο 2	ελαιόλαδο 3	ελαιόλαδο 4
0	4,13	11,15	4,53	14,49
2	9,15	21,48	10,48	26,15
4	14,15	108,69	18,65	103,32
6	19,83	184,60	21,83	194,74



Σχήμα 5.11.: Αριθμός των υπεροξειδίων ανά δείγμα μετά από θέρμανση στους 120°C, για 0, 2, 4 και 6 ώρες

Από τον πίνακα 5.1. και το σχήμα 5.11., παρατηρούμε ότι:

* Στα ελαιόλαδα 1 και 3, παρατηρείται σταδιακή κι ομαλή αύξηση των υπεροξειδίων, κατά την διάρκεια της θέρμανσής τους .

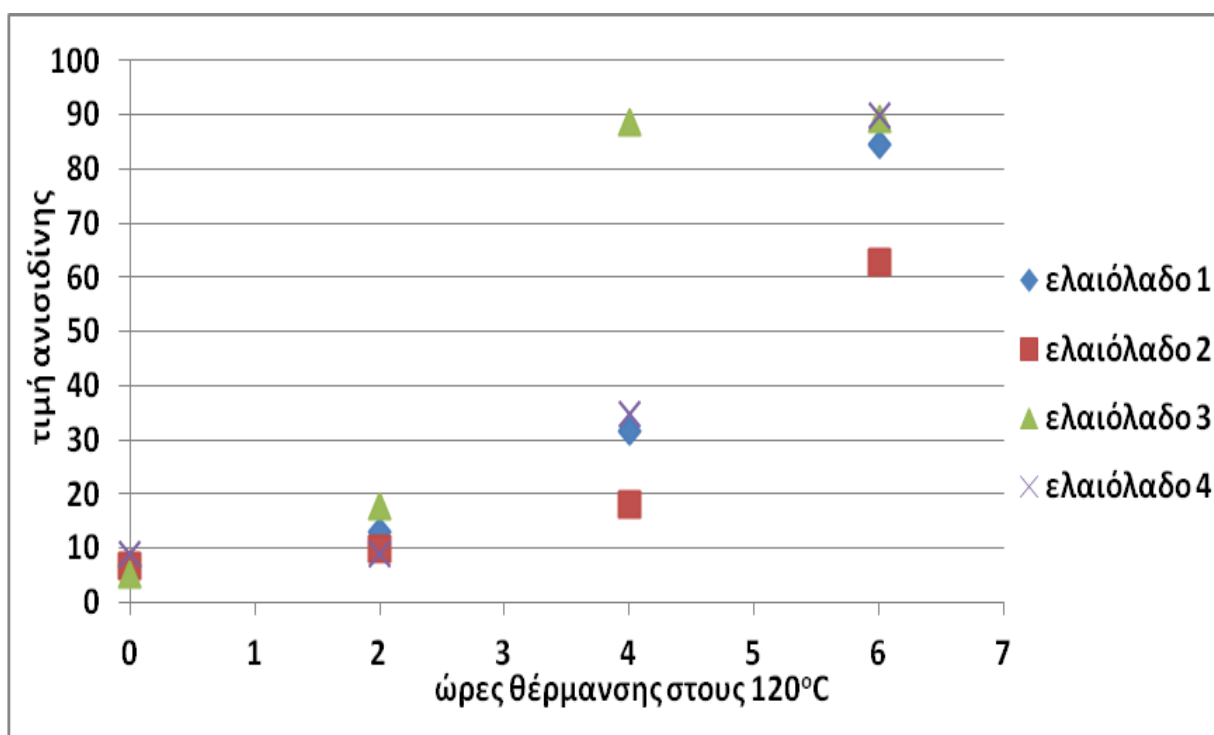
* Στα ελαιόλαδα 2 και 4, τα οποία είναι προέλευσης Χανίων , των οποίων ο αριθμός των υπεροξειδίων ήταν εξ αρχής υψηλός, παρατηρείται μεγαλύτερου βαθμού αύξηση των υπεροξειδίων μετά από 4 ώρες θέρμανση , ενώ εκτοξεύονται μετά από 6 ώρες θέρμανση.

5.4.3.2. Τιμή Ανισιδίνης

Η τιμή της Ανισιδίνης που μετρήθηκε ανά δείγμα μετά από θέρμανση στους 120°C, για 0, 2, 4 και 6 ώρες, καταγράφονται στον πίνακα 5.2. και στο αντίστοιχο σχήμα 5.12.

Πίνακας 5.2.: Τιμή της Ανισιδίνης ανά δείγμα μετά από θέρμανση στους 120°C, για 0, 2, 4 και 6 ώρες

	Τιμή Ανισιδίνης	Τιμή Ανισιδίνης	Τιμή Ανισιδίνης	Τιμή Ανισιδίνης
ώρες στους 120°C	ελαιόλαδο 1	ελαιόλαδο 2	ελαιόλαδο 3	ελαιόλαδο 4
0	6,75	6,84	5,08	8,97
2	13,17	9,86	17,71	8,93
4	31,55	18,04	88,48	34,78
6	84,54	62,89	89,22	90,00



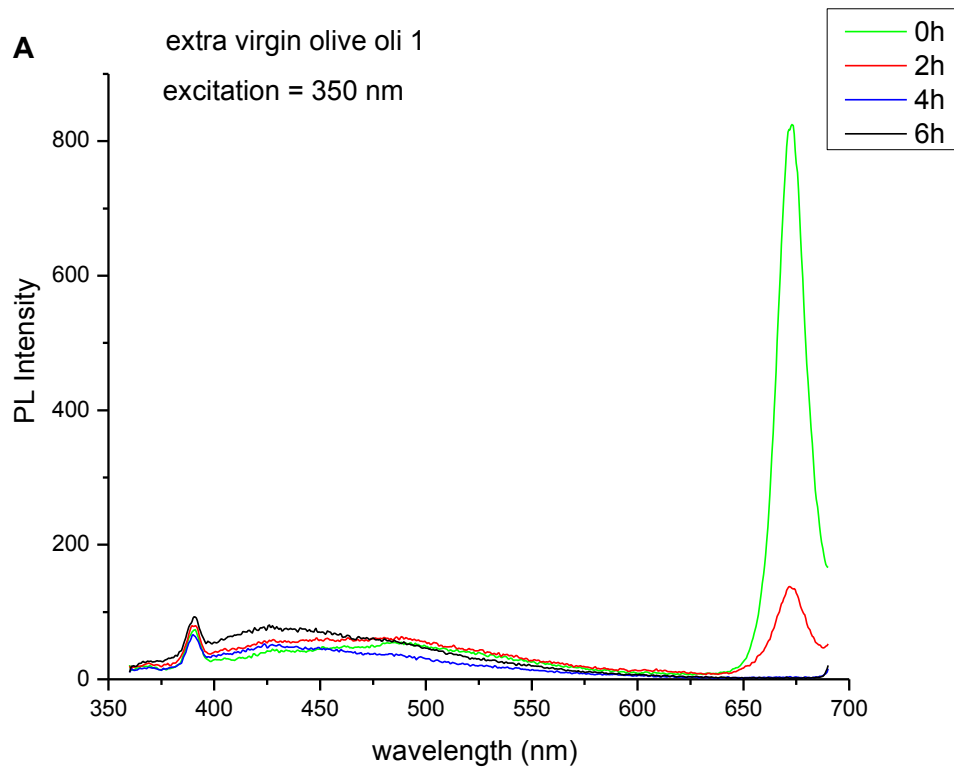
Σχήμα 5.12.: Τιμή της Ανισιδίνης ανά δείγμα μετά από θέρμανση στους 120°C, για 0, 2, 4 και 6 ώρες

Από τον πίνακα 5.2. και το σχήμα 5.12., παρατηρούμε ότι:

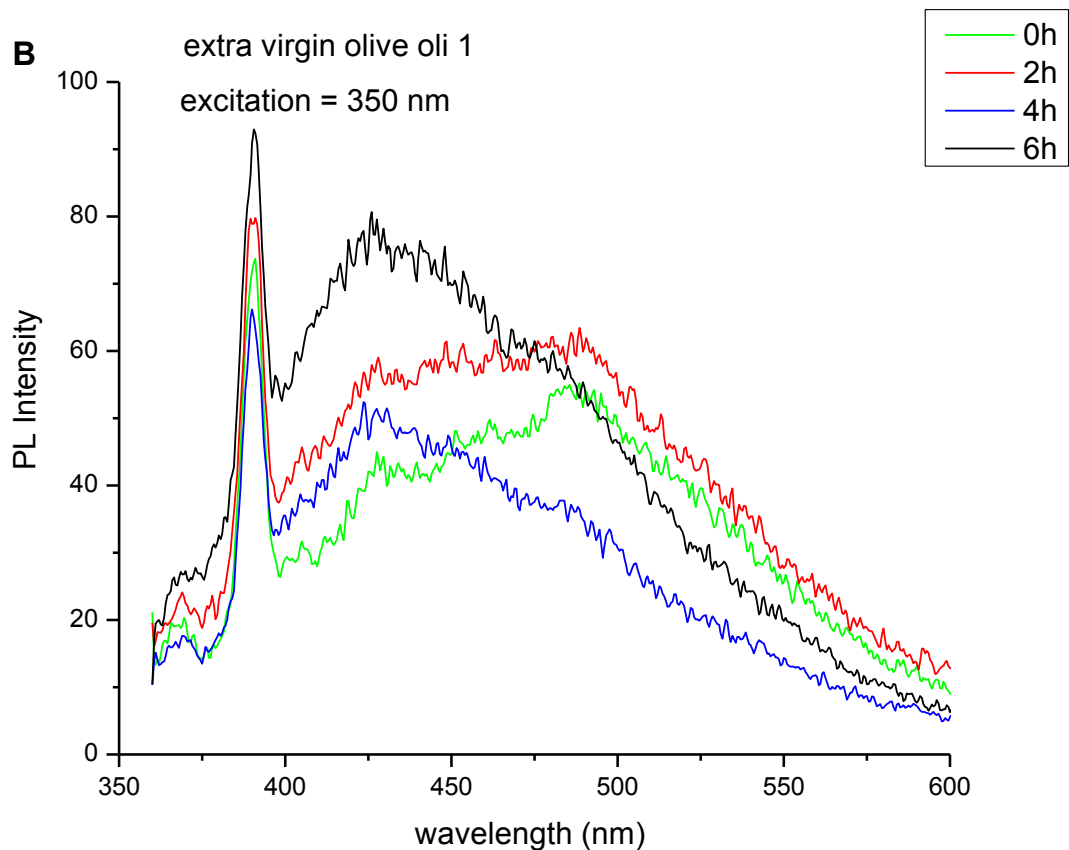
- * Στο ελαιόλαδο 3 παρατηρείται μια απότομη αύξηση της τιμής της ανισιδίνης μετά από 4 ώρες θέρμανσης , από τα 20 περίπου στα 90, ενώ σχεδόν ελάχιστη είναι η μεταβολή της μετά από 2 επιπλέον ώρες θέρμανσης.
- * Στα ελαιόλαδα 1 και 4, παρατηρείται απότομη αύξηση της τιμής της ανισιδίνης μετά από 6 ώρες θέρμανση.
- * Στο ελαιόλαδο 2 παρατηρείται πιο ομαλή αύξηση της τιμής της ανισιδίνης με την πάροδο του χρόνου θέρμανσης.
- * Τα ελαιόλαδα 1 και 2, ενώ ξεκινούν με σχεδόν ίδια τιμή ανισιδίνης , ο ρυθμός αύξησης της τιμής της ανισιδίνης με την πάροδο του χρόνου θέρμανσης διαφέρει, με πιο αισθητή διαφοροποίηση μετά από 4 και 6 ώρες θέρμανσης.
- * Στο ελαιόλαδο 4, η τιμές ανισιδίνης στις 0 και 2 ώρες θέρμανσης είναι σχεδόν ίδιες , ενώ μετά από 4 ώρες θέρμανσης αυξάνεται αισθητά.

5.4.3.3. Αποτελέσματα Φθοροσίμετρου

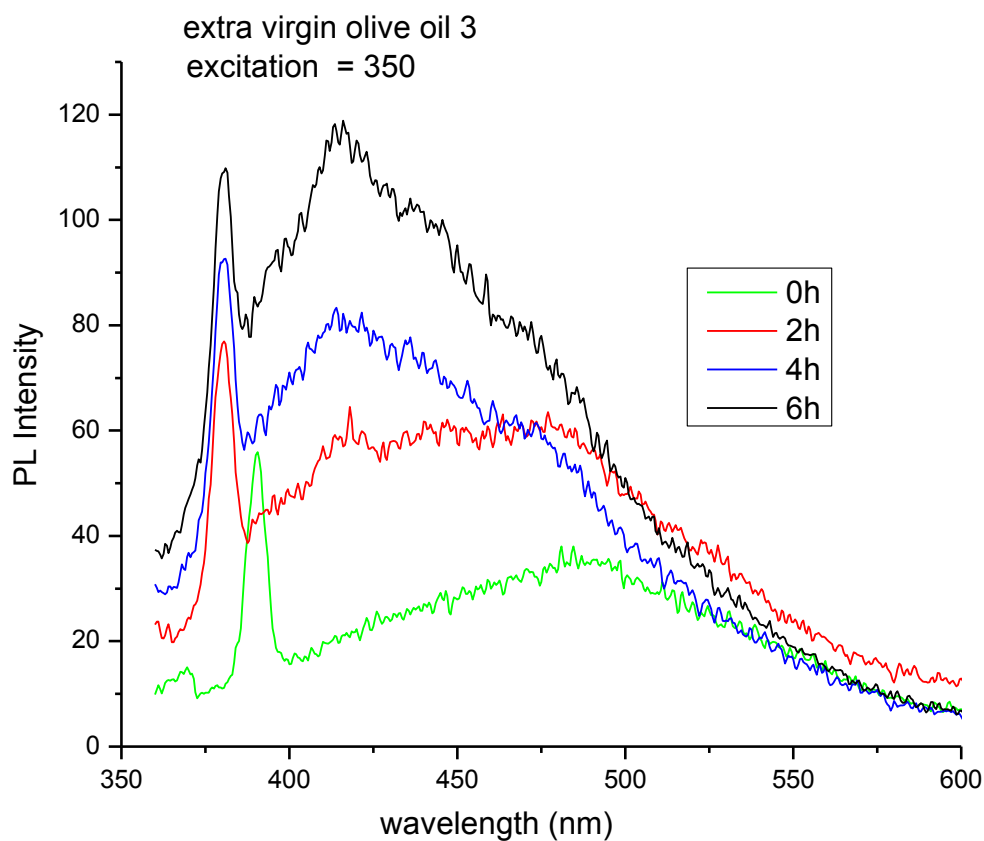
5.4.3.3.α. Φάσματα ολικού φθορισμού με διέγερση στα 350 nm για διάφορους χρόνους θέρμανσης στους 120° C



Σχήμα 5.13.: Φάσμα ολικού φθορισμού εξαιρετικά παρθένου ελαιόλαδου με διέγερση στα 350 nm για διάφορους χρόνους θέρμανσης στους 120°C. Είναι εμφανές ότι η περιοχή απορρόφησης στα 680 nm που αντιστοιχεί στην περιοχή της χλωροφύλλης μειώνεται έντονα στο πρώτο 2ωρο της θέρμανσης, μέχρι που εξαφανίζεται από το 4ωρο και μετά.



Σχήμα 5.14.: Φάσμα ολικού φθορισμού εξαιρετικά παρθένου ελαιόλαδου με διέγερση στα 350 nm για διάφορους χρόνους θέρμανσης στους 120°C, μεγέθυνση της περιοχής 350-600 nm. Η αύξηση των διακυμάνσεων του φάσματος φθορισμού στην περιοχή των 380-450 nm, οφείλεται πολύ πιθανώς στην οξείδωση των τοκοφερολών. Επίσης παρατηρείται μετατόπιση των κορυφών και των διακυμάνσεων μετά το 2ωρο θέρμανσης από την περιοχή 450-500 nm στην περιοχή 400-450 nm.



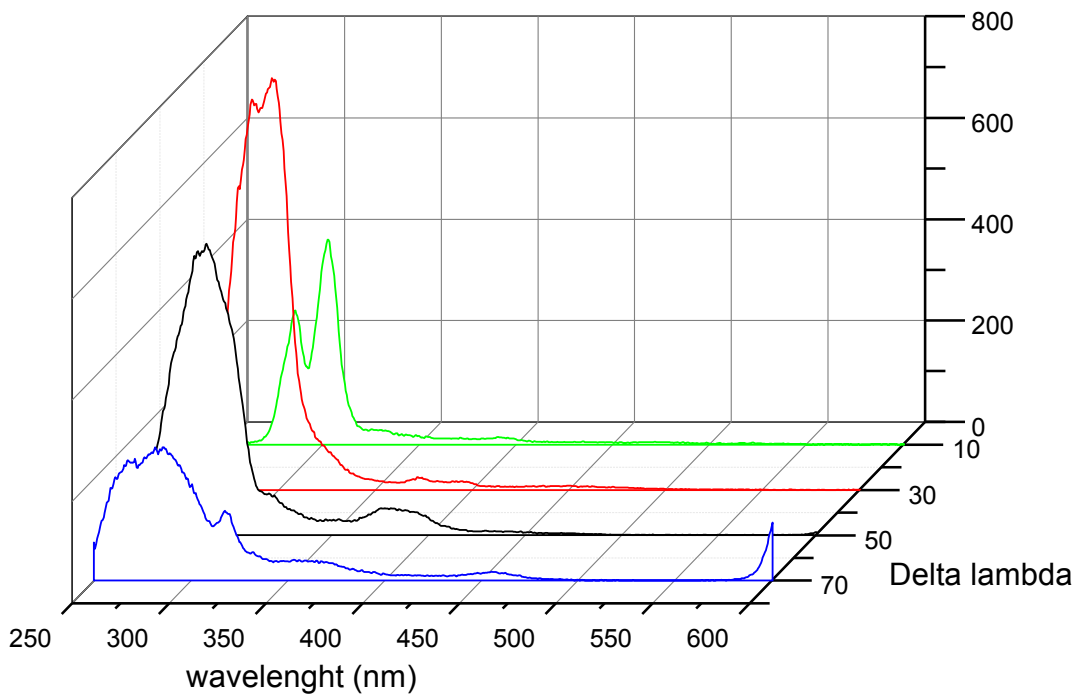
Σχήμα 5.15.: Φάσμα ολικού φθορισμού εξαιρετικά παρθένου ελαιόλαδου 3 με διέγερση στα 350 nm, για διάφορους χρόνους θέρμανσης στους 120°C

Η αύξηση των διακυμάνσεων του φάσματος φθορισμού στην περιοχή των 380-450 nm, οφείλεται πολύ πιθανώς στην οξείδωση των τοκοφερολών. Επίσης παρατηρείται μετατόπιση των κορυφών και των διακυμάνσεων μετά το πρώτο 2ωρο θέρμανσης από την περιοχή 450-500 nm στην περιοχή 400-450 nm, ενώ στο ελαιόλαδο αυτό έχουμε και μετατόπιση της κορυφής από τα 385 nm στα 375 nm.

5.4.3.3.β. Φάσματα σύγχρονου φθορισμού για διάφορα Δλ, χωρίς θέρμανση και για διάφορους χρόνους θέρμανσης στους 120°C

5.4.3.3.β.ι. Εξαιρετικά παρθένο ελαιόλαδο 1

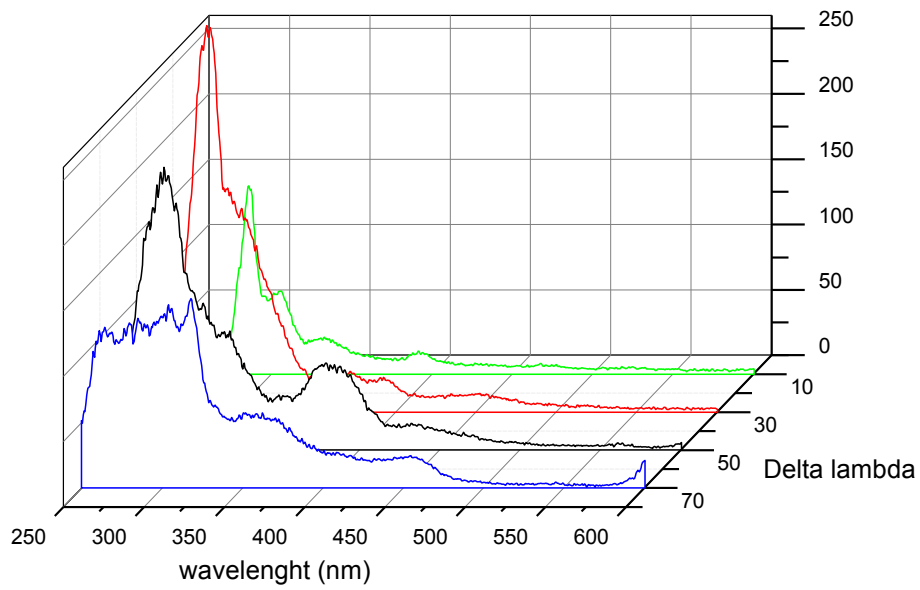
extra virgin olive oil 1, 0h 120°C



Σχήμα 5.16.: Φάσματα σύγχρονου φθορισμού εξαιρετικά παρθένο ελαιολάδου 1, για Δλ 10, 30, 50 και 70, χωρίς θέρμανση.

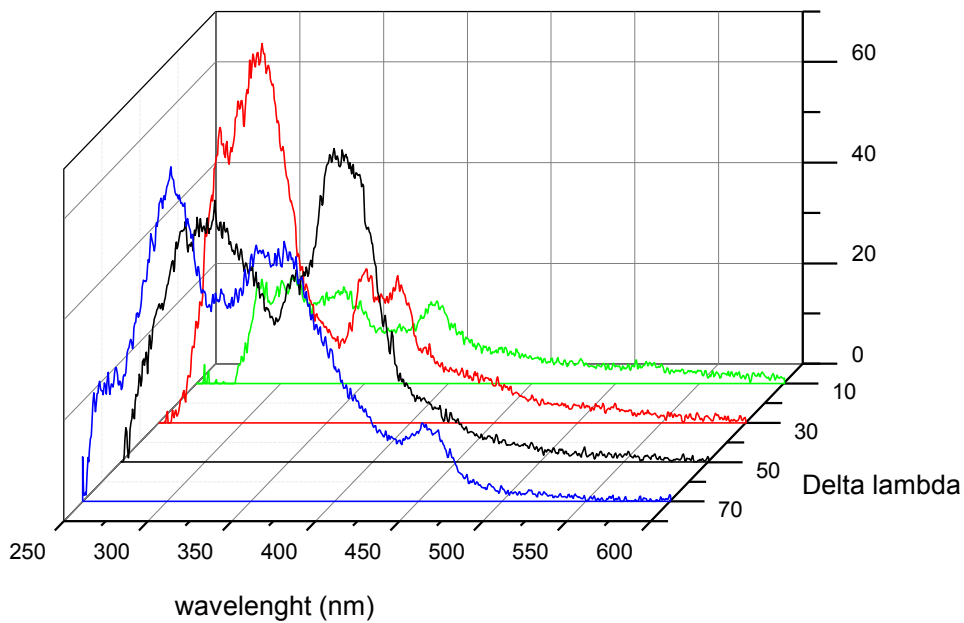
Είναι εμφανές ότι το φάσμα σύγχρονου φθορισμού στο Δλ 30, μας δίνει περισσότερες πληροφορίες, η δε κορυφή που εμφανίζεται στα 300-400 nm οφείλεται στις πολυφαινόλες.

extra virgin olive oil 1, 2h 120° C



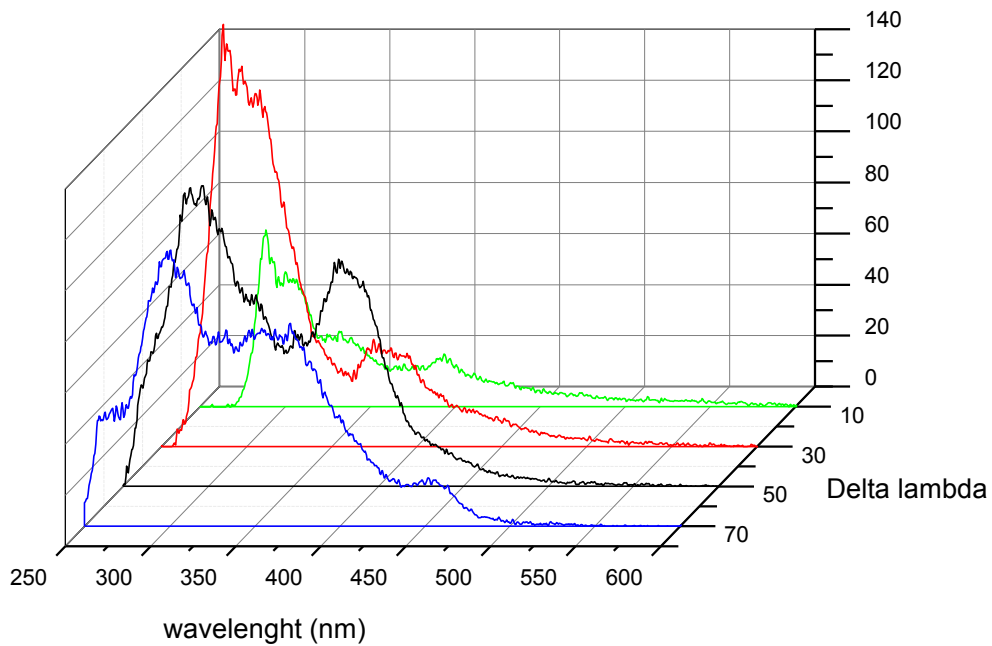
Σχήμα 5.17.: Φάσματα σύγχρονου φθορισμού εξαιρετικά παρθένου ελαιολάδου 1, για $\Delta\lambda$ 10, 30 , 50 και 70 , με θέρμανση στους 120°C για 2h

extra virgin olive oil 1, 4h 120° C



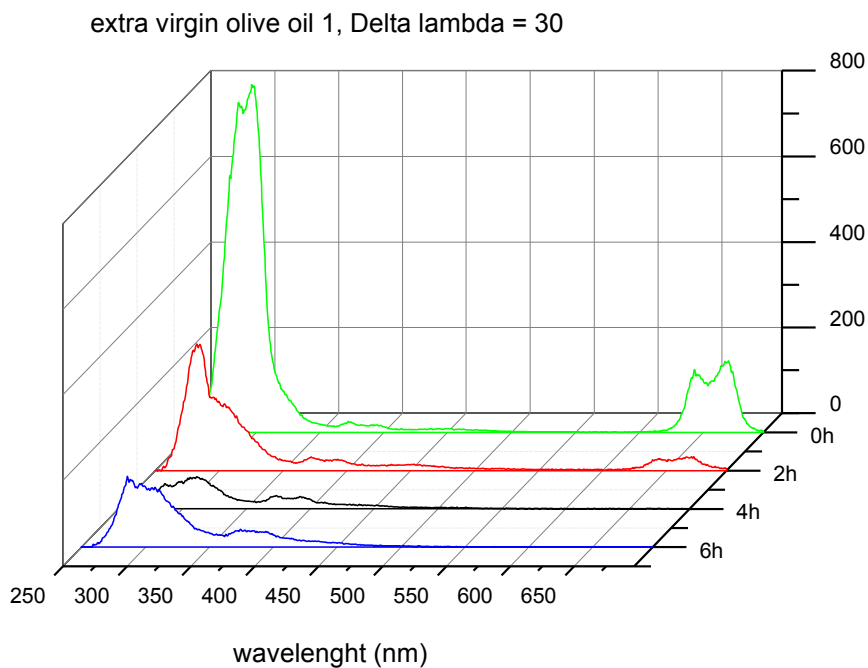
Σχήμα 5.18.: Φάσματα σύγχρονου φθορισμού εξαιρετικά παρθένου ελαιολάδου 1, για $\Delta\lambda$ 10, 30 , 50 και 70, με θέρμανση στους 120°C για 4h

extra virgin olive oil 1, 6h 120° C



Σχήμα 5.19.: Φάσματα σύγχρονου φθορισμού εξαιρετικά παρθένου ελαιολάδου 1, για $\Delta\lambda$ 10, 30, 50 και 70, με θέρμανση στους 120°C για 6h.

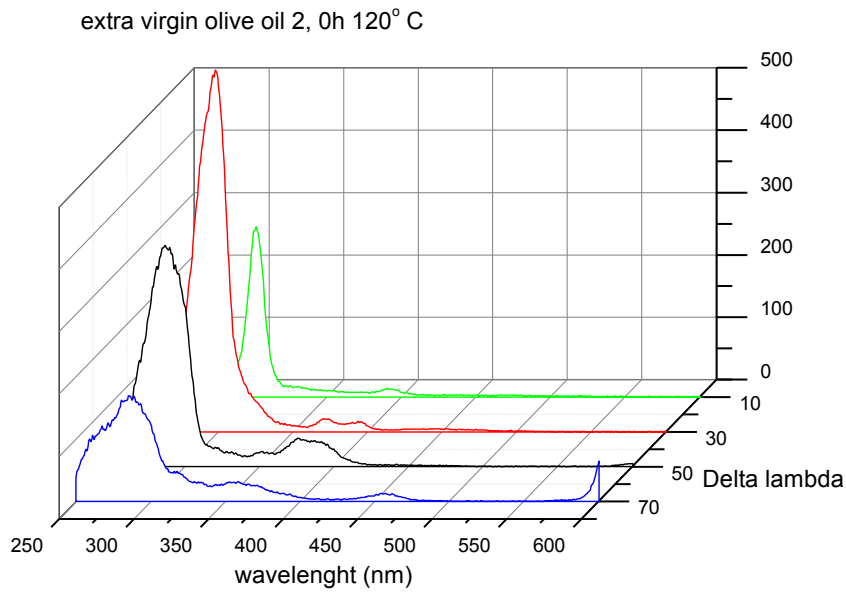
Η μικρή διακύμανση που παρατηρείται και στις 4 και στις 6 ώρες θέρμανσης, στην περιοχή 350-450 nm για $\Delta\lambda$ 30, μπορεί να οφείλεται στην διάσπαση των υπεροξειδίων .



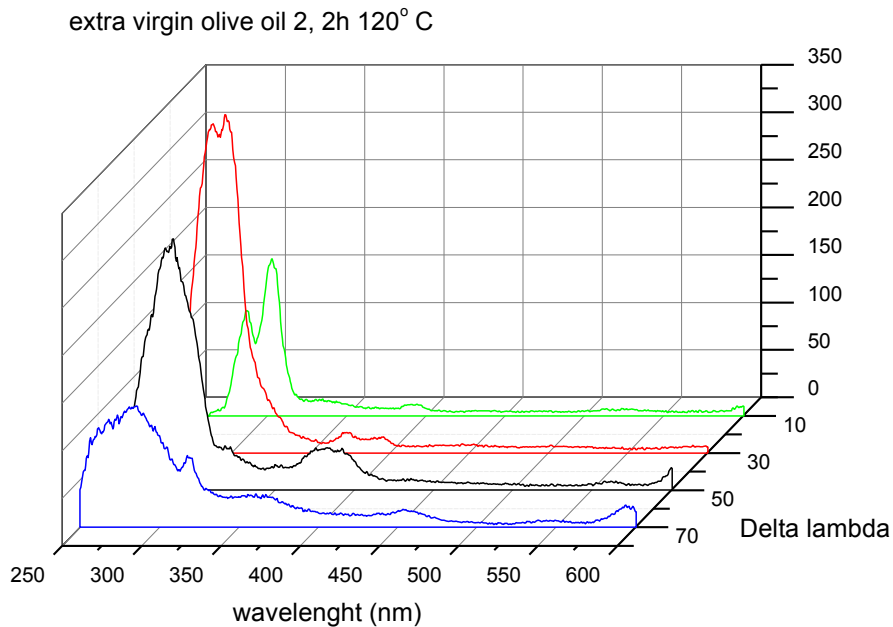
Σχήμα 5.20.: Φάσματα σύγχρονου φθορισμού για Δλ 30 του εξαιρετικά παρθένου ελαιόλαδου 1, με θέρμανση στους 120°C για διάφορους χρόνους.

Συγκρίνοντας τα φάσματα του ελαιόλαδου 1 κατά την θέρμανσή του στους 120°C για διάφορους χρόνους, με τις αντίστοιχες τιμές της ανισιδίνης από τον πίνακα 5.2. στις ίδιες ώρες, φαίνεται πως τόσο οι διακυμάνσεις φθορισμού, όσο και οι τιμές ανισιδίνης μεταβάλλονται ομαλά.

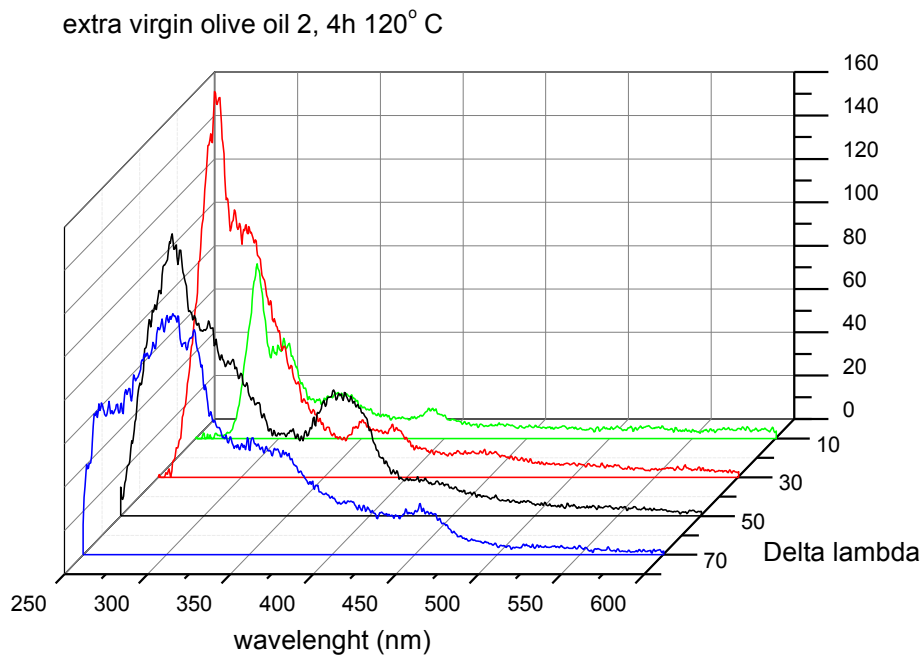
5.4.3.3.β.ii. Εξαιρετικά παρθένο ελαιόλαδο 2



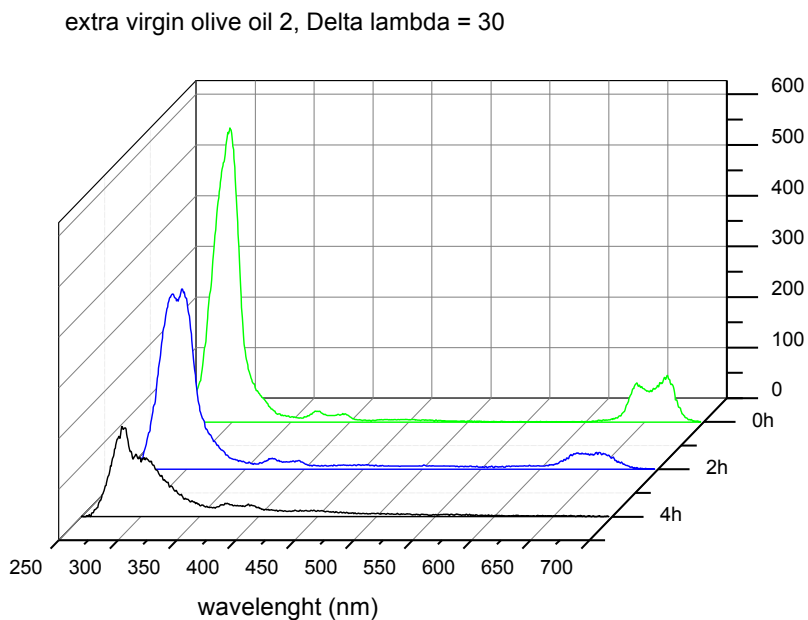
Σχήμα 5.21. : Φάσματα σύγχρονου φθορισμού εξαιρετικά παρθένο ελαιολάδου 2, για $\Delta\lambda$ 10, 30 , 50 και 70, χωρίς θέρμανση



Σχήμα 5.22.: Φάσματα σύγχρονου φθορισμού εξαιρετικά παρθένο ελαιολάδου 2, για $\Delta\lambda$ 10, 30 , 50 και 70, με θέρμανση στους 120°C για 2h

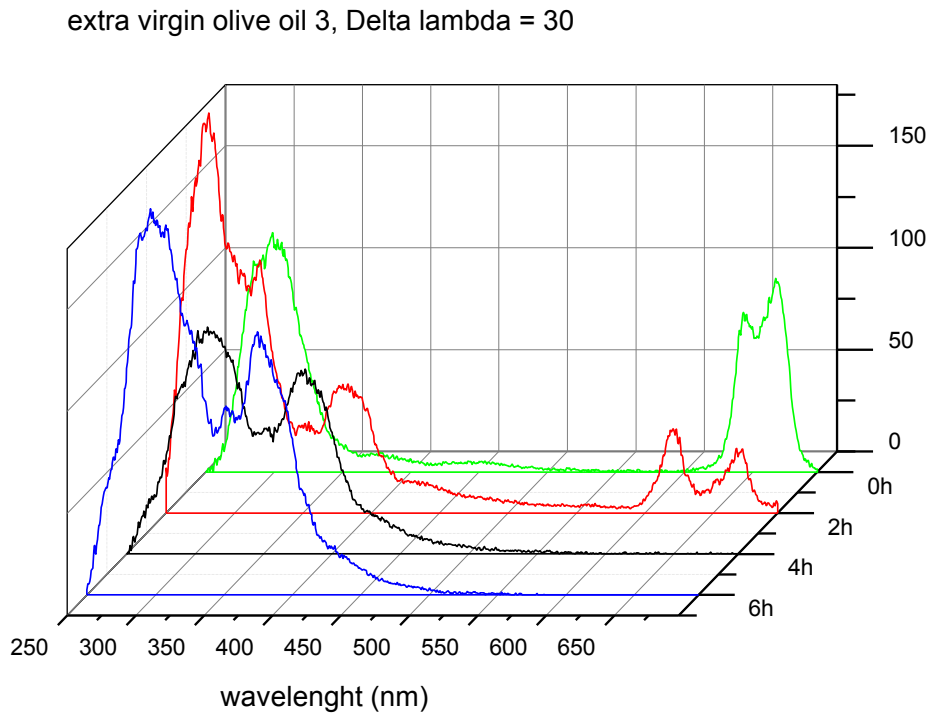


Σχήμα 5.23.: Φάσματα σύγχρονου φθορισμού εξαιρετικά παρθένου ελαιολάδου 2, για $\Delta\lambda$ 10, 30 , 50 και 70 με θέρμανση στους 120°C για 4h



Σχήμα 5.24.: Φάσματα σύγχρονου φθορισμού για $\Delta\lambda$ 30 του εξαιρετικά παρθένου ελαιόλαδου 2, με θέρμανση στους 120°C για διάφορους χρόνους.

5.4.3.3.β.iii. Εξαιρετικά παρθένο ελαιόλαδο 3



Σχήμα 5.25.: Φάσματα σύγχρονου φθορισμού για Δλ 30 του εξαιρετικά παρθένου ελαιόλαδου 3, με θέρμανση στους 120°C για διάφορους χρόνους.

Από τον πίνακα 5.25. παρατηρούμε ότι:

* είναι μια χαρακτηριστική απεικόνιση για Δλ 30

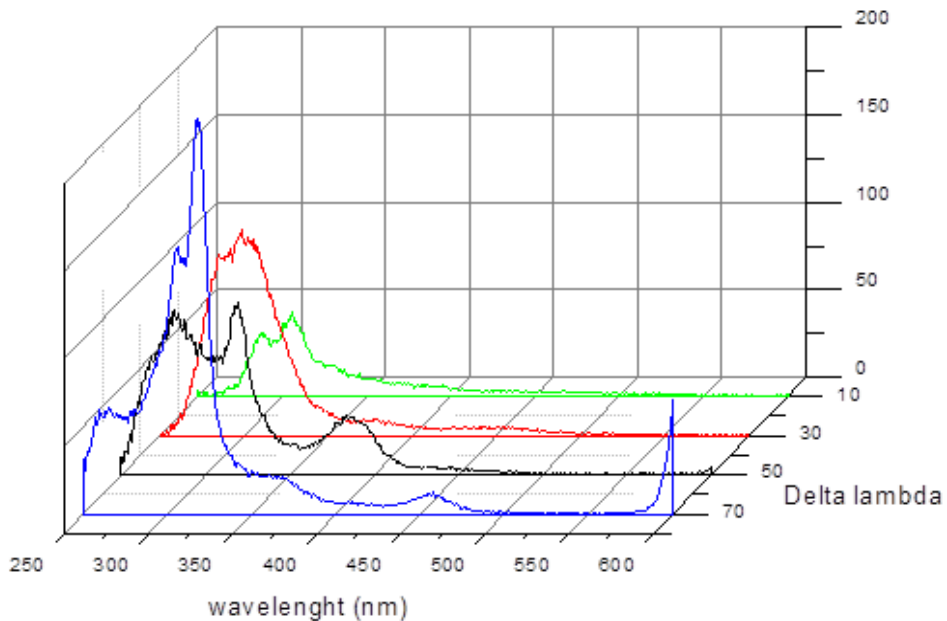
* κατά την θέρμανση, με την πάροδο του χρόνου, στην περιοχή απορρόφησης στα 680 nm που αντιστοιχεί στην περιοχή της χλωροφύλλης, βλέπουμε μείωση της απορρόφησης: έντονα στο πρώτο 2ωρο της θέρμανσης, μέχρι που εξαφανίζεται από το 4ωρο και μετά. Η περιεκτικότητα σε χλωροφύλλη μειώνεται δραστικά.

* στο πρώτο 2ωρο θέρμανσης, η καμπύλη στα 250-350 nm δείχνει την αύξηση των προϊόντων οξείδωσης, ενώ στις 0 ώρες η καμπύλη στην ίδια περιοχή 250-350 nm, οφείλεται στις τοκοφερόλες.

* Ως αποτέλεσμα της θερμικής οξείδωσης, παρατηρούνται χαρακτηριστικές αλλαγές: η ένταση της ζώνης της τοκοφερόλης και της χλωροφύλλης μειώνεται, και ταυτόχρονα μια νέα μπάντα εκπομπής εμφανίζεται στην περιοχή μήκους κύματος 320-380 nm.

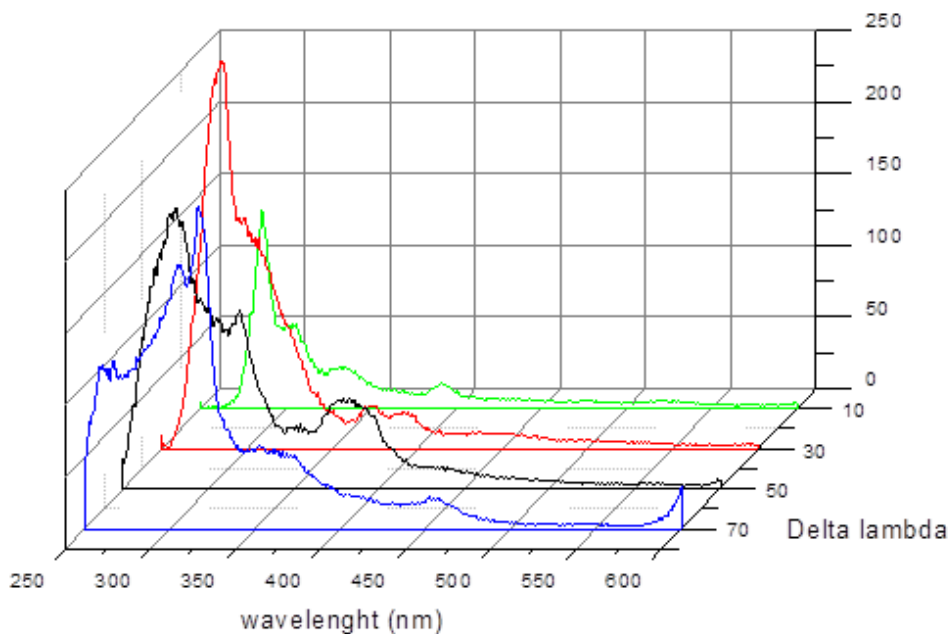
5.4.3.3.β.iv. Εξαιρετικά παρθένο ελαιόλαδο 4

extra virgin olive oil 4, 0h 120° C



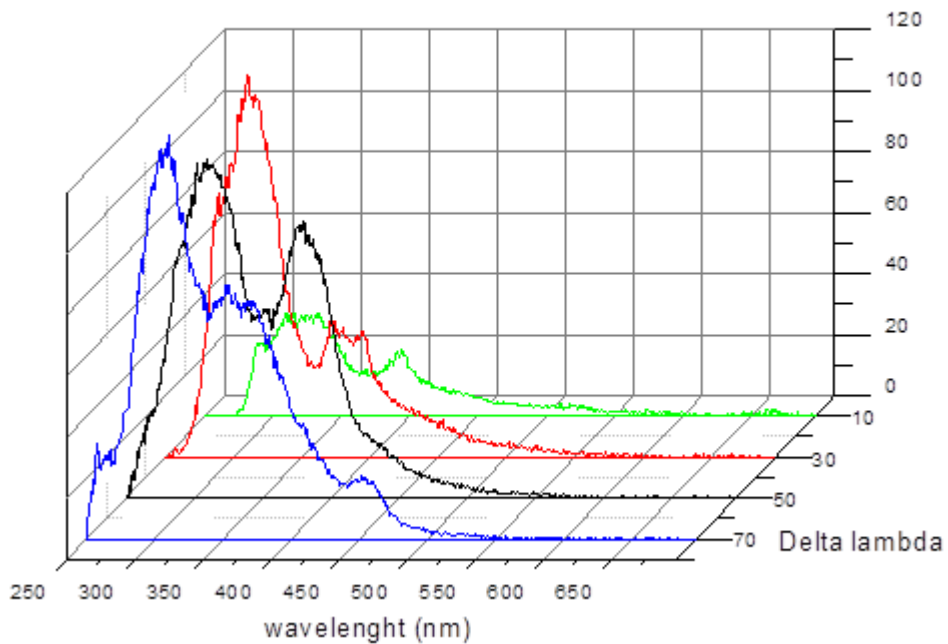
Σχήμα 5.26.: Φάσματα σύγχρονου φθορισμού εξαιρετικά παρθένο ελαιόλαδου 4, για Δλ 10, 30 , 50 και 70, χωρίς θέρμανση. Σε αντίθεση με τα άλλα ελαιόλαδα, στο ελαιόλαδο 4 , οι πληροφορίες στην περιοχή των 250-350 nm, μπορούν να παρθούν και για Δλ 70, εκτός και για Δλ 30.

extra virgin olive oil 4, 2h 120° C



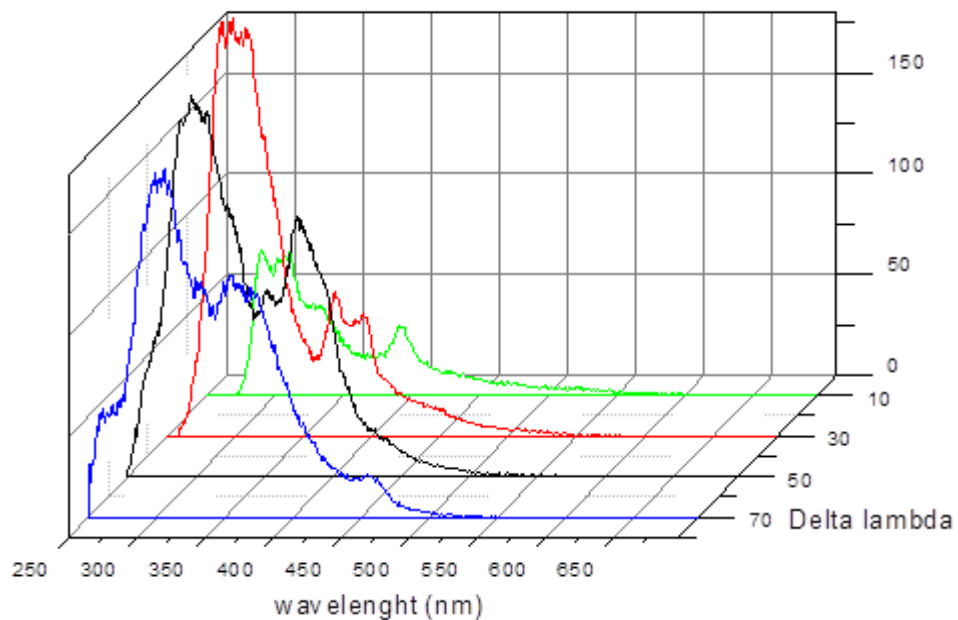
Σχήμα 5.27.: Φάσματα σύγχρονου φθορισμού εξαιρετικά παρθένο ελαιόλαδου 4, για Δλ 10, 30 , 50 και 70, με θέρμανση στους 120°C για 2h, όπου κι εδώ πληροφορίες παίρνουμε και για Δλ 70, παρόλο που μειώνονται οι διακυμάνσεις φθορισμού

extra virgin olive oil 4, 4h 120°C



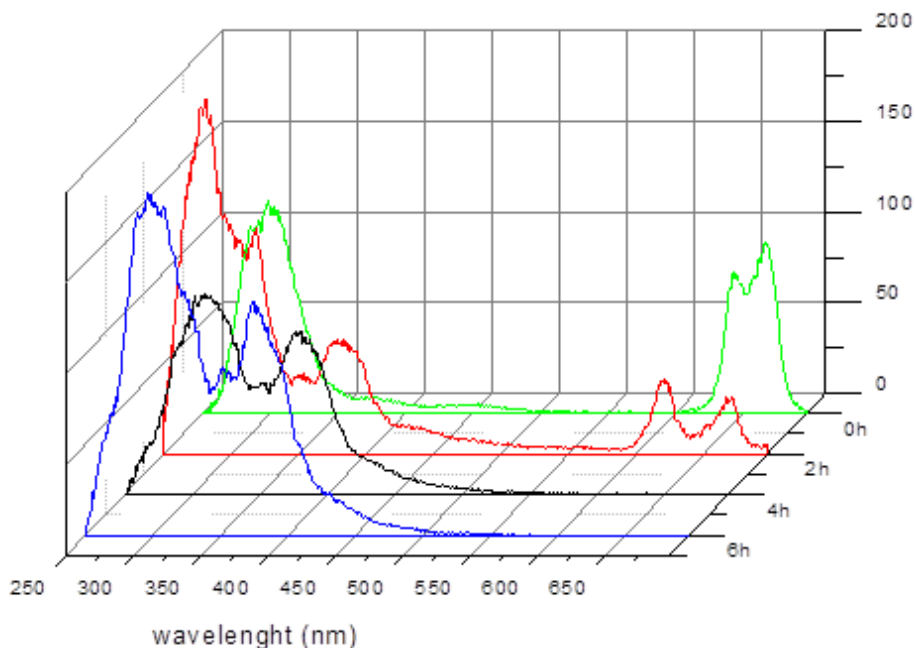
Σχήμα 5.28.: Φάσματα σύγχρονου φθορισμού εξαιρετικά παρθένου ελαιολάδου 4, για $\Delta\lambda$ 10, 30, 50 και 70, με θέρμανση στους 120°C για 4h, όπου διακυμάνσεις παρατηρούνται και για $\Delta\lambda$ 50.

extra virgin olive oil 4, 6h 120°C



Σχήμα 5.29.: Φάσματα σύγχρονου φθορισμού εξαιρετικά παρθένου ελαιολάδου 4, για $\Delta\lambda$ 10, 30, 50 και 70, με θέρμανση στους 120°C για 6h, όπου και για $\Delta\lambda$ 50 και για $\Delta\lambda$ 70, είναι εμφανής η αύξηση των διακυμάνσεων στην περιοχή 250-450 nm, λόγω της αύξησης των υπεροξειδίων.

extra virgin olive oil 4, Delta lambda = 30



Σχήμα 5.30.: Φάσματα σύγχρονου φθορισμού για Δλ 30 του εξαιρετικά παρθένου ελαιόλαδου 4, με θέρμανση στους 120°C, για διάφορους χρόνους.

Από τα σχήματα 5.26. έως και 5.30., παρατηρούμε ότι:

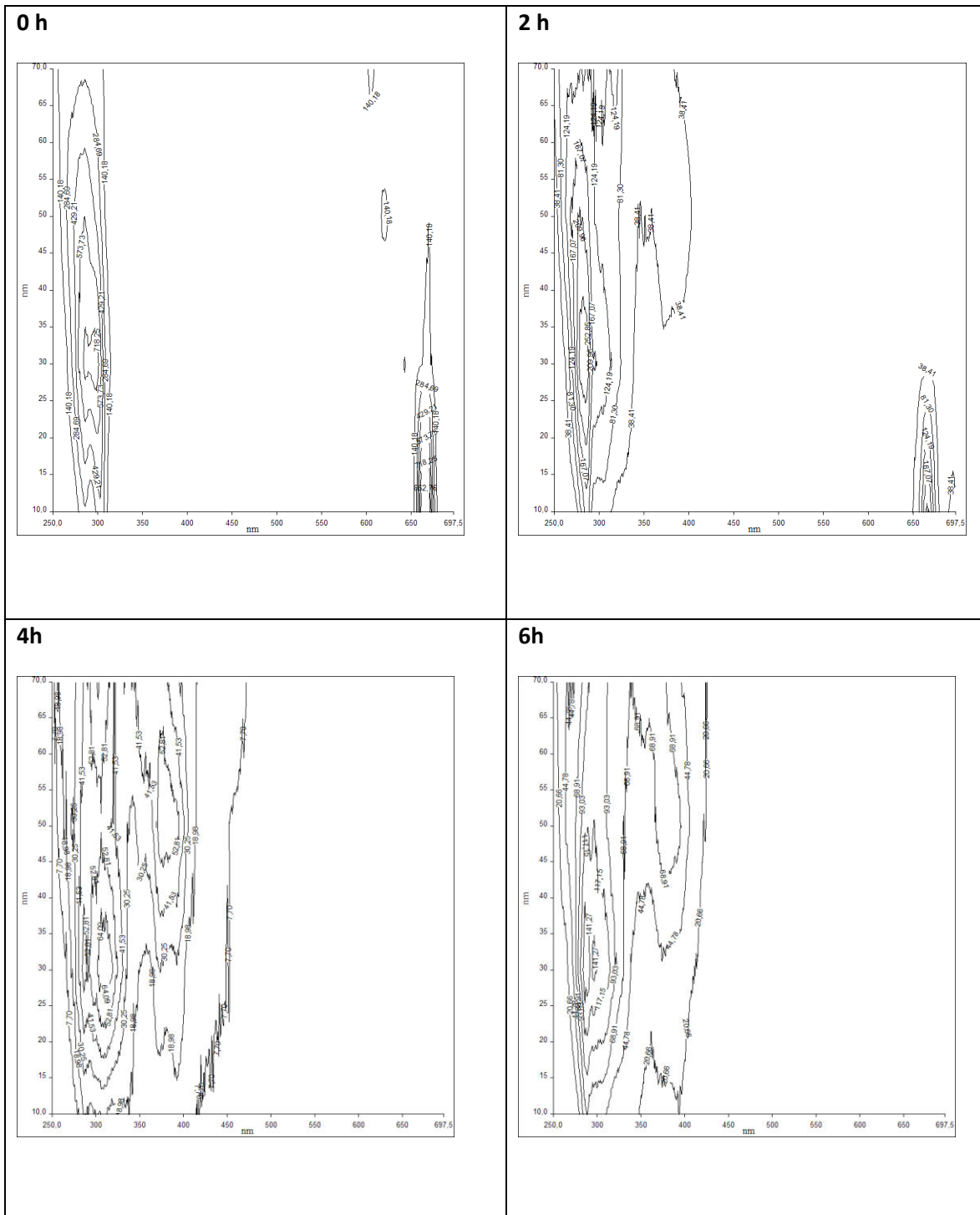
* στο ελαιόλαδο 4, ενώ από τις 0 έως τις 2 ώρες θέρμανσης η μεταβολή της τιμής της ανισιδίνης είναι σχεδόν ανύπαρκτη, έχουμε εμφάνιση της καμπύλης των τοκοφερολών.

* η αύξηση της τιμής της ανισιδίνης που παρατηρείται έντονα μετά τις 4 και 6 ώρες θέρμανσης, συνδέεται με απόλυτα με την μεγάλη αύξηση των υπεροξειδίων στο ίδιο διάστημα. Αυτή η απότομη αύξηση απεικονίζεται έντονα στα αντίστοιχα φάσματα φθορισμού: αναλυτικά στα σχήματα 5.16. και 5.17. και συνοπτικά στο 5.18., κυρίως στην περιοχή 250-350 nm, για Δλ 30 και 70.

* στο ελαιόλαδο 4, συγκρίνοντας τις τιμές των υπεροξειδίων με τα φάσματα φθορισμού, παρατηρείται μεγαλύτερη διακύμανση μεταξύ των ωρών θέρμανσης, σε σχέση με τα υπόλοιπα ελαιόλαδα.

5.4.3.3.γ. Contour plots

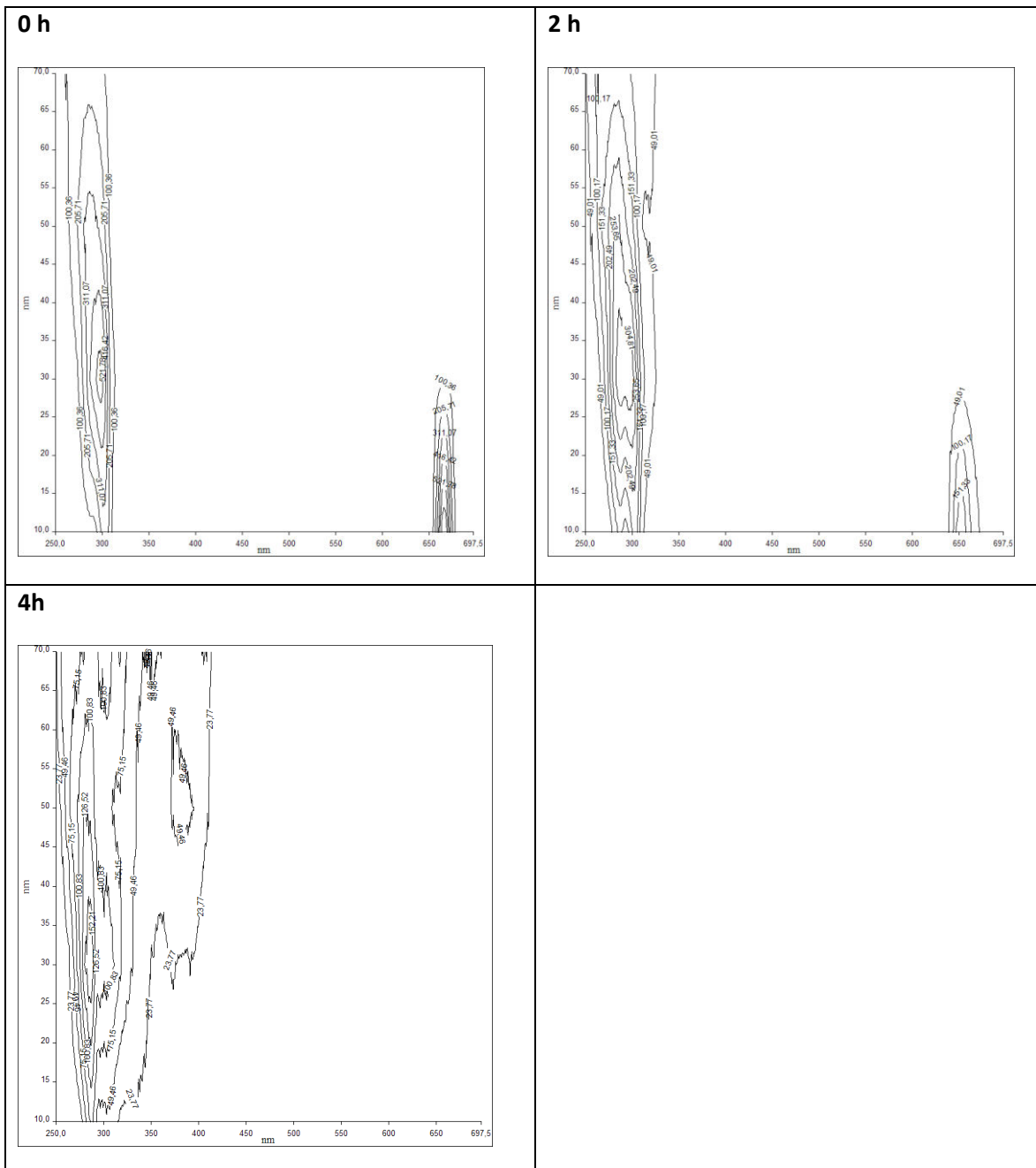
5.4.3.3.γ.ι. Εξαιρετικά παρθένο ελαιόλαδο 1



Σχήμα 5.31.: Contour plot των φασμάτων σύγχρονου φθορισμού εξαιρετικά παρθένο ελαιόλαδο 1, για $\Delta\lambda$ 10, 30, 50 και 70, με θέρμανση στους 120°C, για διάφορους χρόνους.

Παρατηρείται έντονα η μείωση της χλωροφύλλης από τις 0-2 ώρες, ενώ εξαφανίζεται από τις 4-6 ώρες. Επίσης βλέπουμε την αύξηση του εύρους από τα 250-320 nm στα 250-420 nm, λόγω αύξησης των υπεροξειδίων.

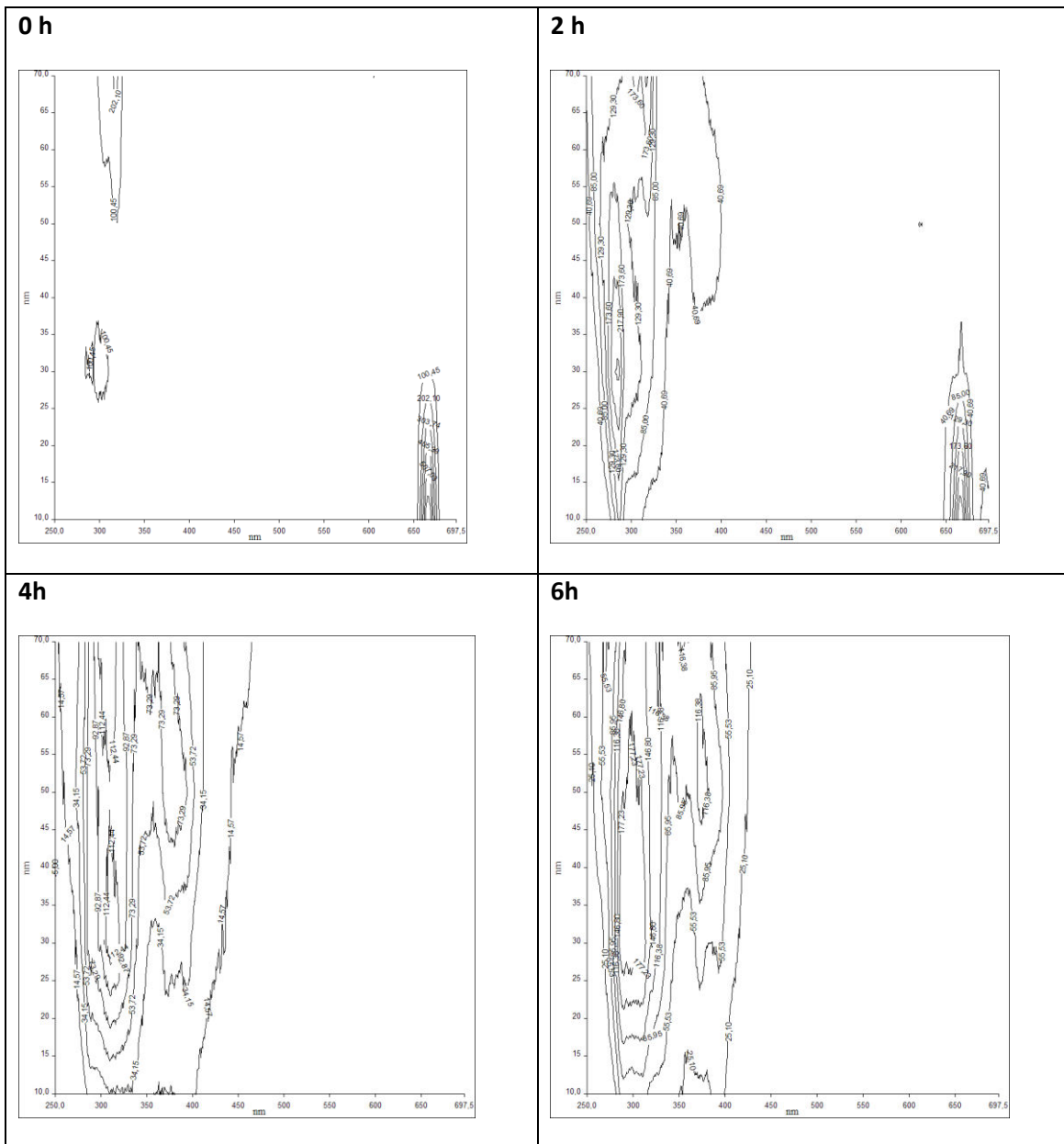
5.4.3.3.γ.ii. Εξαιρετικά παρθένο ελαιόλαδο 2



Σχήμα 5.32.: Contour plot φασμάτων σύγχρονου φθορισμού εξαιρετικά παρθένο ελαιόλαδο 2 , για $\Delta\lambda$ 10, 30 , 50 και 70, με θέρμανση στους 120°C, για διάφορους χρόνους.

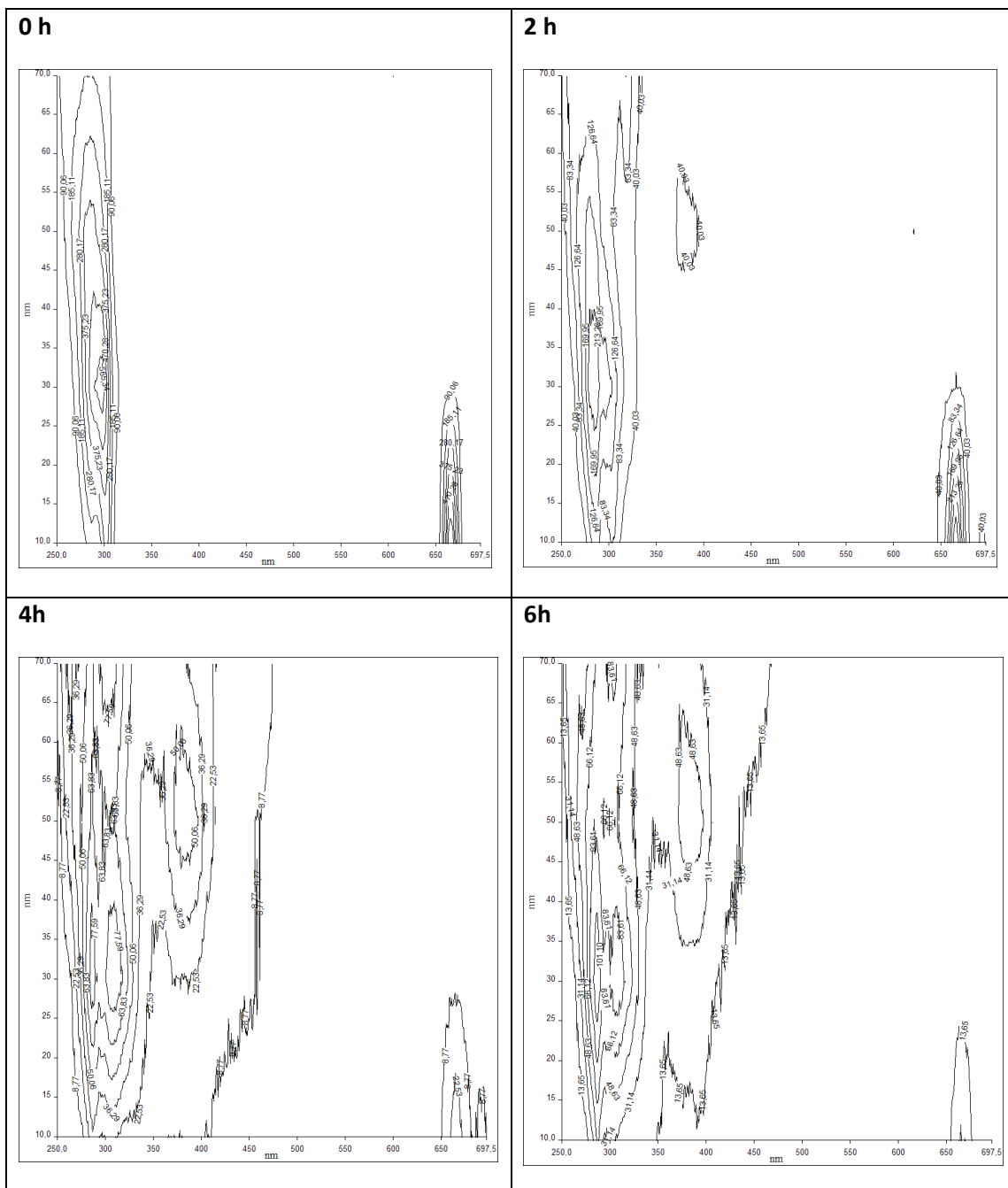
Παρατηρείται έντονα η μείωση της χλωροφύλλης από τις 0-2 ώρες, ενώ εξαφανίζεται από τις 4 ώρες. Επίσης βλέπουμε την αύξηση του εύρους από τα 250-320 nm στα 250-420 nm, λόγω αύξησης των υπεροξειδίων.

5.4.3.3.γ.iii. Εξαιρετικά παρθένο ελαιόλαδο 3



Σχήμα 5.33.: Contour plot φασμάτων σύγχρονου φθορισμού εξαιρετικά παρθένο ελαιόλαδο 3 για Δλ 10, 30 , 50 και 70, με θέρμανση στους 120°C, για διάφορους χρόνους.

5.4.3.3.γ.iv. Εξαιρετικά παρθένο ελαιόλαδο 4



Σχήμα 5.34.: Contour plot φασμάτων σύγχρονου φθορισμού εξαιρετικά παρθένο ελαιολάδου 4, για Δt 10, 30, 50 και 70 με θέρμανση στους 120°C για διάφορους χρόνους.

Στο ελαιόλαδο 4, στο Contour plot παρατηρείται πιο έντονη διακύμανση μεταξύ των ωρών θέρμανσης, καθώς και την μείωση της χλωροφύλλης.

5.4.4. Συμπέρασμα

Η έντονη οξειδωση των ελαιολάδων 2 και 4 προέλευσης Χανίων Κρήτης, με την παρέλευση του χρόνου θέρμανσής τους, όπως καταγράφεται από τα αποτελέσματα μέτρησης του αριθμού των υπεροξειδίων τους, ενδεχόμενα να οφείλεται στην μικρότερη περιεκτικότητά τους σε αντιοξειδωτικούς παράγοντες, σε αντίθεση με τα υπόλοιπα δύο ελαιόλαδα. Επίσης σημαντικό ρόλο παίζουν η σύσταση του εδάφους, η ποικιλία και το στάδιο ωρίμανσης του καρπού κατά την συγκομιδή, καθώς και ο τρόπος επεξεργασίας.

Συγκρίνοντας τα διαγράμματα και τους πίνακες με τις μετρήσεις των υπεροξειδίων και των τιμών της ανισιδίνης, παρατηρούμε ότι:

- στα ελαιόλαδα 1 και 3, παρατηρείται ομαλή αύξηση των υπεροξειδίων, ενώ στα 2 και 4, των οποίων ο αριθμός των υπεροξειδίων ήταν εξ αρχής υψηλός, παρατηρείται μεγαλύτερου βαθμού αύξηση των υπεροξειδίων μετά από 4 και 6 ώρες θέρμανση
- στον πίνακα με τις τιμές της ανισιδίνης, που μετρά τα προϊόντα οξειδωσης 2^{ου} βαθμού, όπως αλδεΐδες, κετόνες, καρβονύλια, κ.α., παρατηρείται απότομη αύξηση στα ελαιόλαδα 1 και 3 στις 4 και 6 ώρες θέρμανσης.

Ο λόγος που τα ελαιόλαδα 1 και 3 έχουν στις 4 και 6 ώρες θέρμανσης χαμηλότερο αριθμό υπεροξειδίων, αλλά υψηλότερες τιμές ανισιδίνης, θα μπορούσε να αποδοθεί στο ότι η διάσπαση των υπεροξειδίων σε δευτερεύουσες ενώσεις ή αλλιώς η φάση οξειδωσής τους, έλαβε χώρα στον ενδιάμεσο χρόνο των 2 και 4 ωρών. Σε αντίθεση, στα ελαιόλαδα 2 και 4 δεν πρόλαβε να γίνει ακόμα η διάσπαση των υπεροξειδίων, γι αυτό κι έχουμε χαμηλές τις αντίστοιχες τιμές της ανισιδίνης στις ίδιες ώρες θέρμανσης. Επομένως τα ελαιόλαδα 1 και 3, ενδεχομένως οξειδώθηκαν πιο νωρίς από τα υπόλοιπα.

Είναι εμφανές ότι η περιοχή απορρόφησης στα 680 nm που αντιστοιχεί στην περιοχή της χλωροφύλλης μειώνεται έντονα στο πρώτο 2ωρο της θέρμανσης, μέχρι που εξαφανίζεται από το 4ωρο και μετά, σε όλα τα ελαιόλαδα.

Η αύξηση των διακυμάνσεων του φάσματος φθορισμού στην περιοχή των 380-450 nm, οφείλεται πολύ πιθανώς στην οξειδωση των τοκοφερολών. Επίσης παρατηρείται μετατόπιση των κορυφών και των διακυμάνσεων μετά το 2ωρο θέρμανσης από την περιοχή 450-500 nm στην περιοχή 400-450 nm

Είναι εμφανές ότι το φάσμα σύγχρονου φθορισμού στο Δλ 30, μας δίνει περισσότερες πληροφορίες, η δε κορυφή που εμφανίζεται στα 300-400 nm οφείλεται στις πολυφαινόλες.

Ως αποτέλεσμα της θερμικής οξειδωσης, παρατηρούνται χαρακτηριστικές αλλαγές με τη σύγχρονη φασματοσκοπία φθορισμού: η ένταση της ζώνης της τοκοφερόλης και της χλωροφύλλης μειώνεται, και ταυτόχρονα μια νέα μπάντα εκπομπής εμφανίζεται στην περιοχή μήκους κύματος 320-380 nm (οφείλεται στις πολυφαινόλες).

Με βάση τα αποτελέσματα του πειράματος , μπορεί κανείς να συμπεράνει ότι οι ιδιότητες φθορισμού εξαρτώνται από την ποιότητα των ελαιολάδων .

Για μια επιλεγμένη κατηγορία ποιότητας , τα φάσματα μπορεί να δείξουν μικρές διαφορές μεταξύ των δειγμάτων , όμως, τα γενικά χαρακτηριστικά παραμένουν παρόμοια και επιτρέπουν την εξακρίβωση των παρόμοιων μεταβολών των δειγμάτων ελαίου με την πάροδο του χρόνου κατά την θερμική τους επεξεργασία.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Ελληνική βιβλιογραφία

Αλυγιζάκης Μ. (1982 α, β) : *“Επεξεργασία και κονσερβοποίηση της επιτραπέζιας ελιάς”*. Εκδόσεις Ν. Μαυρομάτης και ΣΙΑ ΕΠΕ., 1982

Θεριός, Ι. Ν. (2005) : *“Ελαιοκομία”*, Εκδόσεις Γαρταγάνη, Θεσσαλονίκη.

Θωμαΐδης Ν. (2015) : *“Σημειώσεις Ενόργανης Ανάλυσης II, Ενότητα 3: Φασματομετρία Μοριακής Φωταύγειας”* , Τμήμα Χημείας, Εργαστήριο Αναλυτικής Χημείας, Copyright Εθνικόν και Καποδιστριακόν Πανεπιστήμιον Αθηνών, 1^η έκδοση .

Κυριτσάκης Α. (2007 α, β, γ, δ, ε, στ, ζ, η, θ, ι, κ) : *“Ελαιόλαδο Συμβατικό & Βιολογικό”*. 4η έκδοση βελτιωμένη- Θεσσαλονίκη 2007, σελ. 3, σελ. 9, σελ. 12, σελ 39-41, σελ. 43-45, σελ. 45-51, σελ.210, σελ. 63, σελ. 83, σελ. 419, σελ 425

Κυριτσάκης Α. (1993) : *“Το ελαιόλαδο”*. Αγροτικές Συνεταιριστικές Εκδόσεις, Θεσσαλονίκη.

Μπαλατσούρας, Δ. Γ. (1997) : *“Σύγχρονη Ελαιοκομία: Ελαιόλαδο”*. Ιδιωτική Έκδοση, 1η Έκδοση, Αθήνα.

Ποντίκης Κ. (2000) : *“Ειδική Δενδροκομία, Ελαιοκομία”*. Εκδόσεις Σταμούλης , Πειραιάς 2000

Σαρπάκη Α. και Χατζηδημητρίου Μ. (2006) : *“Η Εμφάνιση της Ελιάς στον Ελλαδικό Χώρο”*. Ελαιοπαραγωγή, σελ 18, Αθήνα

Σφακιωτάκης Ε. (1987) : *“Μαθήματα Ελαιοκομίας”*. Εκδόσεις Αίβαζής-Ζουμπούλης, Θεσσαλονίκη.

Ψιλάκη Μ. & Νικ.- Καστανάς Η. (1999 α, β) : *“Ο πολιτισμός της ελιάς Το Ελαιόλαδο”*. Β' έκδοση επαυξημένη- Καρμάνωρ, Ηράκλειο 1999 .

2. Ιστοσελίδες

Ιστοσελίδα : ΕΤΕ (Ελληνική Τράπεζα Ελλάδας) (2015) :

<https://www.nbg.gr/el/the-group/press-office/e-spot/reports/olive-oil-2015>:

Κλαδική μελέτη : Ελαιόλαδο, Μάιος 2015, πρόσβαση 10/5/2016

Ιστοσελίδα : ΕΦΕΤ (2012 α, β) :

http://www.efet.gr/portal/page/portal/efetnew/enterprises/enterprises_info :

Κανόνες Εμπορίας & Επισήμανσης Ελαιολάδου 2015 , πρόσβαση 10/5/2016

Ιστοσελίδα : Olivenews.gr , α:

<http://www.olivenews.gr/el/article/7059> : *Οδοιπορικό 57 ετών στη παγκόσμια παραγωγή ελαιολάδου*, πρόσβαση 10/5/2016

Ιστοσελίδα : Olivenews.gr , β:

<http://www.olivenews.gr/el/article/7219> : *Εκτιμήσεις του Υπουργείου Γεωργίας των ΗΠΑ (USDA) για την παγκόσμια παραγωγή ελαιολάδου*, πρόσβαση 10/5/2016

Ιστοσελίδα : PROSODOL: <http://www.prosodol.gr/?q=el/node/204>: *Παραγωγή ελαιόλαδου στην Μεσόγειο* , πρόσβαση 10/5/2016

Ιστοσελίδα : ΣΕΒΙΤΕΛ : <http://www.sevitel.gr/node/52> : *Συνέντευξη προέδρου ΣΕΒΙΤΕΛ κ. Γρηγόρη Αντωνιάδη (ΗΜΕΡΗΣΙΑ 28.11.2015)* , πρόσβαση 10/5/2016

Ιστοσελίδα Υπουργείου Αγροτικής Ανάπτυξης και Τροφίμων :

<http://www.minagric.gr/index.php/el/component/content/article/54-greek-content/fitikisparagwgis/elialadi/1774-nomothesia-elia-ladi> : *Νομοθεσία Ελιά-Λάδι* , πρόσβαση 10/5/2016

3. Νομοθεσία

ΚΑΝΟΝΙΣΜΟΣ (ΕΟΚ) αριθ. 1308/13 ΤΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗΣ της 17ης Δεκεμβρίου 2013 : *Για τη θέσπιση κοινής οργάνωσης των αγορών γεωργικών προϊόντων και την κατάργηση των κανονισμών (ΕΟΚ) αριθ. 922/72, (ΕΟΚ) αριθ. 234/79, (ΕΚ) αριθ. 1037/2001 και (ΕΚ) αριθ. 1234/2007 του Συμβουλίου*

ΚΑΝΟΝΙΣΜΟΣ (ΕΟΚ) αριθ. 2568/91 ΤΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗΣ της 11ης Ιουλίου 1991/ , ενοποιημένο : 01.03.2014 : *Σχετικά με τον προσδιορισμό των χαρακτηριστικών των ελαιολάδων και των πυρηνελαίων καθώς και με τις μεθόδους προσδιορισμού*

Κώδικας Τροφίμων και Ποτών (2009) : άρθρο 71: *“Ελαιόλαδο”*

ΚΑΝΟΝΙΣΜΟΣ (ΕΟΚ) αριθ. 396/2005 του Ευρωπαϊκού Κοινοβουλίου και του Συμβουλίου, της 23ης Σεπτεμβρίου 2005, *για τα ανώτατα όρια καταλοίπων φυτοφαρμάκων πάνω ή μέσα στα τρόφιμα και τις ζωοτροφές φυτικής ή ζωικής προέλευσης και για την τροποποίηση της Οδηγίας 91/414/ΕΟΚ του Συμβουλίου*

4. Ξενόγλωσση βιβλιογραφία

Andersen M. L. and Skibsted L. H. (2002) : *Eur. J. Lipid Sci. Technol.*, 104, 65–68 .

Antolovich M., Prenzler P. D., Patsalides E., McDonald S. and K. Robards (2002) : *“Analyst”*, 127, 183–198 .

Asakawa T. and Matsushita S. (1978) : *J. Amer. Oil. Chem., Soc.*, 55, 691–620 .

Bartolomeo D. and Sergio R. (1969) : *“Physicochemical features and acidic composition of some virgin olive oils”*. Riv. Ital. delle Sost. Grasse.

Bezerianos P. and Tzia C. (2003) : *“Olive Quality Characteristics and Affecting Factors in its Production Chain a Chemometric Study”*, International Symposium “The Olive Tree and the Environment”, MAICH-Chania, Crete, Greece.

Boskou D. (1996) : *American Oil Chemists’ Society Press*, Champaign, IL.

Boskou D, Blekas G, Tsimidou M. (2006 β) : *Olive oil Chemistry and Technology 2 nd ed*, Boskou D (ed), AOCS Press, pp. 41-74.

Boskou D. and Morton, I. (1975) : *Journal of the Science of Food and Agriculture*, Vol. 26, No. 8, pp. 1149-1153.

Boskou D, Tsimidou M, Blekas G. (2006 α) : *Olive oil Chemistry and Technology 2 nd ed*, Boskou D (ed), AOCS Press, Champaign Illinois USA, pp 73-92.

Bourquelot E., Vintilesco J. (1908) : *“Eleuropein : A New Glucocire from Olea Europea”*

Boyd L. C., Nwosu V. C., Young C. L. and MacMillian L. (1998) : *J. Food Lipids*, 5, 269–282

Canizares-Macias M. P., Garcia-Mesa J. A. and Luque de Castro M. D. (2004) : *Anal. Bioanal. Chem.*, 378, 479–483 .

Carlsen C. U., Andersen M. L. and Skibsted L. H. (2001) : *Eur. Food Res. Technol.*, 213, 170–173 .

Cesa S. (2004) : *J. Agric. Food Chem.* , 52, 2119–2122 .

Christakis G., Forduce M. K. and Kurtz C. S. (1980) : *"The Biological Aspects of Olive Oil"*, Proceedings of the 3rd International Congress on the Biological Value of Olive Oil, Chania, Greece.

Ciusa W. and Morgante A. (1974): *"Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Olives"*, Quad. Merced., Vol. 13, pp. 21-29.

de la Presa-Owens S., Lopez-Sabater M. C. and Rivero-Urgell M. (1995) : *J. Agric. Food Chem.*, 43, 2879–2882 .

DeLong J. M., Prange R. K., Hodges D. M., Forney C. F., Bishop M. C. and Quillian M. (2002) : *J. Agric. Food Chem.*, 50, 248–254 .

Determination of Peroxide Value, in IUPAC : *"Standard Methods for the Analysis of Oils, Fats and Derivatives, IUPAC Standard Method 2.501"*, International Union of Pure and Applied Chemistry, Pergamon, Oxford, England, 1992.

Diehl B. W. L. (1998) : *"Lipid Analysis in Oils and Fats"*, in R. J. Hamilton, ed., Blackie Academic & Professional, London, pp. 87–135.

Dobarganes M. C. and J. Velasco J. (2002) : *Eur. J. Lipid Sci. Technol.*, 104, 420–428 .

Doleschall F., Kemeny Z., Recseg K. and Kovari K. (2002) : *Eur. J. Lipid Sci. Technol.*, 104, 14–18 .

Dong J. , Ma K., van de Voort F. R. and Ismail A. A. (1997) : *J. AOAC Int.*, 80, 345–352 .

Dugan L.R. (1976) : *"Lipids in principles of food science"*. Part I. Food Chem. Fwnnema, O.R. ed. Marcel Dekker Inc., N.Y.

Eymard S. and Genot C. (2003) : *Eur. J. Lipid. Sci. Technol.*, 105, 497–501 .

Farooq A., Bhanger M. I., Kazi T. G. (2003) : *J. Amer. Oil Chem. Soc.*, 80, 151–155 .

Fedeli E. (1997) : *"Lipids of Olives"*, in R. T. Hilman (Ed.), *"Progress in the Chemistry of Fats and Others Lipids"*, Academic Press, Oxford.

Fedeli E. , Brillo A. and Jacini G. , 1973 : *"Metals affecting the autoxidation of vegetable oils"*, Riv. Ital. delle Sost. Grasse

Fedeli E. and Cortesi N. (1993) : *"Quality, Origin and Technology of Virgin Olive Oils"*, La Rivista Italiana delle Sostanze Grasse, Vol. 70, pp. 419-426.

Ferro-Luzzi, A. and Sette, S. (1989) : *European Journal of Clinical Nutrition*, Vol. 43, pp. 13-29.

Frezzoti G. and Manni M. (1956) : *"Olive-Oil Processing in Rural Mills"*, Agricultural Development Paper No. 58, FAO, Rome.

Fruhwrth G. O., Wenzl G. O. T., El-Toukhy R., Wagner F. S. and Hermetter A. (2003) : *Eur. J. Lipid Sci. Technol.*, 105, 266–274 .

Genot C., D. M Kansci G. and Laroche M. (1994) : *"Sciences des Aliments."*, 14, 673–682 .

Gilbert Y., Kongbonga M. , 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, 2011, 2, 692-699 ,doi:10.4236/fns.2011.27095, Published Online September 2011 (<http://www.SciRP.org/journal/fns>)

Goodridge C. F., Beaudry ., R. M., Pestka J. J. and Smith D. M. (2003) : *J. Agric. Food Chem.*, 51, 7533–7539 .

Gordon M. (2001,a,b) : *" Antioxidants in Food: Practical Applications"*, in Pokorny J., N. Yanishlieva N. and M. Gordon, eds., Woodhead Publishing, Ltd., Cambridge, England, pp. 7–21, . 71–84.

Guillen M. D. and N. Cabo N. (2002) : *Food Chem.*, 77, 503–510 .

Gutfinger J. and Letan A. (1974) : *'Studies of unsaponifiables in several vegetable oils'*. Lipids, 9:658

Halliwell B. and Gutteridge J. M. C. (1999) : *"Free Radicals in Biology and Medicine"*, Oxford University Press, New York.

Hara S. and Totani Y.(1998) : *J. Amer. Oil Chem. Soc.*, 65, 1948–1950 .

Hicks M. and Gebicki J. M. (1979) : *"Anal. Biochem."*, 99, 249–253 .

Hoyland D. V. and Taylor A. J. (1991) : *"Food Chem."*, 40, 271–291 .

Hudson B. J. F. (1983) : *"Rancidity of Foods"*, in J. C. Allen and J. Hamilton, eds., Applied Science Publishers, London, England, pp. 47–58.

Iconomou D., Arapoglou D. and Israilides C. (2010) : *“Improvement of Phenolic Antioxidants and Quality Characteristics of Virgin Olive Oil with the Addition of Enzymes and Nitrogen during Olive Paste Processing”*, *Grasas y Aceites*, Vol. 61, No. 3, pp. 303-311.

Interesse F. S., Ruggier P. and Vitagliano, M. (1971) : *“Autoxidation of Olive Oil: Influence of Chlorophyll Pigment”*, *Industrie Agrarie*, Vol. 9, pp. 318-324.

IOOC (International Olive Oil Council) /T.20/DOC. No 13 / Rev.11: *“Method for the organoleptic assessment of extra virgin olive oil applying to use a designation of origin”*.

Jardine D., M. Antolovich M. , Prenzler P. D. and Robards K. (2002) : *J. Agric. Food Chem.*, 50, 1720–1724 .

Jiang Z. Y., Woollard A. C. S. and Wolff S. P. (1991) : *“Lipids”*, 26, 853–856 .

Kamal-Eldin A., Makinen M. and A. M. Lampi M. (2003) : *“Lipid Oxidation Pathways”*, , in A. Kamal-Eldin, ed., AOCS Press, Champaign, Illinois, pp. 1–36.

Kyriakidis N. and Skarkalis P. (2000):. *J. of AOAC , INTERNATIONAL* VOL. 83, NO. 6, 2000 1435-1439

Kiritsakis A. (1998) : *“Olive oil from the tree to the table”*. Second edition, Food and Nutrition Press Inc., Trumbull, Connecticut 06611, USA

Kiritsakis A. and Dugan L. R. (1985) : *Journal of the American Oil Chemists Society*, Vol. 62.

Kiritsakis A., Kanavouras A. and Kiritsakis K. (2002) : *Eur. J. Lipid Sci. Technol.*, 104, 628–638

Kiritsakis A. and Markakis P. (1984) : *J. Sci. Food Agric.*

Kishida E., Tokumaru S., Ishitani Y., Yamamoto M., Oribe M., Iguchi H. and S. Kojo S. (1993) : *J. Agric. Food Chem.*, 41, 1598–1600 .

Leone A.M., Notte E. and Lamparelli F. (1978) : *“The sterols and terpene dialcohols In Apulian olive oil”* . *Riv. Ital. delle Sost. Grasse*

List G. R., Evans C. D., Kwolek W. F., Warner K. and Boundy B. K. (1974) : *J. Amer. Oil Chem. Soc.*”, 51, 17–21 .

Medina I., Sacchi R., Giudicianni I. and Aubourg S. (1998) : *J. Amer. Oil Chem. Soc.*, 75, 147–154

Melton S.L. (1983) : *Food Technol.*, 37, 105–111 .

Michelakis S. (1990) : “*The influence of pests and diseases on the quantity and quality of olive oil production*”. *Oliveae*. 30:3

Miura K., Kikuzaki H. and Nakatani N. (2002) : *J. Agric. Food Chem.*, 50, 1845–1851.

Niklova I., Schmidt S., Habalova K. and Sekretar S. (2001) : *Eur. J. Lipid Sci. Technol.*, 103,299–306 .

Perkins E.G. (1992) : “ *Lipid Oxidation in Food*” , in A. J. St. Angelo, ed., American Chemical Society, Washington, D.C., pp. 310–321.

Poulli K.I., Mousdis G. A. and Georgiou C. A. (2007) : “*Rapid Synchronous Fluorescence Method for Virgin Olive Oil Adulteration Assessment*”. *Food Chemistry*, Vol.105, No.1, pp. 369-375, ISSN 0308-8146

Riuz A. and Ayora M. J. (2001) : *Canada, and B. Lendl, Analyst*, 126, 242–246 .

Schulte E. (2002) : *Anal. Bioanal. Chem.*, 372, 644–648 .

Sedman J., van de Voort F. R. and Ismail A.A. (1997) : “ *New Techniques and Applications in Lipid Analysis*”, in R. E. McDonald and M. M. Mossoba, eds., AOCS Press, Champaign, Illinois, 1997, pp. 283–324.

Shahidi F. and Wanasundara U.N. (2002) : “*Food Lipids: Chemistry, Nutrition and Biotechnology* ”, in C. C. Akoh and D. B. Min, eds., Marcel Dekker, Inc., New York, pp. 465–487.

Shahidi F. and Zhong Y. (2005) : Memorial University of Newfoundland, St. John’s, Newfoundland, Canada : “*Lipid Oxidation: Measurement Methods*”. Bailey’ s Industrial Oil and Fat Products, Sixth Edition, Six Volume Set. Edited by Fereidoon Shahidi. Copyright # 2005 John Wiley & Sons, Inc.

Sikorska E., Romaniuk A. , Khmelinskii I., Sikorski M. and Koziol J. (2003) : *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences*, Vol. 12/53, SI 2, pp. 108-112.

Stauffer C. (1996) : “*Fats & Oils*”, Eagan Press, St. Paul, Minnesota, pp. 15–27.

Suarez M., J.M. (1975) : *Olive Oil Technology*. J.M. Monero Martinaz, editor, FAO, Rome

Tan C. P. and Che Man Y. B. (1999) : *Food Chem.*, 67, 177–184 .

van der Merwe G. H., du Plessis L. M and Taylor J. RN. (2003) : *J. Sci. Food Agric.*, 84, 52–58.

Vazquez R., Del Valle A.J, and Del Valle J.L.M. (1976) : “*Phenolic compounds in olive fruits. Polyphenols in olive oils. Grassas y Aceites*”

Velasco J., Anderson M. L. and Skibsted L. H. (2004) : *Food Chem.*, 85, 623–632.

Vercellotti J. R., St. Angelo A. J. and Spanier A. M. (1992) , in A. J. St. Angelo, ed.: “*Lipid oxidation in Food*” , ACS Symposium Series 500, American Chemical Society, Washington, D.C., pp. 1–11.

Wanasundara U. N., Shahidi F. and Jablonski C. R. (1995 a) : *Food Chem.*, 52, 249–253.

Wanasundara U. N., Shahidi F. and Jablonski C. R. (1995 b) : *J. Food Lipids*, 2, 73–86

Wanasundara U. N., Shahidi F. and Jablonski C. R. (1995 c) , Paper presented at the Canadian Section of American Oil Chemists’ Society’s Annual Meeting, Guelph, Ontario, Canada, November 15–16.

White P. J. (1995) : “*Methods to Assess Quality and Stability of Oils and Fat-containing Foods*”, in K. Warner and N. A. M. Eskin, eds., AOCS Press, Champaign, Illinois, 1995, pp. 159–178.

Wold J. P. and Mielnik M. (2000) : *J. Food Sci.*, 65, 87–95.

Wolff S.P. (1994) : “*Methods Enzymol.*”, 233, 182–189 .

Yildiz G., Wehling R. L. and Cuppett S. L. (2003) : *J. Amer. Oil Chem. Soc.*, 80, 103–107 .