

ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ

ΤΜΗΜΑ ΧΗΜΕΙΑΣ

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ: «Αγροχημεία και βιολογικές καλλιέργειες»

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

«ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΑ ΣΥΣΤΑΤΙΚΑ ΤΟΥ ΕΛΑΙΟΛΑΔΟΥ. Η ΣΗΜΑΣΙΑ ΤΟΥΣ ΓΙΑ ΤΗΝ ΠΟΙΟΤΗΤΑ ΤΟΥ ΠΑΡΑΓΟΜΕΝΟΥ ΠΡΟΪΟΝΤΟΣ ΚΑΙ Η ΔΙΑΤΡΟΦΙΚΗ ΤΟΥΣ ΑΞΙΑ»

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΦΟΙΤΗΤΡΙΑ

ΤΣΙΟΛΗ ΕΛΕΝΗ

ΕΠΙΒΛΕΠΩΝ ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ

ΚΑΡΙΠΙΔΗΣ ΧΑΡΑΛΑΜΠΟΣ

Ιωάννινα ,Σεπτέμβριος 2019

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Πρώτα απ' όλα θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά το Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων, το οποίο μετά από αρκετά χρόνια μου έδωσε την δυνατότητα να φέρω εις πέρας την διπλωματική μου εργασία. Η απόφαση μου να κάνω οικογένεια φαίνεται να ήταν ο κύριος λόγος για να τελειώσω αυτό που πριν χρόνια είχα αφήσει ημιτελές. Ο δομικός λίθος για να ολοκληρώσω αυτό μου το εγχείρημα ήταν φυσικά ο καθηγητής μου, ο κύριος Καριπίδης Χαράλαμπος, ο οποίος ήταν πρόθυμος εξ αρχής να με αναλάβει και να με βοηθήσει καθ'όλη τη διάρκεια της προσπάθειάς μου. Δεν θα μπορούσα βέβαια να μην αναφερθώ στην οικογένειά μου και στην τεράστια υπομονή που έδειξε ο σύζυγός μου και τα δύο μου παιδιά τους τελευταίους έξι μήνες. Τέλος, θα ήθελα να αναφερθώ στην συμβολή του καλού μου φίλου Θανάση, ο οποίος μου πρόσφερε απλόχερα τις γνώσεις του πάνω σε καίρια σημεία της εργασίας μου.

Στο Βασίλη, στη Βάλια και στον Ηλία

Πίνακας περιεχομένων

ΠΕΡΙΛΗΨΗ	6
Abstract.....	7
ΠΡΟΛΟΓΟΣ.....	8
ΕΙΣΑΓΩΓΗ.....	9
ΜΕΣΟΓΕΙΑΚΗ ΔΙΑΤΡΟΦΗ	9
ΛΙΠΙΔΙΑ - ΛΙΠΟΠΡΩΤΕΪΝΕΣ.....	10
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1: ΓΕΝΙΚΑ ΣΤΟΙΧΕΙΑ ΓΙΑ ΤΗΝ ΕΛΙΑ	14
1.1 ΠΟΙΚΙΛΙΕΣ ΕΛΙΩΝ.....	15
1.2 ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΕΛΑΙΟΚΑΡΠΟΥ	16
1.3 ΣΥΓΚΟΜΙΔΗ ΚΑΙ ΜΕΤΑΦΟΡΑ ΕΛΑΙΟΚΑΡΠΟΥ.....	17
1.4 ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ ΕΛΑΙΟΚΑΡΠΟΥ	19
1.5 ΧΗΜΙΚΗ ΣΥΣΤΑΣΗ ΕΛΑΙΟΚΑΡΠΟΥ	20
1.6 ΜΕΘΟΔΟΙ ΕΞΑΓΩΓΗΣ ΕΛΑΙΟΛΑΔΟΥ.....	22
1.7 ΡΑΦΙΝΑΡΙΣΜΑ	25
1.8 ΠΥΡΗΝΕΛΑΙΟ	25
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2: ΕΛΑΙΟΛΑΔΟ	26
2.1 ΒΑΣΙΚΕΣ ΚΑΤΗΓΟΡΙΕΣ	26
2.2 ΠΟΙΟΤΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΕΛΑΙΟΛΑΔΟΥ	28
2.3 ΝΟΘΕΙΑ ΕΛΑΙΟΛΑΔΟΥ.....	29
2.4 ΣΥΣΤΑΤΙΚΑ ΤΟΥ ΕΛΑΙΟΛΑΔΟΥ	29
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3: ΑΣΑΠΩΝΟΠΟΙΗΤΑ ΣΥΣΤΑΤΙΚΑ ΕΛΑΙΟΛΑΔΟΥ	34
3.1 ΥΔΡΟΓΟΝΑΝΘΡΑΚΕΣ.....	34
3.2 ΚΑΡΟΤΕΝΟΕΙΔΗ	35
3.3 ΧΛΩΡΟΦΥΛΛΕΣ	35
3.4 ΤΟΚΟΦΕΡΟΛΕΣ	37
3.5 ΣΤΕΡΟΛΕΣ.....	37
3.6 ΦΑΙΝΟΛΙΚΑ ΣΥΣΤΑΤΙΚΑ.....	38
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4: ΟΞΥΓΟΝΟ ΚΑΙ ΥΓΕΙΑ.....	48
4.1 ΤΟ ΠΑΡΑΔΟΞΟ ΤΟΥ ΟΞΥΓΟΝΟΥ.....	48
4.2 ΕΛΕΥΘΕΡΕΣ ΡΙΖΕΣ	53
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5: ΔΡΑΣΤΙΚΕΣ ΜΟΡΦΕΣ ΟΞΥΓΟΝΟΥ.....	58

5.1 ΕΞΟΥΔΕΤΕΡΩΣΗ ΔΜΟ ΣΤΟΝ ΟΡΓΑΝΙΣΜΟ - ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΑ.....	58
5.2 ΔΡΑΣΗ ΤΩΝ ΠΟΛΥΦΑΙΝΟΛΩΝ ΚΑΙ Η ΣΗΜΑΣΙΑ ΤΟΥΣ ΓΙΑ ΤΗΝ ΥΓΕΙΑ.....	59
5.3 ΔΕΥΤΕΡΟΤΑΓΗ ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΑ.....	63
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 6: ΕΥΕΡΓΕΤΙΚΕΣ ΙΔΙΟΤΗΤΕΣ ΕΛΑΙΟΛΑΔΟΥ.....	65
6.1 ΠΕΨΗ ΛΙΠΙΔΙΩΝ ΚΑΙ ΑΦΟΜΟΙΩΣΗ ΑΠΟ ΤΟΝ ΟΡΓΑΝΙΣΜΟ.....	65
6.2 ΚΑΡΚΙΝΟΣ.....	66
6.3 ΚΑΡΔΙΑΓΓΕΙΑΚΕΣ ΠΑΘΗΣΕΙΣ	67
6.4 ΗΠΑΤΙΚΗ ΝΟΣΟΣ.....	68
6.5 ΠΑΙΔΙΚΗ ΗΛΙΚΙΑ.....	68
6.6 ΓΗΡΑΝΣΗ.....	70
6.7 ΔΙΑΒΗΤΗΣ.....	71
6.8 ΡΕΥΜΑΤΟΕΙΔΗΣ ΑΡΘΡΙΤΙΔΑ	71
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 7: ΑΛΛΟΙΩΣΕΙΣ ΕΛΑΙΟΛΑΔΟΥ ΚΑΙ ΑΝΤΙΜΕΤΩΠΙΣΗ ΤΟΥΣ	72
7.1 ΥΔΡΟΛΥΣΗ.....	72
7.2 ΟΞΕΙΔΩΣΗ	74
7.3 ΠΡΟΣΤΑΣΙΑ ΑΠΟ ΤΟ ΤΑΓΓΙΣΜΑ	79
7.4 ΑΝΤΟΧΗ ΕΛΑΟΛΑΔΟΥ ΣΤΟ ΤΗΓΑΝΙΣΜΑ.....	79
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 8: ΜΕΘΟΔΟΙ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΥ ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΗΣ ΙΚΑΝΟΤΗΤΑΣ ΕΛΑΙΟΛΑΔΟΥ ..	86
8.1 ΜΕΘΟΔΟΣ ΗPLC.....	86
8.2 ΜΕΘΟΔΟΣ CGC-MS.....	86
8.3 ΜΕΘΟΔΟΣ Folin-Ciocalteu	87
8.4 ΜΕΘΟΔΟΣ ΤΟΥ ΔΕΙΚΤΗ ΚΜη0 ₄ (Υπερμαγγανικού Καλίου)	88
8.5 ΜΕΘΟΔΟΣ FRAP.....	88
8.6 ΜΕΘΟΔΟΣ ORAC.....	89
8.7 ΜΕΘΟΔΟΣ DPPH.....	89
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 9: ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ.....	91
9.1 ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ.....	91
9.2 Προσδιορισμός ολικής αντιοξειδωτικής ικανότητας στο ολικό κλάσμα των δειγμάτων (TAC _{tot}) με την μέθοδο του DPPH.....	92
9.3 Προσδιορισμός ολικής αντιοξειδωτικής ικανότητας σε εκχύλισμα μεθανόλης (TAC _{meth}) των δειγμάτων ελαιόλαδου με την μέθοδο του DPPH.....	97
9.4 Προσδιορισμός της ταχύτητας αντίδρασης του ολικού κλάσματος στο αντιδραστήριο του DPPH.	99
ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΣΥΖΗΤΗΣΗ.....	100
ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ.....	114

ΕΥΡΕΤΗΡΙΟ ΕΙΚΟΝΩΝ - ΣΧΗΜΑΤΩΝ – ΠΙΝΑΚΩΝ	120
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....	123

Abstract

From ancient times until today, olive oil, and especially virgin olive oil, has been the basis for a balanced diet mainly for the Mediterranean countries. This lies in the fact that olive oil has particular characteristics and a high proportion of antioxidants that shield the body's defense. The purpose of the present work is to study and investigate the value of its antioxidant components of olive oil as well as the comparison of its total antioxidant capacity in samples of three olive varieties of the prefecture of Arta, obtained from five different regions of the prefecture. It was basically pointed out that of the seven samples used, two were from a two-stage oil mill, while the other five were three-phase. All samples were virgin olive oils with acidity which ranged from 0.5 to 1.5% in oleic acid equivalent. Both the total antioxidant capacity (in their total fraction and their methanolic extract) and the reaction rate of the whole fraction in DPPH reagent spectrophotometrically were determined. The results of the study showed that the treatment of olive oil in the mill affects the retention of antioxidants in the final product and that the samples from biphasic mills show higher total antioxidant capacity (TAC) values.

ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Τα τελευταία χρόνια στο χώρο της υγείας, γίνονται ολοένα και περισσότερες έρευνες από τους επιστήμονες πάνω στα διάφορα τρόφιμα και στις ευεργετικές ιδιότητες των συστατικών τους. Η ελιά και ιδιαίτερα το ελαιόλαδο, αποτελούν σημαντικό συστατικό της Μεσογειακής διατροφής και αποδεικνύεται ότι παίζουν σπουδαίο ρόλο στην προστασία από καρδιαγγειακά νοσήματα και ορισμένες μορφές καρκίνου. Η καλή επίδραση του ελαιολάδου στην υγεία μας ήταν άλλωστε γνωστή από πολύ παλιά, όπου ο Όμηρος αποκαλούσε το ελαιόλαδο “υγρό χρυσάφι” και ο Ιπποκράτης “μεγάλο θεραπευτή”.

Σκοπός της παρούσας εργασίας ήταν να τονίσουμε την τεράστια σημασία της καλλιέργειας της ελιάς, η οποία στήριζε και θα στηρίζει την οικονομία της χώρας μας. Η τροφική, θρεπτική και βιολογική αξία του ελαιολάδου, το έχουν κάνει να συγκαταλέγεται στη λίστα των δέκα ωφελιμότερων ειδών διατροφής. Η έντονη ερευνητική δραστηριότητα έχει δώσει ιδιαίτερη έμφαση στα αντιοξειδωτικά συστατικά του ελαιόκαρπου και του παραγόμενου προϊόντος, γεγονός που βοηθά στην εξουδετέρωση των διαφόρων ελευθέρων ριζών. Γεγονός είναι ότι οι ελεύθερες ρίζες είναι απόρροια του οξυγόνου, βασικού συστατικού της ίδιας της ζωής. Γίνεται κατανοητό λοιπόν ότι η μόνη λύση είναι η ανεύρεση μορίων τα οποία θα καταφέρουν να προσφέρουν μια υγιή κατάσταση και τα μόρια αυτά βρίσκονται στις πολυφαινόλες, τοκοφερόλες και τα υπόλοιπα συστατικά που περιέχει το λάδι.

Το μόνο σίγουρο είναι ότι ένα τέτοιο προϊόν θέλει την αμέριστη προσοχή του ανθρώπινου παράγοντα, ώστε όλες οι διαδικασίες από την φύτευση του ελαιόδεντρου μέχρι και την παραγωγή του τελικού θαυματουργού υγρού, να περάσουν από αυστηρό έλεγχο από τις αρμόδιες υπηρεσίες αλλά και από τον ίδιο τον καλλιεργητή.

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

ΜΕΣΟΓΕΙΑΚΗ ΔΙΑΤΡΟΦΗ

Επιστήμονες από διάφορες χώρες του κόσμου διεξήγαγαν έρευνα σχετικά με τις διατροφικές συνήθειες διαφόρων λαών και μετά από 25 χρόνια μελέτης κατέληξαν σε ένα βασικό συμπέρασμα. Αυτό δεν ήταν άλλο από το γεγονός ότι οι χώρες της Μεσογείου και πιο συγκεκριμένα η Ελλάδα και κυρίως η Κρήτη, είχαν το χαμηλότερο ποσοστό θνησιμότητας από καρδιαγγειακές παθήσεις. Παρατηρήθηκε λοιπόν ότι τα ποσοστά ήταν 5 μέχρι και 10 τοις εκατό χαμηλότερα από πολίτες άλλων χωρών, όπως οι Αμερικάνοι, οι Φινλανδοί, οι Ιταλοί, οι Ολλανδοί, οι Γιουγκοσλάβοι και οι Ιάπωνες (Keys et al, 1970, Δ.Δ Νούσης,2007).

Τα αποτελέσματα αυτά οδήγησαν στην περαιτέρω μελέτη των διατροφικών συνηθειών των λαών της Μεσογείου. Έτσι, στη συνέχεια, έγιναν νέες μελέτες σε ασθενείς που είχαν υποστεί έμφραγμα του μυοκαρδίου. Οι ασθενείς διαχωρίστηκαν σε ομάδες με διαφορετική διατροφή επιλεγμένη από διαφορετικούς πληθυσμούς. Τα αποτελέσματα έδειξαν πως η ομάδα που η διατροφή της είχε ως βάση την Κρητική δίαιτα, είχε 75% μικρότερη θνησιμότητα σε σχέση με τις υπόλοιπες, ενισχύοντας έτσι την άποψη πως η Μεσογειακή δίαιτα παίζει σημαντικό ρόλο έναντι ασθενειών όπως είναι η στεφανιαία νόσος και πολλές άλλες (Renaud et al., 1995).

Η αποδοτικότητα της συγκεκριμένης διατροφής οφείλεται κατά κύριο λόγο στην πολύ υψηλή κατανάλωση ελαιόλαδου. Δεν παραβλέπουμε επίσης και τον συνδυαστικό ρόλο και κάποιων άλλων πραγμάτων, όπως η υψηλή κατανάλωση φρούτων και λαχανικών, η υψηλή κατανάλωση κόκκινου κρασιού αλλά και η χαμηλή κατανάλωση κόκκινου κρέατος.

Τα συστατικά αυτής της διατροφής είναι πλούσια σε μονο – και πολυακόρεστα λιπαρά οξέα, φυτικές ίνες και ουσίες με αντιοξειδωτικές ιδιότητες και συνάμα φτωχά σε κορεσμένα λίπη. Μιλώντας για κορεσμένα, εννοούμε έναν τύπο λίπους όπου ο ένας από τους δυο δεσμούς των λιπαρών οξέων έχει σπάσει και το κάθε

μέρος του δεσμού έχει συνδεθεί (κορεστεί) με ένα άτομο υδρογόνου. Κορεσμένα λίπη απαντώνται κατά κύριο λόγο στα ζωικής προέλευσης προϊόντα.

ΛΙΠΙΔΙΑ - ΛΙΠΟΠΡΩΤΕΪΝΕΣ

Ο ανθρώπινος οργανισμός βάση του τρόπου δομής του σώματός του και της ενζυμικής του εξάρτησης, βασίζεται για την διατροφή του σε 3 κατηγορίες θρεπτικών υλών με θερμιδική αξία, όπως οι υδατάνθρακες, οι πρωτεΐνες και οι λιπαρές ουσίες. Ωστόσο, για μια ισορροπημένη διατροφή, θα πρέπει να περιέχονται στο σιτηρέσιο και άλλες ουσίες, όπως οι βιταμίνες, τα ανόργανα άλατα και το νερό, και ας μην έχουν κάποια αξιόλογη θερμιδική αξία για τον άνθρωπο.

Μια παλαιότερη πεποίθηση που ίσχυε μέχρι και πριν λίγα χρόνια έκανε λόγο για την χρήση των λιπαρών ουσιών σαν μία συμπυκνωμένη μορφή ενέργειας με την οποία καλύπτονταν οι τρέχουσες αλλά και οι έκτακτες ανάγκες του ανθρώπινου οργανισμού. Ούτε λίγο ούτε πολύ θεωρούνταν βέβαιο ότι το λίπος παρέμενε σε αδράνεια έως ότου ο εκάστοτε οργανισμός θα αντιμετώπιζε έκτακτες ανάγκες σε ενέργεια. Με τα χρόνια αποδείχτηκε ότι οι λιπαρές ουσίες με την μορφή των λιποειδών (φωσφορολιπίδια, γαλακτολιπίδια, λιποπρωτεΐνες κ.λπ) είναι δομικά συστατικά των κυτταρικών μεμβρανών και της χοληστερίνης, του εγκεφάλου και νευρικού ιστού, και διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στην κανονική λειτουργία του ανθρώπινου οργανισμού. Η ποικιλομορφία των βιολογικών δράσεων των λιπιδίων προϋποθέτει την ύπαρξη διαφόρων μορφών τους. Η χοληστερόλη για παράδειγμα, μια από τις σημαντικότερες μορφές, χρησιμοποιείται κατά κύριο λόγο για την βιοσύνθεση μιας μεγάλης κατηγορίας ορμονών όπως η κορτιζόνη, η αλδοστερόνη και γενετικές ορμόνες, τόσο στον άνδρα όσο και στην γυναίκα. Τα λιπαρά οξέα είναι αυτά που χρησιμοποιούνται κυρίως ως καύσιμα και αποθηκευτικά ενεργειακά προϊόντα. Η επικοινωνία του κυττάρου με το περιβάλλον του γίνεται με την βοήθεια των προσταγλανδινών. Τα τριγλυκερίδια και τα άλλα μόρια που παράγονται από την σύνδεση των λιπαρών οξέων με διάφορες ουσίες, όπως η

Υπάρχουν τρανς λιπαρά τα οποία απαντώνται “φυσικά” σε κάποια τρόφιμα αλλά και αυτά που παράγονται βιομηχανικά. Στη φύση υπάρχουν τρανς λιπαρά σε μικρές ποσότητες στο λίπος του γάλακτος και του κρέατος, προερχόμενο ως επί το πλείστον από μηρυκαστικά ζώα (3-8% επί του ολικού λίπους). Βγαίνει λοιπόν το συμπέρασμα ότι ο αντίκτυπός τους στη δημόσια υγεία είναι μικρός. Αντίθετα, τα έλαια που έχουν υδρογονωθεί μερικώς, για καθαρά τεχνολογικούς σκοπούς, μπορεί να περιέχουν τρανς λιπαρά σε πολύ μεγαλύτερες ποσότητες (βιομηχανικώς παραγόμενα τρανς λιπαρά), έως και 60% επί του ολικού λίπους, ανάλογα με το βαθμό αλλά και τον τρόπο υδρογόνωσης και την όποια περαιτέρω επεξεργασία έχουν υποστεί.

Η μερική υδρογόνωση φυτικών ελαίων εξυπηρετεί δύο σκοπούς :

- να μετατρέψει τα έλαια από υγρή σε στερεή μορφή, και
- να βελτιώσει την οξειδωτική σταθερότητά τους αυξάνοντας έτσι τη διάρκεια ζωής των προϊόντων

Αυτοί οι τύποι ελαίων μπορούν να χρησιμοποιηθούν σε προϊόντα ζαχαροπλαστικής αλλά και για επαναλαμβανόμενο τηγάνισμα.

Οι περισσότεροι διπλοί δεσμοί που φτιάχνονται στα βιολογικά συστήματα είναι cis. Αυτή η διαμόρφωση των ακόρεστων λιπαρών οξέων είναι που εμποδίζει το πακετάρισμα τους στις κυτταρικές μεμβράνες και αυξάνει έτσι τη ρευστότητά τους. Κορεσμένα λιπαρά όπως το βούτυρο και λιπαρά οξέα με trans διπλούς δεσμούς όπως η μαργαρίνη, τείνουν να είναι σταθερά σε θερμοκρασία δωματίου. Αντίθετα τα φυσικά λιπαρά οξέα με cis διπλούς δεσμούς τείνουν να είναι υγρά. Με την τεχνητή υδρογόνωση των φυτικών ελαίων που πραγματοποιείται στην βιομηχανία τροφίμων, δημιουργούνται λιπαρά οξέα με μικρότερο αριθμό διπλών δεσμών καθώς επίσης και trans λιπαρά οξέα. Όταν αυτά τα οξέα ενσωματώνονται στις κυτταρικές μεμβράνες τότε η ρευστότητά τους μειώνεται και τα κύτταρα δυσκολεύονται να λειτουργήσουν. Πρέπει να σημειωθεί ότι δεν παράγονται όλα τα trans λιπαρά οξέα κατά την επεξεργασία των φυτικών ελαίων, όπως γίνεται με το φυσικό βούτυρο, το οποίο αποτελείται από 5% trans λιπαρά.

Η παραγωγή εναλλακτικών μειγμάτων λιπαρών υλών με πολύ χαμηλή συγκέντρωση τρανς λιπαρών αλλά αντίστοιχες τεχνολογικές ιδιότητες με τα τυπικά μερικώς υδρογονωμένα έλαια, με σημαντική συγκέντρωση τρανς λιπαρών, εξακολουθούν να χρησιμοποιούνται σε εφαρμογές τροφίμων. Ο αντίκτυπός τους βέβαια στη δημόσια υγεία είναι άκρως σημαντικός.

Ορισμένα από τα λιπαρά οξέα δεν μπορούν να συντεθούν από τον οργανισμό, αλλά πρέπει να προσληφθούν από την τροφή. Αυτά ονομάζονται απαραίτητα λιπαρά οξέα και περιέχονται κυρίως στο λίπος των ψαριών και σε ορισμένα φυτά, όπως το καλαμπόκι και η γλιστρίδα. Επειδή τα οξέα αυτά είναι τοξικά για τα κύτταρα όντας σε ελεύθερη μορφή, κυκλοφορούν και αποθηκεύονται στους ιστούς, συνδεδεμένα με διάφορες άλλες ουσίες, όπως η γλυκερόλη ή γλυκερίνη. Κάπως έτσι προήλθαν και τα γλυκερίδια (μονό-δι και τριγλυκερίδια).

Η ιδιότητα των λιπιδίων να είναι αδιάλυτα στο νερό, καθιστά απαραίτητη την σύνδεσή τους με διάφορες ειδικές πρωτεΐνες του πλάσματος, τις απολιποπρωτεΐνες, προκειμένου να κυκλοφορήσουν σε διάφορα βιολογικά υγρά όπως το αίμα. Τα συσσωματώματα που σχηματίζονται από τις απολιποπρωτεΐνες, Τα συσσωματώματα που σχηματίζονται από τις απολιποπρωτεΐνες, τα τριγλυκερίδια και την χοληστερόλη, ονομάζονται λιποπρωτεΐνες. Διακρίνονται σε χυλομικρά, πολύ χαμηλής πυκνότητας (VLDL), χαμηλής πυκνότητας (LDL), ενδιάμεσης πυκνότητας (IDL) και υψηλής πυκνότητας (HDL). Οι VLDL περιέχουν την μεγαλύτερη ποσότητα χοληστερόλης και οι HDL την μικρότερη. Η υπερβολική εναπόθεση χοληστερόλης στο εσωτερικό τοίχωμα των αγγείων σχετίζεται με την δημιουργία αρτηριοσκληρώσεων. Έτσι, οι HDL χρησιμεύουν για την απομάκρυνση της χοληστερόλης από τους ιστούς και την μεταφορά της στο ήπαρ προς χρήση ή αποβολή. Ως εκ τούτου η χοληστερόλη που είναι συνδεδεμένη με τις λιποπρωτεΐνες αυτές, δεν αποτελεί αθηρογόνο παράγοντα παρά μόνο την καλή χοληστερόλη.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1: ΓΕΝΙΚΑ ΣΤΟΙΧΕΙΑ ΓΙΑ ΤΗΝ ΕΛΙΑ

Η ελιά ευημερεί σε εύκρατα κλίματα χωρίς ακρότητες στην θερμοκρασία και στην υγρασία, γι' αυτό και είναι ευρύτατα διαδεδομένη στη μεσογειακή ζώνη. Μπορεί να καλλιεργηθεί και σε πολλές άλλες περιοχές του κόσμου, αρκεί η θερμοκρασία να μην κατεβαίνει πολύ και για μεγάλα χρονικά διαστήματα κάτω από το μηδέν. Οι παραθαλάσσιες περιοχές λοιπόν είναι οι πλέον κατάλληλες.

Η ελιά και το λάδι είναι τα προϊόντα της ελιάς της ευρωπαϊκής (*Olea europaea*) και θεωρείται από τα αρχαιότερα καλλιεργούμενα δέντρα στον κόσμο. Η ελιά υποστηρίζεται ότι πρωτοεμφανίστηκε την 3η χιλιετία π.Χ. στην περιοχή της Μέσης Ανατολής, από όπου στη συνέχεια διαδόθηκε στα νησιά του Αιγαίου, την Ελλάδα και στις άλλες χώρες της Μεσογείου. Η ελιά αποτελεί το ιερότερο δέντρο του τόπου μας συνδεδεμένο άμεσα με την κουλτούρα και τις διατροφικές συνήθειες της χώρας μας. Από την πρωτογενή κοινωνία ακόμη, οι άνθρωποι ήταν ενήμεροι για τις θεραπευτικές της ιδιότητες και η χρήση της δεν περιοριζόταν μόνο στο φαγητό.

Ο πρωτόγονος άνθρωπος, κατά τον Σαρακωμένο, την εποχή που περιφερόταν γυμνός και ξυπόλυτος στα δάση, πάτησε και συνέθλιψε ελαιόκαρπο αγριελιάς, πεσμένο στο έδαφος και παρατήρησε ότι το λάδι που διαχωρίστηκε έβρεξε και απάλυνε το σκληρό δέρμα του ποδιού του. Έτσι, οδηγήθηκε στη συλλογή του καρπού της αγριελιάς και της ήμερης ελιάς, στη σύνθλιψή του και το διαχωρισμό του λαδιού, που το χρησιμοποίησε αρχικά στην επάλειψη του δέρματος και στον καλλωπισμό.

Πριν από δύο χιλιάδες χρόνια ο Λατίνος Colymella είχε πει πως η ελιά είναι το πρώτο από όλα τα δέντρα, γιατί είναι το μόνο που μπορεί να ευδοκιμήσει σε όλα τα απόκρημνα, πετρώδη, ξηρά και άνυδρα εδάφη, τα οποία δεν προσφέρονται για άλλη καλλιέργεια. Οι αρχαίοι Έλληνες, μέσω του Σόλωνα, είχαν θεσπίσει μέχρι και νόμους για να δοθεί η δέουσα προσοχή στην ελαιοκαλλιέργεια σε όσους σπούδαζαν γεωπονία την εποχή εκείνη.

Το δέντρο της ελιάς αναφέρεται και στην ελληνική μυθολογία σε ότι έχει να κάνει με την προέλευση του ονόματος της πόλης των Αθηνών. Λέγεται πως η

Θεά Αθηνά φιλονικούσε με τον Ποσειδώνα για την κυριαρχία της πόλης. Το δώρο της θεάς Αθηνάς στην πόλη ήταν ένα ελαιόδεντρο, ενώ αυτό του Ποσειδώνα ένας πίδακας από αλάτι. Οι πολίτες αποφάσισαν ότι το ελαιόδεντρο ήταν χρησιμότερο κι έτσι η πόλη ονομάστηκε Αθήνα. Οι Έλληνες ήταν ο πρώτος λαός που επιδόθηκε συστηματικά στην καλλιέργεια της ελιάς και, αφού εκτίμησε τα πλεονεκτήματα του δέντρου αυτού, το θεώρησε ιερό αφιερώνοντάς το στη θεά της σοφίας, την Αθηνά, και το καθιέρωσε σαν σύμβολο ειρήνης και νίκης. Αναφορές υπάρχουν συχνές και στην Παλαιά Διαθήκη όπου συμβόλιζε το δέντρο της ειρήνης.

Η ελιά καλλιεργούνταν σε αρκετές περιοχές της Ελλάδας, στη Δήλο, στη Σάμο, στην Εύβοια, στη Κρήτη και σε πολλές άλλες. Πρέπει να σημειωθεί ότι το ελαιόδεντρο καλλιεργούνταν στην Κρήτη την προμινωική εποχή (3.000 π.Χ.) και οι Κρητικοί έτρωγαν ελαιόλαδο σε υπερβολικό βαθμό, καθώς και το εξήγαγαν στην Ηπειρωτική Ελλάδα και σε άλλες χώρες. Περισσότερο πιθανό είναι να προϋπήρχε η σπορελαιουργία της ελαιουργίας. Κατά μια εκδοχή οι Αιγύπτιοι συστηματοποίησαν πρώτοι την παραγωγή σπορέλαιου από τους σπόρους σισαμιού και σόγιας. Η εκπίεση του ελαιόκαρπου μάλλον εφαρμόστηκε για πρώτη φορά από τους Εβραίους και τους Φοίνικες, μιμούμενοι τις μεθόδους επεξεργασίας ελαιούχων σπόρων που χρησιμοποιούσαν οι αρχαίοι Αιγύπτιοι.

1.1 ΠΟΙΚΙΛΙΕΣ ΕΛΙΩΝ

Οι καλλιεργούμενες ποικιλίες ελαιοποιήσιμων ελιών στην Ελλάδα είναι ουκ ολίγες. Η επικρατέστερη όλων είναι φυσικά η Κορωνέικη, η οποία δίνει τα περισσότερο ρευστά, εύγευστα και αρωματικά λάδια. Υπάρχουν ακόμη η Λιανολιά Κέρκυρας, η Λαδολιά, η Τσουνάτη, το Αγουρομάνακο, η Μεγαρείτικη, η Βαλανολιά, η Αδραμυτίνη, η Ματολιά και η Κοθρέικη. Τα προηγούμενα χρόνια τα ελαιόλαδα που παράγονταν στην Ελλάδα ήταν μέτριας ή κακής ποιότητας. Βελτιώνοντας όμως τον τρόπο συγκομιδής του ελαιόκαρπου λαμβάνονται πλέον λάδια πολύ καλής ποιότητας. Τα ποιοτικώς καλύτερα ελαιόλαδα είναι αυτά της Μάνης ή της Λακωνίας γενικότερα, των Καλαμών, της Αργολίδας, κ.τ.λ.

Προέρχονται συνήθως από τον ελαιόκαρπο της ποικιλίας “Κορωνέικη” αναμεμειγμένο σε διάφορα ποσοστά με ελαιόκαρπο άλλων ποικιλιών.

Η ονομασία και η διάκριση των διαφόρων ποικιλιών, βασίζεται στα μορφολογικά τους χαρακτηριστικά, όπως η εμφάνιση του δέντρου, τα φύλλα, ο καρπός, ο πυρήνας, η σχέση σάρκας – πυρήνα και άλλα γνωρίσματα, που συνθέτουν τον καρπό. Όλες οι ελιές κατατάσσονται σε τρεις μεγάλες κατηγορίες:

- a) οι μικρόκαρπες (1,2 – 2,6 gr), είναι οι ελιές για παραγωγή λαδιού (Αγριελιά, Κορωνέικη, Κουτσουρελια, Λιανολιά, Τσουνάτη)
- b) οι μεσόκαρπες (2,7 – 4,2 gr), είναι οι φαγώσιμες ελιές (Αγουρομανακολιά, Βαλιανολιά, Αδραμυττίνη, Θρουμπολιά, Μεγαρείτικη)
- c) οι αδρόκαρπες (4,6 – 10,5 gr), είναι οι αποκλειστικά φαγώσιμες ελιές (Κονσερβολιά, Βασιλικάδα, Κορυδολιά, Καλαμών, Αμυγδαλολιά, Γαϊδουρελιά) (Αλεξάκης, 1998).

Στις περισσότερες περιπτώσεις η ίδια ποικιλία μπορεί να χρησιμοποιηθεί είτε σαν βρώσιμη είτε σαν ελαιοποιήσιμη. Έτσι, σαν την πιο γνωστή ελαιοποιήσιμη ποικιλία έχουμε την *Κορωνέικη* (Λιανολιά) και για βρώσιμες ξεχωρίζουν οι *Χαλκιδικής*, *Αμφίσης* (Κονσερβολιά) και η *Καλαμών*. Από την τελευταία παράγεται ο ομώνυμος, διεθνώς γνωστός και σε πολλούς αρεστός τύπος *Καλαμών*.

1.2 ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΕΛΑΙΟΚΑΡΠΟΥ

Ο καρπός της ελιάς είναι δρύπη με μήκος μεγαλύτερο από την κεντρική διάμετρο. Ο λόγος διάμετρος/μήκος εξαρτάται ξεκάθαρα από την ποικιλία. Συγκροτείται από τρία τμήματα: το περικάρπιο ή επιδερμίδα ή φλούδα, το μεσοκάρπιο ή σάρκα και το ενδοκάρπιο ή πυρήνα ή κουκούτσι. Το ενδοκάρπιο με τη σειρά του αποτελείται από ένα ξυλοποιημένο περίβλημα (οστεώδες) και από το ενδοσπέρμιο ή αμύγδαλο. Το οστεώδες περίβλημα έχει τις περισσότερες

φορές επιπόλαιες ή βαθιές γλυφές και σπανιότερα μπορεί να είναι λείο. Οι γλυφές αυτές αποτελούν ένα βασικό κριτήριο αναγνώρισης μιας ποικιλίας. Το αμύγδαλο, το οποίο είναι πλούσιο σε πρωτεΐνη και λάδι, περιβάλλεται από μια λεπτή και ελαστική μεμβράνη και έχει στο εσωτερικό του δύο κοτυληδόνες.

Ο καρπός της ελιάς είναι το κύριο προϊόν του ελαιόδεντρου και χρησιμοποιείται ως πρώτη ύλη από την βιομηχανία της βρώσιμης ελιάς και των υπολοίπων, ως την ελαιουργία. Κι όταν μιλάμε για ελαιουργία εννοούμε τον κλάδο της Τεχνολογίας τροφίμων που μελετά την επεξεργασία του ελαιοποιήσιμου ελαιόκαρπου σε όλα τα στάδια από τη συλλογή ως τον διαχωρισμό του ελαιόλαδου.

Από επιστημονική, τεχνολογική και οικονομική άποψη η ελαιουργία ασχολείται με την συλλογή του ελαιόκαρπου, την αποφύλλωση και το πλύσιμο, την αποθήκευση και το άλεσμα αυτού. Ακολουθούν το άλεσμα, η μάλαξη-ομοιογενοποίηση, ο διαχωρισμός υγρής-στερεής φάσης καθώς και ο διαχωρισμός του λαδιού από τα φυτικά υγρά. Το κεφάλαιο ελαιουργία κλείνει με την αποθήκευση του λαδιού και την συσκευασία καθώς και με την τυποποίηση και φυσικά την εμπορία του ελαιόλαδου.

1.3 ΣΥΓΚΟΜΙΔΗ ΚΑΙ ΜΕΤΑΦΟΡΑ ΕΛΑΙΟΚΑΡΠΟΥ

Η παραγωγή ελαιόλαδου καλής ποιότητας εξαρτάται από τον χρόνο συγκομιδής. Ο κατάλληλος χρόνος λοιπόν είναι αυτός που συμπίπτει με το άριστο στάδιο ωρίμανσης του καρπού. Όταν ο καρπός αρχίζει να παίρνει ένα σκούρο προς μαύρο χρωματισμό, βρίσκεται τότε στο κατάλληλο στάδιο να συγκομιστεί και περιέχει ελαιόλαδο τόσο σε καλή ποιότητα όσο και ποσότητα.

Η χρονική περίοδος που γίνεται το πάρσιμο της ελιάς διαφέρει από ποικιλία σε ποικιλία, από χρονιά σε χρονιά, από περιοχή σε περιοχή, από δέντρο σε δέντρο ακόμα και από καρπό σε καρπό. Η ηλιοφάνεια και η γεωγραφική θέση του κάθε ελαιώνα συγκαταλέγονται στους σημαντικούς παράγοντες διάκρισης της

κατάλληλης στιγμής μαζέματος. Κατά συνέπεια, όταν η μεγαλύτερη ποσότητα ελαιόκαρπων σε έναν ελαιώνα βρίσκεται στο τέλειο στάδιο ωρίμανσης, τότε μιλάμε για συγκομιδή ελαιόκαρπου που μας δίνει ελαιόλαδο με ωραία και φρουτώδη γεύση. Αντίθετα πολύ πρόωμη ή και πολύ όψιμη συγκομιδή μπορεί να επηρεάσει αρνητικά την ποιότητα και την ποσότητα του ελαιόλαδου.

Οι τρόποι συγκομιδής έχουν μείνει σχεδόν αμετάβλητοι τις τελευταίες δεκαετίες. Η πιο γνωστή μέθοδος είναι η συλλογή από το έδαφος με το χέρι και η οποία έχει εγκαταληφθεί λόγω του μεγάλου κόστους. Απαιτούνταν πολλά εργατικά χέρια και μάλιστα ήταν πολύ δύσκολο να βρεθεί ο απαραίτητος αριθμός εργατών. Έχοντας λοιπόν από τη μια το κόστος αλλά και την άλλη την μη καλή ποιότητα ελαιόλαδου που παίρνανε από αυτούς τους καρπούς, ήταν σίγουρο πως αυτή η μέθοδος κάθε άλλο παρά διαχρονική δεν θα παρέμενε.

Ιδιαίτερα για τις μεγαλόκαρπες ποικιλίες, ακόμα και σήμερα, χρησιμοποιούνται πλαστικά δίχτυα τα οποία απλώνονται στο έδαφος κάτω από τα δέντρα και οι ελιές πέφτουν μόνες τους πάνω σε αυτά. Προσοχή πρέπει να δίνεται όμως στο να μαζεύονται σε τακτικά διαστήματα και όχι μεγαλύτερα των δεκαπέντε ημερών. Ούτε αυτή η μέθοδος θεωρείται η καταλληλότερη διότι ο καρπός κατά τη διάρκεια που βρίσκεται στα δίχτυα ωριμάζει και χάνει πολλά από τα αρωματικά χαρακτηριστικά και τα θρεπτικά του συστατικά. Οι καιρικές συνθήκες και τα έντομα προκαλούν πολλές οξειδωτικές αντιδράσεις που συμβάλλουν στην παραγωγή υψηλής οξύτητας ελαιόλαδου και συνεπώς χαμηλής ποιότητας προϊόντος.

Αυτός ο τρόπος συγκομιδής ενδείκνυται σε δύσβατες περιοχές δίνοντας όμως έμφαση στον πολύ τακτικό χρόνο απομάκρυνσης του καρπού από το έδαφος. Όταν η διαμόρφωση του εδάφους το επιτρέπει μπορούν να χρησιμοποιηθούν μηχανήματα απορροφήσεως ή ακόμη και ραβδιστικά (ελαιοραβδιστικά) μηχανήματα. Εννοείται βέβαια πως η διαμόρφωση της κόμης των ελαιόδεντρων και το μέγεθός τους θα είναι το πρόπονο για τα μηχανήματα. Όταν υπάρχει δυνατότητα εύρεσης εργατικού δυναμικού μπορεί να γίνει ραβδισμός με το χέρι, κατά τον οποίο χρησιμοποιούνται ραβδιά ξύλινα ή πλαστικά ή ακόμη και ειδικοί δονητές, ιδιαίτερα για το εξωτερικό μέρος του δέντρου. Ο πιο ενδεδειγμένος και

καλύτερος τρόπος συγκομιδής ώστε να εξασφαλίζεται η καλύτερη ποιότητα ελαιόλαδου, τόσο για τις ελαιοποιήσιμες όσο και για τις βρώσιμες ελιές, είναι με το χέρι, αφού αποφεύγεται ο τραυματισμός του καρπού και του ελαιοδέντρου.

Αφού παραληφθεί όλη η ποσότητα του καρπού από τα δέντρα θα πρέπει να μεταφερθεί στο ελαιουργείο για επεξεργασία. Παλαιότερα χρησιμοποιούνταν πλαστικά ή πάνινα σακιά, ύλες οι οποίες δεν θεωρούνται πλέον κατάλληλες. Στις μέρες μας χρησιμοποιούνται διάτρητα ξύλινα ή πλαστικά τελάρα για να διευκολύνεται ο αερισμός του ελαιόκαρπου και η ρύθμιση της θερμοκρασίας. Κρατώντας έτσι την θερμοκρασία όσο γίνεται χαμηλότερη αποφεύγεται το μούχλιασμα των καρπών που θα οδηγούσε σε σημαντικές αλλοιώσεις του παραγόμενου ελαιόλαδου. Επίσης, η τοποθέτηση των τελάρων το ένα πάνω στο άλλο βοηθά στο να εξοικονομηθεί πολύτιμος χώρος. Ο χώρος αποθήκευσης θα πρέπει να είναι καθαρός, χωρίς τον κίνδυνο από έντομα και ασθένειες, η θερμοκρασία να κυμαίνεται από 10–15 °C και να επικρατούν συνθήκες σκότους. (Γ.Αργυρόπουλος, 2015).

1.4 ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ ΕΛΑΙΟΚΑΡΠΟΥ

Η επεξεργασία του καρπού από την συγκομιδή μέχρι την παραγωγή ελαιόλαδου περιλαμβάνει αρκετές διαδικασίες. Πρώτα επιλέγεται ο τρόπος συγκομιδής και μετά απαιτείται άμεση μεταφορά στο ελαιουργείο όπου γίνεται η παραλαβή και το ζύγισμα. Ακολουθεί αποφύλλωση, διότι η σύνθλιψη μεγάλης ποσότητας φύλλων μαζί με τον ελαιόκαρπο προσδίδει πικρή γεύση στο ελαιόλαδο και το εμπλουτίζει με χλωροφύλλη και ως εκ τούτου επέρχεται μείωση της ποιότητας. Στην συνέχεια ακολουθεί πλύσιμο σε ειδικά πλυντήρια ώστε να απομακρυνθούν ξένες ύλες, όπως σκόνη, πέτρες, χώμα κ.α. και μετά σπάζεται και αλέθεται για να επέλθει ομογενοποίηση.

Στην επόμενη φάση γίνεται μια από τις σημαντικότερες διεργασίες, η μάλαξη, όπου διαχωρίζεται το ελαιόλαδο από τα υπόλοιπα φυτικά υγρά. Η παραλαβή

του ελαιόλαδου από την ελαιοζύμη πραγματοποιείται με δυο τρόπους: με πίεση και με φυγοκέντριση ή εκλεκτική διήθηση. Τέλος, γίνεται ο καθαρισμός του ελαιόλαδου, όπου απομακρύνονται οποιαδήποτε στερεά σωματίδια έχουν παραμείνει στο υγρό ελαιόλαδο. Συνοψίζοντας, μπορούμε να πούμε πως τα κύρια στάδια επεξεργασίας στο ελαιουργείο είναι τέσσερα: σπάσιμο του καρπού, μάλαξη της παραγόμενης ελαιοζύμης, διαχωρισμός του ελαιόλαδου και των άλλων συστατικών της ελαιοζύμης και τελικός καθαρισμός του ελαιόλαδου.

Αφού γίνει και η τυποποίηση το τελικό προϊόν διατίθεται προς κατανάλωση ανάλογα με τα ιδιαίτερα χαρακτηριστικά του.

1.5 ΧΗΜΙΚΗ ΣΥΣΤΑΣΗ ΕΛΑΙΟΚΑΡΠΟΥ

Ο καρπός της ελιάς είναι το κύριο προϊόν του ελαιόδεντρου σε αντίθεση με τα φύλλα και τα ξυλώδη τμήματα που είναι μικρότερης σημασίας για τον καλλιεργητή. Ανατομικά ο ελαιόκαρπος δεν διαφέρει από τις δρύπες των υπόλοιπων πυρηνόκαρπων. Διαφέρει όμως ως προς την χημική σύσταση και τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά των άλλων δρυπών και αυτό γίνεται επειδή:

- η σάρκα της ελιάς έχει μικρή περιεκτικότητα σε σάκχαρα, μεταξύ 2,5 και 6% επί της νωπής ελαιομάζας σε σχέση με τις υπόλοιπες δρύπες που έχουν ένα ποσοστό πάνω από 12%.
- η περιεκτικότητα της νωπής μάζας σε λάδι κυμαίνεται μεταξύ 7 και 30% ή ακόμα και περισσότερο, ενώ τα υπόλοιπα πυρηνόκαρπα αρκούνται σε ένα ποσοστό της τάξεως του 1,55%
- μέσα στη σάρκα της ελιάς υπάρχει μια πικρή ουσία, η ελευρωπαΐνη (oleuropein), η οποία και χαρακτηρίζει τον ελαιόκαρπο αφού δεν έχει παρατηρηθεί σε κανένα άλλο καρπό του φυτικού βασιλείου.

Οι τρεις αυτές ιδιαιτερότητες είναι υπεύθυνες για την ειδική επεξεργασία στην οποία θα πρέπει να υποβληθεί ο ελαιόκαρπος για να καταστεί βρώσιμος (Μπαλατσούρας Γ., 1997).

Σαν ένα από τα κύρια συστατικά του ελαιόκαρπου, το οποίο αντιπροσωπεύει μάλιστα το 70% του νωπού βάρους, είναι το νερό το οποίο επηρεάζει σημαντικά το σχήμα που παίρνει ο κάθε καρπός. Όταν λοιπόν τα κύτταρα του καρπού βρίσκονται σε σπαργή, τότε το σχήμα του είναι κανονικό, αν όμως λείπει παραπάνω υγρασία από όσο πρέπει, τότε επέρχεται σημαντική συρρίκνωση. Μέσα στο νερό του κυτταρικού χυμού βρίσκονται διαλυμένα τα σάκχαρα, τα οργανικά οξέα, οι τανίνες, η ελευρωπαΐνη κ.α. Σύμφωνα με τον Guess όσο περισσότερο αυξάνεται η ελαιοπεριεκτικότητα σε έναν καρπό, τόσο ελαττώνεται η ποσότητα του νερού.

Οι ποσότητες των συστατικών του καρπού διαφέρουν σημαντικά ανάλογα με το στάδιο ανάπτυξης, τον βαθμό ωριμότητας και την ποικιλία. Έτσι, καθώς ο καρπός προχωρά προς την ωρίμανση, συναντούμε όλο και υψηλότερη περιεκτικότητα σε λιπαρά, σε αντίθεση με τις πράσινες ελιές. Στις επεξεργασίες των επιτραπέζιων ελιών πολύ σημαντικό ρόλο παίζουν τα σάκχαρα, τα οποία θέλουμε να είναι όσο γίνεται λιγότερα. Τα σάκχαρα είναι η κύρια πηγή άνθρακα που οδηγεί στην ανάπτυξη μικροβίων. Οι νωπές ελιές έχουν χαρακτηριστική συγκέντρωση σε κυτταρίνη, ημικυτταρίνη και λιγνίνη (0,3 έως 0,6%), ενώ φτωχή είναι η συγκέντρωση σε ιχνοστοιχεία με μόνη εξαίρεση ίσως το κάλιο. Σημαντικό ποσοστό φαινολικών ενώσεων παρατηρείται στον καρπό της τάξεως του 3 έως 6% επί της ξηράς ουσίας.

Στην αρχή της δημιουργίας του ο καρπός έχει πράσινο χρώμα, γεγονός που εξηγείται από την παρουσία της χλωροφύλλης, από την άλλη, έχουμε το ρόδινο έως πορφυρό χρώμα των ώριμων ελιών λόγω του σχηματισμού των ανθοκυανών. Τέλος, έχουμε την ύπαρξη της ελευρωπαΐνης, η οποία μειώνεται όσο προχωρά η ωρίμανση και κάνει ορισμένες ποικιλίες ακατάλληλες προς κατανάλωση χωρίς να προηγηθεί κάποια επεξεργασία. Το χαρακτηριστικό γνώρισμα της ένωσης αυτής είναι ότι βρίσκεται μόνο στον καρπό και στα φύλλα και κατέχει το μεγαλύτερο μέρος του φαινολικού κλάσματος και μελέτες έχουν δείξει ότι έχει ισχυρή αντιοξειδωτική ικανότητα. (Benavente et al., 2000).

1.6 ΜΕΘΟΔΟΙ ΕΞΑΓΩΓΗΣ ΕΛΑΙΟΛΑΔΟΥ

Μετά την συγκομιδή του ελαιόκαρπου, ακολουθεί πορεία προς το ελαιουργείο και μάλιστα χωρίς καμία καθυστέρηση για να αποφευχθούν ανεπιθύμητες αλλοιώσεις στην ποιότητα. Μέσα στα ελαιουργεία ο καρπός περνά από διάφορα στάδια, όπως: ζύγισμα, αποφύλλωση, πλύσιμο, σπάσιμο, μάλαξη της παραγόμενης ελαιοζύμης (ελαιόπαστας), διαχωρισμός του ελαιόλαδου και των άλλων συστατικών της ελαιοζύμης (είτε με πίεση και φυγοκέντρηση ή με εκλεκτική διήθηση) και τελικός καθαρισμός του ελαιόλαδου με το πέρασμά του από τους ελαιοδιαχωριστήρες. (Κυριτσάκης, 2000).Ανάλογα με ποια μέθοδο θα γίνει ο διαχωρισμός του ελαιόλαδου και των άλλων συστατικών της ελαιοζύμης, έχουμε τα πιεστήρια (με πίεση), τα φυγοκεντρικά (με φυγοκέντρηση) και τα ελαιοτριβεία τύπου Σινολέα (με συνάφεια).

Η μέθοδος που χρησιμοποιούσαν οι ελαιοκαλλιεργητές για χιλιάδες χρόνια ήταν αυτή της μηχανικής πίεσης, σύνθλιψης, του καρπού στα παλαιού τύπου πιεστήρια. Η πρόοδος αυτών των ελαιουργείων ήρθε με την εφεύρεση της υδραυλικής πίεσης η οποία έφερε επανάσταση στα μέχρι τότε χρησιμοποιούμενα συστήματα.

Κατά την παραγωγή ελαιόλαδου στις μέρες μας, ο διαχωρισμός του από την ελαιοζύμη γίνεται με την χρήση φυγοκεντρικών συστημάτων διαχωρισμού δύο ή τριών φάσεων. Τα συστήματα αυτά διαφέρουν ως προς την ποσότητα και σύνθεση των αποβλήτων που παράγουν αλλά και ως προς την ποιότητα του παραγόμενου προϊόντος. Η επιτυχία στον διαχωρισμό οφείλεται στην φυγοκέντρηση λόγω διαφοράς του ειδικού βάρους των επι μέρους συστατικών της ελαιοζύμης. Το βασικό μηχάνημα αυτών των ελαιουργείων είναι ένας οριζόντιος φυγοκεντρικός διαχωριστήρας, ο λεγόμενος *decanter*.

Τα πρώτα *decanters* ήταν αποκλειστικά τριών φάσεων και χρονολογούνται από τη δεκαετία του 1960-1970. Αυτή η μέθοδος εκμεταλλεύεται την διαφορά του ειδικού βάρους ανάμεσα στο νερό και στο λάδι. Έτσι, οι αλεσμένες ελιές τοποθετούνται σε ένα τριφασικό ελαιουργικό συγκρότημα αποτελούμενο από μια σειρά φυγοκεντρικών διαχωριστών οριζόντιου άξονα, όπου διαχωρίζονται

σε διάφορα κλάσματα. Όλοι οι φυγοκεντρικοί διαχωριστήρες ελαιοζύμης χαρακτηρίζονται από οριζόντιο άξονα και οριζόντιο τύμπανο και από εξωθητικό κοχλία , που περιστρέφεται με ελαφρά λιγότερες στροφές, αλλά κατά την ίδια φορά με το τύμπανο, έτσι ώστε να μετατοπίζει συνεχώς τις στερεές ύλες προς το άκρο του τυμπάνου.

Ο διαχωριστής χωρίζει την ελαιοζύμη σε τρεις χωριστές φάσεις : τον ελαιοπυρήνα, το ελαιόλαδο και τα φυτικά υγρά. Είναι συνεχούς λειτουργίας, με την λάσπη (ελαιοπυρήνα), να ωθείται συνεχώς έξω από τον ελαιοδιαχωριστή, με την βοήθεια κοχλία μεταφοράς. Τα μηχανήματα είναι συνδεδεμένα υπό μορφή συνεχούς γραμμής, πλήρως αυτοματοποιημένης σε ότι αφορά την λειτουργία. Χαρακτηριστικό αυτού του τύπου ελαιοτριβείου είναι η συνεχής ροή του υλικού από το στάδιο του καρπού ως τα τελικά προϊόντα, το ελαιόλαδο και τον ελαιοπυρήνα. Ο πυρήνας περιέχει 12% περίπου λάδι γι αυτό και οδηγείται στα πυρηνελαιουργεία για εξαγωγή πυρηνελαίου με έκχυση. Το κατάλοιπο της διαδικασίας αυτής είναι το πυρηνόξυλο, υλικό με εμπορική αξία λόγω της χρησιμοποίησής του σαν μέσο θέρμανσης. Από όταν πρωτοχρησιμοποιήθηκε αυτή η μέθοδος δεν φάνηκαν βασικές διαφορές όσον αφορά στην ποσότητα του παραγόμενου ελαιόλαδου. Σαν μειονέκτημα μπορεί να αναφερθεί η μεγάλη ποσότητα υγρών αποβλήτων, λόγω της απαίτησης, της ίδιας της μεθόδου, μεγάλης ποσότητας ζεστού νερού.

Παλαιότερα έχουν γίνει και προσπάθειες ανακύκλωσης των παραγόμενων φυτικών υγρών που προέρχονται από τις διαδικασίες πλύσης του καρπού, του χώρου εξαγωγής και εξοπλισμού. Παρόλα αυτά δεν βρίσκει εφαρμογή λόγω του ότι έχει αποδειχθεί ότι η φύση των υγρών αυτών είναι οξειδωτική και θα επηρεαστεί σημαντικά η ποιότητα το εξαγόμενου ελαιόλαδου. Επίσης, με την χρήση αυτής της μεθόδου εξαγωγής, χάνονται πολύτιμα συστατικά του ελαιοκαρπού όπου μεταβαίνουν στα υγρά απόβλητα. (Χ. Βολικάκη, 2008)

Έχοντας σαν κύριο στόχο την αποφυγή μόλυνσης του περιβάλλοντος, πριν από μερικά χρόνια, η εταιρία Westfalia Separator εμφάνισε στην αγορά ένα νέο σύστημα διαχωρισμού, το 2-φασικό. Είναι γνωστό και σαν οικολογικό λόγω της σημαντικής μείωσης των αποβλήτων σε αντίθεση με το 3φασικό, όπου

απαιτείται αραίωση της ελαιοζύμης με μεγάλη ποσότητα νερού για την παραλαβή του ελαιολάδου. Στα ελαιοτριβεία δυο φάσεων ο φυγοκεντρικής δεν χρειάζεται αραίωση της ελαιόπαστας με νερό και τα τελικά προϊόντα που παράγονται είναι το ελαιόλαδο και ο ελαιοπυρήνας στον οποίο ενσωματώνονται και τα απόνερα. Εδώ το πρόβλημα διαχείρισης των αποβλήτων μετατοπίζεται από τα υγρά στα στερεά. Έτσι, υπολογίζεται ότι για κάθε κιλό επεξεργασμένου ελαιόκαρπου παράγονται 800 κιλά υγρού ελαιοπυρήνα με αποτέλεσμα να είναι πολύ δύσκολος στον χειρισμό, στη μεταφορά και στην επεξεργασία λόγω αυξημένης υγρασίας. Έχει διαπιστωθεί ότι το ελαιόλαδο που παράγεται από τα 2-φασικά ελαιοτριβεία είναι καλύτερης ποιότητας, με υψηλή οξειδωτική σταθερότητα και καλύτερα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά. Η μη χρησιμοποίηση επιπλέον ποσότητας νερού, οδηγεί στην διατήρηση ορισμένων πολύ σημαντικών ουσιών του ελαιόκαρπου (φαινόλες), που εμποδίζουν την οξείδωση του ελαιόλαδου και είναι υδατοδιαλυτές.

Τα ελαιουργεία τύπου Σινολέα βασίζουν την λειτουργία τους στην *διαφορετική συνάφεια* (συγκράτηση) που παρουσιάζουν τα συστατικά της ελαιοζύμης, το ελαιόλαδο, ο ελαιοπυρήνας και τα απόνερα, με τα ειδικά μεταλλικά ελάσματα της μονάδας σινολέα. Αυτά τα ελαιουργικά συστήματα, παρά το γεγονός ότι δίνουν ελαιόλαδο καλύτερης ποιότητας (περισσότερο αρωματικό) από τα φυγοκεντρικά, δεν προτιμήθηκαν όσο θα έπρεπε από τη χώρα μας.

Παρόλο που τα ελαιουργεία τύπου πιεστήριο έχουν πλέον αντικατασταθεί πλήρως από αυτά της φυγοκέντρωσης και της συνάφειας, παραμένουν σαν οδηγός για την παραγωγή καλής ποιότητας ελαιολάδου. Επειδή στα πιεστήρια ο τρόπος επεξεργασίας θεωρείται ψυχρός (cold processed), η θερμοκρασία του νερού που προστίθεται στο *decander* είναι χαμηλή (γύρω στους 30°C) και αυτό έχει σαν αποτέλεσμα να μην αλλοιωθούν τα αρωματικά συστατικά του ελαιόλαδου. Θα πρέπει λοιπόν να χρησιμοποιούνται πάντα χαμηλές θερμοκρασίες ανεξάρτητα από τον τύπο του ελαιουργείου ή την τεχνική που χρησιμοποιείται για την παραλαβή του ελαιολάδου. (Α. Κυριτσάκης, 2000).

1.7 ΡΑΦΙΝΑΡΙΣΜΑ

Το ελαιόλαδο που παράγεται με τους τρόπους που αναφέραμε παραπάνω, τις περισσότερες φορές, μπορεί να καταναλωθεί αμέσως και χωρίς καμία επεξεργασία. Στις περιπτώσεις που δεν παράγεται απευθείας καλής ποιότητας λάδι θα πρέπει να γίνεται ραφινάρισμα. Τα στοιχεία που οδηγούν τον ελαιοπαραγωγό στην περεταίρω επεξεργασία είναι : οξύτητα πάνω από 3,3% και δυσάρεστη οσμή και γεύση. Για να γίνει κατάλληλο για κατανάλωση (ραφινέ ελαιόλαδο), θα πρέπει να υποβληθεί σε μείωση της οξύτητας (εξουδετέρωση ελεύθερων λιπαρών οξέων), σε απόσμηση (απομάκρυνση δυσάρεστων οσμών) και σε αποχρωματισμό (απομάκρυνση σκούρου χρώματος). (Α. Κυριτσάκης ,2000).

1.8 ΠΥΡΗΝΕΛΑΙΟ

Τα κύρια υποπροϊόντα της επεξεργασίας του ελαιοκάρπου είναι ο ελαιοπυρήνας (ότι παραμένει από την ελαιοζύμη μετά την απομάκρυνση του ελαιολάδου και του νερού) και τα απόνερα. Το λάδι που εξάγεται από τον ελαιοπυρήνα μετά την επεξεργασία με εξάνιο (διαλύτης), ονομάζεται πυρηνέλαιο, και όπως όλα τα σπορέλαια θα πρέπει να ραφιναριστεί. Φυσικά και υπολείπεται ποιότητας σε σχέση με το παρθένο ελαιόλαδο,αφού η επεξεργασία καταστρέφει σε μεγάλο βαθμό πολύτιμα συστατικά του παραγόμενου προϊόντος.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2: ΕΛΑΙΟΛΑΔΟ

2.1 ΒΑΣΙΚΕΣ ΚΑΤΗΓΟΡΙΕΣ

«Ελαιόλαδο» χαρακτηρίζεται το έλαιο που λαμβάνεται από τους καρπούς της ελιάς της Ευρωπαϊκής *Olea europaea* με μέσα αποκλειστικά μηχανικά και μεθόδους ή επεξεργασίες οπωσδήποτε φυσικές, σε θερμοκρασίες που να μην προκαλούν αλλοίωση του ελαίου. Το ελαιόλαδο θεωρείται σε όλο τον κόσμο το υγιεινότερο όλων των λιπών και ελαίων που χρησιμοποιούνται για τη διατροφή του ανθρώπου. Το κόστος του ανά κιλό είναι υψηλότερο των άλλων λιπών και ελαίων που διατίθενται στην αγορά, είτε παράγονται από ετήσια βιομηχανικά φυτά (σογιέλαιο, ηλιέλαιο, κραμβέλαιο) είτε παράγονται ως παραπροϊόντα της καλλιέργειας ετήσιων φυτών (βαμβακέλαιο, καλαμποκέλαιο).

Οι βασικές κατηγορίες του ελαιόλαδου καθορίστηκαν το 1959 από το Διεθνές Συμβούλιο Ελαιολάδου. Με βάση τους κανόνες αυτού του οργανισμού αλλά και της Ευρωπαϊκής Ένωσης θεσπίστηκαν οι εξής κατηγορίες για το ελαιόλαδο και το πυρηνέλαιο:

- I. **Παρθένο ελαιόλαδο:** είναι το ελαιόλαδο που έχει παραληφθεί από τον καρπό της ελιάς μόνο με μηχανικά ή φυσικά μέσα και καταναλώνεται χωρίς καμία επεξεργασία. Έχει καλό άρωμα και γεύση (ελάχιστος βαθμός οργανοληπτικής δοκιμής 5.5) και μέγιστη οξύτητα 2%.
- II. **Έξτρα παρθένο ελαιόλαδο:** είναι το παρθένο ελαιόλαδο με εξαιρετικό άρωμα, πού καλή γεύση (ελάχιστος βαθμός οργανοληπτικής δοκιμής 6.5) και μέγιστη οξύτητα 1%.
- III. **Κοινό παρθένο ελαιόλαδο:** είναι το παρθένο ελαιόλαδο με σχετικά καλή γεύση και άρωμα (ελάχιστος βαθμός οργανοληπτικής δοκιμής 3.5) και μέγιστη οξύτητα 3,3%.
- IV. **Ραφινρισμένο ελαιόλαδο:** είναι το ελαιόλαδο που προέρχεται από χημική επεξεργασία παρθένου ελαιολάδου υψηλής οξύτητας (μεγαλύτερης του 3,3%), κακής οσμής και γεύσης. Η οξύτητα του τελικού προϊόντος δεν πρέπει να ξεπερνά το 0,5%.

V. **Ελαιόλαδο χωρίς άλλη ένδειξη:** είναι μίγμα παρθένου (δεν έχει υποστεί επεξεργασία) και ραφινρισμένου (έχει υποστεί επεξεργασία) ελαιολάδου, με οξύτητα μέχρι 1,5%. Παλαιότερα για την κατηγορία αυτή χρησιμοποιούνταν και ο όρος γνήσιο ή Couree.

Όπου αναγράφεται στις διάφορες συσκευασίες του εμπορίου ο όρος ελαιόλαδο ή γνήσιο ελαιόλαδο, θα πρέπει οι καταναλωτές να γνωρίζουν ότι πρόκειται για ένα μίγμα παρθένου και ραφινρισμένου ελαιολάδου. Μιλάμε λοιπόν για ένα ελαιόλαδο με τα χαρακτηριστικά του παρθένου σε μικρότερη βέβαια αναλογία. Όσον αφορά την σύνθεση σε λιπαρά οξέα, αυτή δεν μεταβάλλεται γιατί το ραφινάρισμα ασχολείται μόνο με κάποια ανεπιθύμητα χαρακτηριστικά και κάποια καλά, όπως φαινόλες, τοκοφερόλες κ.α.

VI. **Πυρηγέλαιο:** είναι το λάδι που παραλαμβάνεται από τον ελαιοπυρήνα με χημικά μέσα και στη συνέχεια ραφινάρεται για να δοθεί στο εμπόριο. (Κυριτσάκης, 2000).

VII. **Βιολογικό ελαιόλαδο:** είναι το προϊόν σχεδιασμού, προγραμματισμού και ελέγχου της καλλιέργειας των ελαιώνων σύμφωνα με τις αρχές των φυσικών αγροσυστημάτων. Το ελαιόλαδο αυτό παράγεται από υγιή ελαιόκαρπο που δεν έχει ραντιστεί για την καταπολέμηση εχθρών και ασθενειών με φυτοφάρμακα. Επίσης, κατά την καλλιέργεια δεν γίνεται χρήση χημικών λιπασμάτων αλλά κοπριάς και μίγματος οργανικών ιστών διαφόρων προϊόντων, που υποβάλλονται σε ειδική επεξεργασία με διάφορες βιοχημικές αντιδράσεις (ζυμώσεις) για την δημιουργία οργανικού λιπάσματος. Επιπλέον, θα πρέπει να εφαρμόζονται άριστες συνθήκες στο ελαιουργείο (κατά προτίμηση πιεστήριο), θερμοκρασία νερού στους 25°C και ο χρόνος μάλαξης να μην ξεπερνά την μισή ώρα. (Α. Κυριτσάκης, 2000).

2.2 ΠΟΙΟΤΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΕΛΑΙΟΛΑΔΟΥ

Τα βασικά κριτήρια για την αξιολόγηση της ποιότητας του ελαιολάδου έχει καθιερώσει το Διεθνές Συμβούλιο Ελαιολάδου (Δ.Σ.Ε.). Ο καλύτερος τρόπος ταξινόμησης της ποιότητας είναι αυτός που συνδυάζει τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά τόσο με την οξύτητα όσο και με την οξείδωση του ελαιολάδου.

Η οξύτητα αποτελεί το βασικότερο κριτήριο με βάση το οποίο το ελαιόλαδο διακρίνεται σε φαγώσιμο (οξύτητα μέχρι 3,3%) και βιομηχανικό (οξύτητα > 3,3%), εξαρτάται από την ποιοτική κατάσταση του ελαιοκάρπου και μεταβάλλεται ελάχιστα μετά την εξαγωγή του ελαιολάδου. Αν παρατηρηθεί αύξηση οξύτητας μετά την παραλαβή θα οφείλεται κυρίως στην παρουσία υδρολυτικών ενζύμων και υγρασίας στο ίζημα (μούργα), που καθιζάνει στον πυθμένα των δοχείων αποθήκευσης και διατήρησης. (Α.Κυριτσάκης, 2007).

Ο προσδιορισμός του βαθμού οξείδωσης του ελαιολάδου αλλά και γενικότερα των λιπαρών υλών, γίνεται κυρίως με την μέτρηση των υπεροξειδίων και της απορρόφησής τους στο υπεριώδες φάσμα. Για το παρθένο ελαιόλαδο θα πρέπει ο αριθμός των υπεροξειδίων να είναι μικρότερος ή ίσος του 20, όριο που έχει θεσπίσει το Δ.Σ.Ε.

Το χρώμα του ελαιολάδου αποτελεί χαρακτηριστικό δείκτη ποιότητας, διαφέρει από ελαιόλαδο σε ελαιόλαδο και επηρεάζει τις προτιμήσεις των καταναλωτών. Το είδος των χρωστικών ουσιών (χλωροφύλλες, ξανθοφύλλες, καροτίνες κ.α.), οι οποίες επικρατούν στον ελαιοκάρπο κατά το στάδιο της συγκομιδής, καθορίζει βασικά το χρώμα του ελαιόλαδου. Πρασινωπό προς πρασινοκίτρινο είναι το επιθυμητό χρώμα για τον χαρακτηρισμό μιας καλής ποιότητας ελαιολάδου.

Το άρωμα και η γεύση, επειδή ο προσδιορισμός τους στηρίζεται σε καθαρά υποκειμενικές μεθόδους (δοκιμαστές, γευσσιολόγους), δεν θεωρείται και από το βασικότερο κριτήριο αξιολόγησης. Οι διάφορες γεύσεις που μπορεί να ανιχνεύσει ένας δοκιμαστής είναι: φρουτώδη σαν μήλο, πικρή, αλμυρή, μούχλας, αγγουριού, χωμάτινη, χόρτου, κ.τ.λ.

Τα ελαιόλαδα επίσης μπορούν να αξιολογηθούν σαν λεπτά, ελαφριά, λιπαρά (βαριά), ανάλογα με την ρευστότητά τους και την αίσθηση που προκαλούν στη γεύση. Καλύτερης ποιότητας θεωρούνται τα βαριά ελαιόλαδα ενώ δεν θα πρέπει να συγχέεται ο όρος *ελαφριά λάδια* με τον αριθμό των θερμίδων που έχουν.

2.3 ΝΟΘΕΙΑ ΕΛΑΙΟΛΑΔΟΥ

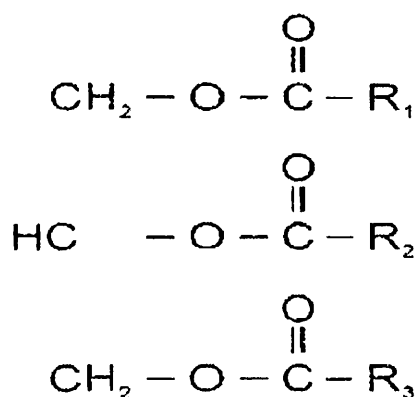
Η νοθεία του ελαιολάδου παίρνει ολοένα και μεγαλύτερες διαστάσεις. Ο λόγος, μα φυσικά η υψηλή διατροφική και υγιεινή του αξία και το υψηλό κόστος. Ο φυσικός αυτός φρουτοχυμός είναι ακριβότερος από οποιοδήποτε άλλο λάδι και πολύ συχνά νοθεύεται με σκοπό το παράνομο κέρδος. Η χρησιμοποίηση σπορελαίων είναι ο πιο συνηθισμένος τρόπος νοθείας του ελαιολάδου με την προσθήκη καλαμποκέλαιου, φυσικέλαιου, ηλιελαίου αλλά και σογιέλαιο και πυρυνέλαιο. Επιπλέον, το καστορέλαιο και το λαρδί, καθώς και άλλα ζωικά λίπη έχουν χρησιμοποιηθεί σε μικρές ποσότητες.

Ο καταναλωτής δεν μπορεί μακροσκοπικά να ανιχνεύσει την νοθεία, αν σκεφτούμε πόσο απλό είναι να παρουσιαστεί ένα ραφιναρισμένο ή μίγμα ραφιναρισμένου με παρθένο, ως παρθένο ελαιόλαδο. Η επιλογή τυποποιημένου και γνωστών ελαιουργικών εταιριών ελαιόλαδο, ενδείκνυται για την αποφυγή παραπλάνησης.

2.4 ΣΥΣΤΑΤΙΚΑ ΤΟΥ ΕΛΑΙΟΛΑΔΟΥ

Το ελαιόλαδο, όπως και κάθε λιπαρή ύλη, είναι κυρίως ένα μίγμα τριγλυκεριδίων (ουδέτερα λίπη). Είναι οργανικές χημικές ενώσεις, των οποίων το μόριο αποτελείται από ένα μόριο γλυκερόλης, ενωμένο με τρία μόρια ανώτερων λιπαρών οξέων. Στη σύνθεση των τριγλυκεριδίων χρησιμοποιούνται περίπου 50 διαφορετικά λιπαρά οξέα. Επειδή στο κάθε μόριο αυτών είναι δυνατό να περιέχονται τρία μόρια του ίδιου λιπαρού οξέος, είτε και δύο ή τρία μόρια διαφορετικών λιπαρών οξέων, οι δυνατοί συνδυασμοί είναι πάρα πολλοί,

άρα και τα είδη είναι εξίσου πολλά. Από τα 50 λιπαρά οξέα τα 16 είναι κορεσμένα, δηλαδή περιέχουν στο μόριό τους όλα τα άτομα υδρογόνου που είναι δυνατό να κρατάνε, ενώ τα υπόλοιπα χαρακτηρίζονται ως ακόρεστα γιατί από το μόριό τους λείπουν 2, 4 ή 6 άτομα υδρογόνου. Από την αναλογία των κορεσμένων και των ακόρεστων λιπαρών οξέων καθορίζεται και η θερμοκρασία κατά την οποία η κατάσταση του μεταβάλλεται από στερεή σε υγρή. Έτσι, τα διάφορα τριγλυκερίδια μπορεί να είναι στερεά στη συνήθη θερμοκρασία δωματίου, είναι δηλαδή λίπη, είτε να είναι υγρά, και αποκαλούνται έλαια.



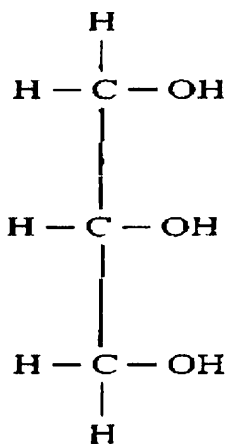
Εικόνα 2: Βασική δομή τριγλυκεριδίου (Ντζιαδήμας, 2013)

Η χρησιμότητα των λιπών και των ελαίων έχει να κάνει με τα εξής:

- ✓ Εξασφαλίζουν σημαντικό μέρος της απαιτούμενης ενέργειας. Κατά το μεταβολισμό 1g λίπους αποδίδει 9kcal, ενώ 1g υδατάνθρακα ή πρωτεΐνης αποδίδει 4kcal.
- ✓ Εξασφαλίζουν τα απαραίτητα λιπαρά οξέα, που δεν μπορεί να συνθέσει ο οργανισμός.
- ✓ Μεταφέρουν τις απαραίτητες λιποδιαλυτές βιταμίνες A,D,E,K.
- ✓ Συμβάλλουν στη διατήρηση της θερμοκρασίας του σώματος σε φυσιολογικά επίπεδα.

Το κύριο λιπαρό οξύ που βρίσκεται στο ελαιόλαδο είναι το ελαϊκό(C 18:1) σε ποσοστό 70-80%, ενώ το υπόλοιπο ποσοστό καλύπτεται από άλλα οξέα όπως το πολυακόρεστο λινελαϊκό(C 18:2) καθώς και από τα κορεσμένα παλμιτικό(C 16:0) και στεατικό(C 18:0). Το λινελαϊκό οξύ είναι πολύ χρήσιμο για τον οργανισμό και το ποσοστό του συναντάται τόσο στο ελαιόλαδο όσο και στο μητρικό γάλα. Το ελαιόλαδο είναι από τη φύση του μονοακόρεστο λάδι γιατί το ελαϊκό είναι κι αυτό μονοακόρεστο οξύ. Άλλα ακόρεστα λιπαρά οξέα που απαντούν στο ελαιόλαδο σε μικρές ποσότητες, είναι το λινολενικό(C 18:3), το αραχιδονικό(C 20:4) και το παλμιτελαϊκό(C 16:1). (Α. Κυριτσάκης, 2000).

Θεωρητικά στο ελαιόλαδο θα έπρεπε να υπάρχουν περισσότερα από 70 είδη τριγλυκεριδίων(TAG) σύμφωνα με τη σύστασή του σε λιπαρά οξέα. Παρόλα αυτά ο αριθμός των TAG που συναντάται είναι πολύ χαμηλότερος, καθώς ορισμένες δεν υπάρχουν και άλλες συναντώνται σε πολύ χαμηλά ποσοστά. Τα TAG που βρίσκονται σε μεγαλύτερες αναλογίες είναι τα OOO(40-59%), POO(12-20%), LOO(12,5-20%), και SOO(3-7%), όπου O:ελαϊκό, P:παλμιτικό,L: λινελαϊκό και S:στεατικό. Γενικά έχει διαπιστωθεί ότι στο ελαιόλαδο δεν απαντώνται TAG που έχουν και στα τρία υδροξύλια του μορίου της γλυκερόλης κορεσμένα λιπαρά οξέα. Συνήθως στη θέση 2 των TAG είναι συνδεδεμένα ακύλια μονό-και πολυακόρεστων λιπαρών οξέων και τα υπόλοιπα λιπαρά οξέα κατανέμονται στην τύχη στα υδροξύλια των θέσεων 1 και 3 του μορίου της γλυκερόλης.



Εικόνα 3: Δομή ενός μορίου γλυκερόλης

Η επιτροπή Codex Alimentarius, για τα λίπη και τα έλαια, καθιέρωσε τα ελάχιστα και τα μέγιστα όρια για τα βασικά λιπαρά οξέα του ελαιολάδου. Έτσι, για το ελαϊκό είναι από 56 έως 83%, για το παλμιτικό από 7 έως 20% και για το λινελαϊκό από 3 έως 20%. Με βάση τη σύσταση σε λιπαρά οξέα, ο Iverson (1965) και ο Gracian (1968), διέκριναν δύο τύπους ελαιολάδων. Ο ένας περιλαμβάνει ελαιόλαδα με χαμηλή περιεκτικότητα σε λινελαϊκό και παλμιτικό και υψηλή σε ελαϊκό, ενώ ο άλλος χαρακτηρίζεται από σχετικά υψηλή περιεκτικότητα σε λινελαϊκό και παλμιτικό και χαμηλότερη από τα καθορισμένα όρια σε ελαϊκό οξύ. Συμπερασματικά, μπορούμε να πούμε πως το μεγαλύτερο κλάσμα (98-99% του συνολικού βάρους του ελαίου) συστατικών, αντιστοιχεί στο *σαπωνοποιήσιμο* τμήμα και αποτελείται κυρίως από τριακυλογλυκερόλες (TGs).

Εκτός από τα τριγλυκερίδια, το ελαιόλαδο περιέχει μικρές ποσότητες και από άλλα συστατικά (ασαπωνοποίητα), που προέρχονται από τον ελαιόκαρπο ή σχηματίζονται κατά την παραλαβή του. Αυτά τα δευτερεύοντα συστατικά χωρίζονται σε δυο κατηγορίες. Η πρώτη περιλαμβάνει τα παράγωγα των λιπαρών οξέων, όπως μονο-και διακυλογλυκερίδια, φωσφολιπίδια, κηρούς και εστέρες στερολών. Η δεύτερη κατηγορία περιλαμβάνει ομάδες συστατικών που δε σχετίζονται χημικά με τα λιπαρά οξέα (υδρογονάνθρακες, αλειφατικές αλκοόλες, ελεύθερες στερόλες, τοκοφερόλες, χλωροφύλες, καροτενοειδή και πολικά φαινολικά συστατικά). Ορισμένα από τα συστατικά αυτά υπάρχουν μόνο στο παρθένο ελαιόλαδο, καθώς ο εξευγενισμός απομακρύνει τα φωσφατίδια και τις φαινόλες και προκαλεί σημαντικές ποιοτικές και ποσοτικές αλλαγές σε άλλα συστατικά. Η σύστασή τους επίσης εξαρτάται από τις συνθήκες ελαιοποίησης, ενώ δεν είναι σταθερή και κατά τη διάρκεια της αποθήκευσης.

Ο προσδιορισμός των ολικών δευτερευόντων συστατικών είναι πολύ δύσκολος, καθώς η φύση τους είναι περίπλοκη και η συγκέντρωσή τους χαμηλή. Ένας απλός τρόπος προσδιορισμού τους είναι η εύρεση του ασαπωνοποίητου μέρους, των συστατικών δηλαδή αυτών που μετά από σαπωνοποίηση παραμένουν μη πτητικά κάτω από τις συγκεκριμένες συνθήκες της μεθόδου.

Προσδιορίζονται έτσι συστατικά φυσικής προέλευσης, όπως στερόλες, χρωστικές κ.α. και ξένες οργανικές ουσίες που είναι μη πτητικές στους 103°C. Με τον τρόπο αυτό προσδιορισμού όμως δεν προσδιορίζονται άλλα δευτερεύοντα συστατικά που σαπωνοποιούνται, όπως φωσφατίδια και γλυκερίδια, ούτε φαινόλες που είναι υδατοδιαλυτές και απομακρύνονται, ενώ υπάρχουν και συστατικά, όπως στερόλες και λιπαρές αλκοόλες που συναντώνται και σε ελεύθερη και σε εστεροποιημένη μορφή. Παρ όλα αυτά, με τον προσδιορισμό του ασαπωνοποίητου μέρους, προσδιορίζεται το συνολικό ποσό των πιο σημαντικών μη γλυκεριδικών συστατικών, όπως οι στερόλες, οι υδρογονάνθρακες, οι λιπαρές αλκοόλες, η φυτόλη και οι χρωστικές.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3: ΑΣΑΠΩΝΟΠΟΙΗΤΑ ΣΥΣΤΑΤΙΚΑ ΕΛΑΙΟΛΑΔΟΥ

Η ποσότητα και η σύσταση του κλάσματος των ασαπωνοποιήτων συστατικών εξαρτώνται κατά κύριο λόγο από τον τρόπο με τον οποίο έχει γίνει η παραλαβή του. Ελαιόλαδο το οποίο παραλαμβάνεται με την εφαρμογή της υδραυλικής πίεσης, έχει χαμηλότερη περιεκτικότητα σε ασαπωνοποιήτα συστατικά, σε σύγκριση με ελαιόλαδο το οποίο παραλαμβάνεται με εκχύλιση. Το ασαπωνοποιήτο κλάσμα είναι ένα καθιερωμένο ποιοτικό κριτήριο και χρησιμοποιείται συχνά γιατί δίνει το συνολικό ποσό των πιο σημαντικών μη γλυκεριδικών συστατικών. (Fedeli, 1997).

3.1 ΥΔΡΟΓΟΝΑΝΘΡΑΚΕΣ

Στο ελαιόλαδο απαντώνται υδρογονάνθρακες που είναι εν μέρει κορεσμένοι και εν μέρει ακόρεστοι. Αυτοί είναι πιθανότατα παραπροϊόντα της βιοσύνθεσης των λιπαρών οξέων. Ο Fedeli το 1977 ταυτοποίησε και αρωματικούς υδρογονάνθρακες, όπως το ναφθαλίνιο και τα παράγωγά του στο κλάσμα των ασαπωνοποιήτων συστατικών του ελαιολάδου. Οι παραφίνες με έντεκα μέχρι τριάντα άτομα άνθρακα (C₁₁-C₃₀) καθώς και υδρογονάνθρακες με διακλαδισμένη αλυσίδα, αποτελούν επίσης συστατικά του κλάσματος αυτού. Ωστόσο, το κύριο συστατικό του κλάσματος των υδρογοναθράκων του ελαιολάδου, είναι ένας τριτερπενικός υδρογονάνθρακας (40% κατά βάρος) και ενδιάμεσο στάδιο της βιοσυνθετικής οδού της χοληστερόλης, το **σκουαλένιο**. (Τσιτσικλή, 2012).

Το έξτρα παρθένο ελαιόλαδο περιέχει σκουαλένιο σε ποσότητα περίπου 400-450mg/100gr, ενώ το ραφινρισμένο ελαιόλαδο περιέχει κατά 25% περίπου λιγότερο. Με υψηλή κατανάλωση έξτρα παρθένου ελαιολάδου η λήψη μπορεί να φτάσει 200-400mg ημερησίως, όπως ακριβώς παρατηρείται και στις μεσογειακές χώρες.

Εκτός από το σκουαλένιο, υπάρχουν και άλλοι υδρογονάνθρακες, όπως η προβιταμίνη A, το β-καροτένιο το οποίο και βρίσκεται σε πολύ μικρές

ποσότητες (0,03-0,36mg/100gr). Πολυκυκλικοί υδρογονάνθρακες όπως το πυρένιο, το χρυσένιο, το 1,2- βενζανθρακένιο κ.α., δικαιολογούν την παρουσία τους μόνο λόγω της ρύπανσης του περιβάλλοντο (Τσιτσικλή 2012).

3.2 ΚΑΡΟΤΕΝΟΕΙΔΗ

Ένα από τα κύρια καροτενοειδή που απαντούν στο ελαιόλαδο είναι η λουτεΐνη ($C_{40}H_{56}O_2$), στην οποία και οφείλεται ο κίτρινος χρωματισμός γιατί η λουτεΐνη ανήκει στις ξανθοφύλλες. Άλλα σημαντικά συστατικά είναι τα καροτένια α, β και γ, τα οποία θεωρούνται ακόρεστοι υδρογονάνθρακες που έχουν μοριακό τύπο $C_{40}H_{56}$. Συχνά περιγράφονται και σαν προβιταμίνες Α, εφόσον αυτή η συγκεκριμένη βιταμίνη είναι ένα προϊόν του μεταβολισμού των καροτενοειδών. Το επικρατέστερο όλων είναι το β- καροτένιο, που αποτελεί το 85% του συνόλου των καροτενοειδών, και ακολουθεί το α- καροτένιο με 15%.

Παρότι έχουν εντοπιστεί κοντά στα 600 είδη καροτενοειδών στη φύση μόνο 50 κατέχουν τη δραστικότητα της προβιταμίνης Α και περίπου 40 περιέχονται σε μια τυπική ανθρώπινη διαίτα, ενώ από αυτά μόνον 14 και ορισμένες μεταβολίτες τους έχουν ανιχνευθεί στο αίμα και τους ιστούς. Ένα κανονικό και ποικίλο φαγητό περιέχει 1000-4000mg καροτενοειδών την ημέρα.

Τα καροτενοειδή πιστεύεται ότι παίζουν ζωτικό ρόλο στην φυσιολογία του βασιλείου των φυτών, και τελικά εμπλέκονται με την φωτοσύνθεση, τη θεμελιώδη αντίδραση ζωής του ανθρώπου στον πλανήτη. Επιπλέον, υπάρχουν πολλές αποδείξεις ότι αυτές οι φυσικές χρωστικές έχουν διάφορες αντιοξειδωτικές λειτουργίες και παρουσιάζουν τεχνολογική και βιολογική δράση έναντι της οξείδωσης των λιπιδίων.

3.3 ΧΛΩΡΟΦΥΛΛΕΣ

Η χημική ένωση που ευθύνεται σε μεγαλύτερο βαθμό για την πράσινη απόχρωση του ελαιολάδου, είναι η χλωροφύλλη. Οι χλωροφύλλες α και β καθώς και τα προϊόντα οξείδωσής τους, φαιοφυτίνες α και β αντίστοιχα, βρίσκονται

στο ελαιόλαδο ως φυσικά συστατικά. Σύμφωνα με την Anpina, τα προϊόντα διάσπασης της φαιοφυτίνης α μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως δείκτες σταθερότητας ενός ελαιολάδου στην οξείδωση. Η χλωροφύλλη β διαφέρει από την α στο ότι έχει αλδεϋδική ομάδα (CHO) αντί μεθυλίου (CH₃) στο τρίτο άτομο άνθρακα.

Παράγοντες που μπορούν να επηρεάσουν την περιεκτικότητα αυτών των χρωστικών είναι η ποικιλία, ο βαθμός ωρίμανσης του ελαιόκαρπου, η μέθοδος εκχύλισης καθώς και άλλοι βιολογικοί και τεχνικοί παράγοντες. Επιπλέον, αποτελούν και παράγοντα στον οποίο οφείλεται η υποβάθμιση της ποιότητας του ελαιολάδου όταν αυτό έλθει σε επαφή με το φως.

Στο παρθένο ελαιόλαδο που προέρχεται από ώριμες ελιές, τα επίπεδα της χλωροφύλλης κυμαίνονται από 1 έως 10 mg/kg ενώ των φαιοφυτινών (α και β) από 0,2 μέχρι 24mg/kg. Με την πρόοδο της ωρίμανσης του ελαιοκάρπου καθώς και με τον χρόνο αποθήκευσης του ελαιολάδου, μειώνεται η περιεκτικότητα του ελαιολάδου σε χλωροφύλλες.

Το φως είναι ο μόνος παράγοντας που επηρεάζει πραγματικά τις χρωστικές αυτές. Σύμφωνα με τον Vasquez και τους συνεργάτες του, το ελαιόλαδο είναι πολύ ευαίσθητο στην ηλιακή ακτινοβολία που έχει μήκος κύματος 320 μέχρι 700 nm. Η ευαισθησία αυτή οφείλεται στις χλωροφύλλες α και β που περιέχει καθώς οι ενώσεις αυτές εμφανίζουν μέγιστο απορρόφησης στα 670 και 650 nm αντίστοιχα. (Τσιτσικλή, 2012).

Είναι αξιοσημείωτο ότι στο φως οι χλωροφύλλες και οι φαιοφυτίνες επιταχύνουν την οξείδωση των πλούσιων σε ακόρεστα λιπαρά οξέα ελαίων και ειδικότερα του ελαιολάδου, επειδή δρουν ως φωτο-ευαισθητοποιητές και ευνοούν το σχηματισμό οξυγόνου απλής κατάστασης, ενώ στο σκοτάδι παρουσιάζουν αντιοξειδωτική δράση (Α. Κυριτσάκης, 2007).

3.4 ΤΟΚΟΦΕΡΟΛΕΣ

Οι τοκοφερόλες είναι ετεροκυκλικές ενώσεις μεγάλου μοριακού βάρους και διαφέρουν μεταξύ τους ως προς τον αριθμό των μεθυλικών ομάδων που έχουν στο μόριό τους ή στη θέση στην οποία βρίσκονται οι ομάδες αυτές. Οι τοκοφερόλες έχουν ισχυρή αντιοξειδωτική δράση, κυρίως η α- τοκοφερόλη (βιταμίνη E), και μπορούν να λειτουργήσουν και σαν βιταμίνες των οποίων η ενέργεια αυξάνεται αντίθετα με την αντιοξειδωτική τους δράση, δηλαδή από την δ μορφή προς την α. Κατά μέσο όρο η ποσότητα που υπάρχει στο ελαιόλαδο είναι περίπου 12 έως 25 mg/100gr. Έχουν βρεθεί από κάποιους ερευνητές και ποσότητες της τάξεως του 24 έως 43 mg/100gr, γεγονός που σημαίνει ότι η ποσότητα των τοκοφερολών στο ελαιόλαδο δεν είναι σταθερή και εξαρτάται από ποικίλους παράγοντες, όπως η ποικιλία, η ωριμότητα του καρπού κ.α.

Η α- τοκοφερόλη αποτελεί το 88,5% των συνολικών τοκοφερολών στο ελαιόλαδο, η β και η γ τοκοφερόλη αποτελούν το 9,9% ενώ η δ- τοκοφερόλη το 1,6% του συνόλου. Ο προσδιορισμός της συγκέντρωσης των τοκοφερολών στο ελαιόλαδο είναι χρήσιμος και υπό προϋποθέσεις μπορεί να βοηθήσει στην ανίχνευση νοθείας του με άλλα φυτικά έλαια (Τσιτσικλή, 2012).

3.5 ΣΤΕΡΟΛΕΣ

Οι στερόλες είναι κυκλικές αλκοόλες μεγάλου μοριακού βάρους οι οποίες βρίσκονται σε όλες τις φυτικές λιπαρές ύλες, είτε ελεύθερες είτε δεσμευμένες με τη μορφή εστέρων με λιπαρά οξέα. Είναι διαλυτές στα λίπη, στα έλαια και στους μη πολικούς διαλύτες και αδιάλυτες στο νερό. Αποτελούν την κύρια τάξη των ασαπωνοποιήτων συστατικών των λιπαρών υλών, όταν δεν είναι δεσμευμένες.

Οι στερόλες είναι απαραίτητο συστατικό των κυτταρικών μεμβρανών και παράγονται τόσο από τα ζώα όσο και από τα φυτά. Ο στερολικός δακτύλιος είναι κοινό χαρακτηριστικό σε όλες τις στερόλες, ενώ διαφοροποιήσεις συναντώνται στην πλευρική αλυσίδα. Μέχρι στιγμής, έχουν αναγνωριστεί περισσότερες από 40 στερόλες, ενώ η συνολική ποσότητά τους στο ελαιόλαδο

κυμαίνεται μεταξύ 113-265 mg/100gr ελαιολάδου. Δύο παράγοντες που επηρεάζουν την ποσότητα αυτή είναι η καλλιεργούμενη ποικιλία και ο βαθμός ωριμότητας των ελαιόκαρπων. Η κύρια στερόλη που απαντάται στο ελαιόλαδο είναι η β-σιτοστερόλη, που αποτελεί το 90-95% των συνολικών στερολών, ενώ η καμπεστερόλη και η στιγμαστερόλη αποτελούν περίπου το 3 και 1% αντιστοίχως. Οι στανόλες είναι κορεσμένες στερόλες οι οποίες σχεδόν απουσιάζουν από τις τυπικές διατροφές (A. Κυριτσάκης, 2007).

3.6 ΦΑΙΝΟΛΙΚΑ ΣΥΣΤΑΤΙΚΑ

Τα φαινολικά συστατικά του ελαιολάδου και οι αντιδράσεις στις οποίες λαμβάνουν μέρος αυτά, σχετίζονται με τη γεύση, το άρωμα και το χρώμα του όπως επίσης και με την οξειδωτική του σταθερότητα. Οι συγκεντρώσεις των φαινολικών συστατικών που εμπεριέχονται στο ελαιόλαδο δεν είναι σταθερές αλλά αλλάζουν ανάλογα με το είδος του ελαιόλαδου, την επεξεργασία που έχει υποστεί ο ελαιόκαρπος ως τη δημιουργία του τελικού προϊόντος, από τις κλιματολογικές συνθήκες, το έδαφος κ.α. Τα τελευταία χρόνια μελέτες έχουν αναδείξει το σημαντικό βιολογικό ρόλο των φαινολικών ενώσεων του ελαιολάδου, καθώς έχει βρεθεί ότι αναστέλλουν την οξείδωση των ανθρώπινων λιποπρωτεϊνών (LDL), έχουν θετικές επιδράσεις απέναντι στην αθηροσκλήρωση, μειώνουν τις καρδιαγγειακές παθήσεις ενώ φαίνεται να έχουν θετική δράση απέναντι στον καρκίνο. Επίσης έχει βρεθεί ότι έχουν πολύ καλή αντιοξειδωτική δράση και εκεί έχει αποδοθεί η ικανότητά τους να αναστέλλουν τις παθήσεις που αναφέρθηκαν (Owen et al., 2000, Visioli et al., 1998 and 2004, Vissers et al., 2004).

Οι πολυφαινόλες (φαινολικές ενώσεις PP) είναι μια μεγάλη κατηγορία ενώσεων του φυτικού βασιλείου με ένα ή περισσότερα υδροξύλια συνδεδεμένα απ' ευθείας σε έναν ή περισσότερους αρωματικούς ή και ετεροκυκλικούς δακτυλίους. Αποτελούν προϊόντα του δευτερογενούς μεταβολισμού των φυτών, ενώ ήδη έχουν ταυτοποιηθεί περισσότερες από 8000 φαινολικές δομές

(Harborne. 1989). Στη διεθνή βιβλιογραφία έχει επικρατήσει με τον όρο «πολυφαινόλες» να νοείται «μια μεγάλη ομάδα ενώσεων με ένα ή περισσότερα υδροξύλια απ' ευθείας συνδεδεμένα σε έναν ή περισσότερους αρωματικούς δακτυλίους». Στην περίπτωση του παρθένου ελαιολάδου, οι πολυφαινόλες αναφέρονται κυρίως σε προϊόντα υδρόλυσης ελευρωπαϊνης και λιγκστροσίδης, άγλυκων και σχετικών ενώσεων. Με απλά λόγια, οι πολυφαινόλες είναι εκείνα τα αντιοξειδωτικά, που μαζί με τα μονοακόρεστα λιπαρά οξέα, προστατεύουν το ελαιόλαδο στις υψηλές θερμοκρασίες και παίζουν σημαντικό ρόλο στις ευεργετικές ιδιότητες του ελαιολάδου στην υγεία (Harborne, 1989).

Οι φαινολικές ενώσεις χωρίζονται στις απλές φαινολικές όπως βανιλικό, γαλλικό, κουμαρικό και καφεϊνικό οξύ, τυροσόλη και υδροξυτυροσόλη και στις πιο πολύπλοκες ενώσεις, όπως τα σεκοϊριδοειδή (λιγκστροσίδη, ελευρωπαϊνη), τα αντίστοιχα παράγωγα αποκαρβοξυλιωμένης διαλδεΐδης (ελαιασίνη και ελαιοκανθάλη) και στις λιγνάνες. Η ελαιοκανθάλη, η ελαιασίνη και δευτερευόντως τα άγλυκα της ελευρωπαϊνης και του λιγκστροσίδη είναι οι κυριότερες μορφές συζευγμένης τυροσόλης και υδροξυτυροσόλης στα ελληνικά ελαιόλαδα. Τα επίπεδα των φαινολικών ενώσεων φτάνουν τα 100-600 mg/kg ενώ περίπου το 50% αυτής της φαινολικής περιεκτικότητας αντιστοιχεί στην υδροξυτυροσόλη (HT) και τα παράγωγά της (Tripoli et al., 2005).

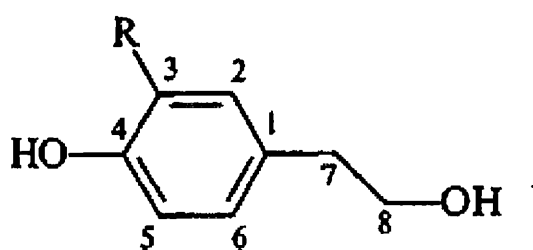
Οι απλές φαινόλες είναι άχρωμες στερεές ενώσεις όταν είναι καθαρές αλλά συνήθως οξειδώνονται και αποκτούν σκούρο χρώμα όταν εκτίθενται στον αέρα. Η ιδιότητά τους να διαλύονται στο νερό αυξάνεται ανάλογα με τον αριθμό των φαινολικών υδροξυλικών ομάδων που έχουν στο μόριό τους, αλλά η διαλυτότητά τους σε πολικούς οργανικούς διαλύτες είναι μεγαλύτερη (Τσιτσικλή, 2012).

Οι φαινόλες ως πολικές ενώσεις είναι κατά κανόνα υδατοδιαλυτές, ελάχιστα λιποδιαλυτές και παρουσιάζουν έντονη αντιοξειδωτική δράση. Λόγω της αντιοξειδωτικής τους δράσης συμβάλλουν στην παρεμπόδιση ή την επιβράδυνση της οξείδωσης των ελαίων. Η εισαγωγή στο μόριό τους δεύτερης ή τρίτης φαινολικής υδροξυλικής ομάδας αυξάνει σε μεγάλο βαθμό με την αντιοξειδωτική δράση. Στο ελαιόλαδο απαντούν φαινολικές ενώσεις οι οποίες

προέρχονται από τον ελαιόκαρπο, αλλά σε μικρό βαθμό και από τα φύλλα της ελιάς που πιθανόν να μην έχουν απομακρυνθεί στο αποφυλλωτήριο του ελαιουργείου και αλέθονται με τον καρπό.

Οι πολυφαινόλες αντιπροσωπεύουν τη μεγαλύτερη ομάδα φυτοχημικών ενώσεων που απαντώνται στα φυτά, είναι δευτερογενείς μεταβολίτες αυτών, οι οποίοι εμπλέκονται στην άμυνα κατά της υπερϊώδους ακτινοβολίας ή των επιθέσεων από παθογόνους οργανισμούς. Συνήθως οι πολυφαινόλες είναι περίπλοκα σύμπλοκα περισσοτέρων του ενός πολυφαινολικών μορίων, τα οποία προέρχονται από διμερισμό ή πολυμερισμό απλούστερων μορίων. (Τσακίρη, 2018).

Μεταξύ των ενώσεων που βρέθηκαν και μελετήθηκαν ιδιαίτερο ενδιαφέρον παρουσίασαν δύο ενώσεις που εμπεριέχονται σε μεγάλες συγκεντρώσεις στο ελαιόλαδο: η υδροξυτυροσόλη και η τυροσόλη. Οι ενώσεις αυτές έχουν παρόμοια δομή με τη διαφορά ότι η τυροσόλη υπολείπεται ένα υδροξύλιο στο φαινολικό της δακτύλιο.



R=H: Tyrosol

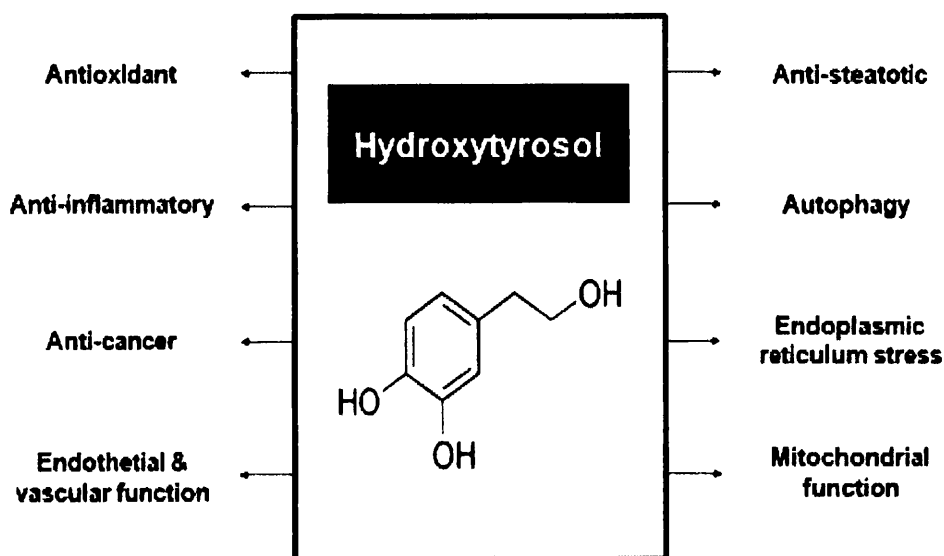
R=OH: Hydroxytyrosol

Σχήμα 1: Δομές των ενώσεων υδροξυτυροσόλη και τυροσόλη.

(Λ.Νούσης, 2007)

Η μέση κατανάλωση ελαιολάδου στις μεσογειακές χώρες υπολογίζεται περίπου στα 30-50 gr/ημέρα, ενώ η κατανάλωση από τις φαινόλες υπολογίζεται γύρω στα 9mg/ημέρα. Η υδροξυτυροσόλη έχει βρεθεί ότι βρίσκεται σε ποσότητα της τάξεως των 2,8mg, από τα συνολικά 9 που καταναλώνονται από τον άνθρωπο ημερησίως. Οι δύο ενώσεις φαίνεται να έχουν διαφορετικές ιδιότητες καθώς έχει αναφερθεί ότι η υδροξυτυροσόλη έχει ισχυρή αντιοξειδωτική δράση και ικανότητα να εκκαθαρίζει ελεύθερες ρίζες, να αναστέλλει την οξειδωση της LDL, τη συσσώρευση των αιμοπεταλίων, να αναστέλλει την 5- και την 12- λιποοξυγονάση και να προστατεύει τα κύτταρα από τη δράση οξειδωτικών παραγόντων (Manna et al., 1999).

Άλλες μελέτες έδειξαν ότι η υδροξυτυροσόλη μπορεί να αναστείλει την ενεργοποίηση διαφόρων μεταγραφικών παραγόντων όπως είναι ο nf-kb, ο stat-1a και ο irf, παράγοντες οι οποίοι ρυθμίζουν την έκφραση πολλών γονιδίων. Βρέθηκε επίσης ότι η υδροξυτυροσόλη μεταφέρεται στα κύτταρα παθητικά με δοσο- εξαρτώμενο τρόπο. Σε ανθρώπους έχει βρεθεί ότι περνάει στην κυκλοφορία του ανθρώπινου οργανισμού και αποβάλλεται μέσω των ούρων. Παρόλα αυτά οι ακριβείς μηχανισμοί δράσης της ένωσης αυτής δεν έχουν πλήρως εξακριβωθεί (Λ.Νούσης,2007). Οι βιολογικές δράσεις της υδροξυτυροσόλης φαίνονται στην παρακάτω εικόνα:



Εικόνα 4: Βιολογικές δράσεις υδροξυτυροσόλης (Τσακίρη, 2018)

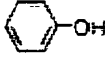

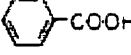
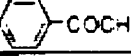
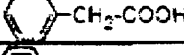
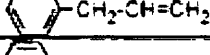
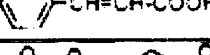

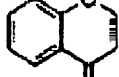
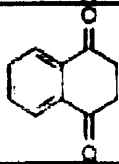
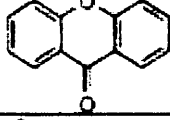
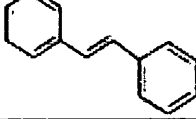
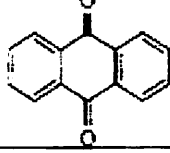
Εκτός από τις δύο αυτές φαινολικές ενώσεις, στο ελαιόλαδο έχουν ανιχνευθεί και φαινολικά οξέα όπως το καφεϊνικό, το πρωτοκατεχικό, το βαννιλικό, το κουμαρικό και το γαλλικό. Ακόμη έχουν ανιχνευθεί πιο πολύπλοκα μόρια όπως λιγνάνες (4,15mg/100g στο έξτρα παρθένο και 0,73mg/100g στο ραφινέ αντίστοιχα) και φλαβονοειδή, όπως για παράδειγμα απιγετίνη ή λουτεολίνη. Τόσο η τυροσόλη όσο και η υδροξυτυροσόλη πιστεύεται ότι προέρχονται από την υδρόλυση διαφόρων σεκοϊριδοειδών όπως είναι η ελευρωπαϊνή και ο γλιγστροζίτης (2,8mg/100g στο έξτρα παρθένο και 0,93mg/100g στο ραφινέ αντίστοιχα) (Τσιτσικλή, 2012).

Το περιεχόμενο του λαδιού σε φαινολικές ενώσεις εξαρτάται από την καλλιεργούμενη ποικιλία και την ωριμότητα του καρπού κατά το χρόνο συγκομιδής. Έτσι, η συγκέντρωση υδροξυτυροσόλης, τυροσόλης και λουτεολίνης αυξάνεται καθώς ωριμάζει ο καρπός, ενώ η συνολική ποσότητα φαινολικών ενώσεων και α-τοκοφερόλης μειώνεται με την ωριμότητα (Κυριτσάκης, 2007). Τόσο η υδροξυτυροσόλη όσο και η τυροσόλη και τα παράγωγά τους με την αλδεϋδική και διαλδεϋδική μορφή του ελενολικού οξέος είναι αυτά που παρέχουν σημαντική σταθερότητα στα παρθένα ελαιόλαδα κατά την αποθήκευσή τους στο σκοτάδι. Μάλιστα, η υψηλή αντιοξειδωτική σταθερότητα των παρθένων ελαιολάδων σε σύγκριση με άλλα έλαια οφείλεται στην υψηλή συγκέντρωση ελαϊκού οξέος και τη χαμηλή περιεκτικότητα των τριγλυκεριδίων σε πολυακόρεστα λιπαρά οξέα, καθώς και στα επίπεδα των φαινολικών συστατικών με αντιοξειδωτική δράση. Η απομάκρυνση των πρωτεϊνών και των πολυσακχαριτών, που είναι υδατοδιαλυτές ενώσεις, συνοδεύεται και από την απομάκρυνση του μεγαλύτερου μέρους των φαινολικών συστατικών με τα απόνερα, κατά την επεξεργασία του ελαιόκαρπου στο ελαιουργείο. Επομένως συνιστάται λογική χρήση του νερού στο ελαιουργείο ώστε να παραμένουν ποσότητες φαινολών και στο ελαιόλαδο. Η παρουσία των τελευταίων ενισχύει σημαντικά την αντοχή του ελαιολάδου στην οξείδωση. Όπως φαίνεται, φαινόλες (πολυφαινόλες) είναι από τα σημαντικότερα συστατικά του μη σαπωνοποιήσιμου κλάσματος του ελαιολάδου. Τα μη σαπωνοποιήσιμα συστατικά μειώνονται κατά τον χρόνο αποθήκευσης του ελαιολάδου. Ιδιαίτερη μείωση παρατηρείται στα καρτενοειδή και στις

συνολικές φαινόλες μετά από 12 μήνες αποθήκευσης. Από τις φαινολικές ενώσεις οι πιο σταθερές είναι οι λιγνίνες (Κυριτσάκης,1985).

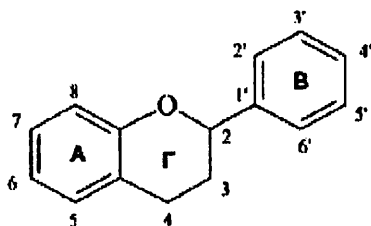
Επίσης, έχει βρεθεί ότι ελαιόλαδα που είχαν παραληφθεί με μηχανικά μέσα (εφαρμογή υδραυλικής πίεσης ή φυγοκέντρισης) παρουσίασαν μικρότερη αντοχή στην οξείδωση από ότι ελαιόλαδα που η παραλαβή τους είχε γίνει με την χρήση διαλύτη, εξαιτίας της μεγαλύτερης περιεκτικότητας των τελευταίων σε ολικές φαινόλες σε επίπεδα 50-157mg/kg, ενώ αυτά που είχαν παραληφθεί με εκχύλιση περιείχαν ολικές φαινόλες 321-574mg/kg. Ελαιόλαδο το οποίο παραλήφθηκε με φυγοκέντρωση βρέθηκε να περιέχει ολικές φαινόλες σε συγκέντρωση 120mg/kg. (Σπανός, 2013).

Γενικά οι πολυφαινόλες διακρίνονται σε τουλάχιστον 10 κατηγορίες, ανάλογα με τη βασική χημική δομή τους. Μία από τις σημαντικότερες κατηγορίες είναι και αυτή των φλαβονοειδών, η οποία διακρίνεται περαιτέρω σε 13 υποκατηγορίες διαθέτοντας επί συνόλου περισσότερα από 5000 μέλη. Οι κυριότερες τάξεις πολυφαινολικών ενώσεων δίνονται στον πίνακα:

Απλές οαινόλες		Τυροσόλη, υδροξυτυροσόλη
Βενζοκινόνες		
Φαινολικά οξέα		Γαλλικό, συριγγικό, βανιλλικό (αλδεύδες)
Ακετοφαινόλες		Λιγότερο συχνά στα ουτά
Φαινολικά οξέα		
Φαινολοπροπανοειδή		
(Υδροξυ)κινναμωμικά οξέα		Φερουλικό, καφεϊκό, σιλικό, κουμαρικό
Κουμαρίνες, Ισοκουμαρίνες		Συνήθως ως γλυκοζίτες
Χρωμόνες		
Ναφθοκινόνες		
Ξανθόνες		
Στιβένιο		
Ανθρακινόνες		Εμοδίνη κλπ
Φλαβονοειδή		
Λιγόνες, νεολιγόνες, λιγνίνες		

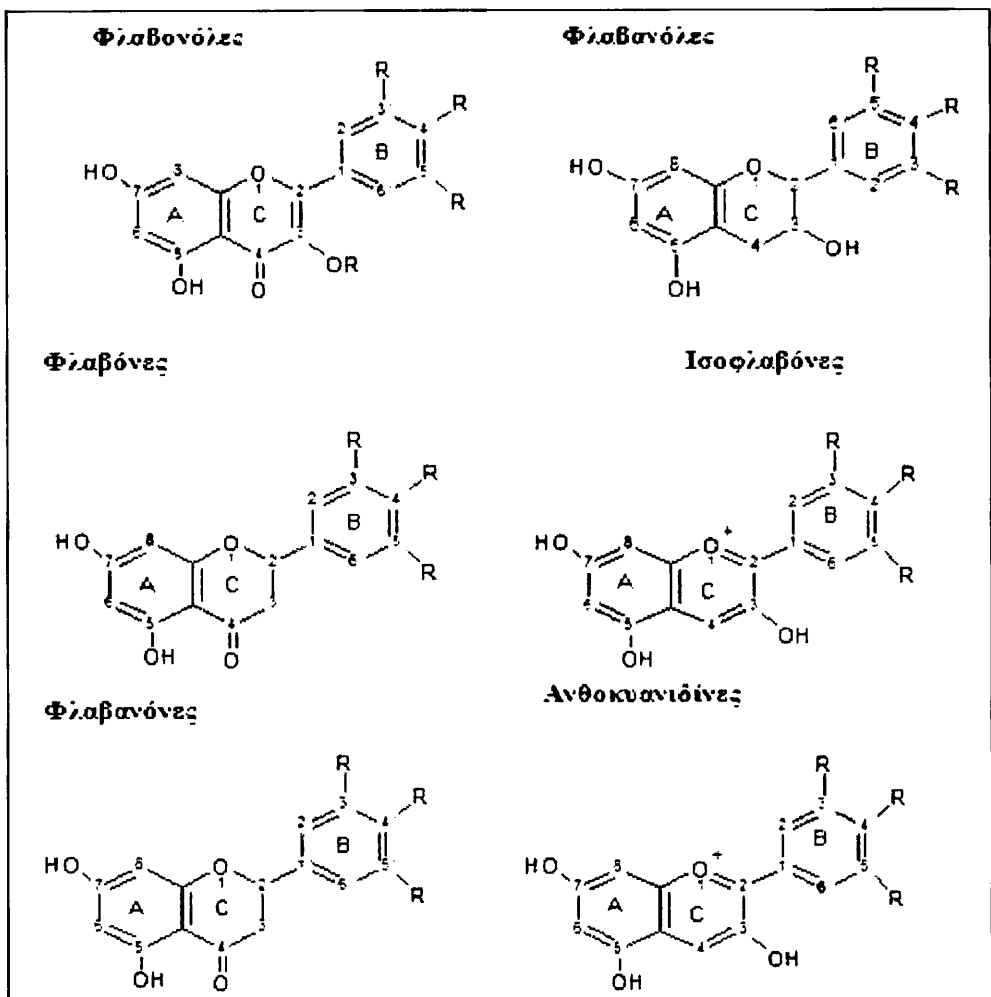
Πίνακας 1: Κυριότερες τάξεις πολυφαινολών. (Καραγκίνη, 2015)

Τα φλαβονοειδή είναι ευρέως διαδεδομένα στη φύση και περιλαμβάνουν φλαβονόλες, φλαβόνες, φλαβανόνες, κατεχίνες και χαλκόνες. Η γενική δομή και η κατάταξή τους φαίνεται παρακάτω:



Εικόνα 5: Βασική δομή και σύστημα αρίθμησης των φλαβονοειδών.

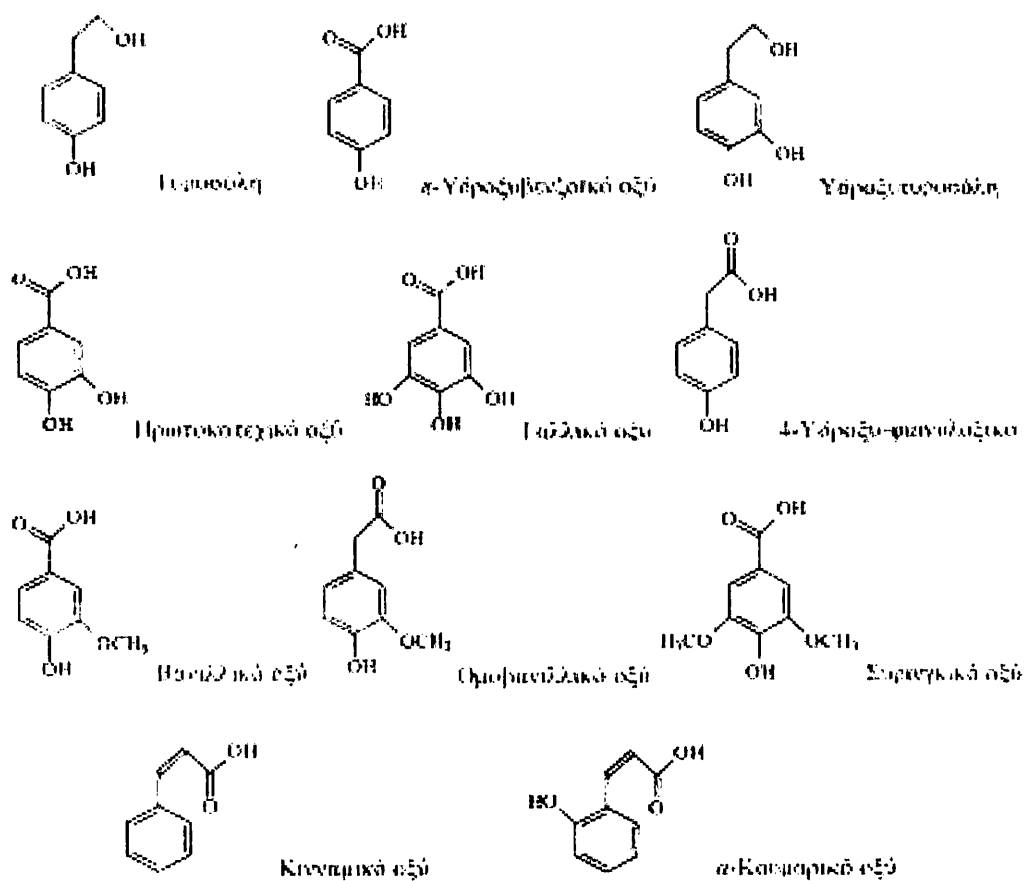
(Καραγκίνη, 2015)



Εικόνα 6: Χημικές δομές φλαβονοειδών. R: θέσεις σύνδεσης υδροξυλομάδων ή άλλων πλευρικών ομάδων ((Καραγκίνη, 2015)

Τα φλαβονοειδή έχουν σχετικά μικρά μοριακά βάρη και είναι γενικά ευδιάλυτα, ανάλογα με την πολικότητα και τη χημική τους δομή (βαθμός υδροξυλίωσης, γλυκοζυλίωσης, ακυλίωσης, κ.λ.π.). Οι διαφορές μεταξύ των επιμέρους τάξεων συνίσταται στο δακτύλιο πυρόνης (παρουσία ή απουσία διπλού δεσμού ή 3υδροξυ ή 2-οξο ομάδων) και στον αριθμό υδροξυλίων στους δακτυλίους A και B. μεταξύ αυτών η φλαβόνη λουτεολίνη και φλαβόνη κερκετίνη, είναι οι πιο κοινές ενώσεις. Οι φλαβόνες συναντώνται ως O-γλυκοζίτες και C- γλυκοζίτες. (Vinson, 1998).

Η δομή των σημαντικότερων πολυφαινολών του ελαιολάδου φαίνεται στο παρακάτω σχήμα:



Εικόνα 7: Οι κυριότερες πολυφαινόλες του ελαιολάδου.

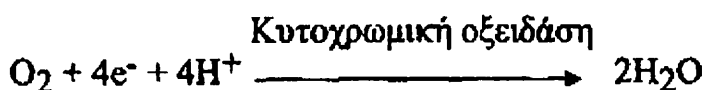
(Ντζιαδήμας, 2013)

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4: ΟΞΥΓΟΝΟ ΚΑΙ ΥΓΕΙΑ

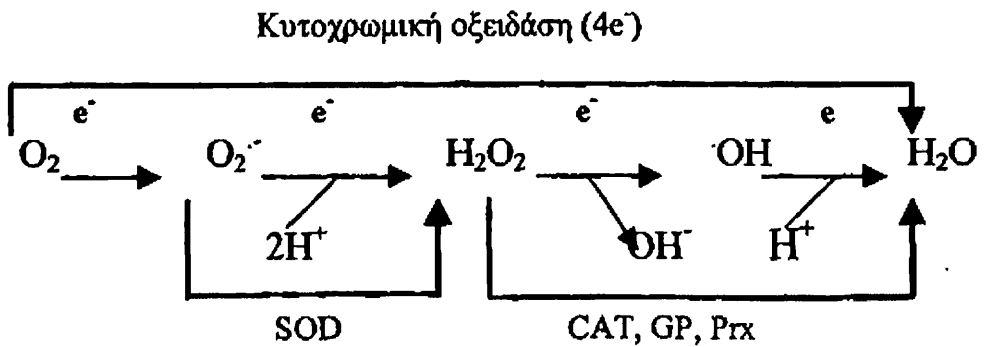
4.1 ΤΟ ΠΑΡΑΔΟΞΟ ΤΟΥ ΟΞΥΓΟΝΟΥ

Η συσσώρευση του οξυγόνου στην ατμόσφαιρα επέτρεψε την εξέλιξη ενός πολύ μεγάλου αριθμού αερόβιων οργανισμών, οι οποίοι χρησιμοποιούν το οξυγόνο ως τον τελικό δέκτη των ηλεκτρονίων στην αναπνευστική αλυσίδα, παράγοντας ένα μεγάλο ποσοστό ενέργειας. Ο ρυθμός πορείας της εξέλιξης από τις αναερόβιες προς τις αερόβιες συνθήκες, έδωσε την ευκαιρία σε ορισμένες μορφές ζωής να προσαρμοσθούν εκφράζοντας ειδικά αντιοξειδωτικά συστήματα, τα οποία προστάτευαν από τις τοξικές επιδράσεις του O₂. Το μοριακό οξυγόνο είναι σχετικά ανενεργό, η ικανότητά του όμως να δέχεται μονά ηλεκτρόνια το καθιστούν τον σημαντικότερο παράγοντα δημιουργίας ελευθέρων ριζών στις αερόβιες μορφές ζωής. Η κατάσταση αυτή έχει ονομαστεί το παράδοξο του οξυγόνου (Λ.Νούσης, 2007).

Οι αερόβιοι οργανισμοί χρησιμοποίησαν το O₂ σαν τον τελικό αποδέκτη των ηλεκτρονίων τα οποία προέρχονται από οξειδωτικές διαδικασίες του καταβολισμού. Η διαδικασία αυτή οδηγεί στην αναγωγή του O₂ σε δύο μόρια νερού με την πρόσληψη 4 ηλεκτρονίων. Η αντίδραση αυτή καταλύεται από το ένζυμο κυτοχρωμική οξειδάση. Το ένζυμο αυτό παίρνει μέρος στις αντιδράσεις του τελευταίου συμπλόκου στην ακολουθία των πρωτεϊνών της αναπνευστικής αλυσίδας.



Κατά τη διάρκεια των αντιδράσεων αυτών το 90% του O_2 καταναλώνεται από τους οργανισμούς για τη δημιουργία ενέργειας, το 10-15% καταναλώνεται από τις αντιδράσεις που καταλύουν οι υδροξυλάσες, οι οξειδάσες και οι μονοξυγονάσες ενώ ένα ποσοστό της τάξεως του 2% ανάγεται ακόμα και κάτω από φυσιολογικές συνθήκες με διαδοχικά μονά ηλεκτρόνια



Σχήμα 2: Διαδοχικά βήματα αναγωγής του οξυγόνου σε νερό με μονά ηλεκτρόνια. Οι συντμήσεις SOD, CAT, GP, Prx, συμβολίζουν τα ένζυμα δισμουτάση του σουπεροξειδίου, καταλάση, περοξειδάση της γλουταθειόνης, και περοξειρεδοζίνη αντίστοιχα. (Λ. Νούσης, 2007)

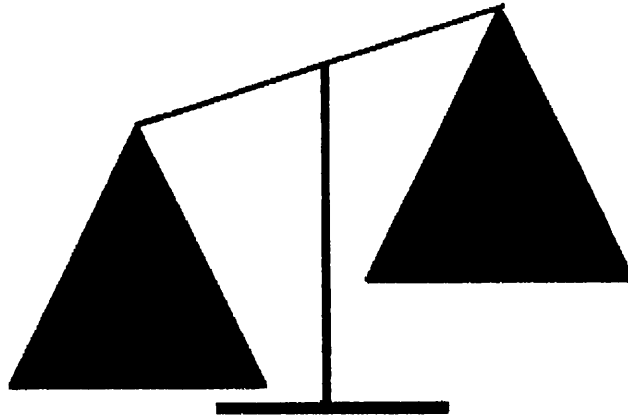
Σύμφωνα με το παραπάνω σχήμα, το O_2 ανάγεται με ένα ηλεκτρόνιο σχηματίζοντας το ανιόν του σουπεροξειδίου ($O_2^{\cdot-}$). Αναγωγή με ένα ακόμη e^- οδηγεί στη δημιουργία του υπεροξειδίου του υδρογόνου (H_2O_2), ενώ η περεταίρω αναγωγή του H_2O_2 στη δημιουργία της ιδιαίτερα δραστικής ρίζας του υδροξυλίου ($\cdot OH$), ενώσεις οι οποίες θεωρούνται κανονικά προϊόντα της καθημερινής αερόβιας ζωής. Όταν όμως η παραγωγή των ελευθέρων ριζών αυξάνεται στους οργανισμούς, τότε πιστεύεται ότι οδηγούν στη δημιουργία διαφόρων παθολογικών καταστάσεων. Οι δραστικές μορφές οξυγόνου (ΔΜΟ – Reactive Oxygen Species, ROS) φαίνονται στον παρακάτω πίνακα:

ΔΡΑΣΤΙΚΕΣ ΜΟΡΦΕΣ ΟΞΥΓΟΝΟΥ	
<u>(Radicals) Ρίζες</u>	<u>(Non-radicals) μη ρίζες</u>
Ανιόν Σουπεροξειδίου ($O_2^{\cdot-}$)	Υπεροξειδίο Υδρογόνου (H_2O_2)
Ρίζα Υδροξυλίου (OH^{\cdot})	Υποχλωριώδες Οξύ ($HOCl$)
Ρίζα Υπεροξειδίου (RO_2^{\cdot})	Υποβρωμιώδες Οξύ $HOBr$
Ρίζα Αλκοξειδίου (RO^{\cdot})	Όζον (O_3)
Ρίζα Υδροϋπεροξειδίου (HO_2^{\cdot})	Μονήρες Οξυγόνο (1O_2)

Πίνακας 2: Δραστικές μορφές οξυγόνου (ΔΜΟ) (Τσακίρη, 2018).

Οι ΔΜΟ δημιουργούνται συνέχεια στα κύτταρα ακόμη και κάτω από φυσιολογικές συνθήκες και απομακρύνονται συνεχώς από αυτά με αμυντικούς μηχανισμούς που έχουν αναπτύξει, κυρίως μέσω ενζύμων, με αποτέλεσμα η συγκέντρωσή τους να βρίσκεται συνεχώς σε μία ισορροπία (οξειδοαναγωγική ισορροπία). Σε περίπτωση που αυτή η ισορροπία διαταραχθεί προς όφελος των οξειδωτικών παραγόντων, προκαλείται μια κατάσταση που είναι γνωστή ως « οξειδωτικό στρες ». Οι επιπτώσεις του οξειδωτικού στρες εξαρτώνται από την έκταση των διαταραχών. Το κύτταρο είναι ικανό να ανακτήσει την αρχική του κατάσταση μετά από περιορισμένη οξειδωτική βλάβη. Σοβαρότερες διαταραχές, ωστόσο οδηγούν στον κυτταρικό θάνατο, είτε με τη διαδικασία της απόπτωσης, είτε με άμεση κυτταρική νέκρωση (Τσακίρη, 2018).

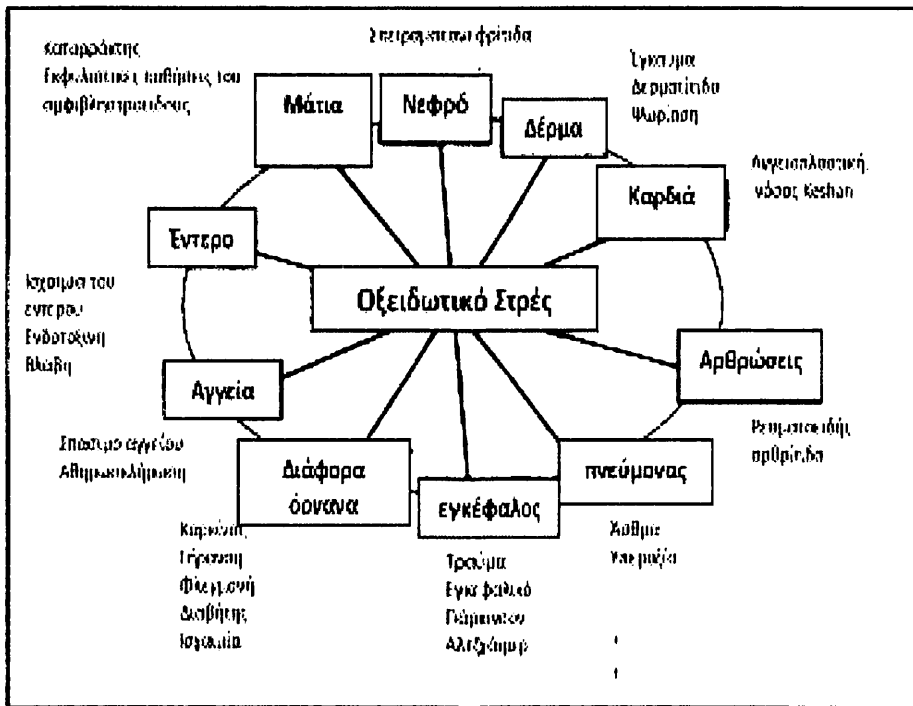
OXIDATIVE STRESS



Εικόνα 8: Οξειδωτικό στρες (Τσιλφόγλου, 2016).

Ασθένειες που είναι άμεσα συνδεδεμένες με τα αυξημένα επίπεδα του οξειδωτικού στρες είναι:

- Καρκίνος
- Αρτηριακή πίεση
- Αρτηριοσκλήρωση
- Έμφραγμα του μυοκαρδίου
- Ρευματικά νοσήματα
- Νόσος Alzheimer
- Νόσος Parkinson
- Διαβήτης
- Αλλεργίες
- Ελκώδης κολίτιδα
- Φλεγμονές
- Λοιμώξεις
- Υπογονιμότητα
- Ηπατοπάθειες

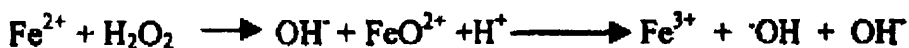


Εικόνα 9: Επίδραση ελευθέρων ριζών στην υγεία (Τσιλφόλγου, 2016).

4.2 ΕΛΕΥΘΕΡΕΣ ΡΙΖΕΣ

Τα μόρια γενικά αποτελούνται από έναν ή περισσότερους ατομικούς πυρήνες, οι οποίοι περιβάλλονται από ηλεκτρόνια τα οποία περιφέρονται γύρω από τον πυρήνα. Τα ηλεκτρόνια είναι διευθετημένα σε έναν αριθμό τροχιακών, τα οποία βρίσκονται σε διαφορετικές αποστάσεις από τον πυρήνα. Στα περισσότερα μόρια τα ηλεκτρόνια που βρίσκονται σε κάθε τροχιακό ζευγαρώνουν με ένα άλλο ηλεκτρόνιο. Τα δύο ηλεκτρόνια κάθε ζεύγους περιστρέφονται γύρω από τον εαυτό τους (spin) σε αντίθετες κατευθύνσεις. Τα ζευγαρωμένα ηλεκτρόνια διατηρούν το μόριο σχετικά σταθερό, σε μικρότερη ενεργειακή κατάσταση, και ως εκ τούτου λιγότερο δραστικό. Όταν ένα ή περισσότερα ηλεκτρόνια, ιδιαίτερα αυτά που βρίσκονται στα εξωτερικά τροχιακά του ατόμου, είναι ασύζευκτα τότε το μόριο γίνεται ασταθές, σε μεγαλύτερη ενεργειακή κατάσταση, και συνεπώς πιο δραστικό από άλλα μόρια.

Ένα ασύζευκτο ηλεκτρόνιο έχει τεράστια έλξη σε αυτά των γειτονικών ατόμων με αποτέλεσμα την πρόκληση χημικών αντιδράσεων, κατά τις οποίες έχουμε μεταφορά ηλεκτρονίων (οξειδοαναγωγικές αντιδράσεις-redox). Κατά την οξείδωση έχουμε απώλεια ηλεκτρονίων, ενώ κατά την αναγωγή έχουμε απόκτηση ηλεκτρονίων από ένα άτομο. Ένα άτομο ή μόριο με ένα ή περισσότερα ασύζευκτα ηλεκτρόνια και ανεξάρτητη παρουσία λέγεται ελεύθερη ρίζα και συμμετέχει πολύ εύκολα σε αντιδράσεις οξειδοαναγωγής με γειτονικά μόρια. Κατά τις αντιδράσεις αυτές όχι μόνο μεταβάλλονται σημαντικά τα γειτονικά μόρια στόχοι, αλλά μερικές φορές μεταβιβάζονται τα ασύζευκτα ηλεκτρόνια από στόχο σε στόχο, δημιουργώντας έτσι μια δεύτερη, τρίτη κ.λ.π. ελεύθερη ρίζα υπό μορφή αλυσιδωτής αντίδρασης (Σωτηρούδης, IBEB). Η πιο γνωστή οξειδοαναγωγική αντίδραση είναι η αντίδραση Fenton. Πραγματοποιείται όταν το υπεροξείδιο του υδρογόνου (H_2O_2) προσλαμβάνει ένα ηλεκτρόνιο από το δισθενή σίδηρο (Fe^{2+}) δίνοντας έτσι τις πολύ δραστικές ρίζες του υδροξυλίου ($OH\cdot$):



Σχήμα 3: Η αντίδραση Fenton (Λ. Νούσης, 2007).

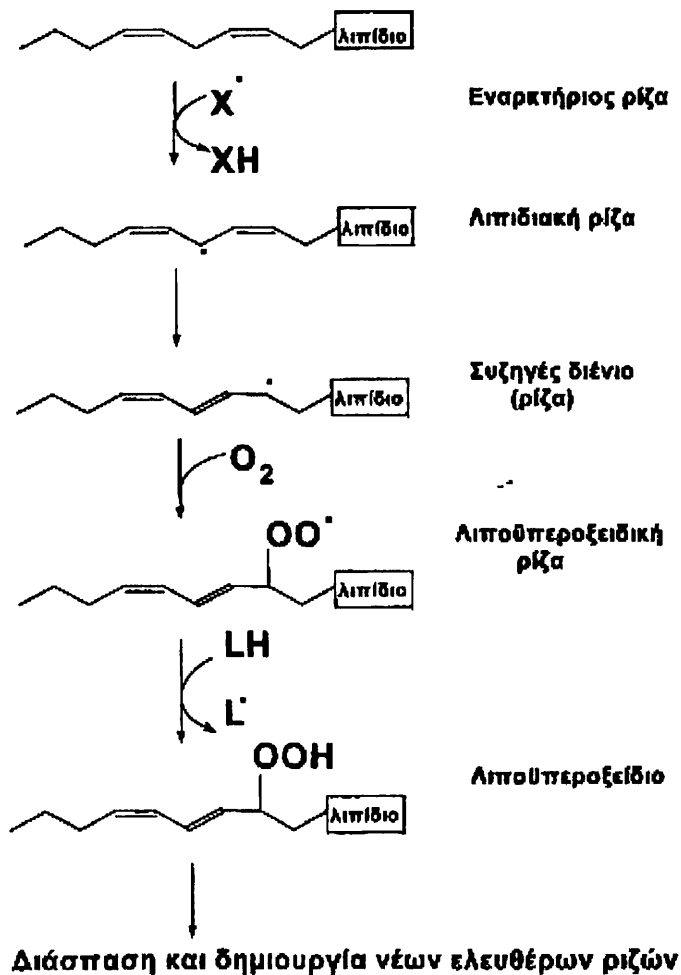
Οι ρίζες του υδροξυλίου αντιδρούν σχεδόν με όλα τα οργανικά μόρια που θα βρεθούν δίπλα τους όταν σχηματίζονται. Έτσι μπορούν να αντιδράσουν με πρωτεΐνες, λιπίδια καθώς και με το DNA των κυττάρων, καθιστώντας αυτές υπεύθυνες για μεταλλάξεις αλλά και τον κυτταρικό θάνατο. (Valko et al., 2005).

Ελεύθερες ρίζες δημιουργούνται στον οργανισμό μας είτε από φυσιολογικές διαδικασίες του είτε από εξωτερικές πηγές. Οι κυριότερες από τις φυσιολογικές διαδικασίες παραγωγής ελευθέρων ριζών περιλαμβάνουν:

- Την παραγωγή ελευθέρων ριζών σουπεροξειδίου, ως παραπροϊόν ή χημικό ατύχημα κατά τη λειτουργία της αναπνευστικής αλυσίδας των μιτοχονδρίων των κυττάρων. Έτσι, ορισμένα ηλεκτρόνια ξεφεύγουν από τα μόρια που μεταφέρουν τα ηλεκτρόνια στην αναπνευστική αλυσίδα και περνούν στο οξυγόνο ανάγοντάς το σε σουπεροξείδιο.
- Τη φυσιολογική δράση οξειδωτικών ενζύμων όπως, οι λιποξυγονάσες, οι κυκλοξυγονάσες, οι υπεροξειδάσες και οι αφυδρογονάσες κατά την οποία παράγονται ελεύθερες ρίζες ως παραπροϊόντα των ενζυμικών αντιδράσεων.
- Την παραγωγή ελευθέρων ριζών υδροξυλίου, οι οποίες είναι και οι πλέον δραστικές, με χημικές αντιδράσεις παρουσία μεταλλικών ιόντων.
- Την παραγωγή ελευθέρων ριζών ως μέρος της λειτουργίας του ανοσοποιητικού συστήματος. Ορισμένα κύτταρα παράγουν ελεύθερες ρίζες για να εξουδετερώσουν βακτήρια εισβολείς. Σε περιπτώσεις που η διαδικασία αυτή είναι εκτός ελέγχου, όπως συμβαίνει με τις αυτοάνοσες ασθένειες, μερικές ελεύθερες ρίζες που παράγονται προκαλούν βλάβες στα ίδια μας τα κύτταρα.

Μερικοί εξωτερικοί παράγοντες, όταν έρθουν σε επαφή με το σώμα μας, μπορούν επίσης να προκαλέσουν την παραγωγή ελευθέρων ριζών όπως: ο καπνός του τσιγάρου, οι ακτίνες -Χ, η υπεριώδης ακτινοβολία, διάφορες χημικές ενώσεις και φάρμακα καθώς επίσης το νέφος της ατμοσφαιρικής ρύπανσης (όζον, νιτροξειδία).

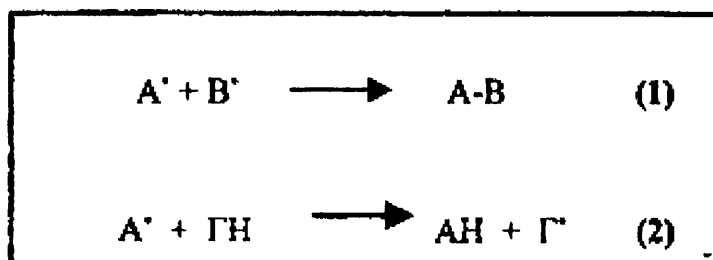
Από τους πλέον γνωστούς μηχανισμούς αντίδρασης των ελευθέρων ριζών και κυρίως των ·OH με κυτταρικά συστατικά, είναι αυτός με τα πολυακόρεστα λιπαρά οξέα, το οποία συνδεδεμένα στα φωσφολιπίδια σχηματίζουν τις κυτταρικές μεμβράνες. Η αντίδραση αυτή ονομάζεται “λιπιδιακή υπεροξειδωση” και παρατηρείται όταν η δημιουργία ελευθέρων ριζών υπερισχύει των κυτταρικών αμυντικών μηχανισμών. Η έναρξη μπορεί να προκληθεί από μια ελεύθερη ρίζα η οποία είναι ικανή να αποσπάσει ένα άτομο υδρογόνου από ένα λιπαρό οξύ. Η αντίδραση αυτή ενισχύεται από την ύπαρξη διπλών δεσμών στα λιπαρά οξέα καθώς η ισχύς του δεσμού του H με τον αντίστοιχο άνθρακα εξασθενεί σημαντικά. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα την αφαίρεση ενός H από μεθυλομάδες μεταξύ δύο διπλών δεσμών (-CH=CH-CH₂-CH=CH-) δημιουργώντας μία νέα ελεύθερη ρίζα στο αντίστοιχο άτομο άνθρακα. Η ρίζα του λιπαρού οξέος, ανασυνδυάζεται γρήγορα με ηλεκτρόνια από τους διπλανούς διπλούς δεσμούς σχηματίζοντας συζυγή διένια (αλληλουχία διπλού-μονού-διπλού δεσμού) αλλά και μια νέα ελεύθερη ρίζα στο αντίστοιχο άτομο άνθρακα. Η νέα ρίζα είναι σχετικά σταθερότερη και προλαβαίνει να αντιδράσει με το μοριακό οξυγόνο δημιουργώντας μία ρίζα υπεροξειδίου, η οποία με τη σειρά της μπορεί να αποσπάσει ένα άτομο υδρογόνου από ένα άλλο πολυακόρεστο λιπαρό οξύ δημιουργώντας μία νέα ελεύθερη ρίζα και ένα υπεροξείδιο του λιπαρού οξέος. Τα αποτελέσματα των αντιδράσεων αυτών είναι επιβλαβή στις διάφορες μεμβράνες, οδηγώντας ακόμη και στον κυτταρικό θάνατο. Η λιπιδιακή υπεροξειδωση φαίνεται στο σχήμα που ακολουθεί:



Σχήμα 4: Λιπιδική υπεροξείδωση (Λ.Νούσης, 2007).

Μετά από την αντίδραση μιας ελεύθερης ρίζας με ένα μόριο μη-ελεύθερη ρίζα, τουλάχιστον ένα από τα προϊόντα της αντίδρασης είναι εκ νέου ελεύθερη ρίζα (λόγω της αφαίρεσης ενός ηλεκτρονίου από ένα ζεύγος ηλεκτρονίων). Η νέα ρίζα αντιδρά περαιτέρω με την σειρά της σχηματίζοντας νέες ελεύθερες ρίζες. Έτσι, οι αλυσιδωτές αυτές αντιδράσεις αν δεν ανασταλούν με κάποιο τρόπο, έχουν σαν αποτέλεσμα την πλήρη καταστροφή του βιολογικού υλικού. Γνωστοί τρόποι αναστολής της δράσης τους είναι:

- Δύο μόρια-ελεύθερες ρίζες αντιδρούν μεταξύ τους συνεισφέροντας από ένα ηλεκτρόνιο η κάθε μία και σχηματίζοντας ομοιοπολικό δεσμό.
- Η ελεύθερη ρίζα (A·) αντιδρά με ένα άλλο μόριο Γ σχηματίζοντας μία νέα ελεύθερη ρίζα (Γ·). σε αυτήν την περίπτωση όμως η ελεύθερη ρίζα της ένωσης Γ είναι μία από τις εξαιρέσεις οι οποίες δεν είναι δραστικές και έτσι διακόπτεται η ακολουθία των αντιδράσεων. Οι πιθανότητες για την περίπτωση (1) είναι εξαιρετικά μειωμένες λόγω του ότι τα A· και B· είναι πολύ δραστικά μόρια και κατά συνέπεια η συγκέντρωσή τους δεν είναι ποτέ τόσο υψηλή, ενώ υπεύθυνες για την αντιμετώπιση των ελευθέρων ριζών είναι οι αντιδράσεις του τύπου (2).



Οι ενώσεις τύπου Γ ονομάζονται αντιοξειδωτικές ή εκκαθαριστικές ελευθέρων ριζών καθώς έχουν την ιδιότητα να τερματίζουν τις αντιδράσεις που δημιουργούν προϊόντα επιβλαβή για την βιωσιμότητα και σωστή λειτουργία των κυττάρων. Τέτοιες ενώσεις βρίσκονται σε αφθονία στη φύση, όπως η α-τοκοφερόλη και το ασκορβικό οξύ, οι οποίες έχουν την ικανότητα να σχηματίζουν ανενεργές ρίζες οι οποίες δεν είναι επιβλαβείς για τα κυτταρικά συστατικά.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5: ΔΡΑΣΤΙΚΕΣ ΜΟΡΦΕΣ ΟΞΥΓΟΝΟΥ

5.1 ΕΞΟΥΔΕΤΕΡΩΣΗ ΔΜΟ ΣΤΟΝ ΟΡΓΑΝΙΣΜΟ - ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΑ

Σε κάθε ζωντανό οργανισμό που θέλει να λέγεται υγιής, θα πρέπει να διατηρείται η ισορροπία μεταξύ του σχηματισμού και της απομάκρυνσης των ΔΜΟ. Έχει υπολογισθεί ότι περίπου 10.000 ελεύθερες ρίζες βομβαρδίζουν κάθε κύτταρό μας. Οι συνεχώς αυξανόμενες οξειδώσεις που υφίστανται τα κύτταρά μας από τις ΔΜΟ (οξειδωτικό στρες), έχουν αναγκάσει τον οργανισμό μας να αναπτύξει αμυντικούς μηχανισμούς, στους οποίους παίρνουν μέρος αντιοξειδωτικές ουσίες. Γενικά χαρακτηρίζουμε ως αντιοξειδωτική κάθε ουσία η οποία βρίσκεται σε μικρές συγκεντρώσεις σε σύγκριση με το υπόστρωμα που οξειδώνεται και η οποία καθυστερεί σημαντικά ή αποτρέπει την οξείδωση του υποστρώματος αυτού. Τα αντιοξειδωτικά λειτουργούν με δύο τρόπους: είτε παρεμποδίζουν τη δημιουργία ΔΜΟ, είτε σταματούν τη διάδοση των ελευθέρων ριζών που προκαλείται από τις αλυσιδωτές αντιδράσεις.

Πολλές φορές η παρουσία κάποιου αντιοξειδωτικού (όπως η βιταμίνη C) μπορεί να συμβάλλει στη διατήρηση της αντιοξειδωτικής δράσης κάποιου άλλου, όπως της τοκοφερόλης. Στην περίπτωση αυτή έχουμε συνεργατική δράση των δύο αντιοξειδωτικών και λέμε ότι η βιταμίνη C έχει συν-αντιοξειδωτική δράση. Τα αντιοξειδωτικά διαφοροποιούνται ανάλογα με την προέλευσή τους και τη χημική τους σύσταση. Υπάρχουν λοιπόν ενδογενείς αντιοξειδωτικές ουσίες και αντιοξειδωτικά τα οποία προσλαμβάνει ο οργανισμός μας με την τροφή.

Τα ενδογενή αντιοξειδωτικά διακρίνονται σε ουσίες μεγάλου μοριακού βάρους και μικρού μοριακού βάρους. Στην πρώτη κατηγορία περιλαμβάνονται ένζυμα, όπως η δισμουτάση του υεροξειδίου, η καταλάση, η υπεροξειδάση της γλουταθειόνης, η παραοξονάση και το πρωτεάσωμα, τα οποία ελαττώνουν τη δημιουργία των ΔΜΟ μέσω της απομάκρυνσης δυνητικών οξειδωτικών ή μετατρέποντας ΔΜΟ σε σχετικά σταθερές χημικές ενώσεις. Στην κατηγορία αυτή περιλαμβάνονται επίσης διάφορες πρωτεΐνες του πλάσματος (αίμα), όπως η αλβουμίνη, η σερουλοπλασμίνη, η τρανσφερίνη και η ατογλοβίνη, οι οποίες

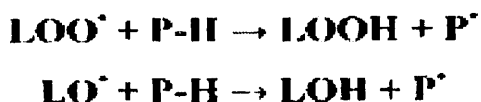
δεσμεύουν μεταλλικά ιόντα και ως εκ τούτου περιορίζουν τη δημιουργία ελευθέρων ριζών μέσω αντιδράσεων που καταλύονται από μέταλλα.

Τα μικρού μοριακού βάρους ενδογενή αντιοξειδωτικά υποδιαιρούνται περαιτέρω σε λιποδιαλυτά αντιοξειδωτικά μικρά χημικά μόρια, όπως η τοκοφερόλη (βιταμίνη Ε), τα καροτενοειδή, η χολερυθρίνη, ορισμένες κινόνες και πολυφαινόλες και σε υδατοδιαλυτά μόρια, όπως το ασκορβικό οξύ (βιταμίνη C), το ουρικό οξύ και ορισμένες πολυφαινόλες. (Σωτηρούδης, IBEE).

Τα κυριότερα αντιοξειδωτικά της διατροφής, και συγκεκριμένα του παρθένου ελαιολάδου, αποτελούν λιποδιαλυτές και υδατοδιαλυτές φυτικές ενώσεις, όπως η τοκοφερόλη, το β-καροτένιο, το λυκοπένιο, η βιταμίνη C, η λουτεΐνη και φιάφορες πολυφαινόλες (φλαβονοειδή και άλλες ενώσεις). Έχοντας μιλήσει πιο πάνω για τις ευεργετικές ιδιότητες όλων αυτών των ενώσεων σαν αντιοξειδωτικά, έγινε κατανοητό ότι το μεγαλύτερο και πιο σημαντικό κομμάτι έχει να κάνει με τις πολυφαινολικές ενώσεις. Στη συνέχεια θα αναλύσουμε το πώς δρουν αυτές οι ενώσεις και τη σημασία τους για την υγεία του ανθρώπου.

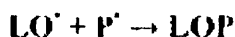
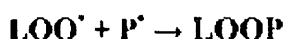
5.2 ΔΡΑΣΗ ΤΩΝ ΠΟΛΥΦΑΙΝΟΛΩΝ ΚΑΙ Η ΣΗΜΑΣΙΑ ΤΟΥΣ ΓΙΑ ΤΗΝ ΥΓΕΙΑ

Η προστατευτική δράση των πολυφαινολών αποδίδεται στην αντιοξειδωτική τους δράση ως δεσμευτές ελευθέρων ριζών ή ως αποδομητές των αλυσίδωτων οξειδωτικών αντιδράσεων, κυρίως όσων έχουν ορθο-διφαινολική, κατεχολική σύνταξη στο μόριό τους. Τα φαινολικά αντιοξειδωτικά (P-H) είναι άριστοι δότες υδρογόνου ή ηλεκτρονίου σε ρίζες λιπιδίων ($\text{LOO}\cdot$, $\text{LO}\cdot$), όπως φαίνεται και στο σχήμα (Shahidi and Wanasundra, 1992):



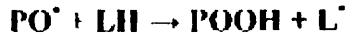
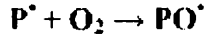
Σχήμα 5: Ανταλλαγή υδρογόνου ή ηλεκτρονίου με ρίζες λιπιδίων (Αναστασίου, 2012).

Οι φαινόξυ-ρίζες (P.) που σχηματίζονται είναι σχετικά σταθερές και δύσκολα επιτρέπουν τη συνέχιση της αλυσωτής αντίδρασης. Συγκεκριμένα, η φαινόξυ-ρίζα σταθεροποιείται με διασπορά των ασύζευκτων ηλεκτρονίων μέσω συντονισμού. Επίσης, οι φαινόξυ-ρίζες έχουν τη δυνατότητα να τερματίζουν τις αλυσωτές αντιδράσεις αντιδρώντας με άλλες ελεύθερες ρίζες, όπως φαίνεται στο σχήμα:



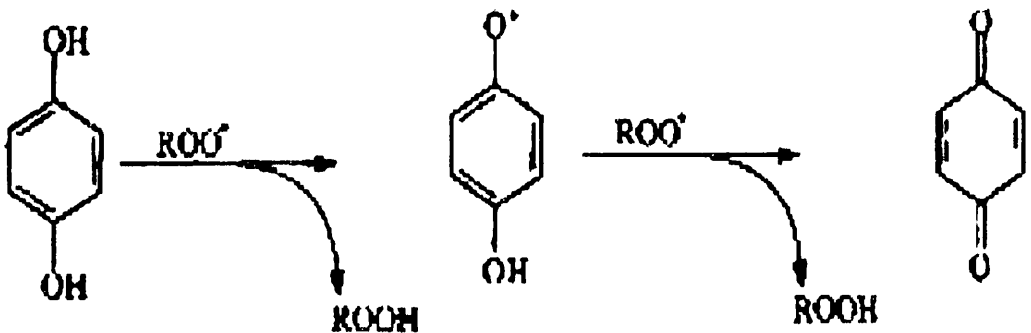
Σχήμα 6: Τερματισμός αλυσιδωτών αντιδράσεων (Αναστασίου, 2012).

Επιπρόσθετα, όσο πιο ασθενής είναι ο δεσμός P-H, τόσο αυξάνεται η αποτελεσματικότητα των πολυφαινολών ως αντιοξειδωτικά. Ενώ η φαινόλη είναι αδρανής ως αντιοξειδωτικό, τα ορθο- και παρα- διφαινολικά παράγωγα έχουν αντιοξειδωτική ικανότητα, η οποία αυξάνεται με την υποκατάσταση ατόμων H⁺ με αιθυλο-ή n-βουτυλοομάδες λόγω αύξησης της ηλεκτρονικής πυκνότητας του OH μέσω του επαγωγικού φαινομένου. Η σταθερότητα της φαινοξυ-ρίζας αυξάνεται με την παρουσία μεγάλων ομάδων στην ορθο-θέση, κι έτσι μειώνεται η ταχύτητα αντιδράσεων διάδοσης (Bravo, 1998):



Σχήμα 7: Δράση πολυφαινολών και μείωση ταχύτητας αντιδράσεων διάδοσης (Αναστασίου, 2012).

Η εισαγωγή μιας δεύτερης υδροξύ-ομάδας στην ορθο- ή παρα- θέση μιας φαινόλης αυξάνει την αντιοξειδωτική ικανότητά της. Η δραστηριότητα ενός 1,2-διυδροξύ-βενζοϊκού παραγώγου αυξάνεται με την σταθεροποίηση της φαινόξυ-ρίζας μέσω ενός ενδομοριακού υδρογονικού δεσμού. Η αντιοξειδωτική δράση διυδροξυβενζοϊκών παραγώγων αποδίδεται σ' ένα βαθμό στο γεγονός ότι η αρχικά σχηματιζόμενη ρίζα ημικινόνης μπορεί να οξειδωθεί περαιτέρω προς κινόνη, αντιδρώντας με μια δεύτερη λιπιδική ρίζα, όπως φαίνεται στο σχήμα:



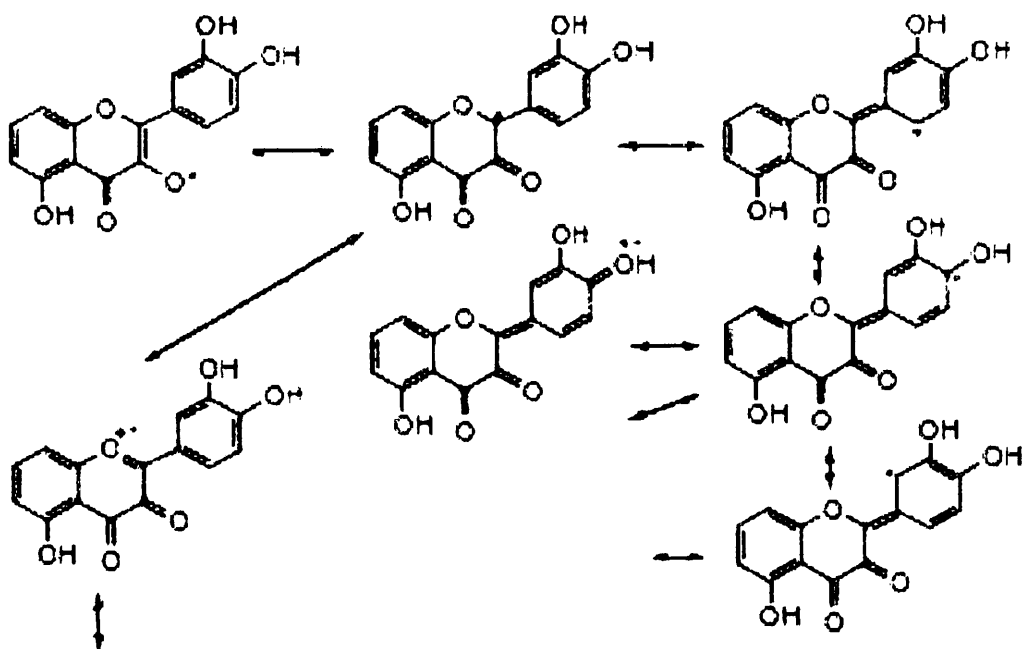
Σχήμα 8: Οξείδωση ρίζας ημικινόνης σε κινόνη (Αναστασίου, 2012).

Η ορθο-διφαινολική δομή ορισμένων φαινυλαλκοολών, φαινυλοξέων και φλαβονοειδών τους προσδίδει αντίστοιχα πολύ ισχυρή αντιοξειδωτική δράση. Χαρακτηριστικό παράδειγμα, η υδροξυτυροσόλη, μία ο-διφαινολική ένωση που θεωρείται ισχυρό αντιοξειδωτικό στο ελαιόλαδο (Deiana et al., 1999).

Τα φλαβονοειδή είναι από τα πιο δραστικά αντιοξειδωτικά, γιατί έχουν ένα ή και περισσότερα από τα ακόλουθα δομικά στοιχεία:

- I. Δομή όρθο-κατεχόλης (όρθο-διφαινολική ομάδα στο Β δακτύλιο)
- II. 2-3 συζυγιακό διπλό δεσμό με 4-οξο λειτουργική ομάδα και
- III. Ομάδες υδροξυλίου σε θέσεις 3,5 (Ratty and Das, 1988).

Έτσι, η κερκετίνη λόγω αυτής της δομής αναμένεται ισχυρότερο αντιοξειδωτικό από την κατεχίνη ή άλλες φλαβονόλες. Στην παρακάτω εικόνα παρουσιάζονται μερικές δομές συντονισμού που σταθεροποιούν τη ρίζα των φλαβονοειδών:



Εικόνα 10: Μερικές δομές συντονισμού που σταθεροποιούν τη ρίζα των φλαβονοειδών (Αναστασίου, 2012)

Ο βαθμός υδροξυλίωσης των φλαβονοειδών επηρεάζει την αντιοξειδωτική τους δράση, η οποία μειώνεται από την παρουσία σακχάρου στο μόριο. Έτσι, ενώ π.χ. κάποιοι γλυκοζίτες δεν είναι αντιοξειδωτικές ενώσεις, οι αντίστοιχες γλυκόνες μπορεί να είναι. Σε μια μελέτη βρέθηκε ότι οι πολυμερείς προανθοκυανιδίνες και υψηλού μοριακού βάρους υδρολυόμενες ταννίνες (μη εκχυλιζόμενες πολυφαινόλες), είναι 15 έως 30 φορές ισχυρότερα αντιοξειδωτικά από τα διαλυτά φαινολικά συστατικά, στα οποία αποδίδεται παραδοσιακά η αντιοξειδωτική δράση. Η αντιοξειδωτική δράση για παράδειγμα των ισομερών της κατεχίνης, είναι τουλάχιστον διπλάσια από αυτή της βιταμίνης E (Rice and Evans, 1996).

Η αντιοξειδωτική δράση των πολυφαινολών εκτιμάται με διαφορετικές τεχνικές που στηρίζονται σε διαφορετικούς μηχανισμούς, αφού οι πολυφαινόλες δρουν ως αντιοξειδωτικά μέσω διαφόρων μηχανισμών. Οι συνηθέστερες από αυτές τις τεχνικές είναι:

- I. Εκτίμηση της βλάβης του DNA υπό συνθήκες οξειδωτικού στρες
- II. Εκτίμηση της βλάβης πρωτεϊνών
- III. Εκτίμηση της οξείδωσης λιπιδίων (TBARS)
- IV. Δέσμευση ελευθέρων ριζών ($O_2\cdot$, $OH\cdot$, NO , ABTS., DPPH).
- V. Μέτρηση επιπέδων αντιοξειδωτικών ενζύμων (καταλάση, υπεροξειδική δισμουτάση), ουρικού οξέος και βιταμινών E και β-καροτένιο.

5.3 ΔΕΥΤΕΡΟΤΑΓΗ ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΑ

Τα δευτεροταγή αντιοξειδωτικά είναι ενώσεις οι οποίες από μόνες τους έχουν ασήμαντη αντιοξειδωτική δράση, όταν όμως συνδυάζονται με τα κύρια αντιοξειδωτικά τότε αυξάνεται αποτελεσματικά η δράση τους. Πιστεύεται ότι ορισμένα από αυτά συμβάλλουν στην αναγωγή της οξειδωμένης ανενεργούς

μορφής των πρωτογενών αντιοξειδωτικών προς την ενεργό μορφή. Κάποια άλλα συμβάλλουν στην παρεμπόδιση της διάσπασης των υπεροξειδίων, γεγονός που συντελεί στον περιορισμό της παρουσίας των ελευθέρων ριζών στο λιπαρό υπόστρωμα και διευκολύνεται έτσι το έργο του πρωτοταγούς αντιοξειδωτικού.

Ο χαλκός και ο σίδηρος είναι τα πιο συχνά εμφανιζόμενα μέταλλα στα έλαια. Τα δευτερογενή αντιοξειδωτικά δεσμεύουν τα μεταλλικά ιόντα που δρουν ως καταλύτες στις αντιδράσεις της οξείδωσης. Τα σημαντικότερα δευτεροταγή αντιοξειδωτικά είναι το κιτρικό και το φωσφορικό οξύ.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 6: ΕΥΕΡΓΕΤΙΚΕΣ ΙΔΙΟΤΗΤΕΣ ΕΛΑΙΟΛΑΔΟΥ

6.1 ΠΕΨΗ ΛΙΠΙΔΙΩΝ ΚΑΙ ΑΦΟΜΟΙΩΣΗ ΑΠΟ ΤΟΝ ΟΡΓΑΝΙΣΜΟ

Όταν τα λίπη έλθουν σε επαφή με το βλεννογόνο του δωδεκαδακτύλου, προκαλούν την απελευθέρωση μιας ορμόνης γνωστή ως *χολοκυστοκίνη-παγκρεοζυμίνη*, η οποία με τη σειρά της προκαλεί την εκκένωση της χοληδόχου κύστεως και την έκκριση του παγκρεατικού υγρού. Όταν εισέλθει στο έντερο, η χολή γαλακτωματοποιεί τα λιπίδια ώστε να μπορέσουν να δράσουν οι παγκρεατικές λιπάσες και να γίνει διάσπαση των λιπιδίων, τα οποία με τη σειρά τους απορροφώνται από τον βλεννογόνο του εντέρου. Τα λιπίδια δεν διασπώνται στο στομάχι, αλλά επηρεάζουν τη λειτουργία του μειώνοντας το μυϊκό τόνο του σφικτήρα που χωρίζει το στομάχι από τον οισοφάγο, παρατείνοντας έτσι το χρόνο εκκενώσεώς του και μειώνοντας την έκκριση υδροχλωρικού οξέος. Έρευνα του Geller έδειξε ότι μετά από ενστάλλαξη 2ml ελαιόλαδου από σωλήνα στο στομάχι, η περιεκτικότητα του δωδεκαδακτύλου σε παγκρεατικό ένζυμο, είναι ίση με αυτήν που επιτυγχάνεται μετά από ενδοφλέβια χορήγηση 0,5 μονάδων παγκρεοζυμίνης. Το ελαιόλαδο φαίνεται να βοηθά στη σύνθεση της χολής, αφού παρατηρείται αύξηση της συγκέντρωσης της χολής στη χοληδόχο κύστη μετά τη χορήγηση ελαιόλαδου, γεγονός που φαίνεται ότι διευκολύνει την παγκρεατική λιπάση στην λιπολυτική της δράση (Διεθνές Συμβούλιο Ελαιολάδου, Ελαιόλαδο και Υγεία). Η αφομοίωση του ελαιόλαδου από τον οργανισμό είναι πολύ μεγάλη και είναι από τα τρόφιμα που παραμένουν περισσότερο στο στομάχι δημιουργώντας έτσι το αίσθημα του κορεσμού. Διάφορες μελέτες έδειξαν ότι ο βαθμός αφομοίωσης του λαδιού μπορεί να φτάσει και το 98%, γεγονός που διευκολύνει και την απορρόφηση των λιποδιαλυτών βιταμινών οι οποίες περιέχονται σε αυτό. Η αφομοίωση του ελαιόλαδου φαίνεται στον πίνακα:

Ελαιόλαδο	93,4
Σογιέλαιο	91,2
Λινέλαιο	82,9
Σησαμέλαιο	74,6
Κοκόλιπος	72,4

Πίνακας 3: Αφομοίωση ελαιολάδου και άλλων λιπαρών υλών
(Τσιτσικλή, 2012).

Γενικά οι καλές πεπτικές ιδιότητες του ελαιολάδου αποδίδονται στην εξισορροπημένη χημική του σύνθεση και στις καλές οργανοληπτικές του ιδιότητες. Αφομοιώνεται από τον ανθρώπινο οργανισμό σε βαθμό ο οποίος θεωρείται ιδανικός. Η σύνθεσή του σε λιπαρά οξέα, η ιδιότητα του να διευκολύνει τις εκκρίσεις της χολής και η παρουσία ορισμένων συστατικών όπως η χλωροφύλλη, βοηθούν στην αύξηση των εκκρίσεων του πεπτικού σωλήνα διευκολύνοντας παράλληλα και στην πέψη και άλλων τροφών.

6.2 ΚΑΡΚΙΝΟΣ

Πολυάριθμες μελέτες σε ζώα έχουν δείξει ότι οι πολυφαινόλες του ελαιολάδου μπορούν να έχουν αντικαρκινικές ιδιότητες καταδεικνύοντας ότι υπάρχει αντίστροφη σχέση μεταξύ της κατανάλωσης ελαιολάδου και των διαφόρων μορφών καρκίνου. Οι διάφορες μελέτες κατέδειξαν ότι υπάρχει προστατευτική δράση του ελαιολάδου απέναντι στην καρκινογένεση που προκαλείται από χημικά προϊόντα, όπως διμεθυλοβενζενο-ανθρακένιο, που προκαλεί όγκους στους μαστούς και αζιξυμεθάνιο που προκαλεί καρκίνωμα του παχέος εντέρου. Το ελαιόλαδο είναι επίσης προστατευτικό απέναντι στην εμφάνιση του καρκίνου του δέρματος που προκαλείται από την υπεριώδη ακτινοβολία. Έχει

6.4 ΗΠΑΤΙΚΗ ΝΟΣΟΣ

Πολυάριθμες μελέτες έχουν δείξει ότι μια διατροφή πλούσια σε ελαιόλαδο, μειώνει τη συσσώρευση των τριγλυκεριδίων στο ήπαρ, βελτιώνει την μεταγευματική τριγλυκεριδαίμια, τη γλυκόζη και τη γλυκαγόνη, την ινσουλινοανθεκτικότητα και την έκκριση του μεταφορέα-2 γλυκόζης (GLUT2) που εκφράζεται στο ήπαρ. Οι πολυφαινόλες λοιπόν του ελαιολάδου προστατεύουν τον οργανισμό από τους κινδύνους που έχουν οι ασθενείς να προχωρήσουν σε ίνωση και σε κίρρωση του ήπατος (Assy, et. al., 2009).

6.5 ΠΑΙΔΙΚΗ ΗΛΙΚΙΑ

Τα νεογνά και τα βρέφη έχουν ανάγκη από τα απαραίτητα λιπαρά οξέα για την ομαλή ανάπτυξή τους. Η χαμηλή πρόσληψη πολυακόρεστων λιπαρών οξέων μπορεί να προκαλέσει μείωση στο ρυθμό ανάπτυξης. Πάντως, ενώ τα βρέφη που θηλάζουν προσλαμβάνουν το 8-10% των θερμίδων από τα πολυακόρεστα λιπαρά, τα βρέφη που διατρέφονται με αγελαδινό γάλα, παίρνουν το 1,5-2% των θερμίδων από πολυακόρεστα. Ενώ τα σπορέλαια έχουν την ευεργετική ικανότητα να μειώνουν τα επίπεδα χοληστερόλης στους ενήλικες στα βρέφη δεν επιτρέπεται η κατανάλωσή τους γιατί αυτή τη χρονική περίοδο η σύνθεση χοληστερόλης είναι απαραίτητη για τη δόμηση των κυτταρικών μεμβρανών. Όταν το βρέφος προσλαμβάνει υψηλές ποσότητες ω-6 και χαμηλές ω-3 πολυακόρεστων λιπαρών οξέων, υπάρχει κίνδυνος αυξημένου ρυθμού οξειδώσεων. Η αναλογία μεταξύ κορεσμένων, μονοακόρεστων και πολυακόρεστων λιπαρών οξέων που θα πρέπει να τηρείται στα βρέφη είναι 4:3:1. Επιπλέον, η αναλογία λινελαϊκού με το α-λινολενικό οξύ πρέπει να βρίσκεται σε ισορροπία για την ομαλή ανάπτυξη ιδιαίτερα του κεντρικού και του περιφερικού νευρικού συστήματος. Είναι χαρακτηριστικό ότι ο λόγος μεταξύ αυτών των δύο οξέων είναι παρόμοιος στο μητρικό γάλα και στο ελαιόλαδο (περίπου 10:1) αλλά πολύ διαφορετικός με το αγελαδινό γάλα, το οποίο περιέχει ίχνη μόνο α-λινολενικού οξέος (www.nutrition.med.uoc.gr/drstiriotes/oil.gr).

Έχει δειχθεί ότι συμβαίνουν μετατροπές στα δομικά λιπίδια του εγκεφάλου και του ήπατος σε ζώα που διατράφηκαν με δίαιτες πλούσιες σε ηλιανθέλαιο, αλλά δεν παρατηρήθηκε όταν διατράφηκαν με δίαιτες πλούσιες σε ελαιόλαδο. Το ελαιόλαδο επομένως προσδίδει ικανοποιητικά απαραίτητα λιπαρά οξέα για την ανάπτυξη του νεογνού και ότι ο λόγος ω-6:ω-3 στο ελαιόλαδο είναι παρόμοιος με αυτόν του μητρικού γάλακτος (Τσιτσικλή, 2012).

Στον πίνακα που ακολουθεί βλέπουμε την ποσοστιαία σύσταση διαφόρων εδώδιμων ελαίων και του μητρικού γάλακτος σε λιπαρά οξέα:

Τρόφιμο	Κορεσμένα	Ελαϊκό	Λινελαϊκό	α-λινολενικό
Μητρικό γάλα	42-48	32-35	7-11,5	0,5-1,5
Ελαιόλαδο	8-25	55-83	3,5-2,1	0,0-1,5
Βούτυρο	54			
Μαργαρίνη	27	26	8,8	0,4
Αγλαδινό γάλα	43-49	35-40	1,5-1,2	ίχνη
Καλαμποκέλαιο	12-18	32-35	34-62	0,1-2,5
Ηλιανθέλαιο	5-12	21-55	56-66	—

Πίνακας 4: Ποσοστιαία σύσταση διαφόρων εδώδιμων ελαίων και του μητρικού γάλακτος σε λιπαρά οξέα (Τσιτσικλή, 2012).

Τέλος, μπορούμε να προσθέσουμε και τα καρροτενοειδή του ελαιολάδου σαν θετική επίδραση για ένα βρέφος, αν αναλογιστούμε ότι το μητρικό γάλα είναι πλούσιο σε καρροτενοειδή. Αυτά τα πολύ θρεπτικά συστατικά μπορούν κάλλιστα να παρέχουν ενισχυμένη προστασία από λοιμώξεις και να καλύψει ένα παιδί στην κάλυψη μεγάλων αναγκών για θρεπτικά συστατικά.

6.6 ΓΗΡΑΝΣΗ

Από όσα έχουμε πει μέχρι τώρα έχει γίνει σαφές ότι μία διατροφή υπερβολικά πλούσια σε πολυακόρεστα λιπαρά οξέα, μπορεί να προκαλέσει υπεροξειδωση με παράλληλη αλυσιδωτή αντίδραση των ελευθέρων ριζών. Οι ελεύθερες ρίζες που έχουν υποστεί υπεροξειδωση, προσβάλλουν στο εσωτερικό των κυττάρων τόσο το νουκλεϊκό οξύ, διασπώντας τις αλυσίδες των νουκλεοτιδίων και προκαλώντας μεταλλάξεις, όσο και τα φωσφολιπίδια της μεμβράνης που έτσι καταστρέφονται. Τα πολυακόρεστα λιπαρά οξέα έχουν βλαβερή επίδραση στον εγκέφαλο, καθιστώντας τις μεμβράνες πιο διαπερατές από το νερό, καθώς και από τις οργανικές και ανόργανες ενώσεις προκαλώντας διόγκωση των κυττάρων. Ταυτόχρονα προκαλούν υπεροξειδωση και αλυσιδωτή αντίδραση των ελευθέρων ριζών, προκαλώντας ή αυξάνοντας τα συμπτώματα της άνοιας.

Η παρουσία ακόρεστων λιπαρών οξέων είναι αναγκαία για την λειτουργία των νευρικών κυττάρων αλλά και επιρρεπή στην οξειδωση αποτελώντας αιτία κυτταρικής βλάβης. Εδώ λοιπόν έρχονται οι αντιοξειδωτικοί παράγοντες του ελαιολάδου να εξασφαλίσουν την κατάλληλη ισορροπία ανάμεσα στις δύο διαδικασίες. Ερευνητικά προγράμματα έχουν αποδείξει ότι η γήρανση συνοδεύεται από ενδοκυτταρική συσσώρευση λιποφουσκίνης, μιας χρωστικής ουσίας που προέρχεται από τον πολυμερισμό των υπεροξειδωθέντων λιπαρών οξέων. Η έλλειψη βιταμίνης E είναι λοιπόν υπεύθυνη για το σχηματισμό ελευθέρων ριζών και η συμβολή των αντιοξειδωτικών ουσιών του ελαιολάδου είναι αυτή που θα βοηθήσει στην αύξηση του μέσου όρου ζωής.

6.7 ΔΙΑΒΗΤΗΣ

Ο διαβήτης αποτελεί μια χρόνια διαταραχή του μεταβολισμού, η οποία οφείλεται είτε σε ανεπαρκή επίπεδα ινσουλίνης (διαβήτης τύπου 1) είτε στην αντίσταση στην ινσουλίνη (διαβήτης τύπου 2). Ο διαβήτης σχετίζεται με σημαντικά αυξανόμενο κίνδυνο εκδήλωσης αρτηριοσκλήρωσης, καρδιαγγειακών νοσημάτων και άλλων κλινικών επιπλοκών, όπως νεφρικές παθήσεις, υπέρταση κ.λπ. Η θεραπεία των διαβητικών έχει σαν στόχο τον έλεγχο του μεταβολισμού και την επίτευξη του κατάλληλου σωματικού βάρους με την εφαρμογή της κατάλληλης δίαιτας. Εδώ λοιπόν έρχεται η μεσογειακή διατροφή να συνδράμει με την σύνθεσή της στο επιθυμητό αποτέλεσμα, αφενός λόγω της χαμηλής περιεκτικότητας σε κορεσμένα λιπαρά και χοληστερόλη και αφετέρου λόγω της υψηλής περιεκτικότητας σε σύμπλοκους υδατάνθρακες και ίνες. Η καθημερινή κατανάλωση ελαιολάδου σε ποικίλες ποσότητες συνεπάγεται υψηλή περιεκτικότητα της δίαιτας σε μονοακόρεστα λιπαρά οξέα, η οποία κυμαίνεται μεταξύ του 15% και 20% των θερμίδων, με αποτέλεσμα το λιπιδικό σύνολο να ανέρχεται στο 25-35% του θερμιδικού συνόλου.

6.8 ΡΕΥΜΑΤΟΕΙΔΗΣ ΑΡΘΡΙΤΙΔΑ

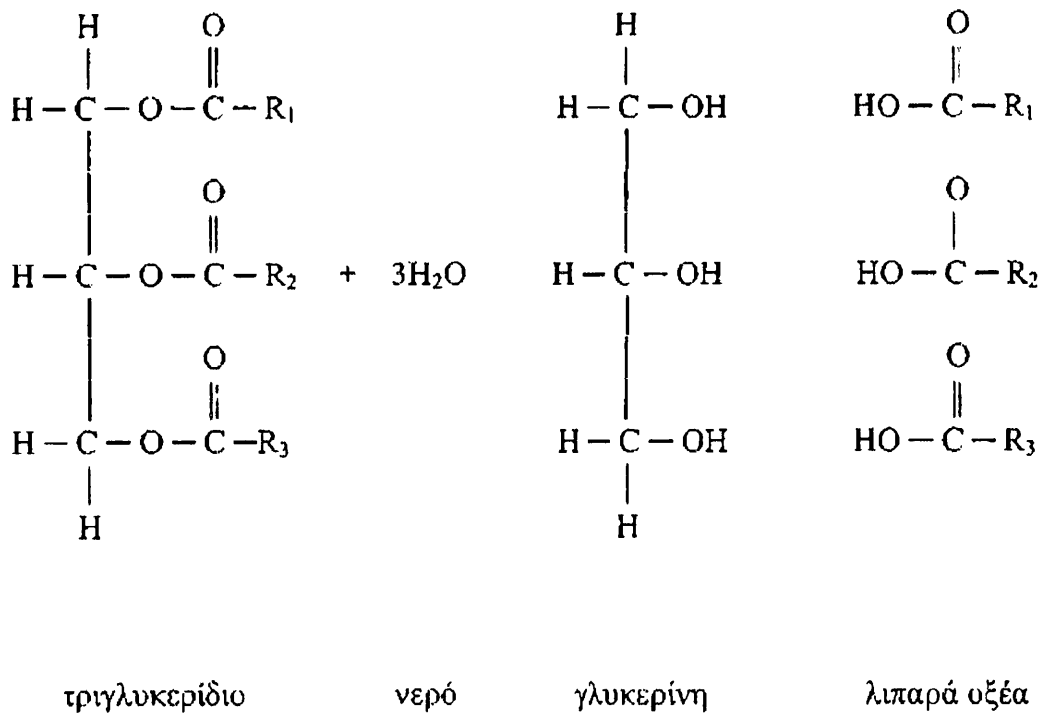
Η ρευματοειδής αρθρίτιδα είναι μια χρόνια πάθηση, η οποία προσβάλλει συνήθως τις αρθρώσεις των χεριών και των ποδιών, προκαλώντας πόνο και οίδημα λόγω φλεγμονής, η οποία με τη σειρά της οδηγεί στην καταστροφή της άρθρωσης ειδικά σε άτομα προχωρημένης ηλικίας. Οι νεότερες μελέτες έχουν δείξει ότι αν οι ασθενείς που πάσχουν από την νόσο αυτή ακολουθήσουν διατροφή πλούσια σε ελαιόλαδο, θα παρουσιάσουν σημαντική βελτίωση όσον αφορά τα συμπτώματα της ασθένειας. Οι Σουηδοί γιατροί ήταν αυτοί που ασχολήθηκαν πολλά χρόνια με τη σχέση ρευματοειδούς αρθρίτιδας και διατροφής και οι τελικές εξετάσεις έδειξαν ότι η μεσογειακή διατροφή σε σχέση με δίαιτα Δυτικού τύπου, ήταν υπεύθυνη για την βελτίωση της λειτουργικότητας και της ζωτικότητας των ασθενών.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 7: ΑΛΛΟΙΩΣΕΙΣ ΕΛΑΙΟΛΑΔΟΥ ΚΑΙ ΑΝΤΙΜΕΤΩΠΙΣΗ ΤΟΥΣ

Όταν αναφερόμαστε στις τυχόν αλλοιώσεις που μπορεί να υποστεί το ελαιόλαδο, τότε μιλάμε είτε για *υδρόλυση* είτε για *οξειδωση*. Η βασική τους διαφορά είναι ότι η υδρόλυση (υδρολυτικό τάγγισμα) πραγματοποιείται κατά το χρόνο πριν από την εξαγωγή του ελαιόλαδου από τον καρπό ενώ η οξειδωση (οξειδωτικό τάγγισμα) πραγματοποιείται κυρίως μετά την παραλαβή του και ιδιαίτερα κατά τη διάρκεια της αποθήκευσης του ελαιόλαδου σε ακατάλληλες συνθήκες. Η οξειδωση με τη σειρά της μπορεί να χωριστεί σε επί μέρους δύο κατηγορίες ανάλογα με το αν συμβεί σε συνθήκες απουσίας φωτός, οπότε μιλάμε για *αυτοοξειδωση*, ή αν συμβεί στο φως παρουσία χρωστικών, οπότε μιλάμε για *φωτοοξειδωση*.

7.1 ΥΔΡΟΛΥΣΗ

Υδρόλυση αποτελεί μια από τις βασικότερες αλλοιώσεις του ελαιολάδου και οφείλεται στην απελευθέρωση λιπαρών οξέων από τα γλυκερίδιά του. Έχει σαν αποτέλεσμα την υποβάθμιση της ποιότητας του ελαιολάδου αφού συνοδεύεται από αύξηση της οξύτητας και αλλαγή των οργανοληπτικών χαρακτηριστικών του και συνεπώς υποβαθμίζεται η εμπορική του αξία. Η υγρασία, η θερμοκρασία, τα ένζυμα καθώς και διάφοροι μικροοργανισμοί, είναι μερικοί από τους παράγοντες που μπορούν να επηρεάσουν την υδρόλυση του ελαιολάδου, η οποία φαίνεται στην ακόλουθη αντίδραση:



Σχήμα 9: Υδρόλυση ενός μεικτού τριγλυκεριδίου του ελαιολάδου σε γλυκερίνη και λιπαρά οξέα (Ράλλη, 2005).

Η υδρόλυση του ελαιολάδου ανάλογα με τα αίτια που την προκαλούν διακρίνεται σε:

- **Μικροβιακή λιπόλυση:** οφείλεται στη δράση των μικροοργανισμών οι οποίοι αναπτύσσονται στη σάρκα της ελιάς. Η δράση ορισμένων από αυτούς είναι τόσο μεγάλη ώστε ο χρόνος που μεσολαβεί από το σπάσιμο του ελαιόκαρπου μέχρι τον διαχωρισμό του λαδιού από τα φυτικά υγρά, είναι αρκετός για την έναρξη της υδρόλυσης των γλυκεριδίων. Εξάλλου, ακατάλληλη αποθήκευση του καρπού πριν την άλεση, ή μεγάλη περιεκτικότητα σε υγρασία, μπορεί να προκαλέσει σημαντική υδρολυτική αλλοίωση.

- **Ενζυμική λιπόλυση:** προκαλείται τόσο από τα φυσικά ένζυμα (λιπάσες) του ελαιοκάρπου, όσο και από αυτά τα οποία ελευθερώνονται από τα διάφορα είδη μικροοργανισμών, οι οποίοι αναπτύσσονται κατά την αποθήκευση του καρπού σε ακατάλληλες συνθήκες.

Η δράση των φυσικών ενζύμων στον άγουρο ελαιόκαρπο είναι ασήμαντη και η οξύτητα του περιεχόμενου ελαιολάδου είναι πολύ μικρή. Αντίθετα, στον ώριμο ελαιόκαρπο η δράση των ενζύμων είναι σημαντική και η οξύτητα του λαδιού σχετικά μεγάλη. Η μεγαλύτερη δράση των ενζύμων αυτών παρουσιάζεται σε pH 8,3 και σε θερμοκρασία 45°C. Γενικά ο βαθμός του υδρολυτικού ταγγίσματος εκτιμάται με τον υπολογισμό της οξύτητας, δηλαδή των ελευθέρων λιπαρών οξέων τα οποία υπάρχουν στο ελαιολάδο. Η σημασία του υδρολυτικού ταγγίσματος γίνεται φανερή από τη συσχέτιση της οξύτητας με την εμπορική ποιότητα του ελαιολάδου.

7.2 ΟΞΕΙΔΩΣΗ

Το ελαιολάδο, όπως και όλες οι λιπαρές ύλες οι οποίες περιέχουν ακόρεστα λιπαρά οξέα, οξειδώνεται όταν έλθει σε επαφή με το οξυγόνο. Τα προϊόντα της οξειδωσης έχουν δυσάρεστη γεύση και οσμή, υποβαθμίζουν την ποιότητα των λιπαρών υλών και σε μεγάλες ποσότητες θεωρούνται τοξικά. Κατά την οξειδωση σχηματίζονται διάφορες ενώσεις και έχει βρεθεί ότι η αλλοίωση πιθανότατα να οφείλεται στις κορεσμένες και τις ακόρεστες αλδεϋδες που δημιουργούνται. Γενικά η οξειδωση προκαλεί μείωση ή απώλεια των απαραίτητων για τον άνθρωπο βασικών λιπαρών οξέων, όπως το λινελαϊκό και το λινολενικό και απώλεια των λιποδιαλυτών βιταμινών και ειδικότερα μείωση της θρεπτικής αξίας των λιπαρών υλών.

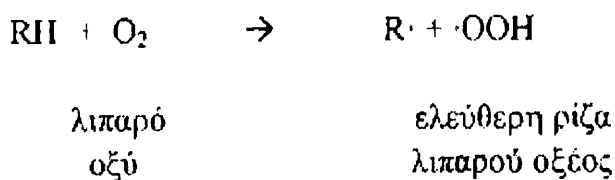
ΑΥΤΟΟΞΕΙΔΩΣΗ: Το ελαιολάδο είναι πολύ ανθεκτικό στην αυτοοξειδωση εξαιτίας της μικρής περιεκτικότητάς του σε πολυακόρεστα λιπαρά οξέα και της παρουσίας σ' αυτό φυσικών αντιοξειδωτικών ουσιών. Παρουσιάζει όμως

ευαισθησία στην φωτοοξείδωση, η οποία συνδέεται με την δράση ορισμένων χρωστικών ουσιών όπως είναι η χλωροφύλλη και η φαιοφυτίνη. Για να αρχίσει η φωτοοξείδωση θα πρέπει οι χρωστικές αυτές να έρθουν σε επαφή με το φως.

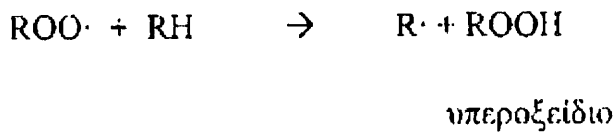
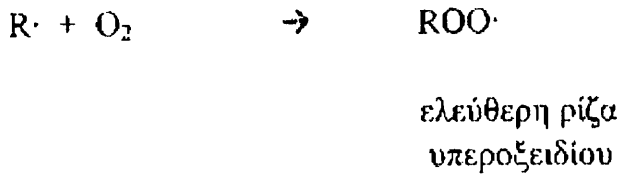
Ο μηχανισμός της αυτοοξείδωσης είναι πολύπλοκος και προχωρεί αυτοκαταλυτικά με αυξανόμενο ρυθμό όσο περνάει ο χρόνος. Σήμερα πιστεύεται ότι όλος ο μηχανισμός περιλαμβάνει 3 στάδια: την εισαγωγή, την διάδοση και τον τερματισμό.

- **ΕΙΣΑΓΩΓΗ**: Το στάδιο της εισαγωγής είναι γνωστό και σαν στάδιο έναρξης, προχωρά με αργό ρυθμό και ορίζεται σαν η χρονική περίοδος πριν από την εμφάνιση της ανεπιθύμητης οσμής και γεύσης, όπου η κατανάλωση ατμοσφαιρικού οξυγόνου είναι σχετικά μικρή.
- **ΔΙΑΔΟΣΗ**: Όταν συμπληρωθεί η περίοδος της εισαγωγής, η οξείδωση προχωρά με μεγαλύτερο ρυθμό. Όταν το δείγμα αρχίζει να μυρίζει και να αποκτά γεύση ταγγισμένου προϊόντος συμπίπτει με την αρχή του σταδίου της διάδοσης, γνωστού και σαν στάδιο πολλαπλασιασμού.
- **ΤΕΡΜΑΤΙΣΜΟΣ**: Κατά το στάδιο αυτό η οξείδωση τερματίζεται, διότι τα αδρανή σχηματιζόμενα προϊόντα έχουν χάσει το χαρακτήρα των ελευθέρων ριζών, που είναι απαραίτητες για να προχωρήσει η οξείδωση (Ράλλη, 2005). Όλα τα στάδια της οξείδωσης φαίνονται στο παρακάτω σχήμα:

1. Εισαγωγή



2. Διάδοση



3. Τερματισμός

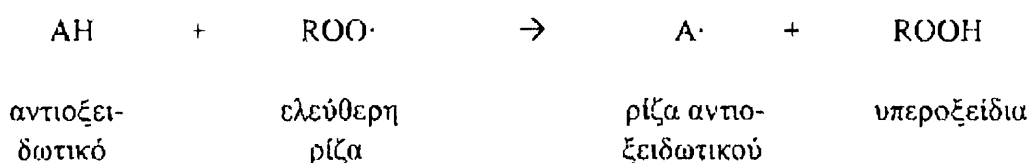


Όπου, RH = λιπαρό οξύ
R·, ROO· = ελεύθερες ρίζες
ROOH = υπεροξειδία, και
RR, ROOR = προϊόντα τελικής αντίδρασης

Σχήμα 10: Στάδια οξείδωσης ελαιολάδου (Ράλλη, 2005).

[Η οξείδωση αρχίζει με την απόσπαση ενός υδρογόνου από ένα ακόρεστο μόριο λιπαρού οξέος (RH), οπότε σχηματίζεται μια ελεύθερη ρίζα λιπαρού οξέος (R^{*}). Η σχηματιζόμενη ρίζα αντιδρά με ένα μόριο οξυγόνου και δημιουργείται μια ρίζα υπεροξειδίου (ROO^{*}) η οποία αντιδρά στη συνέχεια με άλλο μόριο λιπαρού οξέος (RH), το οποίο δεν έχει οξειδωθεί μέχρι εκείνη τη στιγμή, δίνοντας γένεση σε υπεροξειδία (ROOH) και σε νέες ελεύθερες ρίζες. Η πορεία της οξείδωσης γίνεται τώρα περισσότερο πολύπλοκη γιατί τα υπεροξειδία που σχηματίστηκαν, σαν ασταθείς ενώσεις, διασπώνται εύκολα και δημιουργούνται περισσότερες ελεύθερες ρίζες οι οποίες λαμβάνουν μέρος σε νέες αλυσιδωτές αντιδράσεις. Όταν δυο ρίζες αντιδράσουν μεταξύ τους η διάδοση τερματίζεται].

Ο αυτόματος τερματισμός της οξείδωσης είναι δύσκολος, γιατί είναι απίθανο να αντιδράσουν μεταξύ τους όλες οι ελεύθερες ρίζες που σχηματίζονται και να δώσουν αδρανή προϊόντα, όπως συμβαίνει στο τρίτο στάδιο (τερματισμός). Είναι δυνατό όμως να επιταχυνθεί ο τερματισμός, πριν προχωρήσει η οξείδωση προσθέτοντας αντιοξειδωτικά τα οποία θα εξουδετερώσουν τις ελεύθερες ρίζες. Με την δέσμευση των ελευθέρων ριζών παρεμποδίζεται ο σχηματισμός των αλυσιδωτών αντιδράσεων. Ο τρόπος δράσης των αντιοξειδωτικών φαίνεται στην παρακάτω αντίδραση:



Σχήμα 11: Δέσμευση ελευθέρων ριζών λόγω παρεμπόδισης με αντιοξειδωτικά (Ράλλη, 2005).

[Είναι πολύ σημαντικό να επισημάνουμε ότι απαγορεύεται η χρησιμοποίηση αντιοξειδωτικών ουσιών στο παρθένο ελαιόλαδο. Επιτρέπεται μόνο σε ραφινάρισμα ελαιόλαδα και πυρηνέλαια όπου προσθέτουμε α-τοκοφερόλη σε μέγιστη δόση 200mg/kg, για να αναπληρωθεί η φυσική τοκοφερόλη που περιέχει το λάδι και η οποία καταστρέφεται κατά το ραφινάρισμα].

Γενικά τα υπεροξειδία είναι ασταθείς ενώσεις και διασπώνται εύκολα δημιουργώντας ένα πλήθος πτητικών οργανικών ενώσεων με μικρό αριθμό ατόμων άνθρακα (δευτερογενή προϊόντα), οι οποίες είναι υπεύθυνες για την οσμή και τη γεύση των οξειδωμένων λιπαρών υλών (αλδεύδες, κετόνες και οξέα μικρού μοριακού βάρους). Άρα, υπεύθυνα για το τάγγισμα δεν θεωρούνται τα υπεροξειδία, τα οποία ως μεγαλομοριακές ενώσεις δεν μπορούν να ανιχνευθούν από τα αισθητήρια όργανα του ανθρώπου, αλλά τα προϊόντα της διάσπασης των υπεροξειδίων (δευτερογενή) των οποίων η δυσάρεστη οσμή γίνεται αισθητή, ακόμη και σε χαμηλές συγκεντρώσεις.

ΦΩΤΟΟΞΕΙΔΩΣΗ: Η φωτοοξείδωση αποτελεί μια σοβαρότατη αλλοίωση των φυτικών λαδιών και ιδιαίτερα του ελαιολάδου. Η αλλοίωση αυτή συνδέεται με τη δράση της χλωροφύλλης και της φαιοφυτίνης, οι οποίες απορροφούν ενέργεια στο ορατό ή κοντά στο υπεριώδες φάσμα. Οι ακτινοβολίες από τα φάσματα αυτά προκαλούν διέγερση των ηλεκτρονίων στο μόριό τους, φέρνοντάς τα σε διεγερμένη κατάσταση. Η χλωροφύλλη και η φαιοφυτίνη, γνωστές σαν ευαισθητοποιητές, συναντώνται σε δύο μορφές: στο στάδιο της απλής κατάστασης και στο στάδιο της τριπλής ή θεμελιώδους κατάστασης.

Το οξυγόνο όπως και οι χρωστικές, συναντάται σε απλή ή και σε τριπλή κατάσταση, ανάλογα με την κατανομή των ηλεκτρονίων στις εξωτερικές τροχιές των μορίων τους. Το οξυγόνο της απλής κατάστασης έχει πρώτο και δεύτερο στάδιο. Το πρώτο διεγερμένο στάδιο απλής κατάστασης, έχει και τα δύο ηλεκτρόνια στην ίδια τροχιά με αντίθετη αυτοστροφορμή. Το δεύτερο διεγερμένο στάδιο έχει τα αντίστροφα ηλεκτρόνια σε διαφορετικές τροχιές και μεταπίπτει στο πρώτο στάδιο μετά από λίγο χρόνο.

Το πρώτο στάδιο της απλής κατάστασης είναι ηλεκτρονιόφιλο και αναζητεί ηλεκτρόνια για να συμπληρώσει την άδεια μοριακή τροχιά του. Αυτός είναι και ο λόγος που το οξυγόνο απλής κατάστασης αντιδρά πολύ εύκολα με ενώσεις οι οποίες έχουν στο μόριό τους ακόρεστους διπλούς δεσμούς. Το οξυγόνο απλής κατάστασης έχει μεγαλύτερη ενέργεια απ' αυτό της τριπλής, λόγω των απωθητικών δυνάμεων που ασκούνται μεταξύ των ζευγαρωμένων ηλεκτρονίων, του οξυγόνου απλής κατάστασης, όπου μερικά ηλεκτρόνια είναι αζευγάρωτα.

7.3 ΠΡΟΣΤΑΣΙΑ ΑΠΟ ΤΟ ΤΑΓΓΙΣΜΑ

Με βάση όλα όσα είπαμε για τους παράγοντες αλλοίωσης του ελαιόλαδου, θα πρέπει να λαμβάνονται οι παρακάτω προφυλάξεις:

- Να χρησιμοποιείται πολύ καλής ποιότητας ελαιόκαρπος
- Να γίνεται σχολαστικό πλύσιμο των δεξαμενών, των βυτίων και των δοχείων
- Να αποφεύγεται συστηματικά η μόλυνση με βαριά μέταλλα, όπως χαλκό και σίδηρο, που μπορούν να προέλθουν από τα μηχανήματα του ελαιουργείου όταν δεν είναι από ανοξείδωτο χάλυβα.
- Να αποθηκεύεται το λάδι σε δροσερή αποθήκη χωρίς υγρασία και φως.
- Να αποφεύγεται όποια επαφή του λαδιού με τον αέρα.
- Να αποφεύγεται με κάθε τρόπο η έκθεση του ελαιολάδου σε πηγές δυσοσμίας.

7.4 ΑΝΤΟΧΗ ΕΛΑΙΟΛΑΔΟΥ ΣΤΟ ΤΗΓΑΝΙΣΜΑ

Το τηγάνισμα είναι μία από τις αρχαιότερες μεθόδους παρασκευής φαγητού. Πιστεύεται ότι χρησιμοποιούνταν από το 1600π.χ. από τους αρχαίους

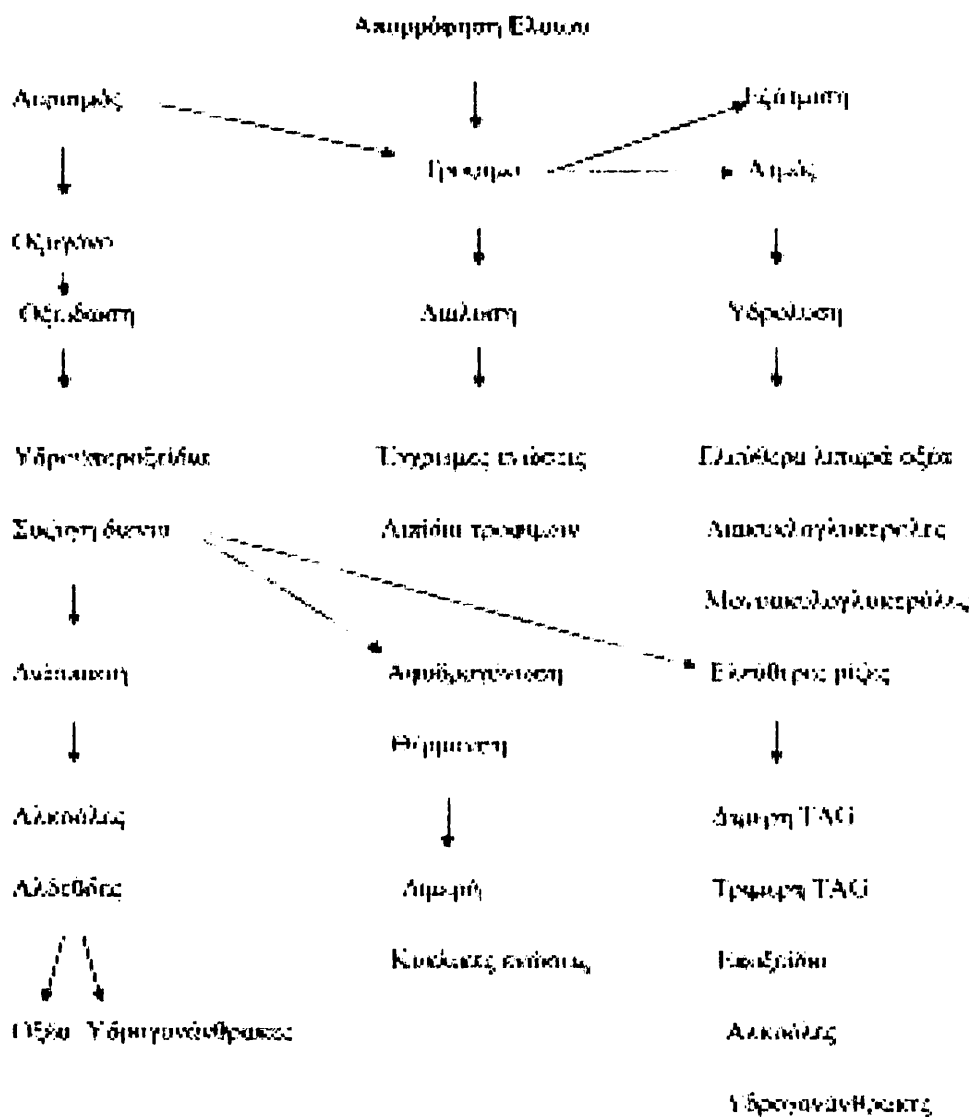
Αιγύπτιους. Είναι μια πολύ διαδεδομένη και ιδιαίτερα ευπροσάρμοστη μέθοδος που χρησιμοποιείται ευρέως τόσο ως οικιακή μαγειρική μέθοδος όσο και από καταστήματα μαζικής εστίασης και βιομηχανίες τροφίμων. Κατά το τηγάνισμα αναπτύσσεται υψηλή θερμοκρασία 170-200 °C και έτσι ο χρόνος μαγειρέματος μειώνεται σημαντικά.

Τα τρόφιμα τηγανίζονται για να αναπτύξουν επιθυμητά χαρακτηριστικά που αφορούν τη γεύση, το χρώμα και την υφή. Τα έλαια χρησιμοποιούνται στο τηγάνισμα ως μέσο μεταφοράς της θερμότητας από το τηγάνι ή τη φριτέζα και απορροφώνται από το τρόφιμο. Το ποσοστό ελαίου που απορροφάται από το τρόφιμο εξαρτάται από τον τύπο του τροφίμου και το μέσο που χρησιμοποιείται για το τηγάνισμα και κυμαίνεται από 4% έως 14% του ολικού βάρους του τροφίμου (Boskou et al., 2005).

Κατά τη διάρκεια του τηγανίσματος, το έλαιο θερμαίνεται παρουσία αέρα και υγρασίας που προέρχεται από το τρόφιμο που πρόκειται να τηγανιστεί. Το έλαιο χρησιμοποιείται σαν μέσο μεταφοράς θερμότητας στο τρόφιμο. Στις συνθήκες τηγανίσματος συμβαίνουν πολύπλοκες αντιδράσεις που μεταβάλλουν τις φυσικές και χημικές ιδιότητες του ελαίου αλλά και του τροφίμου που τηγανίζεται. Κάποιες από αυτές τις αντιδράσεις έχουν σαν αποτέλεσμα τα επιθυμητά οργανοληπτικά χαρακτηριστικά των τηγανιτών τροφίμων (χρώμα, γεύση, άρωμα). Παράλληλα όμως, είναι δυνατόν να πραγματοποιηθούν αντιδράσεις που είναι ανεπιθύμητες από διατροφολογικής και τοξικολογικής άποψης.

Η αποικοδόμηση του ελαίου τηγανίσματος εξαρτάται από τη σύνθεσή του σε λιπαρά οξέα, από την αρχική του κατάσταση και από την παρουσία προοξειδωτικών ή αντιοξειδωτικών. Παρόλο που είναι γνωστές οι περισσότερες μεταβολές που συμβαίνουν στο έλαιο τηγανίσματος, είναι δύσκολο να προβλεφθεί ο βαθμός υποβάθμισης του ελαίου, εξαιτίας των πολλών και διαφόρων παραγόντων που εμπλέκονται. Αυτοί οι παράγοντες δεν σχετίζονται αποκλειστικά με το έλαιο τηγανίσματος αλλά και με τη διαδικασία τηγανίσματος και με το τρόφιμο που πρόκειται να τηγανιστεί. Όταν εφαρμόζονται ορθά οι πρακτικές τηγανίσματος, το έλαιο που απορροφάται και

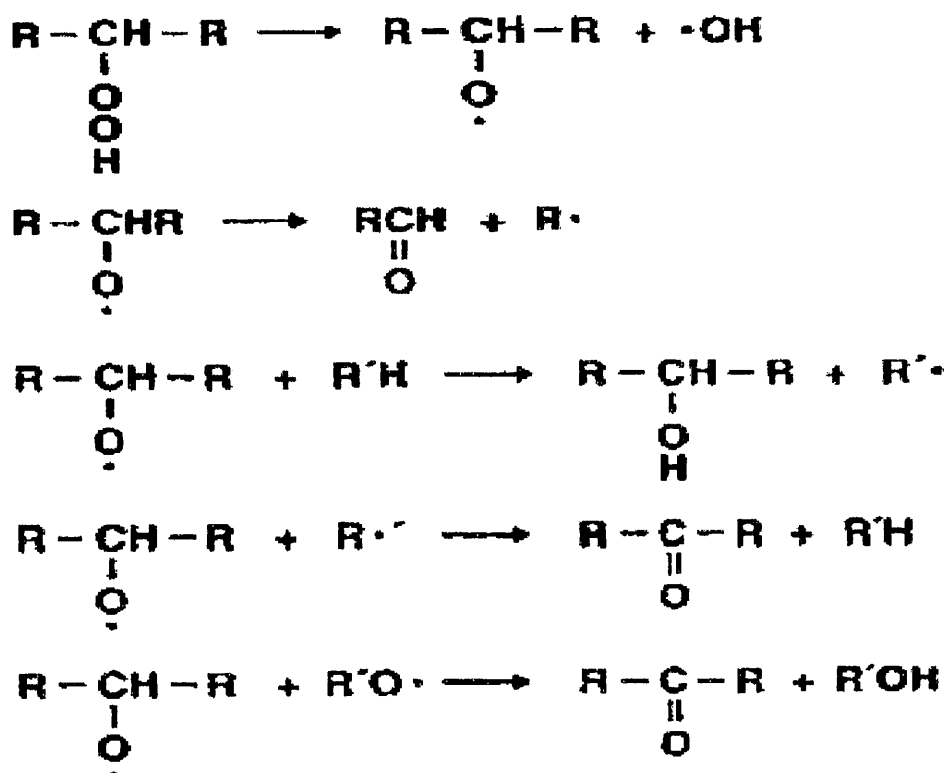
παραμένει στο τηγανητό τρόφιμο, μετά το πέρας του τηγανίσματος, διατηρεί τη θρεπτική του αξία και ένα μεγάλο ποσοστό των λιποδιαλυτών του βιταμινών. Οι κυριότερες χημικές μεταβολές που λαμβάνουν χώρα κατά το τηγάνισμα φαίνονται στην παρακάτω εικόνα:



Εικόνα 11: Χημικές μεταβολές που λαμβάνουν χώρα κατά το τηγάνισμα (Παπαδακάκη, 2012).

Η βασικότερη αλλοίωση που υφίσταται ένα οποιοδήποτε λάδι κατά το τηγάνισμα, είναι η οξείδωση (τάγγισμα). Ο βαθμός αλλοίωσης εξαρτάται από τη θερμοκρασία του τηγανίσματος, το μέγεθος της εκτεθειμένης στον αέρα επιφάνειας, καθώς και τη διάρκεια της θέρμανσης. Οι αντιδράσεις θερμικής

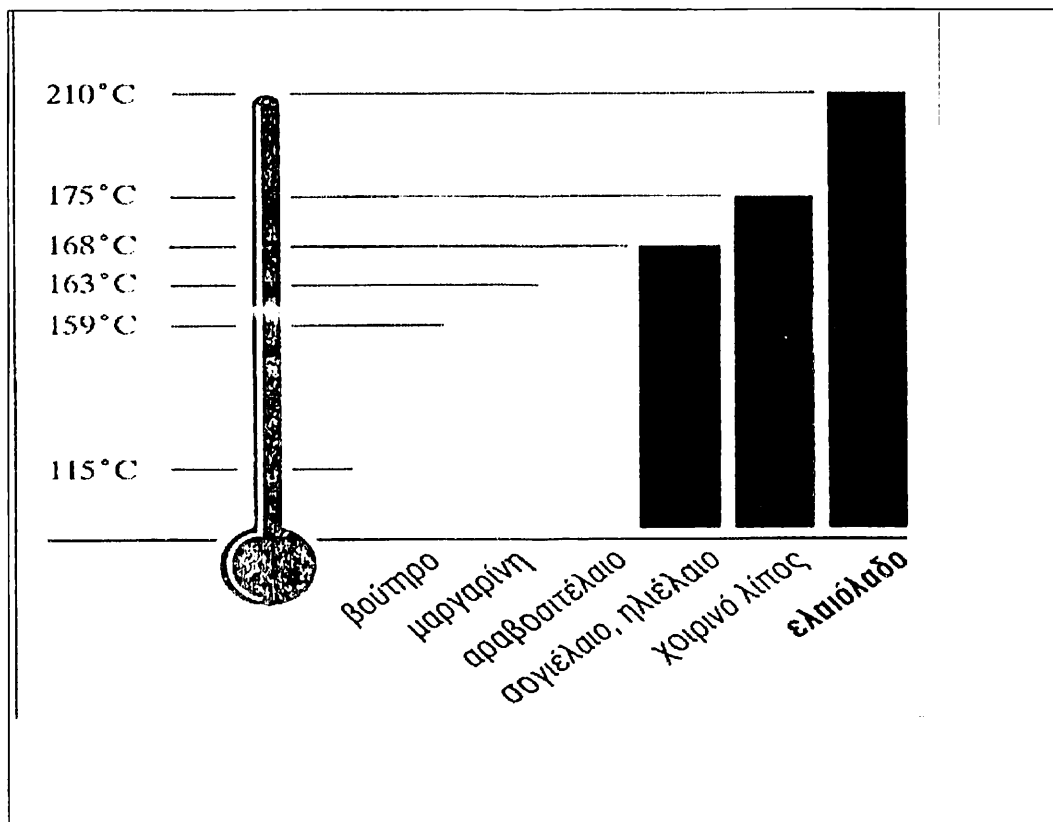
οξειδωσης που λαμβάνουν χώρα κατά το τηγάνισμα φαίνονται στο παρακάτω σχήμα:



Σχήμα 12: Αντιδράσεις θερμικής οξειδωσης των ελαίων κατά το τηγάνισμα (Παπαδακάκη, 2012).

Όσο υψηλότερη είναι η θερμοκρασία τηγανίσματος τόσο μεγαλύτερος ο βαθμός της αλλοίωσης. Εάν η θερμοκρασία δεν ξεπερνάει τους 180°C και η θέρμανση δεν είναι παρατεταμένη, η αλλοίωση μπορεί να αποφευχθεί. Σε μια τέτοια περίπτωση το ελαιόλαδο μπορεί να χρησιμοποιηθεί για 4 ή 5 διαδοχικά τηγανίσματα χωρίς πρόβλημα. Εάν μάλιστα εξασφαλιστεί η δυνατότητα ρύθμισης της θερμοκρασίας στους 180°C και αν φιλτράρεται το ελαιόλαδο μετά από κάθε χρήση, τότε μπορεί να χρησιμοποιηθεί περισσότερες από 5 φορές χωρίς να χαθεί η διατητική του αξία (Α. Κυριτσάκης Αθήνα 2000).

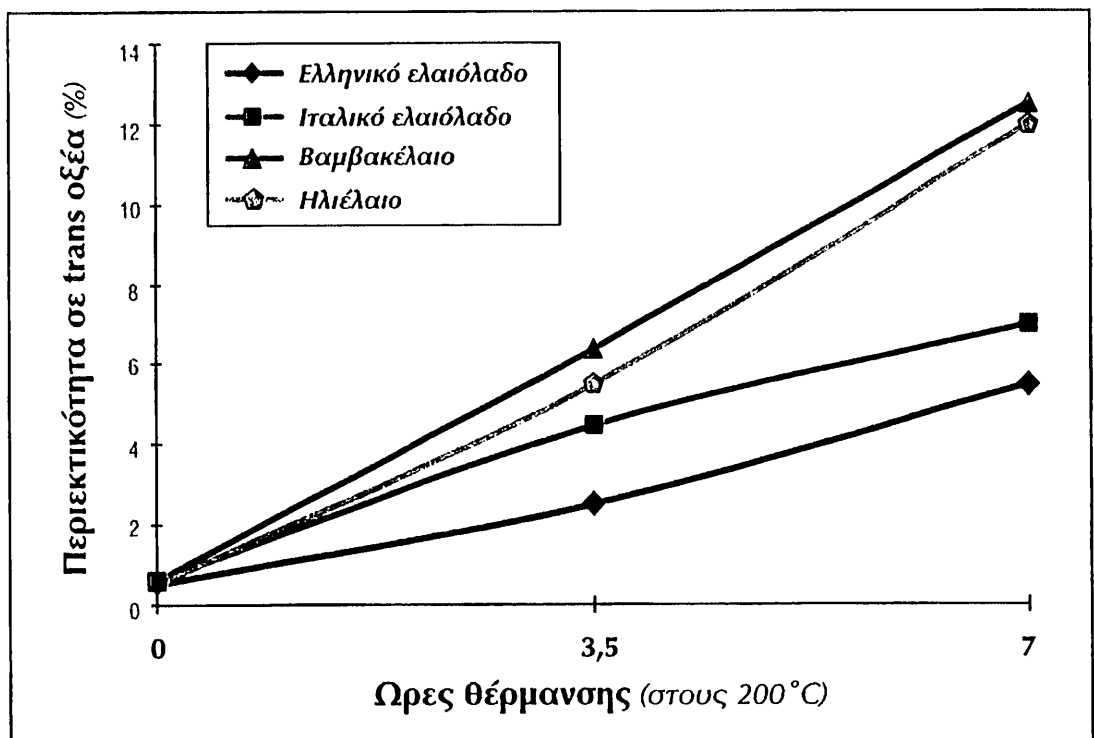
Το ελαιόλαδο συγκριτικά με τα σπορέλαια έχει περισσότερα ελεύθερα λιπαρά οξέα και πολλές φορές περιέχει και κάποια ποσότητα οργανικού ιστού από τον καρπό της ελιάς. Αυτό έχει σαν αποτέλεσμα χαμηλότερο σημείο καπνού, γύρω στους 200°C, ενώ των σπορελαίων φτάνει τους 235°C, γεγονός που το κάνει πιο ανθεκτικό στην οξείδωση, όπως φαίνεται χαρακτηριστικά και στην εικόνα:



Εικόνα 12: Λόγω της σύνθεσής του το ελαιόλαδο είναι πολύ ανθεκτικό στη θέρμανση. Μπορεί να φτάσει μέχρι τους 210°C χωρίς να οξειδωθεί

(Α. Κυριτσάκης, 2000).

Αν τώρα το ελαιόλαδο ξεπεράσει κατά πολύ το σημείο καπνού και για πολύ ώρα, τότε μπορεί να έχουμε και σχηματισμό επιβλαβών ενώσεων. Γενικά προχωρημένη οξείδωση κατά το τηγάνισμα σε οποιοδήποτε είδος λιπαρής ύλης, οδηγεί στο σχηματισμό ανεπιθύμητων προϊόντων, όπως τα *trans* οξέα. Γεγονός πάντως είναι ότι το ελαιόλαδο αλλοιώνεται λιγότερο κατά το τηγάνισμα και το μαγείρεμα από ότι το καλαμποκέλαιο, το σογιέλαιο, το ηλιέλαιο κ.λ.π. Σχετική έρευνα που πραγματοποιήθηκε πάνω σ' αυτό, έδειξε ότι όταν το ελαιόλαδο θερμάνθηκε στους 200°C για παρατεταμένο χρόνο, τα ανεπιθύμητα *trans* οξέα που σχηματίστηκαν σ' αυτό ήταν λιγότερα από ότι σε σπορέλαια και υδρογονωμένα λίπη στις ίδιες συνθήκες δοκιμασίας. Στην εικόνα που ακολουθεί φαίνεται καθαρά η ανωτερότητα του ελαιολάδου:



Εικόνα 13: Περιεκτικότητα σε *trans* οξέα ανάλογα με τον χρόνο θέρμανσης του ελαιολάδου και άλλων λαδιών στους 200°C.

(Α. Κυριτσάκης, 2000).

Με όσα αναφέρθηκαν παραπάνω, θα πρέπει να γίνει κατανοητό ότι η εντύπωση ορισμένων ότι το ελαιόλαδο δεν κάνει για τηγάνισμα πρέπει να αναιρεθεί. Και μάλιστα καλό είναι να χρησιμοποιούμε όχι παρθένο αλλά μίγμα παρθένου και ραφινρισμένου (δηλαδή ελαιολάδου), ή πυρηνέλαιο. Μπορεί βέβαια το πυρηνέλαιο να μην έχει το άρωμα και τη γεύση του ελαιολάδου, αλλά έχει την ίδια σύσταση σε λιπαρά οξέα και χαμηλότερη τιμή.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 8: ΜΕΘΟΔΟΙ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΥ ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΗΣ ΙΚΑΝΟΤΗΤΑΣ ΕΛΑΙΟΛΑΔΟΥ

8.1 ΜΕΘΟΔΟΣ HPLC

Από τις πλέον χρησιμοποιούμενες τεχνικές διαχωρισμού, ταυτοποίησης και ποσοτικού προσδιορισμού των φαινολικών ουσιών των τροφίμων είναι η υγρή χρωματογραφία υψηλής πίεσης (High Performance Liquid Chromatography - HPLC). Ως HPLC, ονομάζεται η μέθοδος χρωματογραφίας στήλης, η οποία εκτελείται με τη βοήθεια ενός συγκροτήματος οργάνων (συσκευή υγρού χρωματογράφου). Ως κινητή φάση χρησιμοποιούνται αδρανείς διαλύτες (οργανικοί, νερό, ρυθμιστικά διαλύματα και άλλα), υπό ελεγχόμενη πίεση, ενώ η στατική φάση αποτελείται από πυριτική πηκτή ή από πολυμερείς ενώσεις (Ανδρικόπουλος, 1999). Ανάλογα με το είδος της στατικής φάσης, η μέθοδος HPLC αποδίδει χρωματογραφικούς διαχωρισμούς σύμφωνα με τις αρχές προσρόφησης ή της κατανομής ή συνδυασμού αυτών, ή της ιοντοανταλλαγής ή τέλος της μοριακής διήθησης. Τα συστατικά διαχωρίζονται καθώς διέρχονται από τη στατική φάση της στήλης, με τη βοήθεια της κινητής φάσης που αποτελείται από διαλύτες κατάλληλης πολικότητας για τον διαχωρισμό. Από τη σύγκριση του χρόνου έκλουσης με αυτούς προτύπων ουσιών σε όμοιες χρωματογραφικές συνθήκες γίνεται προσδιορισμός του κάθε συστατικού (Ντζιαδήμας, 2013).

8.2 ΜΕΘΟΔΟΣ CGC-MS

Αντίστοιχα με την υγρή χρωματογραφία, υπάρχει και η αέρια χρωματογραφία, (Gas Chromatography - CGC) όπου ονομάζεται η μέθοδος χρωματογραφίας στήλης, η οποία εκτελείται με τη βοήθεια ενός συγκροτήματος οργάνων (συσκευή αέριου χρωματογράφου). Ως κινητή φάση χρησιμοποιούνται αδρανή αέρια (άζωτο ή ήλιο), υπό ελεγχόμενη θερμοκρασία, ενώ η στατική φάση αποτελείται από πυριτική πηκτή ή στερεό προσροφητικό μέσο που συνιστά τη στερεή ή φέρουσα φάση με μόνιμη επικάλυψη υγρής φάσης (Ανδρικόπουλος,

1999). Με τρόπο ανάλογο της υγρής χρωματογραφίας, τα συστατικά μεταβαίνουν από τον εισαγωγέα στη στήλη και διαχωρίζονται με τη βοήθεια του φέροντος αερίου και της θερμοκρασίας του φούρνου. Επιπρόσθετα, για την αύξηση της πτητικότητας και σταθερότητας ορισμένων συστατικών συχνά απαιτείται παραγωγοποίηση αυτών.

Τα τελευταία χρόνια, ο συνδυασμός αέριας χρωματογραφίας- φασματομετρίας μάζας (Gas Chromatography-Mass Spectrometry, GC-MS), θεωρείται βασικό εργαλείο για την ανάλυση του φαινολικού περιεχομένου φυσικών προϊόντων, καθώς είναι μια εξαιρετικά ευαίσθητη μέθοδος, κατάλληλη για τον προσδιορισμό πτητικών ενώσεων, από τη CGC. Στην περίπτωση των πολικών φαινολών εφαρμόζονται μέθοδοι παραγωγοποίησης για την αύξηση της πολικότητας και σταθερότητας των ενώσεων. Παράλληλα, σε ότι αφορά την εξέλιξη της φασματομετρίας μάζας (mass spectrometry, MS) επιτρέπεται πλέον η ταυτοποίηση πολικών μορίων όπως οι πολυφαινόλες. Οι Miketova, et. al. (1999) απέδειξαν ότι ο ποσοτικός προσδιορισμός πολυφαινολών μπορεί να είναι πολύ ακριβής με υγρή χρωματογραφία/φασματομετρία μάζας ιοντισμού με ηλεκτροψεκασμό (Liquid Chromatographyelectrospray Ionization Mass Spectrometry, LC-ESIMS) (Ντζιαδήμας, 2013).

8.3 ΜΕΘΟΔΟΣ Folin-Ciocalteu

Η μέθοδος Folin-Ciocalteu (FC) είναι μια φωτομετρική τεχνική βασισμένη στην «αναγωγική δράση» παρουσία πολυφαινολικών ομάδων, που χρησιμοποιείται για τον προσδιορισμό του ολικού πολυφαινολικού περιεχομένου σε φυσικά προϊόντα (Balentine, et. al., 1997). Η μέθοδος βασίζεται σε χρωματομετρική οξειδοαναγωγική αντίδραση με την οποία προσδιορίζεται το συνολικό φαινολικό περιεχόμενο του δείγματος, χωρίς διαχωρισμό μεταξύ μονομερών, διμερών και μεγαλύτερων φαινολικών συστατικών. Το αντιδραστήριο FC είναι διάλυμα σύνθετων πολυμερών ιόντων που σχηματίζονται από φωσφο-μολυβδαινικά και φωσφο-βολφραμικά

ετεροπολυμερή οξέα. Το προϊόν είναι σύμπλεγμα μολυβδαινίου-βολφραμίου (MoW), χαρακτηριστικής μπλε χρώσης, που απορροφά στο ορατό (725nm). Γενικά, οι φαινόλες που καθορίζονται από τον δείκτη FC εκφράζονται πολύ συχνά σε ισοδύναμα γαλλικού οξέος (Ντζιαδήμας, 2013).

8.4 ΜΕΘΟΔΟΣ ΤΟΥ ΔΕΙΚΤΗ ΚΜη0₄ (Υπερμαγγανικού Καλίου)

Όπως η μέθοδος Follin-Ciocalteu, έτσι και αυτή προσδιορίζει τις ολικές φαινολικές ουσίες σε ένα δείγμα. Η μέθοδος αυτή στηρίζεται στην οξείδωση των φαινολικών ουσιών από το υπερμαγγανικό κάλιο, στη θερμοκρασία του περιβάλλοντος. Το τέλος της αντίδρασης σημειώνεται με την αλλαγή του χρώματος του δείκτη carmin-indigo, από το κυανό στο κίτρινο. Ο δείκτης αυτός οξειδώνεται πριν από ορισμένα συστατικά του δείγματος, αλλά μετά από τις φαινολικές ουσίες. Η αλλαγή του χρώματός του συμπίπτει με το τέλος της οξείδωσης των φαινολικών ουσιών, έτσι ώστε να αποφεύγεται παραπέρα κατανάλωση για οξείδωση άλλων διαφόρων συστατικών του δείγματος.

8.5 ΜΕΘΟΔΟΣ FRAP

Η φασματοφωτομετρική μέθοδος FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power) είναι αρκετά γρήγορη και άμεση, υπολογίζει τη συνολική αντιοξειδωτική δύναμη (αναγωγικής ικανότητας) ενός φυτικού εκχυλίσματος (Soobrattee, et. al., 2005) και στηρίζεται στην αναγωγή, κάτω από όξινες συνθήκες, του συμπλόκου Fe³⁺-TPTZ σε δισθενή μορφή, που αποκτά έντονο μπλε χρώμα και απορροφά στα 593nm. Οι συνθήκες της δοκιμής ευνοούν την αναγωγή του τρισθενούς συμπλόκου από το σύνολο των αντιοξειδωτικών ουσιών που βρίσκονται στο διάλυμα δοκιμής (Benzie & Strain, 1996). Η μέθοδος αυτή θεωρείται μια οικονομική και αξιόπιστη μέθοδος αλλά έχει το μειονέκτημα ότι δεν προσδιορίζει τις θειολικές ομάδες σαν αντιοξειδωτικά (Ντζιαδήμας, 2013).

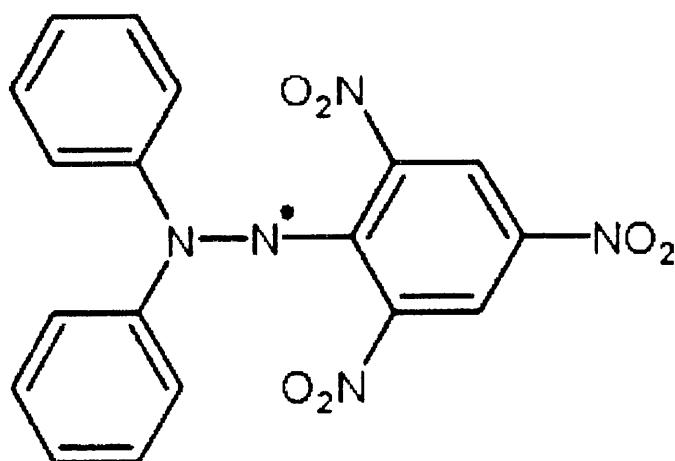
8.6 ΜΕΘΟΔΟΣ ORAC

Η Oxygen Radical Absorbance Capacity (ORAC), είναι μία μέθοδος προσδιορισμού της αντιοξειδωτικής ικανότητας. Χρησιμοποιεί μία «γεννήτρια» ελευθέρων ριζών, μέσω θερμικής αποσύνθεσης μίας αζωτοένωσης, ώστε να δώσει μία σταθερή ροή υπεροξυλο-ριζών σε ένα κορεσμένο διάλυμα αέρα. Τα αντιοξειδωτικά συναγωνίζονται με το υπόστρωμα για τις ρίζες και εμποδίζουν ή επιβραδύνουν την οξείδωση του υποστρώματος. Σύμφωνα με την πρότυπη μορφή αυτής της μεθόδου, ο ρυθμός της υπεροξειδωσης ρυθμίζεται μέσω της απώλειας του φθορισμού της β-PE είναι μία ένδειξη φθοράς από την αντίδρασή της με την υπεροξυλο-ρίζα. Η ένταση του φθορισμού (485-525nm) μετρείται για 35min σε pH=7,4 και στους 37°C (Huang, et. al., 2005).

8.7 ΜΕΘΟΔΟΣ DPPH

Η μέθοδος DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) είναι μια μέθοδος εκτίμησης του πολυφαινολικού περιεχομένου που βασίζεται στη μέτρηση της ικανότητας δέσμευσης ελευθέρων ριζών. Στην ικανότητα αυτή των πολυφαινολών, αποδίδεται η αντιοξειδωτική τους δράση, με αποτέλεσμα η μέθοδος αυτή να δίνει μετρήσεις της συνολικής αντιοξειδωτικής ικανότητας των πολυφαινολών του εκχυλίσματος αυτού. Αποτελεί *in vitro* τεχνική και πλεονεκτεί ως προς το ότι η δέσμευση των ελευθέρων ριζών του DPPH από τις πολυφαινόλες του δείγματος και η φασματοφωτομέτρηση του συνολικού διαλύματος αντίδρασης (π.χ. εκχύλισμα DPPH) δεν είναι χρονοβόρες διαδικασίες. Οι φωτομετρήσεις πραγματοποιούνται περίπου μια ώρα μετά την παρασκευή του διαλύματος στα 520-700 nm. Μεγαλύτερη αντιοξειδωτική ικανότητα συνεπάγεται αυξημένη δέσμευση των ελευθέρων (κατά τα άλλα σταθερών) ριζών του DPPH, και κατά

επέκταση μειωμένη τιμή απορρόφησης. Η ικανότητα αυτή του δεσμευτικού παράγοντα στηρίζεται στην προσφορά ενός ατόμου υδρογόνου κάθε φορά, γεγονός που οδηγεί σε αύξηση του βαθμού δέσμευσης ελευθέρων ριζών (Roginsky & Lissi, 2004).



Εικόνα 14: Η ελεύθερη ρίζα DPPH (Molyneux, 2004)

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 9: ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

ΣΚΟΠΟΣ

Στα προηγούμενα, έγινε εκτενής αναφορά στις αντιοξειδωτικές ουσίες του ελαιολάδου, οι οποίες το καθιστούν πολύτιμο στοιχείο της ανθρώπινης διατροφής αλλά και το προστατεύουν από αλλοιώσεις που μπορεί να υποστεί κατά τη διάρκεια της αποθήκευσής του. Στην παρούσα εργασία έγινε μια πειραματική αξιολόγηση της ολικής αντιοξειδωτικής ικανότητας σε διάφορα δείγματα ελαιολάδου που παραλήφθηκαν από τρεις διαφορετικές ποικιλίες ελιάς, αλλά και με διαφορετικό τρόπο επεξεργασίας (από ελαιοτριβεία δύο ή τριών φάσεων).

9.1 ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

Τα δείγματα ελαιόλαδου που χρησιμοποιήθηκαν στην παρούσα μελέτη προέρχονταν από τρεις ποικιλίες ελιάς (Κορωνέϊκη, Αμφίσσης, Καλαμών), τα οποία ελήφθησαν από πέντε διαφορετικές περιοχές (Γραμμενίτσα Άρτας, Δίστρατο Άρτας, Γλυκή Θεσπρωτίας, Βρεστό Ηλείας, Ράχες Φθιώτιδας). Συνολικά χρησιμοποιήθηκαν επτά δείγματα, τα οποία συλλέχθηκαν αμέσως μετά τους διαχωριστήρες των ελαιοτριβείων (τελική φάση παραλαβής του ελαιόλαδου).

Δύο δείγματα προέρχονταν από ελαιοτριβεία δύο φάσεων επεξεργασίας της ελαιοζύμης και τα υπόλοιπα πέντε από ελαιοτριβεία τριών φάσεων. Όλα τα δείγματα ήταν παρθένα ελαιόλαδα με οξύτητα που κυμαινόταν από 0,5 έως 1,5% σε ισοδύναμο ελαϊκού οξέος.

Στον παρακάτω πίνακα 5 δίνονται αναλυτικά τα χαρακτηριστικά προέλευσης και οξύτητας των δειγμάτων που χρησιμοποιήθηκαν στην παρούσα μελέτη.

Πίνακας 5: Χαρακτηριστικά προέλευσης των δειγμάτων ελαιόλαδου.

Αριθμός δειγ/τος	Ποικιλία Ελιάς	Περιοχή καλλιέργειας	Τρόπος επεξεργασίας	Οξύτητα (%)
1	Αμφίσσης	Γραμμενιτσα Άρτας	Τριών φάσεων	0,5
2	Κορωνέικη	Γραμμενιτσα Άρτας	Τριών φάσεων	1,5
3	Καλαμών	Ράχες Φθιώτιδας	Τριών φάσεων	0,6
4	Κορωνέικη	Βρεστό Ηλείας	Δύο φάσεων	1,0
5	Κορωνέικη	Δίστρατο Άρτας	Δύο φάσεων	0,6
6	Καλαμών	Γλυκή Θεσπρωτίας	Τριών φάσεων	0,5
7	Αμφίσσης	Γλυκή Θεσπρωτίας	Τριών φάσεων	0,6

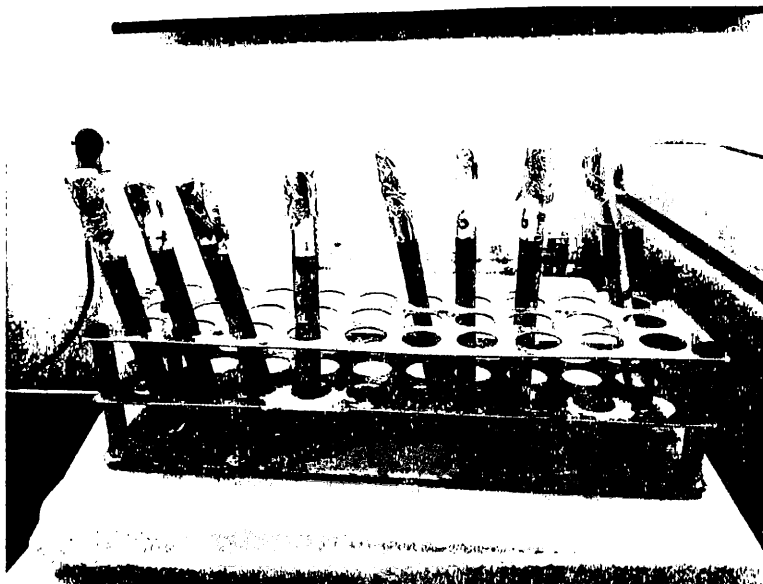
Στα δείγματα αυτά έγινε προσδιορισμός της ολικής αντιοξειδωτικής ικανότητας τόσο στο ολικό τους κλάσμα όσο και στο μεθανολικό τους εκχύλισμα με την μέθοδο του DPPH. Επίσης μελετήθηκε και η ταχύτητα αντίδρασης του ολικού κλάσματος κάθε δείγματος στο αντιδραστήριο του DPPH.

9.2 Προσδιορισμός ολικής αντιοξειδωτικής ικανότητας στο ολικό κλάσμα των δειγμάτων (TAC_{tot}) με την μέθοδο του DPPH.

Ως βασικό (standard) αντιδραστήριο χρησιμοποιήθηκε διάλυμα ποσότητας 130 μMol DPPH σε οξικό αιθυλεστέρα (διαλύεται ποσότητα 5 mg DPPH σε 100 ml οξικού αιθυλεστέρα). Το διάλυμα αυτό έχει ένα έντονο πορφυρό χρωματισμό και σε φασματοφωτόμετρο ορατού-υπεριώδους, παρουσιάζει στην παραπάνω συγκέντρωση τιμές απορρόφησης της τάξεως του 1,2 περίπου, σε μήκος κύματος των 515 nm.

Από το κάθε δείγμα ελαιόλαδου ελήφθησαν ποσότητες των 20, 80, 120, και 180 mg, οι οποίες τοποθετήθηκαν σε υάλινους δοκιμαστικούς σωλήνες των 5 mL. Ακολούθως έγινε προσθήκη 4 mL του αντιδραστηρίου του DPPH και αμέσως μετά ανάδευση και σφράγισμα των δοκιμαστικών σωλήνων με parafilm και τοποθέτηση των σωλήνων σε σκοτεινό μέρος (Μηνιώτη, 2009). Οι

αντιοξειδωτικές ουσίες που περιέχονται στα δείγματα του ελαιόλαδου αντιδρούν με το DPPH ποσοτικά και προκαλούν αποχρωματισμό του αντιδραστηρίου.



Εικόνα 15: Υάλινοι δοκιμαστικοί σωλήνες των 5 mL κατά την διαδικασία αντίδρασης ελαίου - DPPH.

Μετά από 60 min το περιεχόμενο εκάστου δοκιμαστικού σωλήνα μεταφερόταν σε υάλινη κυψελίδα του φασματοφωτόμετρου (εικόνα 16) και καταγράφονταν η ένδειξη του οργάνου. Ο μηδενισμός του φασματοσφωτόμετρου γινόταν με καθαρό αιθυλεστέρα. Παράλληλα με την μέτρηση του κάθε δείγματος έγινε και μέτρηση της απορρόφησης του standard διαλύματος του DPPH, ως μάρτυρας (A_0). Τα αποτελέσματα της μείωσης της απορρόφησης του DPPH (A_{60}) λόγω της ποσότητας των αντιοξειδωτικών που περιέχονταν στις τέσσερις ποσότητες ελαιόλαδου του κάθε δείγματος εκφράζονταν ως ποσοστό ($\Delta A_{\%}$) μείωσης της απορρόφησης του αρχικού διαλύματος του DPPH (A_0) σύμφωνα με τον ακόλουθο τύπο:

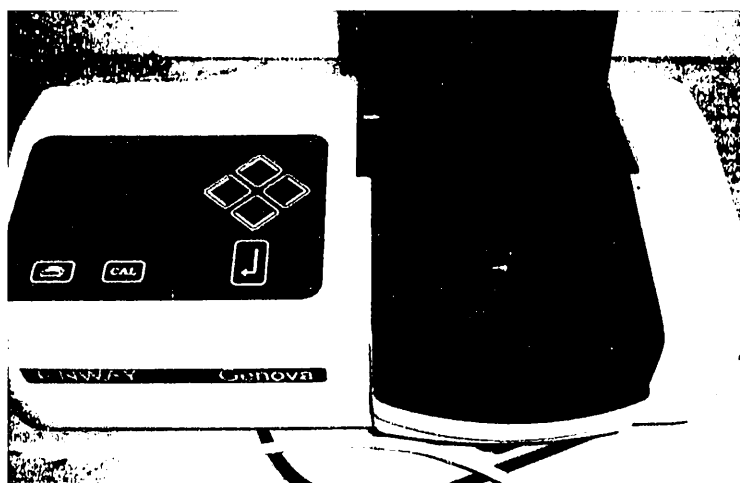
$$\Delta A_{\%} = \left(\frac{A_0 - A_{60}}{A_0} \right) \times 100$$

Όπου :

$\Delta A_{\%}$: Ποσοστό μείωσης της απορρόφησης του αρχικού διαλύματος του DPPH.

A₀: Αρχική τιμή απορρόφησης του διαλύματος DPPH (μάρτυρας) ή αλλιώς απορρόφηση σε χρόνο 0.

A₆₀: Τιμή απορρόφησης του DPPH μετά από την προσθήκη ποσότητας ελαιόλαδου, μετά από 60 min

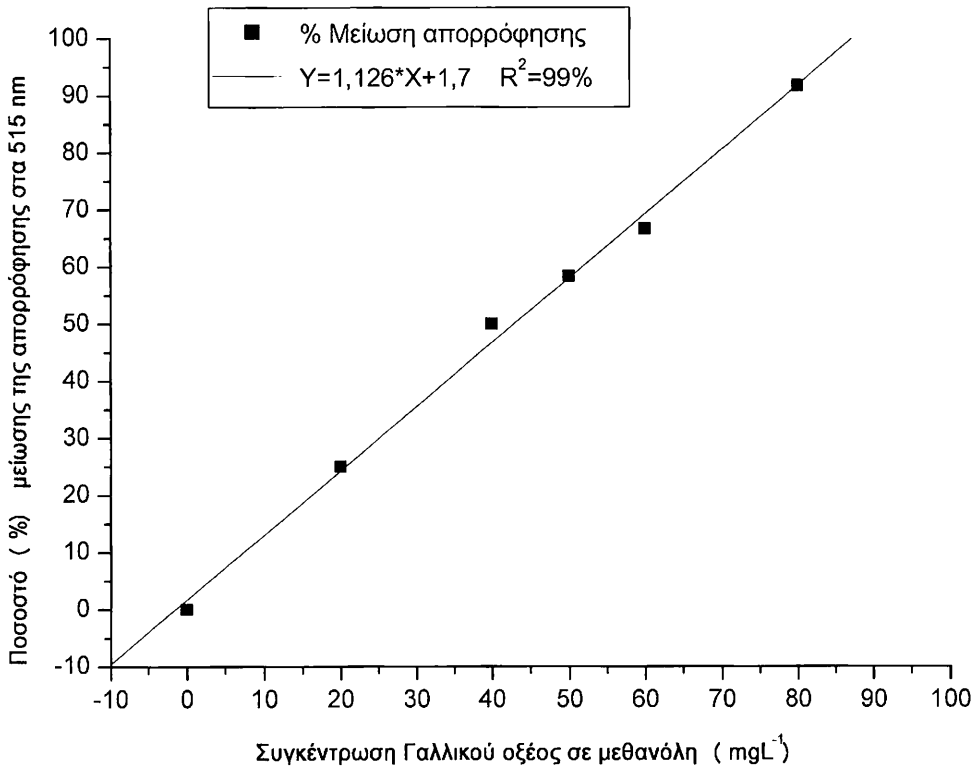


Εικόνα 16: Φασματοφωτόμετρο ορατού-υπεριώδους

Από τις τέσσερις τιμές ποσοστών μείωσης της απορρόφησης της αρχικής τιμής του DPPH στο φασματοφωτόμετρο (515 nm) και οι οποίες αντιστοιχούν στις τέσσερις ποσότητες ελαιόλαδου που χρησιμοποιήθηκαν από το κάθε δείγμα, καταρτίστηκε η χαρακτηριστική καμπύλη του κάθε δείγματος ελαιόλαδου που χρησιμοποιήθηκε στην παρούσα εργασία και η οποία συσχετίζει την ποσότητα του ελαιόλαδου, με την ελάττωση της απορρόφησης του standard αντιδραστηρίου του DPPH στα 515 nm (και κατ' επέκταση με έμμεσο τρόπο με την ολική αντιοξειδωτική του ικανότητα) και είναι χαρακτηριστική για το κάθε δείγμα ελαιόλαδου. Η καμπύλες αυτές είναι στην πραγματικότητα ευθείες γραμμές και η εξίσωση της γραμμικής παλινδρόμησης των τιμών απορρόφησης στα 515 nm πάνω στην ποσότητα του ελαιόλαδου, αποδίδει αλγεβρικά την σχέση μεταξύ ποσότητας ελαιόλαδου και ποσοστού μείωσης της απορρόφησης του DPPH, για το κάθε δείγμα ελαιόλαδου.

Από τις γραμμικές εξισώσεις αυτές, υπολογίσθηκε η ποσότητα εκείνη του κάθε δείγματος ελαιόλαδου η οποία προκαλεί μείωση κατά 50% της αρχικής απορρόφησης του standard διαλύματος του DPPH (των 4 mL) ή αλλιώς IC₅₀ (Inhibitory Concentration 50%). Η τιμή αυτή ανάγεται στην αντίστοιχη ποσότητα μιας γνωστής αντιοξειδωτικής ουσίας, όπως είναι το Γαλλικό οξύ στην περίπτωση του ελαιόλαδου, που έχει το ίδιο αποτέλεσμα στην μείωση της απορρόφησης του αντιδραστηρίου του DPPH (ελάττωση κατά 50%), ονομάζεται «Ισοδύναμο Γαλλικού Οξέος» και αριθμητικά εκφράζεται είτε σε mMol είτε σε mg Γαλλικού Οξέος ανά kg ελαιόλαδου.

Για την αντιστοίχιση αυτή πρώτα καταρτίστηκε πρότυπη καμπύλη (ευθεία) που σχετίζει την ποσότητα του Γαλλικού οξέος σε διάλυμα με μεθανόλη (mgL^{-1}) σε συνάρτηση με την μείωση του ποσοστού της απορρόφησης ποσότητας 4 mL του standard διαλύματος του DPPH, μετά από την αντίδραση του γαλλικού οξέος με το DPPH. Για την υλοποίηση της καμπύλης αναφοράς του Γαλλικού οξέος χρησιμοποιήθηκαν διαλύματα Γαλλικού οξέος σε μεθανόλη με συγκεντρώσεις 20, 40, 50, 60, και 80 mgL^{-1} . Από το κάθε διάλυμα ελήφθησαν ποσότητες των 170 μL , που τοποθετήθηκαν σε δοκιμαστικούς σωλήνες των 5 mL. Ακολούθως έγινε η προσθήκη των 4 mL του standard διαλύματος του DPPH και τοποθετήθηκαν σε σκοτεινό μέρος. Μετά από 60 min έγινε η μέτρηση της απορρόφησης του κάθε διαλύματος και υπολογίσθηκε το ποσοστό μείωσης της απορρόφησης του. Στην παρακάτω εικόνα παρουσιάζεται η πρότυπη καμπύλη γαλλικού οξέος - DPPH, που προσδιορίστηκε στην παρούσα μελέτη.



Εικόνα 17: Σχέση μεταξύ των ποσοστών της μείωσης της απορρόφησης του διαλύματος του DPPH σε μήκος κύματος 515 nm και της συγκέντρωσης (mgL⁻¹) του Γαλλικού οξέος σε καθαρή μεθανόλη.

Σύμφωνα με την παραπάνω εξίσωση της γραμμικής παλινδρόμησης των τιμών των ποσοστών μείωσης της απορρόφησης του φωτός των 515 nm από το DPPH, πάνω στις τιμές της συγκέντρωσης του Γαλλικού οξέος, η κατά το ήμισυ μείωση των ποσοστών απορρόφησης αντιστοιχεί σε συγκέντρωση γαλλικού οξέος ίση με $(50-1.7)/1.126=42.9 \text{ mgL}^{-1}$. Η τιμή αυτή ελάχιστα διαφέρει από την πραγματική συγκέντρωση των 40 mgL^{-1} , που χρησιμοποιήθηκε κατά την κατάρτιση της πρότυπης καμπύλης και στην οποία παρατηρήθηκε μείωση της απορρόφησης του DPPH κατά 50%. (Λόγω της μικρής αυτής διαφοράς, στην παρούσα εργασία ελήφθησαν τα 40 mgL^{-1} ως η συγκέντρωση που προκαλεί ελάττωση κατά 50% στην απορρόφηση του αντιδραστηρίου του DPPH). Επομένως η ποσότητα γαλλικού οξέος που περιέχεται στα 170 μL (που χρησιμοποιήθηκαν για να αντιδράσουν με τα 4mL του standard διαλύματος του DPPH) θα είναι:

$$\frac{170 \times 40}{10^6} = 68 \times 10^{-4} \text{mg}$$

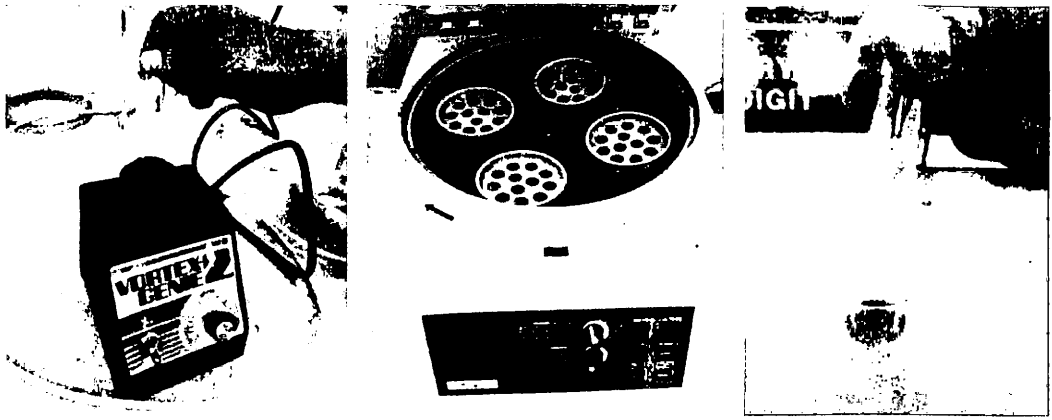
Η ποσότητα αυτή αντιστοιχεί στην ποσότητα του ελαιόλαδου (διαφορετική για το κάθε δείγμα) που προκαλεί ελάττωση κατά 50% της απορρόφησης των 4mL του standard διαλύματος του DPPH. Με αναγωγή της ποσότητας αυτής (της τάξεως των mg) στο kg, προκύπτει η Ολική Αντιοξειδωτική Ικανότητα που αφορά το ολικό κλάσμα του κάθε δείγματος εκλαιολάδου, Total Antioxidant Capacity (TAC_{tot}), του κάθε δείγματος εκπεφρασμένη σε ισοδύναμο Γαλλικού οξέος.

Για παράδειγμα, έστω ότι Q mg από ένα δείγμα ελαιόλαδου προκαλούν μείωση κατά 50% της απορρόφησης του διαλύματος του DPPH (IC_{50}), τότε η ποσότητα (TAC_{tot}) γαλλικού οξέος που αντιστοιχεί στο kg αυτού του δείγματος θα είναι:

$$TAC_{tot} = \frac{68 \times 10^{-4} \times 10^6}{IC_{50}} = \frac{68 \times 10^2}{IC_{50}} \text{ mg GA/kg ελαίου}$$

9.3 Προσδιορισμός ολικής αντιοξειδωτικής ικανότητας σε εκχύλιμα μεθανόλης (TAC_{meth}) των δειγμάτων ελαιόλαδου με την μέθοδο του DPPH.

Η εκχύλιση των δειγμάτων του ελαιόλαδου, έγινε με διάλυμα το οποίο αποτελείτο από 4 μέρη μεθανόλης και 1 μέρος νερού, σε δυο στάδια. Από κάθε δείγμα ελήφθη 1 g ελαιόλαδου στο οποίο προτέθηκαν 0,5 mL εκχυλιστικού διαλύματος. Ακολούθως έγινε ανάμειξη του ελαίου με το εκχυλιστικό διάλυμα σε ανακινητή (vortex) και αμέσως μετά με φυγοκέντριση για 5 min στις 5000 rpm το μείγμα διαχωρίστηκε στην λιπαρή και υδρόφιλη φάση (εικόνα 18). Στο επόμενο στάδιο απομακρύνθηκε με μικροπιπέτα το αρχικό υδρόφιλο κλάσμα, προστέθηκαν άλλα 0,5 mL εκχυλιστικού και εφαρμόστηκε η ίδια διαδικασία εκχύλισης και διαχωρισμού του λιπαρού από το υδρόφιλο κλάσμα. Στο τελικό στάδιο τα δύο υδρόφιλα κλάσματα αναμείχθηκαν (Μηنيώτη, 2009).



Εικόνα 18: Διαδικασία παραλαβής του μεθανολικού εκχυλίσματος.

Ο προσδιορισμός της ολικής αντιοξειδωτικής ικανότητας στο μεθανολικό εκχύλισμα των δειγμάτων έγινε με παρόμοιο τρόπο όπως στο ολικό τους κλάσμα. Σε υάλινους δοκιμαστικούς σωλήνες των 5 mL προστέθηκαν 170 μ L μεθανολικού εκχυλίσματος και στην συνέχεια προστέθηκαν 4 mL του standard διαλύματος του DPPH. Μετά από ελαφρά ανάμειξη εκχυλίσματος και αντιδραστηρίου, οι δοκιμαστικοί σωλήνες τοποθετήθηκαν σε σκοτεινό μέρος και μετά από 60 min έγινε ο προσδιορισμός της μείωσης της απορρόφησης του αντιδραστηρίου του DPPH.

Δεδομένου ότι για τον προσδιορισμό της ολικής αντιοξειδωτικής ικανότητας στο μεθανολικό εκχύλισμα, χρησιμοποιήθηκε ο ίδιος όγκος (170 μ L) εκχυλίσματος με τον όγκο των διαλυμάτων του γαλλικού οξέος (κατά τον προσδιορισμό της πρότυπης καμπύλης απορρόφησης του) και παράλληλα σε κάθε kg ελαιόλαδου αντιστοιχεί 1 L εκχυλιστικού διαλύματος μεθανόλης – νερού, οι τιμές της συγκέντρωσης του γαλλικού οξέος (mgL^{-1}) που αντιστοιχούν στο εκάστοτε ποσοστό μείωσης της απορρόφησης του DPPH, αφορούν την ισοδύναμη ποσότητα Γαλλικού οξέος (σε mg) που περιέχεται στο μεθανολικό εκχύλισμα ανά kg του εκάστοτε δείγματος ελαιόλαδου. Για παράδειγμα αν στο μεθανολικό εκχύλισμα ενός δείγματος, η τιμή του ποσοστού μείωσης της απορρόφησης του DPPH είναι A%, τότε σύμφωνα με της εξίσωση της πρότυπης καμπύλης του Γαλλικού οξέος, η ισοδύναμη ποσότητα γαλλικού οξέος που περιέχεται στο μεθανολικό του εκχύλισμα θα είναι:

$$\text{TAC}_{\text{meth}} = \frac{(A - 1,7)}{1,126} \text{ mg} / \text{kg}$$

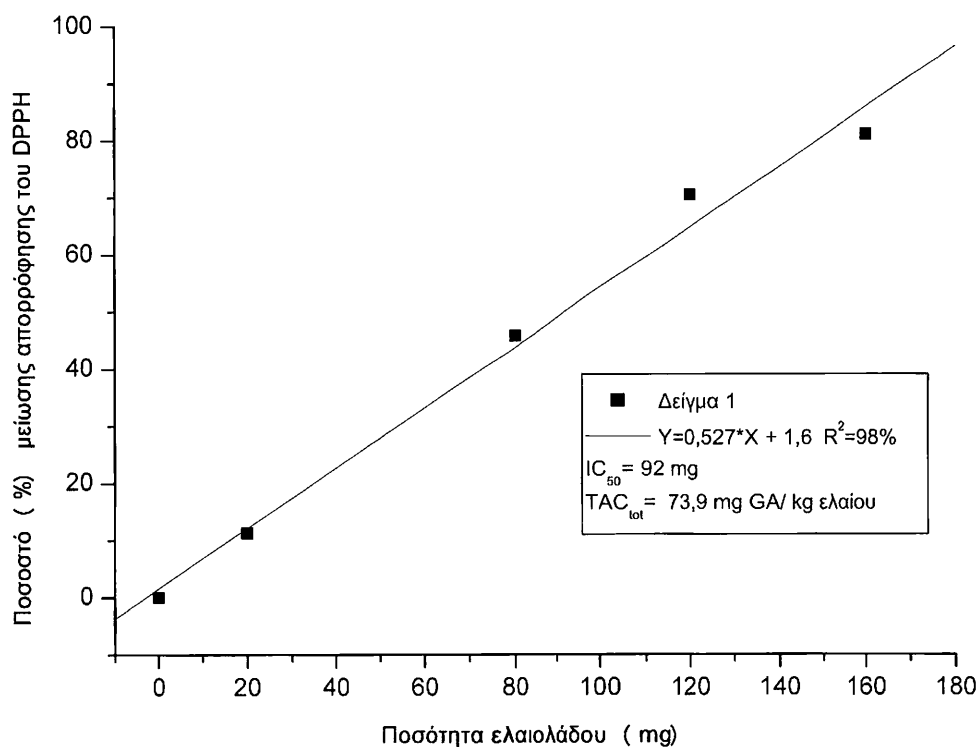
9.4 Προσδιορισμός της ταχύτητας αντίδρασης του ολικού κλάσματος στο αντιδραστήριο του DPPH.

Για τον προσδιορισμό αυτό, χρησιμοποιήθηκε μία ποσότητα από το κάθε δείγμα ελαιόλαδου που αντιστοιχεί στην IC_{50} κάθε δείγματος και αρκεί για να αντιδράσει με τον όγκο των 4 mL αντιδραστηρίου DPPH. Η ποσότητα αυτή, διαφορετική για το κάθε δείγμα, υπολογίστηκε από την χαρακτηριστική καμπύλη μείωσης της απορρόφησης του κάθε δείγματος ελαιόλαδου (που προσδιορίστηκε στο αρχικό στάδιο της μελέτης), και ήταν εκείνη που θεωρητικά προκαλεί ελάττωση της απορρόφησης των 4 mL του αντιδραστηρίου του DPPH κατά 50%.

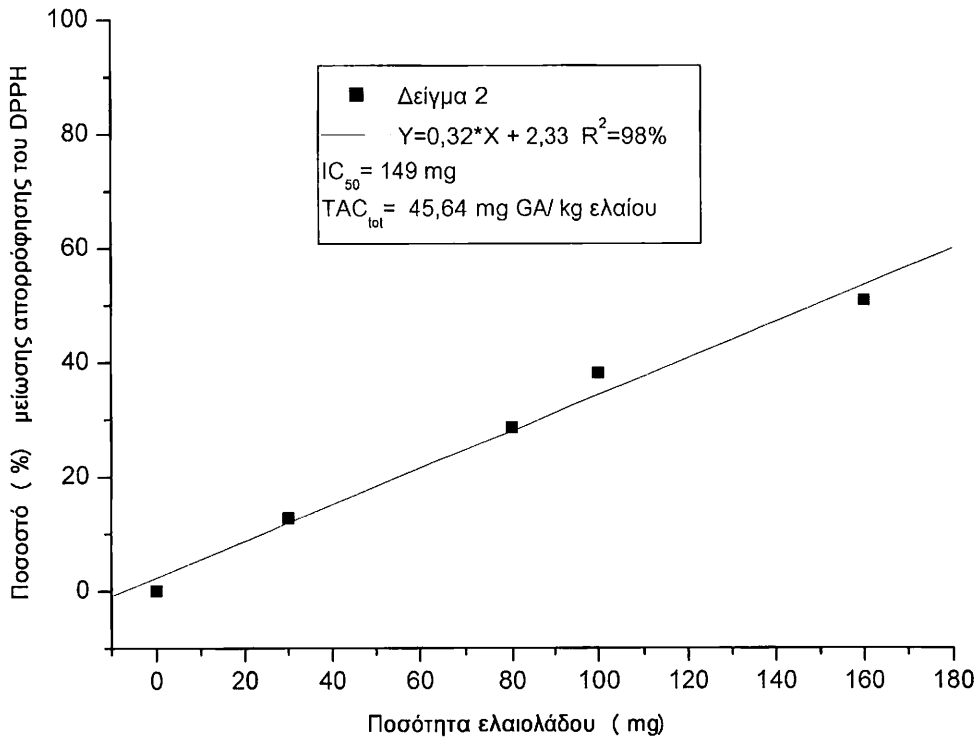
Κάθε μία από τις ποσότητες αυτές τοποθετήθηκε σε δοκιμαστικό σωλήνα των 5 mL και ακολούθως προστέθηκαν 4 mL αντιδραστηρίου DPPH. Μετά από μηχανική ανάδευση, οι δοκιμαστικοί σωλήνες σφραγίσθηκαν και τοποθετήθηκαν σε σκοτεινό μέρος. Οι μετρήσεις της μεταβολής της απορρόφησης στο φάσμα των 515 nm πραγματοποιήθηκαν μετά από 5, 10, 15, 20, 30, 40, 60, 90, 120, 180 και 360 min.

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΣΥΖΗΤΗΣΗ

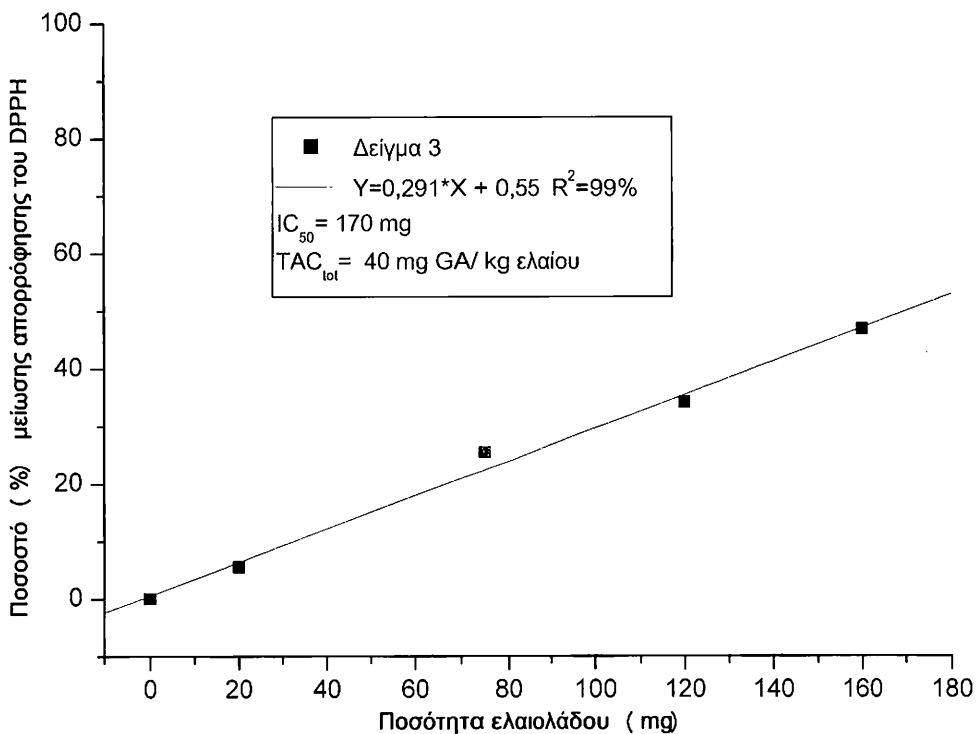
Στις ακόλουθες εικόνες παρουσιάζονται οι χαρακτηριστικές καμπύλες μείωσης της απορρόφησης του DPPH για το ολικό κλάσμα των δειγμάτων ελαιόλαδου που χρησιμοποιήθηκαν στην παρούσα εργασία. Οι γραμμικές εξισώσεις αποδίδουν την σχέση μεταξύ ποσότητας ελαιόλαδου και ποσοστών ελάττωσης της απορρόφησης του DPPH. Οι τιμές IC_{50} , την ποσότητα εκείνη που ελαττώνει κατά 50% την απορρόφηση των 4 mL DPPH. Οι τιμές TAC_{tot} αφορούν την ισοδύναμη ποσότητα σε Γαλλικό οξύ (GA) ανά kg ελαιόλαδου από το κάθε δείγμα.



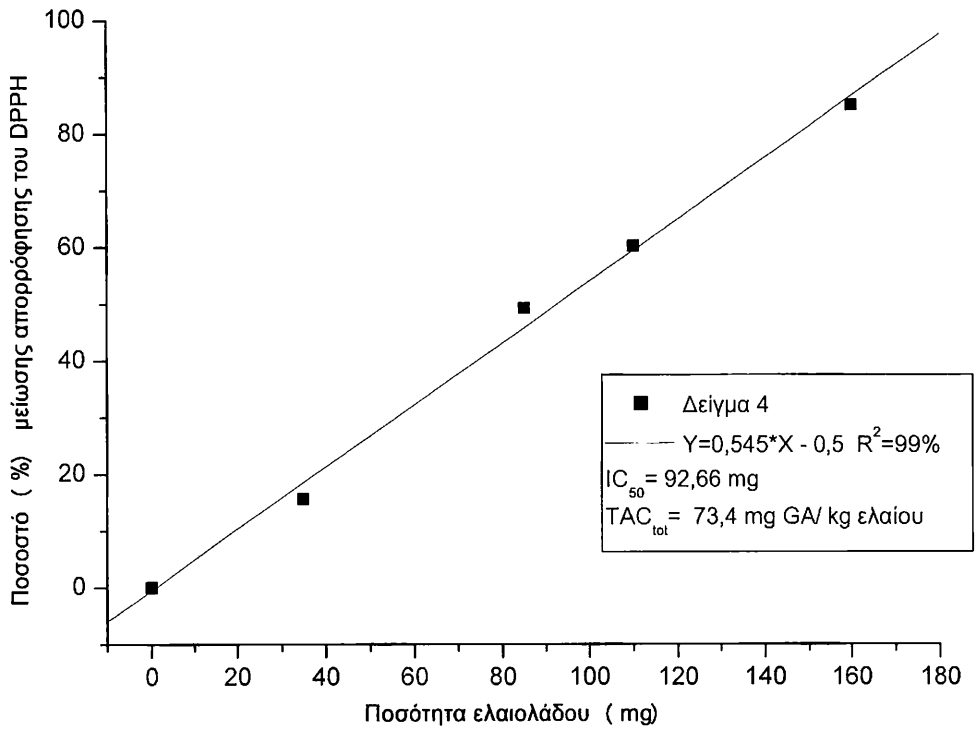
Εικόνα 19: Χαρακτηριστική καμπύλη της ολικής αντιοξειδωτικής ικανότητας (μεταβολής του ποσοστού απορρόφησης του διαλύματος του DPPH), για το ολικό κλάσμα του δείγματος ελαιόλαδου 1.



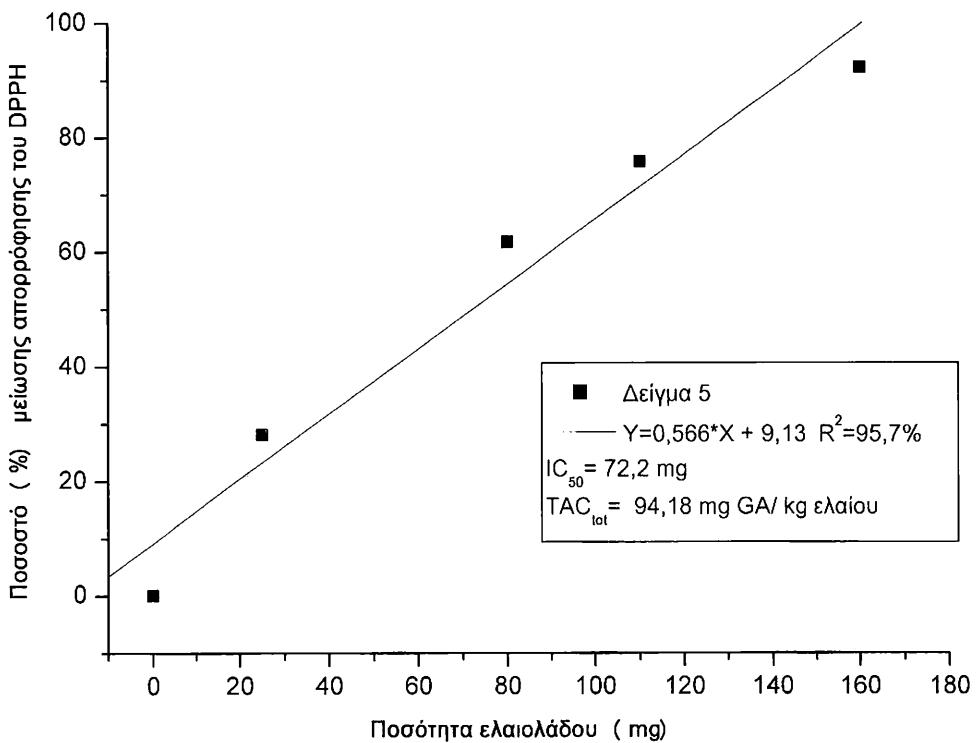
Εικόνα 20: Χαρακτηριστική καμπύλη της ολικής αντιοξειδωτικής ικανότητας, για το ολικό κλάσμα του δείγματος ελαιολάδου 2.



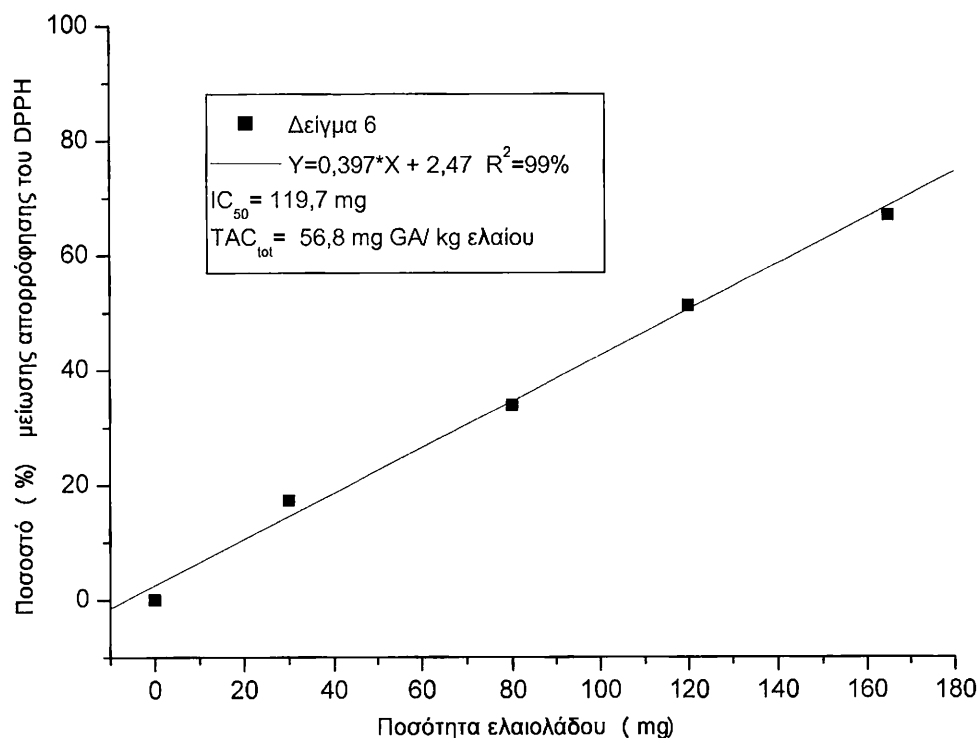
Εικόνα 21: Χαρακτηριστική καμπύλη της ολικής αντιοξειδωτικής ικανότητας, για το ολικό κλάσμα του δείγματος ελαιολάδου 3.



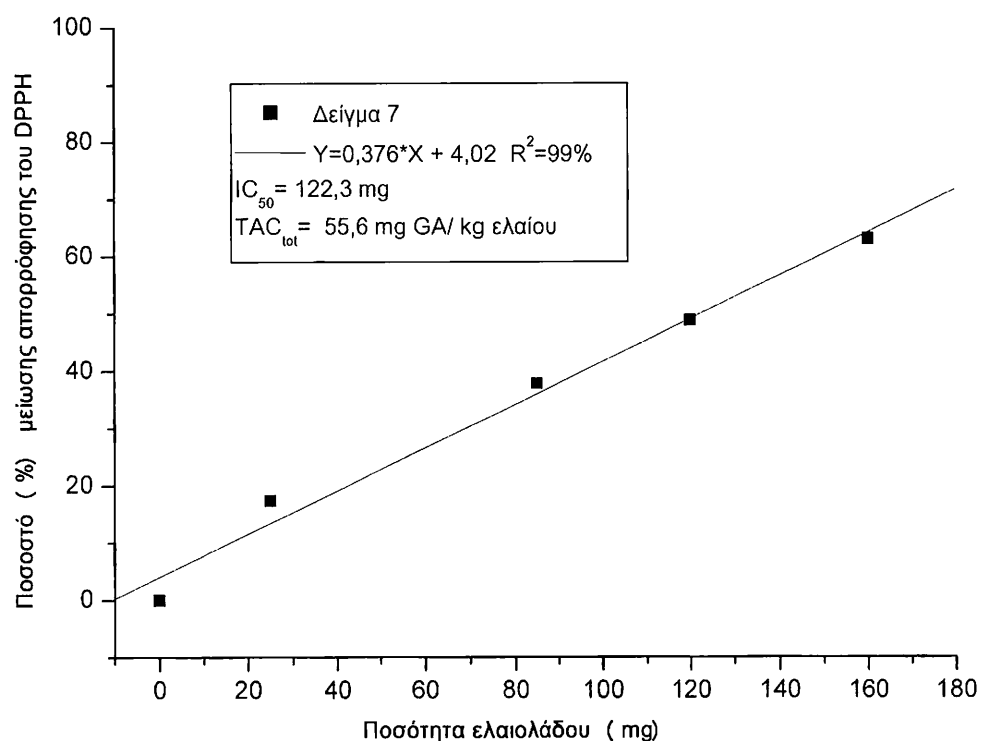
Εικόνα 22: Χαρακτηριστική καμπύλη της ολικής αντιοξειδωτικής ικανότητας, για το ολικό κλάσμα του δείγματος ελαιολάδου 4.



Εικόνα 23: Χαρακτηριστική καμπύλη της ολικής αντιοξειδωτικής ικανότητας, για το ολικό κλάσμα του δείγματος ελαιολάδου 5.



Εικόνα 24: Χαρακτηριστική καμπύλη της ολικής αντιοξειδωτικής ικανότητας, για το ολικό κλάσμα του δείγματος ελαιολάδου 6.



Εικόνα 25: Χαρακτηριστική καμπύλη της ολικής αντιοξειδωτικής ικανότητας, για το ολικό κλάσμα του δείγματος ελαιολάδου 7.

Η μείωση των ποσοστών απορρόφησης από το DPPH των δειγμάτων του ελαιόλαδου στα 515 nm, ακολουθεί σε κάθε περίπτωση ένα γραμμικό πρότυπο μεταβολής (γραμμική παλινδρόμηση πάνω στην ποσότητα ελαιόλαδου), με άλλα λόγια σε κάθε δείγμα ελαιόλαδου η μείωση των ποσοστών της απορρόφησης του φωτός σε μήκος κύματος στα 515 nm αυξάνεται με σταθερό ρυθμό που αποδίδεται με την κλίση της εκάστοτε γραμμικής εξίσωσης παλινδρόμησης (πίνακας 6).

Πίνακας 6: Εξισώσεις γραμμικής παλινδρόμησης των ποσοστών της ολικής αντιοξειδωτικής ικανότητας του ολικού κλάσματος των επτά δειγμάτων ελαιόλαδου σε σχέση με την ποσότητα που χρησιμοποιήθηκε.

Μεταχείριση	Εξίσωση παλινδρόμησης ($Y=b*X+a$)	F_{reg}	BE	P	R^2	n
Δείγμα 1	$Y=0,527*X+1,6$	237,9	1 και 3	<0,001	0,98	5
Δείγμα 2	$Y=0,320*X+2,33$	170	1 και 3	<0,001	0,98	5
Δείγμα 3	$Y=0,291*X+0,55$	379,73	1 και 3	<0,001	0,96	5
Δείγμα 4	$Y=0,545*X-0,5$	586,8	1 και 3	<0,001	0,99	5
Δείγμα 5	$Y=0,566*X+9,13$	101,2	1 και 3	0,002	0,96	5
Δείγμα 6	$Y=0,397*X+2,47$	489,5	1 και 3	<0,001	0,99	5
Δείγμα 7	$Y=0,376*X+4,02$	204,8	1 και 3	<0,001	0,99	5

Με βάση τις παραπάνω εξισώσεις, θέτοντας ως Y την τιμή 50, υπολογίσθηκε η IC_{50} του κάθε δείγματος. Όπως έχει περιγράψει προηγούμενα, η τιμή αυτή είναι αντίστοιχη με την τιμή της IC_{50} του γαλλικού οξέος και με την κατάλληλη αναγωγή προσδιορίσθηκαν οι TAC_{tot} (σε ισοδύναμη ποσότητα Γαλλικού οξέος ανά kg ελαιόλαδου) για το κάθε δείγμα.

Η δοκιμασία ύπαρξης στατιστικά σημαντικών διαφορών μεταξύ των συντελεστών παλινδρόμησης b (κλίσεις των ευθειών), βασίσθηκε στο κριτήριο του F, ενώ οι επιμέρους συγκρίσεις των συντελεστών παλινδρόμησης ανά δύο, με την δοκιμασία των Student-Newman-Keuls (SNK). Από την δοκιμασία του F, προκύπτει ότι υφίστανται στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των συντελεστών παλινδρόμησης b ($F_b= 14,51$ με 6 και 21 BE, $P<0,001$). Η όλη στατιστική μεθοδολογία περιγράφεται στο παράρτημα της παρούσας εργασίας

Στον παρακάτω πίνακα 7 παρουσιάζονται συγκεντρωτικά τα αποτελέσματα των προσδιορισμών της ολικής αντιοξειδωτικής ικανότητας, τόσο το ολικό κλάσμα (TAC_{tot}) όσο και στο μεθανολικό εκχύλισμα (TAC_{meth}), των επτά δειγμάτων ελαιόλαδου που χρησιμοποιήθηκαν στην παρούσα εργασία. Η ταξινόμηση έγινε με φθίνουσα σειρά της TAC_{tot} , για καλύτερη ερμηνεία των αποτελεσμάτων.

Πίνακας 7: Αποτελέσματα ολικής αντιοξειδωτικής ικανότητας του ολικού κλάσματος και του μεθανολικού εκχυλίσματος, εκπεφρασμένα σε ισοδύναμη ποσότητα Γαλλικού οξέος, για τα επτά δείγματα ελαιόλαδου.

Αριθμός δείγματος	TAC_{tot} mg GA/kg oil	TAC_{meth} mg GA/kg oil	Οξύτητα (%)	Τρόπος επεξεργασίας
ΔΕΙΓΜΑ 5	94,18 a	38,32	0,6	Δύο φάσεων
ΔΕΙΓΜΑ 4	74,4 a	20,7	1,0	Δύο φάσεων
ΔΕΙΓΜΑ 1	73,9 a	16,12	0,5	Τριών φάσεων
ΔΕΙΓΜΑ 6	56,8 b	12,2	0,5	Τριών φάσεων
ΔΕΙΓΜΑ 7	55,6 b	10,2	0,6	Τριών φάσεων
ΔΕΙΓΜΑ 2	45,64 bc	8,28	1,5	Τριών φάσεων
ΔΕΙΓΜΑ 3	40 c	10,9	0,6	Τριών φάσεων

Οι συντελεστές TAC_{tot} που συνοδεύονται από το ίδιο γράμμα δεν διαφέρουν στατιστικά σημαντικά μεταξύ τους σύμφωνα με την δοκιμασία SNK ($\alpha=0,05$ με 7 μέσους και 21 βαθμούς ελευθερίας). Η δοκιμασία σημαντικότητας βασίσθηκε στην σύγκριση των κλίσεων των ευθειών παλινδρόμησης και περιγράφεται στο παράρτημα της παρούσας εργασίας.

Με βάση την εκάστοτε IC_{50} έγινε και ο προσδιορισμός της ταχύτητας αντίδρασης του εκάστοτε δείγματος στο DPPH. Στον πίνακα 8 παρουσιάζονται τα ποσοστά μείωσης της απορρόφησης του αντιδραστήριου DPPH σε σχέση με τον χρόνο για τα επτά δείγματα που χρησιμοποιήθηκαν στην παρούσα εργασία.

Από τις τιμές του πίνακα 8 μπορούμε να διαπιστώσουμε ότι σε κάθε περίπτωση, στα αρχικά στάδια της αντίδρασης, το μεγαλύτερο μέρος των αντιοξειδωτικών του ελαιόλαδου αντιδρά ταχύτατα με το DPPH. Αντιπαραβάλλοντας τις τιμές των ποσοστών μείωσης των ποσοστών απορρόφησης του αντιδραστήριου στα 5 πρώτα λεπτά και των αντίστοιχων τιμών μετά από 3 και 6 ώρες, εύκολα διαπιστώνεται ότι σε κάθε περίπτωση δείγματος ελαιόλαδου το μεγαλύτερο ποσοστό της αντίδρασης ολοκληρώνεται στα 5-10 πρώτα min.

Πίνακας 8: Μεταβολή των ποσοστών μείωσης της απορρόφησης του DPPH σε σχέση με τον χρόνο αντίδρασης με τα επτά δείγματα ελαιόλαδου.

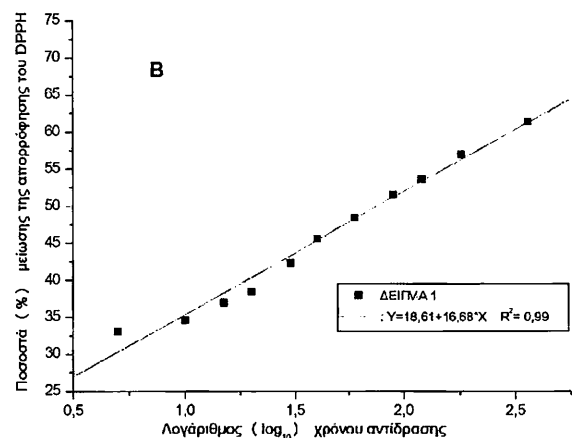
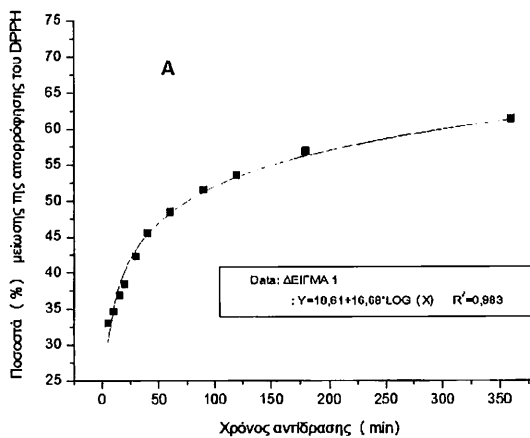
Χρόνος αντίδρασης (min)	Ποσοστά μείωσης απορρόφησης κατά την αντίδραση DPPH και ελαιόλαδου						
	Δ1	Δ2	Δ3	Δ4	Δ5	Δ6	Δ7
5	33,08	39,31	34,77	40,31	29,46	42,83	29,23
10	34,62	42,83	35,38	45,74	34,11	44,59	32,31
15	36,92	45,47	36,52	48,84	38,76	45,47	34,62
20	38,46	47,23	37,39	51,16	41,86	47,23	36,15
30	42,31	50,75	38,17	55,04	46,51	48,99	38,46
40	45,57	52,51	39,03	56,59	49,61	50,75	40,00
60	48,46	55,15	40,51	58,91	54,26	52,51	42,31
90	51,54	58,66	41,54	62,02	58,14	54,27	43,85
120	53,62	61,18	42,31	65,12	62,02	56,73	45,38
180	56,92	64,52	43,85	68,22	64,34	59,31	46,92
360	61,39	68,34	46,76	75,97	71,32	63,94	50,00

Επίσης, όπως αναλυτικά περιγράφεται στις ακόλουθες εικόνες, μετά από τα πέντε πρώτα λεπτά της αντίδρασης, η μεταβολή των ποσοστών απορρόφησης ακολουθεί ένα λογαριθμικό πρότυπο αύξησης (πλαίσιο A των εικόνων 26, 27, 28, 29, 30, 31 και 32), το οποίο αποδίδεται με την γενική εξίσωση της μορφής :

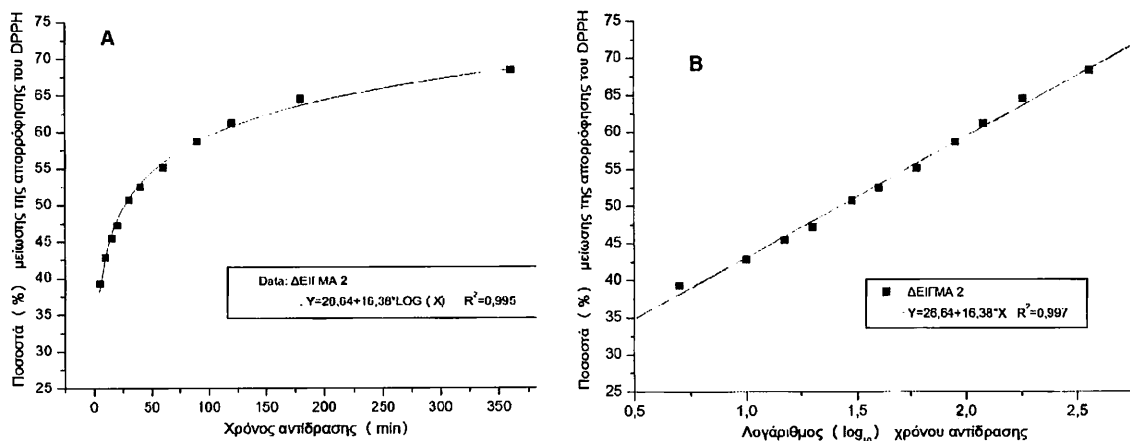
$$Y = a + b * \log_{10}(X)$$

Αντικαθιστώντας την κλίμακα της ανεξάρτητης μεταβλητής X με τις αντίστοιχες τιμές των δεκαδικών λογαρίθμων των τιμών της X, η νέα εξίσωση που προκύπτει έχει γραμμική μορφή (πλαίσιο B των εικόνων) και λαμβάνει την μορφή:

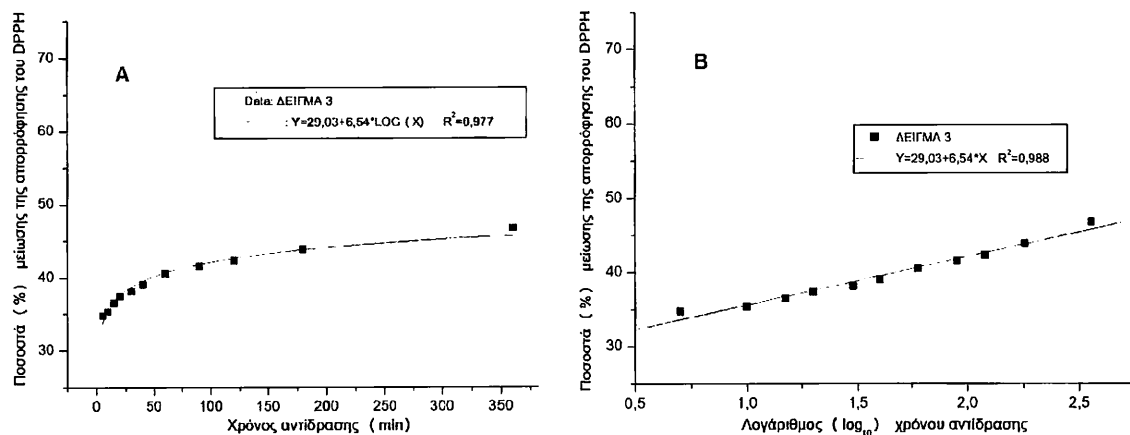
$$Y = a + b * X' \quad \text{όπου } X'_i = \log_{10} X_i$$



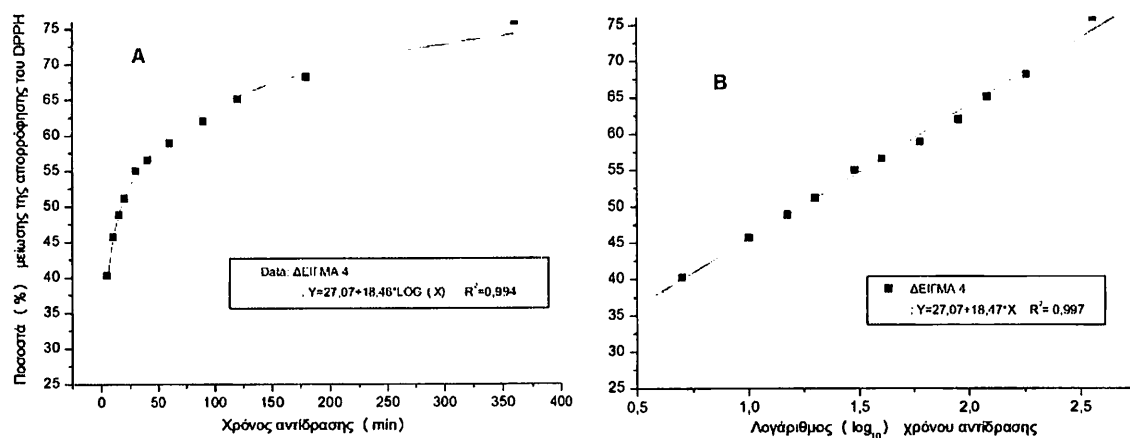
Εικόνα 26: Μεταβολή των ποσοστών απορρόφησης του DPPH για το δείγμα 1 του ελαιόλαδου. (A) σε σχέση με τον χρόνο (min) και (B) σε σχέση με τον λογάριθμο (\log_{10} min) του χρόνου αντίδρασης.



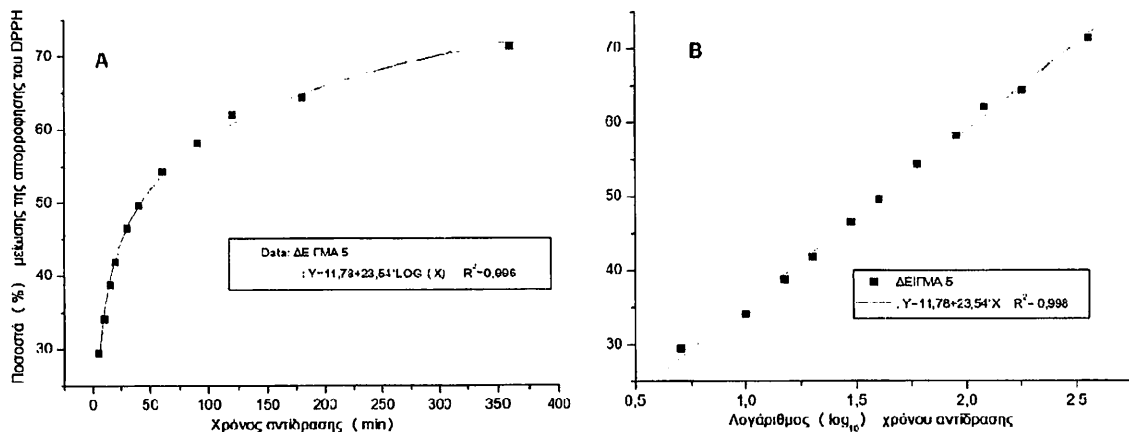
Εικόνα 27: Μεταβολή των ποσοστών απορρόφησης του DPPH για το δείγμα 2 του ελαιόλαδου. (A) σε σχέση με τον χρόνο (min) και (B) σε σχέση με τον λογάριθμο (\log_{10} min) του χρόνου αντίδρασης.



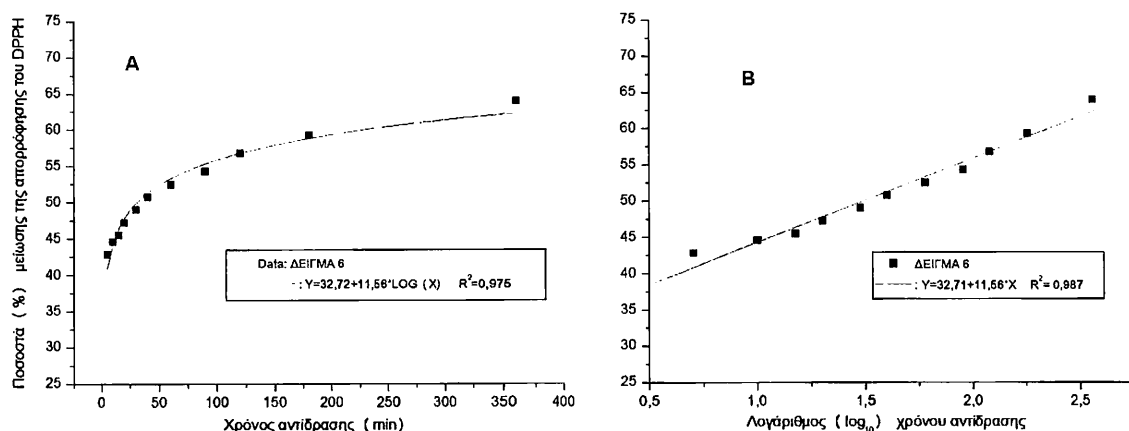
Εικόνα 28: Μεταβολή των ποσοστών απορρόφησης του DPPH για το δείγμα 3 του ελαιόλαδου. (A) σε σχέση με τον χρόνο (min) και (B) σε σχέση με τον λογάριθμο (\log_{10} min) του χρόνου αντίδρασης.



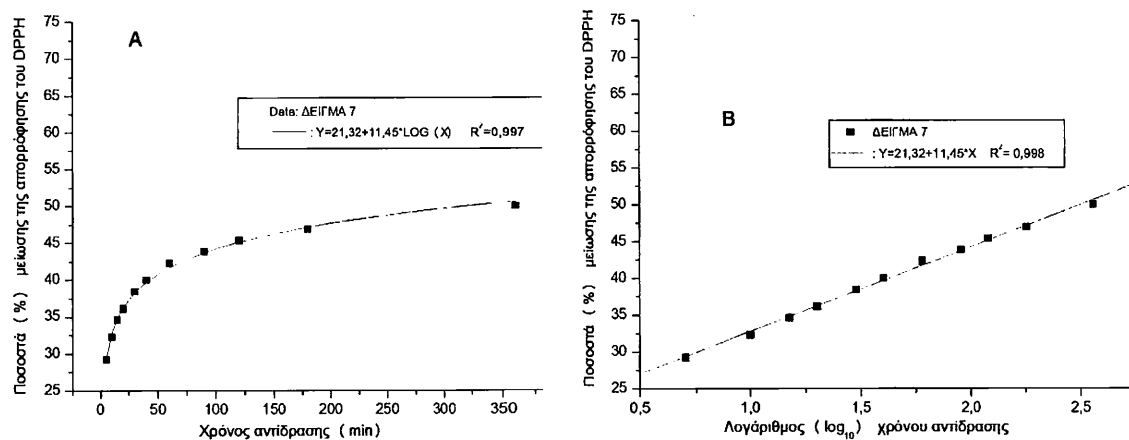
Εικόνα 29: Μεταβολή των ποσοστών απορρόφησης του DPPH για το δείγμα 4 του ελαιόλαδου. (A) σε σχέση με τον χρόνο (min) και (B) σε σχέση με τον λογάριθμο (\log_{10} min) του χρόνου αντίδρασης.



Εικόνα 30: Μεταβολή των ποσοστών απορρόφησης του DPPH για το δείγμα 5 του ελαιόλαδου. (A) σε σχέση με τον χρόνο (min) και (B) σε σχέση με τον λογάριθμο (\log_{10} min) του χρόνου αντίδρασης.



Εικόνα 31: Μεταβολή των ποσοστών απορρόφησης του DPPH για το δείγμα 6 του ελαιόλαδου. (A) σε σχέση με τον χρόνο (min) και (B) σε σχέση με τον λογάριθμο (\log_{10} min) του χρόνου αντίδρασης.



Εικόνα 32: Μεταβολή των ποσοστών απορρόφησης του DPPH για το δείγμα 7 του ελαιόλαδου. (Α) σε σχέση με τον χρόνο (min) και (Β) σε σχέση με τον λογάριθμο (\log_{10} min) του χρόνου αντίδρασης.

Η ανάλυση της διασποράς των δεδομένων του πίνακα 6, έγινε με γραμμική παλινδρόμηση των ποσοστών απορρόφησης πάνω στους δεκαδικούς λογάριθμους του χρόνου αντίδρασης του DPPH με τα αντιοξειδωτικά των δειγμάτων ελαιόλαδου. Στον πίνακα 9 παρουσιάζονται συγκεντρωτικά τα αποτελέσματα της ανάλυσης. Σε κάθε γραμμική σχέση ο αριθμός των ζευγών παρατηρήσεων (x,y) είναι n=11.

Πίνακας 9: Εξισώσεις γραμμικής παλινδρόμησης των ποσοστών μείωσης της απορρόφησης του DPPH πάνω στους λογάριθμους του χρόνου αντίδρασης με την ποσότητα ελαιόλαδου που αντιστοιχεί στην IC₅₀ του κάθε δείγματος.

Μεταχείριση	Εξίσωση παλινδρόμησης ($Y=b \cdot X'+a$)	F _{reg} (1 και 9 ΒΕ)	P	R ²	Σημαντικότητα διαφοράς μεταξύ των κλίσεων
Δείγμα 5	$Y=23,54 \cdot X'+11,78$	2384	<0,001	0,99	z
Δείγμα 4	$Y=18,46 \cdot X'+27,07$	1582	<0,001	0,99	y
Δείγμα 1	$Y=16,68 \cdot X'+18,61$	525,2	<0,001	0,98	x
Δείγμα 2	$Y=16,38 \cdot X'+26,65$	1956	<0,001	0,99	x
Δείγμα 6	$Y=11,56 \cdot X'+32,71$	352,5	<0,001	0,97	w
Δείγμα 7	$Y=11,45 \cdot X'+31,31$	2886	<0,001	0,99	w
Δείγμα 3	$Y=6,53 \cdot X'+29,03$	383,36	<0,001	0,98	v

Σημ: Στην τελευταία στήλη το ίδιο γράμμα δηλώνει ότι μεταξύ των συγκεκριμένων συντελεστών παλινδρόμησης δεν υφίσταται στατιστικά σημαντική διαφορά. Οι συγκρίσεις των συντελεστών παλινδρόμησης έγιναν με την δοκιμασία SNK για επίπεδο σημαντικότητας $\alpha=0,05$ με 7 μέσους και 63 βαθμούς ελευθερίας.

Η δοκιμασία του F έδειξε ότι μεταξύ των κλίσεων των γραμμών παλινδρόμησης (συντελεστές παλινδρόμησης -b) υπάρχουν στατιστικά σημαντικές διαφορές ($F_b=131,2$ με 6 και 63 βαθμούς ελευθερίας, $P<0,001$) και αναλυτικά περιγράφεται στο παράρτημα της εργασίας.

Οι συντελεστές παλινδρόμησης στις παραπάνω εξισώσεις του πίνακα 9, δεν εκφράζουν την ταχύτητα των αντιδράσεων αποχρωματισμού του DPPH από τα αντιοξειδωτικά του ελαιόλαδου, αλλά τον χρόνο που διαρκεί η αντίδραση. Όσο μεγαλύτερος είναι ο συντελεστής αυτός, τόσο περισσότερο διαρκεί η αντίδραση και εξακολουθεί για αρκετό χρόνο μετά τα 60 πρώτα min, (χρόνος αναφοράς για

τον προσδιορισμό της TAC στο ολικό κλάσμα και στο μεθανολικό εκχύλισμα των δειγμάτων). Η απορρόφηση του φωτός σε μήκος κύματος 515 nm από το DPPH εξακολουθεί, έστω και με αργό ρυθμό, να ελαττώνεται και μετά τα 60 min. Ως αποτέλεσμα ήταν μετά από 3 και 6 ώρες παραμονής στο σύστημα, σε πέντε δείγματα και ιδιαίτερα σε αυτά που παραλήφθηκαν από διφασικά ελαιοτριβεία, το ποσοστό μείωσης της απορρόφησης του αντιδραστηρίου να ξεπεράσει αρκετά την τιμή του 50% (σημειώνεται ότι σε κάθε περίπτωση χρησιμοποιήθηκε ποσότητα ελαιόλαδου ίση με την IC_{50} του κάθε δείγματος).

Η παρατήρηση αυτή είναι ιδιαίτερα σημαντική καθώς φανερώνει ότι στην περίπτωση του ελαιόλαδου ο χρόνος των 60 min δεν είναι επαρκής για την ολοκλήρωση της αντίδρασης αποχρωματισμού του DPPH. Αυτό μπορεί να έχει σαν αποτέλεσμα την υποτίμηση της πραγματικής TAC, σε αρκετές περιπτώσεις ελαίου.

ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Όπως έχει ήδη αναφερθεί στο εισαγωγικό μέρος της παρούσας εργασίας, το ελαιόλαδο είναι πλούσιο σε ποικίλες αντιοξειδωτικές ουσίες, οι οποίες το προστατεύουν από τα φαινόμενα αυτοοξειδωσης και οξειδωτικής τάγγισης, ενώ παράλληλα το καθιστούν ένα από τα πολυτιμότερα συστατικά στης ανθρώπινης διατροφής.

Σύμφωνα με τα αποτελέσματα της παρούσας εργασίας, ο τρόπος επεξεργασίας του ελαιοκάρπου στο ελαιοτριβείο και ο τρόπος παραλαβής της λιπαρής φάσης (ελαιόλαδο) από την ελαιοπυρήνα, αποτελούν τον κυριότερο παράγοντα που επηρεάζει την διατήρηση των αντιοξειδωτικών ουσιών στο τελικό προϊόν της επεξεργασίας της ελιάς στο ελαιοτριβείο. Πράγματι, από τα επτά δείγματα ελαιόλαδου που αναλύθηκαν στην παρούσα εργασία, τις υψηλότερες τιμές ολικής αντιοξειδωτικής ικανότητας (TAC), τόσο στο ολικό τους κλάσμα όσο και στο μεθανολικό τους εκχύλισμα (πίνακας 7), παρουσίασαν τα δείγματα που παραλείφθηκαν από ελαιοτριβεία δύο φάσεων.

Εκτός από την μεγαλύτερη TAC, τα ελαιόλαδα που παραλήφθηκαν από διφασικά ελαιοτριβεία παρουσίασαν και υψηλότερους δείκτες διάρκειας της αντίδρασης με το DPPH από όλα τα δείγματα που παραλήφθηκαν από ελαιοτριβεία τριών φάσεων (πίνακας 8). Η διαφορά αυτή μας δείχνει ότι και η σύνθεση των αντιοξειδωτικών ουσιών διαφέρει μεταξύ των δειγμάτων ελαιόλαδου. Τα δείγματα από διφασικά ελαιοτριβεία φαίνεται να περιέχουν περισσότερες αντιοξειδωτικές ουσίες, οι οποίες μπορούν να αντιδρούν με το DPPH για μεγαλύτερο χρονικό διάστημα.

Η ογκομετρούμενη οξύτητα έχει δευτερεύοντα ρόλο στην TAC και στον χρόνο αντίδρασης με το DPPH, καθώς ελαιόλαδα προερχόμενα από ελαιοτριβεία τριών φάσεων, αν και κατηγορίας «έξτρα παρθένο» με ογκομετρούμενη οξύτητα 0,5 % και 0,6%, βρέθηκαν με χαμηλότερη TAC και μικρότερο χρόνο αντίδρασης από ότι το δείγμα 4, το οποίο αν και είχε οξύτητα 1 % παρουσίασε σημαντικά μεγαλύτερη TAC και μεγαλύτερη διάρκεια αντίδρασης με το DPPH.

Η μόνη διαφορά μεταξύ των φυγοκεντρικών ελαιοτριβείων τριών φάσεων και δύο φάσεων είναι ο τύπος του κύριου φυγοκεντριτή (Decanter), ενώ όλα τα υπόλοιπα μηχανήματα επεξεργασίας της ελιάς για την εξαγωγή του ελαιόλαδου,

παραμένουν τα ίδια, όπως και τα στάδια επεξεργασίας της. Οι φυγοκεντριτές τριών φάσεων διαχωρίζουν την ελαιοζύμη σε τρία κλάσματα, την λιπαρή φάση (ελαιόλαδο), υδατική φάση (νερό) και την στερεή φάση (ελαιοπυρήνα). Στους φυγοκεντριτές δύο φάσεων η ελαιοζύμη διαχωρίζεται σε δύο κλάσματα. Την λιπαρή φάση (το ελαιόλαδο) και την ελαιοπυρήνα, εντός της οποίας παραμένει και το υδατικό κλάσμα της ελαιοζύμης. Η διαφορά αυτή θεωρείται ότι δεν επηρεάζει την σύσταση του εκάστοτε ελαιόλαδου.

Οι διαφορές που παρατηρούνται στην σύσταση του ελαιόλαδου και ιδιαίτερα η περιεκτικότητα σε αντιοξειδωτικές ουσίες επηρεάζεται από τον τρόπο επεξεργασίας της ελαιοζύμης πριν τον φυγοκεντριτή, κατά την διάρκεια της μάλαξης. Στα τριφασικά ελαιοτριβεία είναι σύνηθες να προστίθεται νερό στην ελαιοζύμη και να γίνεται η μάλαξη σε υψηλότερη θερμοκρασία από την συνιστώμενη, με σκοπό την επιτάχυνση της διαδικασίας συνένωσης των ελαιοσταγονιδίων για την διαχωρισμό του ελαίου από τα υπόλοιπα υγρά της ελαιοζύμης. Αυτή η πρακτική δεν έχει καμία επίδραση στην ποσότητα του παραγόμενου ελαιόλαδου ούτε και στην περιεκτικότητα της ελαιοπυρήνας σε νερό, αφού ο φυγοκεντριτής αναλαμβάνει την απομάκρυνση του πρόσθετου νερού. Επιδρά αρνητικά όμως στην σύνθεση του ελαιόλαδου καθώς πολλά από τα συστατικά του, τα οποία έχουν μεγάλη αντιοξειδωτική ικανότητα, είναι πτητικά αλλά και υδατοδιαλυτά, όπως είναι οι διάφορες φαινολικές ουσίες που περιέχονται στον ελαιοκαρπο και η παραπάνω μεταχείριση κατά την μάλαξη προκαλεί σημαντική ελάττωση της περιεκτικότητας του ελαιόλαδου στις ουσίες αυτές.

Αντίθετα η προσθήκη νερού στην ελαιοζύμη και η αύξηση της θερμοκρασίας της κατά την μάλαξη, δεν είναι απαραίτητες ενέργειες. Επιπλέον η χρήση νερού αυξάνει την υγρασία της ελαιοπυρήνας κάτι που είναι εντελώς ανεπιθύμητο κατά την μετέπειτα χρήση της στα πυρηνελαιουργεία.

Ο μόνος τρόπος διατήρησης των πτητικών και υδατοδιαλυτών ουσιών στο ελαιόλαδο κατά την επεξεργασία της ελαιοζύμης, ανεξάρτητα από τον τύπο του φυγοκεντριτή, είναι ο επαρκής χρόνος μάλαξης στους μαλακτῆρες, χωρίς προσθήκη νερού και αύξηση θερμοκρασίας της ελαιοζύμης κατά το στάδιο της μάλαξης. Αυτός πιθανά είναι και ο λόγος που το δείγμα 1 είχε υψηλές τιμές, τόσο στο ολικό του κλάσμα (TAC_{tot}) όσο και στο μεθανολικό του εκχύλισμα (TAC_{meth}),

αντίστοιχες με εκείνες από τα δείγματα 4 και 5 που παραλήφθηκαν από ελαιοτριβεία δύο φάσεων, ενώ και η διάρκεια αντίδρασης στο DPPH ήταν μεγαλύτερη από όλα τα δείγματα ελαιόλαδου από τριφασικά ελαιοτριβεία.

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ

1. Σύγκριση χαρακτηριστικών καμπύλων ολικής αντιοξειδωτικής ικανότητας (TAC_{tot}) για το ολικό κλάσμα των δειγμάτων ελαιόλαδου.

1.1. Έλεγχος ισότητας συντελεστών παλινδρόμησης (b)

Για τον έλεγχο της υπόθεσης $H_0 : b_1=b_2=b_3=b_4=b_5=b_6=b_7$ χρησιμοποιούμε την δοκιμασία του F, όπου:

$$F_b = \frac{\frac{(ATY\pi_{com} - ATY\pi_{bal})}{(k-1)}}{\frac{ATY_{bal}}{BE_{bal}}} \quad (1)$$

Με BE (βαθμοί ελευθερίας) για τον αριθμητή (k-1) και BE_{bal} για τον παρονομαστή.

Παρακάτω εξηγείται το τι αφορούν οι διάφοροι τελεστές της εξίσωσης (1).

k : πλήθος εξισώσεων

BE_{bal} : Συμψηφισμένοι Βαθμοί Ελευθερίας

$$BE_{bal} = \sum_{v=1}^l BE_v$$

Τα $ATY\pi$ στην εξίσωση (1) αφορούν: Άθροισμα τετραγώνων των αποκλίσεων των πραγματικών τιμών της εξαρτημένης μεταβλητής (Y) από τις αντίστοιχες προβλεπόμενες από την παλινδρόμηση. (Άθροισμα τετραγώνων των υπολοίπων από την παλινδρόμηση):

$$ATY\pi = \sum_{i=1}^n (Y_i - \hat{Y}_i)^2 = AT_{YY} - \mathbf{b} * \mathbf{A}\Gamma_{XY} \quad \text{or} \quad AT_{YY} - (\mathbf{A}\Gamma_{XY})^2 / AT_{XX}$$

AT_{YY} : Άθροισμα τετραγώνων των αποκλίσεων των πραγματικών τιμών της εξαρτημένης μεταβλητής (Y) από την μέση τιμή της (\bar{Y}).

$$\sum_{i=1}^n (Y_i - \bar{Y})^2$$

AT_{XX} : Άθροισμα τετραγώνων των αποκλίσεων των τιμών της ανεξάρτητης μεταβλητής (X) από την μέση τιμή της (\bar{X}).

$$\sum_{i=1}^n (X_i - \bar{X})^2$$

AG_{XY} : Άθροισμα γινομένων των αποκλίσεων των πραγματικών τιμών εξαρτημένης μεταβλητής (Y) από την μέση τιμή της (\bar{Y}) επί τις αντίστοιχες αποκλίσεις της ανεξάρτητης μεταβλητής (X) από την μέση τιμή της (\bar{X}).

$$\sum_{i=1}^n [(Y_i - \bar{Y}) * (X_i - \bar{X})]$$

b: Συντελεστής παλινδρόμησης : $b=AG_{XY}/AT_{XX}$

Στην εξίσωση (1) είναι:

$$ATY_{bal} = \sum_{v=1}^k ATY_v \quad \text{όπου } k = \text{πλήθος εξισώσεων που συγκρίνονται}$$

$$ATY_{com} = AT_{YY_{com}} - \frac{(AG_{XY_{com}})^2}{AT_{XX_{com}}}$$

$$\text{όπου } AT_{YY_{com}} = \sum_{v=1}^k AT_{YY_v}, \quad AT_{XX_{com}} = \sum_{v=1}^k AT_{XX_v} \quad \text{και } AG_{XY_{com}} = \sum_{v=1}^k AG_{XY_v}$$

Στον παρακάτω πίνακα δίνονται οι αριθμητικοί τελεστές για την σύγκριση των συντελεστών παλινδρόμησης των χαρακτηριστικών καμπύλων ολικής αντιοξειδωτική ικανότητας του ολικού κλάσματος των επτά δειγμάτων ελαιόλαδου που χρησιμοποιήθηκαν στην παρούσα εργασία.

Σύγκριση γραμμικών εξισώσεων των χαρακτηριστικών καμπύλων της TAC_{tot} των επτά δειγμάτων ελαιόλαδου.

	AT_{XX}	AG_{XY}	AT_{YY}	n	b_{lin}	ATY_{π}	BE
ΔΕΙΓΜΑ 1	17920	9453,521	5049,99	5	0,52754	62,87726	3
ΔΕΙΓΜΑ 2	15520	4971,429	1620,559	5	0,320324	28,09142	3
ΔΕΙΓΜΑ 3	17900	5210,317	1528,597	5	0,291079	11,98165	3
ΔΕΙΓΜΑ 4	15730	8567,656	4690,4	5	0,54467	23,85661	3
ΔΕΙΓΜΑ 5	14980	8984,375	5548,096	5	0,599758	159,6448	3
ΔΕΙΓΜΑ 6	17720	7039,37	2813,566	5	0,397256	17,13611	3
ΔΕΙΓΜΑ 7	17430	6562,205	2506,789	5	0,376489	36,19057	3
balanced						339,7785	21
Comon	117200	50788,87	23758	35	0,433352	1748,529	

για το συγκεκριμένο πείραμα είναι:

$$F_b = \frac{\frac{(1748,53 - 339,78)}{(7 - 1)}}{\frac{339,78}{21}} = 14,51^{**}$$

τιμή πολύ σημαντική, αφού F για 6 και 21 ΒΕ με $\alpha = 0,05$ είναι 2,57

και συνεπώς απορρίπτεται η μηδενική υπόθεση ($H_0 : b_1=b_2=b_3=b_4=b_5=b_6=b_7$), και δεχόμαστε ότι οι συντελεστές παλινδρόμησης διαφέρουν στατιστικά μεταξύ τους

1.2. Έλεγχος κατά ζεύγη των κλίσεων των ευθειών παλινδρόμησης με την δοκιμασία SNK.

Για να δούμε ποιοι συντελεστές (b_i) διαφέρουν από τους υπόλοιπους χρησιμοποιούμε την δοκιμασία των Student-Newman-Keul (SNK) κατά ζεύγη. Η κρίσιμη τιμή της εκάστοτε σύγκρισης δίνεται από την σχέση:

$$q_b = \frac{b_1 - b_2}{\sqrt{\frac{s_{yp}^2}{2} * \left(\frac{1}{AT1_{xx}} + \frac{1}{AT2_{xx}} \right)}} \quad (2)$$

Ο παρονομαστής της παραπάνω σχέσης είναι το Τυπικό Σφάλμα της εκάστοτε σύγκρισης :

$$T\Sigma = \sqrt{\frac{s_{yp}^2}{2} * \left(\frac{1}{AT1_{xx}} + \frac{1}{AT2_{xx}} \right)}$$

ενώ η τιμή s_{yp}^2 είναι το σταθμισμένο ΜΤΥπ (μέσο τετράγωνο του πειραματικού σφάλματος - υπολοίπου) των δύο παλινδρομήσεων που συγκρίνονται.

$$s_{yp}^2 = \left(\frac{AT\Upsilon\pi1 + AT\Upsilon\pi2}{n_1 + n_2 - 4} \right)$$

Οπότε η σχέση (2) γίνεται:

$$q_b = \frac{b_1 - b_2}{\sqrt{\frac{(AT\Upsilon\pi1 + AT\Upsilon\pi2)}{n_1 + n_2 - 4}} * \left(\frac{1}{AT1_{xx}} + \frac{1}{AT2_{xx}} \right)}$$

Οι τιμές των q_b που βρέθηκαν παρουσιάζονται στον παρακάτω πίνακα:

Πειραματικές τιμές της στατιστικής q_{SNK} για την σύγκριση των συντελεστών παλινδρόμησης (b).

	D1	D2	D3	D4	D5	D6
D2	6,863					
D3	8,959	1,459				
D4	-0,583	-9,530	-13,427			
D5	-1,515	-6,168	-7,371	-1,234		
D6	4,762	-3,604	-6,432	7,281	4,753	
D7	4,941	-2,198	-4,006	6,836	4,960	0,9234

Οι κρίσιμες τιμές της στατιστικής SNK για BE υπολοίπου = 21 και $\alpha=0,05$, ανάλογα με τον αριθμό των συντελεστών που συγκρίνουμε είναι:

No Means	SNK
2	2,941
3	3,565
4	3,942
5	4,213
6	4,424
7	4,597

Ταξινομούμε τους συντελεστές b σε φθίνουσα σειρά:

A/A Δείγματος	Κλίση (b) Ευθείας παλινδρόμησης	Σημαντική Διαφορά (για $\alpha=0,05$)
D5	0,599758	a
D4	0,54467	a
D1	0,52754	a
D6	0,397256	b
D7	0,376489	b
D2	0,320324	bc
D3	0,291079	c

Οι συντελεστές που συνοδεύονται από το ίδιο γράμμα δεν διαφέρουν στατιστικά σημαντικά μεταξύ τους για επίπεδο σημαντικότητας $\alpha=0,05$.

Ο τρόπος που εργαζόμαστε είναι ο εξής: Όταν η τιμή της q_b από την σύγκριση δύο συντελεστών παλινδρόμησης είναι μεγαλύτερη από την αντίστοιχη κρίσιμη τιμή, τότε συμπεραίνουμε ότι οι δύο συντελεστές είναι διαφορετικοί. Για παράδειγμα η τιμή q από την σύγκριση των συντελεστών παλινδρόμησης μεταξύ των μεταχειρίσεων D3 και D4 είναι 13,42. Μεταξύ τους παρεμβάλλονται άλλοι τρεις συντελεστές, οπότε την τιμή 13,42 την συγκρίνουμε με την κρίσιμη

τιμή $q_5=4,21$. Αφού $13,42>4,21$ συμπεραίνουμε ότι οι συντελεστές παλινδρόμησης 0,545 (για D4) και 0,291 (για D3) είναι διαφορετικοί.

Δεδομένου ότι οι παραπάνω συντελεστές εκφράζουν την ανά mg ελαιόλαδου αντιοξειδωτική ικανότητα, η διαφορές μεταξύ τους παραμένουν αναλογικά και στο kg ελαιόλαδου (ποσότητα αναφοράς για την TAC_{tot}).

2. Σύγκριση των γραμμικών εξισώσεων που εκφράζουν την ταχύτητα αντίδρασης του DPPH με την IC₅₀ των επτά δειγμάτων ελαιόλαδου.

2.1. Έλεγχος ισότητας συντελεστών παλινδρόμησης (b)

Πίνακας σύγκρισης των γραμμικών εξισώσεων της μεταβολής των ποσοστών απορρόφησης του DPPH σε σχέση με τον λογάριθμο (log₁₀ min) του χρόνου αντίδρασης, με την IC₅₀ των επτά δειγμάτων ελαιόλαδου .

A/A δείγματος	AT _{xx}	AΓ _{xy}	AT _{yy}	n	b lin	AT _{Υπ}	BE
1	3,17973	53,03	899,72	11	16,6798965	15,15773	9
2	3,17973	52,07	856,7553	11	16,377091	3,922794	9
3	3,17973	20,78	139,0156	11	6,5357843	3,18875	9
4	3,17973	58,72	1090,406	11	18,465777	6,166359	9
5	3,17973	74,84	1768,36	11	23,538145	6,648553	9
6	3,17973	36,77	436,1005	11	11,564444	10,85499	9
7	3,17973	36,41	418,2895	11	11,451632	1,300109	9
balanced						47,23928	63
Comon	22,25811	332,6	5608,647	77	14,944549	637,5314	

Η τιμή του F_b για τον έλεγχο της υπόθεσης H₀ : b₁=b₂=b₃=b₄=b₅=b₆=b₇, είναι:

$$F_b = \frac{\frac{(637,53 - 47,24)}{(7 - 1)}}{\frac{47,24}{63}} = 131,2^{***}$$

Επειδή η κρίσιμη τιμή του F για 6 και 63 βαθμούς ελευθερίας σε επίπεδο σημαντικότητας $\alpha=0,05$ είναι 2,246 (μικρότερη της πειραματικής τιμής), η μηδενική υπόθεση απορρίπτεται. (Μεταξύ των κλίσεων των γραμμών παλινδρόμησης υπάρχουν στατιστικά σημαντικές διαφορές).

2.2. Έλεγχος κατά ζεύγη των κλίσεων των ευθειών παλινδρόμησης με την δοκιμασία SNK.

Η τιμή της στατιστικής q_{SNK} , για την εκάστοτε σύγκριση μεταξύ των κλίσεων των ευθειών παλινδρόμησης δίνεται από την σχέση (βλέπε παραπάνω, σχέση 2):

$$q_b = \frac{b_1 - b_2}{T\Sigma}$$

Οι πειραματικές τιμές της στατιστικής q_{SNK} για την σύγκριση των συντελεστών παλινδρόμησης (b) που εκφράζουν την ταχύτητα αντίδρασης του DPPH με την IC_{50} των επτά δειγμάτων ελαιόλαδου είναι:

	D1	D2	D3	D4	D5	D6
D2	0,522832					
D3	17,91551	27,91915				
D4	-2,92735	-4,974818	-29,5085			
D5	-11,1125	-16,66261	-41,0112	-10,7197		
D6	7,586536	9,4713255	-10,1518	12,65515	21,65194	
D7	9,748217	16,305047	-17,5534	19,41997	32,43287	0,244798

Οι κρίσιμες τιμές της στατιστικής SNK για BE υπολοίπου = 63 και $\alpha=0,05$, ανάλογα με τον αριθμό των συντελεστών που συγκρίνουμε είναι:

No Means	SNK
2	2,826
3	3,395
4	3,732
5	3,971
6	4,157
7	4,307

Ταξινομούμε τους συντελεστές b σε φθίνουσα σειρά:

Δείγμα ελαιόλαδου	Κλίση (b) Ευθείας παλινδρόμησης	Σημαντική Διαφορά (για $\alpha=0,05$)
D5	23,54	z
D4	18,46	y
D1	16,68	x
D6	16,38	x
D7	11,56	w
D2	11,45	w
D3	6,53	v

Οι συντελεστές που συνοδεύονται από το ίδιο γράμμα δεν διαφέρουν στατιστικά σημαντικά μεταξύ τους για επίπεδο σημαντικότητας $\alpha=0,05$.

ΕΥΡΕΤΗΡΙΟ ΕΙΚΟΝΩΝ - ΣΧΗΜΑΤΩΝ – ΠΙΝΑΚΩΝ

Εικόνα 1 σελ. 11: Cis και trans διάταξη των ατόμων H+ των ακόρεστων λιπιδίων.

Εικόνα 2 σελ. 30: βασική δομή τριγλυκεριδίου.

Εικόνα 3 σελ. 32: δομή ενός μορίου γλυκερόλης.

Εικόνα 4 σελ. 41: βιολογικές δράσεις υδροξυτυροσόλης.

Εικόνα 5 σελ. 45: βασική δομή και σύστημα αρίθμησης φλαβονοειδών.

Εικόνα 6 σελ. 46: χημικές δομές φλαβονοειδών.

Εικόνα 7 σελ. 47: οι κυριότερες πολυφαινόλες του ελαιολάδου.

Εικόνα 8 σελ. 51: οξειδωτικό στρες.

Εικόνα 9 σελ. 52: επίδραση ελευθέρων ριζών στην υγεία.

Εικόνα 10 σελ. 62: μερικές δομές συντονισμού που σταθεροποιούν τη ρίζα των φλαβονοειδών.

Εικόνα 11 σελ. 81: χημικές μεταβολές που λαμβάνουν χώρα κατά το τηγάνισμα.

Εικόνα 12 σελ. 83: λόγω της σύνθεσής του το ελαιόλαδο είναι πολύ ανθεκτικό στη θέρμανση.

Εικόνα 13 σελ. 84: περιεκτικότητα σε trans οξέα ανάλογα με το χρόνο θέρμανσης του ελαιολάδου και άλλων λαδιών στους 200οC.

Εικόνα 14 σελ. 90: η ελεύθερη ρίζα DPPH.

Εικόνα 15 σελ. 93: υάλινοι δοκιμαστικοί σωλήνες των 5ml κατά τη διαδικασία αντίδρασης ελαίου-DPPH.

Εικόνα 16 σελ. 94: φασματοφωτόμετρο ορατού-υπεριώδους.

Εικόνα 17 σελ. 95: σχέση μεταξύ των ποσοστών της μείωσης της απορρόφησης του διαλύματος του DPPH σε μήκος κύματος 515nm και της συγκέντρωσης (mgL^{-1}).

Εικόνα 18 σελ. 97: διαδικασία παραλαβής του μεθανολικού εκχυλίσματος.

Εικόνα 19 σελ. 99: χαρακτηριστική καμπύλη της ολικής αντιοξειδωτικής ικανότητας για το ολικό κλάσμα του δείγματος 1.

Εικόνες 20, 21 σελ. 100: χαρακτηριστική καμπύλη της ολικής αντιοξειδωτικής ικανότητας για το ολικό κλάσμα των δειγμάτων 2 και 3.

Εικόνες 22,23 σελ. 101: χαρακτηριστική καμπύλη της ολικής αντιοξειδωτικής ικανότητας για το ολικό κλάσμα των δειγμάτων 4 και 5.

Εικόνες 24,25 σελ. 102: χαρακτηριστική καμπύλη της ολικής αντιοξειδωτικής ικανότητας για το ολικό κλάσμα των δειγμάτων 6 και 7.

Εικόνα 26 σελ. 105: μεταβολή των ποσοστών απορρόφησης του DPPH για το δείγμα 1 του ελαιολάδου.

Εικόνες 27,28,29 σελ. 106: μεταβολή των ποσοστών απορρόφησης του DPPH για τα δείγματα 2,3 και 4.

Εικόνες 30,31,32 σελ. 107: μεταβολή των ποσοστών απορρόφησης του DPPH για τα δείγματα 5,6 και 7.

Σχήμα 1 σελ.40: δομές των ενώσεων υδροξυτυροσόλη και τυροσόλη.

Σχήμα 2 σελ. 49: διαδοχικά βήματα αναγωγής του οξυγόνου σε νερό με μονά ηλεκτρόνια.

Σχήμα 3 σελ. 54: η αντίδραση Fenton.

Σχήμα 4 σελ. 56: λιπιδιακή υπεροξείδωση.

Σχήμα 5 σελ. 59:ανταλλαγή υδρογόνου ή ηλεκτρονίου με ρίζες λιπιδίων.

Σχήμα 6 σελ. 60: τερματισμός αλυσιδωτών αντιδράσεων.

Σχήμα 7 σελ. 61: δράση πολυφαινολών και μείωση ταχύτητας αντιδράσεων διάδοσης.

Σχήμα 8 σελ. 61: οξείδωση ρίζας ημικινόνης σε κινόνη.

Σχήμα 9 σελ. 73: υδρόλυση ενός μεικτού τριγλυκεριδίου του ελαιολάδου σε γλυκερίνη και λιπαρά οξέα.

Σχήμα 10 σελ. 76: στάδια οξείδωσης ελαιολάδου.

Σχήμα 11 σελ. 77: δέσμευση ελευθέρων ριζών λόγω παρεμπόδισης με αντιοξειδωτικά.

Σχήμα 12 σελ. 82: αντιδράσεις θερμικής οξειδωσης των ελαίων κατά το τηγάνισμα.

Πίνακας 1 σελ. 44: κυριότερες τάξεις πολυφαινολών.

Πίνακας 2 σελ. 50: δραστικές μορφές οξυγόνου.

Πίνακας 3 σελ. 66: αφομοίωση ελαιολάδου και άλλων λιπαρών υλών.

Πίνακας 4 σελ. 69: ποσοστιαία σύσταση διαφόρων εδώδιμων ελαίων και του μητρικού γάλακτος.

Πίνακας 5 σελ. 91: χαρακτηριστικά προέλευσης των δειγμάτων ελαιολάδου.

Πίνακας 6 σελ. 103: εξισώσεις γραμμικής παλινδρόμησης των ποσοστών της ολικής αντιοξειδωτικής ικανότητας του ολικού κλάσματος των επτά ελαιολάδου σε σχέση με την ποσότητα που χρησιμοποιήθηκε.

Πίνακας 7 σελ. 104: αποτελέσματα ολικής αντιοξειδωτικής ικανότητας ολικού κλάσματος και του μεθανολικού εκχυλίσματος, εκπεφρασμένα σε ισοδύναμη ποσότητα Γαλλικού οξέος για τα επτά δείγματα ελαιολάδου.

Πίνακας 8 σελ. 105: μεταβολή των ποσοστών μείωσης της απορρόφησης του DPPH σε σχέση με τον χρόνο αντίδρασης με τα επτά δείγματα ελαιολάδου.

Πίνακας 9 σελ. 108: εξισώσεις γραμμικής παλινδρόμησης των ποσοστών μείωσης της απορρόφησης του DPPH πάνω στους λογάριθμους του χρόνου αντίδρασης με την ποσότητα ελαιολάδου που αντιστοιχεί στην IC₅₀ του κάθε δείγματος.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

Assy, N., Nassar, F., Nasser, G. and Grosovski, M. (2009), "Olive Oil Consumption and Non-Alcoholic Fatty Liver Disease", *World Journal of Gastroenterology*, Vol. 15, No. 15, pp. 1809-15.

Balentine, D. A., Wiseman, S. A. and Bouwens, L. C. M. (1997), "The Chemistry of Tea Flavonoids", *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, Vol. 37, pp. 693-704.

Benavante Garcia, O., J. Castillo, J. Lorente, A. Ortuno, J. A. Del Rio: Antioxidant activity of phenolics extracted from *Olea europaea* L. leaves. *Food Chem.* 2000, 68, 457- 462.

Benzie, I. F. F. and Strain, J. J. (1996), "The Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP) as a Measure of Antioxidant Power: The FRAP Assay", *Analytical Biochemistry*, Vol. 239, pp. 70-76.

Boskou, D.; Blekas, G.; Tsimidou, M.Z., Phenolic compounds in olive oil and olives., *Curr. Top. Nutraceutical Res.*, 2005, 3, 125-136

Bravo L., Polyphenols: Chemistry, dietary sources, metabolism and nutritional significance, *Nutr. Rev.* 1998; 56(11): 317-333.

Deiana M, Aruoma 10, De Lourdes P, Bianchi M, Spencer PEJ, Kaur H, Halliwell B, Aeschbach R, Banni S, Dessi MA, Corongiu PF: Inhibition of peroxynitrite dependent DNA base modification and tyrosine nitration by the extra virgin olive oil-derived antioxidant hydroxytyrosol. *Free Rad Biol Med* 1999, 26: 762-769.

Fedeli, E. (1997), "Lipids of Olives", in R. T. Hilman (Ed.), "Progress in the Chemistry of Fats and Others Lipids", Academic Press, Oxford, pp. 55-74.

Harborne, J. B. (1989), "Methods in Plant Biochemistry I: Plant Phenolics", Academic Press, London.

Hertog, M.G.L.; Feskens, E.J.M.; Hollman, P.C.H.; Katan, M.B.; Kromhout, D. (1993) Dietary antioxidant flavonoids and risk of coronary heart disease: the Zutphen Elderly Study. *Lancet*, 342: 1007-1011.

Huang, D., Ou, B. and Prior R. L. (2005), "The Chemistry behind Antioxidant Capacity Assays", *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, Vol. 53, pp. 1841-56.

Keys, A. : Coronary heart disease in seven countries. *Circulation* 41: 1-211. Menotti, A.; Karvonen, M.J.; Aravanis, C.; Blackburn, H.; Buzina, R.; Djordjevic,

B.S.; Dontas, A.S.; Fidanza, F.; (1986) The diet and 15-year death rate in the seven countries study. *Am. J. Epidemiol.*, 124: 903-915.

Kiritsakis, A. and Dugan, L.R. 1985. *Studies in photooxidation of olive oil*. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 62:892.

Manna, C.; Galletti, P.; Cucciola, V.; Montedoro, G.; Zappia, V. (1999) Olive oil hydroxytyrosol protects human erythrocytes against oxidative damages. *J. Nutr. Biochem.*, 10: 159-165.

Miketova P, KH Schram, J Whitney... - *Journal of mass ...*, 1999 - europepmc.org , «Mass spectrometry of 3, 5- and 4, 5-dicaffeoylquinic acids and selected derivatives».

Molyneux, P. (2004), "The Use of the Stable Free Radical Diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for Estimating Antioxidant Activity, *Songklanakarin Journal of Science and Technology*, Vol. 26, No. 2, p. 212.

Owen, R.W.; Giacosa, A.; Hull, W.E.; Haubner, R.; Spiegelhalder, B.; Bartsch, H. (2000) The antioxidant/anticancer potential of phenolic compounds isolated from olive oil. *Eur. J. Cancer*, 36: 1235-1247.

Ratty AK, Das NP: Effects of flavonoids on nonenzymatic lipid peroxidation: structure activity relationship. *Biochem Med Metab Biol* 1988, 39: 69-79.

Renaud, S.; de Longelil, M.; Delaye, J.; Guidollet, J.; Jacquard, F.; Mamelle, N.; Martin, J.L.; Monjaud, I.; Salen, P.; Touboul, P. (1995) Cretan Mediterranean diet for prevention of coronary heart disease. *Am. J. Clin. Nutr.*, 61: 1360-1367.

Rice-Evans, C.; Miller, J.N.; Paganga, G. (1996) Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. *Free Radic. Biol. Med.*, 20: 933-956.

Roginsky, V. and Lissi, E. A. (2004), "Review of Methods to Determine Chain Breaking Antioxidant Activity in Food", *Food Chemistry*, Vol. 92, pp. 235-254.

Shahidi F, Wanasundara J: Phenolic antioxidants. *Crit Rev Food Sci Nutr*. 1992, 32: 67-103.

Soobratee, M., Neergheen, V., Luximon-Ramma, A., Auroma, O. and Bahorum, T. (2005), "Phenolics as Potential Antioxidant Therapeutic Agents: Mechanism and Actions", *Mutation Research*, Vol. 579, pp. 200-213.

Tripoli, E., Giammanco, M., Tabacchi, G., Di Majo, D., Giammanco, S., La Guardia, M., 2005. The phenolic compounds of olive oil: structure, biological activity and

beneficial effects on human health. *Nutr. Res. Rev.* 18, 98-112. <https://doi.org/10.1079/NRR200495>.

Valko, M.; Morris, H.; Cronin, M.T. (2005) Metals, toxicity and oxidative stress. *Curr. Med. Chem.*, 12: 1161-1208.

Vinson, A. J. (1998), "Flavonoids in Foods as in Vitro and in Vivo Antioxidants", in: "Flavonoids in the Living System", Plenum Press, pp. 151-164, New York.

Visioli, F. and Galli, C. (1998), "The Effect of Minor Constituents of Olive Oil on Cardiovascular Disease: New Findings", *Nutrition Reviews*, Vol. 56, pp. 142-147.

Visioli, F. and Galli, C. (1998), "Olive Oil Phenols and their Potential Effects on Human Health", *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, Vol. 46, pp. 4292-96.

Vissers NM, Zock LP, Roodenburg AJ, Leenen R, Katan MB: Olive oil phenols are absorbed in humans. *J Nutr* 2002, 132: 409-417.

.....
Αναστασίου Γ., Τ.Ε.Ι. Καλαμάτας 2012, «Πολυφαινόλες και ο ρόλος τους ως αντιοξειδωτικά στο ελαιόλαδο», Πτυχιακή μελέτη.

Αλεξάκης, Σ. Α. (1998), «Το Ελαιόλαδο και η Παραγωγή του», Εκδόσεις Σιδέρης, Αθήνα.

Ανδρικόπουλος, Ν. Κ. (1999), «Σημειώσεις Χημείας και Τεχνολογίας Τροφίμων - Τόμος Ι», Χαροκόπειο Πανεπιστήμιο, σελ. 161-191, Αθήνα.

Αργυρόπουλος Γ. 2015, Τ.Ε.Ι Καλαμάτας «Σύγχρονες μέθοδοι συγκομιδής και επεξεργασίας ελαιοκάρπου», Πτυχιακή εργασία.

Βοϊβόντας Λ. - Γούργαρης Θ., 2009, «Βιολογική και διατροφική αξία του ελαιόλαδου», Πτυχιακή εργασία.

Καραγκίνη Δ. Λάρισα 2015, «Μελέτη της επίδραση ζπολυφαινολικών εκχυλισμάτων από φυτά που ανήκουν στα γένη *PRUNUS*, *PYRACANTHA*, *PYRUS*, *ROSA* και *SANGUISORBA* στην αύξηση καρκινικών κυττάρων ήπατος».

Κυριτσάκης Α, Όλα τα μυστικά για το ελαιόλαδο. Αθήνα, 2000.

Μηνιώτη Α., Γ.Π.Α., «Ανάπτυξη νέων μεθόδων προσδιορισμού ολικής αντιοξειδωτικής ενεργότητας και εφαρμογή στο ελαιόλαδο», Διδακτορική διατριβή.

Μπαλατσούρας Γ, Σύγχρονη Ελαιοκομία: Το Ελαιόλαδο, Τόμος 2, Θεσσαλονίκη, ΣΕΒΙΤΕΛ, 1995.

Μπαλατσούρας, Δ. Γιώργος. Σύγχρονη Ελαιοκομία- Το Ελαιόδεντρο- Το Ελαιόλαδο- Επιτραπέζια Ελιά. Αθήνα: Copyright, 1997.

Νούσης Λ., Α.Ε.Ι. Ιωαννίνων 2007, «Μελέτη των μοριακών μηχανισμών πρόκλησης βλαβών στο DNA και απόπτωσης μετά από έκθεση κυττάρων σε οξειδωτικό στρες», Διδακτορική διατριβή.

Ντζιαδήμας Β, 2013, «Οι περιεχόμενες πολυφαινόλες στο ελαιόλαδο και οι ευεργετικές δράσεις τους στην ανθρώπινη υγεία», Πτυχιακή εργασία.

Παπαδακάκη Α., Τ.Ε.Ι. Καλαμάτας 2012, «Φυσικές και χημικές μεταβολές των ελαίων κατά το τηγάνισμα», Πτυχιακή μελέτη.

Ράλλη Β., Τ.Ε.Ι. Καλαμάτας 2005, «Ποιότητα ελαιολάδου», Πτυχιακή εργασία.

Σπανός Α., Καλαμάτα 2013, «Χημική σύσταση, ιδιότητες και επίδραση του ελαιολάδου στην υγεία του ανθρώπου».

Σωτηρούδης ΘΓ., 2004, helios-eie.ekt.gr, «Ελεύθερες ρίζες, αντιοξειδωτικά και υγεία», Ινστιτούτο Βιολογικών Ερευνών και Βιοτεχνολογίας.

Τσακίρη Γ., Α.Ε.Ι. Θεσσαλίας 2018, Πρόγραμμα μεταπτυχιακών σπουδών «Εφαρμογές μοριακής βιολογίας-Μοριακή γενετική-Διαγνωστικοί δείκτες».

Τσιλφόγλου Σ., Λάρισα 2016, «Μελέτη παραγωγής ελαιολάδου με υψηλά ποσοστά φυσικών πολυφαινολών», Διπλωματική εργασία.

Τσιτσικλή Ε., Τ.Ε.Ι. Καλαμάτας 2012, «Ελαιόλαδο και διατροφικές αξίες», Πτυχιακή εργασία

.....

www.nutrition.med.uoc.gr/drstiriotes/oil.gr