



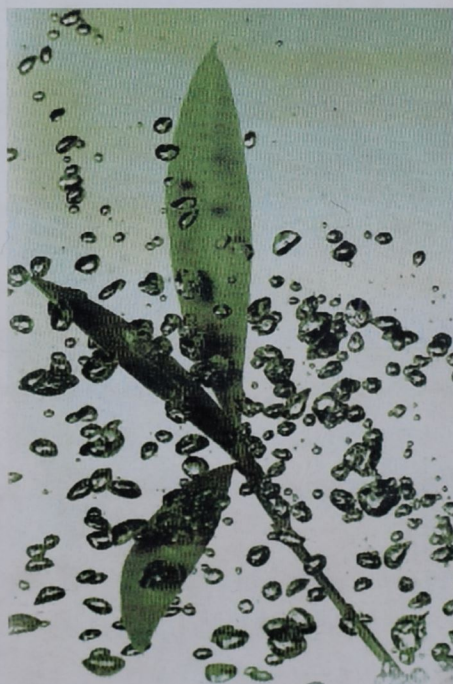
ΧΑΡΟΚΟΠΕΙΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ

ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ ΚΑΙ ΔΙΑΙΤΟΛΟΓΙΑΣ

ΜΑΡΙΑ ΑΛΕΞΙΟΥ

Πτυχιακή Εργασία

*Ανάλυση και διατροφική αξιολόγηση του ελαιολάδου
με τη μέθοδο Rancimat*



Επίβλεψη

Νικόλαος Ανδρικόπουλος
Αναπληρωτής Καθηγητής

Αγγελική Φαληρέα

Γεώργιος Μπόσκου

ΠΤΥ
ΑΛΕ

ΑΘΗΝΑ 2001

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η παρούσα πτυχική μελέτη εφηνήθηκε από την Ελένη Αλκίνο Ελάφου του Τμήματος Διαιτολογίας και Διατροφής στο Χαροκόπειο Πανεπιστήμιο. Το εργαστηριακό κομμάτι της μελέτης πραγματοποιήθηκε στο εργαστήριο Χημείας, Φυσιολογίας και Βιοχημείας Τροφίμων κατά το ακαδημαϊκό έτος 2000-2001 υπό την επίβλεψη του φυσιογνωστή καθηγητή του τμήματος Νικόλαου Κ. Ανδριόπουλου.

“Αφιερωμένη στους αγαπημένους μου, παππού και γιαγιά , Χριστόδουλο και Ισμήνη, ως ελάχιστη ένδειξη εκτίμησης για τα όσα μου έχουν προσφέρει μέχρι σήμερα”.

Επίσης ευχαριστώ τον κύριο Ανδρόκοπου για την καθοδήγηση, τις πολύτιμες συμβουλές και την δαπάνη διαιτολογικής της παρούσας πτυχικής εργασίας.

Ευχαριστώ τον κύριο Γεώργιο Μπαδακού και την κυρία Αγγελική Φαλιέρα για τη μάθη που μου σέφρωσαν τόσο κατά την πραγματοποίηση του εργαστηριακού μέρους όσο και για τη διάδωσή του καμίνου.

Ειδικές ευχαριστίες θα ήθελα να απευθύνω στην Δρ. Αντωνία Χίου, για την πολύτιμη καθοδήγηση και τη συμπαράσταση της τόσο κατά την εκτέλεση του εργαστηριακού μέρους όσο και για τη συγγραφή του.

Θα ήθελα να ευχαριστήσω την κ. Ανδριάνα Καλάρα για την βοήθεια της κατά την προεργασία της μεθόδου Folin Denislow και την κ. Μαργαρίτα Χρηστά για την καθοδήγηση της κατά την πραγματοποίηση των εκχολισμών.

Ευχαριστώ επίσης το Χαροκόπειο Πανεπιστήμιο για τη δώδωσή του εργαστηριακού χώρου και την παραχώρηση των οργάνων για την πραγματοποίηση του παρατηρητικού μέρους, καθώς και όλο το προσωπικό του εργαστηρίου που ήταν πρόθυμο να με βοηθήσει σε όλη πρόβλεψη προέκυπτε.

Τέλος, ευχαριστώ την Ερήνη Πολυμνίκη, την Αγγελική Αλεξίου, την Παναγιώτα Θρόνη και την Ελένη Ιωάννου για την αναλυτική ηθική υποστήριξη τους καθώς και για την συμβολή τους στην ολοκλήρωση της μελέτης αυτής.

Μαργαρίτα Αλεξίου

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η παρούσα πτυχιακή μελέτη εκπονήθηκε από την φοιτήτρια Αλεξίου Μαρία του Τμήματος Διαιτολογίας και Διατροφής στο Χαροκόπειο Πανεπιστήμιο. Το εργαστηριακό κομμάτι της μελέτης πραγματοποιήθηκε στο εργαστήριο Χημείας, Φυτικοχημείας και Βιοχημείας Τροφίμων κατά το ακαδημαϊκό έτος 2000-2001 υπό την επίβλεψη του αναπληρωτή καθηγητή του τμήματος Νικόλαου Κ. Ανδρικόπουλου.

Στον κύριο Ανδρικόπουλο οφείλω τις θερμές μου ευχαριστίες για την σοφή καθοδήγηση, τις πολύτιμες συμβουλές και την υποστήριξη του καθ' όλη τη διάρκεια διεκπεραίωσης της παρούσας πτυχιακής εργασίας.

Ευχαριστώ τον κύριο Γεώργιο Μπόσκου και την κυρία Αγγελική Φαληρέα για το χρόνο που μου αφιέρωσαν τόσο κατά την πραγματοποίηση του πειραματικού μέρους όσο και για τη διόρθωση του κειμένου.

Ιδιαίτερες ευχαριστίες θα ήθελα να απευθύνω στην Δρ. Αντωνία Χίου, για το αμείωτο ενδιαφέρον και τη συμπαράσταση της τόσο κατά την εκτέλεση του πειραματικού μέρους όσο και για τη συγγραφή του.

Θα ήθελα να ευχαριστήσω την κ. Ανδριάννα Καλιώρα για την βοήθεια της κατά την εφαρμογή της μεθόδου Folin Ciocalteau και την κ. Μαργαρίτα Χρηστέα για την καθοδήγηση της κατά την πραγματοποίηση των εκχυλίσεων.

Ευχαριστώ επίσης το Χαροκόπειο Πανεπιστήμιο για τη διάθεση του εργαστηριακού χώρου και την παραχώρηση των οργάνων για την πραγματοποίηση του πειραματικού μέρους, καθώς και όλο το προσωπικό του εργαστηρίου που ήταν πρόθυμο να με βοηθήσει σε ότι πρόβλημα προέκυπτε.

Τέλος, ευχαριστώ την Ειρήνη Πολυνείκη, την Αντιγόνη Αλεξίου, την Παναγιώτα Βρόντη και την Ελίνα Ιωάννου για την ανυπολόγιστη ηθική υποστήριξη τους καθώς και για την συμβολή τους στην ολοκλήρωση της μελέτης αυτής.

Μαρία Αλεξίου

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Θέμα της παρούσας πτυχιακής εργασίας ήταν η «Ανάλυση και η διατροφική αξιολόγηση του ελαιολάδου με τη μέθοδο *Rancimat*». Σκοπός της ήταν ο προσδιορισμός της σταθερότητας του φυσικού ελαιολάδου (εξαιρετικά παρθένου ελαιολάδου) και των σπορέλαιων (ηλιελαίου και ελαίου Friol), κατά την οξείδωση, καθώς και η μελέτη της επίδρασης των αντιοξειδωτικών τους στην ταχύτητα οξείδωσης αυτών. Τέλος μελετήθηκε η επίδραση συνθετικού αντιοξειδωτικού (BHT) στη σταθερότητα κατά την οξείδωση απογυμνωμένου ελαιολάδου.

Η απογύμνωση των ελαίων έγινε με χρωματογραφία στήλης, χρησιμοποιώντας ως προσροφητικό μέσο ενεργοποιημένη αλουμίνα (Al_2O_3). Για τον έλεγχο της απογύμνωσης των ελαίων ως προς τις πολυφαινόλες εφαρμόστηκε η δοκιμή Folin Ciocalteu αφού προηγήθηκε εκχύλιση των ελαίων με $\text{MeOH}/\text{H}_2\text{O}$ 6:4 και n-Hexane, ενώ ο προσδιορισμός της περιεκτικότητας τους σε τοκοφερόλες έγινε με HPLC χρωματογραφία.

Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι στη χρωματογραφία στήλης με αλουμίνα οι πολυφαινόλες των φυσικών ελαίων κατακρατήθηκαν σε ικανοποιητικό βαθμό, ενώ οι τοκοφερόλες κατακρατήθηκαν πλήρως.

Ο προσδιορισμός της σταθερότητας φυσικών και απογυμνωμένων ελαίων αλλά και του απογυμνωμένου ελαιολάδου με BHT έγινε με τη μέθοδο *Rancimat* (μετρήθηκε ο χρόνος επαγωγής). Τα αποτελέσματα επαλήθευσαν την υπεροχή του ελαιολάδου έναντι των σπορέλαιων ως προς τη σταθερότητα στην οξείδωση, ενώ μετά την απομάκρυνση των φυσικών αντιοξειδωτικών ο χρόνος επαγωγής μειώθηκε δραματικά και στα δύο είδη ελαίων.

Στην περίπτωση της προσθήκης αντιοξειδωτικού BHT στο απογυμνωμένο ελαιολάδο, τα αποτελέσματα έδειξαν αύξηση του χρόνου επαγωγής ακόμα και σε χαμηλές συγκεντρώσεις (25 ppm) ενώ για συγκεντρώσεις πέραν των 1000 ppm δε σημειώθηκε περαιτέρω αύξηση της σταθερότητας τους αλλά ούτε και επετεύχθη η σταθερότητα που επέδειξε το φυσικό ελαιολάδο. Αξιοσημείωτο είναι ότι η αντιοξειδωτική δράση του BHT και η συμβολή του στην αύξηση της σταθερότητας ήταν εντονότερη όπου και η απουσία των φυσικών αντιοξειδωτικών ήταν μεγαλύτερη.

ABSTRACT

"Analysis and Nutritional Evaluation of Olive Oil by Metrohm Rancimat" is the subject of the present thesis. The stability of extra virgin olive oil (EVOO) and two samples of seed oils (sunflower oil, SFO; Fiol oil, FO) under oxidative conditions and the role of the antioxidants that naturally occur in them were studied. The antioxidant properties of BHT on lipid oxidation of purified EVOO were also determined.

Oils were purified from antioxidants by alumina column chromatography. The phenolic compounds from oils (EVOO, p-EVOO, SFO, p-SFO, FO, p-FO) were extracted with MeOH/H₂O 6:4 and n-Hexane and determined according to the Folin Ciocalteu method, expressed as caffeic acid. Tocopherols were analyzed by reversed phase HPLC.

Our results indicated that purified oils contained minor amounts of polyphenols and no tocopherols .

The determination of oxidative stability of fresh oils, purified oils and purified EVOO with BHT was carried out by Rancimat method. According to the induction time of every oil sample EVOO seems to be more stable in oxidation than seed oils. After the purification, the induction time in both EVOO and seed oils was dramatically reduced.

The effectiveness of BHT as antioxidant was demonstrated once again. Further more, it has been proven that it's inhibitory effects on lipid oxidation can occur in very low concentrations (25 ppm) but the stability of fresh oil wasn't reached, not even in high concentrations (>1000 ppm).

Finally, the results obtained suggest that BHT presents higher inhibitory effects in the absence of physical antioxidants.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

	Σελίδα
Κεφάλαιο 1^ο ΕΛΑΙΑ	1
1.1 Ορισμοί και είδη	1
1.2 Σύσταση Ελαιολάδου	4
1.3 Επίδραση της ωρίμανσης του ελαιοκάρπου στην σύσταση του ελαιολάδου	6
1.4 Τρόπος Παραλαβής Ελαιολάδου	7
1.5 Εξευγενισμός των σπορελαίων, του πυρηνελαίου και των βιομηχανοποιήσιμων ελαιολάδων	8
1.6 Αλλοιώσεις Ελαιολάδου	9
1.7 Αποθήκευση και διατήρηση του ελαιολάδου	11
1.8 Ελαιόλαδο και Υγεία	12
Κεφάλαιο 2^ο ΟΞΕΙΔΩΣΗ ΕΛΑΙΩΝ	15
2.1 Οξειδωτικό τάγγισμα – Αυτοοξειδωση	15
2.2 Προϊόντα διάσπασης των υπεροξειδίων	17
2.3 Οξειδωση των ελαίων σε υψηλές θερμοκρασίες	18
2.4 Χημικές και φυσικές αλλαγές στα λιποειδή κατά το τηγάνισμα	19
2.5 Φωτοοξειδωση	20
2.6 Επίδραση μετάλλων στην οξειδωση	21
2.7 Απευθείας επίδραση της οξειδωσης στην διατροφική ποιότητα των τροφίμων	21
2.8 Οξειδωμένα έλαια και επιπτώσεις στην υγεία	22
2.9 Έλεγχος Ποιότητας- Εκτίμηση του σταδίου οξειδωσης μιας λιπαρής ύλης- Μέθοδοι	23
Κεφάλαιο 3^ο ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΑ ΕΛΑΙΩΝ	29

3.1	Γενικά	29
3.2	Κατηγοριοποίηση αντιοξειδωτικών	30
3.3	Αντιοξειδωτικά Ελαιολάδου	32
3.4	Ο ρόλος των αντιοξειδωτικών στη σταθερότητα του ελαιολάδου κατά την οξείδωση	34
Κεφάλαιο 4°	ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	40
4.1	Υλικά και αντιδραστήρια	40
4.2	Όργανα	41
4.3	Γενικές Πορείες	41
4.3.1	Απογύμνωση	41
4.3.2	Εκχύλιση	42
4.3.3	Προσδιορισμός της συγκέντρωσης των ολικών πολυφαινολών	42
4.3.4	Παρασκευή διαλυμάτων BHT	42
4.3.5	Παρασκευή διαλυμάτων ελαίου BHT	43
4.3.6	Rancimat	44
4.3.7	Προετοιμασία των εξαρτημάτων της συσκευής	45
4.3.8	Χρωματογραφία στήλης υψηλής απόδοσης (HPLC)	46
Κεφάλαιο 5°	ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ	47
5.1	Έλεγχος απογύμνωσης ελαίων	47
5.2	Μετρήσεις Rancimat	51
5.3	Σταθερότητα του ελαιολάδου κατά την οξείδωση με την προσθήκη BHT	53
Κεφάλαιο 6°	ΣΥΖΗΤΗΣΗ ΤΩΝ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ	55
6.1	Απογύμνωση Ελαίων	55
6.2	Ποσοστά απογύμνωσης	55
6.2.1	Έλεγχος απογύμνωσης με την αντίδραση Folin Ciocalteu	55
6.2.2	Έλεγχος της απογύμνωσης με HPLC χρωματογραφία	56

6.3	Επιλογή των πειραματικών συνθηκών για τη διεξαγωγή της μεθόδου Rancimat	57
6.4	Διαφορά στη σταθερότητα των ελαίων, απογυμνωμένων και φυσικών, κατά την οξείδωση με Rancimat	58
6.5	Σταθερότητα του ελαιολάδου με προσθήκη συνθετικών αντιοξειδωτικών	60
6.6	Αποτελέσματα σε 51,5% και 85,9% απογυμνωμένο ελαιόλαδο	60
	ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ	63
	ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	64

τα οποία περιέχουν και μικρές ποσότητες άλλων λιπιδίων, όπως φωσφολιπιδια, στερόλες, ελεύθερα λιπαρά οξέα κ.α. και τα οποία φέρονται στο εμπόριο και χρησιμοποιούνται για τη διατροφή του ανθρώπου, σύμφωνα με τις αναγκαίες απαιτήσεις. Τα έλαια στη θερμοκρασία δωμάτιου, δηλαδή στους 25° C είναι υγρά (Ανδρικόπουλος, 1999).

Ανάλογα με την προέλευσή τους διακρίνονται σε 2 κατηγορίες:

Α) Φυτικό έλαιο: Στην κατηγορία αυτή ανήκουν το ελαιόλαδο (ελαιόλαδο, πιναγιόλαο) και τα σπορέλαια (αραβοσιτάσιο, βαμβουκόλαο, ελάσιο, σογιόλαο, ηλιελάδο κ.α).

Β) Ζωικό έλαιο: Στην κατηγορία αυτή ανήκουν τα χυμώδη, τα κηρίδια, τα φαιώδη και τα διάφορα παράγωγά τους (Ανδρικόπουλος, 1999).

Ειδικότερα είναι το έλαιο της ελιάς, δηλαδή του καρπού της ελιάς της Ευρωπαϊκής (Olea Europaea) και το οποίο λαμβάνεται με μηχανικό ή άλλο φυσικό τρόπο (Ανδρικόπουλος, 1999). Είναι ο ελαιώδης χυμός του καρπού και όχι το λάδι του σπόρου όπως συμβαίνει με άλλα φυτικά έλαια. Το φυσικό ελαιόλαδο είναι ουσιαστικά το μόνο λάδι που μπορεί να καταναλωθεί όπως ακριβώς λαμβάνεται από τον καρπό και, γι' αυτόν γίνε η κατάλληλη επεξεργασία, διατηρεί ανεξάρτητα τη γεύση και το άρωμα του καρπού (ΕΠ, 2001).

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1^ο

ΕΛΑΙΑ

1.1 Ορισμοί και είδη

Ως έλαια χαρακτηρίζονται όλοι οι εστέρες γλυκερόλης (μονο-, δί-, τριακυλογλυκερόλες) με διάφορα λιπαρά οξέα, φυτικής ή ζωϊκής προέλευσης, τα οποία περιέχουν και μικρές ποσότητες άλλων λιπιδίων, όπως φωσφολιπιδίων, στερόλες, ελεύθερα λιπαρά οξέα κ.α. και τα οποία φέρονται στο εμπόριο και χρησιμοποιούνται για τη διατροφή του ανθρώπου, σύμφωνα με τις αγορανομικές διατάξεις. Τα έλαια στη θερμοκρασία δωματίου, δηλαδή στους 20° C είναι υγρά (Ανδρικόπουλος, 1998).

Ανάλογα με την προέλευσή τους διακρίνονται σε 2 κατηγορίες:

- Α) Φυτικά έλαια: Στην κατηγορία αυτή ανήκουν το ελαιόλαδο (ελαιόλαδο, πυρηνέλαιο) και τα σπορέλαια (αραβοσιτέλαιο, βαμβάκέλαιο, ηλιέλαιο, σογιέλαιο, σησαμέλαιο κ.α).
- Β) Ζωικά έλαια: Στην κατηγορία αυτή ανήκουν τα ιχθυέλαια, τα κητέλαια, τα ηπατέλαια και τα διάφορα παράγωγα τους (Ανδρικόπουλος, 1998).

Ελαιόλαδο είναι το έλαιο της ελιάς, δηλαδή του καρπού της ελιάς της Ευρωπαϊκής (Olea Europaea) και το οποίο λαμβάνεται με μηχανικό ή άλλο φυσικό τρόπο (Ανδρικόπουλος, 1998). Είναι ο ελαιώδης χυμός του καρπού και όχι το λάδι του σπόρου όπως συμβαίνει με άλλα φυτικά έλαια. Το φυσικό ελαιόλαδο είναι ουσιαστικά το μόνο λάδι που μπορεί να καταναλωθεί όπως ακριβώς λαμβάνεται από τον καρπό και, εφόσον γίνει η κατάλληλη επεξεργασία, διατηρεί αμετάβλητη τη γεύση και το άρωμα του καρπού (EC₂, 2001).

Από το 1991, ο κανονισμός 2568/91 είναι υποχρεωτικός για τα κράτη-μέλη της Ευρωπαϊκής Ένωσης και αφορά στα πρότυπα βάσει των οποίων καθορίζονται οι διαφορετικές βαθμίδες ποιότητας του ελαιολάδου ανάλογα, με τα φυσικοχημικά χαρακτηριστικά κάθε ελαίου καθώς και τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά των παρθένων ελαίων (EC₁, 1991; EC₂, 2001).

Το ελαιόλαδο μπορεί να κληθεί με ένα από τους παρακάτω χαρακτηρισμούς εφόσον καλύπτει τα κριτήρια που έχουν τεθεί για το κάθε πρότυπο.

Παρθένα (ή Φυσικά) Ελαιόλαδα είναι τα έλαια που παράγονται από τον καρπό της ελιάς με μηχανικό ή άλλο φυσικό τρόπο σε συνθήκες, ιδίως από πλευράς θερμότητας, που δεν οδηγούν στην υποβάθμιση της ποιότητάς τους. Τα παρθένα ελαιόλαδα δεν έχουν υποστεί καμία άλλη επεξεργασία εκτός από το πλύσιμο, τη σύνθλιψη, την πίεση, τη φυγοκέντρηση και τη διήθηση (φιλτράρισμα). Όταν το παρθένο ελαιόλαδο πρόκειται να καταναλωθεί στη φυσική του μορφή, ονομάζεται με ένα από τα παρακάτω ονόματα:

- Εξαιρετικό Παρθένο Ελαιόλαδο – παρθένο ελαιόλαδο που έχει αισθητηριακή κατάταξη 6,5 ή ανώτερη και περιεκτικότητα ελεύθερων λιπαρών οξέων, που εκφράζονται σε ελαϊκό οξύ, όχι μεγαλύτερη από 1 γραμμάριο ανά 100 γραμμάρια ελαίου (δηλ. 1%).
- Παρθένο Ελαιόλαδο – παρθένο ελαιόλαδο με περιεκτικότητα σε ελεύθερα λιπαρά οξέα όχι μεγαλύτερη από 2% και αισθητηριακή κατάταξη τουλάχιστον 5,5.
- Απλό Παρθένο Ελαιόλαδο (courante) – είναι παρθένο ελαιόλαδο με περιεκτικότητα σε ελεύθερα λιπαρά οξέα όχι μεγαλύτερη από 3,3% και αισθητηριακή κατάταξη ίση ή ανώτερη από 3,5.
- Μειονεκτικό Παρθένο Ελαιόλαδο (lampante) – είναι το ελαιόλαδο που δεν μπορεί να καταναλωθεί ως έχει και θα πρέπει να υποστεί εξευγενισμό. Έχει ελαττωματικά οργανοληπτικά χαρακτηριστικά (βαθμός οργανοληπτικής αξιολόγησης < 3,5) ή/και οξύτητα μεγαλύτερη του 3,3%.

Εξευγενισμένο ή ραφιναρισμένο ελαιόλαδο (Refined olive oil) είναι το ελαιόλαδο που παράγεται από την επεξεργασία του παρθένου ελαιολάδου, με χημικές και φυσικές μεθόδους, έτσι ώστε να καταστεί βρώσιμο. Η οξύτητα δεν πρέπει να υπερβαίνει το 0,3%.

Ελαιόλαδο ή γνήσιο ελαιόλαδο (olive oil) είναι το λάδι που αποτελείται από μείγμα ραφιναρισμένου και παρθένου ελαιολάδου και είναι κατάλληλο για βρώση.

Πυρηνέλαιο (ακατέργαστο) είναι το λάδι που παράγεται από την κατεργασία των πυρήνων του καρπού της ελιάς με διαλύτες. Δεν είναι κατάλληλο για βρώση παρά μόνο εάν υποστεί εξευγενισμό. Μπορεί να κατηγοριοποιηθεί ως εξής:

- Ραφιναρισμένο πυρηνέλαιο – είναι το λάδι που παράγεται με ραφινάρισμα από ακατέργαστο πυρηνέλαιο και η οξύτητα του πρέπει να είναι μικρότερη από 5%.
- Πυρηνέλαιο – είναι μίγμα, κατάλληλο για βρώση, ραφιναρισμένου πυρηνελαίου και παρθένου ελαιολάδου με οξύτητα μικρότερη από 1,5%.

(EC₁, 1991; EC₂, 2001; Ανδρικόπουλος, 1988; Κώδικας Τροφίμων και Ποτών, 1998).

Βιολογικό Ελαιόλαδο είναι το ελαιόλαδο που παράγεται από τη βιοκαλλιέργεια της ελιάς. Η βιοκαλλιέργεια της ελιάς συνίσταται πρώτον στη σωστή εγκατάσταση των ελαιώνων: κανονική πυκνότητα φύτευσης, αναβαθμίδες σε επικλινή εδάφη, βελτίωση των μειονεκτικών εδαφών με τη χρήση κοπριάς, δημιουργία κατάλληλου μικροκλίματος για τα ελαιόδεντρα, φύτευση από Ανατολή προς Δύση. Όλα αυτά εξασφαλίζουν καλύτερο αερισμό και μεγαλύτερη ηλιοφάνεια. Δεύτερο στάδιο είναι η σωστή διαμόρφωση των ελαιόδεντρων με το κλάδεμα. Τρίτο στάδιο και πολύ σημαντικό, είναι η αποφυγή αγροχημικών προϊόντων, η φυσική λίπανση και η χρήση συμβατικών μέσων για την καταπολέμηση του δάκου κατά τη διάρκεια της καλλιέργειας (Λαμπράκη, 1999).

Σπορέλαια: ονομάζονται με την ευρεία έννοια τα έλαια τα οποία λαμβάνονται με έκθλιψη ή με εκχύλιση των ελαιούχων καρπών και σπερμάτων διαφόρων φυτών και τα οποία διατίθενται στην κατανάλωση μετά από κατάλληλη επεξεργασία, εξευγενισμό .

Τα σπορέλαια που διατίθενται στο εμπόριο ως εδώδιμα είναι τα εξής:

1. **Βαμβακέλαιο:** Λαμβάνεται (15-20%) με πίεση εν θερμώ (105 °C) από τα σπέρματα των διαφόρων ειδών της βαμβακέας *Gossypium sp.*
2. **Αραβοσιτέλαιο:** Λαμβάνεται (40-50%) με πίεση η εκχύλιση από τα φύτρα του αραβοσίτου, *Zeas may*.
3. **Σογιέλαιο:** Λαμβάνεται (17 -18%) με έκθλιψη ή εκχύλιση από τα σπέρματα της σόγιας, *Soya sp.*
4. **Ηλιέλαιο:** Λαμβάνεται με ψυχρή πίεση από τα σπέρματα του ηλιάνθου *Helianthum anuum* (Ανδρικόπουλος, 1998).

1.2 Σύσταση Ελαιολάδου

Το κύριο συστατικό του ελαιολάδου είναι οι τριακυλογλυκερόλες και κατά δεύτερο λόγο τα ελεύθερα λιπαρά οξέα, στα οποία οφείλεται η φυσική οξύτητα του ελαίου, καθώς και κάποια μη γλυκεριδικά μόρια. Τα τελευταία είναι σημαντικά για την σταθερότητα του ελαιολάδου κατά την οξειδωση αλλά και για τη γεύση του (Boskou, 1996).

Οι τριακυλογλυκερόλες των ελαίων είναι μικτοί εστέρες της γλυκερόλης με ανώτερα λιπαρά οξέα. Τα λιπαρά οξέα έχουν αλυσίδα 14-20 ατόμων άνθρακα και μπορεί να είναι κορεσμένα ή ακόρεστα (Ανδρικόπουλος, 1998).

Το κύριο λιπαρό οξύ του ελαιολάδου είναι το μονοακόρεστο ελαϊκό οξύ (C 18:1). Η μέση σύσταση των λιπαρών οξέων του ελαιολάδου έχει ως εξής:

Παλμιτικό οξύ (C 16:0)	7,5-20%
Παλμιτελαϊκό οξύ (C 16:1)	0,3-3,5%
Στεαρικό οξύ (C 18:0)	0,5-5,0%
Ελαϊκό οξύ (C 18:1)	55,0-83,0%

Λινελαϊκό οξύ (C 18:2)	3,5-21,0%
Άλλα	1,5-3,5%

Η σύσταση του ελαιολάδου σε λιπαρά οξέα διαφέρει από δείγμα σε δείγμα και επηρεάζεται από ορισμένους παράγοντες όπως η ποικιλία του ελαιοδέντρου, γεωργικούς και κλιματολογικούς παράγοντες (Μπαλατσούρας, 1997; Boskou, 1996; EC₂, 2001).

Οι κυριότερες τριακυλογλυκερόλες που περιέχονται στο ελαιόλαδο είναι: OOO (40-59%), POO (12-20%), OOL (12,5-20%), PLO (5,5-7,0%), SOO (3-7%) (Boskou, 1996; Ανδρικόπουλος, 1998).

Η σύσταση των τριακυλογλυκερολών του κάθε ελαίου καθώς και η αναλογία της ιδιαίτερης τριακυλογλυκερόλης στο μείγμα τριακυλογλυκερολών του κάθε ελαίου είναι διαφορετική. Για παράδειγμα:

- Τα σπορέλαια περιέχουν τις τριακυλογλυκερόλες LLL και LnLnLn με διάφορους συνδιασμούς L και Ln, ενώ στο ελαιόλαδο απουσιάζουν σχεδόν τελείως. Τα σπορέλαια περιέχουν κυρίως LLL, PLO και PPL, αλλά σε διαφορετικές αναλογίες το κάθε είδος (Ανδρικόπουλος, 1998).

Τα συστατικά του ελαιολάδου κατατάσσονται σε δύο κατηγορίες:

- (α). Τα συστατικά του σαπωνοποιουμένου τμήματος του ελαίου.
- (β). Τα συστατικά του μη σαπωνοποιουμένου (ασαπωνοποιήτου) τμήματος του ελαίου, ανάλογα αν μετατρέπονται ή όχι σε σάπωνες υπό την επίδραση θερμών αλκαλίων (Μπαλατσούρας, 1997)

Σαπωνοποιούμενο τμήμα: περιλαμβάνει κατά κύριο λόγο τις τριακυλογλυκερόλες και λιγότερο τριτερπενικά οξέα, υδροξυοξέα, φωσφολιποειδή, χλωροφύλλες α και β και τα προϊόντα αποικοδόμησης τους και τέλος, ορισμένους γλυκοζίτες (πχ. ελευρωπαΐνη).

Ασαπωνοποιήτο τμήμα: περιλαμβάνει διάφορες τάξεις ενώσεων όπως:

- Υδρογονάνθρακες (κατά κύριο λόγο σκουαλένιο).
- Στερόλες (κυρίως β-σιτοστερόλη).

- Τριτερπενικές αλκοόλες.
- Ανώτερες λιπαρές αλκοόλες.
- Καροτενοειδείς χρωστικές.
- Τοκοφερόλες (κυρίως α -τοκοφερόλη).
- Φαινολικές ενώσεις (πχ.τυροσόλη, υδροξυτυροσόλη και καφεϊκό οξύ).
- Απροσδιόριστα συστατικά (μέταλλα κ.α.). (Μπαλατσούρας, 1997)

1.3 Επίδραση της ωρίμανσης του ελαιοκάρπου στην σύσταση του ελαιολάδου

Διάφορες μελέτες έχουν δείξει ότι η σύσταση του ελαιολάδου εξαρτάται τόσο από την ποικιλία όσο και από το βαθμό ωρίμανσης του ελαιοκάρπου που χρησιμοποιείται.

Ο F. Gutiérrez και οι συνεργάτες του (1999), μελέτησαν τις ποικιλίες *Picual* και *Hojiblanca* και τις αλλαγές που επέρχονταν στη σύσταση τους κατά την ωρίμανση. Συγκεκριμένα έγιναν μετρήσεις για τα ακόλουθα: UV απορρόφηση στα 232 nm και 270 nm, οργανοληπτική εξέταση, σύσταση λιπαρών οξέων, τοκοφερόλες, φαινολικές ενώσεις, ορθο-διφαινολικά μόρια, στερόλες αλλά και για την περιεκτικότητα του ελαιοκάρπου σε έλαιο (Gutiérrez et al, 1999).

Το πρώτο που παρατήρησαν ήταν ότι η περιεκτικότητα σε έλαιο αυξανόταν προοδευτικά κατά την ωρίμανση. Οι συντελεστές απόσβεσης K232 και K270 μειώνονταν, με τον συντελεστή K270 να διαφοροποιείται πιο έντονα. Η οργανοληπτική εξέταση παρέμεινε αναλλοίωτη ενώ η περιεκτικότητα σε ολικές φαινόλες μειώθηκε όπως και οι ο-διφαινόλες και η α -τοκοφερόλη. Όσον αφορά στη χλωροφύλλη και τα καροτενοειδή, μειώνονταν προοδευτικά ταυτόχρονα με τη μεταβολή του χρώματος του ελαίου που στα τελικά στάδια της ωρίμανσης ήταν κατά 70% κίτρινο και 30% πράσινο.

Η περιεκτικότητα σε έλαιο αυξανόταν, υποδηλώνοντας τη συνεχή βιοσύνθεση τριακυλογλυκερολών που ολοκληρώνεται 30 εβδομάδες μετά το άνθισμα του δέντρου της ελιάς. Η σύσταση σε λιπαρά οξέα δε φάνηκε να διαφοροποιείται εκτός από τις συγκεντρώσεις του παλμιτικού, του λινελαϊκού και του λινολενικού οξέος. Το παλμιτικό παρουσίασε μείωση ενώ το ελαϊκό αυξήθηκε λόγω της ενεργής βιοσύνθεσης τριακυλογλυκερολών. Το λινελαϊκό αυξήθηκε ως αποτέλεσμα της δράσης του ενζύμου δισατουράση του ελαϊκού, που μετατρέπει το ελαϊκό σε λινελαϊκό. Αντίθετα το λινολενικό οξύ μειώθηκε. Τέλος ο λόγος μονοακορέστων/πολυακορέστων (MUFA/PUFA) λιπαρών οξέων έτεινε να μειωθεί κατά την ωρίμανση.

Το κλάσμα στερολών δε διαφοροποιήθηκε σημαντικά εκτός από τις ολικές στερόλες, την β-σιτοστερόλη και την Δ₅-αβεναστερόλη. Όσο μειωνόταν η β-σιτοστερόλη αυξανόταν η Δ₅-αβεναστερόλη που υποδηλώνει την ύπαρξη ενζύμου δισατουράσης που προκαλεί την μετατροπή αυτή (Gutiérrez et al, 1999).

1.4 Τρόπος Παραλαβής Ελαιολάδου

Η παραλαβή του ελαιόλαδου από τον ελαιόκαρπο γίνεται στα ελαιοτριβεία με διάφορες μεθόδους έκθλιψης, η κυριότερη από τις οποίες είναι τα φυγοκεντρικά πιεστήρια.

Τα στάδια παραλαβής του ελαιόλαδου είναι συνοπτικά τα εξής:

- 1) καθαρισμός και πλύσιμο του ελαιοκάρπου
- 2) άλεση του ελαιοκάρπου
- 3) μάλαξη με θέρμανση ή χωρίς θέρμανση του ελαιοκάρπου
- 4) εξαγωγή του ελαιόλαδου με πίεση ή /και φυγοκέντρηση του ελαιοκάρπου (πρώτα χωρίς και μετά με ελαφρά θέρμανση)
- 5) καθαρισμός του ελαιόλαδου με διήθηση
- 6) έλεγχος της ποιότητας και αποθήκευση του ελαιόλαδου
- 7) παραλαβή και αποθήκευση των υπολειμμάτων (πυρήνες, φλοιοί κλπ).

Η θέρμανση κατά τη μάλαξη και την παραλαβή γίνεται για αύξηση της απόδοσης και επιτρέπεται μέχρι ενός ορίου το οποίο δεν επιφέρει αλλοίωση του ελαιόλαδου και είναι συνήθως 40-60 °C, η δε απόδοση κυμαίνεται από 10-20%. Τα υπολείμματα της παραλαβής του ελαιόλαδου, η πυρηνόμαζα (πυρήνες, φλοιοί κλπ) διατίθενται για την παραγωγή του πυρηνελαίου (Ανδρικόπουλος, 1998).

1.5 Εξευγενισμός των σπορελαίων, του πυρηνελαίου και των βιομηχανοποιήσιμων ελαιολάδων

Εξευγενισμός λέγεται το σύνολο των διεργασιών με τις οποίες ένα ακατέργαστο λίπος ή έλαιο γίνεται εδωδιμο. Περιλαμβάνει διάφορα στάδια όπως την αποκομμίωση, την εξουδετέρωση, τον αποχρωματισμό και την απόσμηση (Μπόσκου, 1997).

Η διαδικασία του εξευγενισμού είναι παρόμοια για τα ελαιόλαδα, πυρηνέλαια και σπορέλαια και ακολουθεί συνοπτικά τα παρακάτω στάδια :

- 1) *Αποκομμίωση*, δηλαδή απομάκρυνση των κόμμεων, ρητινών και απομαργαρίνωση (κυρίως στο βαμβακέλαιο), δηλαδή απομάκρυνση των κορεσμένων τριακυλογλυκερολών υψηλού MB, όπως π.χ. η τριστεατίνη (στεαρίνη βαμβακελαίου), διαδικασία η οποία επιτυγχάνεται με ψύξη στους 2-5 °C.
- 2) *Εξουδετέρωση της υψηλής οξύτητας* με επίδραση καυστικών αλκαλίων, όπως π.χ. αραιών διαλυμάτων NaOH.
- 3) *Πλύση και παραλαβή των σαπώνων της εξουδετέρωσης*.
- 4) *Αποχρωματισμός ή λεύκανση*, δηλαδή η απομάκρυνση των χρωστικών, π.χ. χλωροφυλλών κτλ, με ειδικές αποχρωστικές γαίες ή με ενεργό άνθρακα, που επιτυγχάνεται με δίοδο του ελαίου διαμέσου αυτών.
- 5) *Απόσμηση*, δηλαδή η απομάκρυνση των δυσάρεστων οσμών με διαβίβαση στη μάζα του ελαίου υπέρθερμων υδρατμών.

Μετά την αποκομμίωση και τη λεύκανση ακολουθεί διήθηση (Ανδρικόπουλος, 1998).

Τα τελευταία χρόνια εφαρμόζεται η μέθοδος του φυσικού εξευγενισμού κατά την οποία τα στάδια της εξουδετέρωσης της οξύτητας των ελαίων με διάλυμα NaOH και της απόσμησης έχουν αντικατασταθεί με τη μέθοδο της φυσικής αποξίνισης. Η μέθοδος αυτή συνίσταται στη διαδοχική θέρμανση του ελαίου στους 150-250°C υπό υψηλό κενό (8 -10 mbar), οπότε τα ελεύθερα οξέα της οξύτητας καθώς και τα δύσοσμα συστατικά αποσπάζουν και έτσι απομακρύνονται από το έλαιο. Η διαδικασία γίνεται σε βιομηχανική εγκατάσταση λέβητα μεγάλου ύψους (π.χ. 25 μέτρα), ο οποίος έχει διαμερίσματα υποδοχής μεγάλων ποσοτήτων ελαίου κατά ορόφους. Το έλαιο, πριν από τη είσοδο του στον πύργο απόσταξης, αποχρωματίζεται με ανάμιξη του με αποχρωστική γαία, η οποία προσροφά τις χρωστικές του ελαίου (πχ. χλωροφύλλες κτλ.) και έτσι το έλαιο διαυγάζεται. Μετά τον πύργο απόσταξης το έλαιο αποκομμιώνεται και απομαργαρινώνεται με ψύξη στους 5 °C περίπου, οπότε τα κόμμεα και οι τριστεατίνες κρυσταλλώνονται σε νιφάδες και απομακρύνονται με διήθηση του ελαίου από συστοιχίες φίλτρων διήθησης. Το λαμβανόμενο τελικά έλαιο είναι πλήρως εξευγενισμένο, με μηδενική σχεδόν οξύτητα, με φυσικές μεθόδους και χωρίς τη χρήση χημικών μέσων, δηλαδή NaOH (Ανδρικόπουλος, 1998).

1.6 Αλλοιώσεις Ελαιολάδου

Ο συνήθης όρος που περιγράφει την υποβάθμιση των λιπών είναι το τάγγισμα. Υπάρχουν δύο μορφές «τάγγισης», η υδρολυτική διάσπαση των τριακυλογλυκερολών και η αυτοοξειδωση.

Η πρώτη αλλοίωση είναι απλή υδρόλυση των ουδέτερων τριακυλογλυκερολών προς γλυκερόλη και ελεύθερα λιπαρά οξέα, ενώ η δεύτερη είναι περαιτέρω οξείδωση και διάσπαση προς προϊόντα πτητικά, δύσοσμα και κακόγευστα. Τα τελευταία αποδεδειγμένα είναι επικίνδυνα για τον ανθρώπινο οργανισμό (Μπαλατσούρας, 1997).

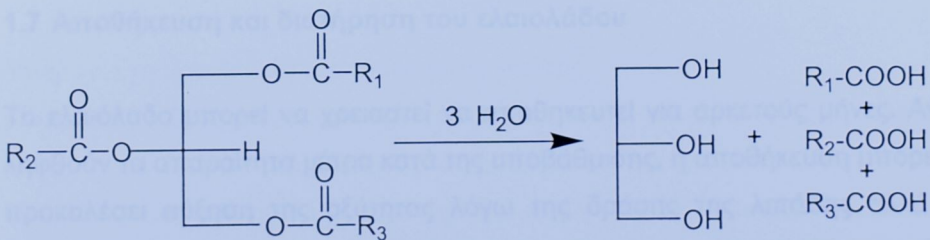
Οι πλέον συνήθεις χημικές αλλοιώσεις των λιπών και των ελαίων οφείλονται σε παράγοντες όπως:

- i) Επίδραση του φωτός.
- ii) Επίδραση της μακροχρόνιας παραμονής πχ. κατά την αποθήκευση.
- iii) Επίδραση της θερμότητας πχ. κατά το τηγάνισμα ή το μαγείρεμα.
- iv) Επίδραση του εξευγενισμού.
- v) Επίδραση άλλων παραγόντων.

(Ανδρικόπουλος, 1998)

Υδρολυτικό τάγγισμα – Λιπόλυση

Η λιπόλυση γίνεται παρουσία νερού. Εντούτοις ο ρυθμός υδρόλυσης μόνο με την παρουσία υγρασίας είναι βραδύς. Η αντίδραση επιταχύνεται σημαντικά με την επεξεργασία του τροφίμου σε υψηλή θερμοκρασία και πίεση αλλά και με την επίδραση ενζύμων (λιπάσες). Όταν μια λιπαρή ύλη παραμένει σε συνθήκες που επιτρέπουν τη δράση των λιπολυτικών ενζύμων, τότε υδρολύονται τα λίπη προς ελεύθερα λιπαρά οξέα και γλυκερόλη ενώ μπορούν να σχηματιστούν μονοακυλογλυκερόλες (MG) και διακυλογλυκερόλες (DG) (Vaclavik, 1998). Το υδρολυτικό τάγγισμα από μόνο του δεν επηρεάζει σημαντικά τη διατροφική αξία του τροφίμου γιατί η μόνη αλλαγή που επέρχεται είναι η αποδέσμευση των λιπαρών οξέων από τη γλυκερόλη. Η κύρια επίδραση είναι η δυσάρεστη γεύση που προκαλείται από τα ελεύθερα λιπαρά οξέα με αποτέλεσμα τη μείωση της κατανάλωσης του επηρεαζόμενου τροφίμου (Kirk, 1979).



Σχήμα 1.6. Υδρόλυση

Πολυμερισμός

Η έκθεση μιας λιπαρής ύλης σε υψηλές θερμοκρασίες όπως για παράδειγμα κατά το τηγάνισμα ή το μαγείρεμα, προκαλεί πολυμερισμό των ακόρεστων οξέων που έχει ως αποτέλεσμα τη μεταβολή του ιξώδους, του μοριακού

βάρους, του χρώματος και του δείκτη διάθλασης. Οι μεταβολές αυτές, που οφείλονται στο σχηματισμό εκτός των πολυμερών και άλλων ενώσεων όπως κυκλικών μονομερών, ενδομοριακών μονομερών κλπ, ελαττώνουν τη διατροφική αξία του ελαίου και επηρεάζουν την ποιότητα των τροφίμων που παρασκευάζονται μέσα σε αυτό (τηγανιτά πατατάκια, ψάρια κλπ.) (Μπόσκου, 1997).

Τα πολυμερή συστατικά του ελαίου συνίστανται από πολυμερισμένες τριακυλογλυκερόλες, τα δε πολικά παρα-προϊόντα συνίστανται από τριακυλογλυκερόλες με υδροξύλια ή υπεροξειδία ή πλευρικές αλυσίδες ή κετονομάδες κ.ά. στις αλυσίδες ατόμων C των λιπαρών οξέων των τριακυλογλυκερολών. Τα παραπροϊόντα αυτά ονομάζονται **ολικά πολικά συστατικά** (Total polar artefacts, TPA) λόγω των πολικών ομάδων που φέρουν, σε αντιδιαστολή με τις τριακυλογλυκερόλες που δεν είναι πολικές. Από πειράματα σε πειραματόζωα έχει δειχτεί ότι δίαιτα με μεγάλη περιεκτικότητα σε TPA προκαλεί βλάβες στην καρδιά και στο ήπαρ. Τα αγορανομικά όρια για τα TPA στην Γαλλία και την Γερμανία είναι 25% και 27%. Τα TPA βρίσκονται και στα μη θερμαινόμενα έλαια λόγω διαφόρων επιδράσεων επ'αυτών (φως, εξευγενισμός κ.ά.) σε ποσοστά 2-5% για το ελαιόλαδο και 5-10% για τα διάφορα είδη σπορέλαιων (Ανδρικόπουλος, 1998).

1.7 Αποθήκευση και διατήρηση του ελαιολάδου

Το ελαιόλαδο μπορεί να χρειαστεί να αποθηκευτεί για αρκετούς μήνες. Αν δε ληφθούν τα απαραίτητα μέτρα κατά της υποβάθμισης, η αποθήκευση μπορεί να προκαλέσει αύξηση της οξύτητας λόγω της δράσης της λιπάσης αλλά και τάγγισμα λόγω της οξειδωσης, με τελικό αποτέλεσμα την αλλοίωση της γεύσης και του αρώματος του ελαίου (Boskou, 1996).

Έτσι, η τυποποίηση και η συσκευασία του λαδιού είναι διαδικασίες μεγάλης σημασίας για την ποιότητα του ελαιολάδου, αλλά και για την μακροβιότητά του. Τα δοχεία τα οποία χρησιμοποιούνται σήμερα για την συσκευασία του ελαιολάδου είναι μεταλλικά, είτε από λευκοσίδηρο είτε ανοξειδωτα, ενώ στα

μπουκάλια το υλικό ποικίλει μεταξύ του πλαστικού και του άχρωμου, διαφανούς ή του σκούρου πράσινου γυαλιού. Στο εξωτερικό έχουν κάνει την εμφάνιση τους και οι χάρτινες συσκευασίες. Σε γενικές πάντως γραμμές, θα πρέπει να πούμε ότι τα δοχεία επιβάλλεται να είναι κατασκευασμένα από χημικά αδρανή υλικά και τα τοιχώματα, ακόμη και των μπουκαλιών, να έχουν αδιαπερατότητα στο φως και το οξυγόνο, τους μεγαλύτερους εχθρούς του ελαιολάδου (Λαμπράκη, 1999).

1.8 Ελαιόλαδο και Υγεία

Ο φυσικός «χυμός» του ελαιολάδου, με την ιδανική χημική του σύσταση και χωρίς εκχυλίσματα και βελτιωτικά, χάρισε για αιώνες την υγεία και την μακροζωία στους λαούς της Μεσογείου, οι οποίοι και τον χρησιμοποιούσαν ως βασική λιπαρή ουσία στην καθημερινή τους διατροφή. Η θρεπτική και βιολογική για τον ανθρώπινο οργανισμό αξία του είναι πολύ σημαντική, για αυτό το ελαιόλαδο συγκαταλέγεται στη λίστα των δέκα ωφελιμότερων ειδών διατροφής (Λαμπράκη, 1999).

Οι ευεργετικές επιδράσεις του ελαιολάδου οφείλονται τόσο στην υψηλή περιεκτικότητά του σε μονοακόρεστα λιπαρά οξέα όσο και στην υψηλή περιεκτικότητά του σε αντιοξειδωτικές ουσίες.

Υπερχοληστερολαιμία και Στεφανιαία Νόσος

Σύμφωνα με βιοχημικές και κλινικές έρευνες, αλλά και με πολλές μεγαλύτερης έκτασης μελέτες σε πληθυσμούς στην Ευρώπη και στις ΗΠΑ, δεν υπάρχει αμφιβολία ότι η δίαιτα που περιλαμβάνει πολλά λιπαρά και πολλά κορεσμένα λιπαρά οξέα (SFA) αυξάνει την αθηρογονική χοληστερόλη LDL και, κατά συνέπεια, ενεργεί ως αίτιο για την εμφάνιση της στεφανιαίας νόσου. Η αντικατάσταση των κορεσμένων λιπαρών οξέων από μονοακόρεστα, όπως αυτά που περιέχονται στο ελαιόλαδο, μειώνει την συγκέντρωση της ολικής και LDL-χοληστερόλης, χωρίς να μειώνει τα επίπεδα της HDL-χοληστερόλης, επιφέροντας έτσι ευνοϊκές μεταβολές στην εικόνα των λιπιδίων του ορού και,

ενδεχομένως, μεταβολές στις φυσικοχημικές ιδιότητες των λιποπρωτεϊνών (EC₃, 2000).

Αθηροσκλήρωση

Το πρωταρχικό βήμα στην εμφάνιση της αθηροσκλήρωσης συντελείται καθώς η LDL διηθείται στο αρτηριακό τοίχωμα και παγιδύεται στο ενδοθήλιο, όπου μπορεί να υποστεί οξειδωτική τροποποίηση.

Δεν υπάρχει αμφιβολία ότι η διατροφή παίζει σημαντικό ρόλο στην οξείδωση της LDL. Συγκεκριμένα, η ποσότητα και ο τύπος του διαιτητικού λίπους καθώς και η περιεκτικότητα σε αντιοξειδωτικά επηρεάζουν την επιδεκτικότητα της LDL και των κυττάρων στην οξείδωση.

Η αντικατάσταση του κορεσμένου λίπους της δίαιτας με μονοακόρεστα (MUFA) και πολυακόρεστα (PUFA) λιπαρά οξέα, μειώνει τα επίπεδα τόσο της ολικής όσο και της LDL χοληστερόλης. Η μείωση των επιπέδων της LDL έχει ως αποτέλεσμα τη μείωση της ποσότητας της LDL που διεισδύει στο αρτηριακό τοίχωμα και θεωρητικά μειώνεται έτσι άμεσα και η διαθέσιμη για οξείδωση LDL (EC₃, Assmann and Wahrburg, 2000).

Αρτηριακή Πίεση

Σε μια έρευνα, υπερτασικά άτομα αντικατέστησαν με εξαιρετικά παρθένο ελαιόλαδο (~40 g/ημέρα) μέρος των άλλων τύπων λίπους που συνήθως κατανάλωναν. Μετά από 12 μήνες, η αρτηριακή τους πίεση μειώθηκε σε βαθμό που η δόση της φαρμακευτικής αγωγής μειώθηκε κατά 50% (Tracey, 2000).

Καρκίνος

Διάφορες επιδημιολογικές μελέτες υποδεικνύουν ότι η συστηματική κατανάλωση ελαιολάδου είναι αντίστροφα συνδεδεμένη με τον καρκίνο. Οι περισσότερες από τις μελέτες εξετάζουν τη σχέση μεταξύ ελαιολάδου και καρκίνου του μαστού ή καρκίνου του στομάχου. Παρότι πρέπει να γίνουν περισσότερες έρευνες, τα υπάρχοντα στοιχεία υποστηρίζουν σταθερά, όχι όμως

αδιαμφισβήτητα, ένα προστατευτικό ρόλο του ελαιολάδου στην πρόληψη του καρκίνου του μαστού. Η προστατευτική επίδραση του ελαιολάδου στον καρκίνο του στομάχου είναι λιγότερο σαφής (EC₃, 2000).

Διαβήτης

Σύμφωνα με τις σύγχρονες κλινικές παρατηρήσεις, το ελαιόλαδο παίζει ένα δυναμικό ρόλο «συντήρησης» του ζαχαρώδη διαβήτη σε χαμηλά επίπεδα, ιδιαίτερα σε μη ινσουλινο-εξαρτώμενο τύπο. Ο Sirtori, από το 1986 υποστηρίζει ότι το ελαιόλαδο όταν λαμβάνεται ως μοναδική λιπαρή ουσία, ιδιαίτερα από άτομα με διαβήτη, δρα ευνοϊκά στην αργή εκκένωση του περιεχομένου του στομάχου στο δωδεκαδάκτυλο. Με τον τρόπο αυτό η πέψη των υδατανθράκων πραγματοποιείται με βραδύ ρυθμό, χωρίς να οδηγεί σε απότομη αύξηση της γλυκόζης στο αίμα. Η σταθερότητα των επιπέδων της γλυκόζης στο αίμα και η αποφυγή της ενεργοποίησης του μηχανισμού της νεογλυκογένεσης στο ήπαρ, καθιστούν το ελαιόλαδο ένα ήπιο, γευστικό και συνάμα ουσιαστικό «φάρμακο» που μπορεί να ανακουφίσει τα διαβητικά άτομα (χωρίς φυσικά να αναστέλλεται ποτέ η φαρμακευτική αγωγή) (Λαμπράκη, 1999).

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2°

ΟΞΕΙΔΩΣΗ ΕΛΑΙΩΝ

Η οξειδωση είναι μια σημαντική αντίδραση η οποία λαμβάνει χώρα μεταξύ των ακόρεστων λιπαρών οξέων και του ατμοσφαιρικού οξυγόνου κάτω από διάφορες συνθήκες. Μπορεί να συμβεί κάτω από ενζυμικές και μη ενζυμικές συνθήκες και στη συνέχεια να ακολουθήσει αυτοοξειδωση ή φωτοοξειδωση με τελικό αποτέλεσμα την υποβάθμιση των ελαίων (Gunstone, 1999).

2.1 Οξειδωτικό τάγγισμα – Αυτοοξειδωση

Η οξειδωτική αποικοδόμηση των λιπών είναι ο δεύτερος τύπος ταγγίσματος. Είναι ο κύριος μηχανισμός υποβάθμισης που ευθύνεται για τις περισσότερες απώλειες ποιότητας και διατροφικής αξίας από κάθε άλλον. Κατά τη διαδικασία αυτή, τα ακόρεστα λιπαρά οξέα αυτοοξειδώνονται και όσους περισσότερους διπλούς δεσμούς περιέχουν τόσο μεγαλύτερη πιθανότητα έχουν να προσλάβουν οξυγόνο στις θέσεις αυτές και να ταγγίσουν (Vaclavik, 1998).

Η αυτοοξειδωση είναι μια πολύπλοκη σειρά αλλοιώσεων και η ταχύτητα της εξαρτάται από τους εξής παράγοντες:

- Την ύπαρξη οξυγόνου και φωτός-ακτινοβολίας, που ευνοούν την αυτοοξειδωση.
- Την παρουσία μετάλλων, που μπορεί να προέρχονται από τα μέσα συσκευασίας όπως Cu, Fe, χρωστικών, ενζύμων κλπ. που αυξάνουν την ταχύτητα της αυτοοξειδωσης.
- Τη θερμοκρασία. Η θερμοκρασία ευνοεί την αυτοοξειδωση, αλλά αυτή δεν σταματά τελείως ούτε σε χαμηλές θερμοκρασίες πχ. με κατάψυξη.
- Τη σύσταση του ελαίου, όπως από το βαθμό ακορεστότητας, το είδος των ακόρεστων λιπαρών οξέων κλπ.

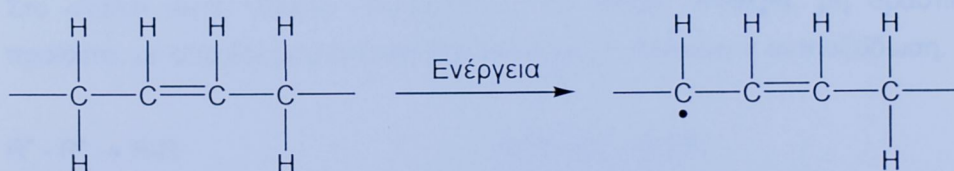
- Τέλος η ταχύτητα μειώνεται από την ύπαρξη αντιοξειδωτικών.
(Δημόπουλος και Ανδρικόπουλος, 1996).

Κατά την αυτοοξείδωση μπορεί να διακριθούν τρία στάδια:

- (α) Η αρχή-έναρξη οπότε σχηματίζονται ελεύθερες ρίζες.
- (β) Η εξέλιξη-πολλαπλασιασμός-διάδοση, οπότε γίνονται αντιδράσεις των ελευθέρων ριζών.
- (γ) Ο τερματισμός, οπότε σχηματίζονται προϊόντα που δεν είναι ελεύθερες ρίζες
(Δημόπουλος και Ανδρικόπουλος, 1996).

(α). Εισαγωγή - Έναρξη

Κατά το στάδιο αυτό σχηματίζονται ελεύθερες ρίζες ως αποτέλεσμα της απομάκρυνσης ατόμων υδρογόνου από τη θέση α, ως προς το διπλό δεσμό. Για το λόγο αυτό οι λιπαρές ύλες που περιέχουν ακόρεστα λιπαρά οξέα (όπως ελαϊκό, λινελαϊκό και λινολενικό) είναι περισσότερο ευαίσθητες στη οξείδωση (Κυριτσάκης και συν., 1988).



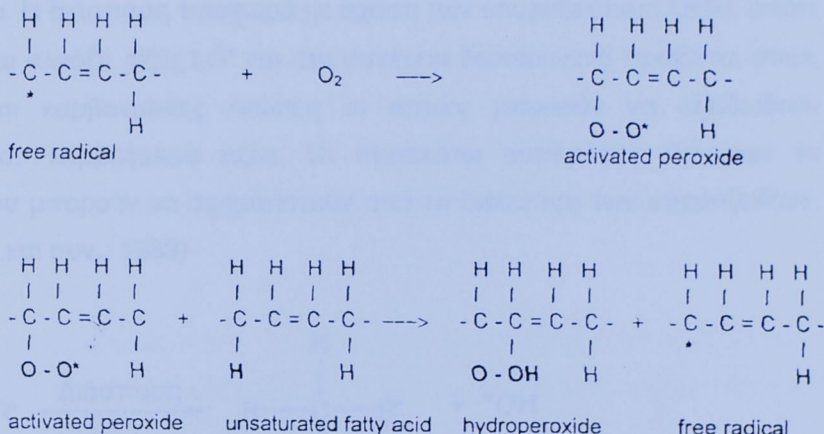
Σχήμα 2.1 Στάδιο έναρξης της αυτοοξείδωσης

(β). Διάδοση – Πολλαπλασιασμός

Οι ρίζες που σχηματίζονται από την απομάκρυνση ατόμων υδρογόνου αντιδρούν στη συνέχεια με οξυγόνο και δημιουργούνται ρίζες υπεροξειδίων. Στη συνέχεια μια υπεροξυ-ελεύθερη ρίζα αντιδρά με ένα άλλο λιπαρό μόριο δίνοντας μια άλλη ρίζα και ένα υδροϋπεροξειδίο που αποτελεί το αρχικό προϊόν της οξείδωσης (Κυριτσάκης και συν., 1988; Δημόπουλος και Ανδρικόπουλος, 1996).

Τα υδροϋπεροξειδία είναι ασταθείς ενώσεις οι οποίες μπορούν να διασπαστούν και να δώσουν διάφορες ενώσεις, όπως καρβονυλικές ενώσεις, υδροξυ-ενώσεις

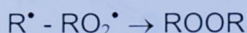
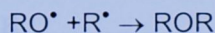
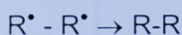
και μικρότερης ανθρακικής αλυσίδας λιπαρά οξέα. Πολλά από αυτά είναι επίσης ικανά να οδηγήσουν σε περαιτέρω αντιδράσεις οξείδωσης (Kirk, 1979).



Σχήμα 2.1β Στάδιο διάδοσης

(γ). Τερματισμός

Στο στάδιο αυτό γίνονται αντιδράσεις που δίνουν σταθερά, μη δραστικά προϊόντα, με αποτέλεσμα να επιβραδύνεται και να τελειώνει η αυτοοξείδωση.

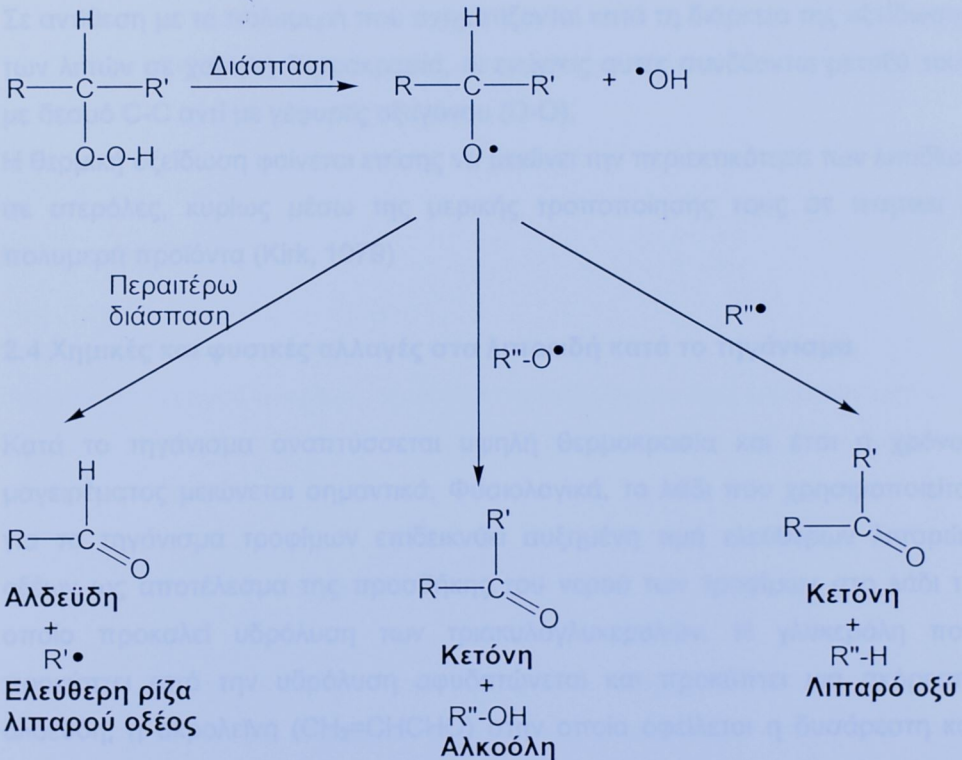


Όπως και στην περίπτωση της υδρολυτικής τάγγισης, τα οξειδωμένα λίπη έχουν δυσάρεστη οσμή και γεύση (Δημόπουλος και Ανδρικόπουλος, 1996).

2.2 Προϊόντα διάσπασης των υπεροξειδίων

Τα αρχικά προϊόντα της οξείδωσης, τα υπεροξείδια, διασπώνται με μια σειρά αντιδράσεων. Η διάσπαση των υπεροξειδίων έχει ως συνέπεια τη δημιουργία ποικίλων προϊόντων που υποβαθμίζουν τη γεύση των λιπών, των ελαίων και των τροφίμων που περιέχουν λιπαρές ύλες.

Τα δευτερογενή προϊόντα της οξείδωσης περιλαμβάνουν καρβονυλικές ενώσεις, αλκοόλες κ.α. Η διάσπαση προχωρά με σχάση των υπεροξειδίων LOOH , οπότε σχηματίζονται αλκόξυ ρίζες $\text{LO}^\bullet$ και στη συνέχεια δευτερογενή προϊόντα, όπως αλκοόλες και καρβονυλικές ενώσεις οι οποίες μπορούν να οξειδωθούν περαιτέρω σε καρβοξυλικά οξέα. Οι παρακάτω αντιδράσεις δείχνουν τα προϊόντα που μπορούν να σχηματιστούν από τη διάσπαση των υπεροξειδίων: (Κυριτσάκης και συν., 1988)



Σχήμα 2.2 Διάσπαση των υπεροξειδίων

2.3 Οξείδωση των ελαίων σε υψηλές θερμοκρασίες

Η οξείδωση των ελαίων σε υψηλές θερμοκρασίες διαφέρει από την οξείδωση του ίδιου ελαίου υπό φυσιολογικές θερμοκρασίες. Όχι μόνο επιταχύνονται οι

αντιδράσεις οξείδωσης αλλά λαμβάνουν μέρος και κάπως διαφορετικές αντιδράσεις.

Ενώ η οξείδωση των ελαίων σε φυσιολογικές θερμοκρασίες σχετίζεται με πτητικές και μη πτητικές ενώσεις, όταν οξειδωθούν σε υψηλές θερμοκρασίες τα λιπίδια περιέχουν σημαντικά επίπεδα trans και συζυγή συστήματα με διπλούς δεσμούς ως αποτέλεσμα αντιδράσεων ισομερισμού καθώς και κυκλικές ενώσεις, διμερή και πολυμερή.

Σε αντίθεση με τα πολυμερή που σχηματίζονται κατά τη διάρκεια της οξείδωσης των λιπών σε χαμηλή θερμοκρασία, οι ενώσεις αυτές συνδέονται μεταξύ τους με δεσμό C-C αντί με γέφυρες οξυγόνου (O-O).

Η θερμική οξείδωση φαίνεται επίσης να μειώνει την περιεκτικότητα των λιπιδίων σε στερόλες, κυρίως μέσω της μερικής τροποποίησης τους σε πτητικά ή πολυμερή προϊόντα (Kirk, 1979)

2.4 Χημικές και φυσικές αλλαγές στα λιποειδή κατά το τηγάνισμα

Κατά το τηγάνισμα αναπτύσσεται υψηλή θερμοκρασία και έτσι ο χρόνος μαγειρέματος μειώνεται σημαντικά. Φυσιολογικά, το λάδι που χρησιμοποιείται για το τηγάνισμα τροφίμων επιδεικνύει αυξημένη τιμή ελεύθερων λιπαρών οξέων ως αποτέλεσμα της προσθήκης του νερού των τροφίμων στο λάδι το οποίο προκαλεί υδρόλυση των τριακυλογλυκερολών. Η γλυκερόλη που προκύπτει από την υδρόλυση αφυδατώνεται και προκύπτει μια ακόρεστη αλδεΐδη, η ακρολεΐνη ($\text{CH}_2=\text{CHCHO}$) στην οποία οφείλεται η δυσάρεστη και δεικτική οσμή των λιπαρών υλών κατά το τηγάνισμα. Άλλες αλλαγές είναι η μείωση της ακορεστότητας, μικρή αύξηση των υπεροξειδίων, συναρμογή διπλών δεσμών και σχηματισμός πολυμερών. Η υψηλή θερμοκρασία και το οξυγόνο προκαλούν ταχείες οξειδωτικές πορείες με αποτέλεσμα να παρατηρείται υποβάθμιση, ενώ καταστρέφονται οι βιταμίνες και τα αντιοξειδωτικά των τροφίμων (Δημόπουλος και Ανδρικόπουλος 1996; Kirk, 1979).

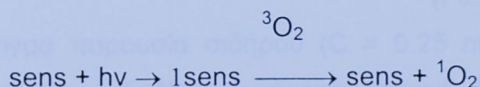
Υπεροχή του ελαιολάδου κατά το τηγάνισμα

Το ελαιόλαδο, χάρη στη φυσική του αφθονία σε μονοακόρεστα λιπαρά οξέα και τη μικρή του περιεκτικότητα σε πολυακόρεστα, αλλά και στον πλούτο του σε αντιοξειδωτικές ενώσεις βρίσκεται σαφώς σε μια ιδιαίτερα πλεονεκτική θέση, αφού αποδεδειγμένα πλέον απαιτούνται πολύ υψηλές και παρατεταμένες θερμοκρασίες προκειμένου να υποστεί αλλοιώσεις. Επίσης το ελαιόλαδο φαίνεται να μη διεισδύει στις τροφές, αλλά να παραμένει στην επιφάνεια, ενώ άλλες λιπαρές ύλες διεισδύουν πλήρως.

Το ελαιόλαδο εφόσον χρησιμοποιηθεί σωστά είναι η καλύτερη λιπαρή ύλη για το τηγάνισμα (Λαμπράκη, 1999).

2.5 Φωτοοξειδωση

Η φωτοοξειδωση περιλαμβάνει κυρίως αλληλεπίδραση μεταξύ των διπλών δεσμών και ενεργού ατομικού οξυγόνου που παράγεται από μια κοινή τριπλέτα οξυγόνου με το φως παρουσία φωτοευαίσθητων ενώσεων με κύριο εκπρόσωπο τη χλωροφύλλη κατά την αντίδραση:



Οι ενεργοποιημένοι ευαίσθητοποιητές μπορούν επίσης να αλληλεπιδράσουν με λιπαρά οξέα και να παραχθεί ρίζα ακυλίου, που δρα όπως και στην αυτοοξειδωση, αλλά η δράση της στο οξυγόνο υπερισχύει (Boskou, 1996; Gunstone 1999).

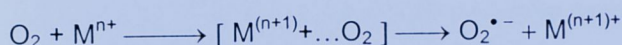
Ο ρόλος της χλωροφύλλης ως προοξειδωτικό φαίνεται να είναι αθροιστικός και επηρεάζεται άμεσα από την παρουσία φωτός. Σε μια έρευνα που χρησιμοποιήθηκε απογυμνωμένο λάδι, όσο μεγαλύτερη ήταν η συγκέντρωση της χλωροφύλλης τόσο αυξανόταν ο αριθμός των υπεροξειδίων στο λάδι αλλά και η κατανάλωση οξυγόνου στην αέρια χρωματογραφία (GC) όσο ήταν εκτεθειμένο στο φως και σε θερμοκρασία 25 °C. Ενώ άλλες έρευνες έδειξαν ότι

η χλωροφύλλη δε δρα ως προοξειδωτικό όταν η αποθήκευση του ελαίου γίνεται στο σκοτάδι (Fakourelis et al., 1987).

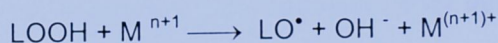
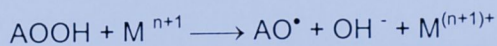
2.6 Επίδραση μετάλλων στην οξείδωση

Πολλές ανασκοπήσεις έχουν δημοσιευτεί σχετικά με τον προοξειδωτικό ρόλο του σιδήρου και άλλων μετάλλων (πχ. Cu), στην υπεροξειδωση των πολυακόρεστων λιπαρών οξέων. Σύμφωνα με αυτές η δράση των μετάλλων μπορεί να ανήκει σε ένα από τους πιο κάτω μηχανισμούς ή και στους δύο.

(i). Μπορούν να οδηγήσουν στην παραγωγή ενεργών μορίων οξυγόνου (πχ. $O_2^{\bullet-}$ και $HO^{\bullet}_2$), μέσω του σχηματισμού συμπλέγματος μετάλλου-οξυγόνου :



(ii). Μπορούν να προκαλέσουν το σχηματισμό ελεύθερων ριζών μέσω της διάσπασης των υδροϋπεροξειδίων :



(Fuster et al, 1998)

Για παράδειγμα παρουσία σιδήρου ($C = 0.25 \text{ mM}$) έχει παρατηρηθεί ότι η συγκέντρωση υπεροξειδίων μειώνεται αρχικά (λόγω της προκαλούμενης διάσπασης, (ii) μηχανισμός) και αυξάνεται σε μεταγενέστερο στάδιο λόγω της δημιουργίας ελεύθερων ριζών μέσω του (i) μηχανισμού.

Η προοξειδωτική δράση των μεταλλικών ιόντων καθορίζεται από την ηλεκτρονική δομή, το σθένος και τον τύπο των υποκαταστατών που συνδέεται το μέταλλο (Mancuso et al., 1999).

2.7 Απευθείας επίδραση της οξείδωσης στη διατροφική ποιότητα των τροφίμων

Οι απευθείας επιδράσεις της οξείδωσης των λιπών στη διατροφική ποιότητα των τροφίμων, είναι αυτές που οφείλονται στην προσβολή από το οξυγόνο και όχι από τα δευτερογενή προϊόντα οξείδωσης. Οποιαδήποτε σημαντικού επιπέδου αυτοοξείδωση ή καταλυτική οξείδωση στο λιπιδικό σύστημα του τροφίμου, οδηγεί σε μείωση των απαραίτητων λιπαρών οξέων που περιέχονται, λινελαϊκού και λινολενικού οξέος, λόγω της ακορεστότητας τους. Την ίδια στιγμή, η αποδόμηση άλλων ακόρεστων λιπιδικών ενώσεων όπως τα καροτένια, η βιταμίνη Α και οι τοκοφερόλες, επηρεάζει αυτόματα τη διατροφική αξία με αποτέλεσμα τη μείωση της επάρκειας τους (Kirk, 1979).

2.1.2. Οξείδωση λιπών

Πολλές προσπάθειες που έγιναν για την εκτίμηση της επίδρασης των υδροϋπεροξειδίων στα ζώα, έδειξαν ότι αυτά τα άχρωμα, άγευστα και άοσμα μόρια πιθανόν να έχουν μικρή επίδραση στην διατροφική αξία των λιπιδίων των τροφίμων. Παρόλα αυτά, τα υδροϋπεροξειδία είναι εξαιρετικά ασταθή και διασπώνται σχηματίζοντας μεγάλη ποικιλία οξειδωμένων και θερμοπαραγόμενων μορίων, κάποια από τα οποία έχει αποδειχτεί ότι είναι επιβλαβή όταν παρουσιάζονται σε υψηλές συγκεντρώσεις (Kirk, 1979).

2.1.3. Οξείδωση λιπών

2.8 Οξειδωμένα έλαια και επιπτώσεις στην υγεία

2.8.1. Οξείδωση λιπών

Η κατανάλωση οξειδωμένων ελαίων συμβάλλει στην είσοδο ελεύθερων ριζών και ενεργού οξυγόνου στον ανθρώπινο οργανισμό. Οι ελεύθερες ρίζες μπορούν να προκαλέσουν καταστροφή του DNA, των πρωτεϊνών και των λιπιδίων. Επιπλέον τα αρχικά και τα δευτερογενή προϊόντα οξείδωσης συμμετέχουν στην παθοφυσιολογία πολλών ασθενειών όπως: καρδιαγγειακά νοσήματα, καρκίνο, γήρανση των κυττάρων, αθηροσκλήρωση, καταρράκτη, νευροπάθειες, υπερτροφία του ήπατος και ενζυμική δυσλειτουργία.

2.8.2. Οξείδωση λιπών

Πρόσφατες έρευνες έδειξαν ότι η οξείδωση της LDL χοληστερόλης αυξάνει τον κίνδυνο εμφάνισης αθηροσκλήρωσης. Όσον αφορά την υπερτροφία του ήπατος και την ενζυμική δυσλειτουργία, τα υδροϋπεροξειδία έχουν αρνητική επίδραση μέσω της μείωσης της δραστηριότητας της πεψίνης, της θρυψίνης, της παγκρεατικής λιπάσης και άλλων ενζύμων.

2.8.3. Οξείδωση

Επιπλέον, η οξείδωση των λιπών με τη δράση των ελεύθερων ριζών μπορεί να έχει σειρά ανεπιθύμητων δράσεων στον οργανισμό (πχ. να προκαλέσει νευροπάθειες, όπως τις ασθένειες Parkinson και Alzheimer) (Κυριτσάκης και Κυριτσάκης, 2000).

2.9 Έλεγχος Ποιότητας – Εκτίμηση του σταδίου οξείδωσης μιας λιπαρής ύλης - Μέθοδοι

Έλεγχος Ποιότητας

Οι δοκιμασίες για την περιγραφή των διαφόρων ιδιοτήτων ενός δείγματος ελαίου ή λίπους αποτελούν μέρος της εκτίμησης της εμπορικής του αξίας και αυθεντικότητας. Αφορούν κυρίως στην ποιότητα του ελαίου παρά τη χημική του δομή, παρότι κάποιες δοκιμασίες παρέχουν στοιχεία και για τη σύσταση του. Τα αποτελέσματα είναι αξιόπιστα και μπορούν να χρησιμοποιηθούν για σκοπούς σύγκρισης μόνο όταν έχουν πραγματοποιηθεί προσεκτικά με αποδεκτές μεθόδους (Gunstone, 1999).

Η Επιτροπή της Ευρωπαϊκής Κοινότητας έχει εκδόσει ένα κανονισμό (ΕΟΚ αρ. 2568/91) με τον οποίο καθορίζει τις μεθόδους χημικής ανάλυσης και οργανοληπτικής αξιολόγησης βάσει πρωτοκόλλου που πρέπει να εφαρμόζονται από τα μέλη της κοινότητας καθώς και τις ενδεικνυόμενες τιμές βάσει των οποίων τα έλαια χαρακτηρίζονται κατάλληλα για βρώση ή όχι αλλά και κατηγοριοποιούνται στις διάφορες βαθμίδες ποιότητας (EC₁, 1991).

Κυριότερες δοκιμασίες ελέγχου ποιότητας ελαίων:

1. Οργανοληπτική εξέταση
2. Χρώμα
3. Δείκτης διάθλασης
4. Προσδιορισμός της πυκνότητας
5. Προσδιορισμός του αριθμού ιωδίου
6. Προσδιορισμός του αριθμού σαπωνοποιήσεως
7. Οξύτητα

8. Προσδιορισμός του βαθμού οξείδωσης (αριθμός υπεροξειδίων)
9. Προσδιορισμός της απορρόφησης του ελαιολάδου στο υπεριώδες φάσμα
10. Προσδιορισμός της σύστασης των τριακυλογλυκερολών σε λιπαρά οξέα, των λιπαρών οξέων στην 2-θέση στις τριακυλογλυκερόλες καθώς και των *trans* ακόρεστων λιπαρών οξέων (Αργυρίδης, 2001; Κυριτσάκης και συν., 1988).

Στον Πίνακα 2.9 φαίνονται αναλυτικά όλοι οι προσδιορισμοί που γίνονται με στόχο την ποιοτική κατηγοριοποίηση των ελαιολάδων:

Στη συνέχεια γίνεται αναφορά στις κυριότερες μεθόδους ελέγχου ποιότητας οξειδωμένων ελαίων που η σχετική με το θέμα της πτυχιακής αυτής μελέτης, βιβλιογραφία αναφέρεται πιο συχνά:

Οξύτητα: Αντικείμενο της μεθόδου αυτής είναι ο προσδιορισμός των ελεύθερων λιπαρών οξέων σε ελαιόλαδα. Η περιεκτικότητα σε ελεύθερα λιπαρά οξέα εκφράζεται ως οξύτητα υπολογισθείσα με συμβατικό τρόπο (EC₁, 1991).

Προσδιορισμός του αριθμού υπεροξειδίων (PV. Peroxide value): Η προδιαγραφή αυτή είναι εφαρμόσιμη σε ζωικά και φυτικά έλαια και λίπη. Ο αριθμός υπεροξειδίων εκφράζει την ποσότητα αυτών των συστατικών του δείγματος (εκφρασμένης σε χιλιοστοϊσοδύναμα ενεργού οξυγόνου ανά Kg) που οξειδώνουν το ιωδιούχο κάλιο. Για το παρθένο ελαιόλαδο, ο αριθμός υπεροξειδίων πρέπει να είναι μικρότερος από 20 meq/Kg (EC₁, 1991; Αργυρίδης, 2001).

Πίνακας 2.9

Κατηγορία	Εξαιρετικό παρένο ελαϊόλαδο	Παρένο ελαϊόλαδο	Κοινό παρένο ελαϊόλαδο	Μειονεκτικό παρένο ελαϊόλαδο	Εξυγνευμένο ελαϊόλαδο	Ελαϊόλαδο
Οξύτητα (%)	M 1.0	M 2.0	M 3.3	> 3.3	M 0.5	M 1.5
K270 υπεράνω αλκυμίνος	M 0.20	M 0.25	M 0.25	> 0.25	M 1.20	M 1.00
ΔK	M 0.10	M 0.10	M 0.10	M 0.11	-	-
K232	M 0.01	M 0.01	M 0.01	-	M 0.16	M 0.13
Δεκτης υπεροξειδίων (meq/kg)	M 2.50	M 2.60	M 2.60	M 3.70	M 3.40	M 3.30
Οργανοληπτική αξιολόγηση	M 20	M 20	M 20	> 20	M 5	M 15
Αλογωνώμενοι υδρογονάνθρακες (mg/kg) (Σημ. 1)	ε 6.5	ε 5.5	ε 3.5	< 3.5	-	-
Μυριστικό οξύ %	M 0.20	M 0.20	M 0.20	> 0.20	M 0.20	M 0.20
Λινολεϊκό οξύ %	M 0.05	M 0.05	M 0.05	M 0.05	M 0.05	M 0.05
Αραχιδικό οξύ %	M 0.09	M 0.9	M 0.9	M 0.9	M 0.9	M 0.9
Λινολεϊκό οξύ %	M 0.6	M 0.6	M 0.6	M 0.6	M 0.6	M 0.6
Εικοσενικό οξύ %	M 0.4	M 0.4	M 0.4	M 0.4	M 0.4	M 0.4
Βεγνικό οξύ %	M 0.2	M 0.2	M 0.2	M 0.2	M 0.2	M 0.2
Λιγολεϊκό οξύ %	M 0.05	M 0.05	M 0.05	M 0.10	M 0.20	M 0.20
Σύνολο trans ισομερών του ελαϊκού οξέος %						
Σύνολο των trans ισομερών του λινελαϊκού + των trans ισομερών του λινολεϊκού οξέος %	M 0.05	M 0.05	M 0.05	M 0.10	M 0.30	M 0.30
Κεκορεσμένα λιπαρά οξέα στη θέση 2 των τριγλυκεριδίων %						
Τριγλυκερίνη %	M 1.3	M 1.3	M 1.3	M 1.3	M 1.5	M 1.5
Κηροί (mg/kg)	M 0.5	M 0.5	M 0.5	M 0.5	M 0.5	M 0.5
Σύνολο στερολών (mg/kg)	M 250	M 250	M 250	M 350	M 350	M 350
Χοληστερόλη %	ε 1000	ε 1000	ε 1000	ε 1000	ε 1000	ε 1000
Βρασικάστερόλη %	M 0.5	M 0.5	M 0.5	M 0.5	M 0.5	M 0.5
Καμπεστερόλη %	M 0.1	M 0.1	M 0.1	M 0.1	M 0.1	M 0.1
Στιγμαστερόλη %	M 4.0	M 4.0	M 4.0	M 4.0	M 4.0	M 4.0
β-Σιτοστερόλη % (Σημ 2)	< Καμπεστερόλη	< Καμπεστερόλη	< Καμπεστερόλη	-	< Καμπεστερόλη	< Καμπεστερόλη
Δ7-Στιγμαστερόλη %	ε 93.0	ε 93.0	ε 93.0	ε 93.0	ε 93.0	ε 93.0
Ευροδοδώνη+Ουβαδώνη %	M 0.5	M 0.5	M 0.5	M 0.5	M 0.5	M 0.5
Στιγμασταδιένιο (mg/kg)	M 4.5	M 4.5	M 4.5	M 4.5	M 4.5	M 4.5
Υγρασία και πτητικές ουσίες %	M 0.15	M 0.15	M 0.15	M 0.5	M 0.5	M 0.5
Υγρασία και πτητικές ουσίες %	M 0.2	M 0.2	M 0.2	M 0.3	M 0.1	M 0.1
Αδιάλυτες ύλες στον πετρελαιοειδή αέρα %	M 0.1	M 0.1	M 0.1	M 0.2	M 0.05	M 0.05

Προσδιορισμός της απορρόφησης του ελαιολάδου στο υπεριώδες φάσμα:

Χρησιμοποιείται για τον έλεγχο της ποιότητας, της κατάστασης και ειδικότερα για τον προσδιορισμό του βαθμού της οξειδωτικής του αλλοίωσης. Στα 232nm απορροφούν τα πρωτογενή προϊόντα της οξείδωσης (συζυγή υπεροξειδία) και στα 270nm απορροφούν τα δευτερογενή προϊόντα οξείδωσης δηλ. αλδεΐδες ή κετόνες. Επίσης απορροφούν στα 270nm τα συζυγή διένια και τριένια τα οποία δημιουργούνται κατά το ραφινάρισμα του ελαιολάδου (διάκριση παρθένου από ραφιναρισμένο) (Αργυρίδης, 2001).

Σταθερότητα κατά την οξείδωση: (Ιστορική αναδρομή – Rancimat)

Η βιομηχανία των βρώσιμων ελαίων έδειξε από παλιά έντονο ενδιαφέρον για την ανεύρεση μιας γρήγορης αναλυτικής δοκιμής που να προβλέπει την ανθεκτικότητα ενός ελαίου στην αυτοοξείδωση. Αυτό γιατί το οξειδωτικό τάγγισμα είναι ένας από τους πιο κρίσιμους παράγοντες που επηρεάζουν αρνητικά το χρονικό διάστημα που ένα έλαιο είναι κατάλληλο για βρώση.

Ιστορικά η μέθοδος Schaal Oven και η μέθοδος του ενεργού οξυγόνου (AOM, Active oxygen method), γνωστή και ως Swift Test, ήταν οι ευρύτερα χρησιμοποιούμενες για τον έλεγχο της σταθερότητας έναντι της οξείδωσης. Και οι δύο αυτές μέθοδοι βασίζονταν στη χρήση υψηλών θερμοκρασιών με σκοπό την αύξηση της ταχύτητας οξείδωσης των λιπών. Η μέθοδος Schaal Oven μπορούσε να δώσει αποτελέσματα εντός κάποιων ημερών, ενώ η AOM εντός κάποιων ωρών. Για αυτό και τελικά επικράτησε η μέθοδος ενεργού οξυγόνου (Hill, 1994). Η σταθερότητα των ελαίων οριζόταν ως ο απαιτούμενος χρόνος για να ανέβει η τιμή του αριθμού υπεροξειδίων στα 100 mEq/Kg ενώ το λάδι βρισκόταν σε θερμοκρασία $98,0 \pm 0,2$ °C σε σωλήνα με συγκεκριμένες διαστάσεις και μέσα του διαβιβαζόταν αέρας με ορισμένη ταχύτητα (Καπούλας, 1985).

Η ύπαρξη όμως πολλών δυσκολιών και αδυναμιών, όπως το υψηλό κόστος και η δυσκολία πραγματοποίησης επαναλαμβανόμενων μετρήσεων του αριθμού υπεροξειδίων, οδήγησε στην ανάγκη ανάπτυξης μιας εναλλακτικής βελτιωμένης μεθόδου (Läubli and Bruttel, 1986; Oosten, Poot, and Hensen, 1981).

Η εναλλακτική μέθοδος (Rancimat) που αναπτύχθηκε τις περασμένες δύο δεκαετίες, βασίζεται στη μέτρηση της αλλαγής της αγωγιμότητας του δις απεσταγμένου νερού που προκαλείται από τα πτητικά οργανικά οξέα που συγκεντρώνονται σε αυτό με την πάροδο του χρόνου. Τα οργανικά οξέα είναι σταθερά δευτερογενή προϊόντα της οξείδωσης του θερμαινόμενου ελαίου το οποίο οξειδώνεται με τη διοχέτευση αέρα διαμέσω αυτού (Hill and Perkins, 1995).

Η μεταβολή της διηλεκτρικής σταθεράς παρακολουθείται με τη χρήση αυτογραφικής συσκευής με τη μορφή καμπυλών. Η πορεία των καμπυλών προχωρά κατ'ουσίαν παράλληλα με την αύξηση του αριθμού των υπεροξειδίων. Επομένως με βάση τις καμπύλες μπορούμε να υπολογίσουμε τη διάρκεια του κάθε σταδίου οξείδωσης και κυρίως του σταδίου επαγωγής (όπου δεν έχει ακόμα αρχίσει ο σχηματισμός των δευτερογενών προϊόντων – προϊόντων διάσπασης) (Κυριτσάκης και συν., 1988).

Το στάδιο επαγωγής αποτελεί μια καλή ένδειξη όχι μόνο για τη σταθερότητα των λιπαρών υλών στην οξείδωση αλλά και για την κατάσταση της ποιότητας τους. Οι χρόνοι επαγωγής στη συσκευή αυτή επηρεάζονται επίσης σημαντικά από τη θερμοκρασία, την παρουσία μετάλλων ως καταλυτών, τη ροή του αέρα και άλλες παραμέτρους (Κυριτσάκης και συν., 1988).

Η Rancimat βρέθηκε να έχει ισχυρή θετική συσχέτιση με τη μέθοδο AOM ως προς τα αποτελέσματα που εξάγει (Läubi and Bruttel, 1986; Hill, 1994)

Η γνώση ότι η θερμοκρασία επηρεάζει τη σταθερότητα των λιπών στην οξείδωση (Hasenhuetti and Wan, 1992) καθώς και η πιθανότητα επίδρασης άλλων παραμέτρων, όπως το μέγεθος του δείγματος και ο ρυθμός ροής του αέρα, οδήγησαν στην ανάγκη καθορισμού των ιδανικών συνθηκών για τη μελέτη των φυτικών ελαίων έτσι ώστε τα αποτελέσματα των διαφόρων ερευνών να είναι συγκρίσιμα. Οι διάφορες έρευνες που έγιναν για το σκοπό αυτό έδειξαν ότι όντως το μέγεθος του δείγματος και ο ρυθμός ροής του αέρα παίζουν σημαντικό ρόλο στο χρόνο εισαγωγής. Με βάση το βαθμό συσχέτισης των

αποτελεσμάτων, στις διάφορες δοκιμές με Rancimat και AOM, κατέληξαν ότι οι προτιμότερες συνθήκες είναι :

Θερμοκρασία: 100 – 120 ° C (με καλύτερη συσχέτιση στους 100 ° C)

Ροή αέρα: 12 ή 20 L/h

Μέγεθος δείγματος: 5 g

(Hill and Perkins, 1995; Läubli and Bruttel, 1986).

Πλεονεκτήματα Rancimat :

1. Η μέθοδος Rancimat αποτελεί μια γρήγορη και οικονομική τεχνική ελέγχου της σταθερότητας των ελαίων, η οποία δεν απαιτεί παρακολούθηση κατά τη διάρκεια της λειτουργίας της (Κυριτσάκης και συν., 1988).
2. Δεν απαιτεί την κατανάλωση δείγματος για τον περιοδικό προσδιορισμό του αριθμού των υπεροξειδίων.
3. Δεν απαιτεί την κατανάλωση διαλυτών που χρησιμοποιούνταν για τον καθορισμό του αριθμού υπεροξειδίων.
4. Οι μετρήσεις γίνονται συνεχόμενα (Hasenhuetti and Wan, 1992; Hill, 1994; Läubli and Bruttel, 1986)

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3^ο

ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΑ ΕΛΑΙΩΝ

3.1 Γενικά

Ως αντιοξειδωτικά χαρακτηρίζονται το σύνολο των ενώσεων που μπορούν να αναστείλουν τις αντιδράσεις οξείδωσης δεσμεύοντας το διαθέσιμο οξυγόνο και αποτρέποντας έτσι το τάγγισμα των ελαίων και των τροφίμων που περιέχουν λίπος.

Πολλά αντιοξειδωτικά ανευρίσκονται φυσιολογικά στα τρόφιμα, όπως το ασκορβικό οξύ (βιταμίνη C), οι τοκοφερόλες (βιταμίνη E), το κιτρικό οξύ, κάποιες αμίνες και φαινολικές ενώσεις. Τα πιο διαδεδομένα συνθετικά αντιοξειδωτικά είναι το BHA (*tert*-βουτυλαιθέρας της υδροξυανισόλης), το BHT (*tert*-βουτυλαιθέρας του υδροξυτολουολίου), το TBHQ (δι-τρι-βουτυλο-υδροκινόνη) και εστέρες του γαλλικού οξέος, όπως ο προπυλεστέρας (PG), ο οκτυλεστέρας και ο δωδεκυλεστέρας (Vaclavik, 1998).

Τα φυτικά έλαια περιέχουν φυσικά αντιοξειδωτικά. Εντούτοις, η συγκέντρωση αυτών μπορεί να μειωθεί κατά το ραφινάρισμα. Οι ενώσεις αυτές είναι συνήθως τοκόλες όπως τοκοφερόλες και τοκοτριενόλες αλλά και φυσικές φαινολικές ενώσεις. Τα ιχθυέλαια και τα ζωικά λίπη περιέχουν πολύ λιγότερα αντιοξειδωτικά και έτσι είναι πιο επιρρεπή στην οξείδωση (Gunstone, 1999).

Το σύνολο των τοκολών είναι γνωστό και ως βιταμίνη E αλλά η βιταμινική δράση δεν είναι ίδια με την αντιοξειδωτική και οι διάφορες τοκόλες δεν έχουν ισοδύναμη δράση ως αντιοξειδωτικά και ως βιταμίνες. Η εκτίμηση και η σύγκριση των αντιοξειδωτικών ενώσεων είναι πολύπλοκη λόγω των πιο κάτω παραγόντων :

- (i) Η επίδρασή τους διαφέρει στα διάφορα λίπη και έλαια λόγω της διαφορετικής περιεκτικότητας και του είδους των ακόρεστων λιπαρών οξέων που περιέχουν καθώς και της συγκέντρωσης των φυσικών αντιοξειδωτικών σε αυτά.
- (ii) Διαφορετικά αποτελέσματα εξάγονται σε διάφορες θερμοκρασίες γιατί οι μηχανισμοί οξείδωσης και η διάσπαση των υδροϋπεροξειδίων μεταβάλλεται με τη θερμοκρασία.
- (iii) Τα αποτελέσματα ποικίλουν ανάλογα με την πειραματική μέθοδο που ακολουθείται, η οποία μπορεί να μετρά πρωτογενή προϊόντα οξείδωσης (υδροϋπεροξειδία) ή δευτερογενή προϊόντα οξείδωσης (καρβονυλικές ενώσεις ή/και πτητικές ενώσεις).
- (iv) Μίγματα αντιοξειδωτικών χρησιμοποιούνται ευρέως, τα οποία δρουν συνεργιστικά δηλαδή είναι πιο αποτελεσματικά από ότι αναμένεται με βάση τη δράση του κάθε αντιοξειδωτικού χωριστά.
- (v) Παράγοντες διαλυτοποίησης είναι επίσης σημαντικοί, κυρίως σε διφασικά συστήματα μέσα στα οποία κατανέμονται τα αντιοξειδωτικά (Gunstone, 1999).

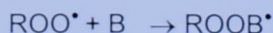
3.2 Κατηγοριοποίηση αντιοξειδωτικών

Τα αντιοξειδωτικά μπορούν να κατηγοριοποιηθούν με δύο τρόπους :

- (α) φυσικά ή συνθετικά (όπως αναφέρθηκαν πιο πάνω).
- (β) ως προς τον τρόπο δράσης τους, σε κύρια και δευτερεύοντα.

Κύρια αντιοξειδωτικά

Τα αντιοξειδωτικά της κατηγορίας αυτής μειώνουν την διάδοση των αντιδράσεων οξείδωσης προκαλώντας τερματισμό. Σε αυτήν ανήκουν οι φαινόλες, οι αμίνες, οι τοκοφερόλες και οι ενώσεις που περιλαμβάνουν ένα εκτενές σύστημα συζυγιακών διπλών δεσμών, όπως τα καροτενοειδή. Αντιδρούν με τις ρίζες υπεροξειδίων δίνοντας προϊόντα που δεν μπορούν να συμβάλουν στην διάδοση της αντίδρασης. Για παράδειγμα :

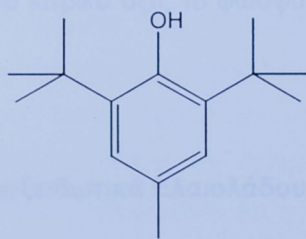


όπου AH= αμίνες, φαινόλες ή α-τοκοφερόλη

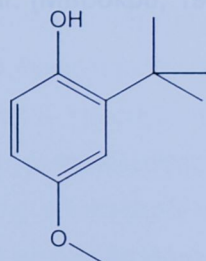
B= β-καροτένιο ή α-τοκοφερόλη

Τα αντιοξειδωτικά «θυσιάζονται» στη θέση των ακόρεστων λιπαρών οξέων και η περίοδος εισαγωγής τελειώνει όταν τα αντιοξειδωτικά εξαντληθούν. Εντούτοις τα φαινολικά αντιοξειδωτικά μπορούν να αναγεννηθούν, ως ένα βαθμό, με τη βοήθεια του ασκορβικού οξέος (έμμεση δράση ως αντιοξειδωτικό) που παρέχει υδρογόνο στις ρίζες φαινοξειδίου (Gunstone, 1999; Μπόσκου, 1997).

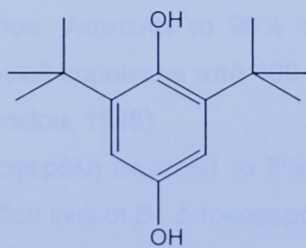
Τα συνθετικά αντιοξειδωτικά που ανήκουν σε αυτή την κατηγορία είναι οι φαινολικές ενώσεις BHA, BHT, TBHQ και PG οι οποίες δρουν όπως και οι φυσικές φαινόλες διακόπτοντας τις αντιδράσεις διάδοσης παρέχοντας άτομα υδρογόνου στις ελεύθερες ρίζες (Gunstone, 1999; Μπόσκου, 1997).



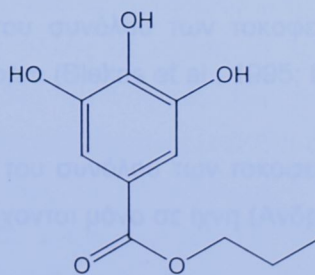
BHT



BHA

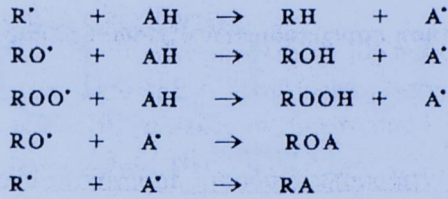


TBHQ



PG

Σχήμα 3.2.α. Δομές συνθετικών αντιοξειδωτικών



Σχήμα 3.2β Αντιδράσεις αντιοξειδωτικών

Δευτερεύοντα αντιοξειδωτικά

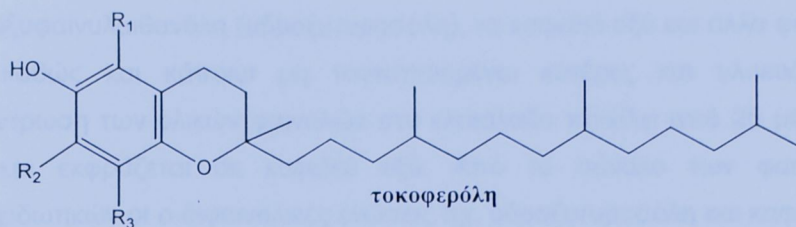
Η δεύτερη κατηγορία αφορά αντιοξειδωτικά που δεσμεύουν μέταλλα τα οποία με μεταφορά ηλεκτρονίου δημιουργούν ελεύθερες ρίζες. Σε αυτά ανήκουν διάφορα οξέα ή παράγωγα τους που σχηματίζουν χηλικές ενώσεις όπως το EDTA, το κιτρικό οξύ, το φωσφορικό, άλατα κλπ. (Μπόσκου, 1997; Gunstone, 1999).

3.3 Αντιοξειδωτικά Ελαιολάδου

(α). Σύσταση του ελαιολάδου σε αντιοξειδωτικά

Η α-τοκοφερόλη θεωρείται παραδοσιακά ως το κύριο αντιοξειδωτικό του ελαιολάδου. Αποτελεί το 90% περίπου του συνόλου των τοκοφερολών και φυσιολογικά κυμαίνεται από 100 έως 300 ppm (Blekas et al., 1995; Psomiadou and Tsimidou, 1998).

Η γ-τοκοφερόλη αποτελεί το 8% περίπου του συνόλου των τοκοφερολών του ελαιολάδου ενώ οι β-, δ-τοκοφερόλες περιέχονται μόνο σε ίχνη (Ανδρικόπουλος και συν., 1989).



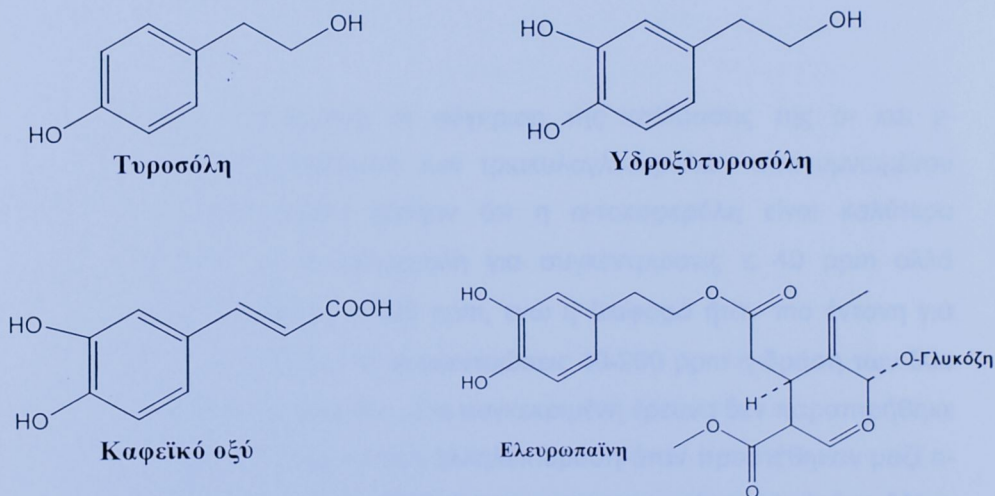
Ένωση	R ₁	R ₂	R ₃
α-τοκοφερόλη	CH ₃	CH ₃	CH ₃
β-τοκοφερόλη	CH ₃	H	CH ₃
γ-τοκοφερόλη	H	CH ₃	CH ₃
δ-τοκοφερόλη	H	H	CH ₃

Σχήμα 3.3α Δομή τοκοφερολών

Οι συγκεντρώσεις των τοκοφερολών διαφέρουν τόσο ανάμεσα στις διάφορες ποιοτικές κατηγορίες ελαιολάδου όσο και μεταξύ διαφορετικών δειγμάτων ίδιας ποιότητας. Όσον αφορά το παρθένο ελαιόλαδο, η συγκέντρωση της α-τοκοφερόλης ποικίλει σε δείγματα διαφορετικής προέλευσης. Μια πιθανή εξήγηση που δόθηκε είναι ότι η συγκέντρωση της α-τοκοφερόλης επηρεάζεται από την ποικιλία του ελαιοκάρπου αλλά και από τις περιβαλλοντικές συνθήκες. Διαφορές εντοπίστηκαν και στο γνήσιο ελαιόλαδο όπου όμως ως ένα βαθμό δικαιολογείται από το γεγονός ότι μπορεί να περιέχει 33-95% παρθένο ελαιόλαδο. Το υπολειμματικό ελαιόλαδο επιδεικνύει μεγάλη ομοιομορφία αλλά εμφανίζει αυξημένη συγκέντρωση γ-τοκοφερόλης σε σχέση με τους άλλους τύπους, η οποία μπορεί να οφείλεται στη συνεισφορά του πυρήνα του ελαιοκάρπου σε γ-τοκοφερόλη καθώς και στις διαφορετικές μεθόδους εκχύλισης σε σχέση με το παρθένο ελαιόλαδο. Τέλος το ραφινρισμένο ελαιόλαδο βρέθηκε να έχει τη μικρότερη συγκέντρωση α-τοκοφερόλης και μόνο ίχνη γ-τοκοφερόλης. Αυτό μπορεί να οφείλεται στις διάφορες διαδικασίες ραφινρίσματος που πιθανόν να επηρεάζουν τις τοκοφερόλες ή στις συνθήκες αποθήκευσης (Ανδρικόπουλος και συν., 1989).

Άλλα φυσικά αντιοξειδωτικά που περιέχονται στο ελαιόλαδο είναι οι πολικές φαινολικές ενώσεις όπως η 4-υδροξυφαιθυλαιθανόλη (τυροσόλη), η 3,4-

διυδροξυφαινυλαιθανόλη (υδροξυτυροσόλη), το καφεϊκό οξύ και άλλα φαινολικά οξέα καθώς και κάποιοι μη ταυτοποιημένοι εστέρες και γλυκοζίτες. Η συγκέντρωση των ολικών φαινολών στο ελαιόλαδο ποικίλει από 25 μέχρι 440 ppm και εκφράζεται σε καφεϊκό οξύ. Από το σύνολο των φαινολικών αντιοξειδωτικών οι ο-διφαινολικές ενώσεις πχ. υδροξυτυροσόλη και καφεϊκό οξύ φαίνεται να έχουν την πιο σημαντική δράση (Blekas et al, 1995; Aparicio et al., 1999).



Σχήμα 3.3.β. Δομές φυσικών αντιοξειδωτικών του ελαιολάδου

3.4 Ο ρόλος των αντιοξειδωτικών στη σταθερότητα του ελαιολάδου κατά την οξείδωση

(α). Φυσικά Αντιοξειδωτικά

Παρόλο που η σταθερότητα του ελαιολάδου στην οξείδωση δεν αποτελεί μια ακριβή παράμετρο εκτίμησης της ποιότητας του, είναι χρήσιμη για την παροχή πληροφοριών έτσι ώστε να προβλέπεται η χρονική περίοδος που μεσολαβεί από τη στιγμή συσκευασίας του ελαιολάδου μέχρι να καταστεί ακατάλληλο για κατανάλωση. Όσο πιο μικρή είναι η αντοχή ενός ελαίου στην οξείδωση τόσο πιο χαμηλής ποιότητας χαρακτηρίζεται (Aparicio et al., 1999).

Ο ρόλος των αντιοξειδωτικών συνολικά αλλά και η συνεισφορά του κάθε αντιοξειδωτικού ξεχωριστά στην προστασία του ελαιολάδου έναντι της οξείδωσης απετέλεσε και συνεχίζει να αποτελεί αντικείμενο μελέτης από πολλούς ερευνητές.

Τα φυσικά αντιοξειδωτικά που έχουν μελετηθεί περισσότερο μέχρι σήμερα είναι οι τοκοφερόλες, με κύριο εκπρόσωπο την α -τοκοφερόλη καθώς και οι φαινολικές ενώσεις λόγω της αναγνώρισης τους ως κύρια αντιοξειδωτικά του ελαιολάδου.

Σε μια μελέτη με αντικείμενο τη σύγκριση της επίδρασης της α - και γ -τοκοφερόλης στην αυτοοξείδωση των τριακυλογλυκερολών απογυμνωμένου ηλιελαίου, τα αποτελέσματα έδειξαν ότι η α -τοκοφερόλη είναι καλύτερο αντιοξειδωτικό από την γ -τοκοφερόλη για συγκεντρώσεις ≤ 40 ppm αλλά χειρότερο σε συγκεντρώσεις > 200 ppm, ενώ η διαφορά ήταν πιο έντονη για συγκεντρώσεις > 1000 ppm. Για συγκεντρώσεις 40-200 ppm η δράση των δύο τοκοφερολών ήταν περίπου η ίδια. Στη συγκεκριμένη έρευνα δεν παρατηρήθηκε καμιά συνεργιστική ή ανταγωνιστική αλληλεπίδραση όταν προστέθηκαν μαζί α - και γ -τοκοφερόλη κατά την αυτοοξείδωση του απογυμνωμένου ηλιελαίου. Μόνη εξαίρεση αποτέλεσε η περίπτωση κατά την οποία οι τοκοφερόλες βρίσκονταν σε συγκέντρωση χαμηλότερη ή ίση των 200 ppm (δηλ. 100 ppm η κάθε μία) όπου φάνηκε να παρέχεται καλύτερη αντιοξειδωτική προστασία σε σύγκριση με άλλους συνδυασμούς (Fuster et al., 1998).

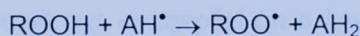
Στην ίδια έρευνα εκτιμήθηκε ο ρυθμός κατανάλωσης των δύο τοκοφερολών κατά την αυτοοξείδωση. Λόγω της δομής τους, η ικανότητα προσφοράς υδρογόνου της α -τοκοφερόλης είναι μεγαλύτερη από της γ -τοκοφερόλης με αποτέλεσμα η πρώτη να είναι και πιο ευάλωτη στην οξείδωση.

Η κατανάλωση των τοκοφερολών κατά την οξείδωση παρουσίασε θετική συσχέτιση με την αρχική συγκέντρωσή τους στο έλαιο και η συσχέτιση αυτή ήταν μεγαλύτερη για την α -τοκοφερόλη. Αυτό οδήγησε στην υπόθεση ότι η α -τοκοφερόλη συμμετέχει και σε πλευρικές αντιδράσεις (πέραν αυτών με τις ρίζες

υπεροξειδίων) για αυτό και καταναλώνεται σε μεγαλύτερο βαθμό (Fuster et al., 1998).

Η προσθήκη μεταλλικών ιόντων στο έλαιο αύξησε το ρυθμό κατανάλωσης των α- και γ- τοκοφερολών με μεγαλύτερη επίδραση στην α-τοκοφερόλη (Fuster et al., 1998).

Η α-τοκοφερόλη ωστόσο μπορεί να δράσει και ως προοξειδωτικό (Young and Min, 1990) αν και οι απόψεις διχάζονται (Fuster et al., 1998). Σε μια έρευνα των Blekas et al. (1995) βρέθηκε ότι η προοξειδωτική δράση της α-τοκοφερόλης εξαρτάται από τη συγκέντρωση των υδροϋπεροξειδίων.



Κατά τα αρχικά στάδια της οξείδωσης, όπου ο αριθμός των υδροϋπεροξειδίων είναι μικρός, η α-τοκοφερόλη δρα ως προοξειδωτικό. Σε μεταγενέστερα στάδια της οξείδωσης που η συγκέντρωση των υδροϋπεροξειδίων αυξάνεται αισθητά εμφανίζει αντιοξειδωτική δράση (Blekas et al, 1995).

Στην ίδια έρευνα μελετήθηκε η επίδραση της α-τοκοφερόλης παρουσία πολικών φαινολικών αντιοξειδωτικών σε απογυμνωμένο ελαιόλαδο. Μετά από φύλαξη των δειγμάτων στους 40 °C για 8 μήνες, ο PV (αριθμός υπεροξειδίων) ήταν διπλάσιος στο δείγμα με α-τοκοφερόλη σε σχέση με το δείγμα που περιείχε 3,4-διυδροξυφαινυλοξικό οξύ (που έχει παρόμοια δράση με την υδροξυ-τυροσόλη). Αυτό πιθανόν να οφείλεται στη δυσμενή δράση της α-τοκοφερόλης κατά το διάστημα που η συγκέντρωση υπεροξειδίων ήταν χαμηλή. Επομένως τα φαινολικά μόρια φαίνεται να είναι πιο σημαντικά ως αντιοξειδωτικά κατά τα πρώτα στάδια της αυτοοξείδωσης ενώ η α-τοκοφερόλη δρα πιο αποτελεσματικά όταν τα υπεροξείδια φτάσουν σε κρίσιμη συγκέντρωση (Blekas et al., 1995).

Γενικά όμως οι περισσότερες ερευνητικές εργασίες υποστηρίζουν ότι οι πολυφαινόλες αποτελούν το πιο σημαντικό αντιοξειδωτικό του ελαιολάδου

(Blekas et al., 1995; Aparicio et al., 1999; Baldioli et al., 1996). Αναφέρεται ενδεικτικά μια έρευνα στην οποία η απομάκρυνση των φαινολών του ελαιολάδου προκάλεσε μείωση της σταθερότητας του κατά την οξείδωση κατά 50% ενώ η συνεισφορά του συνόλου των τοκοφερολών στην αντοχή υπολογίστηκε γύρω στο 9% (Aparicio et al., 1999).

Επίσης έχει παρατηρηθεί ότι η α -τοκοφερόλη δρα συνεργιστικά με την υδροξυτυροσώλη και τους εστέρες ελαϊκού, παρέχοντας έτσι μεγαλύτερη αντιοξειδωτική προστασία στο παρθένο ελαιόλαδο (Baldioli et al., 1996; Ranalli et al., 1999).

Όπως αναφέρθηκε και σε προηγούμενο υποκεφάλαιο (κεφ.2, § 2.1) σημαντικό ρόλο στην οξείδωση των ελαίων παίζει και ο βαθμός ακορεστότητας των λιπαρών οξέων. Από παλιά είχε αναφερθεί ότι ο λόγος οξείδωσης των οξέων ελαϊκό:λινελαϊκό:λινολενικό είναι 1:12:25. Αυτό σημαίνει ότι το λινελαϊκό οξύ είναι 12 φορές πιο επιδεκτικό στην οξείδωση από ότι το ελαϊκό. Είναι επίσης γνωστό ότι οι ρίζες υπεροξειδίων του λινελαϊκού είναι αρκετές φορές πιο δραστικές από τις ρίζες υπεροξειδίων του ελαϊκού. Επιπλέον, ο ρυθμός διάσπασης των υδροϋπεροξειδίων του λινελαϊκού είναι μεγαλύτερος από αυτό των υδροϋπεροξειδίων του ελαϊκού (Marinova and Yanishlieva, 1994; Aparicio et al., 1999).

Σε μια έρευνα του Aparicio και των συνεργατών του (1999) διαπιστώθηκε ότι η σταθερότητα του ελαιολάδου έναντι της οξείδωσης εξαρτάται κατά 27% περίπου από το λόγο ελαϊκού/λινελαϊκού.

(β) Συνθετικά αντιοξειδωτικά και τρόφιμα

Στα λίπη και έλαια αλλά και στα τρόφιμα που περιέχουν λίπος και χαμηλές συγκεντρώσεις φυσικών αντιοξειδωτικών προστίθενται εξωγενώς αντιοξειδωτικά με κύριο στόχο την επιβράδυνση της οξείδωσης και κατά συνέπεια τη διατήρηση τους σε εύληπτη μορφή για μεγαλύτερο χρονικό διάστημα (Μπόσκου, 1997).

Το ΒΗΑ και το ΒΗΤ, όπως αναφέρθηκε σε προηγούμενο κεφάλαιο, είναι τα πιο ευρέως χρησιμοποιούμενα αντιοξειδωτικά στην τεχνολογία τροφίμων. Οι ενώσεις αυτές εμφανίζουν μεγάλη σταθερότητα, χαμηλό κόστος και άλλα πρακτικά πλεονεκτήματα καθώς και ισχυρότερη αντιοξειδωτική δράση από τα φυσικά αντιοξειδωτικά του εμπορίου πχ. τοκοφερόλες (Chen et al., 1992).

Παρόλα αυτά η χρήση τους δεν μπορεί να γίνει αλόγιστα γιατί δεν είναι αβλαβή. Οι τοξικολογικές μελέτες που έχουν γίνει μέχρι σήμερα σε πειραματόζωα παρέχουν σαφείς ενδείξεις ότι τα ΒΗΑ, ΒΗΤ και οι εστέρες του γαλλικού οξέος μπορούν να προκαλέσουν αλλοιώσεις στο ήπαρ και στους νεφρούς, δερματίτιδα, αλλεργικά συμπτώματα και ανακοπή της αύξησης του πειραματόζωου. Ακόμα οι φαινόλες αυτές έχουν αιμολυτική δράση και προκαλούν πιθανώς μεταλλάξεις. Τέλος, πολύ ανησυχητικά είναι τα πειράματα που δείχνουν ότι τα αντιοξειδωτικά αυτά μπορούν να έχουν συνεργιστική δράση με κάποιες επιβλαβείς ενώσεις, δηλαδή αύξηση της τοξικότητας γνωστών βλαβερών ενώσεων και μάλιστα καρκινογόνων (Μπόσκου, 1997).

Σε μια έρευνα συγκρίθηκε η αντιοξειδωτική δράση των φυσικών πολυφαινολών του εξαιρετικά παρθένου ελαιολάδου (ΕVOO), με αυτή των συνθετικών αντιοξειδωτικών ΒΗΑ και ΒΗΤ στα λιπίδια τόνου κατά τη θερμική επεξεργασία στους 40 και 100 °C. Με βάση τα αποτελέσματα της έρευνας αυτής κατά τη θερμική επεξεργασία στους 40 °C οι πολυφαινόλες του ΕVOO σε συγκεντρώσεις μεγαλύτερες των 200 ppm ανέστειλαν τόσο το σχηματισμό υδροϋπεροξειδίων όσο και τη διάσπαση τους. Σε σύγκριση με τα συνθετικά αντιοξειδωτικά (100 ppm ΒΗΤ/ΒΗΑ), 400 ppm φυσικών πολυφαινολών είχαν πιο ισχυρή αντιοξειδωτική δράση ως προς την αναστολή της διάσπασης των υδροϋπεροξειδίων αλλά μικρότερη ως προς την αναστολή σχηματισμού τους. Στους 100 °C, όπως συμβαίνει κατά την κονσερβοποίηση, η δράση των φυσικών και συνθετικών πολυφαινολών ήταν παρόμοια. Αυτό μπορεί να οφείλεται στην υδρόλυση των πολυφαινολών σε συνθήκες υψηλής θερμοκρασίας, προς τυροσόλη και υδροξυτυροσόλη, με αποτέλεσμα την απώλεια της ικανότητας τους να δρουν ως δότες υδρογόνου όταν η

κονσερβοποίηση γίνεται σε άλμη. Εξάλλου, από παλαιότερες έρευνες είχε διαπιστωθεί ότι η δραστικότητα των φαινολικών αντιοξειδωτικών εξαρτάται τόσο από την θερμοκρασία όσο και από άλλες συνθήκες οξείδωσης (Medina et al, 1999).

ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

Όσον αφορά στους ενδοιασμούς χρήσης συνθετικών αντιοξειδωτικών, η ένδειξη ότι οι φυσικές πολυφαινόλες του παρθένου ελαιολάδου μπορούν να παίξουν σημαντικό ρόλο κατά τη διάρκεια της επεξεργασίας ή αποθήκευσης τροφίμων αποτελεί ισχυρό κίνητρο για τη συνέχιση των ερευνητικών εργασιών.

4.1 Υλικά και αντιδραστήρια

1. Λάδια που χρησιμοποιήθηκαν για αποθήκευση

Α/Α	ΕΛΑΙΟ	ΠΟΙΟΤΗΤΑ	ΟΙΚΟΓΕΝΕΙΑ	ΕΤΑΙΡΕΙΑ
1	Ελαιολάδο	Εξαιρετικά παρθένο- βιολογικό	Greek Gold	BLAUER
2	Σορβέλαδο	Ημέλιο	SOL	ΕΛΛΑΣ
3	Σορβέλαδο	Ημέλιο Βαβυλωνέσιο Φανακέσιο	FRIOL	ΕΛΛΑΣ

2. Al_2O_3 (Aluminium oxide 90 active neutral – Merck)

3. Διαλύτες (Reagent grade): n-Hexane, CH_3OH , CH_2CH_2OH (Labotec)

4. Διαλύτες (HPLC grade): CH_3CN , CH_3OH , H_2O , $CH_3CH(OH)CH_3$ (Labotec)

5. 1,2-προπανοδιόλη (Aldrich)

6. Butylated Hydroxytoluene (BHT) (Sigma)

7. Na_2CO_3 , αντιδραστήριο Folin-φωσφору (10% w/v $Na_2HPO_4 \cdot 2H_2O$ σε 0.5M όξιν 5% w/v H_3PO_4 και 10% w/v HCl και σε 15% w/v Li_2SO_4 στο μέγιστο 1L μετ' από ταύτα 10 g προστίθενται 2-3 σπινθήκες B_{12}) (Merck)

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4^ο

ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

4.1 Υλικά και αντιδραστήρια

1. Λάδια που χρησιμοποιήθηκαν για απογύμνωση

A/A	ΕΛΑΙΟ	ΠΟΙΟΤΗΤΑ	ΟΝΟΜΑΣΙΑ	ΕΤΑΙΡΕΙΑ
1	Ελαιόλαδο	Εξαιρετικά παρθένο- βιολογικό	Greek Gold	BLAUDEL
2	Σπορέλαιο	Ηλιέλαιο	SOL	ΕΛΑΪΣ
3	Σπορέλαιο	Ηλιέλαιο Βαμβάκελαιο Φοινικέλαιο	FRIOL	ΕΛΑΪΣ

2. Al_2O_3 (Aluminium oxide 90 active neutral – Merck)

3. Διαλύτες (Reagent grade): n-Hexane, CH_3OH , $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$ (Labscan)

4. Διαλύτες (HPLC grade): CH_3CN , CH_3OH , H_2O , $\text{CH}_3\text{CH}(\text{OH})\text{CH}_3$ (Labscan)

5. 1,2-προπανοδιόλη (Aldrich)

6. Butylated Hydroxytoluene (BHT) (Sigma)

7. Na_2CO_3 , αντιδραστήριο Folin εμπορίου (10% w/v $\text{Na}_2\text{WO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, σε όξινο δ/μα 5% v/v π. H_3PO_4 και 10% v/v π. HCl και σε 15% w/v Li_2SO_4 . Στο μίγμα 1L μετά από reflux 10 h προστίθενται 2-3 σταγόνες Br_2) (Merck)

4.2 Όργανα

- Συσκευή Rancimat (Metrohm 679)
- HPLC Χρωματογράφος (HP 1050, ανιχνευτής UV, FL)
- Γυάλινη στήλη χρωματογραφίας (40 x 2.5 cm.id) με στρόφιγγα και πορώδεις γυάλινο διάφραγμα
- Φασματοφωτόμετρο (Kontron)
- Rotary Evaporator
- Ζυγός
- Συσκευή υπερκαθαρού νερού
- Υδρόλουτρο

4.3 Γενικές Πορείες

4.3.1 Απογύμνωση

Η απογύμνωση του ελαιολάδου έγινε με χρωματογραφία στήλης. Χρησιμοποιήθηκε γυάλινη στήλη (40 x 2.5 cm i.d.) και ως προσροφητικό μέσο 62.5 g ενεργοποιημένης αλουμίνας (Al_2O_3) διαλυμένη σε 75 ml εξάνιο (n-Hexane). Για το πακετάρισμα της στήλης χρησιμοποιήθηκαν άλλα 100 ml εξάνιο. Στη συνέχεια προστέθηκαν 25 ml ελαίου διαλυμένα σε ίσο όγκο εξανίου. Ακολούθησαν δύο εκλούσεις της στήλης με 50 ml εξανίου κάθε φορά. Η συλλογή των κλασμάτων έγινε σε σφαιρικές φιάλες. Η στήλη και οι φιάλες καλύφθηκαν με αλουμινόχαρτο για αποφυγή πρόκλησης οξειδωσης μέσω του φωτός κατά τη διαδικασία της απογύμνωσης. Η απομάκρυνση του εξανίου από τα δείγματα που παραλείφθηκαν έγινε με απόσταξη υπό ελαττωμένη πίεση στους 35 °C. Τα δείγματα πωματίστηκαν και φυλάχτηκαν υπό ψύξη (-20 °C).

4.3.2 Εκχύλιση

Η παραλαβή των πολυφαινολών από τα δείγματα ελαιολάδου και σπορελαίων (απογυμνωμένων και φυσικών) έγινε με εκχύλιση. Χρησιμοποιήθηκαν 5 mL από το κάθε δείγμα ελαίου διαλυμένα σε 10 mL κανονικό εξάνιο και το μίγμα εκχυλίστηκε με 30 mL ($15 \text{ ml} \times 2$) MeOH/H₂O 6:4. Οι πολυφαινόλες παραλήφθηκαν στην πολική φάση (MeOH/H₂O). Ακολούθησε απόσταξη υπό ελαττωμένη πίεση για την απομάκρυνση των διαλυτών και τα δείγματα φυλάχτηκαν στο ψυγείο μέχρι το επόμενο στάδιο.

4.3.3 Προσδιορισμός της συγκέντρωσης των ολικών πολυφαινολών

Η συγκέντρωση των πολυφαινολών στο κάθε δείγμα υπολογίστηκε με την αντίδραση Folin Ciocalteu. Για το σκοπό αυτό έγινε αναδιάλυση των δειγμάτων πολυφαινολών, που παραλήφθηκαν με εκχύλιση, σε MeOH (1mL). Στη συνέχεια 0,1 mL του μεθανολικού διαλύματος αναμείχθηκε με 5 mL νερό και 0,5 mL αντιδραστήριου Folin Ciocalteu σε ογκομετρική φιάλη των 10 mL. Μετά από παραμονή του μίγματος της αντίδρασης για 3 min, προστέθηκε κορεσμένο διάλυμα Na₂CO₃ (1 mL). Το περιεχόμενο αναδεύτηκε και αραιώθηκε με νερό μέχρι τη χαραγή.

Η απορρόφηση του κάθε δείγματος μετρήθηκε μετά από μία ώρα σε φασματοφωτόμετρο διπλής δέσμης στα 725 nm ως προς τυφλό δείγμα. Ο προσδιορισμός της συγκέντρωσης των πολυφαινολών έγινε με αναφορά σε πρότυπη καμπύλη καφεϊκού οξέος.

4.3.4 Παρασκευή διαλυμάτων BHT

- α. Δ/μα 1: 45 mg BHT διαλύθηκαν σε 2 ml 1,2-προπανοδιόλης (C=22.5 mg/ml)
- β. Δ/μα 2: 22.5 mg BHT διαλύθηκαν σε 5 ml 1,2-προπανοδιόλης (C=4.5 mg/ml)
- γ. Δ/μα 3: 0.5 ml δ/τος 2 και 0.5 ml 1,2-προπανοδιόλης (C=2.25 mg/ml)
- δ. Δ/μα 4: 1 ml δ/τος 2 και 9 mg BHT (C=13.5 mg/ml)

Η διαλυτοποίηση έγινε υπό ήπια ανάδευση σε υδρόλουτρο στους 45 °C.

Συγκέντρωση BHT (ppm) στο έλαιο	Όγκος διαλύματος BHT που προστέθηκε στο έλαιο
1500	180 μ l δ/τος 1
1000	120 μ l δ/τος 1
500	60 μ l δ/τος 1
300	60 μ l δ/τος 4
100	60 μ l δ/τος 2
50	30 μ l δ/τος 2
25	30 μ l δ/τος 3

4.3.5 Παρασκευή διαλυμάτων ελαίου με BHT

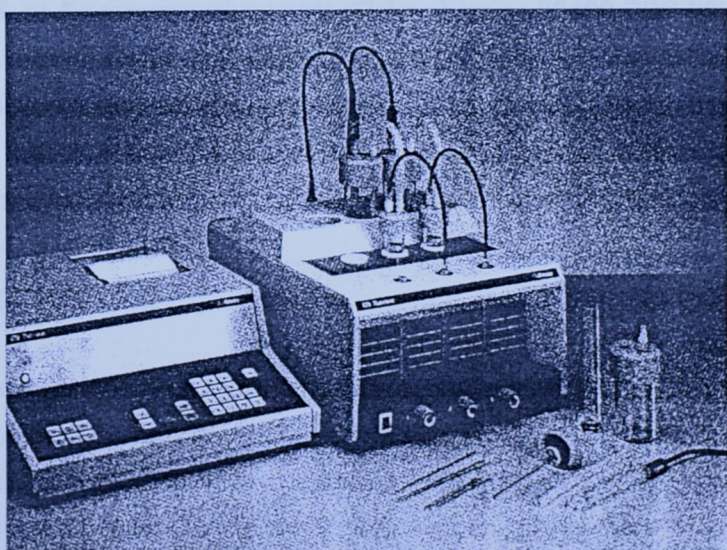
Από τα διαλύματα 1-4 του BHT που παρασκευάστηκαν, ελήφθησαν τέτοιες ποσότητες (σε μ l) ώστε τα διαλύματα ελαίου που προέκυψαν να περιέχουν τις επιθυμητές κατά περίπτωση συγκεντρώσεις BHT. Από κάθε διάλυμα ελαίου με BHT που παρασκευάστηκε είχε προηγουμένως αφαιρεθεί ποσότητα ελαίου ίση με την ποσότητα διαλύματος BHT που προστέθηκε ώστε ο τελικός όγκος του διαλύματος ελαίου/BHT να είναι 3 ml σε κάθε περίπτωση.

Σε κάθε μέτρηση της αντοχής στην οξείδωση των δειγμάτων ελαίου με BHT γινόταν παράλληλα τυφλό πείραμα. Σε κάθε ένα από τα πειράματα αυτά χρησιμοποιήθηκε φυσικό (μη απογυμνωμένο) έλαιο στο οποίο προστέθηκε ποσότητα 1,2-προπανοδιόλης ανάλογου όγκου του διαλύματος BHT/προπανοδιόλης που προστέθηκε στο υπό εξέταση δείγμα απογυμνωμένου ελαίου.

4.3.6 Rancimat

Σκοπός της μεθόδου αυτής ήταν η εκτίμηση της σταθερότητας των ελαίων, φυτικών, απογυμνωμένων και απογυμνωμένων με διάφορες συγκεντρώσεις BHT στην οξείδωση. Η μέθοδος εφαρμόστηκε σε συνθήκες θερμοκρασίας 110°C και με ροή αέρα 20 L/h. Ο χρόνος λειτουργίας της συσκευής για το ελαιόλαδο ρυθμίστηκε στις 25 ώρες ενώ για τα σπορέλαια στις 8 ώρες, με βάση βιβλιογραφικά δεδομένα. Η αρχή λειτουργίας της μεθόδου περιγράφηκε αναλυτικά σε προηγούμενο κεφάλαιο (κεφ.2, §2.9).

Στους τρεις υποδοχείς (στο πίσω μέρος) της συσκευής τοποθετούνταν τρεις κυλινδρικοί σωλήνες με 60 ml *δ*-απεσταγμένο νερό στον καθένα. Σε αυτούς εμβαπτιζόνταν ηλεκτρόδια αγωγιμότητας. Οι σωλήνες αντίδρασης τοποθετούνταν στο μπροστινό μέρος της συσκευής, σε άλλους τρεις ανάλογους υποδοχείς και καθένας από αυτούς περιείχε 3 ml λάδι σε κάθε δοκιμή. Αξίζει να σημειωθεί ότι η όλη συνδεσμολογία συνέβαλε στο να είναι κλειστό το σύστημα.



Σχήμα 4.3.6. Συσκευή Rancimat

4.3.7 Προετοιμασία των εξαρτημάτων της συσκευής

Το σωστό πλύσιμο όλων των εξαρτημάτων της συσκευής Rancimat μετά από κάθε δοκιμή αποτελεί κρίσιμο παράγοντα για την επίτευξη καλών αποτελεσμάτων. Για αυτό το λόγο στις ερευνητικές εργασίες που χρησιμοποιείται η μέθοδος αυτή υπάρχει και ένα πρωτόκολλο που αφορά τη διαδικασία πλυσίματος.

Κατά τη διάρκεια αυτής της εργασίας εφαρμόστηκαν τα πιο κάτω στάδια με βάση τις προδιαγραφές της κατασκευάστριας εταιρείας.

Καθαρισμός εξαρτημάτων της συσκευής Rancimat :

1. Όλα τα εξαρτήματα της Rancimat αρχικά πλένονταν με κοινό σαπούνι.
2. Ξεπλένονταν με νερό βρύσης.
3. Στην συνέχεια ξεπλένονταν με δις-απεσταγμένο νερό.
4. Τα σκεύη τελικά εμβαπτιζόνταν σε λεκάνη που περιείχε διάλυμα ισχυρού σάπωνος (3% σε δις-απεσταγμένο νερό) (Fluka chemica 83460 RBS 25 concentrate). Στο διάλυμα αυτό παρέμεναν εμβαπτισμένα για τουλάχιστον 24 ώρες. Ήταν σημαντικό τα σκεύη να καλύπτονται πλήρως από το διάλυμα αυτό. Ακολούθως τα σκεύη αρχικά ξεπλένονταν με απεσταγμένο νερό και στη συνέχεια με δις-απεσταγμένο και τοποθετούνταν σε ασφαλές και καθαρό μέρος μέχρι να στεγνώσουν πλήρως.

Καθαρισμός ηλεκτροδίων:

Μετά την ολοκλήρωση κάθε δοκιμής, τα ηλεκτρόδια βυθίζονταν για 1-2 λεπτά σε ποτήρι ζέσεως που περιείχε διάλυμα σάπωνος με δις-απεσταγμένο νερό (3%). Ακολουθούσε έκπλυση των ηλεκτροδίων με άφθονο απεσταγμένο και δις-απεσταγμένο νερό.

4.3.8 Χρωματογραφία στήλης υψηλής απόδοσης (HPLC)

Παρασκευή διαλυμάτων για HPLC 20% w/v

Από το κάθε δείγμα λαδιού που υποβλήθηκε σε HPLC ανάλυση λήφθηκε ποσότητα ίση με 1,1 ml (δεδομένου ότι η πυκνότητα του λαδιού θεωρήθηκε ίση με 0,9 g/ml), η οποία μεταφέρθηκε σε ογκομετρική φιάλη των 5 ml. Ο όγκος συμπληρώθηκε με μίγμα εξανίου/ισοπροπανόλης (4/1) μέχρι τη χαραγή.

Μέθοδος Ανάλυσης HPLC

Μέθοδος Ανάλυσης HPLC: Χρωματογραφία HPLC αναστρόφου φάσεως με βαθμιδωτή έκλουση.

Στήλη: C18 Nucleosil 120 (5 μ m) (120 $\times$ 4mm)

Ανιχνευτής: UV-Vis (280, 214, 295, 254 nm), Fluorescence (λ_{ex} =295 nm, λ_{em} =330 nm).

Ροή διαλυτών: 1 mL/min

Πρόγραμμα Βαθμιδωτής Έκλουσης (Gradient) (N.K. Andrikopoulos *et al*, 1991):

Χρόνος (min)	%A	%B	%C	%D
0	70,0	17,5	12,5	0
35	0	58,3	41,7	0
45	0	58,3	41,7	0
51	0	23,4	16,6	60,0
56	0	23,4	16,6	60,0
60	0	58,3	41,7	0
65	70,0	17,5	12,5	0
70	70,0	17,5	12,5	0

A = υδατικό διάλυμα ορθοφωσφορικού οξέος με pH=3,

B = CH₃CN,

C = CH₃OH,

D = CH₃CH(OH)CH₃

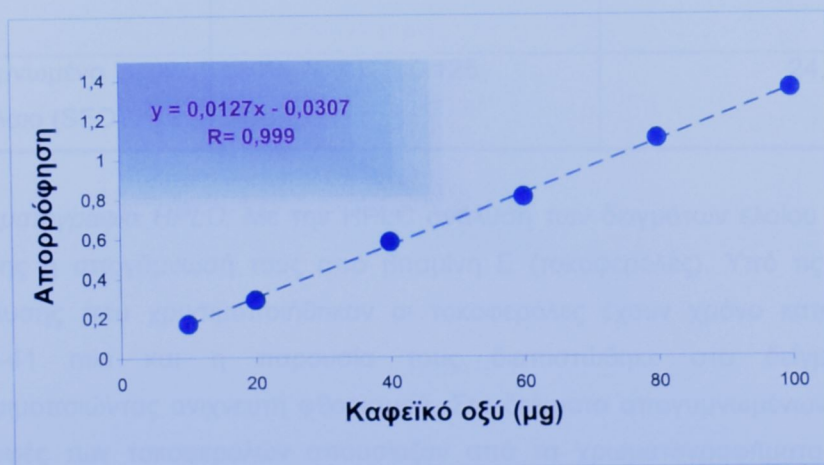
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5°

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

5.1 Έλεγχος απογύμνωσης ελαίων

Ο έλεγχος της απογύμνωσης των ελαίων με τη χρωματογραφία στήλης, έγινε με βάση την αντίδραση Folin Ciocalteu (για τις ολικές πολυφαινόλες) (Vazquez *et al*, 1973) και με HPLC ανάλυση (για τις τοκοφερόλες).

- ▲ *Αντίδραση Folin Ciocalteu*. Το ποσοστό των πολυφαινολών που παρέμειναν στο κάθε δείγμα ελαίου υπολογίστηκε με βάση πρότυπη καμπύλη αναφοράς καφεϊκού οξέος (Σχήμα 5.1.α).



Σχήμα 5.1.α. Καμπύλη αναφοράς καφεϊκού οξέος

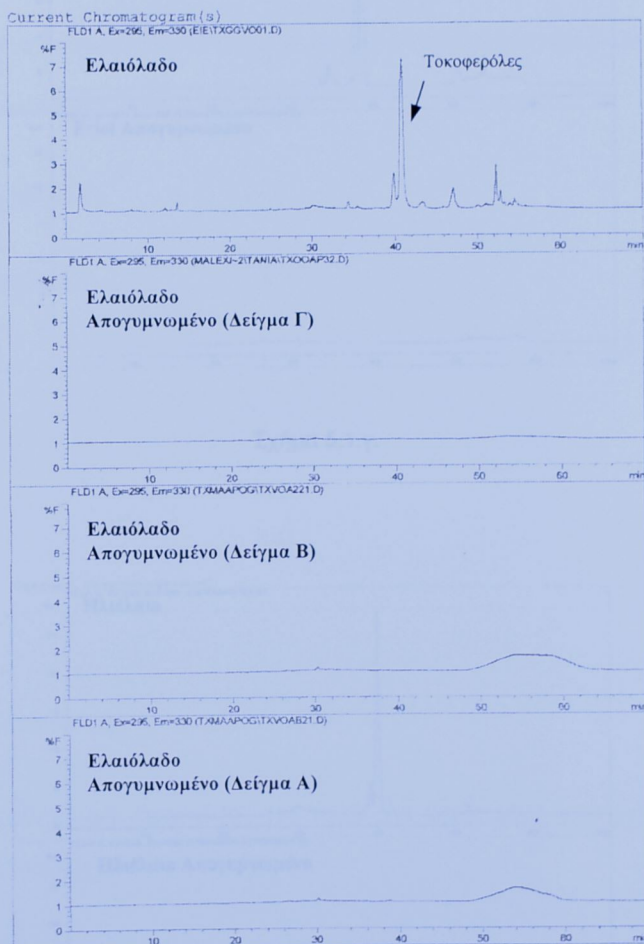
Πίνακας 5.1.α. Τιμές απορρόφησης των δειγμάτων ελαίου και συγκέντρωση καφεϊκού οξέος στο κάθε δείγμα ελαίου.

Δείγμα	Απορρόφηση στα 725 nm	Καφεϊκό οξύ (ppm)
Εξαιρετικά Παρθένο ελαιόλαδο	0.7557	123,7
Απογυμνωμένο Ελαιόλαδο (δείγμα Α)	0.3507	60,1
Απογυμνωμένο Ελαιόλαδο (δείγμα Β)	0.1083	21,8
Απογυμνωμένο Ελαιόλαδο (δείγμα Γ)	0.080	17,4
Σπορέλαιο (FO)	0.109	22,0
Απογυμνωμένο Σπορέλαιο (FO)	0.073	16,3
Σπορέλαιο (SFO)	0.116	23,1
Απογυμνωμένο Σπορέλαιο (SFO)	0.125	24,5

- ▲ *Χρωματογραφία HPLC.* Με την HPLC ανάλυση των δειγμάτων ελαίου ελέγχθηκε επίσης η απογύμνωσή τους από βιταμίνη Ε (τοκοφερόλες). Υπό τις συνθήκες ανάλυσης που χρησιμοποιήθηκαν οι τοκοφερόλες έχουν χρόνο κατακράτησης 38,5-41 min και η παρουσία τους διαπιστώθηκε στο δείγμα ελαίου χρησιμοποιώντας ανιχνευτή φθορισμού. Στα δείγματα απογυμνωμένων ελαίων οι κορυφές των τοκοφερολών απουσίαζαν από τα χρωματογραφήματα (Σχήματα 5.1.β, 5.1.γ, 5.1.δ).

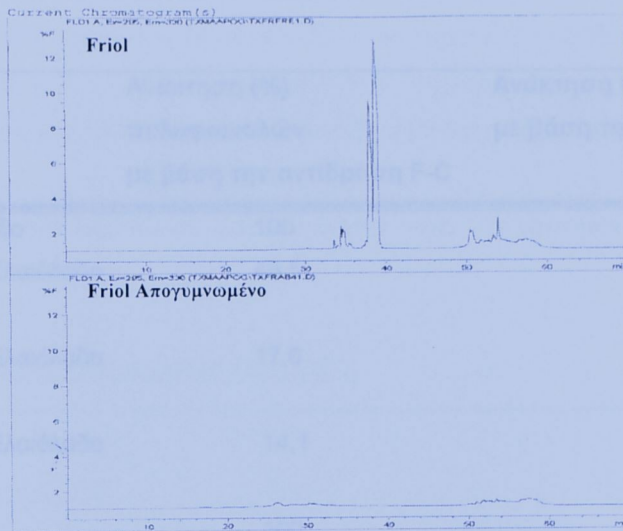
Επίσης, με την HPLC ανάλυση υπολογίστηκε επιπλέον το ποσοστό των πολυφαινολών που παρέμειναν στο κάθε δείγμα απογυμνωμένου ελαίου. Αυτό έγινε με βάση το συνολικό εμβαδόν των κορυφών τους. Στον Πίνακα 5.1.β

παρουσιάζονται συλλογικά τα ποσοστά απογύμνωσης των ελαίων που υπολογίστηκαν με τις δύο μεθόδους προσδιορισμού των πολυφαινολών.



Σχήμα 5.1.β.

Πίνακας 5.1.β. Αποδόσεις από την ανάλυση Folin Ciocalteu και την HPLC ανάλυση για την απογύμνωση 5-7 μέρων σε 1η χημειογραφική σήλη.



Σχήμα 5.1.γ.



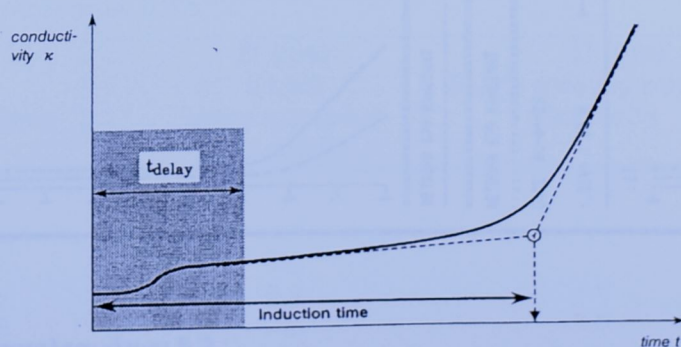
Σχήμα 5.1.δ.

Πίνακας 5.1.β. Αποτελέσματα από την αντίδραση Folin Ciocalteu και την HPLC ανάλυση για την απογύμνωση των ελαίων με τη χρωματογραφία στήλης.

Δείγμα	Ανάκτηση (%) πολυφαινολών με βάση την αντίδραση F-C	Ανάκτηση (%) πολυφαινολών με βάση την HPLC
Παρθένο ελαιόλαδο	100	100
Απογυμνωμένο Ελαιόλαδο (Δείγμα Α)	48,5	36,3
Απογυμνωμένο Ελαιόλαδο (Δείγμα Β)	17,6	17,5
Απογυμνωμένο Ελαιόλαδο (Δείγμα Γ)	14,1	19,4
Σπορέλαιο (FO)	100	100
Απογυμνωμένο Σπορέλαιο (FO)	74,2	51,0
Σπορέλαιο (SFO)	100	100
Απογυμνωμένο Σπορέλαιο (SFO)	100	100

5.2 Μετρήσεις Rancimat

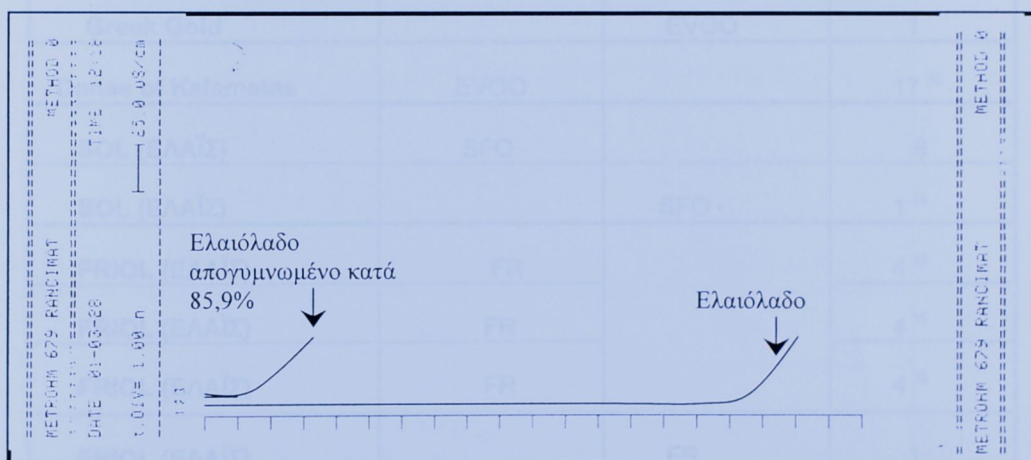
Όπως προαναφέρθηκε τα αποτελέσματα από την εφαρμογή της μεθόδου Rancimat παρέχονται με τη μορφή καμπυλών πχ.



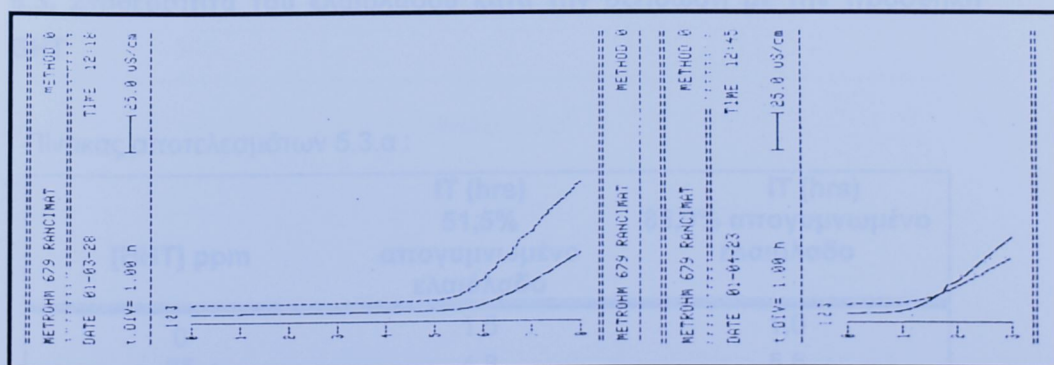
Ο χρόνος που αντιστοιχεί στη μέγιστη κλίση των καμπυλών οξείδωσης, σημείο τομής των εφαπτομένων, προσδιορίζεται μετά την συμπλήρωση του πειράματος και ουσιαστικά αντιστοιχεί στην διάρκεια του σταδίου επαγωγής (induction time, IT).

(i). Παραδείγματα καμπυλών που λήφθηκαν κατά την εφαρμογή της Rancimat σε διάφορα δείγματα ελαίων :

(α). Φυσικό και απογυμνωμένο ελαιόλαδο:



(β). Φυσικό και απογυμνωμένο σπορέλαιο:



(ii). Πίνακας αποτελεσμάτων 5.2 :

Προέλευση/Εταιρεία Διάθεσης	Λάδι		IT (hrs)
	Μη απογυμνωμένο	Απογυμνωμένο	
Greek Gold	EVOO		16 ½
Greek Gold	EVOO		15 ½
Greek Gold		EVOO	1
Greek Gold		EVOO	1 ½
Greek Gold		EVOO	1
Danae of Kalamatas	EVOO		17 ½
SOL (ΕΛΑΪΣ)	SFO		6
SOL (ΕΛΑΪΣ)			1 ½
FRIOL (ΕΛΑΪΣ)	FR		4 ½
FRIOL (ΕΛΑΪΣ)	FR		4 ½
FRIOL (ΕΛΑΪΣ)	FR		4 ½
FRIOL (ΕΛΑΪΣ)		FR	1

5.3. Σταθερότητα του ελαιολάδου κατά την οξείδωση με την προσθήκη BHT

Πίνακας αποτελεσμάτων 5.3.α :

[BHT] ppm	IT (hrs) 51,5% απογυμνωμένο ελαιόλαδο	IT (hrs) 85,9% απογυμνωμένο ελαιόλαδο
0	1,5	1,0
25	4,8	5,5
50	6,5	-
100	8,2	7,6
300	10,5	8,6
500	11,8	-
1000	13,3	12,0
1500	-	12,2

Με βάση τα αποτελέσματα που ελήφθησαν από την προσθήκη ΒΗΤ στα δείγματα απογυμνωμένου ελαιολάδου, υπολογίστηκε η % αύξηση της σταθερότητας του ελαίου που προκλήθηκε από την παρουσία αυτού του αντιοξειδωτικού στο δείγμα. Τα αποτελέσματα παρουσιάζονται στον πίνακα που ακολουθεί.

% Αύξηση της σταθερότητας του ελαιολάδου με την προσθήκη ΒΗΤ

[ΒΗΤ] ppm	Αύξηση της σταθερότητας	
	51,5% απογυμνωμένο ελαιόλαδο	85,9% απογυμνωμένο ελαιόλαδο
25	222 %	450 %
50	333 %	-
100	723 %	660 %
300	600 %	750 %
500	687 %	-
1000	787 %	1100 %
1500	-	1120 %

Πίνακας 5.3.β

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 6°

ΣΥΖΗΤΗΣΗ ΤΩΝ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ

6.1 Απογύμνωση Ελαίων

Η απογύμνωση των ελαίων γίνεται με στόχο την απαλοιφή των διαφόρων παραγόντων που μπορούν να επηρεάζουν θετικά ή αρνητικά (αντιοξειδωτικοί και προοξειδωτικοί παράγοντες) την οξείδωση των τριακυλογλυκερολών ενός ελαίου. Αποσκοπούσε δηλαδή στην απομάκρυνση των φαινολικών αντιοξειδωτικών, τοκοφερολών, ιχνών μετάλλων, υπεροξειδίων, ελεύθερων λιπαρών οξέων και άλλων προοξειδωτικών μορίων (Fuster et al., 1998).

Σύμφωνα με τη βιβλιογραφία η απογύμνωση των ελαίων γίνεται με χρωματογραφία στήλης και ως προσροφητικά μέσα χρησιμοποιούνται κυρίως η αλουμίνα (Al_2O_3) και το silica gel.

Στην παρούσα πτυχιακή μελέτη η απογύμνωση των ελαίων πραγματοποιήθηκε με αλουμίνα για το λόγο ότι η μέθοδος είναι απλούστερη, όπως φαίνεται και από την περιγραφή στο υποκεφάλαιο «Γενικές Πορείες» (κεφ.4, §4.3). Βέβαια λήφθηκε υπόψη παρόμοιας θεματολογίας άρθρο, σύμφωνα με το οποίο η στήλη με αλουμίνα είχε ικανοποιητική απόδοση. Αντίθετα, η χρωματογραφία στήλης με silica gel, αν και συναντάται πιο συχνά στη βιβλιογραφία, είναι μια αρκετά περίπλοκη διαδικασία που απαιτεί την κλιμακωτή αλλαγή μιγμάτων διαλυτών υπό πίεση (Sahasrabudhe and Chapman, 1961).

6.2 Ποσοστά απογύμνωσης

6.2.1 Έλεγχος απογύμνωσης με την αντίδραση Folin Ciocalteu

Με βάση την αντίδραση Folin Ciocalteu διαπιστώθηκε ότι τα δείγματα ελαιολάδου (από διαφορετικές στήλες) απογυμνώθηκαν σε διαφορετικό βαθμό ως προς τις πολυφαινόλες. Το δείγμα ελαιολάδου Α απογυμνώθηκε κατά 51,5 % ενώ τα δείγματα Β και Γ απογυμνώθηκαν περίπου στον ίδιο βαθμό, 82,4% και 85,9 %.

Καθώς η αναλογία αλουμίνας/ελαίου/διαλύτη διατηρήθηκε σταθερή σε όλες τις περιπτώσεις απογύμνωσης και οι πειραματικές συνθήκες σχετικά όμοιες, η διαφορά στην απογύμνωση των δειγμάτων ελαίων είναι πιθανόν να οφείλεται στο πακετάρισμα της στήλης. Λόγω της μεγάλης ποσότητας αλουμίνας που χρησιμοποιήθηκε το πακετάρισμα της στήλης ήταν δύσκολο και ίσως τελικά να είχαν δημιουργηθεί κενά στο εσωτερικό της στήλης.

6.2.2 Έλεγχος της απογύμνωσης με HPLC χρωματογραφία

Η HPLC χρωματογραφία εφαρμόστηκε για τα δείγματα ελαίων κυρίως για τον προσδιορισμό των τοκοφερολών και κατά δεύτερο λόγο για τον προσδιορισμό των πολυφαινολών με στόχο τη σύγκριση των αποτελεσμάτων με αυτά που προέκυψαν με τον προσδιορισμό Folin Ciocalteu.

Στο σύστημα ανάλυσης που χρησιμοποιήθηκε οι τοκοφερόλες εκλούνται περίπου στα 40 λεπτά. Συγκεκριμένα η δ- τοκοφερόλη έχει χρόνο κατακράτησης 38,6 λεπτά, οι β- και γ-τοκοφερόλες έχουν χρόνο κατακράτησης 39,4 λεπτά (και εκλούνται ως μία κορυφή) και η α-τοκοφερόλη 40,3 λεπτά. Για την ανίχνευση των τοκοφερολών χρησιμοποιήθηκε ανιχνευτής φθορισμού ($\lambda_{\text{ex}} = 295 \text{ nm}$, $\lambda_{\text{em}} = 330 \text{ nm}$).

Στο ίδιο σύστημα οι πολυφαινόλες εκλούνται κυρίως μέχρι τα 16 λεπτά, ενώ για την ανίχνευσή τους χρησιμοποιήθηκε ανιχνευτής υπεριώδους ακτινοβολίας UV ($\lambda = 280 \text{ nm}$ και $\lambda = 214 \text{ nm}$).

Απογύμνωση ελαιολάδου: Σύμφωνα με τα χρωματογραφήματα δειγμάτων απογυμνωμένου ελαιολάδου και φυσικού, φαίνεται ότι οι τοκοφερόλες κατακρατήθηκαν σχεδόν πλήρως από τη στήλη της αλουμίνας. Αυτό δηλώνει η

απουσία κορυφών στην περιοχή των 40 λεπτών που αντιστοιχεί στο χρόνο κατακράτησης (retention time ,RT) των τοκοφερολών. Έτσι τα δείγματα που χρησιμοποιήθηκαν στη μέθοδο Rancimat ήταν όντως απαλλαγμένα από την αντιοξειδωτική δράση των τοκοφερολών.

Όσον αφορά τις πολυφαινόλες, τα αποτελέσματα δε διαφέρουν σημαντικά από αυτά που προέκυψαν από την αντίδραση Folin Ciocalteu. Μόνη εξαίρεση αποτελεί η μέτρηση που έγινε στο δείγμα ελαιολάδου Α και που η Folin Ciocalteu έδειξε ότι είναι κατά 51,5 % απογυμνωμένο ενώ η HPLC χρωματογραφία 63,4 %.

Ωστόσο, για την αξιολόγηση της απογύμνωσης των ελαίων ως προς τις πολυφαινόλες, λήφθηκαν υπόψη τα αποτελέσματα της Folin Ciocalteu τα οποία θεωρούνται πιο αξιόπιστα για τον λόγο ότι ο προσδιορισμός των πολυφαινολών στην Folin Ciocalteu γίνεται μετά από απομόνωση τους (με εκχύλιση) από 5 ml έλαιο ενώ στην HPLC χρησιμοποιούνται μόνο 20 μl ελαίου στο οποίο βρίσκονται κατανεμημένες οι πολυφαινόλες και επομένως είναι πολύ πιθανόν να έχουμε φθάσει στα όρια ανίχνευσης της μεθόδου.

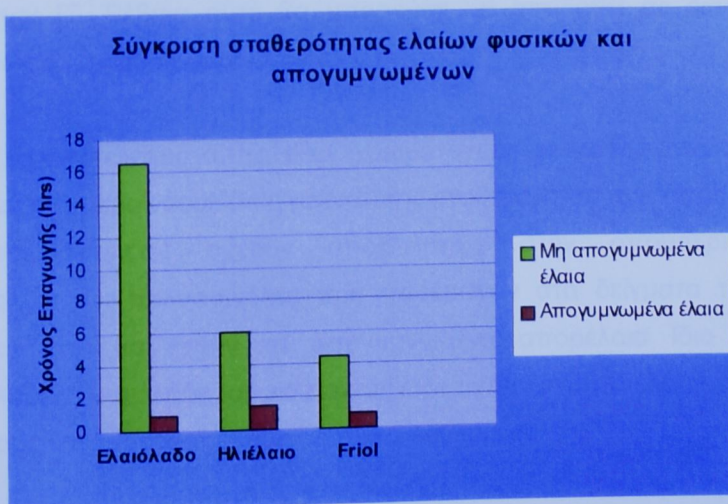
Απογύμνωση σπορέλαιων: Σε αντίθεση με το ελαιόλαδο, το κύριο αντιοξειδωτικό των σπορέλαιων ως γνωστό είναι η α -τοκοφερόλη. Επομένως για τον έλεγχο της απογύμνωσης τους πιο κρίσιμο σημείο είναι ο προσδιορισμός της περιεκτικότητάς τους σε τοκοφερόλες, ο οποίος έγινε με HPLC χρωματογραφία. Στο χρωματογράφημα απογυμνωμένου ηλιελαίου και ελαίου Friol οι κορυφές που αναμένονταν να εμφανιστούν στα 40 λεπτά περίπου απουσιάζουν (Σχήμα 5.1.γ, 5.1.δ). Με βάση τα δεδομένα αυτά και με σύγκριση τους με τα αντίστοιχα χρωματογραφήματα φυσικού ηλιελαίου και ελαίου Friol, αποδεικνύεται ότι με τη χρωματογραφία στήλης επετεύχθη η απομάκρυνση των τοκοφερολών από τα σπορέλαια που χρησιμοποιήθηκαν.

6.3 Επιλογή των πειραματικών συνθηκών για τη διεξαγωγή της μεθόδου Rancimat

Σύμφωνα με τη βιβλιογραφία, η θερμοκρασία στη μέθοδο Rancimat πρέπει να κυμαίνεται από 100 μέχρι 120 °C, για αυτό και στην παρούσα πτυχιακή μελέτη επιλέχθηκε ο μέσος όρος (110 °C). Όσον αφορά το μέγεθος του δείγματος καθορίστηκε στα 3 ml (2,7g) γιατί όλες οι ερευνητικές εργασίες που ασχολούνται με τη μέθοδο Rancimat αναφέρονται σε δείγμα μεγέθους 2,5 g. Σύμφωνα ήταν και οι οδηγίες της κατασκευάστριας εταιρείας αντίθετα με το άρθρο για το οποίο γίνεται αναφορά στο θεωρητικό μέρος (κεφ.2, §2.9) και το οποίο θεωρεί ιδανικό μέγεθος δείγματος τα 5 g. Τέλος, η ροή του αέρα καθορίστηκε στα 20 L/h επίσης λόγω της πληθώρας των βιβλιογραφικών αναφορών (Tsaknis et al., 1999; Ranalli et al., 1999; Barrera-Arellano and Esteves, 1992; Baldioli et al., 1996).

6.4 Διαφορά στη σταθερότητα των ελαίων, απογυμνωμένων και φυσικών, κατά την οξείδωση με Rancimat

Μετά την απομάκρυνση των αντιοξειδωτικών, η σταθερότητα του ελαιολάδου και των σπορέλαιων μειώθηκε δραματικά υποδηλώνοντας έτσι το βαθμό με τον οποίο αυτά συμβάλλουν προστατευτικά έναντι της οξείδωσης (Σχήμα 6.4).



Σχήμα 6.4. Σύγκριση σταθερότητας απογυμνωμένων και φυσικών ελαίων.

Με βάση το χρόνο επαγωγής (IT) που μετρήθηκε με τη μέθοδο Rancimat, το ελαιόλαδο κάτω από τις συγκεκριμένες συνθήκες οξείδωσης που προκαθορίστηκαν, παρουσίασε κατά 15 ώρες μικρότερη αντοχή μετά την απογύμνωση. Από 16 ½ ώρες που ήταν το IT του φυσικού ελαιολάδου, το απογυμνωμένο είχε IT μόλις 1-1 ½ ώρες. Όσον αφορά το ηλιέλαιο (Sunflower Oil, SFO) και το έλαιο Friol (Friol Oil, FO), ενώ ως φυσικά είχαν IT 6 και 4 ½ ώρες αντίστοιχα, μετά την απογύμνωση η αντοχή τους μειώθηκε στη 1 ½ και 1 ώρα αντίστοιχα.

Αξιοσημείωτη όμως είναι και η διαφορά ανάμεσα στο φυσικό ελαιόλαδο και στα φυσικά σπορέλαια όπου φαίνεται η υπεροχή του ελαιολάδου έναντι των σπορελαίων ως προς τη σταθερότητα του κατά την οξείδωση (Σχήμα 6.4). Αυτό οφείλεται τόσο στη σύσταση του σε φυσικά αντιοξειδωτικά όσο και στην πλούσια σε μονοακόρεστα τριγλυκεριδική του σύσταση.

Αξίζει να σημειωθεί ότι θα ήταν αναμενόμενο μετά την απογύμνωση του ελαιολάδου και των σπορελαίων να εξακολουθούσε να ισχύει η διαφορά σταθερότητας που ίσχυε και στα φυσικά δείγματα. Σε αυτή την περίπτωση, η υπεροχή του ελαιολάδου θα αφορούσε αποκλειστικά τη σύσταση του σε τριακυλογλυκερόλες. Παρόλα αυτά κάτι τέτοιο δε φαίνεται από τις τιμές των αντίστοιχων IT. Βέβαια αυτό θα μπορούσε να αποδοθεί σε διαφορά στην απογύμνωση των δύο ελαίων.

Με βάση τα αποτελέσματα της HPLC χρωματογραφίας και της αντίδρασης Folin Ciocalteu συμπεραίνουμε ότι η μείωση της σταθερότητας που παρουσίασαν τα σπορέλαια οφείλεται σχεδόν αποκλειστικά στην απομάκρυνση των τοκοφερολών. Οι πολυφαινόλες που παρέμειναν στα δείγματα πιθανόν να συνέβαλαν στο να έχουν τα απογυμνωμένα σπορέλαια ίδιο IT με το απογυμνωμένο ελαιόλαδο, αποκλείοντας έτσι τη δυνατότητα ελέγχου του ρόλου της διαφορετικής σύστασης τους σε τριακυλογλυκερόλες.

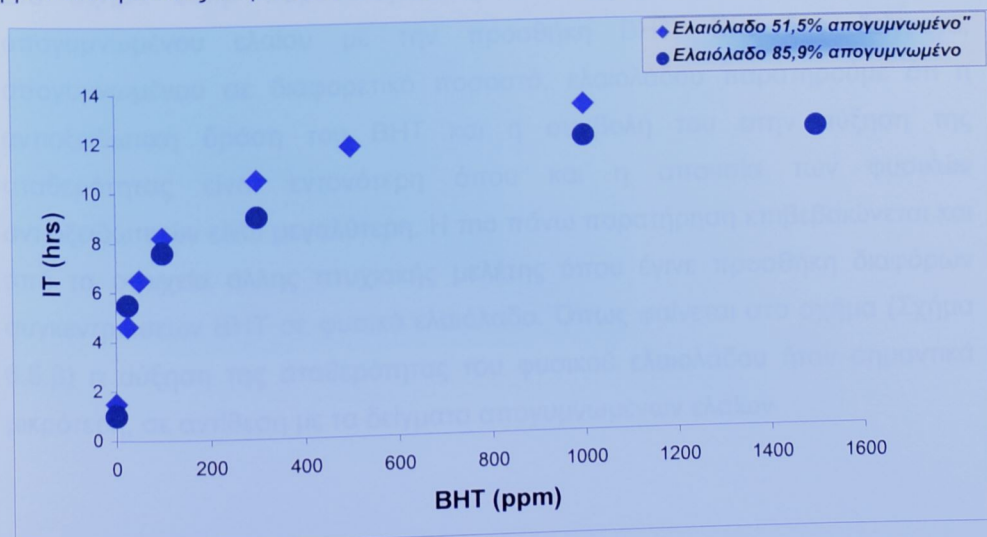
6.5 Σταθερότητα του ελαιολάδου με προσθήκη συνθετικών αντιοξειδωτικών

Για τον έλεγχο της σταθερότητας του ελαιολάδου με προσθήκη αντιοξειδωτικών επιλέχθηκε το BHT. Η επιλογή αυτή έγινε για τους πιο κάτω λόγους:

- Είναι το πιο ευρέως χρησιμοποιούμενο αντιοξειδωτικό.
- Επιτρέπεται η χρήση του στα σπορέλαια.
- Παλαιότερα επιτρεπόταν η χρήση του στα τρόφιμα.
- Είναι φθινό.

6.5.1 Αποτελέσματα σε 51,5 % και 85,9 % απογυμνωμένο ελαιόλαδο

Η αύξηση της σταθερότητας των δειγμάτων ελαιολάδου μετά την προσθήκη BHT αποδεικνύει την αντιοξειδωτική δράση της συνθετικής φαινολικής αυτής ένωσης ακόμα και σε χαμηλές συγκεντρώσεις της τάξεως των 25 ppm (Σχήμα 6.5). Αρχικά η αύξηση της σταθερότητας ήταν σχεδόν γραμμική και στα δύο δείγματα μέχρι που η συγκέντρωση του BHT έφτασε περίπου στα 600-700 ppm. Για συγκέντρωση μεγαλύτερη από 700 ppm η σταθερότητα των ελαίων αυξανόταν σε μικρότερο βαθμό ενώ για συγκέντρωση μεγαλύτερη των 1000 ppm οι καμπύλες παρουσίασαν πλατό.



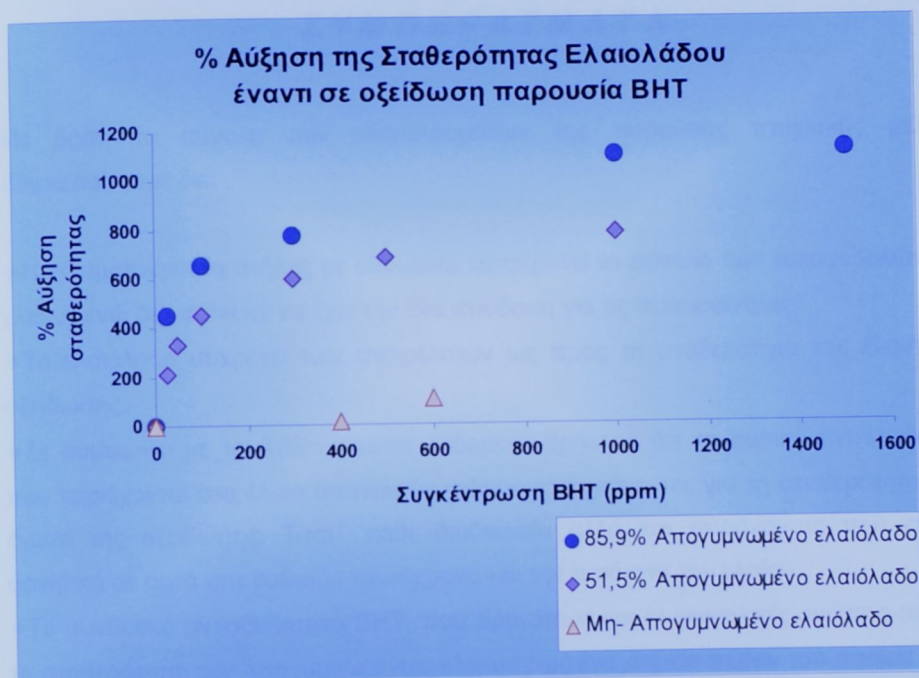
Σχήμα 6.5.α. Επίδραση της προσθήκης BHT στη σταθερότητα απογυμνωμένου ελαίου

Αυτό οδηγεί στο συμπέρασμα ότι η σταθερότητα του ελαίου με 1000 ppm BHT δε μπορεί να ξεπεραστεί ούτε με μεγαλύτερη συγκέντρωση και άρα το BHT δε μπορεί να συμβάλει κατά της οξείδωσης πέρα του σημείου αυτού.

Όπως φαίνεται στο σχήμα 6.5.α το ελαιόλαδο που ήταν απογυμνωμένο από πολυφαινόλες κατά 51,5% είχε μεγαλύτερη σταθερότητα κατά την οξείδωση από το δείγμα που ήταν κατά 85,9% απογυμνωμένο για την ίδια συγκέντρωση BHT. Βέβαια κάτι τέτοιο είναι αναμενόμενο και λόγω της σύγχρονης συνεισφοράς των πολυφαινολών και των άλλων φυσικών αντιοξειδωτικών που περιέχονταν στο συγκεκριμένο δείγμα.

Αξιοσημείωτο είναι και το γεγονός ότι ακόμα και με την προσθήκη υψηλών συγκεντρώσεων BHT (1500 ppm) στα απογυμνωμένα δείγματα ελαιολάδου, δεν επετεύχθη η σταθερότητα που επέδειξε το φυσικό ελαιόλαδο. Η μέγιστη σταθερότητα που επετεύχθη ήταν 80,6% για το κατά 51,5% απογυμνωμένο ελαιόλαδο και 74% για το κατά 85,9% απογυμνωμένο ελαιόλαδο. Επ' αυτού κάποιοι ερευνητές δηλώνουν ότι η μέθοδος Rancimat υποεκτιμά την αντοχή των ελαίων που περιέχουν BHT (Gordon and Mursi, 1994).

Στο σχήμα 6.5.β παρουσιάζεται η % αύξηση της σταθερότητας του απογυμνωμένου ελαίου με την προσθήκη BHT. Στα δύο δείγματα, απογυμνωμένου σε διαφορετικό ποσοστό, ελαιολάδου παρατηρούμε ότι η αντιοξειδωτική δράση του BHT και η συμβολή του στην αύξηση της σταθερότητας είναι εντονότερη όπου και η απουσία των φυσικών αντιοξειδωτικών είναι μεγαλύτερη. Η πιο πάνω παρατήρηση επιβεβαιώνεται και από τα στοιχεία άλλης πτυχιακής μελέτης όπου έγινε προσθήκη διαφόρων συγκεντρώσεων BHT σε φυσικό ελαιόλαδο. Όπως φαίνεται στο σχήμα (Σχήμα 6.5.β) η αύξηση της σταθερότητας του φυσικού ελαιολάδου ήταν σημαντικά μικρότερη, σε αντίθεση με τα δείγματα απογυμνωμένων ελαίων.



Σχήμα 6.5.β.

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Με βάση το σύνολο των αποτελεσμάτων της παρούσας πτυχιακής μελέτης συμπεραίνουμε ότι:

- ♦ Η χρωματογραφία στήλης με αλουμίνα κατακρατεί το σύνολο των τοκοφερολών των ελαίων ενώ δεν φαίνεται να έχει την ίδια απόδοση για τις πολυφαινόλες.
- ♦ Το ελαιόλαδο υπερέχει των σπορέλαιων ως προς τη σταθερότητα του έναντι της οξειδωσης.
- ♦ Σε συμφωνία με τα βιβλιογραφικά δεδομένα βρήκαμε ότι τα φυσικά αντιοξειδωτικά που περιέχονται στα έλαια αποτελούν κρίσιμους παράγοντες για τη σταθερότητα τους έναντι της οξειδωσης. Έτσι κάθε διαδικασία αλλά και παράγοντας που επιδρά αρνητικά σε αυτά υποβαθμίζει ταυτόχρονα και την ποιότητα του ελαίου.
- ♦ Το συνθετικό αντιοξειδωτικό BHT, που δρα όπως και οι φαινολικές ενώσεις αυξάνει τη σταθερότητα των απογυμνωμένων ελαίων έως ένα σημείο πέραν του οποίου όμως παρατηρείται πλάτο.
- ♦ Ακόμα και σε υψηλή συγκέντρωση BHT, δεν επιτυγχάνεται η σταθερότητα του φυσικού ελαιολάδου.
- ♦ Τέλος, η αντιοξειδωτική δράση του BHT και η συμβολή του στην αύξηση της σταθερότητας είναι εντονότερη όπου και η απουσία των φυσικών αντιοξειδωτικών είναι μεγαλύτερη.



ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Andrikopoulos N.K., Brueschweiler H., and Taeschler Ch., 1991, HPLC Analysis of Phenolic Antioxidants, Tocopherols and Triglycerides, *J. Am. Oil Chem. Soc.* 68, 359.
- Andrikopoulos N.K., Hassapidou M.N., and Manoukas A.G., 1989, Tocopherol Content of Greek Olive Oils, *J. Sci. Food Agric.*, 46, 503.
- Ανδρικόπουλος Ν.Κ., 1998, Χημεία και Τεχνολογία Τροφίμων (Τόμος Ι), Χαροκόπειο Πανεπιστήμιο.
- Aparicio R., Roda L., Albi M.A., and Gutierrez F., 1999, Effect of Various Compounds on Virgin Olive Oil Stability Measured by Rancimat, *J. Agric. Food Chem.* 47, 4150.
- Αργυρίδης Ρ., 2001, Ποιοτικός Έλεγχος Ελαιολάδου, Κυπριακό Πρότυπο CYS82:1992 και Εναρμόνιση με την ΕΕ, Σεμινάριο ΚΕΓΕ, Αγρού.
- Baldioli M., Servilli M., Perretti G., and Montedoro G.F., 1996, Antioxidant Activity of Tocopherols and Phenolic Compounds of Virgin Olive Oil, *J. Am. Oil Chem. Soc.* 73, 1589.
- Barrera-Arellano D. And Esteves W., 1992, Oxidative Stability of Potato Chips Determined by Rancimat, *J. Am. Oil Chem. Soc.* 69, 335.
- Βασιλοπούλου Α., 2000, Πτυχιακή Εργασία υπό την επίβλεψη του Αν. Καθ. Ν.Κ. Ανδρικόπουλου, Χαροκόπειο Πανεπιστήμιο.
- Blekas G., Tsimidou M., Boskou D., 1995, Contribution of α -Tocopherol to Olive Oil Stability, *Food Chemistry*, 52, 289.
- Boskou D., 1996, Olive Oil Chemistry and Technology, AOCS Press
- Chen Q., Shi H. and Ho C.T., 1992, Effects of Rosemary Extracts and Major Constituents on Lipid Oxidation and Soybean Lipoxygenase Activity, *J. Am. Oil Chem. Soc.* 69, 999.
- Δημόπουλος Κ. και Ανδρικόπουλος Ν.Κ., 1996, Διατροφή, Εκ. Μπιστικέα, σελ. 97-125.
- EC₁: EC. *Off. J. Commission Eur. Communities, Regulation no.* 2568/91, 1991.
- EC₂: Eurosciences Communication και Ινστιτούτο Ερευνών, 2001, *European Olive Oil Medical Information Library*, Φύλλο Πληροφοριών Αρ. 5.
- EC₃: Εκπαιδευτικό Πακέτο για την Μεσογειακή Δίαιτα, το Ελαιόλαδο και τον ρόλο τους στην διατροφή για την αντιμετώπιση ασθενειών, <http://europa.eu.int/olive-oil>.
- Fakourelis N., Lee E.C., and Min D.B., 1987, *Journal of Food Science*, 52, 234.
- Fuster M.D., Lampi A.M., Hopia A., and Kamal-Eldin A., 1998, Effects of α - and γ - Tocopherols on the Autooxidation of Purified Sunflower Triacylglycerols *Lipids*, 33, 715.
- Gordon M.H. and Mursi E., 1994, Comparison of oil stability based on the Metrohm Rancimat with storage at 20°C, *J. Am. Oil Chem. Soc.* 71, 649.
- Gunstone F.D., 1999, Fatty Acid and Lipid Chemistry, Aspen Publishers, Maryland.

- Gutierrez F., Jimenez B., Ruiz A., and Albi M.A., 1999, Effect of Olive Ripeness on the Oxidative Stability of Virgin Olive Oil Extracted from the Varieties Picual and Hojiblanca and on the Different Components Involved, *J. Agric. Food Chem.* 47, 121.
- Hasenhuetti G.L. and P.J. Wan, 1992, Temperature Effects on the Determination of Oxidative Stability with the Methohm Rancimat, *J. Am. Oil Chem. Soc.* 69, 525.
- Hill S.E., Comparisons: Measuring Oxidative Stability, 1994, *Inform*, 5, 104.
- Hill S.E. and Perkins E.G., 1995, Determination of Oxidative Stability of Soybean Oil with the Oxidative Stability Instrument: Operation Parameter Effects, *J. Am. Oil Chem. Soc.* 72, 741.
- Καπούλας Β.Μ., Οξειδωμένα έλαια: Επιπτώσεις στην υγεία, 1985, *Πρακτικά 1^{ου} Πανελληνίου Συνεδρίου Τροφίμων, Σύγχρονη Τεχνολογία και Ποιοτικός Έλεγχος, Θεσσαλονίκη*, 288.
- Κυριτσάκης Α., Τσίγκου Α. και Πολυμενόπουλος Ζ., 1988, Αυτόματος Προσδιορισμός της Αντοχής του Ελαιολάδου και των άλλων Λιπαρών Υλών στην Οξείδωση, *Πρακτικά 2^{ου} Πανελληνίου Συνεδρίου Επιστήμης και Τεχνολογίας Τροφίμων, Ελληνική Εταιρεία Επιστημόνων Τροφίμων, Αθήνα*, 545.
- Kiritsakis A.K. και Kiritsakis K.A, 2000, The Role of Nutritional Antioxidants in Human's Nutrition and Health, *Fourth International Conference on Nutrition and Fitness: Plan of Action for the 21st Century, Ancient Olympia Greece*.
- Kirk R.J., 1979, Food Science and Nutrition: Current Issues and Answers, Ed. Clydesdale F., Prentice-Hall, INC, New Jersey.
- Κώδικας Τροφίμων, Ποτών και Αντικειμένων Κοινής Χρήσης (Μέρος Α'- Τρόφιμα και Ποτά), 1998, Τόμος 2, Ελληνική Δημοκρατία, Υπουργείο Οικ., Γ.Χ.Κ.
- Λαμπράκη Μ., 1999, Λάδι: Γεύσεις και Πολιτισμός 5000 χρόνων, 3^η έκδοση, Ελληνικά Γράμματα.
- Laubli M.W. and Bruttel P.A., 1986, Determination of the Oxidative Stability of Fats and Oils: Comparison Between the Active Oxygen Method and the Rancimat Method, *J. Am. Oil Chem. Soc.* 63, 792.
- Mancuso J. R., Mc Clements D.J., and Decker E.A., 1999, Ability of Iron To Promote Surfactant Peroxide Decomposition and Oxidize α -Tocopherol, *J. Agric. Food Chem.* 47, 4146.
- Marinova E.M. and Yanishlieva N.V., 1994, Effect of Lipid Unsaturation on the Antioxidative Activity of Some Phenolic Acids *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 71, 427.
- Medina I., Satue-Gracia T.M., German J.B., and Frankel E. N., 1999, Comparison of Natural Polyphenol Antioxidants From Extra Virgin Olive Oil with Synthetic Antioxidants in Tuna Lipids during Thermal Oxidation, *J. Agric. Food Chem.* 47, 4873.
- Μπαλατσούρας Γ.Δ., 1997, Σύγχρονη Ελαιοκομία: Το Ελαιόδενδρο – Το Ελαιόλαδο – Η Επιτραπέζια Ελιά – Το Ελαιόλαδο-, Τόμος 2^{ος}, Αθήνα.
- Μπόσκου Δ., 1997, Χημεία Τροφίμων, 4^η έκδοση, Εκδ. Γαρταγάνη, Θεσσαλονίκη.

- Psomiadou E. and Tsimidou M., 1998, Simultaneous HPLC Determination of Tocopherols, Carotenoids, and Chlorophylls for Monitoring Their Effects on Virgin Olive Oil Oxidation, *J. Agric. Food Chem.*, 46, 5132.
- Ranalli A., Ferrante M.L., De Mattia G., Costantini N., 1999, Analytical Evaluation of Olive Oil of First and Second Extraction, *J. Agric. Food Chem.*, 47, 417.
- Sahasrabudhe M.R. and Chapman D.G., 1961, Partial Fractionation of Fatty Acid Triglycerides on a Silic Acid Column, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 38, 88.
- Tracey E., 2000, Extra -Virgin Olive Oil Reduces Need for Blood Pressure Medication, *WebMD medical News*, <http://my.webmed.com>.
- Tsaknis J., Lalas S., Gergis V., Dourtoglou V., and Spiliotis V., 1999, Characterization of Moringa oleifera Variety Mbololo Seed Oil of Kenya, *J. Agric. Food Chem.*, 47, 4495.
- Vaclavik V.A., 1998, Essentials of Food Science, Chapman and Hall, International Thomson Publishing, USA.
- Van Oosten C.W., Poot C. and Hensen A.C., 1981, The Precision of the Swift Stability Test, *Fette . Seifen . Anstrichmittel*, 83, 133.

ANALYSE KAI DIATROFIKH...

ΠΤΥ ΑΔΕ
662.362

Μ. Αλεξιά

9446

5623

**ΧΑΡΟΚΟΠΕΙΟ
ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ**

ΒΙΒΛΙΟΘΗΚΗ

Υψηλ.Βιβλ/κης Χαροκόπειου Παν/μίου.954916

* 9 4 4 6 *



HU

