

**ΓΕΩΠΟΝΙΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ  
ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ  
ΓΕΝΙΚΟΥ ΤΜΗΜΑΤΟΣ  
ΘΕΤΙΚΕΣ ΕΠΙΣΤΗΜΕΣ ΣΤΗ ΓΕΩΠΟΝΙΑ  
ΚΛΑΔΟΣ ΙΙΙ: ΜΕΛΕΤΗ ΚΑΙ ΑΞΙΟΠΟΙΗΣΗ  
ΦΥΣΙΚΩΝ ΠΡΟΪΟΝΤΩΝ**

**ΣΥΓΚΡΙΣΗ ΤΩΝ ΣΥΣΤΑΤΙΚΩΝ ΤΟΥ ΑΡΩΜΑΤΟΣ  
ΜΑΥΡΟΥ ΚΑΙ ΑΣΠΡΟΥ ΠΙΠΕΡΙΟΥ (PIPER NIGRUM L.).  
ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ ΠΡΟΪΟΝΤΩΝ ΤΗΣ ΕΛΛΗΝΙΚΗΣ ΑΓΟΡΑΣ**

**ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΜΕΛΕΤΗ**



**ΑΝΔΡΕΑΣ Α. ΠΑΠΑΪΩΑΝΝΟΥ**

**ΕΠΙΒΛΕΠΩΝ: Π. ΤΑΡΑΝΤΙΑΔΗΣ**

**ΑΘΗΝΑ 2011**

**ΓΕΩΠΟΝΙΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ  
ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ  
ΓΕΝΙΚΟΥ ΤΜΗΜΑΤΟΣ  
ΘΕΤΙΚΕΣ ΕΠΙΣΤΗΜΕΣ ΣΤΗ ΓΕΩΠΟΝΙΑ  
ΚΛΑΔΟΣ ΙΙΙ: ΜΕΛΕΤΗ ΚΑΙ ΑΞΙΟΠΟΙΗΣΗ  
ΦΥΣΙΚΩΝ ΠΡΟΪΟΝΤΩΝ**

**ΣΥΓΚΡΙΣΗ ΤΩΝ ΣΥΣΤΑΤΙΚΩΝ ΤΟΥ ΑΡΩΜΑΤΟΣ  
ΜΑΥΡΟΥ ΚΑΙ ΑΣΠΡΟΥ ΠΙΠΕΡΙΟΥ (PIPER NIGRUM L.).  
ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ ΠΡΟΪΟΝΤΩΝ ΤΗΣ ΕΛΛΗΝΙΚΗΣ ΑΓΟΡΑΣ**

**ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΜΕΛΕΤΗ**



**ΑΝΔΡΕΑΣ Α. ΠΑΠΑΪΩΑΝΝΟΥ**

**ΕΠΙΒΛΕΠΩΝ: Π. ΤΑΡΑΝΤΙΑΗΣ**

**ΑΘΗΝΑ 2011**

**ΓΕΩΠΟΝΙΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ  
ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ  
ΓΕΝΙΚΟΥ ΤΜΗΜΑΤΟΣ**

**ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΜΕΛΕΤΗ**

**ΣΥΓΚΡΙΣΗ ΤΩΝ ΣΥΣΤΑΤΙΚΩΝ ΤΟΥ ΑΡΩΜΑΤΟΣ  
ΜΑΥΡΟΥ ΚΑΙ ΑΣΠΡΟΥ ΠΙΠΕΡΙΟΥ (PIPER NIGRUM L.).  
ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ ΠΡΟΪΟΝΤΩΝ ΤΗΣ ΕΛΛΗΝΙΚΗΣ ΑΓΟΡΑΣ**

**ΑΝΔΡΕΑΣ Α. ΠΑΠΑΪΩΑΝΝΟΥ**

**ΕΠΙΒΛΕΠΩΝ: Π.ΤΑΡΑΝΤΙΑΗΣ  
ΜΕΛΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗΣ: Μ.ΠΟΛΥΣΙΟΥ  
Σ. ΧΑΡΟΥΤΟΥΝΙΑΝ**

**ΑΘΗΝΑ 2011**

Στην κόρη μου Αννέτα

## ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Κατ' αρχήν, θέλω να ευχαριστήσω τον κ. Δημήτρη Ταραντίλη Πρόεδρο της Εταιρείας Έρευνας και Τεχνολογικής Ανάπτυξης Βιομηχανιών Τροφίμων (ΕΤΑΤ Α.Ε.) και επίτιμο Διευθυντή του Γενικού Χημείου του Κράτους, που μου έδωσε την δυνατότητα να φοιτήσω στο Μεταπτυχιακό Πρόγραμμα Σπουδών του Γενικού Τμήματος του Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών.

Επίσης από την ΕΤΑΤ, ευχαριστώ την κα Ιωάννα Πετροχειλίου Γενική Διευθύντρια, τον κ. Φραγκίσκο Γαίτη Προϊστάμενο Εργαστηριακών Υπηρεσιών και ιδιαίτερα την κα Σταυρούλα Σκούλικα Υπεύθυνη του Εργαστηρίου Χημικών Δοκιμών, χωρίς την έγκριση και την βοήθεια των οποίων θα ήταν αδύνατη η παρακολούθηση του μεταπτυχιακού προγράμματος.

Ευχαριστώ τους συναδέλφους μου στο Εργαστήριο Χημικών Δοκιμών και ειδικά τον κ. Νικηφόρο Ηλιόπουλο Χημικό, για τις πολύτιμες γνώσεις και συμβουλές που μου έδωσε κυρίως στο πειραματικό στάδιο αυτής της μεταπτυχιακής εργασίας.

Ευχαριστώ όλο το προσωπικό του Εργαστηρίου Γενικής Χημείας και ιδιαίτερα την κα Δήμητρα Δαφερέρα, Επιστημονικό Συνεργάτη, την κα Ειρήνη Αναστασάκη Υποψήφια Διδάκτωρ και τον κ. Χάρη Κανάκη Μεταδιδακτορικό Ερευνητή, για την φιλοξενία, τη συμπαράσταση και την εκπαίδευση που μου παρείχαν όλο αυτό το διάστημα.

Ευχαριστώ θερμά τον κ. Πέτρο Ταραντίλη Επίκουρο Καθηγητή, για τον χρόνο που αφιέρωσε επιβλέποντας την πορεία της εργασίας, για την συνεχή βοήθεια και τις παρατηρήσεις του επί της ουσίας και επί του τρόπου γραφής. Για τις παρατηρήσεις τους επίσης, ευχαριστώ τους Καθηγητές και μέλη της Επιτροπής κυρίους Μόσχο Πολυσίου και Σέρκο Χαρουτουγιάν, χωρίς τις οποίες θα ήταν αδύνατη η ολοκλήρωση της εργασίας.

Τέλος, ευχαριστώ την οικογένεια μου και ιδιαίτερα την σύζυγο μου Κατερίνα και την κόρη μου Αννέτα για την ηθική υποστήριξη και την υπομονή που έδειξαν.

## ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Τα μπαχαρικά αποτελούν ένα σημαντικό κομμάτι του ανθρώπινου πολιτισμού και έχουν επηρεάσει την ιστορία και την εξέλιξη του. Το πιπέρι και ειδικά το *Piper nigrum*, δεσπόζει ανάμεσα σε όλα τα μπαχαρικά, καθώς πάντα ξεχώριζε για το χαρακτηριστικό άρωμα και την οξεία και πικάντικη γεύση-οσμή του.

Χρησιμοποιείται από τα αρχαία χρόνια στη μαγειρική ως πρόσθετο, για την βελτίωση της γεύσης και του αρώματος του φαγητού. Οι ιδιότητες του ωστόσο, φαίνεται ότι είναι πολλές με τις αντιμικροβιακές, εντομοαπωθητικές και αντικαρκινικές να ξεχωρίζουν. Τα κύρια κλάσματα του πιπεριού είναι το αιθέριο έλαιο και η ελαιορητίνη. Η ποιότητα και οι ιδιότητες του σχετίζονται άμεσα με το αιθέριο έλαιο και την πιπερίνη. Το πρώτο προσδίδει το χαρακτηριστικό άρωμα του πιπεριού και η δεύτερη την καυτερή γεύση.

Υπάρχουν διάφορα προϊόντα του *Piper nigrum*, αλλά τα πλέον διαδεδομένα είναι το μαύρο και το λευκό πιπέρι, που συνήθως διατίθενται στο εμπόριο με τη μορφή τριμμένου πιπεριού.

Τα συστατικά του πιπεριού μπορούν να αναλυθούν με πολλές από τις σύγχρονες τεχνικές ανάλυσης, όπως είναι η χρωματογραφία και η φασματοσκοπία. Στην παρούσα εργασία, μελετήθηκαν 13 πιπέρια της ελληνικής αγοράς τα οποία εξετάστηκαν κυρίως ως προς την περιεκτικότητα και τη σύσταση των αιθερίων ελαίων τους και την περιεκτικότητα σε πιπερίνη. Πιο συγκεκριμένα, πραγματοποιήθηκε:

- Προσδιορισμός υγρασίας για την αναγωγή των αποτελεσμάτων επί ξηρού προϊόντος.
- Απομόνωση και ποσοτικός προσδιορισμός των αιθερίων ελαίων με την τεχνική της υδροαπόσταξης με συσκευή Clevenger
- Προσδιορισμός των συστατικών των αιθερίων ελαίων τόσο ποιοτικός με GC-MS, όσο και ποσοτικός με GC-FID
- Ποσοτικός προσδιορισμός της πιπερίνης με φασματοσκοπία UV-Vis
- Έρευνα των πιπεριών με φασματοσκοπία IR, με την τεχνική DRIFT, και με φασματοσκοπία Raman, μελετώντας χαρακτηριστικές απορροφήσεις και εντάσεις που οφείλονται στην πιπερίνη και τα τερπένια

Τέλος, τα αποτελέσματα συγκρίθηκαν με τα θεσπιζόμενα όρια του Κώδικα Τροφίμων και Ποτών (ΚΤΠ) και του ISO (959-1:1998 και 959-2:1998), με σκοπό να αξιολογηθούν οι συγκεκριμένοι οργανισμοί ως προς τις ισχύουσες ποιοτικές προδιαγραφές τους και κατά πόσον εξασφαλίζουν την ποιότητα του πιπεριού της Ελληνικής αγοράς.

Βάσει των αποτελεσμάτων διαπιστώθηκε ότι η υγρασία είναι της τάξεως του 10% περίπου, με τα μαύρα πιπέρια να έχουν την τάση να περιέχουν λιγότερη υγρασία από τα λευκά.

Η περιεκτικότητα σε αιθέριο έλαιο κυμαίνεται μεταξύ 1,1-3,2%, με τα μαύρα πιπέρια να περιέχουν σε γενικές γραμμές περισσότερο αιθέριο έλαιο από τα λευκά. Πάντως, τόσο στην υγρασία όσο και στην περιεκτικότητα σε αιθέριο έλαιο, υπάρχουν μεμονωμένες περιπτώσεις πιπεριών που δεν ακολουθούν τον γενικό κανόνα (π.χ. κάποια λευκά πιπέρια με λιγότερη υγρασία ή μεγαλύτερη περιεκτικότητα σε αιθέριο έλαιο από ορισμένα μαύρα).

Η συσκευασία σε φακελλάκι ευνοεί την διατήρηση της περιεκτικότητας σε αιθέριο έλαιο σε ικανοποιητικά επίπεδα, ενώ το πλαστικό κουτί συνδέεται με πιπέρια φτωχά σε αιθέριο έλαιο.

Το β-καρυοφυλλένιο είναι το κύριο συστατικό των αιθερίων ελαίων σε όλα τα πιπέρια, ενώ τα υπόλοιπα βασικά συστατικά είναι το δ-3-καρένιο, το λεμονένιο και το δ-ελεμένιο. Σε δέκα πιπέρια υπερτερούν τα σεσκιτερπένια και σε τρία τα μονοτερπένια, ενώ σε αρκετά πιο χαμηλές συγκεντρώσεις ακολουθούν τα σεσκιτερπενοειδή και τελευταία τα μονοτερπενοειδή. Παρατηρούνται επίσης, μεταξύ των αιθερίων ελαίων των μαύρων και λευκών πιπεριών ορισμένες διαφορές ως προς την συγκέντρωση κάποιων συστατικών, όπως το δ-3-καρένιο, το α-κουβεβένιο, το α-και β-σελινένιο και η άγνωστη κορυφή 35 που θα μπορούσαν να μας δηλώσουν την προέλευση του αιθερίου ελαίου από μαύρο ή λευκό πιπέρι.

Η πιπερίνη περιέχεται σε ποσοστό περίπου 5,9% και στα μαύρα και τα λευκά πιπέρια, αλλά η παραπάνω τιμή μπορεί να είναι υψηλότερη από την πραγματική επειδή στο ίδιο μήκος κύματος απορροφούν και άλλα αλκαλοειδή.

Τα φάσματα IR(DRIFT) δίνουν ορισμένες χαρακτηριστικές απορροφήσεις στην περιοχή  $3600-2800\text{ cm}^{-1}$  (δονήσεις τάσης των O-H, C=C, C-C και C-H) και  $1650-800\text{ cm}^{-1}$  (δονήσεων τάσης και κάμψης των C=C, =C-O-C, CH<sub>3</sub>, CH<sub>2</sub>, CH και C-C) που αποδίδονται στα τερπένια, την πιπερίνη, αλλά και την περιεχόμενη υγρασία (δονήσεις τάσης O-H).

Τα φάσματα Raman δίνουν χαρακτηριστικές εκπομπές στην περιοχή  $1627-1100\text{ cm}^{-1}$  (δονήσεις τάσης και την κάμψης των C=C, CH<sub>2</sub>, =N-C=O, C-C, και -C-O-C) κυρίως της πιπερίνης, αλλά και των τερπενίων.

Τα λευκά πιπέρια που στερούνται περικαρπίου δίνουν καλύτερα φάσματα από τα μαύρα στο IR(DRIFT) και κυρίως στο Raman, με υψηλότερο βαθμό ομοιότητας προς τα αντίστοιχα φάσματα του προτύπου πιπερίνης. Η χρήση οργάνων με καλύτερα χαρακτηριστικά (FT-Raman, πηγή ακτινοβολίας στα 1064nm) πιθανότατα θα δώσει καλύτερα φάσματα και πληροφορίες.

Ο ΚΤΠ βάσει των αποτελεσμάτων χαρακτηρίζεται ανεπαρκής καθώς έχει υψηλό ανώτατο αποδεκτό όριο για την υγρασία (15%) και χαμηλό κατώτατο όριο για την περιεκτικότητα του αιθερίου ελαίου (0,7%). Επίσης, τα παραπάνω όρια είναι κοινά για το μαύρο και λευκό πιπέρι, ενώ δεν αναφέρονται όρια για σημαντικές παραμέτρους όπως η περιεκτικότητα σε πιπερίνη, ακατέργαστες ίνες και μη πτητικά αιθερικά εκχυλίσματα.

Από την άλλη, ο ISO χαρακτηρίζεται πλήρης με ξεχωριστά όρια για το ολόκληρο και το τριμμένο μαύρο και λευκό πιπέρι. Πάντως η ύπαρξη κορυφών στο GC που είναι δυνατόν να συσχετισθούν με την προέλευση του αιθερίου ελαίου από μαύρο ή λευκό πιπέρι και η μελέτη χαρακτηριστικών κορυφών και εκπομπών των πιπεριών με όργανα IR και Raman υψηλότερων προδιαγραφών και δυνατοτήτων αφήνουν περιθώρια βελτίωσης των συγκεκριμένων προδιαγραφών για μία πληρέστερη και πιο σύντομη μελέτη της ποιότητας του πιπεριού.



## ABSTRACT

Spices are an important part of the human civilization and have influenced its history and evolution. Piper, especially *Piper nigrum*, dominates among them as its characteristic aroma and sharp and pungent flavour distinguish it from the other spices.

It's being used as an additive in cooking by the ancient times to improve the taste and aroma of the food. In addition piper has many properties with the anticancer, insecticidal and antimicrobial ones to be the most significant. The main fractions of piper are the essential oil and oleoresin. Its quality and properties are related closely to the containing essential oil which provides its characteristic aroma and piperine which provides its pungent taste.

Although there is a variety of Piper's products, black and white pepper are the most common ones which are usually found in the market in a ground form.

There are many techniques which can be used for the analysis of the Piper's components, like chromatography and spectroscopy. In this study 13 samples of the Greek market were mainly examined in their essential oil and piperine content. The composition of the essential oil was examined too. The analyses that took place were:

- determination of moisture to calculate the results in dry matter
- isolation and quantitative determination of the essential oil by using the hydrodistillation technique and the Clevenger apparatus
- qualitative and quantitative determination of the essential oil composition by GC-MS and GC-FID
- quantitative determination of piperine by UV-Vis spectroscopy
- examination of the pepper samples by IR(DRIFT) and Raman spectroscopy studying the characteristic absorptions and emissions due to the containing piperine and terpenes

Finally the results were compared with the limits of the Greek Code of Foods and Drinks, and ISO (959-1:1998 and 959-2:1998), in order to estimate their quality specifications and if they can ensure the quality of the Greek market's pepper products.

The moisture content is equivalent to about 10% and black peppers tend to contain less moisture than white peppers.

The essential oil content varies between 1,1-3,2% and black peppers tend to contain more essential oil than white peppers. Nevertheless there are in both cases some white peppers that contain less moisture or more essential oil than some black peppers.

The envelope package seem to be in favour of rich in essential oil peppers while the plastic box is the package of the poor ones.

B-caryophyllene is the main component of the essential oil in all the pepper samples while other main components are d-3-carene, limonene and d-elemene. Sesquiterpenes dominate in ten and monoterpenes in three peppers. Sesquiterpenoids are the third terpene group in abundance and monoterpenoids the last one. There are also some differences in the content of some specific components between black and white peppers, such as d-3-carene,  $\alpha$ -cubunene,  $\alpha$ - and  $\beta$ -selinene and the unknown peak 35, which could be connected with the origin of the essential oil from black or white pepper.

The piperine content is about 5,9% in both black and white peppers but this value may be higher than the real one because of the absorption of other alkaloids in the same wavelength.

The IR(DRIFT) spectra give some characteristic absorptions between 3600-2800  $\text{cm}^{-1}$  (stretching and bending vibrations of O-H, C=C, C-C and C-H) and 1650-800  $\text{cm}^{-1}$  (stretching and bending vibrations of C=C, =C-O-C, CH<sub>3</sub>, CH<sub>2</sub>, CH and C-C) due to terpenes, piperine and the moisture (O-H stretching vibrations).

The Raman spectra give some characteristic emissions between 1627-1100  $\text{cm}^{-1}$  (stretching and bending vibrations of C=C, CH<sub>2</sub>, =N-C=O, C-C, and -C-O-C) mainly due to piperine and secondly due to terpenes.

The absence of pericarp in white pepper results in better IR(DRIFT) and Raman spectra than black peppers and resemble more to the respective piperine spectra. The use of a better Raman equipment (FT-Raman and light source in 1064nm) should give better spectra and more information about peppers.

The Greek Code of Foods and Drinks is insufficient because of its high moisture and low essential oil limits. The specification is common for both black and white peppers and there are no limits for some significant quality parameters like piperine, crude fibers and non-volatile ether extracts.

On the other hand ISO is sufficient with individual limits for whole or ground, black or white pepper. The GC peaks that could be connected with the origin of the essential oil from the black or white pepper and the research of the characteristic IR(DRIFT) absorptions and Raman emissions could improve its quality specifications and result in a full and rapid research of the pepper quality.

## ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1: ΕΙΣΑΓΩΓΗ.....	9
1.1 ΙΣΤΟΡΙΚΗ ΑΝΑΔΡΟΜΗ.....	9
1.2 ΠΙΠΕΡΙ.....	11
1.3 ΠΙΠΕΡΙ ΤΟ ΜΕΛΑΝ (PIPER NIGRUM).....	12
1.3.1 Παραγωγή.....	15
1.3.2 Επεξεργασία.....	17
1.3.3 Προϊόντα του Piper nigrum.....	20
1.4 ΣΥΣΤΑΤΙΚΑ ΚΑΙ ΚΛΑΣΜΑΤΑ ΤΟΥ ΠΙΠΕΡΙΟΥ.....	22
1.4.1 Υγρασία.....	23
1.4.2 Αιθέριο έλαιο.....	24
1.4.2.1 Τερπένια.....	26
1.4.2.2 Σύσταση αιθερίου ελαίου και άρωμα.....	28
1.4.3 Ελαιορητίνη – Πιπερίνη.....	30
1.5 ΙΔΙΟΤΗΤΕΣ – ΕΦΑΡΜΟΓΕΣ.....	34
1.5.1 Ιδιότητες αιθερίων ελαίων.....	34
1.5.2 Ιδιότητες ελαιορητίνης και πιπερίνης.....	35
1.5.3 Ιδιότητες πιπεριού.....	38
1.5.4 Επιπτώσεις στον οργανισμό.....	40
1.6 ΑΠΟΜΟΝΩΣΗ ΚΛΑΣΜΑΤΩΝ ΠΙΠΕΡΙΟΥ.....	41
1.6.1 Απομόνωση αιθερίων ελαίων.....	41
1.6.2 Απομόνωση ελαιορητίνης και πιπερίνης.....	44
1.6.3 Άλλες τεχνικές.....	46
1.7 ΑΝΑΛΥΣΗ ΣΥΣΤΑΤΙΚΩΝ ΠΙΠΕΡΙΟΥ.....	48
1.7.1 Ανάλυση αιθερίων ελαίων.....	48
1.7.2 Νέες τεχνικές ανάλυσης αιθερίων ελαίων.....	51
1.7.3 Ανάλυση πιπερίνης.....	53
1.8 ΙΣΧΥΟΥΣΑ ΝΟΜΟΘΕΣΙΑ.....	56

1.9	ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ.....	57
	ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2: ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ.....	59
2.1	ΥΛΙΚΑ.....	59
2.2	ΜΕΘΟΔΟΙ.....	60
2.2.1	Προσδιορισμός των φυσικοχημικών χαρακτηριστικών.....	60
2.2.1.1	Προσδιορισμός υγρασίας.....	60
2.2.1.2	Περιεκτικότητα αιθερίου ελαίου.....	60
2.2.1.3	Προσδιορισμός πιπερίνης.....	60
2.2.2	Προσδιορισμός συστατικών αιθερίου ελαίου.....	62
2.2.3	Φασματοσκοπική μελέτη με FT-IR και Raman.....	63
	ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3: ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ-ΣΥΖΗΤΗΣΗ.....	64
3.1	ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΤΩΝ ΦΥΣΙΚΟΧΗΜΙΚΩΝ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΩΝ.....	64
3.1.1	Προσδιορισμός υγρασίας.....	64
3.1.2	Περιεκτικότητα αιθερίου ελαίου.....	66
3.1.3	Προσδιορισμός πιπερίνης.....	68
3.2	ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ GC-MS/FID .....	70
3.3	ΦΑΣΜΑΤΟΣΚΟΠΙΚΗ ΜΕΛΕΤΗ ΜΕ FT-IR.....	81
3.4	ΦΑΣΜΑΤΟΣΚΟΠΙΚΗ ΜΕΛΕΤΗ ΜΕ RAMAN.....	87
	ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4: ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑ.....	92
	ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....	95
	ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ.....	102
I.	Κατάλογος συντημήσεων.....	102
II.	Μετρήσεις.....	103

## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1: ΕΙΣΑΓΩΓΗ

### 1.1 ΙΣΤΟΡΙΚΗ ΑΝΑΔΡΟΜΗ

Τα τρόφιμα, ακόμα και αν έχουν υψηλή θρεπτική αξία, δεν εκτιμώνται ιδιαίτερα από τους καταναλωτές αν δεν έχουν ωραία γεύση-οσμή (flavour). Η γεύση-οσμή είναι το πιο σημαντικό χαρακτηριστικό ως προς την αποδοχή ή όχι ενός τροφίμου. Τα μπαχαρικά αποτελούν μία κατηγορία που διακρίνεται για τη φυσική γεύση-οσμή τους και χωρίς αυτά η τροφή μας θα ήταν ουδέτερη, βαρετή και δύσπεπτη (Nisha, Singhal, Pandit, 2009 - Wilson, 2003).

Το πώς ορίζεται το μπαχαρικό έχει αποτελέσει αντικείμενο διαμάχης για χρόνια. Ο Διεθνής Οργανισμός Προτύπων (International Organization for Standardization-ISO) ορίζει ως μπαχαρικά και αρτύματα τα φυσικά φυτικά προϊόντα ή μείγματα αυτών, που χρησιμοποιούνται ως προσθετα για να ενισχύσουν την γεύση-οσμή (flavoring) των τροφίμων και να τους μεταδώσουν άρωμα (Wilson, 2003).

Πράγματι, ο άνθρωπος τα χρησιμοποίησε για την βελτίωση των χαρακτηριστικών των τροφίμων, όπως είναι η γεύση-οσμή, το άρωμα και το χρώμα, αλλά και για την αύξηση του χρόνου συντήρησής τους (Wilson, 2003). Γενικά η ιστορία της ανθρωπότητας είναι στενά συνδεδεμένη με τα μπαχαρικά, και ειδικά με το μαύρο πιπέρι, που ανέκαθεν αποτελούσε ένα πολύτιμο αγαθό (Nair, 2004 - Wilson, 2003). Οικονομίες κρατών επηρεάστηκαν, κυβερνήσεις «έπεσαν», θρύλοι δημιουργήθηκαν, άγνωστοι τόποι εξερευνήθηκαν, ενώ δεν έλειψαν και οι πόλεμοι. Επίσης, πολλοί επώνυμοι του παρελθόντος, όπως ο Μάρκο Πόλο, ο Βάσκο ντε Γκάμα και ο Μαγγελάνος, συνέδεσαν το όνομα τους με το εμπόριο των μπαχαρικών (Wilson, 2003).

Οι αρχαίες Γραφές, όπως η Βίβλος, το Κοράνι και οι Βέδες, αναφέρουν την χρήση των μπαχαρικών και του πιπεριού (Nair, 2004 - Ravindran, 2000).

Σύμφωνα με τη Βίβλο, η Βασίλισσα της Σίβας προσέφερε κατά την επίσκεψη της στον Βασιλιά Σολομόντα, φορτίο με μπαχαρικά, όπου το μεγαλύτερο μέρος του ήταν πιπέρι (Nair, 2004). Στην αρχαία Αίγυπτο εκτός από την χρήση του στην συντήρηση των νεκρών, τοποθετούσαν μαζί με τις ταριχευμένες σορούς των Φαραώ στους τάφους, εκτός από χρυσάφι και ασήμι, και μαύρο πιπέρι, επειδή πίστευαν ότι ο νεκρός στη μεταθανάτια ζωή θα το χρησιμοποιούσε. Οι αρχαίες Ινδικές Γραφές αναφέρουν τη χρήση του πιπεριού τόσο ως άρτυμα, όσο και για την δημιουργία σπάνιων, μοναδικών ιατρικών συνταγών για την θεραπεία του σώματος και του εγκεφάλου (Nair, 2004 - Wilson, 2003 - Εκπαιδευτική Ελληνική Εγκυκλοπαίδεια, 1983).

Ήδη από το 3000 π.Χ. οι Βαβυλώνιοι και οι Ασσύριοι έκαναν εμπόριο πιπεριού με τις δυτικές ακτές της Ινδίας (Nair, 2004). Στην Ευρώπη το πιπέρι ήταν επίσης γνωστό

από τους αρχαίους χρόνους ως φαρμακευτικό και συμπεριλαμβάνεται στα φαρμακευτικά φυτά της εποχής του Ιπποκράτη. Επίσης, ο Θεόφραστος αναφέρεται με το όνομα *πέπερι* στο σύγγραμμά του «*Περί φυτών ιστορία*» (Εκπαιδευτική Ελληνική Εγκυκλοπαίδεια, 1983). Οι πιο ισχυρές και πλούσιες χώρες ήταν αυτές που ήλεγχαν το εμπόριο του (Wilson, 2003). Το εμπόριο του πιπεριού είναι συνυφασμένο με την οικονομική ανάπτυξη πόλεων, όπως η Αλεξάνδρεια, η Γένοβα και η Βενετία, καθώς η ευημερία τους συνέπιπτε με το δραστήριο εμπόριο πιπεριού. Επίσης, αργότερα, λόγω της αυξημένης ζήτησης και κατανάλωσης του πιπεριού στην Αγγλία, δημιουργήθηκε στο Λονδίνο η πιο πλούσια συντεχνία εμπόρων, οι «Πιπεράδες» (the “Pepperers”).

Κατά τους αρχαίους χρόνους, μόνον οι Άραβες ήξεραν τον τόπο προέλευσης των μπαχαρικών και κρατούσαν μυστική την θαλάσσια διαδρομή. Με την κυριαρχία των Ρωμαίων στην Αίγυπτο, ο Ίππαλος (Hippalus), ένας Έλληνας έμπορος και ναυτικός, ανακάλυψε την εποχή κατά την οποία οι άνεμοι ευνοούσαν το θαλάσσιο ταξίδι προς και από την Ινδία σε διάστημα μικρότερο του έτους. Λόγω αυτού του γεγονότος, έγινε γνωστή η διαδρομή και πολλές πόλεις που πριν ζούσαν από το συγκεκριμένο εμπόριο, έχασαν τον πλούτο και τελικά την ανεξαρτησία τους. Οι Ρωμαίοι από όλα τα μπαχαρικά ξεχώρισαν το πιπέρι παρά την, σύμφωνα με τον Πλίνιο τον Πρεσβύτερο, «απεχθή» γεύση του (Nair, 2004).

Οι Κινέζοι ανέπτυξαν το εμπόριο πιπεριού στην νοτιοδυτική Ασία και Άπω Ανατολή και έφτασαν στο σημείο να εμπορεύονται ποσότητες ίσες με αυτές που εμπορευόταν ολόκληρη η Ευρώπη. Είναι ενδεικτικό ότι κατά τον 15<sup>ο</sup> αιώνα, οι Κινέζοι στρατιώτες πληρώνονταν σε πιπέρι.

Στην Ευρώπη, το πιπέρι άρχισε να χρησιμοποιείται κυρίως κατά τον Μεσαίωνα (Εκπαιδευτική Ελληνική Εγκυκλοπαίδεια, 1983). Με την πτώση όμως της Βυζαντινής αυτοκρατορίας και την ταυτόχρονη άνοδο των Οθωμανών Τούρκων, διεκόπη ο εμπορικός δίαυλος αγαθών, όπως το μετάξι και τα μπαχαρικά και έτσι εγκαινιάστηκε η εποχή των Μεγάλων Εξερευνήσεων (en.wikipedia.org).

Πρώτοι οι Πορτογάλλοι λοιπόν με τον Βάσκο ντε Γκάμα, ξεκίνησαν τον 15<sup>ο</sup> αιώνα την εξερεύνηση γύρω από τις Ινδίες και κυριάρχησαν στο εμπόριο πιπεριού. Τον 17<sup>ο</sup> αιώνα, ενεπλάκησαν αρχικά οι Ολλανδοί και μετέπειτα οι Άγγλοι. Ο ανταγωνισμός ανάμεσα στους δύο τελευταίους, οδήγησε ουσιαστικά τους Άγγλους στο να καταστήσουν αποικία τους τις Ινδίες. Τελευταίοι στο εμπόριο πιπεριού εισήλθαν οι Αμερικάνοι προς το τέλος του 18<sup>ου</sup> αιώνα, αλλά σε γενικές γραμμές το εμπόριο τους δεν έφτασε ποτέ τα αντίστοιχα επίπεδα των προηγούμενων κρατών (Nair, 2004).



Εικ.1.1 Οι εμπορικοί δρόμοι του μεταξιού (κόκκινο χρώμα) και των μπαχαρικών (γαλάζιο χρώμα) που διέκοψαν οι Οθωμανοί (en.wikipedia.org)

## 1.2 ΠΙΠΕΡΙ

Η οικογένεια των Πιπερίδων είναι ευρέως διαδεδομένη στις τροπικές και υποτροπικές περιοχές του πλανήτη μας και περιλαμβάνει 5 γένη (genera) και 1400 είδη (species), με το γένος των πιπεριών να περιλαμβάνει 700 είδη (Dos Santos, De Lima Moreira, Guimaraes, Kaplan, 2001 - De Morais et al., 2007 - Εκπαιδευτική Ελληνική Εγκυκλοπαίδεια, 1983), ενώ κάποιοι άλλοι ανεβάζουν τον αριθμό στα 1000 είδη (Abbasí, Ahmad, Fazal, Mahmood, 2010). Ενδεικτικά αναφερούμε ορισμένα (De Morais et al., 2007 - Dos Santos et al., 2001 - Vila, Milo, Tomi, Casanova, Ferro, Cañigüeral, 2001 - Εκπαιδευτική Ελληνική Εγκυκλοπαίδεια, 1983):

Piper: amplum, angustifolium, arboretum, betle, capense, cubeba, dilatatum, fulvescens, gaudichaudianum, goesii, guineense, hispidum, hoffmanseggianum, hostmanianum, humaytanum, lanceaefolium, longum, methysticum, mollicomum, permucronatum, ribesoides, sarmentosum, umbellatum κ.α.

Η ονομασία «πιπέρι» είναι πιθανότατα ελληνικής προέλευσης (Nair, 2004). Πρόκειται για ένα πολυετές αναρριχητικό φυτό το οποίο καλλιεργείται με την βοήθεια υποστηριγμάτων που μπορεί να είναι απλά ξύλα ή άλλα φυτά. Για παράδειγμα, ως υποστύλωμα μπορεί να χρησιμοποιηθούν ο καφές και το τσάι και έτσι να συνδυασθούν δύο καλλιέργειες μαζί ή δένδρα, που συνήθως είναι και τα προτιμότερα λόγω του ίσκιου

που δημιουργούν στο φυτό (Abbasi et al., 2010 - Εκπαιδευτική Ελληνική Εγκυκλοπαίδεια, 1983). Πάντως, τα απλά υποστηρίγματα πιστεύεται ότι βοηθούν στην καλύτερη απόδοση της καλλιέργειας (Abbasi, et al., 2010). Η τελευταία είναι εύκολη, ευνοείται, όπως συμβαίνει άλλωστε σε όλα τα μπαχαρικά και αρτύματα, σε τροπικά και υποτροπικά κλίματα (δηλαδή σε μέρη θερμά και υγρά) και μπορεί να διατηρηθεί για 35 χρόνια περίπου (Εκπαιδευτική Ελληνική Εγκυκλοπαίδεια, 1983 - Wilson, 2003).

Το φυτό του πιπεριού έχει δύο πλεονεκτήματα σε σχέση με άλλα φυτά. Το πρώτο είναι ότι μπορεί να αναπαραχθεί αυτόνομα και το δεύτερο ότι η αναπαραγωγή γίνεται από δύο φύλα. Και τα δύο έχουν ως αποτέλεσμα την επιλογή υβριδίων ικανών να επιβιώσουν, καθώς και την επιλεκτική γονιμοποίηση. Πειράματα που αφορούσαν την επιλογή κλώνων και τη δημιουργία υβριδίων, ήταν επιτυχή ως προς την αύξηση της απόδοσης του φυτού και την μετάδοση επιθυμητών κληρονομικών χαρακτηριστικών (Nair, 2004). Ο κυριότερος περιορισμός στην καλλιέργεια του οφείλεται στην χαμηλή παραγωγή, λόγω χαμηλής αναπαραγωγιμότητας, της χρήσης φυτοφαρμάκων και της εμφάνισης ασθενειών. Η αναπαραγωγή του γίνεται κυρίως με μεταφύτευση 2 με 6 μοσχευμάτων (βλαστοί, παραφυάδες) από ώριμα φυτά ή φυντάνια, παρά με την εμφύτευση σπόρων, λόγω της χαμηλής παραγωγής και απόδοσης των τελευταίων (Abbasi et al., 2010). Αν η αναπαραγωγή γίνει με σπόρους η απόδοση του φυτού ξεκινά από τον έβδομο χρόνο, ενώ αν γίνει με μοσχεύματα ξεκινά από τον τρίτο (Εκπαιδευτική Ελληνική Εγκυκλοπαίδεια, 1983).

Το φρούτο του πιπεριού περιγράφεται ως δρούπη (drupe), αλλά πολύ συχνά και ως καρπός (berry) (Ravindran, 2000). Διάφορες ασθένειες του φυτού οφείλονται στην δράση μυκήτων, βακτηρίων, ιών, μυκοπλασμάτων, νηματωδών και εντόμων. Στις μέρες μας, ένας ενδιαφέρων τρόπος αντιμετώπισης τους, με θετικά αποτελέσματα, γίνεται με την ανάπτυξη μικροοργανισμών ανταγωνιστικών ως προς τα παθογόνα (Ravindran, 2000 - Nair, 2004).

### **1.3 ΠΙΠΕΡΙ ΤΟ ΜΕΛΑΝ (PIPER NIGRUM)**

Από όλα τα είδη πιπεριού, το πιπέρι το μέλαν ή μαύρο (το κοινό σε όλους μας «πιπέρι»), που προέρχεται από τους ανώριμους καρπούς του *Piper nigrum*, είναι το αρχαιότερο, αξιολογότερο και σημαντικότερο μπαχαρικό, και το αποκαλούν «Βασιλιά των μπαχαρικών» (Bagchi, Srivastava, 2003 - Abbasi et al., 2010 - Εκπαιδευτική Ελληνική Εγκυκλοπαίδεια, 1983).



Πιν.1.1 Ταξινόμηση του Piper nigrum (www.allianceingredients.com)

<b>Βασίλειο</b>	Φυτικό
<b>Συνομοτοταξία</b>	Αγγειόσπερμα
<b>Ομοταξία</b>	Δικοτυλήδονα
<b>Τάξη</b>	Piperales
<b>Οικογένεια</b>	Piperaceae
<b>Γένος</b>	Piper
<b>Είδος</b>	nigrum Linn.

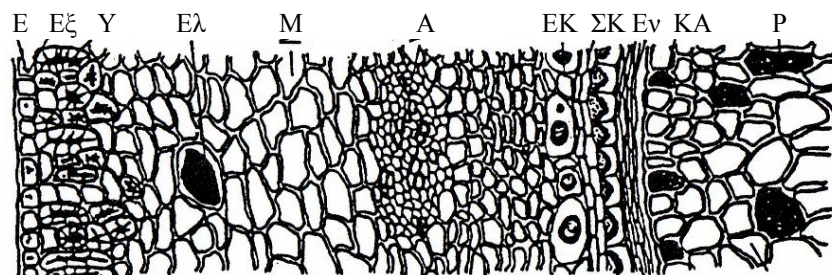
Πρόκειται για ιθαγενές φυτό της Ινδίας και της Ασίας γενικότερα, το οποίο είναι πολυετές, αναρριχώμενο, με ποώδη και χοντρά κλαδιά και βλαστό αποξυλωμένο στη βάση. Απλώνεται και στηρίζεται σε δένδρα ή άλλα στηρίγματα και το μήκος του μπορεί να φθάσει τα 10 μέτρα. Τα φύλλα του έχουν σχήμα ωοειδές και είναι παχιά με μακρύ μίσχο, πλατιά βάση και είναι τοποθετημένα εναλλάξ επάνω στον βλαστό. Το εύρος τους ποικίλει (από 12,5-17,5cm έως 5,0-12,5cm). Τα άνθη του είναι σταχυοειδή, μικρά και λευκά, μονογενή ή διγενή, με μέγεθος που ποικίλει επίσης.

Στη φύση απαντά συνήθως σε δύο φύλα, ενώ τα περισσότερα καλλιεργούμενα είδη είναι ερμαφρόδιτα (bisexual). Στα θηλυκά φυτά ανθίζουν 2 άνθη και στα αρσενικά ένας ύπερος. Το καλλιεργούμενο μαύρο πιπέρι γονιμοποιείται μόνο του, με γειτονογαμικό τρόπο (geitonogamy) που βοηθείται από την βροχή και από τις δροσοσταλίδες. Μετά την ανθοφορία απαιτούνται 6-7 μήνες για να ωριμάσει και να γίνει η συγκομιδή, η οποία πραγματοποιείται από τον Δεκέμβριο μέχρι τον Φεβρουάριο για καλλιέργειες που βρίσκονται σε πεδιάδες και από τον Ιανουάριο έως τον Απρίλιο για καλλιέργειες που βρίσκονται σε λόφους (Εκπαιδευτική Ελληνική Εγκυκλοπαίδεια, 1983 - Samuelsson, 2004 - Perakis, Louli, Magoulas, 2005 - www.allianceingredients.com - Joy, Pittappillil, Jose, 2002).

Από μακροσκοπικής άποψης, ο καρπός είναι άμιση σφαιρική δρούπη με πολτώδες περικάρπιο. Έχει διάμετρο 6 mm ή μικρότερη, είναι χρώματος καφέ-μαύρου με τραχιά ρυτιδωμένη επιφάνεια και περιέχει έναν σπόρο (single-seeded). Ο σπόρος είναι σχεδόν κοίλος, χρώματος λευκού, προσκολλημένος στο περικάρπιο και με καυτερή γεύση.

Το επικάρπιο είναι χρώματος σκούρο καφέ με μαύρο και περιέχει πολύγωνα κύτταρα, που έχουν τον σχηματισμό κυψέλης. Το μεσοκάρπιο είναι συγκριτικά μεγάλο. Το εξωτερικό μέρος του έχει εφτά με οκτώ στρώματα κυττάρων που περιέχουν άμυλο και ανάμεσα τους υπάρχουν θύλακες ελαιορητίνης. Από κάτω υπάρχει μια ζώνη μικρών αγγείων (συμπιεσμένες ινώδεις δεσμίδες), ένα στρώμα μεγάλων συμπιεσμένων κυττάρων και δύο στρώματα μικρών. Το ενδοκάρπιο αποτελείται από 2-3 στρώσεις επιμηκών

κυττάρων, τα τοιχώματα των οποίων περιέχουν αρκετή λινίνη. Από κάτω βρίσκεται χρωστική που αποτελείται από σκούρες καφετιές ταννίνες. Το περίβλημα του σπόρου διακρίνεται από διάφορες στρώσεις και ενώ το εξωτερικό περισπέρμιο περιέχει κόκκους αλευρόνης, το εσωτερικό περιέχει κόκκους αμύλου, πρωτεΐνες και ελαιορητίνες (Bagchi et al., 2003 - [www.allianceingredients.com](http://www.allianceingredients.com)).



Σχ.1.1 Τομή καρπού λευκού πιπεριού, από αριστερά προς τα δεξιά (Bagchi et al., 2003):

E-επιδερμίδα, Εξ-εξοκάρπιο, Υ-υποδερμίδα, Ελ-ελαιορητίνη, Μ-μεσοκάρπιο, Α-αγγεία, ΕΚ-ελαιώδη κύτταρα, ΣΚ-σφαιρικά κύτταρα, Εν-ενδοκάρπιο, ΚΑ-κόκκοι αλευρόνης, Ρ-ρητίνη

Αρχικά οι καρποί είναι πράσινοι, αλλά όσο ωριμάζουν γίνονται κόκκινοι και στο τέλος, όταν ωριμάσουν τελείως, κίτρινοι. Όταν είναι ημιώριμοι (ακριβώς δηλαδή πριν την ωρίμανση τους) και ξηραίνονται στον ήλιο, αποκτούν καστανόμαυρο χρώμα και ρυτιδωμένη επιφάνεια (Εκπαιδευτική Ελληνική Εγκυκλοπαίδεια, 1983). Αυτοί αποτελούν το μαύρο πιπέρι που αποκαλείται έτσι λόγω του αποκτηθέντος χρώματος (Εκπαιδευτική Ελληνική Εγκυκλοπαίδεια, 1983 - Abbasi et al., 2010).

Οι καταναλωτές εκτιμούν το πιπέρι λόγω του αρώματος και της καυστικότητας των καρπών του (Perakis et al., 2005 - Bagchi et al., 2003). Αξιολογητές των οργανοληπτικών χαρακτηριστικών των αιθερίων ελαίων ανέφεραν ότι το άρωμα του ελαίου του μαύρου πιπεριού (*P. nigrum*) είναι ωραίο, ευχάριστο, με έντονη αίσθηση πινενίου και λεμονιού. Η οσμή του ήταν πιο έντονη από πιπέρια άλλων ειδών (*P. guineense black and white*) (Jirovetz, Buchbauer, Ngassoum, Geissler, 2002).

Υπάρχουν περίπου εκατό ποικιλίες που καλλιεργούνται παγκοσμίως. Η διάκριση των ποικιλιών βασίζεται σε διάφορα χαρακτηριστικά, όπως το σχήμα των φύλλων, το μέγεθος, το μήκος του σταχυού, την πυκνότητα, την σύσταση των μονογενών και διγενών ανθών, το σχήμα, το μέγεθος και τον όγκο των καρπών, και τον χρόνο που απαιτείται για να ωριμάσουν (Bagchi et al., 2003).



Εικ.1.2 Ανώριμοι (αριστερά) και ώριμοι (δεξιά) καρποί πιπεριού ([www.uni-graz.at](http://www.uni-graz.at))

### 1.3.1 Παραγωγή

Η περιοχή Κερέλα (Kerela) της Ινδίας είναι ο τόπος καταγωγής του *P. nigrum*, όπου η παράκτια περιοχή Μάλαμπαρ (Malabar) παράγει το 95% του Ινδικού πιπεριού. Άλλες παραδοσιακές παραγωγί χώρες είναι η Ινδονησία, στην οποία εδρεύει και η Διεθνής Κοινότητα Πιπεριού (International Pepper Community - IPC) και η Σρι Λάνκα.

Σήμερα έχει επεκταθεί η καλλιέργεια του μαύρου πιπεριού σε αρκετές χώρες της νοτιοανατολικής Ασίας, όπως την Ταϊλάνδη, την Μαλαισία, την Καμπότζη, το Βιετνάμ, τη Ν.Κορέα και κάποιες περιοχές του νότου της Κινεζικής επικράτειας. Επίσης, καλλιεργείται στην Λατινική Αμερική (κυρίως την Βραζιλία, όπου το πιπέρι εισήχθη το 1933) και τις Δυτικές Ινδίες. Στην Αφρικανική ήπειρο η καλλιέργεια ξεκίνησε το 1954 και σήμερα η μεγαλύτερη παραγωγός χώρα είναι η Μαδαγασκάρη και ακολουθούν χώρες όπως η Κένυα, η Νιγηρία, το Κονγκό κ.α. Τέλος, όσον αφορά τον Νότιο Ειρηνικό ωκεανό, αξίζει να σημειώσουμε ότι πολλά είδη πιπεριού καθώς και οι ιδιότητές τους, έγιναν γνωστές κατά την ανακάλυψη των νησιών του. Σήμερα τα νησιά Φίτζι έχουν την μεγαλύτερη παραγωγή πιπεριού σε αυτήν τη γεωγραφική περιοχή (Nair, 2004 - Ferreira, Meireles, Cabral, 1993 - Εκπαιδευτική Ελληνική Εγκυκλοπαίδεια, 1983).

Προσφάτως το Βιετνάμ έχει γίνει η κύρια παραγωγός και εξαγωγός χώρα παγκοσμίως, ξεπερνώντας την Ινδία και την Ινδονησία που είναι οι παραδοσιακές «δυνάμεις» στον χώρο (Parthasarathy, Chempakam, Zachariah, 2008).

Το ετήσιο παγκόσμιο εμπόριο μπαχαρικών κυμαίνεται από 400000-450000 τόννους, συνολικής αξίας 1,5-2 εκατομμυρίων δολλαρίων και το ποσοστό που αναλογεί στο πιπέρι είναι της τάξης του 34% των μπαχαρικών (Nair, 2004 - Ravindran, 2000). Η τιμή τους επηρεάζεται από τις κλιματικές και πολιτικές συνθήκες, αφού οι κλιματικές αλλαγές και καταστροφές, και οι πόλεμοι, περιορίζουν το εμπόριο και την διάθεση τους στους καταναλωτές.

Η μέση κατανάλωση έχει αυξηθεί τα τελευταία χρόνια λόγω της αυξημένης χρήσης τους σε τρόφιμα με ήπια ή ουδέτερη γεύση (Wilson, 2003). Η ετήσια αύξηση σε ποσότητα και αξία των μπαχαρικών είναι της τάξης του 3,6 και 8,4% αντιστοίχως. Στην Δύση, η χώρα με την μεγαλύτερη κατανάλωση πιπεριού είναι η Δανία και ακολουθούν η Γερμανία και το Βέλγιο. Επίσης σημαντικές καταναλωτικές χώρες είναι οι ΗΠΑ, ο Καναδάς και η Ελβετία. Η παραγωγή το 2004 ήταν περίπου 200000 τόννοι, το 2010 εκτιμάται ότι ανήλθε στους 210000 τόννους και το 2020 υπολογίζεται ότι θα φθάσει τους 280000 τόννους. Δηλαδή, προκειμένου να ικανοποιηθεί η ζήτηση του καταναλωτικού κοινού στο συγκεκριμένο προϊόν, εκτιμάται ότι μέσα σε 16 χρόνια η παγκόσμια παραγωγή θα αυξηθεί συνολικά κατά 80000 τόννους περίπου, ενώ από το 2010 έως το 2020, η ετήσια αύξηση θα είναι της τάξης των 7000 τόννων (Nair, 2004).

Το μαύρο πιπέρι μπορεί να καλλιεργηθεί σε διάφορα υψόμετρα, διάφορα περιβάλλοντα και διάφορους τύπους εδαφών (από γόνιμα και ηφαιστειογενή, μέχρι λασπώδη και αργιλώδη), αρκεί το κλίμα να είναι θερμό και υγρό, με ικανοποιητικές βροχοπτώσεις. Το αποτέλεσμα είναι να υπάρχει μια ποικιλία προϊόντων με διαφορετικά χαρακτηριστικά (Abbasi et al., 2010 - [www.allianceingredients.com](http://www.allianceingredients.com) - Nair, 2004 - Joy et al., 2002). Για παράδειγμα, το πιπέρι που προέρχεται από την Ινδία και την Ινδονησία είναι διάσημο για το υπέροχο άρωμα και την καυστικότητα του και θεωρείται ανώτερης ποιότητας, σε αντίθεση με αυτό που προέρχεται από την Βραζιλία και την Μαλαισία που έχει σχετικά ηπιότερα χαρακτηριστικά (Schulz, Baranska, Quilitzsch, Schütze, Lösing, 2005).

Πιν 1.2 Παραγωγή μαύρου πιπεριού ορισμένων χωρών το 2006  
(Parthasarathy et al., 2008)

<b>Χώρα</b>	<b>Παραγωγή (τόννοι)</b>
Βιετνάμ	116000
Βραζιλία	35000
Ινδία	65000
Ινδονησία	67000
Μαλαισία	22000
Σρι Λάνκα	12750



Εικ.1.3 Καλλιέργεια πιπεριού (Nair, 2004)

### 1.3.2 Επεξεργασία

Η συγκομιδή γίνεται κυρίως χειρωνακτικά και σε δύο στάδια. Στο πρώτο συλλέγονται τα στάχυα από το φυτό και στο δεύτερο διαχωρίζονται οι καρποί από τα κοτσάνια. Το δεύτερο στάδιο καθώς και η τεχνολογία μετά την συγκομιδή, παίζουν σημαντικό ρόλο στην βελτίωση της ποιότητας του πιπεριού (Nair, 2004 - Joy et al., 2002). Τα στάδια επεξεργασίας που ακολουθούν είναι τα εξής (Nair, 2004):

- ξήρανση
- διαχωρισμός των διαφόρων κλασμάτων
- διαχωρισμός των καρπών βάσει μεγέθους, κατηγοριοποίηση
- φυσικός καθαρισμός (πλύσιμο και ξήρανση)
- συσκευασία

Τα στάχυα αφαιρούνται από το κλήμα (vine), συλλέγονται, απλώνονται και αποθηκεύονται στο πάτωμα ή σε ψάθα, για μία ημέρα. Οι καρποί διαχωρίζονται από τα στάχυα με τρίψιμο και μετά πλένονται και ξηραίνονται. Οι φρέσκοι κόκκοι έχουν υγρασία 65-80%, η οποία πρέπει να μειωθεί στο 8-10% προκειμένου η αποθήκευσή τους να είναι ασφαλής.

Η ξήρανση γίνεται υπό το φως του ήλιου για 4-7 ημέρες, μέχρι να μετατραπούν πλήρως σε μαύρους καρπούς και να αποκτήσουν ρυτιδωμένη επιφάνεια. Οι χρωστικές της επιδερμίδας του καρπού υφίστανται οξειδωση, παρόμοια με αυτήν της αμαύρωσης των φρούτων και λαχανικών και μπορεί να είναι ενζυμικής φύσεως ή μη. Στην ενζυμική αμαύρωση προκαλείται οξειδωση των πολυφαινολικών συστατικών της επιδερμίδας και έτσι προκύπτει το μαύρο χρώμα του πιπεριού.

Η παραδοσιακή ξήρανση στον ήλιο παρουσιάζει ορισμένα μειονεκτήματα που έχουν να κάνουν με τον απαιτούμενο χρόνο ξήρανσης και την εξάρτηση της από τις κλιματικές συνθήκες. Για να αντιμετωπισθούν τα παραπάνω προβλήματα έχουν αναπτυχθεί κάποιες εναλλακτικές μέθοδοι.

Έτσι, προκειμένου να μειωθεί ο απαιτούμενος χρόνος ξήρανσης, μπορεί να προηγηθεί μια προεπεξεργασία των καρπών. Η πλέον κοινή μέθοδος είναι το ζεμάτισμα, όπου οι καρποί εμβαπτίζονται σε βραστό νερό για ένα λεπτό και έπειτα απλώνονται σε ψάθες ή στο δάπεδο και ξηραίνονται στον ήλιο. Ο χρόνος ξήρανσης περιορίζεται σε 2 μόνο ημέρες και οι καρποί αποκτούν λαμπερή εμφάνιση και μειωμένο μικροβιακό φορτίο, με αποτέλεσμα να πάρουμε ένα «υγιές» προϊόν.



Εικ.1.4 Συγκομιδή πιπεριού, από χειρόγραφο του «Βιβλίου θαυμάτων του Μάρκο Πόλο»

(The book of the marvels of Marco Polo) (en.wikipedia.org)

Επίσης, η χρήση μηχανικών ή ηλιακών ξηραντήρων καθίσταται αναγκαία όταν οι κλιματικές συνθήκες δεν ευνοούν την ξήρανση στο περιβάλλον. Οπότε είναι δυνατόν η διαδικασία της ξήρανσης να περιορισθεί στις 30 ώρες, εφαρμόζοντας διάφορες τεχνικές, όπως ξήρανση με υπέρυθη ακτινοβολία, με αγωγιμότητα (conduction), με ζεστό, ξηρό και κρύο (refrigerated) αέρα κ.α. Σε σχέση με την παραδοσιακή ξήρανση, η χρήση ξηραντήρων και ο συνδυασμός τεχνικών ξήρανσης, έχουν το πλεονέκτημα ότι διατηρούν

μια σταθερή θερμοκρασία, με αποτέλεσμα να παραλαμβάνεται σε μικρότερο χρονικό διάστημα, προϊόν καλύτερης ποιότητας, με σκούρο μαύρο χρώμα, χαμηλή υγρασία, χαμηλό μικροβιακό φορτίο και απαλλαγμένο από ξένες ύλες (Bagchi et al., 2003 - Joy et al., 2002 - Nair, 2004 - Εκπαιδευτική Ελληνική Εγκυκλοπαίδεια, 1983 - Samuelsson, 2004).



Εικ.1.5 Ξήρανση πιπεριού στον ήλιο (www.plantcultures.org)

Μετά ακολουθεί το στάδιο του διαχωρισμού, όπου απομακρύνονται οι εναπομείναντες ξένες ύλες (βρωμιές, πετραδάκια, φύλλα κ.α.), η σκόνη, οι μίσχοι και οι ανώριμοι, πολύ ώριμοι, μεγάλοι, μικροί και ελαφρείς καρποί. Ο διαχωρισμός γίνεται με συνδυασμό κοσκίνισματος και ρεύματος αέρα. Με αυτόν τον τρόπο παρασκευάζεται το πιπέρι τύπου *Μάλαμπαρ* (Malabar Garbled) που αποτελεί το βασικό εξαγωγίμο πιπέρι της Ινδίας. Η ανάκτηση του πιπεριού από τους φρέσκους καρπούς είναι 35-36% (Bagchi et al., 2003 - Joy et al., 2002). Οι ελαφρείς καρποί θα πρέπει να είναι κάτω του 10% και οι μη γονιμοποιημένοι λιγότερο από 4%. Επίσης, ένα «καλό» πιπέρι θα πρέπει να έχει πυκνότητα 500-600 g/L. Όταν η πυκνότητα είναι χαμηλή σημαίνει ότι υπάρχει παρουσία ελαφρών καρπών, οπότε η περιεκτικότητα του πιπεριού σε άμυλο είναι μικρή, κάτι που σημαίνει χαμηλή ικανότητα άλεσης και, ως εκ τούτου, τελικό προϊόν χαμηλής ποιότητας (Nair, 2004).

Μετά την ξήρανση, οι καρποί καθαρίζονται και γυαλίζονται με ύφασμα. Η ανάκτηση είναι περίπου 28% των φρέσκων ώριμων καρπών (Bagchi et al., 2003).

Οι καρποί, τέλος, συσκευάζονται σε σακκιά και αποθηκεύονται. Για να αποφευχθεί η οξείδωση και η απώλεια του αρώματος του τελικού προϊόντος, ο χώρος αποθήκευσης θα πρέπει να είναι ξηρός, να αποτρέπει την είσοδο τροφικών και εντόμων, και να έχει συστήματα εξαερισμού και καταγραφής της θερμοκρασίας και της υγρασίας (Nair, 2004).

### 1.3.3 Προϊόντα του *Piper nigrum*

Αν και υπάρχουν πάνω από 70 μπαχαρικά που χρησιμοποιούνται στα τρόφιμα, το 30% του παγκόσμιου εμπορίου αντιστοιχεί στο μαύρο και λευκό πιπέρι (Wilson, 2003). Το μαύρο και το λευκό πιπέρι διαφέρουν μεταξύ τους ως προς τον χρόνο συγκομιδής και τον τρόπο επεξεργασίας τους. Το μαύρο συλλέγεται πριν την πλήρη ωριμότητα και ξηραίνεται μέχρι να δημιουργηθεί ένα λεπτό ρητιδωμένο στρώμα γύρω από τον φλοιό (pulp) (Jagella, Grosch, 1999). Εάν όμως, οι καρποί του πιπεριού αφεθούν να ωριμάσουν εντελώς και μετά απομακρυνθεί το εξωτερικό περικάρπιο τους, με ή χωρίς ξήρανση, παίρνουμε λείους λευκούς καρπούς που αποτελούν το λευκό πιπέρι (Nair, 2004). Όπως και το μαύρο, έτσι και το λευκό πιπέρι είναι σημαντικό καρύκευμα με αρωματική και δριμεία γεύση (Samuelsson, 2004), αν και έχει ηπιότερη γεύση-οσμή από το μαύρο (Jagella et al., 1999). Οι καρποί που είναι κατάλληλοι για την δημιουργία λευκού πιπεριού έχουν ειδικό βάρος μεγαλύτερο από 1,12 και είναι ακατάλληλοι για την παρασκευή μαύρου πιπεριού.

Το λευκό πιπέρι παράγεται με οποιαδήποτε από τις παρακάτω μεθόδους (Nair, 2004):

- εμβάπτιση σε νερό
- θέρμανση σε ατμούς
- θέρμανση με βρασμό
- χημική επεξεργασία
- αποφλοίωση των ώριμων ή ξηρών καρπών

Από τις προαναφερθείσες μεθόδους, η πιο δημοφιλής είναι η εμβάπτιση σε νερό, από όπου προκύπτει το λευκό πιπέρι που προτιμούν οι περισσότεροι καταναλωτές. Σύμφωνα με αυτή τη μέθοδο, οι ώριμοι καρποί τοποθετούνται σε σάκκους και εμβαπτίζονται σε τρεχούμενο νερό για 7-10 ημέρες.

Η διαδικασία των ατμών και του βρασμού έχει το πλεονέκτημα ότι επιταχύνει αυτό το στάδιο, καθώς διαρκεί 10 με 15 λεπτά, ενώ η χημική επεξεργασία με οξέα ή βάσεις δεν έχει ακόμα κάποια εφαρμογή στην πράξη, παρά σε ερευνητικό μόνο επίπεδο (Nair, 2004).

Η απομάκρυνση της μαλακής επιδερμίδας με αποφλοίωση προτιμάται να γίνεται παραδοσιακά, τρίβοντας τους καρπούς με τα χέρια ή πατώντας τους με τα πόδια. Αντιθέτως, η χρήση μηχανικών μέσων για τον σκοπό αυτό αποφεύγεται, επειδή αυξάνεται



το κόστος λόγω απωλειών, αλλά και της ενδεχόμενης απώλειας της γεύσης-οσμής και του αρώματος (Nair, 2004 - Εκπαιδευτική Ελληνική Εγκυκλοπαίδεια, 1983 – Bagchi et al., 2003).



Εικ.1.6 Μαύροι και λευκοί καρποί πιπεριού (en.wikipedia.org)

Τέλος, οι αποφλοιωμένοι καρποί εμβαπτίζονται σε διάλυμα προκειμένου να αποχρωματιστούν, ξεπλένονται με άφθονο νερό και ξηραίνονται στον ήλιο (Nair, 2004 - Εκπαιδευτική Ελληνική Εγκυκλοπαίδεια, 1983).

Σύμφωνα με το ISO/DIS 959-2 (1996), το προϊόν θα πρέπει να περιέχει μόνον 1% ξένες ύλες, και 4% θρυμματισμένους και 15% μαύρους καρπούς. Η ελάχιστη πυκνότητα θα πρέπει να είναι 600 g/L. Συγκριτικά, ενώ 100kg ώριμου πιπεριού έχουν απόδοση 33kg ξηρού πιπεριού, στο λευκό η αντίστοιχη απόδοση είναι μόνο 25kg. Αυτή η διαφορά στην απόδοση έχει ως αποτέλεσμα το κόστος του λευκού έναντι του μαύρου πιπεριού να είναι τουλάχιστον 35% παραπάνω και η τιμή του στην αγορά περίπου διπλάσια (Nair, 2004 – Bagchi et al., 2003).

Προστίθεται σε τρόφιμα όπου είναι ανεπιθύμητη η χρήση του μαύρου πιπεριού, όπως είναι οι έγχρωμες σάλτσες και οι σάλτσες σαλατών (salad dressing), οι σούπες και η μαγιονέζα. Το λευκό πιπέρι είναι ένα από τα κύρια προϊόντα πιπεριών που προτιμούν οι καταναλωτές σε όλο τον κόσμο (Nair, 2004). Η κύρια παραγωγή λευκού πιπεριού γίνεται στην Ινδονησία (Schulz et al., 2005). Η παγκόσμια ζήτηση σε λευκό πιπέρι είναι περίπου 38000 τόννοι ανά έτος, που αντιστοιχεί περίπου στο ένα τέταρτο της παγκόσμιας παραγωγής του μαύρου πιπεριού. Σε ορισμένες ευρωπαϊκές χώρες, το λευκό πιπέρι είναι αυτό που χρησιμοποιείται περισσότερο.

Υπάρχει και μια άλλη κατηγορία πιπεριού που είναι γνωστή ως «τριμμένο» (ground pepper) και μπορεί να συμπεριλαμβάνει τόσο το μαύρο όσο και το λευκό πιπέρι. Το τριμμένο λαμβάνεται από την άλεση του κανονικού πιπεριού χωρίς να προστεθεί κάποιο άλλο συστατικό (Nair, 2004). Η διαδικασία της άλεσης γίνεται με σφαιρόμυλους

(hammer mills) με χάλκινες σφαίρες ή πραγματοποιείται εν ψυχρώ με τη βοήθεια υγρού αζώτου, προκειμένου να αποφευχθεί η αύξηση της θερμοκρασίας που μπορεί να επηρεάσει αρνητικά την ποιότητα του προϊόντος (Nair, 2004). Η όλη διαδικασία διαρκεί μέχρι οι κόκκοι να αποκτήσουν συγκεκριμένο μέγεθος και για το σκοπό αυτό ακολουθεί κοσκίνισμα. Όσοι κόκκοι έχουν μεγαλύτερο μέγεθος από το αναμενόμενο, στέλνονται πίσω στον μύλο για περαιτέρω άλεση και μείωση του μεγέθους τους και τελικά το προϊόν συσκευάζεται (Nair, 2004 - Bagchi et al., 2003 - Joy et al., 2002). Το τριμμένο πιπέρι εκτός από τις συνήθεις εφαρμογές, χρησιμοποιείται και ως πρώτη ύλη στην βιομηχανία ελαίων, για την παραγωγή ελαιορητίνης (Joy et al., 2002).

Είδαμε προηγουμένως ότι οι καρποί που είναι στο στάδιο της ωρίμανσης μαυρίζουν λόγω ενζυμικής αμαύρωσης. Εάν όμως ζεματισθούν και κατόπιν ξηρανθούν μέχρις αφυδατώσεως, αναστέλλεται η ενζυμική δράση που είναι υπεύθυνη για το μαύρισμα των καρπών. Με αυτόν τον τρόπο παραλαμβάνεται ένα πράσινο χρώμα, το οποίο διατηρείται αν εμβαπτισθούν οι καρποί σε άλμη που περιέχει αλάτι, οξεικό ή κιτρικό οξύ και προκύπτει το πράσινο πιπέρι που χρησιμοποιείται στην Ευρώπη σε κάποιες κατηγορίες τροφίμων (Bagchi et al., 2003 - Nair, 2004 - Nisha et al., 2009). Το πράσινο πιπέρι συσκευάζεται σε κονσέρβες ή φιάλες. Στις κονσέρβες υφίσταται αποστείρωση με θέρμανση των πράσινων καρπών, οι οποίοι έπειτα εμβαπτίζονται συνήθως σε άλμη περιεκτικότητας 2% προκειμένου να συντηρηθούν. Εν τούτοις, υπάρχουν προβλήματα που έχει η συγκεκριμένη μέθοδος, με αποτέλεσμα να δημιουργούνται σπασμένοι καρποί που κάνουν την άλμη θολή. Αυτή η θόλωση αποφεύγεται εφαρμόζοντας κανονικές μεθόδους κονσερβοποίησης και προσθέτοντας μικρή ποσότητα ελαίου πιπεριού στην κονσέρβα πριν την σφράγιση της. Όταν συσκευάζεται σε φιάλες αποφεύγεται η διαδικασία της θέρμανσης, αλλά αυξάνεται η συγκέντρωση άλατος στην άλμη (15-20%), για την καλύτερη συντήρηση του προϊόντος.

Τέλος, άλλα προϊόντα του πιπεριού που διατίθενται στην αγορά, είναι το έλαιο και η ελαιορητίνη του (Nisha et al., 2009).

#### **1.4 ΣΥΣΤΑΤΙΚΑ ΚΑΙ ΚΛΑΣΜΑΤΑ ΤΟΥ ΠΙΠΕΡΙΟΥ**

Το πιπέρι περιέχει πολλά συστατικά από τα οποία το κυριότερο είναι το άμυλο που περιέχεται σε ποσοστά 35-40%. Άλλα συστατικά είναι οι ακατέργαστες ίνες (15-33%), οι πρωτεΐνες, το ασβέστιο (1-1,5%), ο σίδηρος (54-62 mg/g), η τέφρα (4,5-5%) και το λίπος (1,9-9%) (Nair, 2004 - Joy et al., 2002). Το λίπος αποτελείται από παλμιτικό,

ελαϊκό, λινελαϊκό και λινολενικό οξύ. Το λινελαϊκό είναι το πιο άφθονο (25-35%) και το λινολενικό το λιγότερο (8-19%) (Nair, 2004). Σημαντική είναι και η υγρασία η οποία σχετίζεται με το μικροβιακό φορτίο του προϊόντος.

Περιέχονται επίσης πολλές χημικές ενώσεις, όπως αμίδια, φλαβονοειδή, λιγνάνια, λακτάμες, εστέρες, τερπένια, στεροειδή, προπενυλοφαινόλες και αλκαλοειδή (De Morais et al., 2007).

Από την άλλη, τα κύρια κλάσματα του πιπεριού είναι το αιθέριο έλαιο και η ελαιορητίνη. Τα κύρια ποιοτικά χαρακτηριστικά του πιπεριού, το άρωμα και η καυτερή/πικάντικη γεύση του, οφείλονται, το μεν πρώτο στο αιθέριο έλαιο και το δε δεύτερο στις μη πτητικές ενώσεις της ελαιορητίνης (κυρίως στο αλκαλοειδές πιπερίνη) (Jagella et al., 1999 - Wilson, 2003 - Abbasi et al., 2010 - Nair, 2004 - Bagchi et al., 2003). Μόνον όταν το πιπέρι έχει ωραίο άρωμα και δυνατή γεύση, θεωρείται καλό. Το τελικό προϊόν θα πρέπει να περιέχει τουλάχιστον 1,5% αιθέριο έλαιο και 3% πιπερίνη. Γι' αυτόν το λόγο έχουν αναπτυχθεί διάφορα υβρίδια για μεγαλύτερες αποδόσεις στην σοδειά που ποικίλουν ως προς την σύσταση του προϊόντος και κυρίως στην περιεκτικότητα σε ελαιορητίνη και αιθέριο έλαιο (Ravindran, 2000).

#### **1.4.1 Υγρασία**

Ο προσδιορισμός της υγρασίας γίνεται με ξήρανση σε φούρνο ή με απόσταξη με τολουόλιο. Η τελευταία τεχνική προτιμάται, ειδικά όταν έχουμε υψηλή περιεκτικότητα σε αιθέρια έλαια, επειδή αποφεύγονται οι απώλειες τους (Wilson, 2003).

Η υψηλή υγρασία είναι δείκτης κακής αποθήκευσης και έχει ως αποτέλεσμα την ανάπτυξη μούχλας και βακτηρίων (Wilson, 2003). Πράγματι, το μαύρο πιπέρι μαστίζεται κυρίως από μύκητες, βακτήρια, ιούς και γενικά παθογόνους μικροοργανισμούς, οι οποίοι έχουν ως αποτέλεσμα μειωμένη παραγωγή, κακή ποιότητα προϊόντος και ενδεχομένως να οδηγήσουν στην εμφάνιση τοξινών, όπως οι αφλατοξίνες (Abbasi et al., 2010 - Wilson, 2003). Το πρόβλημα εντείνεται λόγω της υγροσκοπικής φύσης του πιπεριού, δηλαδή της ικανότητας του να απορροφά εύκολα υγρασία. Αυτός είναι ένας από τους σημαντικότερους κινδύνους που αντιμετωπίζουμε κατά την αποθήκευση του. Ένα τέτοιο πιπέρι όταν αποθηκεύεται χωρίς κάποια μέριμνα και από τη στιγμή που περιέχει σημαντικές ποσότητες αμύλου, θα αναπτύξει βακτήρια και μούχλα, με μεταγενέστερο τον κίνδυνο επιμόλυνσης από μυκοτοξίνες, ενώ είναι πιθανόν να έχουμε επιμόλυνση και από έντομα. Όλα αυτές οι βιολογικές επιμολύνσεις θα οδηγήσουν μοιραία σε απώλεια του αρώματος και σε δυσσομία (Nair, 2004 - Plessi, Bertelli, Miglietta, 2002).

Επίσης, ένα υψηλής υγρασίας πιπέρι μπορεί να αποτελέσει κίνδυνο και για τα τρόφιμα στα οποία έχει προστεθεί ως πρόσθετο. Η επιμόλυνση μπορεί να είναι μεγάλη και να φθάσει τους 105-108 μικροοργανισμούς ανά γραμμάριο τροφίμου. Η μόλυνση είναι πολύ πιθανή ιδιαίτερα όταν το τρόφιμο διατηρείται σε μέρος με υψηλή υγρασία και ελλιπή αερισμό. Για παράδειγμα, η σαλμονέλλα είναι ένα από τα κύρια παθογόνα βακτήρια που μπορεί να αναπτυχθούν (Plessi et al., 2002).

Οι εταιρείες που επεξεργάζονται και εμπορεύονται πιπέρι, προσπαθούν να εξαλείψουν τον κίνδυνο επιμόλυνσης, εφαρμόζοντας μεθόδους αποστείρωσης, όπως με ατμό (Nair, 2004 - Plessi et al., 2002).

Μία άλλη μέθοδος είναι με ακτινοβολία με ακτίνες X, που επιδρά στο DNA των βακτηρίων και μειώνει τον πληθυσμό τους κατά 90%. Το μειονέκτημα της είναι ότι επηρεάζεται η γεύση-οσμή, επειδή το αιθέριο έλαιο του πιπεριού είναι ευαίσθητο στην ακτινοβολία. Πιο συγκεκριμένα, τα περιεχόμενα τερπένια μπορεί να υποστούν μεταβολές στην θέση των διπλών δεσμών, προκαλώντας έτσι μείωση ή μεταβολή της γεύσης-οσμής του προϊόντος. Η Ευρωπαϊκή Ένωση με συγκεκριμένη οδηγία (1999/2/CE άρθρο 6), αναφέρει ότι όταν ένα τέτοιο προϊόν ακτινοβολείται, θα πρέπει να αναγράφεται σαφώς στην ετικέτα.

Υπάρχει και η χημική μέθοδος με τη χρήση εποξειδίου του αιθυλενίου ή του προπυλενίου (ethylene-propylene oxide), η οποία όμως αποφεύγεται λόγω των καρκινικών και τοξικών ιδιοτήτων των παραπάνω χημικών ενώσεων.

Γι' αυτούς τους λόγους, αυξάνεται τα τελευταία χρόνια η χρήση των μικροκυμάτων στα μπαχαρικά και ειδικά στο πιπέρι. Η αποτελεσματικότητά τους οφείλεται στην μεγάλη διεισδυτική ικανότητα στα τρόφιμα που έχουν χαμηλή περιεκτικότητα σε νερό (συνήθως 80-150g/kg). Αυτή η διείσδυση προκαλεί επίσης μια μέτρια και ομοιόμορφη θέρμανση, ενώ η υψηλότερη υγρασία που οφείλεται στους επιμολυντές έχει ως αποτέλεσμα υψηλότερη θέρμανση, η οποία γίνεται θανατηφόρα γι' αυτούς (Plessi et al., 2002).

#### **1.4.2 Αιθέριο έλαιο**

Ως αιθέριο έλαιο καλείται το προϊόν που παραλαμβάνεται από την απόσταξη με ατμό, με υδροαπόσταξη ή έκθλιψη (expression) - στην περίπτωση των εσπεριδοειδών - ενός φυτού ή ενός τμήματός του. Ο παραπάνω ορισμός έχει γενικευτεί σήμερα και χρησιμοποιείται για όλα τα παραλαμβανόμενα κλάσματα διαφόρων τεχνικών, τα οποία λανθασμένα κατατάσσονται ως αιθέρια έλαια. Γενικώς, είναι πιο σωστό να τα

αποκαλούμε πτητικά κλάσματα του φυτικού υποστρώματος και τον όρο αιθέρια έλαια να τον χρησιμοποιούμε ειδικά για δείγματα που παραλαμβάνονται με απόσταξη ή έκθλιψη (Bicchi, 2000).

Τα αιθέρια έλαια εκχυλίζονται από φυτά που αναπτύσσονται σε θερμές περιοχές του πλανήτη, όπως είναι η περιοχή της Μεσογείου και οι τροπικές χώρες και, σε συνθήκες περιβάλλοντος (20 - 30°C και 0,1 MPa), είναι υγρά και πτητικά (Bakkali, Averbek, Averbek, Idaomar, 2008 - Wilson, 2003 - Ferreira et al., 1993). Πρόκειται για διαυγείς και συνήθως άχρωμες, φυσικές και πολύπλοκες ενώσεις, που είναι διαλυτές σε λίπη και οργανικούς διαλύτες και με πυκνότητα, κατά κύριο λόγο, μικρότερη του νερού. Διακρίνονται για το δυνατό άρωμα τους και σχηματίζονται από τα αρωματικά φυτά ως δευτερογενείς μεταβολίτες. Η σύνθεση τους μπορεί να γίνει σε όλα τα τμήματα του φυτού, όπως τα άνθη, τα φύλλα, τους σπόρους, τα φρούτα, τις ρίζες, τον φλοιό, τον μίσχο και τα κλαδιά. Αποθηκεύονται σε κοιλότητες, πόρους και κύτταρα της επιδερμίδας και το τρίχωμα, όπου απαντώνται με τη μορφή σταγονιδίων (Bakkali et al., 2008 - Wilson, 2003).

Τα αιθέρια έλαια του μαύρου πιπεριού είναι αρκετά περίπλοκα φυσικά μείγματα που περιέχουν περισσότερες από 250 οργανικές ενώσεις, σε διαφορετικά ποσοστά, από τις οποίες ξεχωρίζουν δύο ή τρεις που απαντούν, συγκριτικά με τις υπόλοιπες, σε υψηλές συγκεντρώσεις (20-70%) (Ferreira et al., 1993 - Wilson, 2003 - Bakkali et al., 2008 - Jagella et al., 1999). Αυτά τα κύρια συστατικά καθορίζουν και τις βιολογικές ιδιότητες των αιθερίων ελαίων (Bakkali et al., 2008). Τα συστατικά του αιθερίου ελαίου μπορούν να ταξινομηθούν σε τέσσερις ομάδες (Ferreira et al., 1993 - Wilson, 2003 - Dos Santos et al., 2001):

- τους υδρογονάνθρακες (κυρίως τερπένια), που αποτελούν την μεγαλύτερη κατηγορία
- τις οξυγονούχες ενώσεις (αλκοόλες, εστέρες, αλδεΐδες, κετόνες κ.α.)
- τα αρωματικά (βενζολικά) παράγωγα και
- διάφορες άλλες ενώσεις που περιέχουν άζωτο ή θείο

Οι τρεις τελευταίες ομάδες αποτελούν την δευτερεύουσα κατηγορία ενώσεων, καθώς απαντώνται σε μικρότερες συγκεντρώσεις από την πρώτη και έχουν κοινό χαρακτηριστικό το χαμηλό μοριακό βάρος. Τα αρωματικά παράγωγα προέρχονται από τα φαινυλοπροπάνια και μπορεί να είναι αλδεΐδες (π.χ. κινναμαλδεΐδη), αλκοόλες (π.χ. αλκοόλη του κινναμικού οξέος), φαινόλες (π.χ. ευγενόλη), μεθοξυ-παράγωγα (π.χ. ελεμικίνη), μεθυλοδιοξυ-παράγωγα (π.χ. μυριστικίνη, σαφρόλη). Η βιοσύνθεση των αρωματικών παραγώγων συνήθως ακολουθεί διαφορετικά μονοπάτια από την αντίστοιχη

των τερπενίων, αλλά ορισμένες φορές μπορεί να ακολουθούν και το ίδιο (Bakkali et al., 2008). Τέλος, οι ενώσεις που περιέχουν άζωτο ή θείο είναι χαρακτηριστικοί δευτερογενείς μεταβολίτες για κάποια είδη ή γένη φυτών και, αν και απαντώνται σε μικρές συγκεντρώσεις, είναι υπεύθυνες για την χαρακτηριστική γεύση-οσμή του ελαίου (Ferreira et al., 1993 - Bakkali et al., 2008).

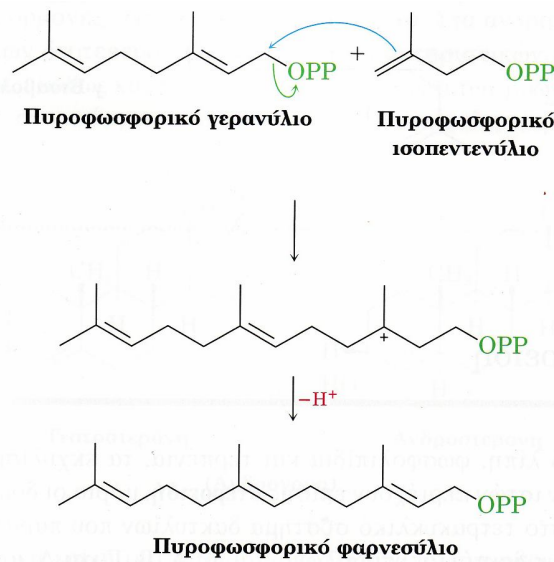
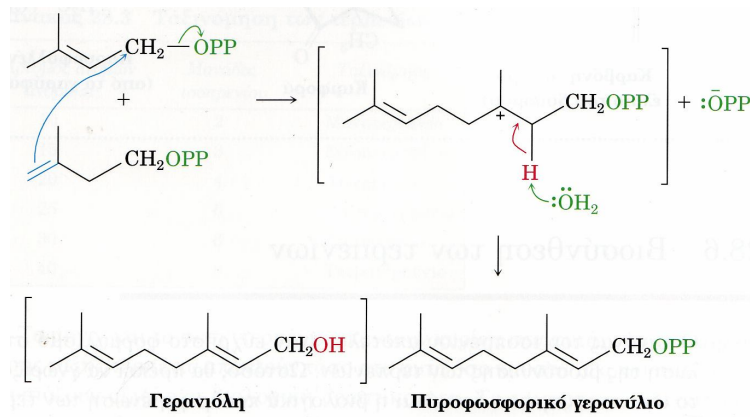
#### 1.4.2.1 Τερπένια

Τα τερπένια περιλαμβάνουν πλήθος ενώσεων που έχουν διαφορετικές δομές και λειτουργίες (McMurry, 2006). Τα μονοτερπένια ( $C_{10}$ ) και τα σεσκιτερπένια ( $C_{15}$ ) είναι τα κυριότερα, αλλά απαντώνται και τα ημι- ( $C_5$ ), δι- ( $C_{20}$ ), τρι- ( $C_{30}$ ) και τετρα-τερπένια ( $C_{40}$ ). Τα τερπένια που περιέχουν στο μόριο τους οξυγόνο ονομάζονται τερπενοειδή (Bakkali et al., 2008).

Τα μονοτερπένια μπορεί να θεωρηθεί ότι προκύπτουν από την ένωση δύο μονάδων ισοπρενίου, αλλά στην πράξη η βιοσύνθεση τους προκύπτει από το πυροφωσφορικό ισοπεντενύλιο και το πυροφωσφορικό διμεθυλαλλύλιο. Αυτά τα δύο μόρια προκύπτουν από την συμπύκνωση τριών μονάδων ακέτυλοCoA και μέσω μιας αντίδρασης υποκατάστασης μεταξύ τους, μας δίνουν το πυροφωσφορικό γερανύλιο που είναι η πρόδρομη ένωση των μονοτερπενίων (McMurry, 2006). Χαρακτηρίζονται από μια πληθώρα δομών ενώσεων, όπως υδρογονάνθρακες, αλκοόλες, αλδεΐδες, κετόνες, αιθέρες, εστέρες, υπεροξειδία και φαινόλες (Bakkali et al., 2008).

Πιν.1.3 Ταξινόμηση των τερπενίων (McMurry, 2006 - Bakkali et al., 2008)

Αριθμός ατόμων άνθρακα	Μονάδες ισοπρενίου	Ταξινόμηση
5	1	Ημιτερπένια
10	2	Μονοτερπένιο
15	3	Σεσκιτερπένιο
20	4	Διτερπένιο
25	5	Σεστερτερπένιο
30	6	Τριτερπένιο
40	8	Τετρατερπένιο



Σχ.1.2 Βιοσύνθεση τερπενίων (McMurry, 2006)

Τα σεσκιτερπένια με τη σειρά τους μπορεί να θεωρηθεί ότι σχηματίζονται από την ένωση τριών μονάδων ισοπρενίου, αλλά στην πράξη προκύπτουν με περαιτέρω αντίδραση του πυροφωσφορικού γερανυλίου με πυροφωσφορικό ισοπεντενύλιο που οδηγεί στον σχηματισμό πυροφωσφορικού φαρνεσυλίου, την πρόδρομη δηλαδή ένωση των σεσκιτερπενίων (McMurry, 2006). Τόσο οι δομές όσο και οι ιδιότητες τους, είναι παρόμοιες με αυτές των μονοτερπενίων. Βέβαια μεγαλύτερη αλυσίδα σημαίνει και μεγαλύτερη ποικιλία δομών και μπορεί να είναι υδρογονάνθρακες, κετόνες, αλκοόλες και εποξειδία (Bakkali et al., 2008).

Η περιεκτικότητα και η σύσταση του αιθερίου ελαίου εξαρτάται από πολλούς παράγοντες. Ποικίλει ανάλογα με το είδος και την ηλικία του φυτού, την γεωγραφική προέλευση, τις περιβαλλοντικές συνθήκες, την χρονιά συγκομιδής, το στάδιο ωρίμανσης,

τη διαδικασία συλλογής και παραλαβής του πιπεριού και την περαιτέρω επεξεργασία του (π.χ. εφαρμογή άλεσης, διαδικασία απόσταξης κ.α.) (Schulz et al., 2005 - Wilson, 2003).

Πιν.1.4 Συσχέτισμός ωριμότητας των καρπών – περιεκτικότητας σε αιθέριο έλαιο και πιπερίνη, σε δύο ποικιλίες του *P. nigrum* (Panniyur-1 και Karimunda) (Nair, 2004)

Ποικιλία	Panniyur-1					Karimunda				
Μήνες μετά την συγκομιδή	3,0	4,5	5,5	6,5	7,5	3,0	4,5	5,5	6,5	7,0
Αιθ. έλαιο (%)	6,4	7,6	6,3	2,8	2,0	6,8	10,4	8,2	4,4	3,6
Πιπερίνη (%)	1,9	2,6	2,7	3,1	3,5	1,9	2,4	2,4	3,1	3,1

#### 1.4.2.2 Σύσταση αιθερίου ελαίου και άρωμα

Η σύσταση του αιθερίου ελαίου θεωρείται πιο σημαντική από την περιεκτικότητα του, καθώς έχουν γίνει προσπάθειες να συσχετισθεί η πρώτη με τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά του πιπεριού (Wilson, 2003 - Ravindran, 2000). Πράγματι, έχουν γίνει έρευνες για να συσχετισθεί η σύσταση του ελαίου με την οσμή και να διαχωρισθούν τα συστατικά που συνεισφέρουν στην σε αυτή, από αυτά που συνεισφέρουν λίγο ή και καθόλου (Nair, 2004 - Jagella et al., 1999). Να σημειωθεί ότι το άρωμα και η γεύση-οσμή του μαύρου πιπεριού δεν είναι πάντα ευχάριστα. Μπορεί να δίνουν την αίσθηση της μούχλας, του μπαγιάτικου ή, ακόμα χειρότερα, την ελαφριά αίσθηση κοπράνων και ούρων (Jagella et al., 1999).

Το βέλτιστο άρωμα λαμβάνεται όταν η περιεκτικότητα των μονοτερπενίων (εκτός των α- και β-πινενίου) είναι υψηλή και ταυτόχρονα η αντίστοιχη των α- και β-πινενίου χαμηλή. Γενικά η «πιπεράτη» γεύση οφείλεται στα μονοτερπένια, η οσμή στα σεσκιτερπένια, ενώ οι μικρές συγκεντρώσεις των οξυγονούχων σεσκιτερπενίων είναι υπεύθυνες για το χαρακτηριστικό άρωμα (Schulz et al., 2005 - Nair, 2004). Η γεύση-οσμή του πιπεριού περιγράφεται ως φρέσκια, ξηρή-ξυλώδης, ζεστή-πικάντικη και όμοια με του σπυριού του μαύρου πιπεριού. Η άμεση όσφρηση των κλασμάτων του αιθερίου ελαίου κατά την έξοδο τους από τη χρωματογραφική στήλη (sniffing), είχε ως αποτέλεσμα την κατάταξη τους σε τρεις κατηγορίες. Το πρώτο κλάσμα χαρακτηρίζεται ως πιπερώδες, με



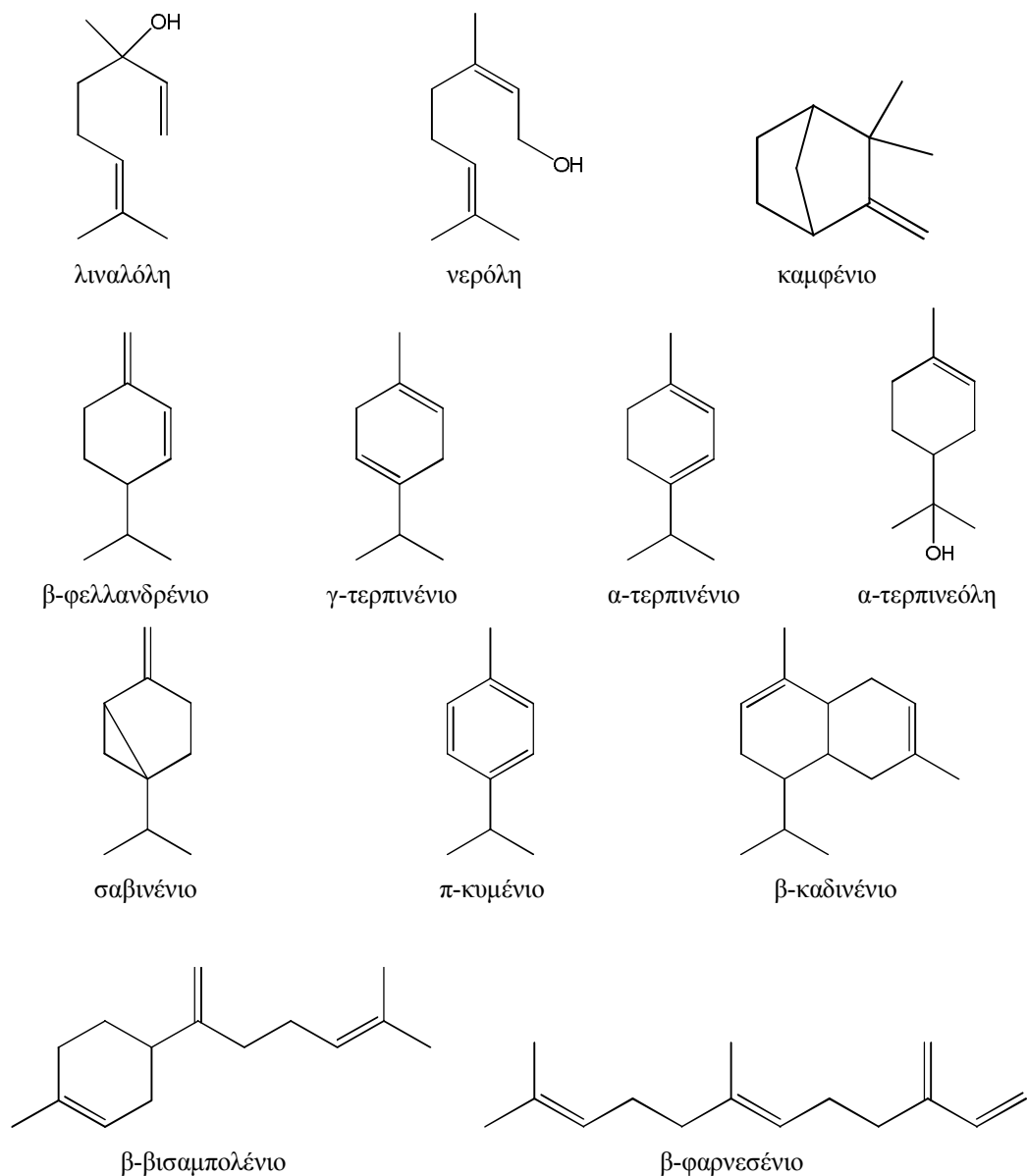
την αίσθηση άνθου, το τρίτο ως πιπερώδες, φρέσκο και ξυλώδες, ενώ το δεύτερο χαρακτηρίζεται ως κάτι ανάμεσα στα δύο προηγούμενα (Nair, 2004).

Σύμφωνα με τους Jirovetz et al. (2002) υπεύθυνα για το άρωμα του μαύρου πιπεριού είναι: το σαβινένιο, το β-πινένιο, το α-φελλανδρένιο, το λεμονένιο, η ισοβορνεόλη, το β-καρυοφυλλένιο, το α-γουαϊένιο, το α-καρυοφυλλένιο, το γερμακρένιο-D, η ελεμικίνη, το καλαμενένιο (calamenene), η αλκοόλη του καρυοφυλλενίου, η ισοελεμικίνη, η T-μουουρολόλη (T-muurolool), η κουβενόλη και η βουλνεσόλη (bulnesol). Οι Jagella et al. (1999) αναφέρουν ότι τα πλέον «οσμηρά» συστατικά του μαύρου πιπεριού είναι η λιναλόλη, το μυρκένιο, το α-φελλανδρένιο και το λεμονένιο που προσδίδουν την οσμή άνθου (floral) και εσπεριδοειδούς (citruslike). Συμπληρώνουν επίσης, ότι στο άρωμα συνεισφέρουν και συστατικά που βρίσκονται σε μικρότερες συγκεντρώσεις, όπως η 3-μεθυλοβουτανάλη και η μεθυλοπροπανάλη, οι οποίες μάλλον είναι υπεύθυνες για την αίσθηση βύνης (malty note).

Τα πινένια προσδίδουν μία οσμή τερεβινθίνης-ευκαλύπτου και τα υπόλοιπα μονοτερπένια φρέσκιας πευκοβελόνας (Schulz et al., 2005). Η αίσθηση πινενίου και λεμονενίου που συνήθως υπάρχει στα πιπέρια, οφείλεται στις υψηλές συγκεντρώσεις αυτών των συστατικών στο αιθέριο έλαιο τους (Jirovetz et al., 2002).

Όταν το μόριο κάποιου συστατικού είναι οπτικώς ενεργό, κάποια από τις δύο εναντιομερείς μορφές ενδεχομένως να υπερισχύει της άλλης (π.χ. α- και β-πινένιο), ενώ σε ορισμένες περιπτώσεις υπερισχύει η ρακεμική μορφή (π.χ. λεμονένιο) (Bakkali et al., 2008). Στο α- και β-πινένιο, το σαβινένιο και το α-φελλανδρένιο, ο ένας από τους δύο αντίποδες υπερισχύει του άλλου. Το S-α-φελλανδρένιο έχει ταυτοποιηθεί ότι είναι το υπεύθυνο για την οσμή άνθου στο πιπέρι. Αντιθέτως, ο R αντίποδας, που αντιπροσωπεύει το 10% του α-φελλανδρενίου, μυρίζει σαν τερπένιο και φάρμακο. Το λεμονένιο και η λιναλόλη βρίσκονται σχεδόν σε ρακεμική μορφή στο φρέσκο πιπέρι, ενώ στο μαγαιάτικο υπερισχύνουν οι (-) αντίποδες (Jagella et al., 1999).

Οι επεξεργασίες που υφίσταται το λευκό ή μαύρο πιπέρι, όπως η άλεση ενδεχομένως να επηρεάσει το αιθέριο έλαιο και να μεταβάλλει το άρωμα. Επίσης, η αποθήκευση του τριμμένου πιπεριού για 30 ημέρες σε θερμοκρασία δωματίου, οδηγεί σε απώλειες α-πινενίου, λεμονενίου και 3-μεθυλο-βουτανάλης, με αποτέλεσμα την μείωση της πιπερώδους αίσθησης. Όσον αφορά την επίδραση του μαγειρέματος, πειράματα που έγιναν σε σπόρους πιπεριού (peppercorns) σε συνθήκες προσομοίωσης του ψησίματος, έδειξαν ότι δεν επηρεάζεται η περιεκτικότητα σε αιθέριο έλαιο, ενώ το άρωμα μάλλον βελτιώνεται. Η βελτίωση του αρώματος μπορεί να αποδοθεί στην μεταβολή των συγκεντρώσεων ορισμένων κύριων συστατικών του αιθερίου ελαίου (Nisha et al., 2009).



Σχ.1.3 Ορισμένα μονοτερπένια και σεσκιτερπένια

### 1.4.3 Ελαιορητήνη - Πιπερίνη

Η ελαιορητήνη (oleoresin), η οποία έχει σημαντική εμπορική αξία, προκύπτει μετά από την εκχύλιση των αποξηραμένων καρπών με κάποιον διαλύτη (Nair, 2004). Μπορεί να είναι υγρή, στερεή ή ακόμα και σε ενδιάμεση κατάσταση και περιέχει πτητικά και μη έλαια, χρωστικές, φυσικά αντιοξειδωτικά, καυτερά συστατικά, ενώ δεν αποκλείεται να περιέχει και ποσότητα διαλύτη (Wilson, 2003). Από τα εκχυλίσματα του *Piper nigrum*

έχουν παραληφθεί πολλές ενώσεις όπως αλκαλοειδή, αμίδια, λιγνάνια (lignans), νεολιγνάνια, τερπενοειδή, στεροειδή, χαλκόνες κ.α. (Abbasi et al., 2010). Η χρήση της ελαιορητίνης κερδίζει έδαφος στην έρευνα λόγω του υψηλής ποιότητας αρώματος της, της χαμηλής μικροβιακής επιμόλυνσης, καθώς και για οικονομικούς λόγους (Singh, Marimuthu, Catalan, deLampasona, 2004). Τα κύρια πλεονεκτήματα της ελαιορητίνης είναι η ομοιογενής σύνθεση και η αντοχή της. Επιμολυντές, όπως είναι οι μύκητες, δεν αναπτύσσονται και η ελαιορητίνη μπορεί να προστεθεί άμεσα στα τρόφιμα (Nair, 2004).

Η ελαιορητίνη, που η συγκέντρωση της στο πιπέρι φθάνει το 10% περίπου, περιέχει τα αλκαλοειδή (όπως η πιπερίνη), η συγκέντρωση των οποίων κυμαίνεται μεταξύ 4 - 5% και είναι υπεύθυνα για την καυστική γεύση του πιπεριού (Εκπαιδευτική Ελληνική Εγκυκλοπαίδεια, 1983 - Samuelsson, 2004 - Abbasi et al., 2010 - [www.allianceingredients.com](http://www.allianceingredients.com)). Όταν οι καρποί του πιπεριού βρίσκονται λίγο πριν την ωρίμανση, ενδεχομένως να είναι ελαφρώς ρυτιδιασμένοι λόγω της ανωριμότητας τους, κάτι που καθιστά ιδανικές τις συνθήκες για την εξαγωγή της ελαιορητίνης και να παραλάβουμε περισσότερη πιπερίνη. Η περιεκτικότητα της ελαιορητίνης σε πιπερίνη είναι πιο σημαντική από το άρωμα (Nair, 2004).

Η πιπερίνη (E,E-πιπερυλο-N-πιπεριδίνη - E,E-piperoyl-N-piperidine) είναι το κύριο αλκαλοειδές, αφού αντιπροσωπεύει το 50% των μη πτητικών συστατικών του παραλαμβανομένου με αιθέρα εκχυλίσματος του μαύρου πιπεριού (Ιγνατιάδου-Ραγκούση, 2009 - Samuelsson, 2004 - Schulz et al., 2005 - Baranska, Schulz, 2009 - Barceloux, 2009).

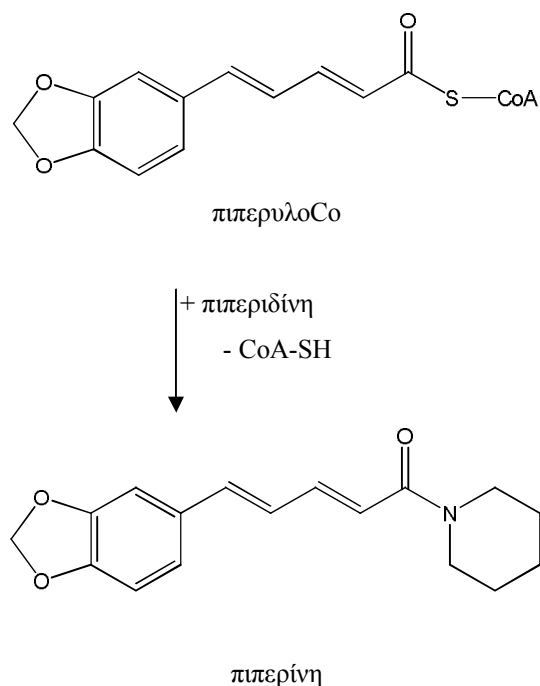
Είναι το πρώτο συστατικό που απομονώθηκε από τα γένη των πιπερίδων, με δομή παρόμοια με την σαφρόλη, την εστραγόλη και την μεθυλενογενόλη (methylenegenol), ενώσεις που απαντώνται ευρέως στα μπαχαρικά. Η συγκέντρωση της ποικίλει στα διάφορα είδη πιπεριού και στο μαύρο και το λευκό πιπέρι περιέχεται σε ποσοστά της τάξης του 2-8% (Abbasi et al., 2010 - Ravindran, 2000 - Schulz et al., 2005 - Baranska et al., 2009). Φαίνεται να επικρατεί μία σύγχυση όσον αφορά την κατανομή της πιπερίνης στον καρπό του πιπεριού. Για παράδειγμα, οι Bagchi et al. (2003) υποστηρίζουν ότι το λευκό πιπέρι έχει ελαφρώς υψηλότερη περιεκτικότητα σε πιπερίνη επειδή η τελευταία συγκεντρώνεται στο ενδοσπέρμιο (στο κέντρο) των καρπών, ενώ αντιθέτως, οι Baranska et al. (2009) αναφέρουν ότι κατανέμεται σε όλο το περισπέρμιο του καρπού του πιπεριού και στο ενδοσπέρμιο περιέχεται σε χαμηλά ποσοστά



Εικ.1.7 Κρύσταλλοι πιπερίνης (en.wikipedia.org)

Πρόκειται για μια κίτρινη κρυσταλλική ένωση, που από χημικής άποψης είναι το *trans* αμίδιο της πιπεριδίνης με το πιπερικό οξύ (2-*trans*, 4-*trans* αμίδιο του πιπερικού οξέος), που άλλωστε είναι και τα προϊόντα της υδρόλυσης της (Nair, 2004 - Ιγνατιάδου-Ραγκούση, 2009 - Joy et al., 2002). Το εκχύλισμα της πιπερίνης είναι κίτρινο προς το πράσινο, είναι διαλυτό στην αλκοόλη και το χλωροφόρμιο, και σχεδόν αδιάλυτο στο νερό ([www.allianceingredients.com](http://www.allianceingredients.com)). Παλαιότερα, οι ερευνητές πίστευαν ότι για την καυτή γεύση δεν ευθύνεται μόνον η πιπερίνη, αλλά και μια σκούρα ελαιώδης ρητίνη που ονομάστηκε χαβικίνη (*chavicine*) και η οποία προκύπτει μετά την απομάκρυνση της πιπερίνης από την ελαιορητίνη. Αφήνει έναν οξύ ερεθισμό στην γλώσσα, και αρχικά θεωρήθηκε ότι ήταν πιο καυτή από την πιπερίνη. Τελικά όμως αποδείχθηκε ότι όντως η πιπερίνη είναι πιο καυτή και ότι η χαβικίνη δεν είναι τίποτα άλλο παρά ένα μείγμα της πιπερίνης με άλλα μικρότερης συγκέντρωσης αλκαλοειδή (Nair, 2004).

Από τα τέλη της δεκαετίας του 1960 είχε θεωρηθεί ότι η πιπερίνη προκύπτει από την συμπύκνωση (*condensation*) της *n*-ετεροκυκλικής πιπεριδίνης με τον θειοεστέρα του πιπερυλοCoA. Η εκδοχή αυτή ενισχύθηκε από την διαπίστωση ότι οι βλαστοί του *P. nigrum* αποτελούν μία πηγή ενζύμων, καθώς είναι ικανοί να σχηματίσουν πιπερίνη. Το πιπερυλοCoA σχετίζεται με μια ποικιλία ενώσεων που δομικώς είναι παρόμοιες της πιπεριδίνης, και συγκεκριμένα με την πυρρολιδίνη. Το ένζυμο καταλύει την βιοσύνθεση της πιπερυλίνης (*piregylin*- πιπερυλο-πυρρολιδίνης -*pireroyl pyrrolidine*), που είναι ένα ανάλογο της πιπερίνης και αναγνωρίζεται ως ένα συστατικό του *P. nigrum* (Parthasarathy, Sasikumar, Nair, George, 2007). Η απόδειξη τελικά της υπόθεσης έγινε από τους Geisler, Gross (1990), όπου μετά από πείραμα υπό συγκεκριμένες συνθήκες, ταυτοποίησαν με HPLC ότι το προϊόν της αντίδρασης είναι όντως η πιπερίνη.



Σχ.1.4 Βιοσύνθεση πιπερίνης (Geisler et al., 1990)

Υπάρχουν αντικρουόμενες αναφορές σχετικά με την επίδραση της θέρμανσης στην σταθερότητα της πιπερίνης, κατά την διάρκεια του μαγειρέματος. Κάποια πειράματα έδειξαν ότι δεν επηρεάζεται η περιεκτικότητα της πιπερίνης με τη θερμική επεξεργασία, ενώ κάποια άλλα ότι υφίσταται μείωση. Παραδοσιακά πάντως, η προσθήκη του πιπεριού γίνεται στο τέλος του μαγειρέματος, ούτως ώστε να αποφευχθεί η απώλεια στο άρωμα και την καυτή γεύση. (Nisha et al., 2009).

Έκτος της πιπερίνης, πολλά παρόμοιας δομής αμίδια έχουν βρεθεί στον καρπό του πιπεριού, όπως η πιπεριτίνη, η πιπεριλύνη, η πιπερελαΐνη A και B, η πιπερανίνη, το ρετροφρακταμίδιο A (retrofractamide A), η πιπεροκτόνη (pipericide) κ.α. (Li, Zhang, Wang, Huong, Cao, 2004 - Parthasarathy, et al., 2007 - [www.allianceingredients.com](http://www.allianceingredients.com)). Σε γενικές γραμμές όμως, απαντώνται σε μικρές συγκεντρώσεις. Για παράδειγμα, η πιπεριλύνη και η πιπεριτίνη βρίσκονται σε ποσοστά 0,2 - 0,3 και 0,2 - 1,6 % αντιστοίχως (Schulz et al., 2005).

## 1.5 ΙΔΙΟΤΗΤΕΣ - ΕΦΑΡΜΟΓΕΣ

### 1.5.1 Ιδιότητες αιθερίων ελαίων

Πολλών φυτών τα αιθέρια έλαια και τα εκχυλίσματα έχουν γίνει εξαιρετικά δημοφιλή τα τελευταία χρόνια και γίνονται προσπάθειες να διερευνηθούν οι βιολογικές δράσεις τους, προκειμένου αυτές να βρουν εφαρμογή σε τομείς όπως τα φάρμακα και τα τρόφιμα (Singh et al., 2004). Ήδη αποτελούν ένα σημαντικό τμήμα της παραδοσιακής φαρμακευτικής και από τα 3000 αιθέρια έλαια που είναι σήμερα γνωστά, τα 300 είναι εμπορικώς σημαντικά στην φαρμακευτική, την γεωπονία, τα τρόφιμα, την αρωματοποιία και τα καλλυντικά (Bakkali et al., 2008).

Είναι συστατικά όλων των μπαχαρικών, αλλά αυτά του πιπεριού ξεχωρίζουν, καθώς είναι τα σημαντικότερα, με αντισηπτικές, αντιβακτηριακές, αντιϊκές, αντιμυκητιακές και φαρμακευτικές ιδιότητες. Η θετική δράση τους αποδίδεται στα περιεχόμενα τερπενοειδή (Nair, 2004).

Η χρησιμότητα τους στα φυτά, δεν έχει ακόμα αποσαφηνισθεί (Wilson, 2003). Φαίνεται πάντως να παίζουν σημαντικό ρόλο στην προστασία των φυτών από τα βακτήρια, τους ιούς, τους μύκητες, τα παράσιτα, και τα φυτοφάγα ζώα περιορίζοντας την όρεξη τους για τα συγκεκριμένα φυτά. Όσον αφορά τα έντομα ενδεχομένως να απωθούν ορισμένα, ενώ μπορεί να προσελκύουν κάποια άλλα για την επικονίαση και την διασπορά των σπόρων (Bakkali et al., 2008 - Wilson, 2003).

Χαρακτηριστικό γνώρισμα είναι το άρωμα τους το οποίο προσδίδουν στο εκάστοτε προϊόν. Χρησιμοποιούνται στην ταρίχευση, ενώ λόγω των θεραπευτικών ιδιοτήτων τους χρησιμοποιούνται ως φυσικά θεραπευτικά και φαρμακευτικά. Επίσης, βρίσκουν εφαρμογή στα τρόφιμα ως πρόσθετα και συντηρητικά, αφού βελτιώνουν την σταθερότητα του προϊόντος κατά την αποθήκευση (Bakkali et al., 2008 - Singh et al., 2004 - Schulz, Quilitzsch, Krüger, 2003). Τέλος, αποτελούν βασικό τμήμα της βιομηχανίας των αποσμητικών, των αρωμάτων και των φυτοφαρμάκων (Schulz et al., 2003).

Για παράδειγμα, το β-καρνοφυλλένιο έχει αναισθητικές ιδιότητες, ενώ η νερολιδόλη (nerolidol) επηρεάζει τα ακάρεα (Abbasi et al., 2010). Το δ-λεμονένιο και η οξεική γερανιόλη (geranyl acetate) ή η δ-καρβόνη χρησιμοποιούνται στην αρωματοποιία, τις κρέμες, τα σαπούνια, στα τρόφιμα ως πρόσθετα, ως αρώματα σε καθαριστικά και ως βιομηχανικοί διαλύτες. Επίσης χρησιμοποιούνται σε προϊόντα μάνιου και αρκετά συχνά στην αρωματοθεραπεία (Bakkali et al., 2008).

Τα συστατικά του αιθερίου ελαίου δρουν κατά της καρκινογένεσης, αφού παρεμποδίζουν την μετάλλαξη του DNA και διασφαλίζουν την σταθερότητα του (Nair, 2004).

Ορισμένα χρησιμοποιούνται ως συμπληρωματικά ή εναλλακτικά των συνθετικών προϊόντων, χωρίς να παρουσιάζουν τις αντίστοιχες παρενέργειες (Bakkali et al., 2008). Έτσι μία εναλλακτική στα συνθετικά χημικά προϊόντα είναι η χρήση φυσικών προϊόντων από φυτά και αιθέρια έλαια. Πολλά συστατικά αιθερίων ελαίων όπως η Ε-νερολιδόλη, η Ε,Ε-φαρνεσόλη, η κινναμαλδεΐδη, η ευγενόλη, η σαφρόλη, το α- και β-πινένιο και η θυμόλη, θεωρούνται χρήσιμα για την αντιμετώπιση του Δάγκειου πυρετού (De Morais et al., 2007).

Μεγάλος αριθμός αιθερίων ελαίων έχει ταξινομηθεί από τον ISO και η ποιότητα τους καθορίζεται από τους διάφορους κώδικες τροφίμων (π.χ. ο Χημικός Κώδικας των Τροφίμων - Food Chemical Codex) και φαρμακευτικούς εθνικούς οργανισμούς (Schulz et al., 2003).

Η καλύτερη κατανόηση της βιολογικής δράσης τους θα έχει ως αποτέλεσμα καινούριες εφαρμογές στην υγεία, στον αγροτικό τομέα και το περιβάλλον (Bakkali et al., 2008).

### **1.5.2 Ιδιότητες ελαιορητίνης και πιπερίνης**

Είναι δεδομένο πλέον από τους επιστήμονες ότι οι δευτερογενείς μεταβολίτες παίζουν κυρίαρχο ρόλο στην άμυνα των φυτών απέναντι στα μικρόβια, τα έντομα και τα ζώα (De Morais et al., 2007 - Abbasi et al., 2010). Ανάμεσα στα φυτά που έχουν εξετασθεί είναι και αυτά της οικογένειας των πιπερίδων, τα οποία χρησιμοποιούνται παραδοσιακά ως εντομοκτόνα (Awoyinka, Oyewole, Amos, Onasoga, 2006).

Το πιπέρι με τα συστατικά που περιέχει τόσο στο αιθέριο έλαιο όσο και στα εκχυλίσματα του, αποτελεί σημαντική πηγή μεταβολιτών με απεντομοτωτικές ιδιότητες σε όλα τα στάδια ανάπτυξης των εντόμων (Awoyinka et al., 2006 - De Morais et al., 2007 - Nair, 2004).

Τα αιθανολικά εκχυλίσματα που παρελήφθησαν από είδη πιπεριών, όπως τα *P. longum* L., *P. ribesoides*, and *P. sarmentosum*, εξετάστηκαν ως προς την ικανότητα τους να καταπολεμούν τις προνύμφες κουνουπιών, με το εκχύλισμα του *P. longum* να παρουσιάζει τα καλύτερα αποτελέσματα (De Morais et al., 2007).

Έχουν γίνει προσπάθειες να καταγραφεί η δράση των μεταβολιτών ως προς τις αντιμικροβιακές ιδιότητες τους. Παρά το γεγονός ότι και το αιθέριο έλαιο και τα παραλαμβανόμενα με ακετόνη εκχυλίσματα του πιπεριού έχουν ισχυρή αντιοξειδωτική δράση και αντιμικροβιακές ιδιότητες, εν τούτοις παρουσιάζουν διαφορετική αντιοξειδωτική ικανότητα σε διαφορετικούς μικροοργανισμούς, ίσως λόγω του συνεργιστικής δράσης των πολικών και μη πολικών συστατικών. Έτσι το αιθέριο έλαιο είναι 100% αποτελεσματικό ενάντια στην ανάπτυξη ορισμένων μικροοργανισμών, ενώ τα εκχυλίσματα δεν είναι, και σε άλλους μικροοργανισμούς ισχύει το αντίστροφο (Singh et al., 2004).

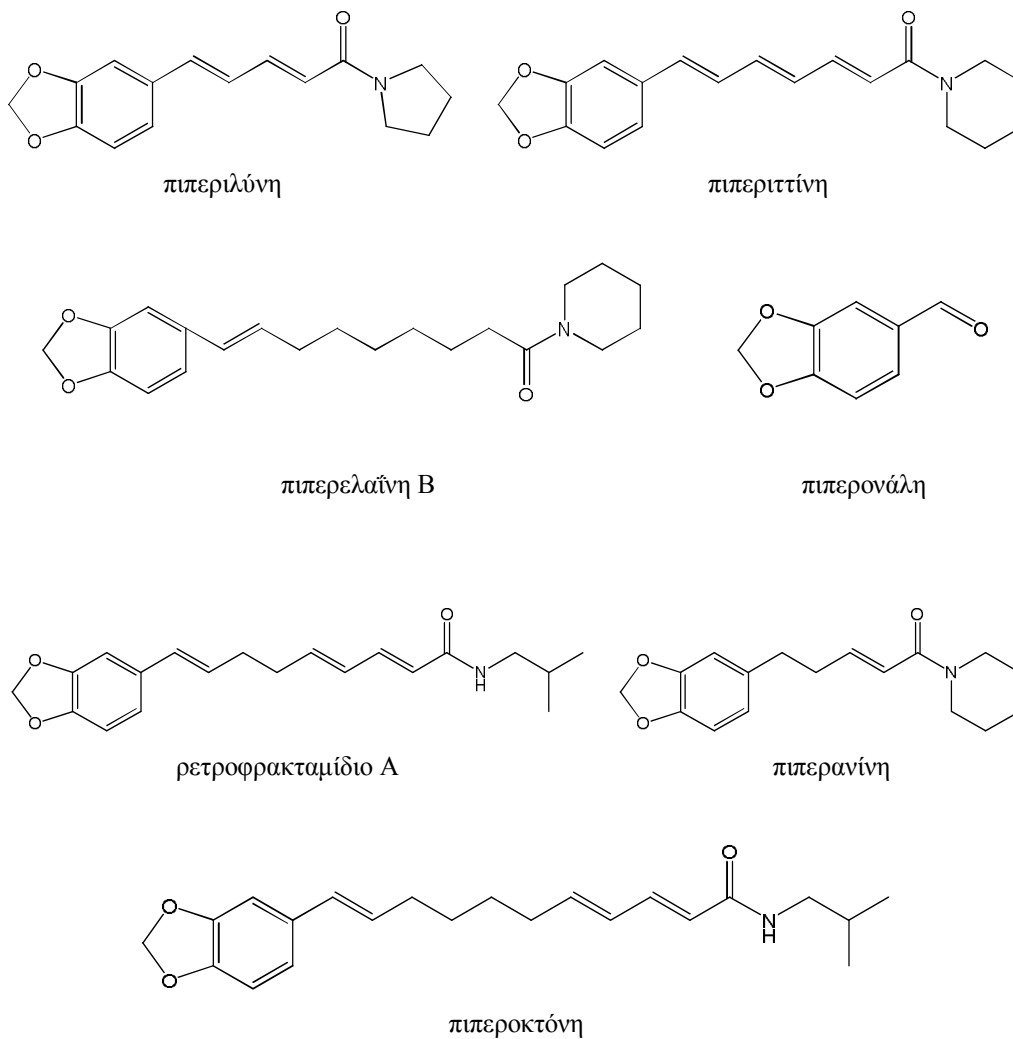
Αν και το τοπίο σχετικά με τις εντομοκτόνες και εντομοαπωθητικές ενώσεις του πιπεριού είναι θολό, έχει αποδειχθεί ότι τα πιπεραμίδια που απομονώνονται από τον καρπό του *Piper nigrum* έχουν ιδιότητες κατά των νυμφών των εντόμων. Έχουν γίνει έρευνες που έδειξαν ότι συνεισφέρουν σε αυτήν την δράση συστατικά, όπως η πιπερίνη, η πιπεριτίνη, η τρικοστακίνη (tricostacine), η πιπλαρτίνη (riplartin), η τριχωνίνη (trichonine), το ρετροφρακταμίδιο Α, η πιπεροκτόνη, η διυδρο-πιπεροκτόνη (dihydropipericide), η πιπερονάλη, η πιπεριλύνη, η πελλιτορίνη κ.α. (Awoyinka et al., 2006 - De Morais et al., 2007 - Abbasi et al., 2010). Οι παραπάνω ενώσεις είναι τοξικές σε προνύμφες εντόμων όπως οι μύγες, οι ψείρες, οι κατσαρίδες, τα σκαθάρια κ.α. (Awoyinka et al., 2006 - Nair, 2004).

Μελετώντας την δομή των ισοβουτυλαμιδίων, όπως το ρετροφρακταμίδιο Α και η πιπεροκτόνη, φαίνεται ότι το τμήμα (moiety) της n-ισοβουτυλαμίνης παίζει σημαντικό ρόλο σε αυτές τις ιδιότητες (De Morais et al., 2007).

Το κύριο ενεργό αλκαλοειδές, η πιπερίνη, είναι τοξικότερη από την πυρεθρίνη, ένα εντομοκτόνο που χρησιμοποιείται κατά κόρον κατά των οικιακών μυγών και γι' αυτό χρησιμοποιείται ως εντομοκτόνο κατά των αλογόμυγων (Nair, 2004 – [www.allianceingredients.com](http://www.allianceingredients.com)). Οι ιδιότητες αυτές εμφανίζονται ακόμα και σε χαμηλές συγκεντρώσεις (Nair, 2004). Εκχύλισμα διχλωροαιθανίου που περιείχε πιπερίνη από το φυτό του πιπεριού έδειξε εντομοκτόνο δράση που ήταν ανάλογη της συγκέντρωσης και του χρόνου έκθεσης (Awoyinka et al., 2006). Αυτός ο τομέας χρειάζεται περαιτέρω διερεύνηση για να αποκτήσουμε θετικές εφαρμογές (Nair, 2004).

Το κύριο πλεονέκτημα στην χρήση φυτικής προέλευσης εντομοκτόνων στην γεωργία είναι ότι, σε αντίθεση με τα περισσότερα χημικά εντομοκτόνα που απαντώνται στο εμπόριο, το προϊόν είναι τοξικό για τα έντομα, αλλά δεν είναι τοξικό για τους ανθρώπους, συμπεριλαμβανομένων και αυτών που το μεταχειρίζονται στους αγρούς (Nair, 2004).





Σχ.1.5 Ορισμένα αλκαλοειδή του πιπεριού

Η πιπερίνη του μαύρου πιπεριού παρουσιάζει και ποικίλη φαρμακευτική δράση. Έχει παυσίπνες, αντιφλεγμονώδεις και αντιπυρετικές ιδιότητες, ενώ προσφάτως έχει αναφερθεί ότι αυξάνει την βιο-διαθεσιμότητα (bioavailability) άλλων φαρμακευτικών ενώσεων και όταν καταναλώνεται μαζί με φάρμακα αυξάνει την αποτελεσματικότητά τους (Nisha et al., 2009 - [www.allianceingredients.com](http://www.allianceingredients.com) - Ravindran, 2000 - Bajad, Singla, Bedi, 2002 - Joy et al., 2002).

Επίσης χρησιμοποιείται για το «κόψιμο» του καπνίσματος, καθώς έρευνες έχουν δείξει ότι τα πτητικά εκχυλίσματα του πιπεριού είναι αποτελεσματικά στην θεραπεία κατά του τσιγάρου. Τα υποκατάστατα τσιγάρου από πτητικά συστατικά του πιπεριού ανακουφίζουν τα συμπτώματα στέρησης (Nair, 2004).

Τόσο το πιπέρι όσο και η πιπερίνη δεν παρουσιάζουν ηπατοτοξικές ιδιότητες. Αντιθέτως φαίνεται ότι η πιπερίνη έχει προστατευτική επίδραση στα ένζυμα του ήπατος και έχει δείξει θετικά αποτελέσματα όσον αφορά τις μεταλλάξεις και τις καρκινογένεσεις (Ravindran, 2000 - [www.allianceingredients.com](http://www.allianceingredients.com)). Τέλος, χρησιμοποιείται και ως πρόσθετο για τη βελτίωση της οσμής και της γεύσης σε προϊόντα όπως είναι το μπράντυ ([www.allianceingredients.com](http://www.allianceingredients.com)).

Οι αντιοξειδωτικές ιδιότητες όχι μόνο της πιπερίνης, αλλά και των άλλων ακόρεστων αμιδίων παίζουν έναν προστατευτικό ρόλο απέναντι στην καρκινογένεση. Αυτά τα συστατικά είναι επίσης γνωστά για την μετατροπή των n-νιτροζο-ενώσεων (n-nitroso compounds) σε όξινες συνθήκες και συμπεριφέρονται ως καρκινογενετικά. Εν τούτοις, η παρουσία συζυγών ακόρεστων συστημάτων στα φαινολικά αμιδία παρεμποδίζει την, σε μεγάλο βαθμό, οξείδωση του αζώτου των αμιδίων προς n-νιτροζο-ενώσεις (Nair, 2004). Η αντιοξειδωτική δράση τους είναι ανώτερη από συνθετικές ενώσεις όπως τα BHT και BHA (Ravindran, 2000).

### **1.5.3 Ιδιότητες πιπεριού**

Στις μέρες μας, το μαύρο πιπέρι, όπως και άλλα φυτά της οικογένειας των Πιπερίδων, έχει μελετηθεί λόγω της παρουσίας συστατικών με σημαντικές βιολογικές και φαρμακευτικές ιδιότητες (Peres et al., 2006).

Η χρήση του συσχετίζεται με μια σειρά λειτουργικών ιδιοτήτων, όπως παυσίπονες, αντιπυρετικές, αντισηπτικές και αντιμικροβιακές (Nisha et al., 2009 - Rouatbi, Duquenoy, Giampaoli, 2007).

Το πιπέρι, όπως άλλωστε όλα τα μπαχαρικά και βότανα αποτελούν τις πιο σημαντικές πηγές για την αναζήτηση ασφαλών φυσικών αντιοξειδωτικών που θα οδηγήσουν στην χημική προστασία (chemoprevention) ή την προστασία από φλεγμονές, τον καρκίνο και την γήρανση (Singh et al., 2004). Ένας μεγάλος αριθμός ερευνών όπου μελετήθηκαν οι αντικαρκινικές και αντι-μεταλλακτικές ιδιότητες του πιπεριού, δείχνουν ότι το πιπέρι έχει αντικαρκινικές ιδιότητες (Nair, 2004).

Σήμερα θεωρείται πλέον δεδομένο ότι αυτές οι ιδιότητες σχετίζονται με την παρουσία αντιοξειδωτικών συστατικών. Η αντιοξειδωτική δράση του πιπεριού αποδίδεται τόσο στα συστατικά του αιθερίου ελαίου, όσο και στα φαινολικά συστατικά του.

Η λήψη μάλιστα μέσω του φαγητού φυσικών αντιοξειδωτικών, είναι σημαντική για την ανάπτυξη της φυσικής άμυνας του οργανισμού απέναντι στις ασθένειες, που

οφείλονται στις οξειδώσεις που προκαλούνται από μεταλλάξεις. Οι ουσίες αυτές είναι οι πιο σημαντικές βιοχημικές ενώσεις και εξασφαλίζουν την καλή υγεία του οργανισμού. «Σαρώνουν» τις ελεύθερες ρίζες, οι οποίες εκκινούν δυσμενείς για τον οργανισμό βιοχημικές αντιδράσεις και ελέγχουν την οξείδωση των λιπιδίων στα θηλαστικά (Nair, 2004).

Το Piper nigrum έχει μια πληθώρα ιδιοτήτων λόγω των αντιοξειδωτικών του. Βοηθάει στην δέσμευση ελευθέρων ριζών, ενισχύει το ανοσοποιητικό σύστημα, δρα κατά της δημιουργίας όγκων, κατά της διάρροιας, προστατεύει το ήπαρ και χαρακτηρίζεται από αντικαταθλιπτικές, αντιθρεοειδικές, αντιμεταστατικές, αντιαποπτωτικές και αντισπασμωδικές ιδιότητες. Βρίσκει εφαρμογές στην θεραπεία πνευμονικών ασθενειών, του πυρετού, του κρυώματος, των κολικών και γαστρικών διαταραχών (Abbasi et al., 2010). Τέλος, επιταχύνει την έκκριση από τους σιελογόνους αδένες του ενζύμου αμυλάση και βοηθάει στην πέψη (Nair, 2004), ενώ σε πειράματα με ποντίκια έδειξαν ότι βοηθάει στην ποιότητα του σπέρματος και την αναπαραγωγή (Abbasi et al., 2010).

Λόγω των παραπάνω ιδιοτήτων το πιπέρι έχει πολλές παραδοσιακές εφαρμογές, αλλά και σύγχρονες (Ravindran, 2000).

Χρησιμοποιείται ως συστατικό σε αρτύματα (seasoning) και βελτιωτικά γεύσης (flavoring) σε όλον τον κόσμο (Nisha et al., 2009) και έχει ένα ευρύ πεδίο αντιμικροβιακής δραστηριότητας που περιλαμβάνει βακτηριοκτόνες και βακτηριοστατικές ιδιότητες. Ακόμα και τα φύλλα του φυτού παρουσιάζουν αντιβακτηριακή και αντιμυκητιακή δράση. Αυτές οι ιδιότητες συνεισφέρουν στην αύξηση του χρόνου ζωής των τροφίμων, όταν χρησιμοποιείται το πιπέρι ως πρόσθετο (Ravindran, 2000).

Ορισμένα είδη του χρησιμοποιούνται στην παραδοσιακή φαρμακευτική για τη θεραπεία πολλών ασθενειών, σε περιοχές όπως η Ινδία, η Λατινική Αμερική και οι Δυτικές Ινδίες (Dos Santos et al., 2001 - Abbasi et al., 2010).

Στη σύγχρονη φαρμακευτική της Ινδίας χρησιμοποιείται ως αρωματικό διεγερτικό και τοπικό αναισθητικό σε διάφορες παθήσεις.

Γενικά είναι αντιπυρετικό, αντιφλεγμονώδες, παυσίπονο και σπασμολυτικό. Χρησιμοποιείται κατά του διαλλείποντα (intermittent) πυρετού, της χολέρας, του κώματος, της απώλειας προσανατολισμού (vertigo), των κολικών, της δυσεντερίας, των παρασιτικών σκώληκων και ως αντιπεριοδικό στις γυναίκες με μεγάλη αιμορραγία (π.χ. όταν νοσούν από ελονοσία). Χρησιμοποιείται επίσης εναλλακτικά στην παραπληγία και τα αρθρικά.

Είναι φάρμακο που αυξάνει και βελτιώνει την ικανότητα πέψης, καταπολεμώντας έτσι τη δυσπεψία και το «φούσκωμα» (flatulence) και καταπραΰνει τις στομαχικές διαταραχές.

Εξωτερικά χρησιμοποιείται για τις «θερμαντικές» ιδιότητες του στο κρύωμα, και για τοπική εφαρμογή στην ανακούφιση από τις ασθένειες του λαιμού (π.χ. βήχας, πονόλαιμος, βρογχίτιδα κ.α.), των αιμορροΐδων και ορισμένων δερματικών ασθενειών. Επίσης χρησιμοποιείται ως αντιαλλεργικό και κατά της δύσπνοιας και του άσθματος.

Οι αντιοξειδωτικές και αντιμικροβιακές ιδιότητες απαιτούν περαιτέρω διερεύνηση για πιθανή χρήση του στην κατασκευή αλλοπαθητικών (allopathic) φαρμάκων (Nair, 2004 - Bakkali et al., 2008 - Ravindran, 2000 – [www.allianceingredients.com](http://www.allianceingredients.com)).

#### **1.5.4 Επιπτώσεις στον οργανισμό**

Από όλα τα παραπάνω φαίνεται ότι το πιπέρι και τα ενεργά συστατικά του δρουν ευεργετικά στην υγεία του ανθρώπου.

Δεν αναφέρεται από τους ερευνητές κάποια τοξική επίδραση του πιπεριού στον οργανισμό. Αυτό μπορεί να οφείλεται στις σχετικά μικρές ποσότητες πιπεριού που περιέχονται στα φάρμακα, καθώς και στην περιορισμένη καθημερινή κατανάλωση του, λόγω της καυτερής πιπερίνης και του ισχυρού αρώματος του αιθερίου ελαίου. Οι διάφοροι οργανισμοί, όπως είναι ο FAO/WHO, δεν υπαγορεύουν κάποιο όριο στην λήψη πιπερίνης και αιθερίων ελαίων (Nair, 2004).

Η σημαντικότερη επίπτωση του πιπεριού όταν καταναλώνεται σε μεγάλες δόσεις, της τάξης του 1,5g/kg τροφίμου, είναι ο τραυματισμός του γαστρικού βλεννογόνου, που μπορεί να οδηγήσει σε γαστρεντερική αιμορραγία (Nair, 2004 - Barceloux, 2009). Το μαύρο πιπέρι αυξάνει την έκκριση ιδρώτα και των πεπτικών υγρών, την απώλεια καλίου και την απολέπιση (αποφολίδωση) των γαστρικών κυττάρων. Επίσης, ανάλυση του μητρικού γάλακτος έδειξε ότι η πιπερίνη «περνάει» στο γάλα μετά την πρόσληψη μαύρου πιπεριού. Παρά ταύτα, οι επιπτώσεις των παραπάνω μεταβολών δεν έχουν αποσαφηνισθεί και δεν υπάρχουν επαρκείς πληροφορίες για τον προσδιορισμό των επιπτώσεων χρόνιας κατανάλωσης πιπεριού στο βλεννογόνο του γαστρικού συστήματος (Barceloux, 2009).

Από την άλλη, χρειάζεται προσοχή στην ανεξέλεγκτη εισπνοή πιπεριού, καθώς είναι συχνή αιτία αναπνευστικής δυσφορίας και υπάρχουν αναφορές όπου η εισπνοή μεγάλων ποσοτήτων προκάλεσε απόφραξη του αναπνευστικού συστήματος, υποξία (hypoxia), καρδιοπνευμονική ανεπάρκεια, ακόμα και τον θάνατο. Ειδικά τα βρέφη και τα παιδιά έχουν την τάση να μασάνε και να τρώνε διάφορα πράγματα που δεν είναι αποκλειστικά τρόφιμα και να έρθουν σε επαφή με μεγάλη ποσότητα πιπεριού,

παρουσιάζοντας τα παραπάνω συμπτώματα. Ενδεικτικό είναι ότι όσα παιδιά επιβίωσαν, το κατάφεραν μετά από εντατική νοσηλεία και παρακολούθηση (Barceloux, 2009).

Είδαμε σε προηγούμενες παραγράφους ότι οι δευτερογενείς μεταβολίτες των φυτών θεωρούνται αμυντικά μέσα απέναντι στα έντομα και τα φυτοφάγα ζώα, και ότι έχουν αντικαρκινικές ιδιότητες. Παρ' όλα αυτά όμως κάποιοι μεταβολίτες είναι τοξικοί και επιβλαβείς απέναντι στο περιβάλλον και το οικοσύστημα (Awoyinka et al., 2006). Πράγματι, υπάρχουν στο πιπέρι συστατικά, όπως η σαφρόλη και το ταννικό οξύ (tannic acid), που αν και απαντώνται σε μικρές συγκεντρώσεις, παρουσιάζουν μικρή καρκινική δράση. Εργαστηριακές έρευνες σε κύτταρα έδειξαν ότι τα εκχυλίσματα πιπεριού επιταχύνουν τον σχηματισμό όγκων στα ποντίκια και η πιπερίνη αυξάνει την μετάλλαξη στο DNA, με αποτέλεσμα να επιταχύνεται η εμφάνιση καρκίνου.

Από τα προαναφερθέντα δημιουργείται η εικόνα ότι υπάρχουν δύο αντιμαχόμενες φύσεις του πιπεριού, μία αντικαρκινική και μία προκαρκινική. Αλλά φαίνεται ότι υπερισχύει περισσότερο η πρώτη φύση, παρά η δεύτερη (Nair, 2004).

## **1.6 ΑΠΟΜΟΝΩΣΗ ΚΛΑΣΜΑΤΩΝ ΠΙΠΕΡΙΟΥ**

### **1.6.1 Απομόνωση αιθερίων ελαίων**

Τα αιθέρια έλαια συνήθως παραλαμβάνονται με απόσταξη. Η απόσταξη με υδρατμούς (υδροαπόσταξη - hydrodistillation) είναι ο κλασικός τρόπος παραλαβής του αιθερίου ελαίου που ουσιαστικά πρώτοι εφάρμοσαν οι Άραβες κατά τον Μεσαίωνα (Bakkali et al., 2008).

Ο εξοπλισμός και η μεθοδολογία έχουν πλέον καθορισθεί και πολλές φαρμακοποιίες δίνουν οδηγίες και διαγράμματα για την παραλαβή των ελαίων (Wilson, 2003 - Bakkali et al., 2008 - Bicchi, 2000).

Η τελευταία βασίζεται στην απόσταξη με ανακυκλοφορία, πραγματοποιείται σήμερα με τη χρήση εξοπλισμού που εισήγαγε ο Clevenger το 1928 (Wilson, 2003), ενώ συλλέγονται μόνο τα πτητικά και όχι τα βαρέα αρωματικά συστατικά (Rouatbi et al., 2007).

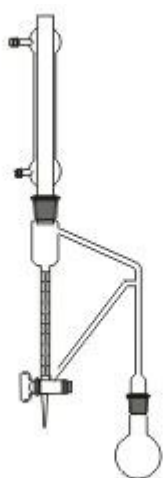
Έχει το πλεονέκτημα ότι είναι μια απλή και φθηνή μέθοδος, όπου δεν χρησιμοποιείται κάποιος οργανικός διαλύτης, αλλά νερό. Από την άλλη, είναι χρονοβόρα, απαιτούνται μεγάλες ποσότητες δείγματος, έχει χαμηλή αποτελεσματικότητα, ενώ επειδή λαμβάνει χώρα σε υψηλές θερμοκρασίες, συμβαίνει οξείδωση ή και καταστροφή

ορισμένων ευαίσθητων ενώσεων, με αποτέλεσμα την παραλαβή αποστάγματος με διαφορετική σύσταση από την πραγματική (Πολυσίου, Ταραντίλης, 2008 - Grosso et al., 2007 - Peres et al., 2002 - Fakhari, Peyman, Rouhollah, Ebrahimi, Haddad, 2005). Άλλο μειονέκτημα είναι ο κίνδυνος επιμόλυνσης του αποστάγματος με διαλύτη (Grosso et al., 2007). Γι' αυτό θα πρέπει η παραλαβή των αιθερίων ελαίων να γίνει με όσο το δυνατόν λιγότερες απώλειες και μεγαλύτερη καθαρότητα.

Η συσκευή αποτελείται από κάθετο ψυκτήρα Allihn, την κυρίως συσκευή Clevenger που φέρει βαθμονομημένη κλίμακα και μία σφαιρική φιάλη όπου προστίθεται το υπό απόσταξη δείγμα και αρκετή ποσότητα νερού (Σχήμα 1.6). Το όλο σύστημα θερμαίνεται σε μανδύα.

Κύρια διαφορά του ψυκτήρα Allihn από τους κλασικούς είναι ότι το εσωτερικό του τοίχωμα έχει σχήμα σαν αυγό, με αποτέλεσμα να επιτυγχάνεται μεγάλη επιφάνεια ψύξης και να περιορίζονται οι απώλειες των αιθερίων ελαίων. Η βαθμονομημένη κλίμακα της κυρίως συσκευής, βοηθάει στην εκτίμηση της ποσότητας του απεσταγμένου ελαίου.

Το υπό απόσταξη δείγμα πρέπει να είναι καλά λειοτριβημένο και να προστεθεί στη σφαιρική φιάλη μαζί με αρκετή ποσότητα νερού, ώστε να αποφευχθεί το «κάψιμο» του δείγματος.



Σχ.1.6 Συσκευή Clevenger (αριστερά) και ψυκτήρας Allihn (δεξιά)  
([www.glasscolabware.com](http://www.glasscolabware.com)-[www.expediglass.com](http://www.expediglass.com))

Στη βιβλιογραφία έχουν καταγραφεί διάφοροι χρόνοι απόσταξης με τη συσκευή Clevenger, από μία έως και πέντε ώρες (Comes, Oliveira, Vicente, Ferreira, 2006 - Busatta, Mossi, Rodrigues, Cansian, 2007 - Kokkini, Karousou, Hanlidou, Lanaras, 2004

- Sartoratto, Machado, Delarmelina, Figueira, Duarte, Rehder, 2004 - Stefanini et al., 2006 - Harzallah-Skhiri, Cheraif, Ben Jannet, Hammami, 2005 - Ngamo, Ngatanko, Ngassoum, Mapongmestsem, Hance, 2007 - Fakhari et al., 2005 - Atti-Santos, Rossato, Serafini, Cassel, Moyna, 2005). Θα πρέπει λοιπόν να θεωρηθεί δεδομένο ότι απαιτείται παραπάνω από μία ώρα απόσταξης (Comes, et al., 2006), ενώ μέχρι και πέντε ώρες αυξάνεται η ανάκτηση του ελαίου. Παράταση της απόσταξης για μεγαλύτερο χρονικό διάστημα έχει ως αποτέλεσμα τη μείωση της ποσότητας των αιθερίων ελαίων, αφ' ενός μεν επειδή λόγω της παρατεταμένης απόσταξης αυξάνεται βαθμιαία η διαλυτότητα τους στο νερό, αφ' ετέρου δε επειδή το κλάσμα των υδρογονανθράκων υψηλού μοριακού βάρους αυξάνεται, με αποτέλεσμα να αραιώνεται βαθμιαία το απόσταγμα (Atti-Santos et al., 2005).

Το παραλαμβανόμενο απόσταγμα διηθείται μέσω  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  ή  $\text{MgSO}_4$  για να απομακρυνθούν τα ίχνη υγρασίας και φυλάσσεται σε σκοτεινό χώρο χαμηλής θερμοκρασίας (της τάξεως των  $4^\circ\text{C}$ ), επειδή οι υδρογονάνθρακες και τα σεσκιτερπένια που υπάρχουν, υφίστανται οξείδωση ειδικά κατά την μακρά αποθήκευση. Γι' αυτό πρέπει το προϊόν να αποθηκεύεται σε αεροστεγείς συσκευασίες και σε μέρος σκοτεινό, ειδικά στις περιπτώσεις που θα περάσει αρκετό χρονικό διάστημα μέχρι το απόσταγμα να αναλυθεί ή διατεθεί ως προϊόν στην αγορά (Nair, 2004 - Busatta et al., 2007 - Kouninki et al, 2007 – Ngamo et al, 2007).

Μια άλλη μέθοδος απόσταξης είναι με ατμό (steam distillation). Χρησιμοποιείται ευρέως και είναι ταχύτερη από την υδροαπόσταξη. Ατμός υπό πίεση περνά μέσα από τη φυτική πρώτη ύλη, και τα πτητικά έλαια συμπυκνώνονται με νερό. Η θερμοκρασία απόσταξης είναι λίγο χαμηλότερη των  $100^\circ\text{C}$  για να αποφευχθεί η καταστροφή των συστατικών με χαμηλό σημείο ζέσεως.

Ακόμα ταχύτερη είναι η απόσταξη υπό κενό (vacuum distillation), που χρησιμοποιείται όμως κυρίως για τον εξευγενισμό των ελαίων και σπανίως για την απευθείας απόσταξη ελαίου από την πρώτη ύλη (Sankarikutty, Narayanan, 1993).

Ενδιαφέρουσα τεχνική είναι η υπερκείμενου χώρου (Headspace - HS). Πρόκειται ουσιαστικά για μια τεχνική δειγματοληψίας που εφαρμόζεται για τον προσδιορισμό των πτητικών στην αέρια φάση του υποστρώματος, όταν αυτή βρίσκεται σε ισορροπία. Η HS διακρίνεται στην στατική ή την δυναμική. Στην πρώτη το δείγμα κλείνεται ερμητικά σε μια μικρή φιάλη (vial) μέχρις ότου οι ατμοί να φθάσουν σε ισορροπία σε μία καθορισμένη θερμοκρασία. Στην δυναμική, το δείγμα λαμβάνεται με την σύλληψη των πτητικών της αέριας φάσης που ρέει μέσα ή επάνω από το υπόστρωμα σε ένα σύστημα παγίδευσης, όπως κρυοπαγίδες ή κάποιο προσροφητικό στερεό. Τα παγιδευμένα πτητικά ανακτώνται τελικά μέσω θέρμανσης ή έκλουσης με διαλύτη (Bicchi, 2000).

### 1.6.2 Απομόνωση ελαιορητίνης και πιπερίνης

Η εκχύλιση παίζει σημαντικό ρόλο στην διερεύνηση των ενεργών συστατικών των φυτικών υλικών. Στην ιδανική περίπτωση η εκχύλιση είναι ολική, άμεση, απλή, φθηνή και υπόκειται σε αυτοματισμούς, ειδικά όταν πρόκειται για ανάλυση ρουτίνας (Peres et al., 2006).

Η εκχύλιση εξαρτάται από το μέγεθος σωματιδίων του υλικού, επηρεάζεται ελαφρώς από τη θερμοκρασία και την πίεση και σε μεγάλο βαθμό από τη ροή του διαλύτη. Αύξηση της θερμοκρασίας, της πίεσης και της ροής του διαλύτη και μείωση του μεγέθους σωματιδίων έχουν ως αποτέλεσμα την αύξηση της απόδοσης (Ferreira et al., 1993).

Παραδοσιακά η εκχύλιση γίνεται με εμβάπτιση (maceration) και εκχύλιση Soxhlet (Peres et al., 2006).

Η ελαιορητίνη του πιπεριού αποθηκεύεται ευκολότερα και ασφαλέστερα από το τριμμένο πιπέρι, με αποτέλεσμα να υπάρχει αυξημένο ενδιαφέρον για την διαδικασία εκχύλισης του (Perakis et al., 2005). Τόσο αυτή όσο και τα συστατικά της (όπως η πιπερίνη) λαμβάνονται συνήθως με εκχύλιση τριμμένου πιπεριού με ακετόνη, αιθανόλη, διχλωροαιθυλένιο, οξείκο αιθυλεστέρα, εξάνιο κ.λ.π (Nair, 2004 - Perakis et al., 2005). Η ελαιορητίνη είναι διαθέσιμη σε λιποδιαλυτή, υδατοδιαλυτή και ξηρή μορφή και ανακτάται με διαδικασία ενός ή δύο σταδίων.

Στην ενός σταδίου, το τριμμένο πιπέρι ανακτάται με εκχύλιση με διαλύτη. Συνήθως, δημιουργείται μια αναλογία δείγματος προς διαλύτη 1:3 και εκχυλίζεται σε θερμοκρασία 55-60°C. Μετά από 3 ώρες το μείγμα φιλτράρεται και συμπυκνώνεται υπό κενό (250 mmHg) και σε θερμοκρασία που δεν υπερβαίνει τους 85°C. Ο διαλύτης συνεχώς ανακυκλώνεται, προκειμένου να επιτύχουμε αποτελεσματική επαφή του διαλύτη με το δείγμα.

Στην διαδικασία των δύο σταδίων, το πιπέρι υπόκειται πρώτα σε απόσταξη προκειμένου να ανακτηθεί το αιθέριο έλαιο και έπειτα γίνεται η εκχύλιση. Συνήθως λόγω της υγρασίας που προκύπτει από την φάση της απόσταξης στο εναπομείναν δείγμα η απόδοση σε ελαιορητίνη είναι μικρότερη συγκρινόμενη με αυτήν της διαδικασίας ενός σταδίου. Γι' αυτό συνήθως το δείγμα ξηραίνεται πρώτα για να απομακρυνθεί η υγρασία (Nair, 2004). Οι Singh et al. (2004) εφάρμοσαν την παραπάνω διαδικασία. Αφού παρέλαβαν πρώτα το αιθέριο έλαιο με υδροαπόσταξη, ξήραναν το υπόλοιπο υλικό στους 50°C για 24h και έπειτα εκχύλισαν ποσότητα από το ξηραμένο υλικό με Soxhlet στους 90°C για 3h, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη ακετόνη.



Μετά τις 3 ώρες, το μείγμα φιλτράρεται και συμπυκνώνεται όπως αναφέρθηκε παραπάνω και η περιεκτικότητα της ελαιορητίνης προσδιορίζεται σταθμικά, μετά την απομάκρυνση του διαλύτη και μπορεί να χρησιμοποιηθεί για περαιτέρω ανάλυση (Perakis et al., 2005 - Singh et al., 2004 - Nair, 2004). Η θερμοκρασία σε κανένα στάδιο της διαδικασίας δεν θα πρέπει να ξεπερνά τους 100°C.

Η ελαιορητίνη είναι σκουρόχρωμη και αποχρωματίζεται με την προσθήκη ενεργού άνθρακα.

Η πιπερίνη είναι μία χημική ένωση που η ζήτηση της συνεχώς αυξάνεται και μπορεί να παραχθεί με φυγοκέντριση της συμπυκνωμένης ελαιορητίνης. Μετά το τέλος της φυγοκέντρισης, συλλέγεται μέρος του ελαίου μαζί με λίγη ρητίνη, που περιέχει περίπου 60% πιπερίνη. Με έκπλυση του παραπάνω δείγματος με έλαιο πιπεριού και εκ νέου φυγοκέντριση, αυξάνεται η συγκέντρωση της πιπερίνης (Nair, 2004).

Για πιο γρήγορη απομόνωση της πιπερίνης, ειδικά όταν θέλουμε να την προσδιορίσουμε ποσοτικά, ζυγίζεται ποσότητα τριμμένου πιπεριού σε ογκομετρική φιάλη που περιέχει κάποιο διαλύτη (συνήθως μεθανόλη ή αιθανόλη) και θερμαίνεται σε ζεστό νερό για κάποιο χρονικό διάστημα, συνήθως στο σκοτάδι. Αφού ψυχθεί η φιάλη, συμπληρώνεται μέχρι τη χαραγή με τον διαλύτη διηθείται μέσω ηθμού ή φίλτρου και είναι έτοιμη για περαιτέρω ανάλυση ([www.allianceingredients.com](http://www.allianceingredients.com) - Wood, Barrow, James, 1988).

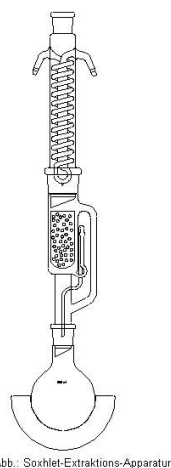


Abb.: Soxhlet-Extraktions-Apparatur

Σχ.1.7 Συσκευή Soxhlet ([www.chempage.de](http://www.chempage.de))

### 1.6.3 Άλλες τεχνικές

Οι παραδοσιακές τεχνικές εκχύλισης είναι χρονοβόρες και με χαμηλή εκλεκτικότητα, απαιτούν μεγάλες ποσότητες οργανικών διαλυτών επιζήμιων προς το περιβάλλον, που ανεβάζουν και το κόστος της διαδικασίας (Peres et al., 2006 - Plessi et al., 2002). Τα τελευταία χρόνια έχουν αναπτυχθεί νέες τεχνικές εκχύλισης που περιορίζουν τον όγκο των διαλυτών και τον χρόνο εκχύλισης και μπορούν να χρησιμοποιηθούν τόσο για την παραλαβή των αιθερίων ελαίων όσο και της ελαιρητίνης.

Υπάρχει η εκχύλιση με υπερήχους (ultrasound assisted extraction) όπου συμβαίνει μηχανική καταστροφή του κυτταρικού τοιχώματος με ταυτόχρονη απελευθέρωση του περιεχομένου του και τοπική θέρμανση του υγρού που αυξάνει την διάχυση του εκχυλίσματος. Ως αποτέλεσμα της χρήσης υπερήχων είναι η μεγαλύτερη διείσδυση του διαλύτη στις κυτταρικές μεμβράνες, διευκολύνοντας την απελευθέρωση των περιεχομένων των κυττάρων και την βελτίωση της μεταφοράς μάζας.

Η εκχύλιση με μικροκύματα (microwave assisted extraction) στηρίζεται στην απορρόφηση των μικροκυμάτων από τα κύτταρα, την αύξηση του όγκου και τελικά την «έκρηξη» των τελευταίων, με αποτέλεσμα την απελευθέρωση του περιεχομένου τους στον διαλύτη.

Συγκρινόμενη με τα μικροκύματα, η εκχύλιση με υπερήχους υπερτερεί επειδή λαμβάνει χώρα σε θερμοκρασίες περιβάλλοντος, αποφεύγοντας την έκθεση του δείγματος σε υψηλές θερμοκρασίες (Alupului, Calinescu, Lavric, 2009).

Η εκχύλιση με υγρά υπό πίεση (pressurized liquid extraction) λειτουργεί σε υψηλές πιέσεις και σε θερμοκρασίες πάνω από το σημείο βρασμού του οργανικού διαλύτη. Η υψηλή θερμοκρασία αυξάνει την ικανότητα του διαλύτη να διαλύει τον αναλύτη και μειώνει το ιξώδες των υγρών διαλυτών, επιτρέποντας καλύτερη διείσδυση του διαλύτη στο υλικό. Η χρήση υψηλής πίεσης διευκολύνει την εκχύλιση του αναλύτη από το δείγμα, βελτιώνοντας την πρόσβαση του διαλύτη σε αυτόν, καθώς παγιδεύεται στους πόρους του υλικού (Peres et al., 2006).

Μία τεχνική με αυξημένο ενδιαφέρον τα τελευταία χρόνια λόγω των σημαντικών πλεονεκτημάτων της είναι η εκχύλιση με υπερκρίσιμα ρευστά (supercritical fluid extraction-SFE). Κατ' αρχήν, απαιτεί μικρότερο χρόνο, που μπορεί να περιορισθεί μέχρι και τα 30 λεπτά και πραγματοποιείται σε χαμηλότερες θερμοκρασίες (Atti-Santos et al., 2005 - Grosso et al., 2007). Η σύνθεση των εκχυλισμάτων της SFE είναι παρόμοια με αυτών που παραλαμβάνονται με την υδροαπόσταξη, ενώ ορισμένα υδατοδιαλυτά συστατικά που σχετίζονται με τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά και τα οποία χάνονται με την απόσταξη, ανακτώνται πλήρως με αυτήν (Bicchi, 2000). Πράγματι, οι Ferreira et

al. (1993) εφαρμόζοντας την συγκεκριμένη τεχνική, διαπίστωσαν ότι η πιπερίνη ήταν ένα από τα κύρια συστατικά του παραλαμβανόμενου ελαίου του μαύρου πιπεριού. Πιθανότατα επειδή η όλη διαδικασία γίνεται σε θερμοκρασίες 20-30°C, κατά τις οποίες τόσο τα συστατικά του αιθερίου ελαίου, όσο και η πιπερίνη βρίσκονται στην υγρή κατάσταση.

Τα τελευταία χρόνια η SFE εφαρμόζεται χρησιμοποιώντας κυρίως υγρό CO<sub>2</sub> ως διαλύτη, υπό πίεση (Atti-Santos et al., 2005 - Schulz et al., 2005). Τα πλεονεκτήματα του υγρού CO<sub>2</sub> έναντι άλλων υπερκρίσιμων ρευστών είναι (Ferreira et al., 1993):

- η εφαρμογή χαμηλών θερμοκρασιών που διατηρούν την ποιότητα του προϊόντος, ειδικά όταν υπάρχουν θερμοευαίσθητα συστατικά
- η διαδικασία είναι εκλεκτική για το έλαιο, επειδή οι χρωστικές και τα λιπίδια δεν εκχυλίζονται
- το κόστος του εξοπλισμού είναι χαμηλότερο

Η χρήση μη τοξικών και πτητικών διαλυτών όπως το CO<sub>2</sub>, προστατεύουν το εκχύλισμα από την θερμική υποβάθμιση και την επιμόλυνση από τον διαλύτη (Perakis et al., 2005). Με λίγα λόγια παραλαμβάνεται ένα υψηλής ποιότητας απόσταγμα απαλλαγμένο από την παρουσία διαλύτη, με αποτέλεσμα να επιτυγχάνονται μεγαλύτερες ανακτήσεις (Grosso et al., 2007 - Ferreira et al., 1993). Πρόκειται δηλαδή για μία αποτελεσματική και αποδοτική μέθοδο που δίνει προϊόν με υψηλής ποιότητας άρωμα (Schulz et al., 2005).

Όλες αυτές οι τεχνικές πλεονεκτούν έναντι των παραδοσιακών όσον αφορά την απόδοση, τον χρόνο, την ευαισθησία, την εκλεκτικότητα της εκχύλισης και τη χρήση χαμηλότερων θερμοκρασιών και περιορισμένης ποσότητας οργανικών διαλυτών, αλλά μειονεκτούν στο ότι απαιτούν ειδικό εξοπλισμό και έχουν υψηλότερο κόστος (Alurpului et al., 2009 - Πολυσίου et al., 2008).

Γι' αυτό το λόγο έχουν γίνει προσπάθειες για συνδυασμό τεχνικών (hydrodistillation-headspace microextraction) αλλά και εισαγωγή νέων (solid phase microextraction, single drop microextraction) προκειμένου να αναπτυχθούν τεχνικές που εκτός από το χαμηλό κόστος ανάλυσης, προσφέρουν και άλλα πλεονεκτήματα όπως δυνατότητα χρήσης μεγάλης ποικιλίας διαλυτών και σε μικρές ποσότητες, ευκολία στην χρήση, υψηλή ακρίβεια, υψηλή ευαισθησία, χαμηλό όριο ανίχνευσης και δυνατότητα αυτοματισμού (Fakhari et al., 2005).

Η μικροεκχύλιση στερεάς φάσης (Solid-phase microextraction-SPME) είναι μία απλή τεχνική κατά την οποία ο αναλύτης απορροφάται για συγκεκριμένο χρονικό διάστημα από την υγρή ή την αέρια φάση σε μία ίνα προσροφητικού υλικού (σίλικα), που

αποτελεί μέρος μιας σύριγγας. Έπειτα εισάγεται η ίνα σε έναν χρωματογράφο και γίνεται η ανάλυση των συστατικών. Πρόκειται για μία τεχνική που δεν απαιτεί τη χρήση διαλύτη, είναι ευαίσθητη εξ' αιτίας του συντελεστή συγκέντρωσης και εκλεκτική εξ' αιτίας των διαφορετικών υλικών επίστρωσης που χρησιμοποιούνται. Ένα από τα πλεονεκτήματα της είναι η άμεση λήψη του δείγματος σε ισορροπία με το υπόστρωμα και η άμεση εξαγωγή του υποστρώματος ή του διαλύματος, χρησιμοποιώντας τις κατάλληλες ίνες (Bicchi, 2000).

Πάντως, η επιλογή της μεθόδου απομόνωσης εξαρτάται από την χρήση που θέλουμε να κάνουμε στο παραλαμβανόμενο απόσταγμα/εκχύλισμα. Για παράδειγμα, αν θέλουμε να χρησιμοποιήσουμε εναλλακτικά το αιθέριο έλαιο στην φαρμακευτική και τα τρόφιμα, για την παρασκευή οικολογικών προϊόντων προς αντικατάσταση των αντίστοιχων συνθετικών χημικών, προτιμάται η εκχύλιση με απόσταξη με ατμό. Στην αρωματοποιία προτιμάται η εκχύλιση με λιπόφιλους διαλύτες και με υπερκρίσιμο διοξείδιο του άνθρακα. Είδαμε και σε προηγούμενη ενότητα ότι το αιθέριο έλαιο μπορεί να διαφέρει ποιοτικά και ποσοτικά αναλόγως του κλίματος, της σύστασης του εδάφους, του φυτού, της ηλικίας του, του χρόνου συγκομιδής, του τρόπου εκχύλισης κ.α. Επομένως για να παραλάβουμε σταθερής σύστασης αιθέριο έλαιο, πρέπει η απόσταξη ή η εκχύλιση να γίνει με την ίδια τεχνική, κάτω από τις ίδιες συνθήκες, από το ίδιο φυτό, που αναπτύσσεται στο ίδιο έδαφος, στο ίδιο κλίμα και έχει συλλεχθεί την ίδια χρονική περίοδο (Bakkali et al., 2008).

## **1.7 ΑΝΑΛΥΣΗ ΣΥΣΤΑΤΙΚΩΝ ΠΗΠΕΡΙΟΥ**

### **1.7.1 Ανάλυση αιθερίων ελαίων**

Τα συστατικά των αιθερίων ελαίων επειδή είναι σε γενικές γραμμές μέτρια έως πολύ πτητικά και μέτριας έως χαμηλής πολικότητας, ταυτοποιούνται συνήθως με αέρια χρωματογραφία (gas chromatography) με ανιχνευτή ιονισμού φλόγας (flame ionization detector-FID) ή φασματόμετρο μαζών (mass spectrometer - MS) ή με συνδυασμό τους (Bicchi, 2000 - Wilson, 2003). Οι συνήθεις στήλες περιλαμβάνουν άπολες και πολικές στατικές φάσεις. Επίσης, για να επωφεληθούν οι αναλυτές από τα πλεονεκτήματα των σύγχρονων φασματοφωτομέτρων υπερύθρου (FT-IR) έχουν αναπτυχθεί συστήματα που συνδυάζουν το IR με την αέρια χρωματογραφία (GC-FTIR). Η ταυτοποίηση των

συστατικών των αιθερίων ελαίων επιτυγχάνεται κυρίως με GC-MS ή GC-FTIR (Bicchi, 2000).

Υπάρχουν πλέον χρωματογράφοι που καθιστούν δυνατή την ταυτόχρονη εισαγωγή δείγματος σε δύο στήλες που καταλήγουν σε δύο ανιχνευτές, με αποτέλεσμα να είναι εύκολη η διασταυρούμενη ταυτοποίηση των κορυφών. Παρ' όλα αυτά υπάρχουν ακόμα προβλήματα, όπως η ποικιλία πολικότητας της στατικής φάσης και τα χαρακτηριστικά της κινητής, σε συνάρτηση με την θερμοκρασία που λαμβάνει χώρα η ανάλυση. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα η σύγκριση δεδομένων από διαφορετικά εργαστήρια να είναι δύσκολη και μόνο εφ' όσον οι παράμετροι ανάλυσης είναι ακριβώς οι ίδιες. Επίσης, πολλά συστατικά και ειδικά τα σεσκιτερπενοειδή, έχουν χαμηλής ανάλυσης φάσματα μάζας που είναι δύσκολο να ταυτοποιηθούν.

Η εισαγωγή προγραμμάτων βάσεων δεδομένων έφερε επανάσταση στον αναλυτικό τομέα και την ταυτοποίηση των συστατικών. Έτσι υπάρχουν σήμερα βιβλιοθήκες φασμάτων μάζας (NBS, NIST, Wiley, TNO) που προκύπτουν από την βιβλιογραφία, ενώ υπάρχουν και βιβλιοθήκες αποκλειστικά για τα αιθέρια έλαια, όπως είναι αυτή του Adams για φάσματα ion trap και των Joulain και Koenig για φάσματα σεσκιτερπενίων, που βοηθούν στην ταυτοποίηση των συστατικών των αιθερίων ελαίων. Επίσης, κάθε χειριστής μπορεί πλέον να φτιάξει τη δική του βιβλιοθήκη από τους δείκτες κατακράτησης και τα φάσματα μάζας που έχει λάβει από τα όργανα που χειρίζεται και να συνδυάσει τα δεδομένα των GC-FID και GC-MS, προκειμένου να ταυτοποιήσει τα συστατικά των αιθερίων ελαίων.

Η ιδανική μέθοδος ταυτοποίησης περιλαμβάνει την μελέτη των δεικτών κατακράτησης (ειδικά αν προέρχονται από διαφορετικής πολικότητας στήλες) σε συνδυασμό με τα φάσματα μάζας και την βοήθεια κάποιας βιβλιοθήκης. Δυστυχώς ο παραπάνω τρόπος ενδέχεται να μας οδηγήσει σε λάθος, σε περιπτώσεις συστατικών με παρόμοια φάσματα και παρόμοιους δείκτες κατακράτησης. Επίσης, τα φάσματα μάζας μπορεί να έχουν διαφορετική προέλευση και να έχουν καταγραφεί σε διαφορετικές συνθήκες. Κλασικό παράδειγμα αποτελεί η χρήση διαφορετικών αναλυτών μάζας (ion trap, quadrupole ή magnetic sector instruments). Γι' αυτό η ταυτοποίηση πρέπει να γίνεται πάντα με προσοχή.

Η χρήση GC-SIM-MS (SIM- single ion monitoring) είναι η πιο αξιόπιστη επιλογή για ποσοτική ανάλυση, καθώς είναι πολύ εκλεκτική. Μπορεί να εφαρμοσθεί και ως εναλλακτική της πολυδιάστατης χρωματογραφίας (Multidimensional GC ή MD-GC) για τον προσδιορισμό των εναντιομερών του αιθερίου ελαίου.

Αν και το MS είναι μια πολύ καλή τεχνική ταυτοποίησης, έχει ορισμένα μειονεκτήματα (π.χ. στον διαχωρισμό ισομερών με παρόμοιο φάσμα μάζας).

Η φασματοσκοπία υπερύθρου με μετασχηματισμούς Fourier (FT-IR) είναι επίσης μια αξιόπιστη τεχνική, που μπορεί να χρησιμοποιηθεί και ως συμπληρωματική του MS για την ταυτοποίηση πολύπλοκων μειγμάτων, λόγω της ικανότητας της να διαχωρίζει τα ισομερή και να εντοπίζει τις χαρακτηριστικές ομάδες των μορίων (Bicchi, 2000). Επίσης, με το IR θα μπορούσε να γίνει και κάποια ταξινόμηση των πιπεριών ανάλογα με την περιεκτικότητα τους σε μόνο- και σεσκιτερπένια (Schulz et al., 2005).

Παρ' όλα αυτά όμως, το FT-IR δεν χρησιμοποιείται ευρέως ως ανιχνευτής του GC, όπως συμβαίνει με τον MS, κυρίως επειδή, συγκριτικά με τα GC-FID και GC-MS, έχει χαμηλότερη ευαισθησία σε πολλά συστατικά. Επιπλέον δεν υπάρχουν τόσο εκτεταμένες βιβλιοθήκες για το FT-IR. Τελευταία διατίθενται στην αγορά κάποιες μικρές βιβλιοθήκες με φάσματα αέριας φάσης για τα συστατικά των αιθερίων ελαίων (Bicchi, 2000).

Η αέρια χρωματογραφία συνδυασμένη τόσο με MS όσο και με IR είναι μία χρονοβόρα και ακριβή τεχνική. Γι' αυτόν τον λόγο έχουν γίνει προσπάθειες τα τελευταία χρόνια για να αναπτυχθούν εναλλακτικές αναλυτικές τεχνικές. Έτσι η εφαρμογή φασματοσκοπίας IR με την τεχνική της εξασθενημένης ολικής ανάκλασης (attenuated total reflectance spectroscopy - ATR-IR) ή στην περιοχή του εγγύς υπερύθρου (near infrared - NIR), σε συνδυασμό με χημομετρικούς αλγορίθμους, συνοδεύτηκε από επιτυχημένους ποσοτικούς και ποιοτικούς προσδιορισμούς αιθερίων ελαίων. Στις περισσότερες περιπτώσεις τα αιθέρια έλαια έχουν σημαντικές και καλά αναλυμένες χαρακτηριστικές ομάδες οι οποίες μπορεί να χρησιμοποιηθούν για στατιστικές εκτιμήσεις βασισμένες σε μεμονωμένα φάσματα δόνησης (Schulz et al., 2003).

Είναι σημαντικό να έχουμε υπ' όψιν ότι άλλο είναι η ταυτοποίηση και άλλο ο διευκρινισμός (elucidation) της δομής: ο πρώτος γίνεται μόνον με σύγκριση των δεδομένων αναφοράς. Στην περίπτωση που θέλουμε να εκτιμήσουμε την δομή ενός «καινούριου» συστατικού, θα ήταν ριψοκίνδυνο να βγάλουμε συμπέρασμα από τα αποτελέσματα που λαμβάνονται μόνο από τον συνδυασμό τεχνικών (GC-FID, GC-MS, GC-FTIR), χωρίς την απομόνωση και την φασματοσκοπική διερεύνηση του καινούριου συστατικού, κυρίως με πυρηνικό μαγνητικό συντονισμό (nuclear magnetic resonance - NMR) (Bicchi, 2000).

### 1.7.2 Νέες τεχνικές ανάλυσης αιθερίων ελαίων

Οι τεχνικές Head Space (HS) και Solid Phase Micro-extraction (SPME) σε συνδυασμό με την GC αυτοματοποιούνται και σταντάρονται εύκολα. Έτσι τόσο η HS-GC όσο και η SPME-GC γίνονται εύκολα αναλύσεις ρουτίνας. Η στατική HS-GC είναι αρκετά αξιόπιστη για την ποσοτική ανάλυση πτητικών συστατικών, ενώ η δυναμική χρησιμοποιείται για την ανάλυση ιχνών (trace analysis) πολύ αραιωμένων δειγμάτων, αλλά εξαρτάται από πολλές παραμέτρους, όπως τον όγκο δείγματος, τον χρόνο και την ταχύτητα δειγματοληψίας, την ροή του φέροντος αερίου κ.α. Επομένως στη δυναμική HS-GC υπάρχει δυσκολία στην σύγκριση αποτελεσμάτων από διαφορετικά εργαστήρια (Bicchi, 2000). Η SPME-GC εφαρμόζεται για την ανάλυση μέτριας πτητικότητας συστατικών και είναι πολλά υποσχόμενη καθώς έχει δώσει πολύ καλά αποτελέσματα, όσον αφορά την ταχύτητα και την εκλεκτικότητα (Bicchi, 2000 - Plessi et al., 2002).

Μία σημαντική καινοτομία τα τελευταία χρόνια είναι η εναντιο-εκλεκτική χρωματογραφία (enantioselective GC) για την ταυτοποίηση εναντιομερών συστατικών των αιθερίων ελαίων με παράγωγα κυκλοδεξτρινών. Ο διαχωρισμός και προσδιορισμός των εναντιομερών είναι σημαντικός γιατί μας δίνει πληροφορίες για την βιοσυνθετική και γεωγραφική προέλευση, την τεχνολογική επεξεργασία και την αυθεντικότητα των αιθερίων ελαίων. Επίσης, έχουν συνήθως διαφορετικές οργανοληπτικές ιδιότητες, όπως συμβαίνει με τα εναντιομερή του λεμονενίου.

Σήμερα έχουν αναπτυχθεί οι στατικές φάσεις κυκλοδεξτρινών δεύτερης γενιάς, όπου σχεδόν όλα τα εναντιομερή μπορούν πλέον να διαχωρισθούν, χωρίς να απαιτείται η μετατροπή τους σε κάποιο παράγωγο. Έτσι είναι δυνατή η αξιολόγηση ενός αιθερίου ελαίου, προσδιορίζοντας την παρουσία των εναντιομερών ακόμα και με ένα μόνο χρωματογράφημα. Υπάρχουν αναφορές για ταυτοποίηση της δομής 330 σεσκιτερπενίων, συμπεριλαμβανομένης της ταυτοποίησης των εναντιομερών τους.

Η πολυδιάστατη χρωματογραφία (MD-GC) είναι μία χρήσιμη τεχνική για την ανάλυση περίπλοκων μειγμάτων όπως τα αιθέρια έλαια. Σύμφωνα με αυτήν την τεχνική τα συστατικά που δεν διαχωρίστηκαν στην αρχική στήλη μεταφέρονται αυτομάτως σε δεύτερη στήλη διαφορετικής στατικής φάσης. Τα οφέλη από την MD-GC είναι ακόμα αμφισβητήσιμα. Ειδικά στις αρχές ήταν μία δύσκολη, άκαμπτη και πολύ ακριβή διαδικασία. Εν τούτοις σήμερα έχουμε να κάνουμε με πλήρως αυτοποιημένα GC συστήματα που συνδέονται μεταξύ τους, ενώ, όταν δεν θέλουμε να εφαρμόσουμε MD-GC, λειτουργούν ανεξάρτητα.

Η MD-GC είναι χρήσιμη στην ανάλυση εναντιομερών, επειδή σχεδόν διπλασιάζει τις κορυφές των οπτικώς ενεργών συστατικών. Αυτό βεβαίως έχει το μειονέκτημα ότι το

τελικό χρωματογράφημα είναι αρκετά περίπλοκο, υπάρχει η πιθανότητα επικάλυψης μιας κορυφής από κάποια άλλη και ενδεχομένως να επηρεαστεί το τελικό αποτέλεσμα. Γι' αυτό τίθεται σε εφαρμογή ένα είδος «καθαρισμού» της πρώτης στήλης, κατά το οποίο μόνον οι επιλεγμένες κορυφές «μεταφέρονται» στην δεύτερη χειρομορφική (chiral) στήλη.

Η σταθερή αναλογία ισοτόπων είναι μια σημαντική παράμετρος στην βιοχημεία, τη διατροφή και την φαρμακευτική για τον προσδιορισμό προέλευσης και της αυθεντικότητας των αιθερίων ελαίων. Έτσι κατασκευάστηκαν συστήματα GC-isotope ratio MS, στα οποία οι αναλύτες με το που εκλύονται από την στήλη του GC εισάγονται σε έναν φούρνο, όπου αναφλέγονται (combusted) σε διοξείδιο του άνθρακα και αναλύονται με ένα isotope ratio MS. Είναι χρήσιμη τεχνική όταν ενδιαφερόμαστε για την αναγνώριση εναντιομερών. Η τεχνική της εναντιομερούς GC μπορεί να αποτύχει αν υπάρχουν ρακεμικά μείγματα φυσικής προέλευσης ή συμβεί ρακεμοποίηση κατά την διάρκεια της επεξεργασίας και της αποθήκευσης των φυσικών προϊόντων ή όταν χειρόμορφα συστατικά των αιθερίων ελαίων αναμιγνύονται με χειρόμορφες συνθετικές ουσίες. Με την GC-isotope ratio MS (και ακόμα καλύτερα την MD-GC-isotope ratio MS) υπερνικούνται τα παραπάνω προβλήματα και μπορεί να ανιχνευθούν μείγματα οπτικώς καθαρών χειρόμορφων συστατικών των αιθερίων ελαίων με συνθετικά ρακεμικά μείγματα (Bicchi, 2000).

Το προφίλ ενός αιθερίου ελαίου δεν μας δίνει πληροφορίες για τις οργανοληπτικές ιδιότητες των συστατικών του. Ορισμένα, ειδικά αυτά που απαντώνται σε μεγάλες συγκεντρώσεις δεν έχουν σχέση με την συνολική οσμή, ενώ άλλα που είναι σε ελάχιστες συγκεντρώσεις δεν ανιχνεύονται από τους κλασικούς ανιχνευτές, όπως είναι ο FID. Η ανάγκη να ανιχνευθούν συστατικά που βρίσκονται σε ίχνη μεν, αλλά συνεισφέρουν στα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά του ελαίου, οδήγησαν στην τεχνική της ανίχνευσης «οσμής» (GC-Sniffing), ο εξοπλισμός της οποίας είναι πολύ απλός και φθηνός. Συνήθως περιλαμβάνει τον διαχωρισμό του φέροντος αερίου κατά την έξοδο της στήλης με τη βοήθεια ενός τμήματος που έχει το σχήμα «T» και οδηγεί από τη μία στον FID και από την άλλη στον Sniffing. Ο τελευταίος αποτελείται από ένα γυάλινο χωνί που ρέει ρεύμα αζώτου για να αποφευχθεί η ενυδάτωση του δείγματος. Τα αποτελέσματα της αξιολόγησης των οργανοληπτικών χαρακτηριστικών είναι ποιοτικά, δίνοντας μια εικόνα για την οσμή της κορυφής που αντιστοιχεί σε κάθε «οσμηρό» συστατικό. Βάσει αυτής της ποιοτικής αξιολόγησης μπορεί να γίνει και μια ημι-ποσοτική επίσης. Οι πιο γνωστές μέθοδοι ημι-ποσοτικής ανάλυσης είναι η Charm της Accree και η AEDA (aroma extract dilution analysis) της Grosch, οι οποίες βασίζονται στον βαθμό αραίωσης των συστατικών, μέχρι αυτά να εισέλθουν στην ζώνη που ανιχνεύεται πλέον η οσμή τους από τους ειδικούς αισθητήρες (Bicchi, 2000).



Η ταυτοποίηση και η ποσοτικοποίηση των συστατικών δεν είναι πάντα αρκετή για τον διαχωρισμό ή την ταξινόμηση των αιθερίων ελαίων, την εκτίμηση της ποιότητας και της προέλευσης ή για την ανίχνευση τυχόν νοθείας. Επιπλέον η οσφρητική ανάλυση (sniffing) είναι μεν σημαντική, αλλά δεν επαρκεί πάντα και γενικώς θεωρείται μη επαρκώς αντικειμενική. Αυτό συμβαίνει όταν πρόκειται να αναλυθούν ταυτόχρονα πολλά δείγματα αιθερίων ελαίων διαφορετικής προέλευσης. Σε αυτές τις περιπτώσεις η συγκριτική μελέτη του προφίλ των αιθερίων ελαίων είναι ο καλύτερος τρόπος για να τα χαρακτηρίσουμε και να τα διαχωρίσουμε. Εν τούτοις, τα προφίλ τους είναι τόσο περίπλοκα που απαιτείται κάποια στατιστική επεξεργασία για να καταλήξουμε σε συμπέρασμα. Διάφορες στατιστικές προσεγγίσεις έχουν προταθεί γι' αυτό το σκοπό (cluster analysis, fuzzy clustering, linear discrimination analysis, neural network, principal component analysis (PCA), and principal component similarity analysis), με την PCA να είναι η πιο επιτυχής στην ανάλυση πολλαπλών δεδομένων (Bicchi, 2000).

Επίσης μπορεί να χρησιμοποιηθεί και η ηλεκτρονική μύτη (electronic nose) για τον διαχωρισμό των μπαχαρικών βάσει των πτητικών τους. Είναι ένα όργανο που φέρει από 1 μέχρι 32 αισθητήρες διαφόρων τύπων που ερευνούν τον υπερκεείμενο χώρο του δείγματος. Εάν τα πτητικά συστατικά του τελευταίου διεγείρουν κάποιον αισθητήρα, συμβαίνει μεταβολή της ηλεκτρικής αντίστασης του, η οποία μπορεί να μετρηθεί. Αυτές οι μετρήσεις χρησιμοποιούνται ως σημείο αναφοράς προκειμένου να μπορούμε να συγκρίνουμε την ποιότητα του αρώματος κάθε δείγματος και να εκτιμήσουμε την γεωγραφική προέλευση του (Wilson, 2003).

### **1.7.3 Ανάλυση πιπερίνης**

Για την ανάλυση της πιπερίνης στα πιπέρια, στα εκχυλίσματα και την ελαιορητίνη τους, έχουν αναφερθεί διάφορες μέθοδοι υγρής και αέριας χρωματογραφίας (Bajad et al., 2002). Διάφοροι οργανισμοί (ISO, American spice trade association - ASTA, Association of official analytical chemists - AOAC), έχουν αναπτύξει φασματοφωτομετρικές μεθόδους προσδιορισμού της πιπερίνης στην περιοχή του υπεριώδους-ορατού (ultra violet-visible - UV-Vis) μετρώντας την απορρόφηση στα 343nm, οι οποίες έχουν το πλεονέκτημα ότι είναι γρήγορες και φθηνές, καθιστώντας τον προσδιορισμό πιπερίνης ανάλυση ρουτίνας (Wood et al., 1988).

Μέθοδοι υγρής χρωματογραφίας υψηλής απόδοσης (high performance liquid chromatography - HPLC) έχουν αναπτυχθεί για τον διαχωρισμό της πιπερίνης και τον

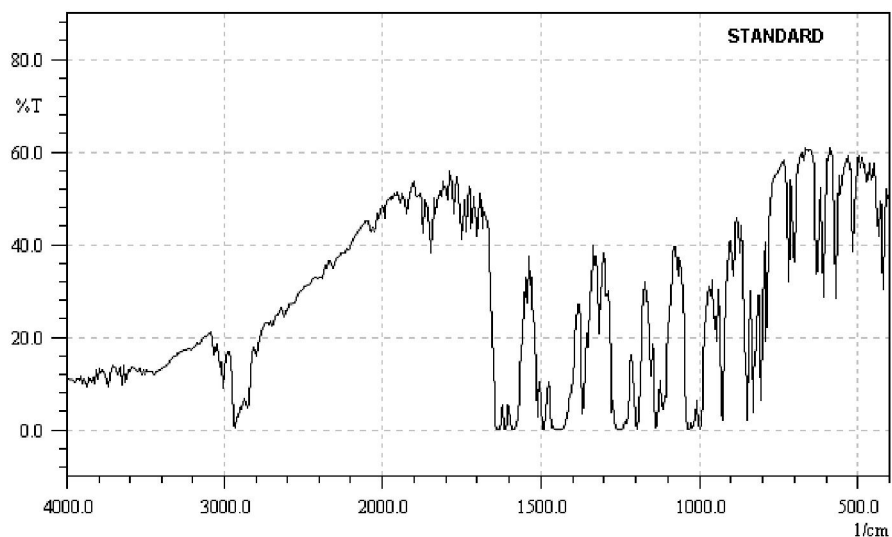
ακριβέστερο προσδιορισμό τόσο της ίδιας, όσο και των άλλων αλκαλοειδών (Schulz et al., 2005). Ως κινητή φάση χρησιμοποιούνται διάφορα μείγματα (π.χ. ακετονιτρίλο-υδατικό διάλυμα οξεικού οξέος 1%, μεθανόλη-ρυθμιστικό διάλυμα  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  κ.α.) και UV ανιχνευτής, ρυθμισμένος συνήθως σε διάφορα μήκη κύματος. Τα μικρότερα μήκη κύματος (συνήθως 254 και 280nm) επιλέγονται επειδή συνήθως σε αυτή την περιοχή λειτουργούν οι περισσότεροι UV ανιχνευτές και τα μεγαλύτερα επειδή εκεί παρουσιάζουν την μεγαλύτερη απορρόφηση η πιπερίνη (343 και 345nm) και η πιπεριτίνη (364nm). Η ποσότητα της πιπερίνης εκτιμάται συγκρίνοντας το εμβαδόν της κορυφής της, με την αντίστοιχη κορυφή προτύπου δείγματος ([www.allianceingredients.com](http://www.allianceingredients.com) - Wood et al., 1988). Σε σχέση με τη μέτρηση στο UV, η HPLC παρουσιάζει μεγαλύτερη ακρίβεια στον προσδιορισμό και υψηλή ανάκτηση της πιπερίνης που κυμαίνεται σε ποσοστά 96-100%.

Τόσο στις μεθόδους UV όσο και στις HPLC, χρησιμοποιούνται διάφοροι διαλύτες για την προετοιμασία του δείγματος (οξεικός αιθυλεστέρας, μεθανόλη, αιθανόλη, διχλωροαιθάνιο), αλλά συνήθως προτιμάται η αιθανόλη που είναι φιλικότερη προς το περιβάλλον. Το μειονέκτημα της είναι ότι η πιπερίνη είναι λιγότερο σταθερή σε αυτήν (Wood et al., 1988).

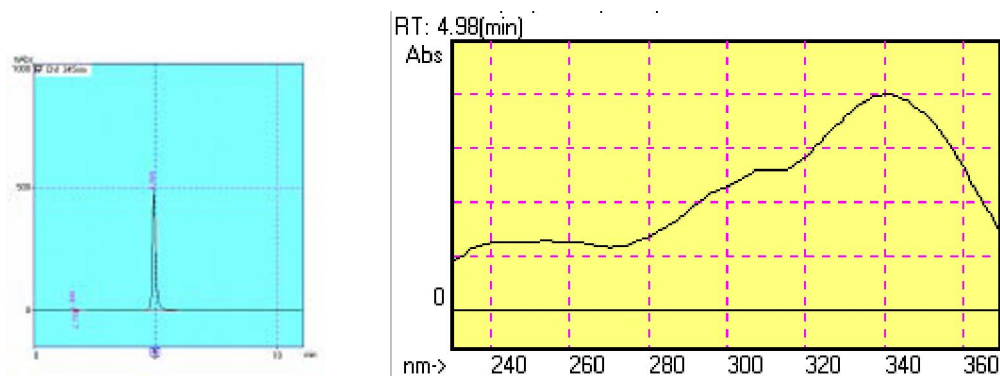
Όμως αυτές οι μέθοδοι είναι χρονοβόρες και απαιτούν την χρήση οργανικών διαλυτών. Υπάρχει λοιπόν η ανάγκη για την ανάπτυξη μιας γρήγορης και μη καταστρεπτικής μεθόδου για τον άμεσο προσδιορισμό της καυστικότητας του πιπεριού (Schulz et al., 2005).

Έτσι οι ερευνητές έχουν στραφεί προς την χρήση FT-IR και FT-Raman. Αυτές οι μέθοδοι παρουσιάζουν σημαντικές και χαρακτηριστικές κορυφές, όχι μόνο της πιπερίνης, αλλά και συστατικών των αιθερίων ελαίων. Για παράδειγμα στο FT-Raman εκτός από την καταγραφή έντονων δονήσεων τάσης (stretching vibrations) μεταξύ των  $3100\text{-}2800\text{ cm}^{-1}$ , παρατηρούνται σημαντικές εντάσεις στην περιοχή δακτυλικού αποτυπώματος μεταξύ  $1630$  και  $1100\text{ cm}^{-1}$ , όπως οι δονήσεις τάσης που οφείλονται στις αρωματικές και αλειφατικές  $\text{-C=C-}$  και  $\text{=N-C=O}$  μεταξύ  $1635\text{-}1580\text{ cm}^{-1}$  και στα  $1448\text{ cm}^{-1}$  και που συνδέονται πιθανόν με δονήσεις κάμψης  $\text{-CH}_2$ . Στην περιοχή  $1400$  και  $1100\text{ cm}^{-1}$  και έχουμε δονήσεις τάσης  $\text{-C-C-}$  ( $1153\text{ cm}^{-1}$ ) καθώς και δονήσεις στρέψης και αιώρησης ( $1295$  και  $1256\text{ cm}^{-1}$ ) των μορίων πιπερίνης.

Το IR φάσμα του τριμμένου πιπεριού δείχνει συγκεκριμένες απορροφήσεις, όπως δονήσεις τάσης λόγω του  $\text{=C-O}$  στα  $1252$  και  $1194\text{ cm}^{-1}$ , καθώς επίσης και δονήσεις σείσης στα  $996\text{ cm}^{-1}$ . Το FT-IR μειονεκτεί συγκριτικά με το FT-Raman, επειδή το λαμβανόμενο φάσμα χαρακτηρίζεται από χαμηλότερη ανάλυση (Baranska et al., 2009).



A



B

Γ

Εικ.1.8 Ανάλυση πιπερίνης: α) Φάσμα IR, β) κορυφή στο HPLC και γ) φάσμα UV ([www.allianceingredients.com](http://www.allianceingredients.com))

Τέλος, η πιπερίνη μπορεί να διαχωρισθεί από τα υπόλοιπα συστατικά της ελαιορητίνης του *P. nigrum* με την μέθοδο της χρωματογραφίας λεπτής στοιβάδας (thin-layer chromatography - TLC και της υψηλής απόδοσης TLC (HPTLC), χρησιμοποιώντας ως κινητή φάση διάφορα μείγματα διαλυτών (π.χ. οξικού αιθυλεστέρα με βενζόλιο ή τολουόλιο, ακετόνη με εξάνιο κ.α.) ([www.allianceingredients.com](http://www.allianceingredients.com) – Epstein, 1993). Οι διαχωριζόμενες κουκίδες συγκρίνονται με αυτές ενός προτύπου πιπερίνης που επιστρώνεται στην ίδια πλάκα με το δείγμα. Ακολουθεί ψεκάσμος της πλάκας και σάρωση της από ένα πυκνόμετρο (densitometer), οπότε υπολογίζεται η περιεκτικότητα της πιπερίνης ([www.allianceingredients.com](http://www.allianceingredients.com)).

Ένα θέμα που έχει προκύψει από την συχνή παρουσία της πιπερίνης στα τρόφιμα, είναι η ανάγκη για την ανάπτυξη μεθόδου προσδιορισμού της στα υγρά του οργανισμού.

Αν και έχουν γίνει κάποιες προσπάθειες με μεθόδους HPTLC και HPLC, εν τούτοις δεν υπάρχει ακόμα κάποια ευαίσθητη και αναπαραγώγιμη μέθοδος για τον προσδιορισμό της πιπερίνης στα υγρά του ανθρώπινου οργανισμού (Bajad et al., 2002).

## 1.8 ΙΣΧΥΟΥΣΑ ΝΟΜΟΘΕΣΙΑ

Η ισχύουσα νομοθεσία της Ελλάδας σχετικά με το πιπέρι στηρίζεται στον Κώδικα Τροφίμων και Ποτών (ΚΤΠ) που αναφέρει στο Κεφάλαιο 4, άρθρο 42 (είδη κυρίως αρτυμάτων), παράγραφος 1, ότι «ως *Πέπερι* χαρακτηρίζονται οι αποξηραθέντες καρποί του φυτού *P. nigrum* που περιέχουν αιθέριο έλαιο σε ποσοστό τουλάχιστον 0,7% και υγρασία όχι παραπάνω από 15%». Έπειτα ακολουθεί διάκριση μεταξύ του μαύρου και του λευκού πιπεριού περιγράφοντας συνοπτικά την διαδικασία παρασκευής τους, συμπληρώνοντας ότι το μαύρο πιπέρι επιτρέπεται να περιέχει το πολύ 6% τέφρα και 2% αδιάλυτα συστατικά τέφρας σε υδροχλωρικό οξύ, ενώ τα όρια για το λευκό είναι 2,5% και 1% αντιστοίχως. Να επισημάνουμε ότι δεν γίνεται κάποια διάκριση μεταξύ των ολόκληρων καρπών πιπεριού και του τριμμένου, ενώ δεν γίνεται η παραμικρή αναφορά για την πιπερίνη που αποτελεί κύριο ποιοτικό χαρακτηριστικό του συγκεκριμένου προϊόντος.

Το χειρότερο είναι ότι η Ευρωπαϊκή Ένωση δεν έχει εκδώσει κάποια οδηγία ή κανονισμό σχετικά με τον ορισμό και τον διαχωρισμό των διαφόρων ειδών πιπεριού, καθώς και για τις ποιοτικές προδιαγραφές τους. Η απουσία οδηγίας ή κανονισμού από την Ε.Ε. είναι σημαντική, αφού συνήθως οι οργανισμοί των κρατών-μελών υιοθετούν τις εν λόγω διατάξεις και εναρμονίζουν αναλόγως τη νομοθεσία τους. Ο μοναδικός Ευρωπαϊκός οργανισμός που περιλαμβάνει ποιοτικές προδιαγραφές του πιπεριού είναι ο Ευρωπαϊκός Σύλλογος Μπαχαρικών (European Spice Association - ESA). Αναφέρει όρια τόσο για το μαύρο όσο και για το λευκό πιπέρι και αφορούν την τέφρα (ανώτατο όριο 7 και 3,5% αντιστοίχως), τα αδιάλυτα τέφρας σε οξύ (ανώτατο όριο 1,5 και 0,3% αντιστοίχως), την υγρασία (ανώτατο όριο 12% και για τα δύο είδη) και το αιθέριο έλαιο (κατώτατο όριο 2 και 1,5% αντιστοίχως). Κάθε χώρα και γεωγραφική περιοχή έχει τους δικούς της οργανισμούς που θέτουν τα δικά τους όρια, με πιο γνωστό τον Αμερικανικό Σύλλογο Εμπορίας Μπαχαρικών (American Spice Trade Association - ASTA), τα ποιοτικά όρια του οποίου για το πιπέρι ταυτίζονται με της ESA.

Από την άλλη, υπάρχουν ποιοτικές προδιαγραφές οργανισμών, όπως ο ISO (προδιαγραφές 959-1:1998 και 959-2:1998 για το μαύρο και λευκό πιπέρι αντίστοιχα) και της Σρι Λάνκα, μιας παραδοσιακής παραγωγού χώρας, που κάνουν σαφή διαχωρισμό ανάμεσα στο ολόκληρο και το τριμμένο, μαύρο και λευκό πιπέρι, παρουσιάζοντας ξεχωριστές ποιοτικές προδιαγραφές και περιλαμβάνουν επιπλέον παραμέτρους, όπως την περιεκτικότητα σε πιπερίνη, ακατέργαστες ίνες και μη πτητικά αιθερικά εκχυλίσματα.

Στον Πίνακα 1.5 παρουσιάζονται οι προδιαγραφές όλων των προαναφερθέντων οργανισμών προκειμένου να γίνει μια καλύτερη σύγκριση μεταξύ τους.

Πιν. 1.5 Ποιοτικές προδιαγραφές κατά ΚΤΠ, ESA, ASTA, ISO και Σρι Λάνκα:

Μ.Π.Α.Ε.: μη πτητικά αιθερικά εκχυλίσματα

Παράμετρος (%)	ΚΤΠ		ESA-ASTA		ISO*		Σρι Λάνκα*	
	Μαύρο	Λευκό	Μαύρο	Λευκό	Μαύρο	Λευκό	Μαύρο	Λευκό
Αιθέριο έλαιο	>0,7	>0,7	>2,0	>1,5	>1,0	>0,7	>1,5	>1,0
Πιπερίνη	-	-	-	-	>4,0	>4,0	>5,0	>5,0
Υγρασία	<15	<15	<12	<12	<13,0	<14,0	<13,0	<14,0
Τέφρα	<6	<2,5	<7,0	<3,5	<6,0	<3,5	<7,0	<3,5
Αδιάλ. τέφρας σε οξύ	<2	<1	<1,5	<0,3	<1,2	<0,3	<1,2	<0,5
Μ.Π.Α.Ε.	-	-	-	-	>6,0	>6,5	>10,0	>8,0
Ακατέργαστες ίνες	-	-	-	-	<17,5	<6,5	<17,5	<6,5

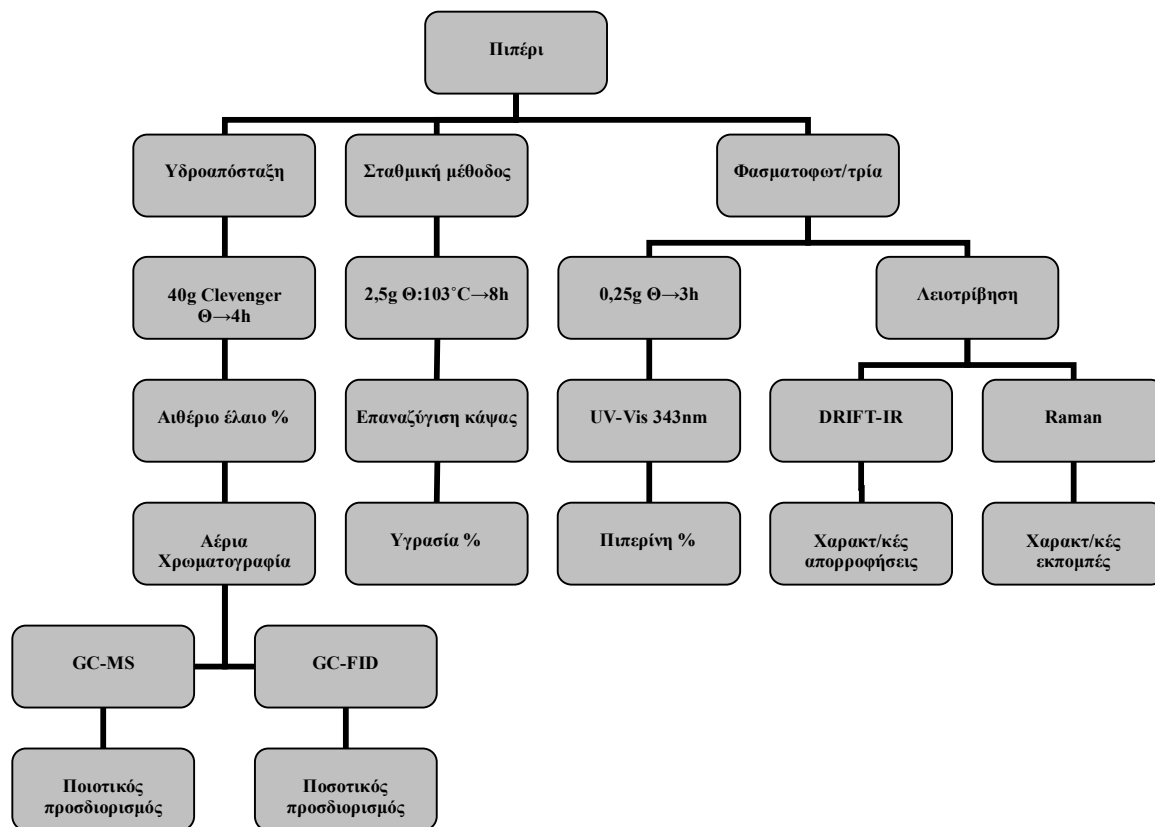
\* προδιαγραφές για το τριμμένο πιπέρι

## 1.9 ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ

Σκοπός της παρούσας εργασίας είναι η μελέτη της ποιότητας των τριμμένων πιπεριών που κυκλοφορούν στην Ελληνική αγορά σύμφωνα με τις τρέχουσες ελληνικές και διεθνείς προδιαγραφές. Βασικό τμήμα αποτελεί η μελέτη των κύριων ποιοτικών χαρακτηριστικών τους (αιθέριο έλαιο και πιπερίνη), τόσο με τις τρέχουσες τεχνικές και μεθόδους ανάλυσης ποιοτικού ελέγχου, όσο και με φασματοσκοπική μελέτη προκειμένου να γίνει μία προσπάθεια για την ανάπτυξη νέων, πιο σύντομων τεχνικών που θα μας παρέχουν πρόσθετες πληροφορίες και δεδομένα για το συγκεκριμένο προϊόν.

Επίσης, ένα άλλο κομμάτι αποτελεί η σύγκριση των αποτελεσμάτων με τα όρια της ισχύουσας ελληνικής νομοθεσίας, αλλά και του ISO και η αξιολόγηση προδιαγραφών των παραπάνω οργανισμών όσον αφορά την επάρκεια τους στην ποιοτική διασφάλιση του πιπεριού.

Το διάγραμμα ροής του πειραματικού μέρους της παρούσας εργασίας φαίνεται στο Σχήμα 1.8.



Σχ.1.8 Διάγραμμα ροής του πειραματικού μέρους

## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2: ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

### 2.1 ΥΛΙΚΑ

Στην εργασία μας εξετάστηκαν 13 «επόνυμα» πιπέρια (7 μαύρα και 6 λευκά) που κυκλοφορούν στην ελληνική αγορά. Η αγορά των συγκεκριμένων δειγμάτων έγινε σε διάφορα σημεία πώλησης (σούπερ μάρκετ). Επίσης χρησιμοποιήθηκε πρότυπο πιπερίνης από την εταιρεία Aldrich, καθαρότητας 97%.

Η εξέταση αφορούσε την περιεκτικότητα και την σύσταση σε αιθέριο έλαιο, την περιεκτικότητα σε πιπερίνη και την φασματοσκοπική μελέτη τους με τις τεχνικές IR(DRIFT) και Raman. Επίσης, έγινε και προσδιορισμός της υγρασίας για την αναγωγή των αποτελεσμάτων επί ξηρού προϊόντος.

Τα στοιχεία των εξεταζομένων πιπεριών παρουσιάζονται στον Πίνακα 3.1.

Πιν.3.1 Στοιχεία εξεταζομένων προϊόντων

Προϊόν	Είδος	Συσκευασία (g)	Ημ. Λήξεως	Πρόσθετα στοιχεία
Appetito	Μαύρο	70	12/2012	Πλαστική φιάλη
	Λευκό	70	12/2012	
Captain`s	Μαύρο	50	31/12/14	Πλαστικό κουτί
	Λευκό	25	31/12/14	
Carrefour	Μαύρο	40	23/04/2015	Γυάλινη φιάλη
	Λευκό	35	01/03/2015	
Ήλιος	Μαύρο	50	31/12/2015	Πλαστικό κουτί προέλευση Βιετνάμ
	Λευκό	50	31/12/2015	
Σκλαβενίτης	Μαύρο	50	30/10/2011	Φακελλάκι Προέλευση Βιετνάμ
	Λευκό	50	30/10/2011	
365	Μαύρο	50	31/12/2015	Φακελλάκι Προέλευση Βιετνάμ
	Λευκό	35	31/12/2015	
Dia	Μαύρο	50	07/2019	Φακελλάκι- Συσκευασία Λίρα Α.Ε. Αποστειρωμένο με ατμό

## **2.2 ΜΕΘΟΔΟΙ**

### **2.2.1 Προσδιορισμός των φυσικοχημικών χαρακτηριστικών**

#### **2.2.1.1 Προσδιορισμός υγρασίας**

Ο προσδιορισμός της υγρασίας έγινε σταθμικά ζυγίζοντας ποσότητα του προϊόντος (περίπου 2,5 g) σε προζυγισμένες πορσελάνινες κάψες. Οι κάψες μαζί με το δείγμα παρέμειναν σε φούρνο στους 103°C για 8h και μετά τοποθετήθηκαν σε ξηραντήρα μέχρι η θερμοκρασία τους να φτάσει αυτήν του περιβάλλοντος. Έπειτα ακολούθησε νέα ζύγιση και από την διαφορά βάρους υπολογίστηκε η % υγρασία.

#### **2.2.1.2 Περιεκτικότητα αιθερίου ελαίου**

Για την παραλαβή του αιθερίου ελαίου εφαρμόστηκε η τεχνική της υδροαπόσταξης με συσκευή Clevenger. Σε σφαιρική φιάλη των 1000mL, μεταφέρθηκαν 40 γραμμάρια δείγματος και 400mL απιονισμένου νερού. Για την επίτευξη «ήπιου» βρασμού χωρίς αναταράξεις και αφρούς, προστέθηκαν μερικά σφαιρίδια βρασμού και μικρή ποσότητα αντιαφριστικού Antifoam B της Sigma (περίπου 2mL). Έπειτα η φιάλη τοποθετήθηκε σε θερμομανδύα και συνδέθηκε με ψυκτήρα Allihn, οπότε ξεκίνησε η όλη διαδικασία της απόσταξης που είχε διάρκεια τέσσερις ώρες, από την στιγμή που άρχισε ο βρασμός. Με το τέλος του βρασμού έγινε ανάγνωση της ποσότητας του απεσταγμένου αιθερίου ελαίου, βάσει της βαθμονομημένης κλίμακας της συσκευής Clevenger και κατόπιν αναγωγή του αποτελέσματος επί τοις εκατό.

#### **2.2.1.3 Προσδιορισμός πιπερίνης**

Ο προσδιορισμός της πιπερίνης στηρίχθηκε στην φασματοφωτομετρική μέθοδο ISO 5564. Σύμφωνα με τη μέθοδο αυτή, ζυγίζονται 0,5 γραμμάρια προϊόντος (με ακρίβεια 0,0001g) σε σκουρόχρωμη σφαιρική φιάλη των 100mL. Προσθέτονται 50 mL αιθανόλης 96%, μερικά σφαιρίδια βρασμού, συνδέεται η φιάλη με ψυκτήρα και θερμαίνεται το όλο σύστημα μέχρι βρασμού για 3 ώρες. Έπειτα αφήνεται η φιάλη να κρυώσει και κατόπιν



φιλτράρεται το περιεχόμενο της σε μια ογκομετρική φιάλη των 100mL και συμπληρώνουμε μέχρι τη χαραγή με αιθανόλη. Με τη βοήθεια σιφωνίου, 5 mL από το διάλυμα μεταφέρονται σε ογκομετρική φιάλη των 50mL και συμπληρώνουμε πάλι μέχρι τη χαραγή με αιθανόλη. Τέλος, από το διάλυμα των 50mL μεταφέρουμε 5 mL σε ογκομετρική φιάλη των 25mL και συμπληρώνουμε ξανά μέχρι την χαραγή με αιθανόλη. Ποσότητα του τελευταίου διαλύματος μεταφέρεται σε κυψελίδα υπεριώδους, πάχους 1cm και γίνεται μέτρηση της απορρόφησης σε φασματοφωτόμετρο στα 343nm, χρησιμοποιώντας ως τυφλό αιθανόλη. Η περιεκτικότητα της πιπερίνης υπολογίζεται βάσει του παρακάτω τύπου:

$$\frac{A}{A'} \times \frac{50}{5} \times \frac{25}{5} \times \frac{100}{m} \times \frac{100}{100 - H} \quad (1)$$

όπου: m, η μάζα του δείγματος σε γραμμάρια

H, η υγρασία του δείγματος

A, η απορρόφηση του διαλύματος του δείγματος

A', η απορρόφηση διαλύματος πιπερίνης 1% στις ίδιες συνθήκες (343nm, κυψελίδα πάχους 1cm), που ισοδυναμεί με 1238

Στην πράξη και προκειμένου να εξοικονομήσουμε αντιδραστήριο, χρησιμοποιήθηκαν σχεδόν οι μισές ποσότητες και όγκοι. Πιο συγκεκριμένα, στην σφαιρική φιάλη των 100mL μεταφέρθηκαν 0,25g δείγματος και 25 mL αιθανόλης. Στο πείραμα μας χρησιμοποιήθηκε για την θέρμανση υδατόλουτρο βρασμού, και ελλείψει σκουρόχρωμης φιάλης, η φιάλη τυλίχτηκε με αλουμινόχαρτο για την αποφυγή έκθεσης του διαλύματος στο φως. Μετά τον βρασμό των 3h, το διήθημα μεταφέρθηκε σε ογκομετρική φιάλη των 50 mL, από όπου με σιφώνιο μεταφέρθηκαν 2,5 mL σε ογκομετρική φιάλη των 25 mL και από εκεί 4 mL σε ογκομετρική φιάλη των 20 mL (και οι τρεις ογκομετρικές φιάλες συμπληρώθηκαν μέχρι την χαραγή με αιθανόλη). Οπότε ο τύπος (1) μετατράπηκε στον παρακάτω:

$$\frac{A}{A'} \times \frac{25}{2,5} \times \frac{20}{4} \times \frac{50}{m} \times \frac{100}{100 - H} \quad (2)$$

Οι μετρήσεις της απορρόφησης έγιναν σε φασματοφωτόμετρο UV-Vis διπλής δέσμης, της Hitachi (μοντέλο UV 3000).

## 2.2.2 Προσδιορισμός συστατικών αιθερίου ελαίου

Το παραπάνω απεσταγμένο έλαιο μεταφέρθηκε, μέσω της στρόφιγγας της συσκευής Clevenger, σε μικρό φιαλίδιο που έκλεισε ερμητικά με πώμα και με την βοήθεια παραφίλμ, και φυλάχθηκε στην κατάψυξη μέχρι να έρθει η στιγμή να αναλυθεί το δείγμα περαιτέρω. Πριν την ανάλυση και για την αποφυγή παρουσίας υγρασίας, το απόσταγμα μεταφέρθηκε σε σύριγγα των 2,5mL, όπου είχε προστεθεί ποσότητα άνυδρου  $MgSO_4$  και προσαρμοσθεί φίλτρο, οπότε και φιλτραρίστηκε.

Η ανάλυση των αιθερίων ελαίων έγινε με την τεχνική της αέριας χρωματογραφίας, σε χρωματογράφο 5890 series II της Hewlett Packard. Η στήλη ήταν Rtx-5MS της Restek με μήκος 30m, εσωτερική διάμετρο 0,25mm και διάμετρο του υλικού πλήρωσης 0,25 $\mu$ m. Ως φέρον αέριο χρησιμοποιήθηκε ήλιο, με ροή περίπου 1mL/min. Η ενέσιμη ποσότητα των δειγμάτων ήταν 1 $\mu$ L και κάθε δείγμα αναλύθηκε δύο φορές, περνώντας από διαφορετικό ανιχνευτή κάθε φορά. Αρχικά από MS για τον ποιοτικό και μετά από FID για τον ποσοτικό προσδιορισμό των συστατικών. Τα χαρακτηριστικά των προγραμμάτων του GC-MS και του GC-FID φαίνονται στον Πίνακα 3.2.

Το μοντέλο του φασματογράφου μαζών ήταν Hewlett-Packard 5972 και ήταν συνδεδεμένος με αντλία κενού. Για την ταυτοποίηση των συστατικών, συγκρίθηκαν τα φάσματα μαζών που ελήφθησαν με δύο ηλεκτρονικές βιβλιοθήκες, τη Nist 98 και την Wiley 275, και μία έντυπη, του Adams.

Πιν.2.2 Χαρακτηριστικά των προγραμμάτων GC-MS και GC-FID

Χαρακτηριστικά προγράμματος	GC-MS	GC-FID
Αρχική θερμοκρασία (°C)	60	60
Τελική θερμοκρασία (°C)	250	250
Ρυθμός αύξησης θερμοκρασίας (°C/min)	3	3
Θερμοκρασία εισαγωγής δείγματος (°C)	220	220
Θερμοκρασία ανιχνευτή (°C)	290	300
Διάρκεια προγράμματος (min)	63	63

### 2.2.3 Φασματοσκοπική μελέτη με FT-IR και Raman

Τα πιπέρια, αλλά και δείγμα πρότυπης πιπερίνης, εξετάστηκαν στο υπέρυθρο φάσμα, τόσο σε φασματοφωτόμετρο FT-IR με την τεχνική της διάχυτης ανάκλασης (Diffuse Reflectance Fourier Transformed - DRIFT), όσο και σε Raman. Το μοντέλο του φασματομέτρου που χρησιμοποιήθηκε για την IR(DRIFT) ήταν το 6700 FT-IR της Nicolet και για την Raman το Advantage NIR της DeltaNu, με πηγή ακτινοβολίας στα 785nm.

Η διαδικασία ήταν πολύ απλή και στις δύο περιπτώσεις, καθώς η μόνη προεπεξεργασία που έγινε σε κάθε δείγμα, ήταν να λειοτριβηθεί σε ιγδίο προκειμένου να γίνει όσο το δυνατόν περισσότερο λεπτόκοκκο. Έπειτα τοποθετήθηκε ποσότητα δείγματος στον εκάστοτε δειγματολήπτη και καταγράφηκε το αντίστοιχο φάσμα. Η μόνη προσοχή που δόθηκε ήταν το δείγμα στον δειγματολήπτη, να έχει όσο το δυνατόν ομαλή μετωπική επιφάνεια.

## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3: ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ-ΣΥΖΗΤΗΣΗ

### 3.1 ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΤΩΝ ΦΥΣΙΚΟΧΗΜΙΚΩΝ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΩΝ

Τα αποτελέσματα όλων των αναλύσεων που αφορούν τις φυσικοχημικές παραμέτρους, παρουσιάζονται στον Πίνακα 3.1, με αυτά των στηλών των αιθερίων ελαίων και της πιπερίνης να έχουν αναχθεί επί ξηρού προϊόντος. Επίσης, όλες οι μετρήσεις των συγκεκριμένων αναλύσεων (περιεκτικότητα σε υγρασία, αιθέρια έλαια, πιπερίνη), παρουσιάζονται αναλυτικά στο Παράρτημα (σελ. 102).

Πιν.3.1 Συνολικά αποτελέσματα αναλύσεων

Προϊόν	Είδος	Υγρασία (%)	Αιθέρια έλαια επί ξηρού (%)	Πιπερίνη επί ξηρού (%)
Appetito	Μαύρο	10,3	2,64	5,55
	Λευκό	10,6	1,39	5,84
Captain`s	Μαύρο	8,6	1,37	5,79
	Λευκό	9,4	1,10	5,80
Carrefour	Μαύρο	10,4	2,78	5,60
	Λευκό	10,3	1,23	5,91
‘Ηλιος	Μαύρο	9,2	1,38	6,08
	Λευκό	9,8	1,24	5,61
Σκλαβενίτης	Μαύρο	10,5	3,07	5,97
	Λευκό	11,4	2,12	5,98
365	Μαύρο	10,8	3,23	6,39
	Λευκό	11,2	2,11	5,77
Dia - Λίρα	Μαύρο	8,8	1,08	6,35

#### 3.1.1 Περιεκτικότητα υγρασίας

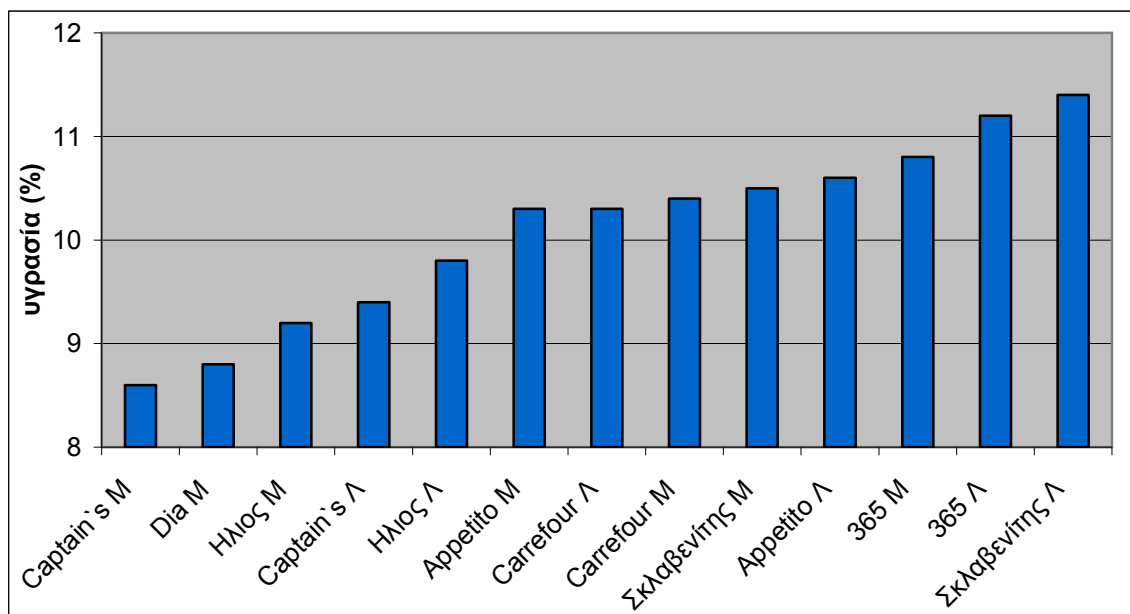
Η υγρασία των πιπεριών κυμαίνεται από 8,6 (“Captain`s” μαύρο) έως 11,4% (“Σκλαβενίτης” λευκό), έχοντας μέση τιμή  $10,1 \pm 0,8\%$ . Τα μαύρα πιπέρια με τιμές από 8,6 (“Captain`s”) μέχρι 10,8% (“365”) και μέση τιμή  $9,8 \pm 0,9\%$ , έχουν την τάση να περιέχουν λιγότερη υγρασία σε σχέση με τα λευκά που έχουν εύρος τιμών 9,4 (“Captain`s”) με 11,4% (“Σκλαβενίτης”) και μέση τιμή  $10,5 \pm 0,8\%$ , χωρίς να αποκλείεται η ύπαρξη λευκών πιπεριών με μικρότερη υγρασία από ορισμένα μαύρα (π.χ. λευκά “Captain`s” και “‘Ηλιος”

με υγρασία 9,4 και 9,8% αντιστοίχως, έναντι μαύρων “Appetito”, “Carrefour”, “Σκλαβενίτη” και “365” με υγρασίες 10,3-10,8%).

Γενικά συναντάμε στην βιβλιογραφία παρόμοια ποσοστά υγρασίας με αυτά που καταγράψαμε, ενδεχομένως και λίγο υψηλότερα. Ο Nair (2004) θεωρεί ότι το πιπέρι μετά την διαδικασία της ξήρανσης περιέχει 8,7-14,0%. Πράγματι, οι Perakis et al. (2005) βρήκαν την υγρασία σε δείγμα μαύρου πιπεριού 9%, ενώ οι Joy et al. (2002) εξέτασαν τρεις ποικιλίες του *P. nigrum* των οποίων η υγρασία κυμαινόταν από 10,4-14,4%. Οι Parthasarathy et al. (2005) αναφέρουν ότι το μαύρο και λευκό τριμμένο πιπέρι για να είναι αποδεκτά πρέπει να έχουν υγρασία που να μην ξεπερνά το 12 και 14% αντιστοίχως. Επίσης, ο ISO αναφέρει ως ανώτατο όριο υγρασίας στο τριμμένο πιπέρι, το 13% για το μαύρο και το 14% για το λευκό, επιβεβαιώνοντας την διαπίστωση μας σχετικά με την τάση των μαύρων πιπεριών να περιέχουν λιγότερη υγρασία από τα λευκά. Τέλος, κρίνοντας τα προϊόντα βάσει της ελληνικής νομοθεσίας, διαπιστώνουμε ότι είναι σύμφωνα με τον ΚΤΠ, αφού ο τελευταίος αναφέρει ότι η υγρασία δεν πρέπει να ξεπερνά το 15%.

Πιν.3.2 Περιεκτικότητα υγρασίας

Προϊόν	Appetito		Captain`s		Carrefour		‘Ηλιος		Σκλαβ/της		365		Dia
	M	Λ	M	Λ	M	Λ	M	Λ	M	Λ	M	Λ	M
Υγρασία (%)	10,3	10,6	8,6	9,4	10,4	10,3	9,2	9,8	10,5	11,4	10,8	11,2	8,8



Σχ.3.1 Κατάταξη των πιπεριών βάσει της υγρασίας

Πάντως, συγκρίνοντας το συγκεκριμένο όριο σε σχέση με άλλων οργανισμών (ISO, ESA, ASTA) που δεν ξεπερνούν το 14%, βλέπουμε ότι είναι το υψηλότερο. Επίσης, μία υγρασία της τάξης του 15% δεν μπορεί να θεωρηθεί και αμελητέα, ενώ δεν πρέπει να ξεχνάμε ότι το πιπέρι, αφού ανοιχτεί η συσκευασία του, παραμένει στο ντουλάπι ενός σπιτιού για μεγάλο χρονικό διάστημα και να επηρεαστεί η ποιότητα του προϊόντος. Ίσως λοιπόν να απαιτείται μια αναθεώρηση του ΚΤΠ στην συγκεκριμένη παράμετρο προς τα κάτω, τουλάχιστον κατά μία μονάδα.

Κάνοντας λοιπόν έναν σχολιασμό, μπορούμε να πούμε ότι η υγρασία στα δείγματα μας κρίνεται φυσιολογική και εντός αποδεκτών ορίων τόσο της ελληνικής νομοθεσίας και των διεθνών προδιαγραφών ποιότητας, όσο και της βιβλιογραφίας. Τα μαύρα πιπέρια περιέχουν σε γενικές γραμμές λιγότερη υγρασία από τα λευκά, αλλά υπάρχουν και μεμονωμένες περιπτώσεις όπου συμβαίνει το αντίθετο. Το ανώτατο όριο του 15% που ορίζει ο ΚΤΠ, είναι το υψηλότερο συγκρινόμενο με τα όρια άλλων οργανισμών και ενδεχομένως να πρέπει να μειωθεί τουλάχιστον κατά μία μονάδα για την καλύτερη διασφάλιση της ποιότητας του προϊόντος.

### 3.1.2 Περιεκτικότητα αιθερίου ελαίου

Η περιεκτικότητα των δειγμάτων σε αιθέριο έλαιο επί ξηρού προϊόντος, κυμαίνεται από 1,08 (“Dia” μαύρο) μέχρι 3,23% (“365” μαύρο), με μέση τιμή  $1,90 \pm 0,76\%$ . Στα μαύρα κυμαίνεται από 1,08 (“Dia” μαύρο) ως 3,23% (“365” μαύρο), ενώ στα λευκά από 1,10 (“Captain’s” λευκό) μέχρι 2,12% (“Σκλαβενίτης” λευκό). Σε γενικές γραμμές, τα μαύρα πιπέρια παρουσιάζουν μεγαλύτερη περιεκτικότητα σε αιθέριο έλαιο σε σχέση με τα λευκά (μέσες τιμές  $2,22 \pm 0,90\%$  και  $1,53 \pm 0,56\%$  αντιστοίχως), χωρίς πάλι να αποκλείονται οι περιπτώσεις λευκών πιπεριών πιο πλούσιων σε αιθέριο έλαιο από κάποια μαύρα. Χαρακτηριστικότερο παράδειγμα, τα λευκά “365” και “Σκλαβενίτης” (2,11 και 2,12 % αντιστοίχως) σε σχέση με τα μαύρα “Dia”, “Captain’s”, “Ήλιος” (1,08%-1,38%).

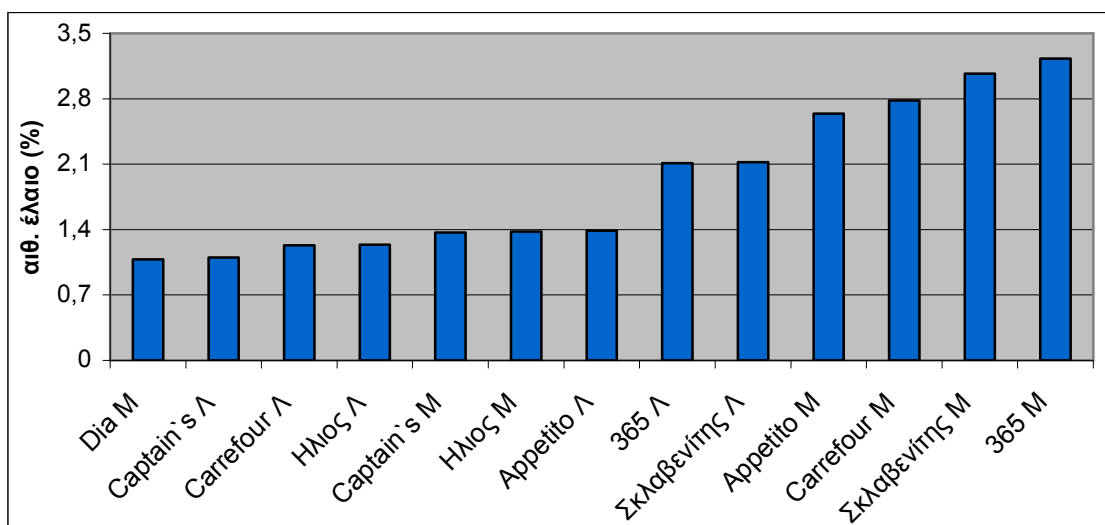
Πιν.3.3 Περιεκτικότητα αιθερίου ελαίου επί ξηρού

Προϊόν	Appetito		Captain`s		Carrefour		Ήλιος		Σκλαβ/της		365		Dia
	M	Λ	M	Λ	M	Λ	M	Λ	M	Λ	M	Λ	M
Αιθ. έλαιο (%)	2,64	1,39	1,37	1,10	2,78	1,23	1,38	1,24	3,07	2,12	3,23	2,11	1,08

Οι παραπάνω τιμές είναι μέσα στο εύρος τιμών που συναντάμε στη βιβλιογραφία., καθώς αναφέρονται περιεκτικότητες από 1,1 έως 5,1% (Jirovetz et al., 2002 - Joy et al., 2002 - Perakis et al., 2005 - Singh et al., 2004 - Parthasarathy et al., 2005), ενώ σύμφωνα με τους Parthasarathy et al. (2005) το τριμμένο μαύρο και λευκό πιπέρι πρέπει να περιέχει τουλάχιστον 1,5 % αιθέριο έλαιο.

Σύμφωνα με τα προαναφερθέντα, οι τιμές που βρήκαμε είναι φυσιολογικές, αλλά σε ορισμένες περιπτώσεις θα μπορούσαν να χαρακτηρισθούν χαμηλές (“Appetito” λευκό, “Captain’s” μαύρο, “Captain’s” λευκό, “Carrefour” λευκό, ““Ηλιος” μαύρο, ““Ηλιος” λευκό και “Dia” μαύρο – τιμές 1,08 με 1,39%). Από την άλλη τα υψηλότερα ποσοστά παρουσιάζουν τα “365” μαύρο, “Σκλαβενίτης” μαύρο, “Carrefour” μαύρο, “Appetito” μαύρο, “Σκλαβενίτης” λευκό, “365” λευκό (ξεκινώντας από 3,23 και καταλήγοντας σε 2,11% αντιστοίχως).

Να επισημάνουμε ότι τα “365” και “Σκλαβενίτης”, που είναι συσκευασμένα σε φακελλάκι, είναι τα πιο πλούσια σε αιθέρια έλαια (τα μαύρα 3,23 και 3,07% αντιστοίχως), ενώ τα αντίστοιχα λευκά τους είναι τα μόνα της κατηγορίας τους που η περιεκτικότητα σε αιθέριο έλαιο ξεπερνά το 1,5% (2,12% για τον “Σκλαβενίτη” και 2,11% για το “365”). Φαίνεται ότι αυτός ο τρόπος συσκευασίας εξασφαλίζει καλύτερα την ποιότητα του προϊόντος από τυχόν απώλειες σημαντικών συστατικών, όπως το αιθέριο έλαιο. Αντιθέτως, οι φιάλες (πλαστικές και γυάλινες) και το πλαστικό κουτί ενδεχομένως να οδηγούν σε τέτοιου είδους απώλειες. Ειδικά το πλαστικό κουτί είναι η συσκευασία πιπεριών φτωχών σε αιθέριο έλαιο (“Captain’s” και ““Ηλιος”, με περιεκτικότητα από 1,10-1,38%), ενώ στα “Captain’s” υπήρχε η τάση να αποσπάται σχετικά εύκολα το πώμα της συσκευασίας, με ό,τι μπορεί να συνεπάγεται σχετικά με την περιεκτικότητα σε αιθέριο έλαιο.



Σχ.3.2 Κατάταξη των πιπεριών βάσει του αιθερίου ελαίου

Παρ' όλα αυτά, ακόμα και οι χαμηλές τιμές που βρήκαμε είναι εντός των προδιαγραφών του ISO και του ΚΤΠ που θέτουν όρια, 1 και 0,7% επί ξηρού για το μαύρο και λευκό τριμμένο πιπέρι ο πρώτος και 0,7% γενικά για το πιπέρι ο δεύτερος. Τα συγκεκριμένα όρια κρίνονται χαμηλά τόσο όσον αφορά τη βιβλιογραφία (δεν συναντήσαμε τιμή κάτω του 1,1%), όσο και τις προδιαγραφές των ESA και ASTA (2,0 και 1,5% για το μαύρο και το λευκό), αλλά και της Σρι Λάνκα (1,5 και 1,0% για το μαύρο και το λευκό τριμμένο πιπέρι). Έχοντας υπ' όψιν ότι αναφερόμαστε στην περιεκτικότητα μιας από τις κύριες ποιοτικές παραμέτρους του πιπεριού, θεωρούμε ότι πρέπει να αναθεωρηθούν τα όρια των ISO και ΚΤΠ ως προς την περιεκτικότητα σε αιθέριο έλαιο σε υψηλότερο ποσοστό από τα τωρινά. Επίσης, όσον αφορά τον ΚΤΠ θα πρέπει να γίνουν ξεχωριστά όρια για το μαύρο και το λευκό πιπέρι, καθώς υπάρχει μια σαφής τάση των μαύρων πιπεριών να περιέχουν περισσότερο αιθέριο έλαιο από τα λευκά. Η υιοθέτηση των ορίων που έχει η Σρι Λάνκα (1,5 και 1,0% για το μαύρο και λευκό τριμμένο πιπέρι αντίστοιχα) φαίνεται μια καλή και λογική επιλογή προκειμένου να διασφαλιστεί η υψηλή ποιότητα του προϊόντος

Άρα, σα συμπέρασμα μπορούμε να πούμε ότι η περιεκτικότητα των δειγμάτων σε αιθέριο έλαιο κρίνονται φυσιολογικές, αν και 7 πιπέρια είναι μάλλον φτωχά με περιεκτικότητα κάτω του 1,5%. Γενικώς, τα μαύρα πιπέρια περιέχουν περισσότερο αιθέριο έλαιο από τα λευκά, αν και υπάρχουν λευκά πιπέρια που περιέχουν περισσότερο αιθέριο έλαιο από ορισμένα μαύρα. Η συσκευασία σε φακελλάκι ενδεχομένως βοηθάει στην διατήρηση του αιθερίου ελαίου σε καλά επίπεδα, ενώ αντίθετα το πλαστικό κουτί συνδέεται με προϊόντα χαμηλής περιεκτικότητας σε αιθέριο έλαιο. Τα προϊόντα είναι σύμφωνα με την ελληνική νομοθεσία και το ISO, αλλά τα όρια τους χρειάζονται αναθεώρηση, καθώς κρίνονται αρκετά χαμηλά για έναν τόσο σημαντικό ποιοτικό παράγοντα. Επίσης, κρίνεται απαραίτητη για τον ΚΤΠ και η θέσπιση ξεχωριστών ορίων για το μαύρο και το λευκό πιπέρι.

### **3.1.3 Περιεκτικότητα πιπερίνης**

Όσον αφορά την πιπερίνη, αυτή κυμαίνεται σε ποσοστά 5,55% (“Appetito” μαύρο) με 6,39% (“365” μαύρο). Αν και δεν εμφανίζουν μεγάλες διαφορές μεταξύ τους, τα μαύρα πιπέρια δείχνουν να περιέχουν έστω και οριακά περισσότερη πιπερίνη από τα λευκά. Στα λευκά κυμαίνεται από 5,77 (“365” λευκό) μέχρι 5,98% (“Σκλαβενίτης” λευκό) με μέση τιμή  $5,82 \pm 0,28\%$  και στα μαύρα από 5,55 (“Appetito” μαύρο) μέχρι 6,39%

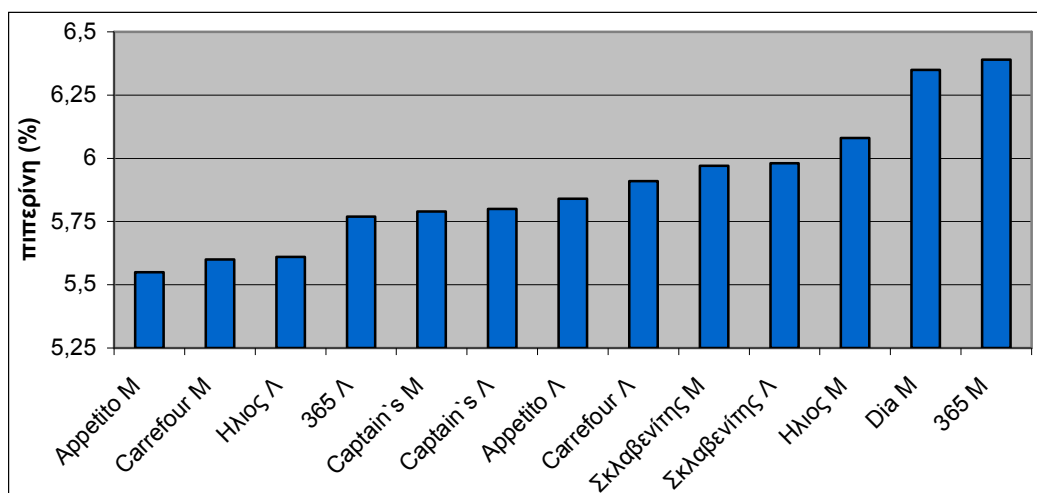


(“365” μαύρο) με μέση τιμή  $5,96 \pm 0,32\%$ . Το γεγονός ότι τα μαύρα πιπέρια περιέχουν μεγαλύτερες συγκεντρώσεις αιθερίων ελαίων και παρόμοιες πιπερίνης από τα λευκά, δικαιολογείται από το γεγονός ότι το λευκό πιπέρι περιέχει τα ίδια αλκαλοειδή με το μαύρο, αλλά περιέχει μικρές μόνο ποσότητες αιθερίου ελαίου (Erstein et al., 1993).

Στην βιβλιογραφία συναντάμε διάφορες περιεκτικότητες πιπερίνης, από 1,7 μέχρι 7,4% (Parthasarathy et al., 2005 – Perakis et al., 2005 - Joy et al., 2002 – Suresh, Manjunatha, Srinivasan, 2007 – Wood et al., 1988 - Nair 2004), αλλά συνήθως κυμαίνεται μεταξύ 3 και 7% (Ribeiro, Freire-de-Lima, Previato, Mendonca-Previato, Heise, Freire de Lima, 2004). Βάσει των παραπάνω, τα δείγματα μας μπορούν να χαρακτηρισθούν σχετικά πλούσια σε πιπερίνη. Θα πρέπει πάντως να σημειώσουμε ότι οι UV μέθοδοι έχουν την τάση να παρουσιάζουν ελαφρώς υψηλότερη περιεκτικότητα πιπερίνης συγκρινομένη με τις αντίστοιχες HPLC, επειδή άλλα αλκαλοειδή, όπως η πιπεριλίνη και η πιπεριτίνη, ενδεχομένως να συνεισφέρουν στην απορρόφηση σε ποσοστό που μπορεί να φθάσει και το 24% (Barceloux, 2009 – Wood et al., 1988). Επομένως, μια μικρή μεταβολή στην απορρόφηση μπορεί να οδηγήσει σε αυξημένη περιεκτικότητα πιπερίνης.

Πιν.3.4 Περιεκτικότητα πιπερίνης επί ξηρού

Προϊόν	Appetito		Captain`s		Carrefour		Ήλιος		Σκλαβ/της		365		Dia
	M	Λ	M	Λ	M	Λ	M	Λ	M	Λ	M	Λ	M
Πιπερίνη (%)	5,55	5,84	5,79	5,80	5,60	5,91	6,08	5,61	5,97	5,98	6,39	5,77	6,35



Σχ.3.3 Κατάταξη των πιπεριών βάσει της πιπερίνης

Όσον αφορά τις διάφορες ποιοτικές προδιαγραφές, το ISO αναφέρει ως κατώτατο όριο πιπερίνης επί ξηρού το 4% και για το μαύρο και για το λευκό τριμμένο πιπέρι, ενώ τα αντίστοιχα όρια των ποιοτικών προδιαγραφών της Σρι Λάνκα είναι υψηλότερο, της τάξης του 5%, ομοίως και για τα δύο είδη τριμμένου πιπεριού. Από την άλλη, εντύπωση προκαλεί η απουσία ορίων σχετικά με την πιπερίνη από έγκυρους και διεθνούς κύρους οργανισμούς, όπως οι ESA και ASTA. Ομοίως και από τον ΚΤΠ απουσιάζει οποιαδήποτε αναφορά σχετικά με την περιεχόμενη πιπερίνη. Επομένως για άλλη μία φορά ο ΚΤΠ κρίνεται ελλιπής και φτωχός ως προς τις ποιοτικές προδιαγραφές του πιπεριού.

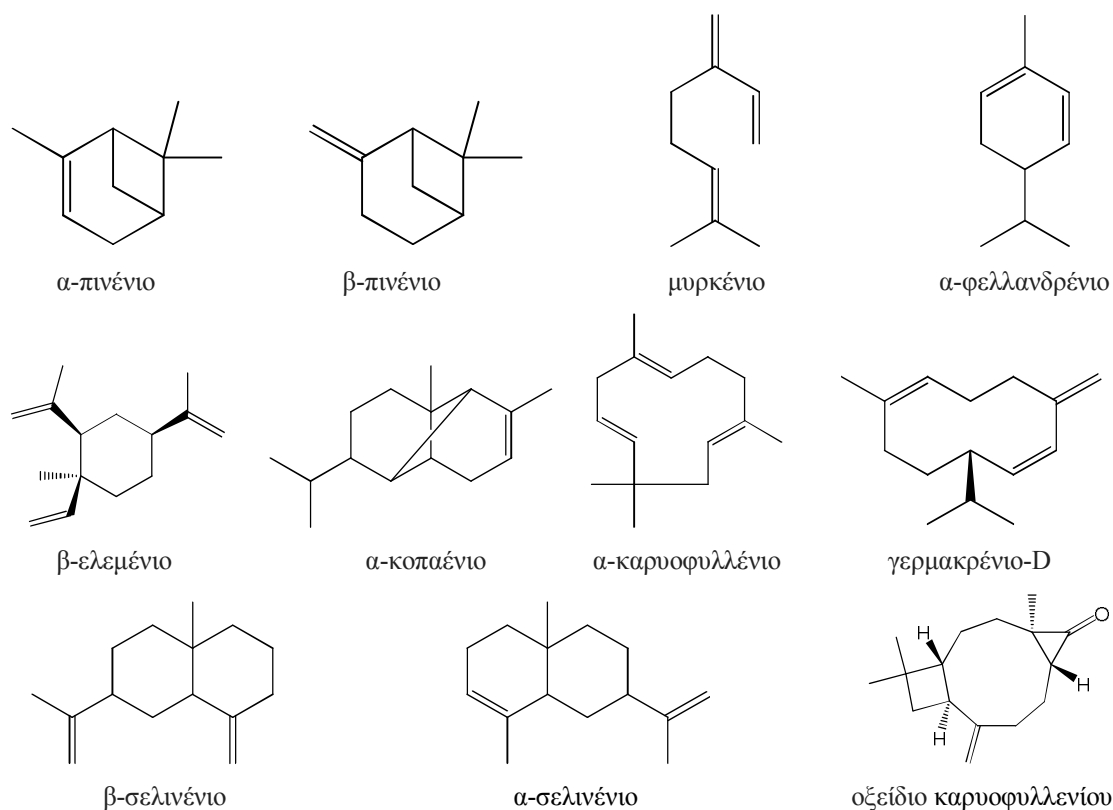
Συμπερασματικά, τόσο τα μαύρα όσο και τα λευκά πιπέρια που εξετάσαμε, περιέχουν παρόμοια ποσοστά πιπερίνης, κοντά στο 6%. Βάσει της βιβλιογραφίας οι περιεκτικότητες που καταγράψαμε κρίνονται ικανοποιητικές. Η «πραγματική» περιεκτικότητα τους σε πιπερίνη όμως, ενδέχεται να είναι χαμηλότερη, λόγω πιθανής απορρόφησης στο ίδιο μήκος κύματος και άλλων, παρόμοιας χημικής δομής, αλκαλοειδών. Ο ΚΤΠ για άλλη μια φορά δείχνει ανεπαρκής, καθώς δεν περιέχει κάποια αναφορά σχετικά με την πιπερίνη. Η υιοθέτηση της προδιαγραφής του ISO με την εισαγωγή κατώτατου ορίου 4% στην νομοθεσία της χώρας μας, θεωρείται αναγκαία για έναν τόσο σημαντικό ποιοτικό δείκτη, όπως η πιπερίνη.

### **3.2 ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ GC- MS/FID**

Τα αέρια χρωματογραφήματα διακρίνονται σε τρεις περιοχές. Η πρώτη μεταξύ 9,9 - 17,5 RT % που περιλαμβάνει κορυφές που οφείλονται κυρίως σε μονοτερπένια, η δεύτερη μεταξύ 21,3 - 24,5 RT % που περιλαμβάνει κορυφές που οφείλονται σε μονο- και σεσκι-τερπενοειδή που απαντώνται σε μικρές συγκεντρώσεις και η τρίτη μεταξύ 29,0 - 42,5 RT % που περιλαμβάνει κορυφές που οφείλονται κυρίως σε σεσκιτερπένια. Συνολικά ταυτοποιήθηκαν 33 κορυφές, ενώ δύο δεν κατέστη δυνατόν να ταυτοποιηθούν (κορυφές 34 και 35 – Πίνακες 3.7A και 3.7B). Από τις 33, οι 13 αντιστοιχούν σε μονοτερπένια, οι 14 σε σεσκιτερπένια, και από 3 σε μονο- και σεσκι-τερπενοειδή. Οι πέντε κύριες κορυφές των φασμάτων μαζών των δύο αγνώστων χημικών ενώσεων, ξεκινώντας από την πρώτη σε αφθονία και καταλήγοντας στην πέμπτη, αντιστοιχούν σε μάζες 119, 43, 91, 159 και 105 (κορυφή 34), και 136, 41, 69, 91 και 79 (κορυφή 35).

Με μια πρώτη ματιά, διαπιστώνουμε ότι το κύριο συστατικό των αιθερίων ελαίων όλων των εξεταζομένων πιπεριών, είναι το β-καρυοφυλλένιο σε ποσοστά που κυμαίνονται από 32,83 έως 53,87%. Έπειτα ακολουθούν το δ-3-καρένιο (1,91-23,20%), το λεμονένιο

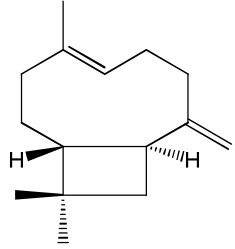
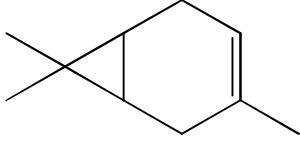
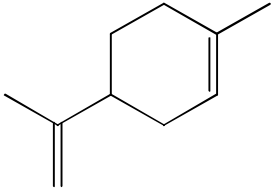
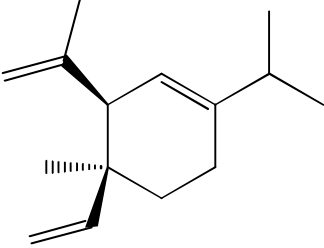
(2,11-14,97%) και το δ-ελεμένιο (2,18-6,04%). Σε σημαντικά ποσοστά βρίσκεται επίσης το β-πινένιο (1,07-6,65%), το α-καρνοφυλλένιο (1,79-3,59%), το α-πινένιο (0,92-5,74%) και το οξείδιο του καρνοφυλλενίου (0,25-5,19%). Σε μικρότερες συγκεντρώσεις απαντάται το μυρκένιο (0,59-2,91%), το β-σελινένιο (0,63-3,62%), το β-ελεμένιο (0,84-2,95%), το α-σελινένιο (0,46-3,58%), το α-φελλανδρένιο (0,23-2,16%), το α-κοπαένιο (0,53-1,73%) και το γερμακρένιο-D (0,12-4,30%). Τα υπόλοιπα συστατικά απαντώνται σε ακόμα μικρότερες συγκεντρώσεις και σε ορισμένες μόνο περιπτώσεις ξεπερνούν το 1%.



Σχ.3.4 Ορισμένα συστατικά των εξεταζομένων αιθερίων ελαίων

Σε 9 πιπέρια υπερισχύει ως δεύτερο συστατικό το δ-3-καρένιο (“Appetito” λευκό, “Captain’s” μαύρο και λευκό, “Carrefour” λευκό, “Ήλιος” λευκό, “Σκλαβενίτης” μαύρο και λευκό, “365” μαύρο και λευκό), σε 3 πιπέρια το λεμονένιο (“Appetito” μαύρο, “Carrefour” μαύρο, “Ήλιος” μαύρο) και σε ένα το δ-ελεμένιο (“Dia” μαύρο). Το άθροισμα των τεσσάρων κύριων συστατικών (β-καρνοφυλλένιο, δ-3-καρένιο, λεμονένιο, δ-ελεμένιο) κυμαίνεται στα πιπέρια από 60,98 (“Dia” μαύρο) μέχρι 76,21% (“Appetito” λευκό).

Πιν.3.5 Τα κυριότερα τερπένια των εξεταζομένων αιθερίων ελαίων

	
β-καροφυλλένιο	δ-3-καρένιο
M.T.: C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	M.T.: C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>
IUPAC: 4,11,11-τριμεθυλ-8-μεθυλενο-δικυκλο[7.2.0]ενδεκ-4-ένιο	IUPAC: (1S)-3,7,7-τριμεθυλ-δικυκλο[4.1.0]επτ-3-ένιο
M.B.: 204,36 g/mol	M.B.: 136,23 g/mol
	
λεμονένιο	δ-ελεμένιο
M.T.: C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	M.T.: C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>
IUPAC: 1-μεθυλ-4-(1-μεθυλαιθενυλ)-κυκλοεξένιο	IUPAC: (3R-trans)-4-αιθενυλ-4-μεθυλ-3-(1-μεθυλαιθενυλ)-1-(1-μεθυλαιθυλ)-κυκλοεξένιο
M.B.: 136,23 g/mol	M.B.: 204,36 g/mol

Πιν.3.6 Ταξινόμηση των συστατικών των αιθερίων ελαίων

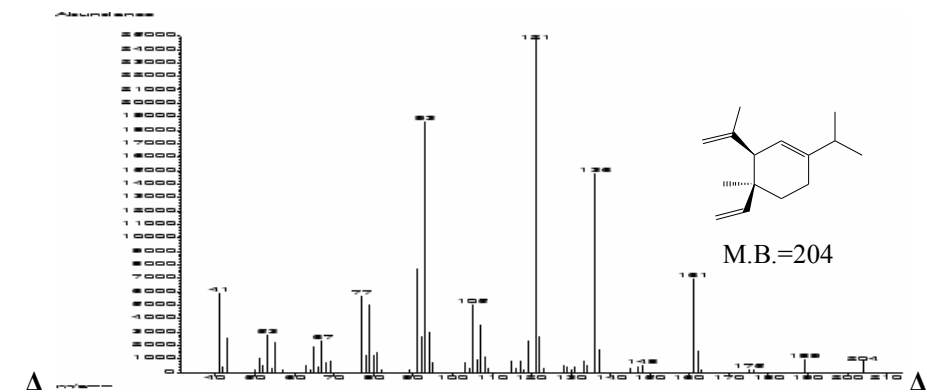
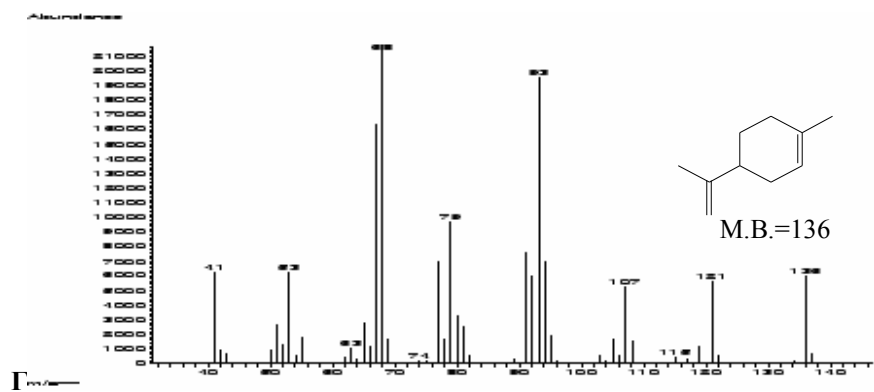
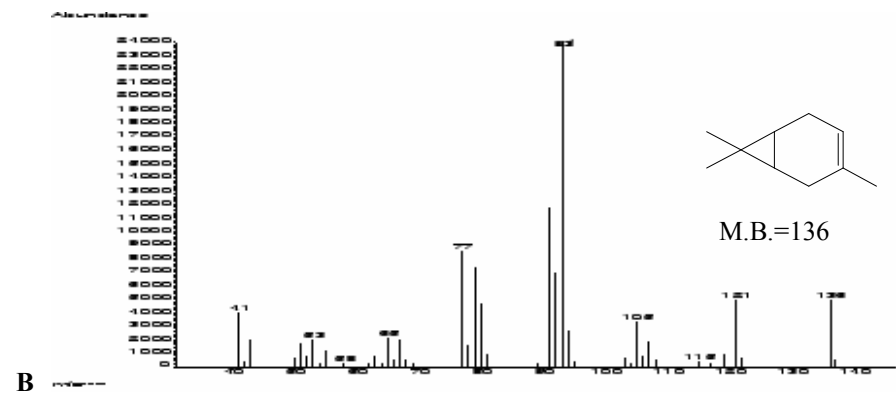
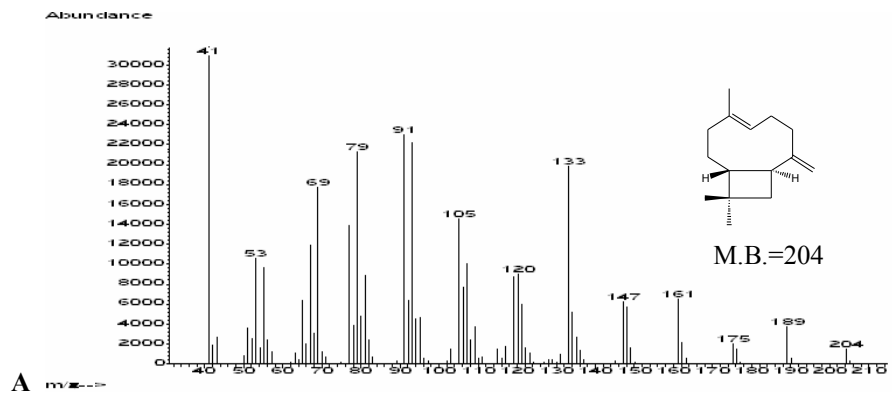
Μονοτερπένια	Σεσκιτερπένια	Μονοτερπενοειδή	Σεσκιτερπενοειδή
α-θουγένιο	δ-ελεμένιο	λιναλόλη	κυμιναλδεΐδη
α-πινένιο	α-κουβεβένιο	τερπινεν-4-όλη	νερολιδόλη
σαβινένιο	α-κοπαένιο	α-τερπινεόλη	οξείδι καροφυλλενίου
β-πινένιο	β-ελεμένιο		
μυρκένιο	β-καροφυλλένιο		
α-φελλανδρένιο	α-γουριουνένιο		
δ-3-καρένιο	trans β-φαρνεσένιο		
π-κυμένιο	α-καροφυλλένιο		
λεμονένιο	γερμακρένιο-D		
συλβεστρένιο	β-σελινένιο		
β-φελλανδρένιο	α-σελινένιο		
γ-τερπινένιο	β-βισαμπολένιο		
τερπινολένιο	δ-καδινένιο		
	γερμακρένιο -B		

Πιν.3.7-Α Σύσταση αιθερίων ελαίων (%)

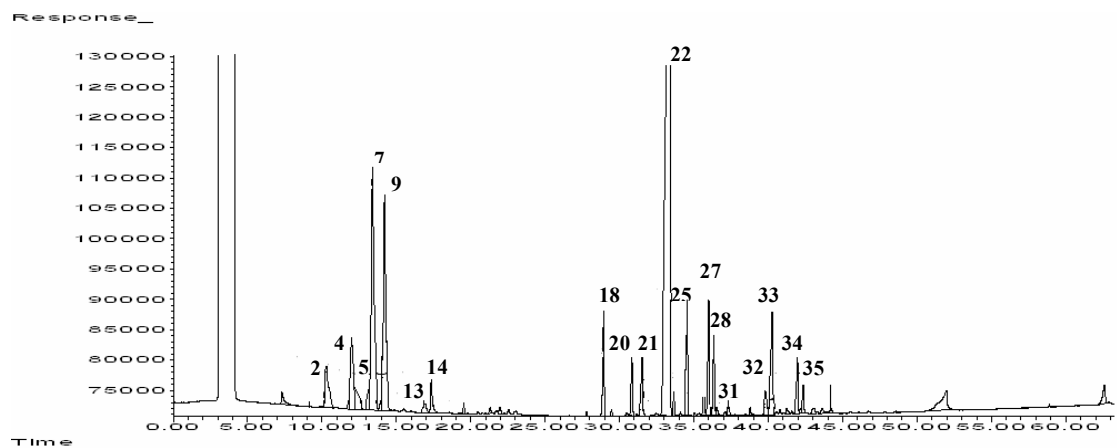
α/α	Συστατικό (%)	RT%	Appetito		Captain's		Carrefour		Βιβλ/κη
			Μ	Λ	Μ	Λ	Μ	Λ	
1	α-θουγένιο	9,938	-	-	-	-	0,24	-	Wiley 275
2	α-πινένιο	10,235	0,97	0,95	2,48	2,39	1,30	1,35	Nist 98
3	σαβινένιο	11,790	0,95	-	0,21	0,36	3,00	-	Wiley 275
4	β-πινένιο	11,991	2,88	2,06	3,11	3,99	5,09	2,14	Nist 98
5	μυρκένιο	12,327	1,44	1,40	1,67	2,30	1,80	1,43	Nist 98
6	α-φελλανδρένιο	13,092	0,86	1,22	1,06	1,25	0,92	0,97	Nist 98
7	δ-3-καρένιο	13,416	6,87	10,79	10,32	15,40	7,53	8,23	Nist 98
8	π-κυμένιο	13,961	0,09	0,69	0,46	0,95	0,34	0,34	Wiley 275
9	λεμονένιο	14,247	10,83	8,89	7,92	9,09	12,85	6,06	Nist 98
10	συλβεστρένιο	14,912	0,04	0,04	0,08	0,08	-	-	Adams
11	β-φελλανδρένιο	15,156	0,03	0,12	0,07	0,06	0,03	-	Wiley 275
12	γ-τερπινένιο	15,502	0,25	0,23	0,04	0,15	0,38	-	Nist 98
13	τερπινολένιο	16,895	0,76	1,04	0,50	0,58	0,69	0,73	Nist 98
14	λιναλόλη	17,340	0,87	0,38	0,96	0,59	0,40	0,36	Nist 98
15	τερπινεν-4-όλη	21,306	0,40	0,11	0,15	0,27	0,61	-	Nist 98
16	α-τερπινεόλη	21,944	0,18	0,50	0,20	0,36	0,14	0,35	Nist 98
17	κυμιναιδεύδη	24,480	-	1,39	-	-	-	-	Adams
18	δ-ελεμένιο	28,985	3,19	5,94	2,24	2,18	3,58	7,72	Nist 98
19	α-κουβεβένιο	29,470	0,20	-	0,15	-	0,12	-	Nist 98
20	α-κοπαένιο	30,823	1,73	0,92	1,34	0,53	1,47	1,21	Nist 98
21	β-ελεμένιο	31,527	1,99	1,17	1,88	1,10	1,36	1,29	Nist 98
22	β-καρνοφυλλένιο	33,453	51,80	50,59	45,39	41,47	45,33	53,87	Nist 98
23	α-γουριουνένιο	33,673	0,25	0,56	0,43	0,58	0,20	0,44	Adams
24	τρανς β-φαρνεσένιο	34,068	0,18	0,14	0,13	0,10	0,15	0,10	Wiley 275
25	α-καρνοφυλλένιο	34,498	2,80	2,75	2,59	2,50	2,42	2,83	Nist 98
26	γερμακρένιο-D	35,594	0,24	0,12	0,80	0,14	0,42	0,31	Nist 98
27	β-σελινένιο	35,985	2,31	0,65	2,60	0,82	1,46	0,72	Nist 98
28	α-σελινένιο	36,325	1,83	0,53	1,81	0,60	1,63	0,60	Nist 98
29	β-βισαμπολένιο	36,567	0,26	0,25	0,41	0,22	0,36	0,22	Wiley 275
30	δ-καδινένιο	37,326	0,53	0,48	0,56	0,37	0,62	0,53	Nist 98
31	νερολιδόλη	39,047	0,18	-	0,15	0,31	0,15	0,11	Nist 98
32	γερμακρένιο Β	39,649	-	0,13	0,88	0,16	0,51	0,16	Adams
33	οξ. καρνοφυλλενίου	40,247	2,83	2,28	2,98	5,19	1,50	2,70	Nist 98
34	άγνωστη	41,960	0,40	1,72	1,37	2,08	0,86	2,34	
35	άγνωστη	42,485	-	0,66	0,62	1,17	-	1,24	
	Σύνολο		98,14	98,70	95,56	97,34	97,46	98,35	

Πιν.3.7-B Σύσταση αιθερίων ελαίων (%)

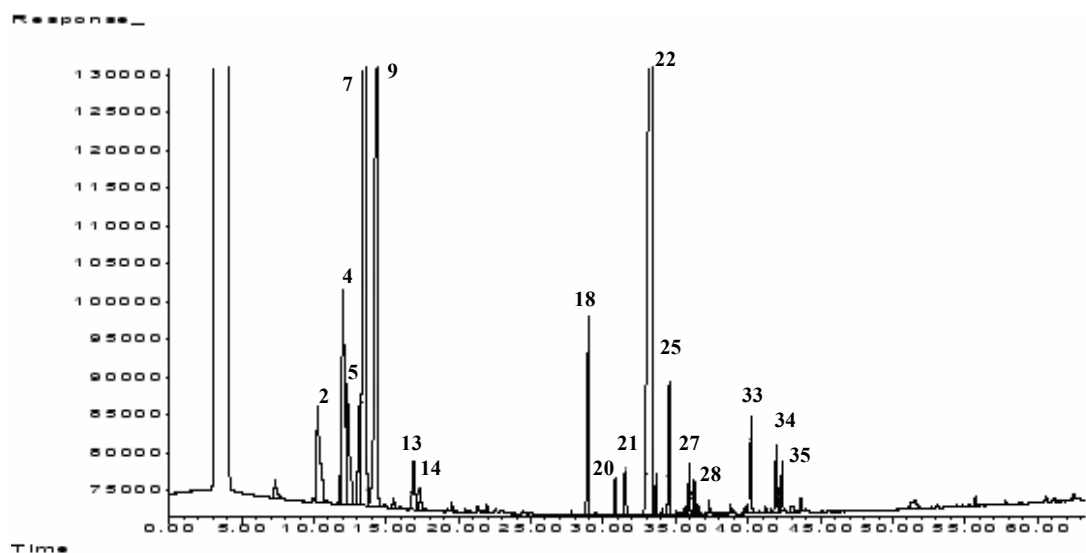
α/α	Συστατικό (%)	RT%	Ήλιος		Σκλαβενίτης		365		Dia	Βιβλ/κη
			M	Λ	M	Λ	M	Λ	M	
1	α-θουγένιο	9,938	-	-	-	-	-	-	-	Wiley 275
2	α-πινένιο	10,235	3,26	1,97	3,44	2,74	5,74	3,26	0,92	Nist 98
3	σαβινένιο	11,790	-	-	-	0,37	0,02	0,45	-	Wiley 275
4	β-πινένιο	11,991	3,60	3,26	4,97	5,47	6,65	5,88	1,07	Nist 98
5	μυρκένιο	12,327	1,97	1,63	2,18	2,82	2,90	2,91	0,59	Nist 98
6	α-φελλανδρένιο	13,092	1,24	1,06	1,88	2,16	2,00	2,15	0,23	Nist 98
7	δ-3-καρένιο	13,416	10,17	11,68	12,24	21,75	15,80	23,19	1,91	Nist 98
8	π-κυμένιο	13,961	-	0,19	-	0,06	-	0,15	0,09	Wiley 275
9	λεμονένιο	14,247	12,39	7,17	11,19	14,64	14,97	14,03	2,11	Nist 98
10	συλβεστρένιο	14,912	0,09	0,09	-	0,12	0,05	0,10	-	Adams
11	β-φελλανδρένιο	15,156	-	-	0,05	0,05	0,08	0,04	-	Wiley 275
12	γ-τερπινένιο	15,502	-	-	0,21	0,22	0,21	0,22	-	Nist 98
13	τερπινολένιο	16,895	0,84	0,52	1,11	1,25	1,03	1,1	0,16	Nist 98
14	λιναλόλη	17,340	0,60	0,51	0,48	0,36	0,35	0,35	0,57	Nist 98
15	τερπινεν-4-όλη	21,306	-	0,14	-	0,11	-	-	-	Nist 98
16	α-τερπινεόλη	21,944	0,22	0,23	0,12	0,27	0,14	0,10	0,23	Nist 98
17	κυμναλδεΐδη	24,480	-	-	-	-	-	-	-	Adams
18	δ-ελεμένιο	28,985	4,76	3,12	5,98	3,65	4,30	2,80	6,04	Nist 98
19	α-κουβεβένιο	29,470	0,17	-	0,14	-	0,11	-	0,18	Nist 98
20	α-κοπαένιο	30,823	1,02	0,66	1,69	0,60	0,96	0,53	1,08	Nist 98
21	β-ελεμένιο	31,527	2,12	1,57	2,23	0,91	1,58	0,84	2,95	Nist 98
22	β-καρυοφυλλένιο	33,453	42,37	47,83	38,53	35,93	33,14	32,83	50,92	Nist 98
23	α-γουριουνένιο	33,673	0,55	0,57	0,88	0,51	0,44	0,47	0,72	Adams
24	τρανς β-φαρνεσένιο	34,068	0,07	0,11	0,16	0,07	0,10	0,12	0,11	Wiley 275
25	α-καρυοφυλλένιο	34,498	2,63	2,86	2,72	1,83	2,00	1,79	3,59	Nist 98
26	γερμακρένιο-D	35,594	2,57	0,22	2,11	0,17	1,84	0,15	4,30	Nist 98
27	β-σελινένιο	35,985	2,40	0,94	2,51	0,63	1,75	0,65	3,62	Nist 98
28	α-σελινένιο	36,325	1,96	0,65	2,05	0,46	1,47	0,48	3,58	Nist 98
29	β-βισαμπολένιο	36,567	0,41	0,11	0,62	0,19	0,38	0,20	0,20	Wiley 275
30	δ-καδινένιο	37,326	0,53	0,59	0,62	0,24	0,43	0,23	0,91	Nist 98
31	νερολιδόλη	39,047	-	0,18	-	-	-	0,10	0,13	Nist 98
32	γερμακρένιο B	39,649	-	0,19	-	-	-	0,12	-	Adams
33	οξ.καρυοφυλλενίου	40,247	1,24	4,86	0,25	1,06	0,35	1,70	2,32	Nist 98
34	άγνωστη	41,960	1,22	3,17	-	0,55	0,49	1,00	3,21	
35	άγνωστη	42,485	0,18	1,59	-	0,35	-	0,69	0,35	
	Σύνολο		98,40	97,67	98,36	99,19	99,28	98,64	92,09	



Σχ.3.5 Φάσματα μαζών: Α: β-καροφυλλενίου, Β: δ-3-καρενίου,  
Γ: λεμονενίου, Δ: δ-ελεμενίου



A



B

Σχ.3.6 Χρωματογράφημα GC-FID: “Captain`s” μαύρο (επάνω) και “365” λευκό (κάτω), με επισημασμένες τις κύριες κορυφές

Η υπεροχή του β-καρνοφυλλένιου χαρακτηρίζεται αναμενόμενη, αφού στο σύνολο σχεδόν της βιβλιογραφίας το συγκεκριμένο συστατικό είναι το κυρίαρχο του αιθερίου ελαίου του πιπεριού με ποσοστά που ποικίλουν από 13,9 έως 65,7%. Ακόμα και στις περιπτώσεις που δεν είναι το πρώτο σε συγκέντρωση συστατικό, συγκαταλέγεται στα τέσσερα κύρια συστατικά με ποσοστά άνω του 6%. Αναμενόμενη είναι επίσης η υψηλή συγκέντρωση του λεμονενίου, καθώς και αυτό κατατάσσεται από πολλούς ερευνητές στα κύρια συστατικά και περιέχεται σε σημαντικές συγκεντρώσεις συνήθως μεταξύ 10 και



19%. Το δ-3-καρένιο είναι επίσης από τα διαδεδομένα συστατικά, αν και η συγκέντρωση του ποικίλει από πολύ μικρές συγκεντρώσεις (κάτω του 1%) έως και πολύ μεγάλες (32,7%). Συνήθως όμως βρίσκεται σε ποσοστά μεταξύ 5 και 15%, ενώ υπολείπεται των β-καρνοφυλλενίου και λεμονενίου, αλλά χωρίς να αποκλείεται και η περίπτωση να είναι το πρωτεύον συστατικό. Τέλος, όσον αφορά το δ-ελεμένιο είναι συστατικό που απαντάται στο αιθέριο έλαιο των πιπεριών, αλλά σε σαφώς μικρότερες συγκεντρώσεις που δεν ξεπερνούν το 4% (Jirovetz et al., 2002 – Perakis et al., 2005 – Plessi et al., 2002- Rouatbi et al., 2007 - Schulz et al., 2005 - Singh et al., 2004).

Η σύσταση του αιθερίου ελαίου, όπως είδαμε, εξαρτάται από πολλούς παράγοντες, κυρίως λόγω της διαφορετικής προέλευσης των εκάστοτε εξεταζομένων πιπεριών (Rouatbi et al., 2007). Έτσι δεν θα πρέπει να μας εκπλήσσει το γεγονός ότι οι συγκεντρώσεις των συστατικών που καταγράφονται στην παρούσα εργασία, ενδεχομένως να είναι διαφορετικές από τις αντίστοιχες που αναφέρονται στη βιβλιογραφία. Το πιο χαρακτηριστικό παράδειγμα αποτελεί το σαβινένιο που ανιχνεύεται σε πολύ μικρές συγκεντρώσεις (με εξαίρεση το “Carrefour” μαύρο που αντιστοιχεί στο 3%, στα υπόλοιπα 12 πιπέρια είναι από 1% έως και καθόλου), ενώ στη βιβλιογραφία συνήθως αναφέρεται σε συγκεντρώσεις που ξεκινούν από το 2,5 και φθάνουν στο 13,0% (Jirovetz et al., 2002 – Rouatbi et al., 2007 - Singh et al., 2004), με τους Rouatbi et al. (2007) να το κατατάσσουν στα κύρια συστατικά του αιθερίου ελαίου του μαύρου πιπεριού. Από τα υπόλοιπα συστατικά αξίζει να σταθούμε στο β-πινένιο που συνήθως αναφέρεται ως ένα από τα κύρια συστατικά που βρίσκεται σε μεγάλες συγκεντρώσεις από 6,7-10,2% (Jirovetz et al., 2002 – Rouatbi et al., 2007 - Singh et al., 2004), ενώ εδώ ανήκει στα δευτερεύοντα με συγκεντρώσεις μεταξύ 1,07-6,65% (“Dia” και “365” μαύρο αντιστοίχως) και μέση τιμή που δεν υπερβαίνει το 4% ( $3,86 \pm 1,60\%$ ).

Συγκρίνοντας τα πιπέρια μεταξύ τους διαπιστώνουμε ότι αν και διαφέρουν ως προς τη σύσταση των επιμέρους συστατικών, παρουσιάζουν τρία προφίλ ως προς την περιεκτικότητα τους σε μονο- και σεσκι-τερπένια, και μονο- και σεσκι-τερπενοειδή. Το πρώτο αντιπροσωπεύει εννέα πιπέρια (“Appetito” μαύρο-λευκό, “Captain’s” μαύρο-λευκό, “Carrefour” μαύρο-λευκό, “Ηλιος” μαύρο-λευκό, “Σκλαβενίτης” μαύρο) όπου υπερισχύουν τα σεσκιτερπένια (50,77-70,00%) και ακολουθούν τα μονοτερπένια (21,25-37,27%). Το δεύτερο απαντάται σε τρία πιπέρια (“Σκλαβενίτης” λευκό, “365” μαύρο-λευκό) και υπερισχύουν έστω και οριακά τα μονοτερπένια (49,45-53,49%) των σεσκιτερπενίων (41,21-48,50%). Τέλος, το τρίτο αφορά το “Dia” μαύρο, με κύριο χαρακτηριστικό την ιδιαίτερα χαμηλή περιεκτικότητα των μονοτερπενίων (7,08%) και αντιθέτως την πολύ υψηλή περιεκτικότητα σεσκιτερπενίων (78,20%).

Η υπεροχή των σεσκιτερπενίων δεν πρέπει να μας εκπλήσσει, καθώς η οικογένεια των Piperaceae δείχνουν μία προτίμηση στην σύνθεση σεσκιτερπενίων, τα οποία είναι

συνήθως τα κυρίαρχα συστατικά, αν και τα μονοτερπένια είναι επίσης ευρέως διαδεδομένα (Dos Santos et al., 2001). Πάντως, υπάρχουν αναφορές που υποστηρίζουν ότι στο πιπέρι τα μονοτερπένια κυμαίνονται μεταξύ 30-70% και είναι τα κυρίαρχα συστατικά, αφήνοντας δεύτερα τα σεσκιτερπένια με ποσοστά μεταξύ 25-45% (Schulz et al., 2005 - Nair, 2004).

Πιν3.8 Περιεκτικότητα των αιθερίων ελαίων σε τερπένια και τερπενοειδή

Προϊόν	Είδος	Μονο- τερπένια %	Σεσκι- τερπένια %	Μονο- τερπενοειδή %	Σεσκι- τερπενοειδή %
<b>Appetito</b>	Μαύρο	25,97	67,31	1,45	3,01
	Λευκό	27,43	64,23	0,99	3,67
<b>Captain`s</b>	Μαύρο	27,92	61,21	1,31	3,13
	Λευκό	36,60	50,77	1,22	5,50
<b>Carrefour</b>	Μαύρο	34,17	59,63	1,15	1,65
	Λευκό	21,25	70,00	0,71	2,81
<b>Ήλιος</b>	Μαύρο	33,56	61,56	0,82	1,24
	Λευκό	27,57	59,42	0,88	5,04
<b>Σκλαβενίτης</b>	Μαύρο	37,27	60,24	0,60	0,25
	Λευκό	51,65	45,19	0,74	1,06
<b>365</b>	Μαύρο	49,45	48,50	0,49	0,35
	Λευκό	53,49	41,21	0,45	1,80
<b>Dia</b>	Μαύρο	7,08	78,20	0,80	2,45

Τα μονο- και σεσκι-τερπενοειδή (που περιέχουν δηλαδή οξυγόνο στο μόριο τους) υπολείπονται κατά πολύ των άλλων δύο ομάδων και στα τρία προφίλ (0,45-1,45% και 0,25-5,50% αντιστοίχως), με τα μονοτερπενοειδή να αποτελούν την λιγότερο άφθονη ομάδα, αφού μόνο σε δύο πιπέρια (“Σκλαβενίτης” μαύρο και “365” μαύρο) ξεπερνούν τα σεσκιτερπενοειδή. Για αυτές τις δύο κατηγορίες ενώσεων είναι αναμενόμενη η χαμηλότερη συγκέντρωση σε σχέση με τα μονο- και σεσκι-τερπένια, αφού το συνολικό ποσοστό τους, κυμαίνεται συνήθως στο 5% (Ferreira et al., 1993 – Nair, 2004).

Ένα πρόβλημα που συναντάται συχνά κατά την απόσταξη, είναι η παραλαβή αιθερίου ελαίου φτωχού σε σεσκιτερπένια και οξυγονούχες ενώσεις. Για παράδειγμα, η απόσταξη με ατμό δίνει αιθέριο έλαιο που περιέχει 70-80% μονοτερπένια, 20-30% σεσκιτερπένια και λιγότερο από 4-5% οξυγονούχες ενώσεις (Nair, 2004 - Jagella et al., 1999). Η χαμηλή περιεκτικότητα σε σεσκιτερπένια, μόνο- και σεσκι-τερπενοειδή, ενώσεις δηλαδή με υψηλό σημείο ζέσεως, οφείλεται στην ατελή απόσταξη και την μικρή ανάκτηση. Γι’ αυτό και η απόσταξη υπό κενό, όπου αποφεύγονται οι υψηλές

θερμοκρασίες, δίνει συγκριτικά λιγότερα μονοτερπένια και περισσότερα σεσκιτερπένια και οξυγονούχες ενώσεις (Nair, 2004). Σύμφωνα με τα παραπάνω και κρίνοντας από το ποσοστό των σεσκιτερπενίων θα μπορούσαμε να ισχυριστούμε ότι η απόσταξη που εφαρμόσαμε ήταν ικανοποιητική.

Η σύσταση του αιθερίου ελαίου δεν δείχνει να εξαρτάται ιδιαίτερα από το είδος του πιπεριού (μαύρο ή λευκό), αφού δεν διαπιστώνουμε κάποια χαρακτηριστική μεταβολή συστατικών που θα μας οδηγούσε σε ένα τέτοιο συμπέρασμα. Το ίδιο ισχύει και για τις ομάδες των τερπενίων (μονο-, σεσκι-τερπένια και μονο-, σεσκι-τερπενοειδή). Παρ' όλα αυτά παρατηρούνται κάποιες μεμονωμένες διαφορές στο προφίλ των μαύρων και λευκών πιπεριών που έχουν ενδιαφέρον. Για παράδειγμα, η παρουσία του α-κουβεβένιου σε όλα τα μαύρα πιπέρια, έστω και σε πολύ μικρές συγκεντρώσεις (0,11-0,20%), και η ταυτόχρονη απουσία του από τα αντίστοιχα λευκά, καθώς και η τάση του δ-3-καρενίου να περιέχεται σε υψηλότερα ποσοστά στα λευκά πιπέρια σε σχέση με τα μαύρα (8,23-23,19% έναντι 1,91-15,80%). Επίσης, ενώ τα α- και β-σελινένια περιέχονται στα μαύρα πιπέρια σε ποσοστά που υπερβαίνουν το 1% (1,46-3,62 και 1,47-3,58% αντιστοίχως), στα λευκά είναι σταθερά κάτω από αυτό το ποσοστό (0,63-0,94 και 0,46-0,65% αντιστοίχως). Τέλος, η άγνωστη κορυφή 35 έχει την τάση να εμφανίζεται σε υψηλότερα ποσοστά στα λευκά από ότι στα μαύρα πιπέρια (0,35-1,59 έναντι 0-0,62%).

Πιν.3.9 Σύγκριση συστατικών αιθερίων ελαίων μεταξύ μαύρων και λευκών πιπεριών

Πιπέρι	Συστατικό (%)									
	δ-3-καρένιο		α-κουβεβένιο		β-σελινένιο		α-σελινένιο		άγνωστη 35	
	M	Λ	M	Λ	M	Λ	M	Λ	M	Λ
<b>Appetito</b>	6,87	10,79	0,20	-	2,31	0,65	1,83	0,53	-	0,66
<b>Captain`s</b>	10,32	15,40	0,15	-	2,60	0,82	1,81	0,60	0,62	1,17
<b>Carrefour</b>	7,53	8,23	0,12	-	1,46	0,72	1,63	0,60	-	1,24
<b>Ήλιος</b>	10,17	11,68	0,17	-	2,40	0,94	1,96	0,65	0,18	1,59
<b>Σκλαβενίτης</b>	12,24	21,75	0,14	-	2,51	0,63	2,05	0,46	-	0,35
<b>365</b>	15,80	23,19	0,11	-	1,75	0,65	1,47	0,48	-	0,69
<b>Dia</b>	1,91	-	0,18	-	3,62	-	3,58	-	0,35	-
<b>M. Όρος</b>	9,26	15,17	0,15	-	2,38	0,74	2,04	0,55	0,16	0,95

Πιν.3.10 Μέσο προφίλ αιθερίου ελαίου πιπεριού (Α) της ελληνικής αγοράς  
και των ειδών του: μαύρο (Β) και λευκό (Γ)

α/α	Συστατικό (%)	Α	Β	Γ
		Πιπέρι	Μαύρο	Λευκό
1	α-θουγένιο	0,02	0,03	-
2	α-πινένιο	2,37	2,59	2,11
3	σαβινένιο	0,41	0,60	0,20
4	β-πινένιο	3,86	3,91	3,80
5	μυρκένιο	1,93	1,79	2,08
6	α-φελλανδρένιο	1,31	1,17	1,47
7	δ-3-καρένιο	11,99	9,26	15,17
8	συλβεστρένιο	0,05	0,04	0,07
9	π-κυμένιο	0,26	0,14	0,40
10	λεμονένιο	10,16	10,32	9,98
11	β-φελλανδρένιο	0,04	0,04	0,05
12	γ-τερπινένιο	0,15	0,16	0,14
13	τερπινολένιο	0,79	0,73	0,87
14	λιναλόλη	0,52	0,60	0,43
15	τερπινεν-4-όλη	0,14	0,17	0,11
16	α-τερπινεόλη	0,23	0,18	0,30
17	κυμιναλδεΰδη	0,11	-	0,23
18	δ-ελεμένιο	4,27	4,30	4,24
19	α-κουβεβένιο	0,08	0,15	-
20	α-κοπαένιο	1,06	1,33	0,74
21	β-ελεμένιο	1,61	2,02	1,15
22	β-καρνοφυλλένιο	43,85	43,93	43,75
23	α-γουριουνένιο	0,51	0,50	0,52
24	τρανς β-φαρνεσένιο	0,12	0,13	0,11
25	α-καρνοφυλλένιο	2,56	2,68	2,43
26	γερμακρένιο-D	1,03	1,75	0,19
27	β-σελινένιο	1,62	2,38	0,74
28	α-σελινένιο	1,36	2,05	0,55
29	β-βισαμπολένιο	0,29	0,38	0,20
30	δ-καδινένιο	0,51	0,60	0,41
31	νερολιδόλη	0,10	0,09	0,12
32	γερμακρένιο Β	0,17	0,20	0,13
33	οξ. καρνοφυλλενίου	2,25	1,64	2,97
34	άγνωστη	1,42	1,08	1,81
35	άγνωστη	0,53	0,16	0,95

Ανακεφαλαιώνοντας, μπορούμε να πούμε ότι το κυρίαρχο συστατικό των εξεταζομένων αιθερίων ελαίων είναι το β-καρυφυλλένιο (μέση τιμή  $43,85 \pm 6,87\%$ ) και ακολουθούν τα δ-3-καρένιο, λεμονένιο και δ-ελεμένιο (αντίστοιχες μέσες τιμές  $11,99 \pm 5,66\%$ ,  $10,16 \pm 3,62\%$  και  $4,27 \pm 1,64\%$ ). Επειδή η σύσταση των αιθερίων ελαίων εξαρτάται από διάφορους παράγοντες, η περιεκτικότητα των επιμέρους συστατικών δεν συμφωνεί απολύτως με την βιβλιογραφία. Χαρακτηριστικά παραδείγματα αποτελούν το σαβινένιο και το β-πινένιο που καταγράφονται σε σαφώς μικρότερες συγκεντρώσεις από αυτές που αναφέρουν άλλοι ερευνητές. Τα σεσκιτερπένια είναι η κυρίαρχη κατηγορία ενώσεων των αιθερίων ελαίων σε 10 πιτέρια υπερσχύοντας των μονοτερπενίων, ενώ σε 3 ισχύει το αντίθετο. Επιπλέον, τα σεσκιτερπενοειδή και τα μονοτερπενοειδή περιέχονται σε αρκετά μικρότερα ποσοστά, με τα δεύτερα να αποτελούν την λιγότερο διαδεδομένη ομάδα. Η διαδικασία απόσταξης που εφαρμόστηκε για την απομόνωση του αιθερίου ελαίου κρίνεται ικανοποιητική, καθώς δεν φαίνεται να είχαμε μεγάλες απώλειες σεσκιτερπενίων. Τέλος, αν και απουσιάζουν χαρακτηριστικές διαφορές των προφίλ αιθερίων ελαίων των μαύρων και λευκών πιπεριών, εν τούτοις παρατηρούνται ορισμένες ενδιαφέρουσες μεταβολές, όπως η παρουσία του α-κουβεβενίου σε όλα τα μαύρα πιτέρια και η απουσία του από τα λευκά, η περιεκτικότητα του δ-3-καρενίου και των α- και β-σελινενίων σε υψηλότερα ποσοστά στα μαύρα πιτέρια, καθώς και της κορυφής 35 στα λευκά.

### 3.3 ΦΑΣΜΑΤΟΣΚΟΠΙΚΗ ΜΕΛΕΤΗ ΜΕ FT-IR

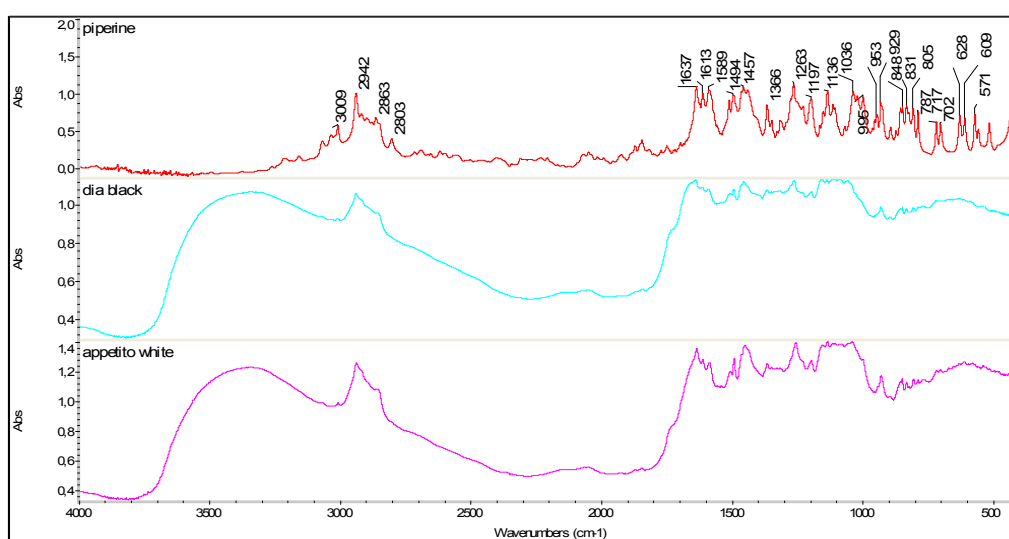
Σύμφωνα με τον Mc Murry (2006) το IR φάσμα διακρίνεται σε τέσσερις περιοχές. Η πρώτη ( $4000-2500 \text{ cm}^{-1}$ ) περιλαμβάνει απορροφήσεις που οφείλονται σε δονήσεις τάσης των απλών δεσμών N-H, C-H και O-H. Η δεύτερη ( $2500-2000 \text{ cm}^{-1}$ ) έχει απορροφήσεις δονήσεων τάσης των τριπλών δεσμών C≡C και C≡N, ενώ στην τρίτη ( $2000-1500 \text{ cm}^{-1}$ ) απορροφούν οι διπλοί δεσμοί C=O, C=N και C=C. Τέλος, η τέταρτη ( $1500-400 \text{ cm}^{-1}$ ) καλείται περιοχή του δακτυλικού αποτυπώματος, αφού απορροφούν απλοί δεσμοί C-C, C-O, C-N και C-X, που δίνουν χαρακτηριστικές κορυφές για κάθε ένωση.

Τα καταγραφόμενα φάσματα πιπερίνης εμφανίζονται περίπλοκα καθώς έχουν πλήθος κορυφών, αρκετές από τις οποίες είναι έντονες και οξείες. Η ερμηνεία ορισμένων από τις παρατηρούμενες κορυφές παρουσιάζεται στον Πίνακα 3.11. Αντιθέτως, τα IR

φάσματα των πιπεριών θα μπορούσαν να χαρακτηριστούν «ομαλά», χωρίς πολλές και έντονες κορυφές και σχεδόν πανομοιότυπα μεταξύ τους. Επιπλέον, παρατηρούνται δύο κύριες περιοχές κορυφών, η πρώτη μεταξύ 3600-2800  $\text{cm}^{-1}$  και η δεύτερη μεταξύ 1650-800  $\text{cm}^{-1}$ . Οι περιοχές 1650-1550 και 1150-1000 χαρακτηρίζονται από φαρδιές κορυφές που δεν διαχωρίζονται ξεκάθαρα, κάτι που οφείλεται στην αλληλεπικάλυψη των κορυφών των επιμέρους συστατικών του πιπεριού. Παρά ταύτα, η σύγκριση των IR φασμάτων της πιπερίνης με τα αντίστοιχα των μαύρων και λευκών πιπεριών, μας δείχνει ότι αρκετές παρατηρούμενες κορυφές στα φάσματα των πιπεριών μπορούν να αποδοθούν στην περιεχόμενη πιπερίνη (Σχήμα 3.11).

Πιν 3.11 Δονήσεις της πιπερίνης στο IR (www.terrificscience.org)

Είδος δονήσεων	Κυμαριθμός ( $\text{cm}^{-1}$ )
Τάση αρωματικών C-H	3011
Συμμετρική και ασύμμετρη τάση $\text{CH}_2$ και τάση αλειφατικών CH	2940 – 2861
Συμμετρική και ασύμμετρη τάση διενικών C=C	1636 – 1612
Τάση CON	1636
Τάση αρωματικών C=C	1612 – 1587 – 1492
Κάμψη $\text{CH}_2$	1457
Ασύμμετρη τάση =COC	1266 – 1199
Κάμψη εντός πεδίου των φαινολικών C-H	1135
Συμμετρική τάση =COC	1035
Κάμψη των C-H του trans –CH=CH-	999
Τάση C-O	928
Κάμψη εκτός πεδίου των φαινολικών C-H	851 – 828 - 808



Σχ. 3.7 Πλήρες φάσμα IR(DRIFT) πιπερίνης, “Dia” μαύρου και “Appetito” λευκού

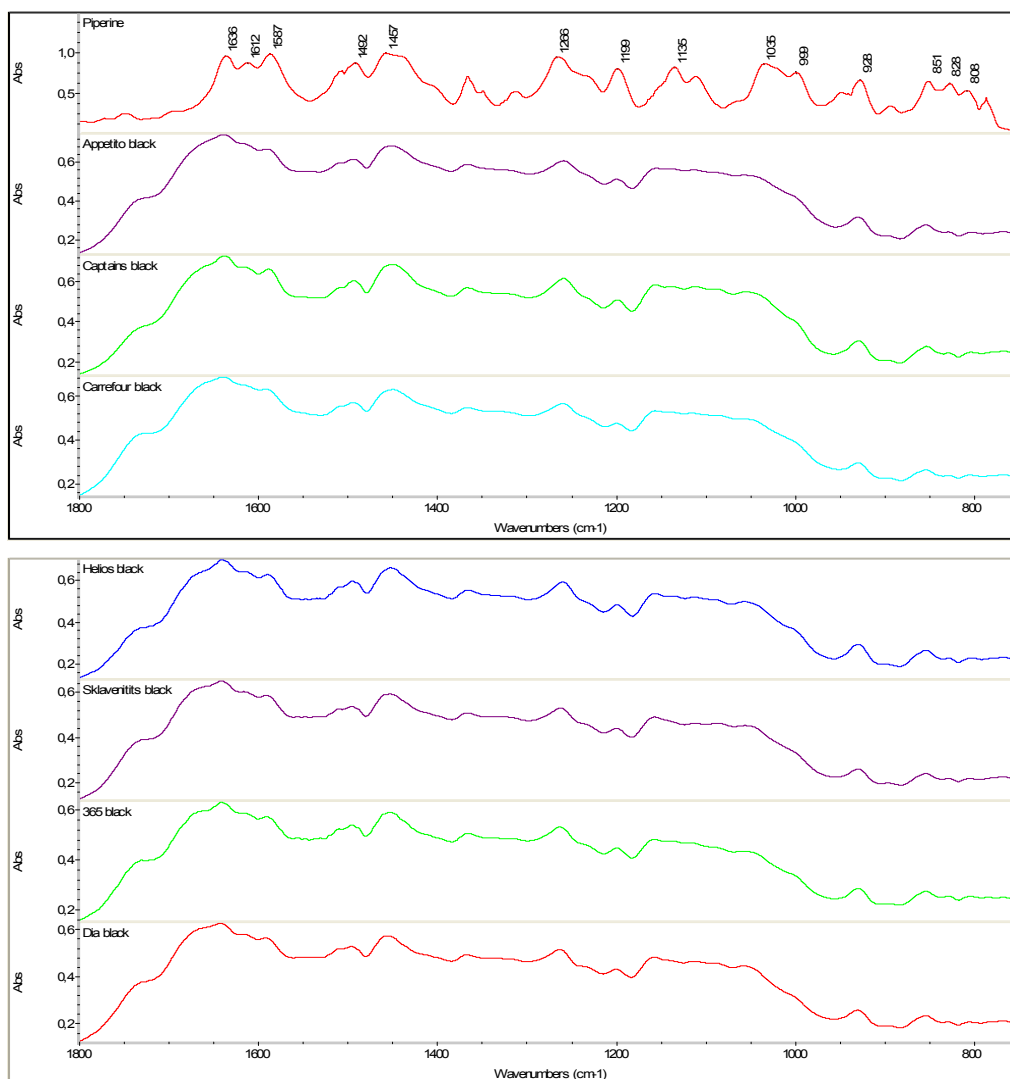
Η πρώτη περιοχή (3600-2800  $\text{cm}^{-1}$ ) έχει κύριο χαρακτηριστικό την ευρεία πλατειά κορυφή που οφείλεται σε δονήσεις τάσεις O–H, κυρίως λόγω της περιεχόμενης υγρασίας, αλλά και λόγω των υδροξυλίων των περιεχομένων αλκοολών. Επίσης, στην περιοχή κοντά στα 3000  $\text{cm}^{-1}$  (2950 και 2850  $\text{cm}^{-1}$ ) καταγράφονται οξείες κορυφές που οφείλονται σε δονήσεις τάσης των αρωματικών C=C, C–C και C–H.

Η δεύτερη (1650-800  $\text{cm}^{-1}$ ) σύμφωνα με τους Baranska et al. (2009) είναι η σημαντικότερη περιοχή του φάσματος και περιλαμβάνει διάφορες χαρακτηριστικές κορυφές που οφείλονται σε συγκεκριμένες δονήσεις των μορίων τόσο της πιπερίνης όσο και των τερπενίων των αιθερίων ελαίων. Για παράδειγμα, έχουμε χαρακτηριστικές απορροφήσεις τάσης των C=C στα 1636 και 1587  $\text{cm}^{-1}$  που οφείλονται τόσο στα τερπένια, όπως το β-καρνοφυλλένιο, όσο και στην πιπερίνη. Στα 1457 και 1365  $\text{cm}^{-1}$  παρατηρούνται δονήσεις κάμψης των CH<sub>2</sub> των τερπενίων, ενώ στα 1266 και 1199  $\text{cm}^{-1}$  δονήσεις τάσης των =C–O–C της πιπερίνης. Επίσης, τα 1365 και τα 928-808  $\text{cm}^{-1}$  είναι περιοχές που συσχετίζονται με τα τερπένια, αφού στην πρώτη που απορροφούν δονήσεις παραμόρφωσης των CH<sub>3</sub> και στη δεύτερη οι δονήσεις σείσης των CH<sub>2</sub> και CH. Τέλος, στην περιοχή 1300-800  $\text{cm}^{-1}$  συνεισφέρουν στις απορροφήσεις και οι δεσμοί C–C των αλκανίων.

Στην περιοχή 2500-2000  $\text{cm}^{-1}$  δεν παρατηρούμε ιδιαίτερες απορροφήσεις, που υποδηλώνει την μικρή παρουσία τριπλών δεσμών (C≡C και C≡N) στα συστατικά των πιπεριών, ενώ κάτω από τα 800  $\text{cm}^{-1}$  δεν παρατηρούνται καθόλου απορροφήσεις, κάτι που είναι αναμενόμενο καθώς είναι περιοχή που απορροφούν συνήθως οι δεσμοί C–X (Schulz et al., 2005 – Schulz, Baranska, 2007 – [www.terrificscience.org](http://www.terrificscience.org) – Mc Murry, 2006 – Πολυσίου et al., 2008 – Σκούλικα, 2001). Στον Πίνακα 3.12 αναφέρονται συνοπτικά οι παρατηρηθείσες κορυφές στα φάσματα των πιπεριών.

Πιν.3.12 Παρατηρούμενες κορυφές στα IR φάσματα των πιπεριών

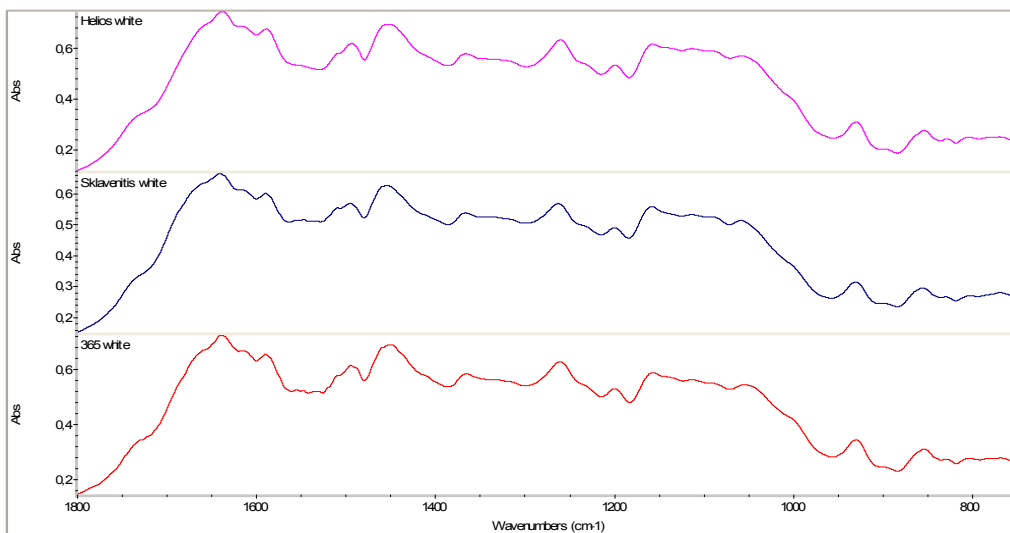
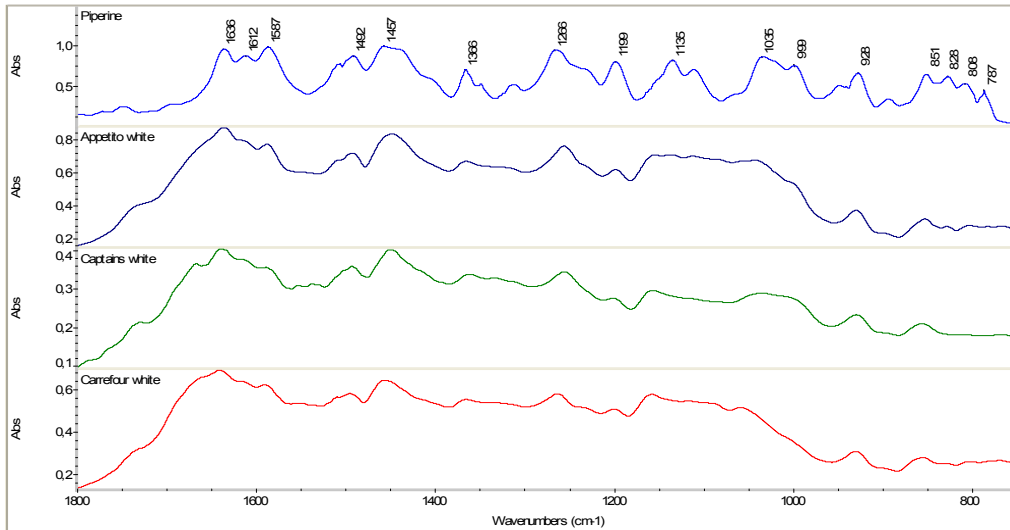
Κυματάρτιθος ( $\text{cm}^{-1}$ )	Ομάδες	Είδος δόνησης
3600-3300	O–H	Τάση
3000	Αρωματικοί C=C	Τάση
2950-2850	C–H	Τάση
1636-1587, 1492	Αρωματικά C=C, C–H	Τάση
1457, 1365	CH <sub>2</sub>	Κάμψη
1365	CH <sub>3</sub>	Παραμόρφωση
1300-800	C–C	
1266, 1199	=C–O–C	Τάση
1047	C–O–C, C–C–C	Τάση
928-808	CH, CH <sub>2</sub>	Σείση



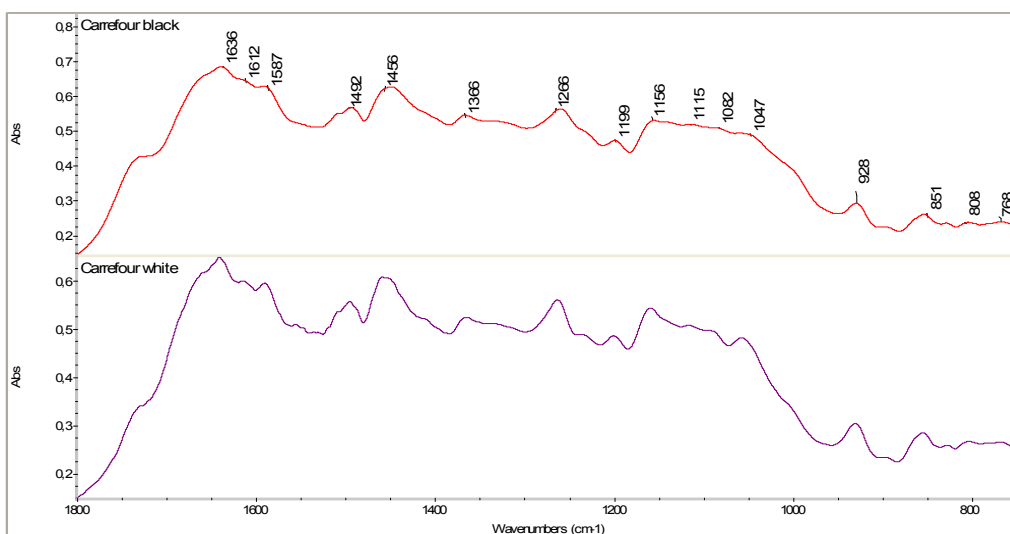
Σχ.3.8 Σύγκριση των φασμάτων IR της πιπερίνης και των μαύρων πιπεριών στην περιοχή 1700-800  $\text{cm}^{-1}$

Συγκρίνοντας τα φάσματα των μαύρων και λευκών πιπεριών, μπορούμε να διακρίνουμε ότι τα λευκά πιπέρια παρουσιάζουν καλύτερα φάσματα με κορυφές πιο έντονες και καλύτερα διαχωρισμένες μεταξύ τους. Για παράδειγμα, στα μαύρα πιπέρια δεν καταγράφονται ιδιαίτερες απορροφήσεις στα  $1047 \text{ cm}^{-1}$  που συνήθως οφείλονται σε δονήσεις τάσης των C–C–O των τερπενικών αλκοολικών παραγώγων και των C–O–C των αλκαλοειδών, ενώ στα λευκά υπάρχει μια διακριτή κορυφή στον συγκεκριμένο κυματαριθμό. Σύγκριση δύο IR φασμάτων μαύρου και λευκού πιπεριού του ίδιου προϊόντος (“Carrefour”) παρουσιάζεται στο Σχήμα 3.10, όπου παρατηρείται στο λευκό πιπέρι ένας σαφώς καλύτερος διαχωρισμός των τριών κορυφών στα  $1636$ ,  $1612$  και  $1587 \text{ cm}^{-1}$ , καθώς και στην περιοχή  $1156$ - $1047 \text{ cm}^{-1}$ , όπου είναι ευδιάκριτες οι δύο κορυφές στα  $1156$  και  $1047 \text{ cm}^{-1}$ , ενώ έστω και αμυδρά διακρίνονται κορυφές στα  $1115$  και  $1082 \text{ cm}^{-1}$ .





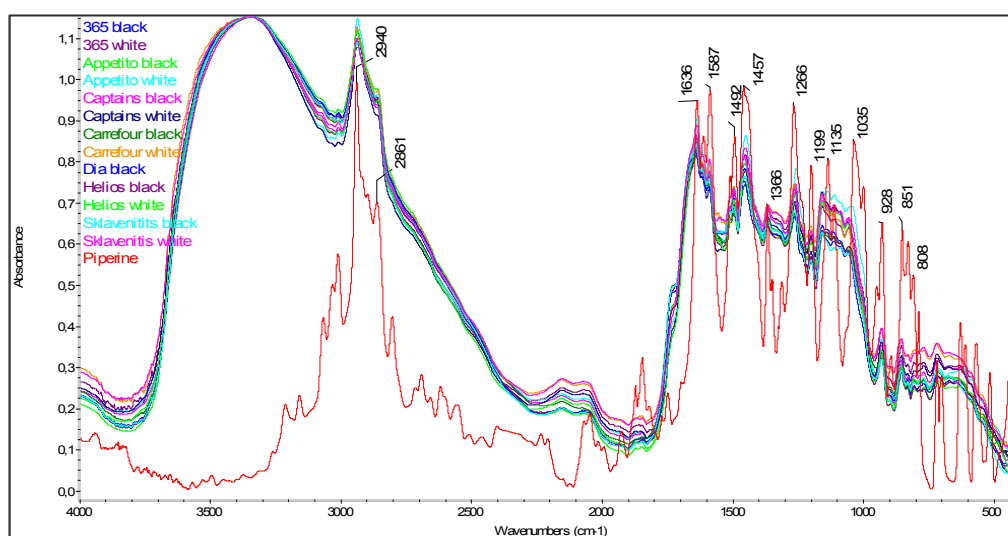
Σχ 3.9 Σύγκριση των φασμάτων IR της πιπερίνης και των λευκών πιπεριών στην περιοχή  $1700-800\text{ cm}^{-1}$



Σχ 3.10 Σύγκριση των φασμάτων IR του μαύρου και του λευκού “Carrefour” στην περιοχή  $1700-800\text{ cm}^{-1}$

Πιθανόν το περικάρπιο, που σε αντίθεση με το λευκό, δεν απομακρύνεται στο μαύρο πιπέρι να αυξάνει τον θόρυβο και να παρεμποδίζει την καταγραφή καθαρότερων φασμάτων.

Ο παραπάνω ισχυρισμός φαίνεται να επιβεβαιώνεται εξετάζοντας την ομοιότητα των φασμάτων των πιπεριών με το αντίστοιχο της πιπερίνης στην περιοχή  $1700-800\text{ cm}^{-1}$  που περιλαμβάνει τις πλέον χαρακτηριστικές κορυφές της πιπερίνης. Διαπιστώνουμε ότι ο βαθμός ομοιότητας κυμαίνεται μεταξύ 44,11 (“Carrefour” λευκό) και 66,31% (“Appetito” λευκό) με τα λευκά πιπέρια να παρουσιάζουν ελαφρώς μεγαλύτερη ομοιότητα σε σχέση με τα μαύρα (μέσες τιμές  $55,60 \pm 7,14\%$  και  $54,50 \pm 6,03\%$  αντιστοίχως).



Σχ.3.11 Σύγκριση πλήρους φάσματος των πιπεριών με το αντίστοιχο της πιπερίνης

Πιν.3.13 Βαθμός ομοιότητας των φασμάτων IR(DRIFT) των πιπεριών με το φάσμα της πιπερίνης ( $1750-750\text{ cm}^{-1}$ ).

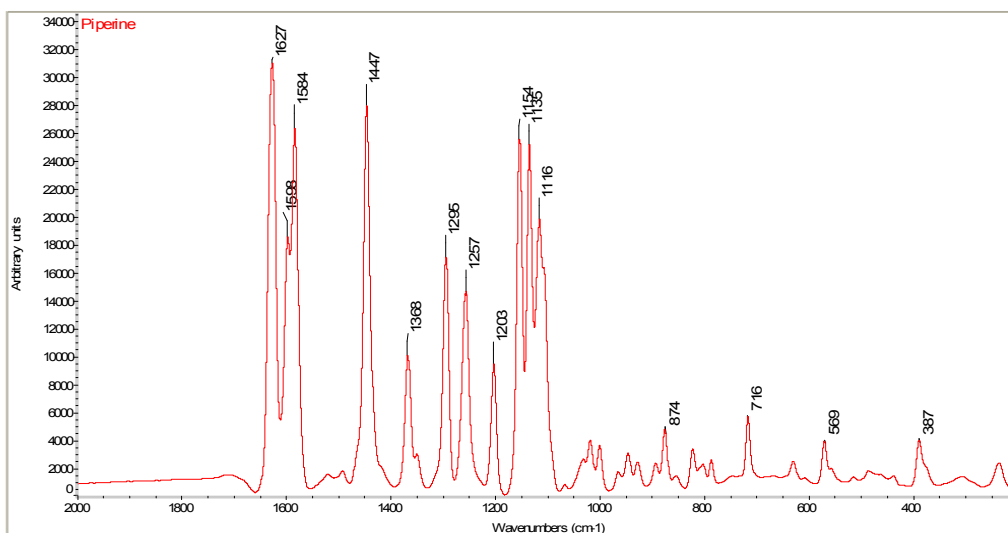
Πιπέρι	Είδος	Πιπερίνη (%)	Βαθμός ομοιότητας φάσματος IR(DRIFT) $1750-750\text{cm}^{-1}$ (%)
Appetito	Λευκό	5,84	66,31
Ήλιος	Μαύρο	6,08	62,97
Captain`s	Μαύρο	5,79	62,13
365	Λευκό	5,77	59,09
Ήλιος	Λευκό	5,61	58,51
Appetito	Μαύρο	5,55	56,26
Captain`s	Λευκό	5,80	56,15
365	Μαύρο	6,39	54,60
Carrefour	Μαύρο	5,60	50,88
Σκλαβενίτης	Λευκό	5,98	49,44
Σκλαβενίτης	Μαύρο	5,97	48,94
Dia	Μαύρο	6,35	45,69
Carrefour	Λευκό	5,91	44,11

Συνοψίζοντας λοιπόν, τα IR φάσματα των δειγμάτων εμφανίζουν παρόμοια εικόνα μεταξύ τους και παρά την δυσκολία που υπάρχει σχετικά με την εκτίμηση τους, παρουσιάζουν ορισμένες απορροφήσεις που οφείλονται σε δονήσεις τάσης και κάμψης χαρακτηριστικών ομάδων των συστατικών των αιθερίων ελαίων και της πιπερίνης. Διακρίνονται σε δύο περιοχές: η πρώτη ( $3600-2800\text{ cm}^{-1}$ ) χαρακτηρίζεται από την ευρεία πλατειά κορυφή που οφείλεται στην υγρασία (δονήσεις τάσης O–H), αλλά και από οξείες στα  $2950$  και  $2850\text{ cm}^{-1}$  (δονήσεις τάσης C=C, C–C και C–H). Η δεύτερη ( $1650-800\text{ cm}^{-1}$ ) παρουσιάζει μία ποικιλία κορυφών, που οφείλονται σε δονήσεις τάσης και κάμψης ομάδων όπως οι C=C ( $1636$  και  $1587\text{ cm}^{-1}$ ), CH<sub>2</sub> ( $1457$  και  $1365\text{ cm}^{-1}$ ), =C–O–C ( $1266$  και  $1199\text{ cm}^{-1}$ ), CH<sub>3</sub>, CH<sub>2</sub>, CH ( $1365$ ,  $928-808\text{ cm}^{-1}$ ) και C–C ( $1300-800\text{ cm}^{-1}$ ), ενώ στις περιοχές  $2500-2000\text{ cm}^{-1}$  και  $800-400\text{ cm}^{-1}$  δεν καταγράφονται απορροφήσεις. Τέλος, τα λευκά πιπέρια, εξ' αιτίας της απουσίας του περικαρπίου, δίνουν καλύτερα φάσματα από τα μαύρα με διακριτές και καθαρές κορυφές ( $1636$ ,  $1612$ ,  $1587$ ,  $1156$  και  $1047\text{ cm}^{-1}$ ) και με υψηλότερα ποσοστά ομοιότητας με το φάσμα της πιπερίνης.

### 3.4 ΦΑΣΜΑΤΟΣΚΟΠΙΚΗ ΜΕΛΕΤΗ ΜΕ RAMAN

Όσον αφορά τη φασματοσκοπία Raman, το πρότυπο πιπερίνης δίνει φάσμα με διάφορες κορυφές χαρακτηριστικών ομάδων. Για παράδειγμα στην περιοχή  $1630-1580\text{ cm}^{-1}$  έχουμε κορυφές που οφείλονται σε δονήσεις τάσης των αρωματικών και αλειφατικών C=C και των =N–C=O, ενώ στα  $1154\text{ cm}^{-1}$  στις δονήσεις τάσης των C–C. Επίσης, μεταξύ των  $1154$  και  $1116\text{ cm}^{-1}$  έχουμε εντάσεις λόγω δονήσεων τάσης των –C–O–C. Σημαντικές κορυφές δίνουν τα CH<sub>2</sub> στα  $1447$ ,  $1295$  και  $1257\text{ cm}^{-1}$  (δονήσεις σείσης, στρέψης και αιώρησης αντιστοίχως), ενώ οι κορυφές των  $874$  και  $716\text{ cm}^{-1}$  οφείλονται σε δονήσεις παραμόρφωσης του δακτυλίου του μορίου της. Τέλος, οι κορυφές στα δεξιά του φάσματος ( $569$  και κάτω) μπορούν να αποδοθούν στις δονήσεις κάμψης των C–C.

Αναφορικά με τα συστατικά των αιθερίων ελαίων και σύμφωνα με τη βιβλιογραφία, το β-καρυοφυλλένιο, όπως και ορισμένα μονοτερπένια σαν τα α- και β-πινένιο, παρουσιάζουν ισχυρές εκπομπές λόγω δονήσεων τάσης των C=C κοντά στα  $1627\text{ cm}^{-1}$  και μια ευρεία κορυφή στα  $1447\text{ cm}^{-1}$  που οφείλεται στο ψαλιδισμό των –CH<sub>2</sub>. Επίσης, τα τερπένια εμφανίζουν εντάσεις στην περιοχή  $760-645\text{ cm}^{-1}$ , που οφείλονται στις δονήσεις κάμψης των δακτυλίων (Baranska et al., 2009 - Schulz et al., 2007 - Schulz et al., 2005 - Σκούλικα, 2001 – Πολυσίου et al., 2008).

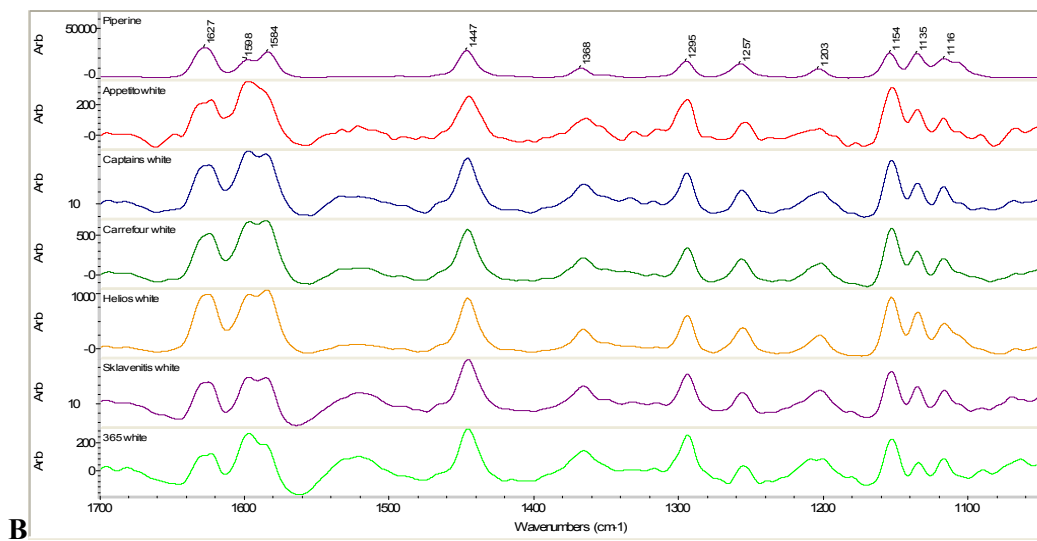
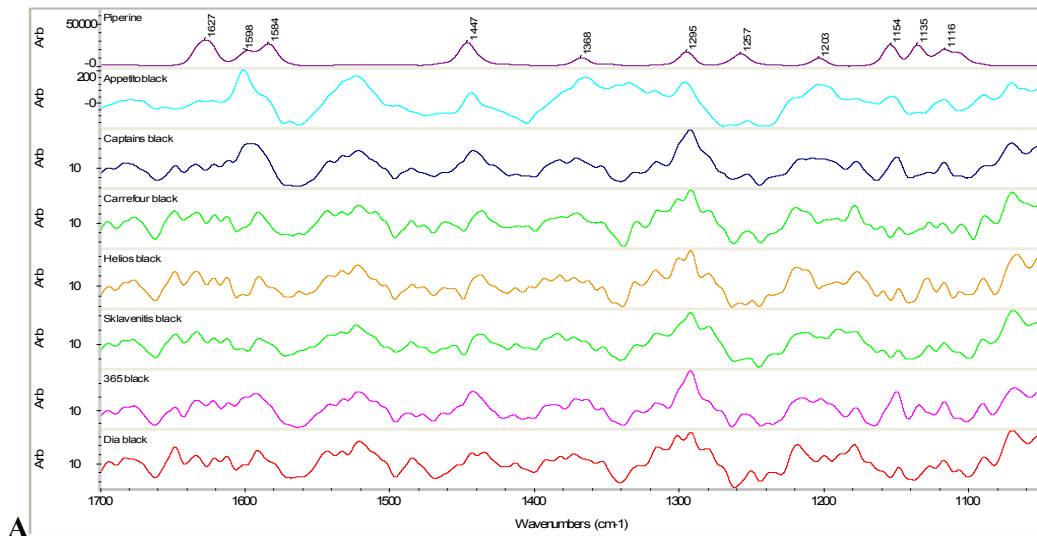


Σχ.3.12 Πλήρες φάσμα Raman της πιπερίνης (2000-200  $\text{cm}^{-1}$ )

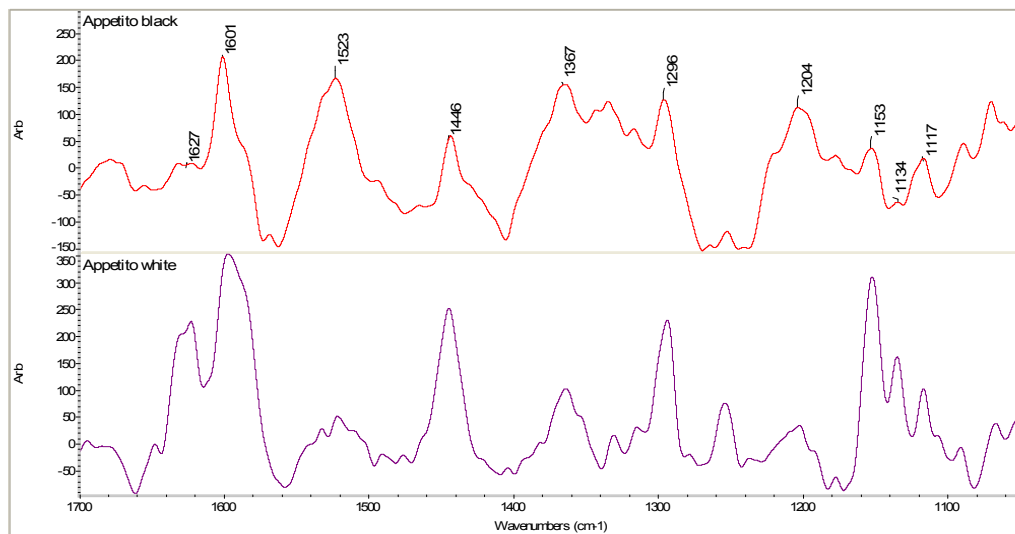
Θα περιμέναμε λοιπόν να παρατηρήσουμε στα φάσματα των πιπεριών παρόμοιες κορυφές. Παρ' όλα αυτά, δεν μας έδωσαν καλά φάσματα, ως αποτέλεσμα του ισχυρού θορύβου και αξιόλογες εντάσεις καταγράφηκαν μόνο στην περιοχή 1627-1100  $\text{cm}^{-1}$ . Με μία πρώτη ματιά, μπορούμε εύκολα να διαπιστώσουμε ότι τα λευκά πιπέρια δίνουν πολύ καλύτερα φάσματα από τα μαύρα (Σχήμα 3.13). Το περικάρπιο που υπάρχει στο μαύρο πιπέρι, φαίνεται εδώ να επηρεάζει σε σχέση με το IR, ακόμα περισσότερο την καταγραφή φάσματος, αφού αυξάνει πολύ τον θορυσμό, με αποτέλεσμα τα αντίστοιχα φάσματα να χαρακτηρίζονται από πολύ και έντονο θόρυβο. Αντιθέτως, τα φάσματα των λευκών πιπεριών είναι στη συγκεκριμένη περιοχή αρκετά πιο «καθαρά» και διακρίνονται εύκολα οι χαρακτηριστικές κορυφές που οφείλονται κυρίως στην πιπερίνη και δευτερευόντως στα τερπένια, όπως τις περιγράψαμε παραπάνω.

Πιν.3.14 Χαρακτηριστικές εντάσεις Raman

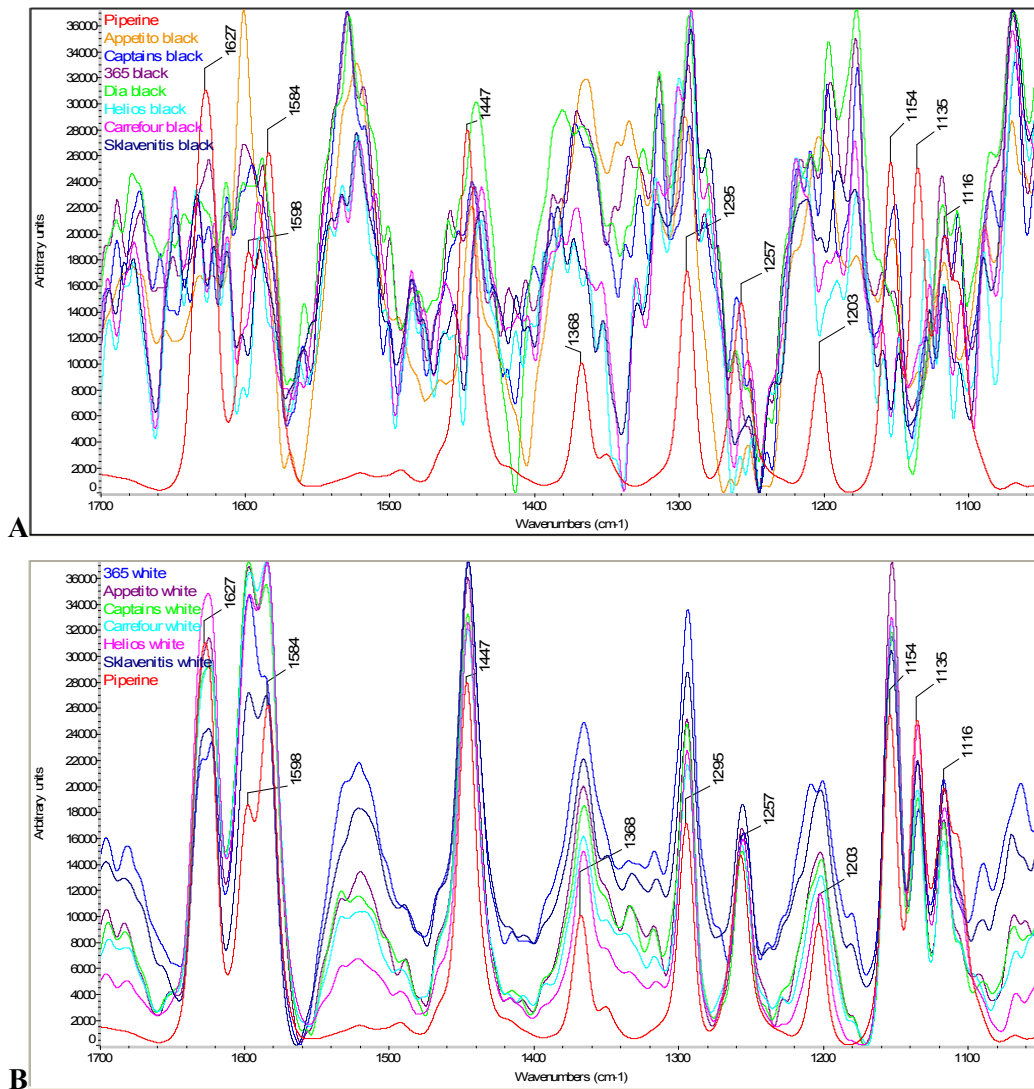
Κοματάριθμος ( $\text{cm}^{-1}$ )	Ομάδες	Είδος δόνησης
1630-1580	C=C, =N-C=O	Τάση
1154-1116	-C-O-C	Τάση
1154	C-C	Τάση
1447, 1295 και 1257	CH <sub>2</sub>	Σείση, στρέψη και αιώρηση
874 και 716	δακτύλιος	Παραμόρφωση



Σχ.3.13 Σύγκριση φασμάτων Raman πιπερίνης και μαύρων (A) και λευκών (B) πιπεριών (1700-1000cm<sup>-1</sup>)



Σχ.3.14 Σύγκριση φασμάτων Raman μαύρου και λευκού “Appetito” (1700-1000cm<sup>-1</sup>)



Σχ.3.15 Σύγκριση του φάσματος Raman της πιπερίνης με τα φάσματα των μαύρων (A) και λευκών (B) πιπεριών (1700-1000cm<sup>-1</sup>)

Πιν.3.15 Βαθμός ομοιότητας των φασμάτων Raman των πιπεριών με το φάσμα της πιπερίνης (1700-1100 cm<sup>-1</sup>).

Πιπέρι	Είδος	Πιπερίνη (%)	Βαθμός ομοιότητας φάσματος Raman 1700-1100cm <sup>-1</sup> (%)
Ήλιος	Λευκό	5,61	94,49
Carrefour	Λευκό	5,91	89,62
Appetito	Λευκό	5,84	88,85
Σκλαβενίτης	Λευκό	5,98	88,08
Captain`s	Λευκό	5,80	88,07
365	Λευκό	5,77	76,22
Appetito	Μαύρο	5,55	34,15
Captain`s	Μαύρο	5,79	34,02
365	Μαύρο	6,39	19,77
Dia	Μαύρο	6,35	12,21
Ήλιος	Μαύρο	6,08	2,23
Carrefour	Μαύρο	5,60	1,03
Σκλαβενίτης	Μαύρο	5,97	0,25

Η διαφορά στην ποιότητα των φασμάτων των λευκών και μαύρων πιπεριών καταγράφεται με εντυπωσιακό τρόπο κατά τη σύγκριση των φασμάτων τους με αυτό της πιπερίνης, στη συγκεκριμένη περιοχή (Σχήμα 3.15). Ο βαθμός ομοιότητας των λευκών πιπεριών είναι αρκετά υψηλός, από 76,22 (“365” λευκό) μέχρι 94,49% (“Ηλιος” λευκό) με μέση τιμή  $87,56 \pm 5,52\%$ , ενώ αντιθέτως, των μαύρων πολύ χαμηλός από 0,25 (“Σκλαβενίτης” μαύρο) έως 34,15% (“Appetito” μαύρο).

Η λήψη φασμάτων Raman (αλλά και IR) με υψηλό θόρυβο μπορεί να δικαιολογηθεί από τρεις αιτίες: Η πρώτη έχει να κάνει με την χαμηλή ευαισθησία αυτών των τεχνικών σε σχέση με άλλες όπως η GC και η HPLC, η δεύτερη στο γεγονός ότι οι κορυφές των υπό εξέταση συστατικών συχνά συμπίπτουν με κορυφές άλλων συστατικών και η τρίτη στο ότι τα υπό εξέταση συστατικά συνήθως απαντώνται σε χαμηλές συγκεντρώσεις (Baranska et al., 2009). Θα μπορούσαμε επίσης να προσθέσουμε ότι στη βιβλιογραφία δεν υπάρχουν πολλές έρευνες στη μελέτη των πιπεριών με φάσματα IR και Raman, που θα μπορούσαν να μας βοηθήσουν σε κάποια καλύτερη και σαφέστερη ποιοτική ή ποσοτική εκτίμηση. Παρ' όλα αυτά, έχουν το πλεονέκτημα ότι είναι γρήγορες μέθοδοι, ενώ υπάρχουν αναφορές ότι με τη φασματοσκοπία ATR-IR και Raman, μπορούν να αναπτυχθούν χημομετρικές εξισώσεις για τον προσδιορισμό της περιεκτικότητας της πιπερίνης σε δείγματα πιπεριού, με μία σχετικώς υψηλή ποιότητα εκτίμησης (Schulz et al., 2007).

Ενδεχομένως η χρήση FT-Raman και/ή πηγής ακτινοβολίας στα 1064 nm, να μας έδινε καλύτερα αποτελέσματα, σύμφωνα με αυτά που συναντήσαμε στην βιβλιογραφία (Baranska et al., 2009 - Schulz et al., 2005 - Schulz et al., 2007).

Επομένως, για τη μελέτη των πιπεριών με τη φασματοσκοπία Raman μπορούμε να πούμε ότι τα φάσματα τους χαρακτηρίζονται από υψηλό θόρυβο, με αποτέλεσμα να είναι δυνατή προς σχολιασμό μόνο μία περιοχή ( $1627-1100 \text{ cm}^{-1}$ ) και όχι όλο το φάσμα. Τα μαύρα μάλιστα έχουν τόσο θόρυβο που δεν είναι δυνατή η αξιολόγησή τους. Αντιθέτως, τα λευκά πιπέρια δίνουν πολύ καλύτερα φάσματα λόγω της απουσίας του περικαρπίου, με κορυφές που οφείλονται στις δονήσεις τάσης και κάμψης ομάδων κατά κύριο λόγο της πιπερίνης ( $1154 \text{ cm}^{-1}$ , C=C, =N-C=O, C-C), ( $1154-1116 \text{ cm}^{-1}$ , -C-O-C), ( $1447$ ,  $1295$  και  $1257 \text{ cm}^{-1}$  CH<sub>2</sub>), αλλά και των τερπενίων ( $1627 \text{ cm}^{-1}$ , C=C) και ( $1447 \text{ cm}^{-1}$ , CH<sub>2</sub>). Επίσης, στη συγκεκριμένη περιοχή τα φάσματα τους μοιάζουν σε πολύ μεγάλο βαθμό με της πιπερίνης, ενώ στα μαύρα πιπέρια, ισχύει ακριβώς το αντίθετο. Η χρήση οργάνου με περισσότερες δυνατότητες ανάλυσης, θα μπορούσε να υπερνικήσει τα προβλήματα που δημιουργούνται λόγω φθορισμού.

#### ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4: ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑ

Στην μελέτη αυτή πραγματοποιήθηκε εξέταση 13 πιπεριών που κυκλοφορούν στην ελληνική αγορά, μέσω μιας σειράς αναλύσεων που περιλαμβάνουν σταθμικές, χρωματογραφικές (GC-FID και GC-MS) και φασματοσκοπικές μεθόδους (IR(DRIFT) και Raman). Η εξέταση αφορούσε κυρίως τα αιθέρια έλαια και την πιπερίνη, τις παραμέτρους δηλαδή που σχετίζονται άμεσα με την ποιότητα του πιπεριού. Τα αποτελέσματα στο σύνολο τους χαρακτηρίζονται φυσιολογικά και χωρίς ιδιαίτερες αποκλίσεις από αυτά που συναντάμε στη βιβλιογραφία και τις εγχώριες και διεθνείς ποιοτικές προδιαγραφές.

Η υγρασία κυμαίνεται στα επίπεδα του 10%, με τα μαύρα πιπέρια να παρουσιάζουν σε γενικές γραμμές χαμηλότερη υγρασία από τα λευκά (μέση τιμή  $9,8 \pm 0,9$  έναντι  $10,5 \pm 0,8\%$ ), αν και σε κάποιες περιπτώσεις ισχύει το αντίθετο.

Η περιεκτικότητα σε αιθέριο έλαιο είναι της τάξης του 1,1-3,2% (μέση τιμή  $1,90 \pm 0,76\%$  επί ξηρού), με τα μαύρα να υπερισχύουν των λευκών πιπεριών (μέση τιμή  $2,22 \pm 0,90\%$  έναντι  $1,53 \pm 0,56\%$  επί ξηρού), χωρίς πάλι να αποκλείονται περιπτώσεις που να συμβαίνει το αντίθετο. Πάντως 7 πιπέρια αποδείχτηκαν φτωχά σε αιθέριο έλαιο, καθώς η περιεκτικότητά τους ήταν κάτω του 1,5%, ενώ η συσκευασία φαίνεται να επηρεάζει την συγκέντρωση του αιθερίου ελαίου στο τελικό προϊόν. Το φακελλάκι φαίνεται να είναι η καλύτερη συσκευασία προστατεύοντας το προϊόν από πιθανές απώλειες αιθερίου ελαίου, ενώ με το πλαστικό κουτί μάλλον συμβαίνει το αντίθετο.

Το β-καρυοφυλλένιο είναι με διαφορά το κύριο συστατικό του αιθερίου ελαίου, σε ποσοστά που αρκετές φορές ξεπερνούν το 50%. Ακολουθούν τα δ-3-καρένιο, λεμονένιο και δ-ελεμένιο, με το δ-3-καρένιο να είναι συνήθως το δεύτερο σε συγκέντρωση συστατικό. Η συγκέντρωση των περιεχομένων συστατικών δεν συμβαδίζει απόλυτα με την βιβλιογραφία, όπως συμβαίνει για παράδειγμα, με το σαβινένιο και το β-πινένιο. Όσον αφορά τα είδη των τερπενίων, τα πλέον διαδεδομένα είναι τα σεσκιτερπένια που υπερέχουν σε 10 πιπέρια και ακολουθούν ως δεύτερα τα μονοτερπένια τα οποία υπερισχύουν σε 3. Τρίτα σε αφθονία, και με μεγάλη διαφορά, είναι τα σεσκιτερπενοειδή και τελευταία τα μονοτερπενοειδή. Η υψηλή περιεκτικότητα σε σεσκιτερπένια μας οδηγεί στο συμπέρασμα ότι δεν είχαμε σημαντικές απώλειες τους κατά την απόσταξη. Κάποιες διαφορές ως προς την περιεκτικότητα ορισμένων επιμέρους συστατικών (δ-3-καρένιο, ακουβεβένιο, α-και β-σελινένιο, άγνωστη κορυφή 35) μεταξύ των μαύρων και λευκών πιπεριών, θα μπορούσαν να χρησιμοποιηθούν ως δείκτες για την προέλευση των αιθερίων ελαίων (αν δηλαδή προέρχονται από μαύρο ή λευκό πιπέρι).

Τα μαύρα όσο και τα λευκά πιπέρια, περιέχουν παρόμοια ποσοστά πιπερίνης (5,9%) που κρίνονται ικανοποιητικά. Οι απορροφήσεις που παρουσιάζουν ορισμένες



ενώσεις όπως η πιπεριλίνη και η πιπεριτίνη στο ίδιο μήκος κύματος με την πιπερίνη, ενδέχεται να οδηγούν σε μετρήσεις μεγαλύτερες από την πραγματική και επομένως σε μεγαλύτερη περιεκτικότητα πιπερίνης.

Η μελέτη των πιπεριών στο IR και το Raman, αν και παρουσιάζει κάποια μειονεκτήματα λόγω μικρότερης ευαισθησίας από τις τεχνικές χρωματογραφίας, μας δίνει ενδιαφέροντα φάσματα.

Έτσι λοιπόν, τα φάσματα των δειγμάτων στο IR(DRIFT) παρουσιάζουν δύο περιοχές κορυφών στα  $3600-2800\text{ cm}^{-1}$  και  $1650-800\text{ cm}^{-1}$ . Στην πρώτη συμβαίνουν δονήσεις τάσης των O–H, C=C, C–C και C–H, με χαρακτηριστική κορυφή την ευρεία και πλατειά κορυφή των O–H. Η δεύτερη περιέχει χαρακτηριστικές απορροφήσεις δονήσεων τάσης και κάμψης διαφόρων ομάδων (C=C, =C–O–C, CH<sub>3</sub>, CH<sub>2</sub>, CH και C–C), που μπορούν να αποδοθούν στα τερπένια του αιθερίου ελαίου ( $1636, 1587, 1457, 1366$  και  $928-808\text{ cm}^{-1}$ ), αλλά και στην πιπερίνη και τα αλκαλοειδή γενικότερα ( $1636, 1587, 1266, 1199$  και  $1047\text{ cm}^{-1}$ ).

Από την άλλη, τα φάσματα Raman των μαύρων πιπεριών χαρακτηρίζονται από έντονο θόρυβο που οφείλονται στο περικάρπιο. Τα λευκά πιπέρια όμως που στερούνται περικαρπίου δίνουν χαρακτηριστικές εκπομπές στην περιοχή  $1627-1100\text{ cm}^{-1}$  που οφείλονται πρωτίστως στην τάση και την κάμψη ομάδων της πιπερίνης (C=C, CH<sub>2</sub>, =N–C=O, C–C, και –C–O–C στα  $1627, 1584, 1447, 1257, 1295$  και  $1154\text{ cm}^{-1}$ ) και δευτερευόντως στα τερπένια (C=C και CH<sub>2</sub>, στα  $1627$  και  $1447\text{ cm}^{-1}$ ). Η χρήση οργάνου Raman με περισσότερες δυνατότητες (τύπος FT-Raman) και με ισχυρότερη πηγή ακτινοβολίας ( $1064\text{nm}$ ) κρίνεται αναγκαία για την καλύτερη μελέτη του πιπεριού.

Η απουσία περικαρπίου στα λευκά πιπέρια έχει ως αποτέλεσμα να δίνουν καλύτερα φάσματα από τα μαύρα στο IR(DRIFT) και ιδιαίτερα στο Raman, κάτι που επιβεβαιώνεται και από τον υψηλότερο βαθμό ομοιότητας με τα αντίστοιχα φάσματα της πιπερίνης (μέση τιμή  $55,60\pm 7,14\%$  για τα λευκά έναντι  $54,50\pm 6,03\%$  για τα μαύρα πιπέρια στο IR(DRIFT) και  $87,56\pm 5,52\%$  έναντι  $14,81\pm 13,81\%$  αντιστοίχως στο Raman).

Συγκρίνοντας τα συνολικά αποτελέσματα, τόσο ως προς τις φυσικοχημικές παραμέτρους, όσο και τις χρωματογραφικές και φασματοσκοπικές τεχνικές με τα αντίστοιχα της βιβλιογραφίας, μπορούμε σε γενικές γραμμές να τα θεωρήσουμε φυσιολογικά, καθώς συμβαδίζουν και δεν έχουν ιδιαίτερες αποκλίσεις από αυτά που αναφέρουν άλλοι συγγραφείς, είτε αναφερόμαστε σε απόλυτα νούμερα (π.χ. περιεκτικότητα αιθερίου ελαίου), είτε σε σχετικά (π.χ. απορροφήσεις στο IR). Όποιες διαφορές παρατηρήθηκαν (π.χ. οι συγκεντρώσεις των συστατικών των αιθερίων ελαίων) κρίνονται λογικές και δικαιολογούνται από τους ερευνητές.

Σχετικά δε, με την αξιολόγηση των πιπεριών της ελληνικής αγοράς βάσει της ελληνικής νομοθεσίας (ΚΤΠ) και των προδιαγραφών ISO, έχουμε να παρατηρήσουμε ότι

τα εξεταζόμενα προϊόντα είναι εντός ορίων στις παραμέτρους που ερευνήσαμε (περιεκτικότητα υγρασίας, αιθερίου ελαίου και πιπερίνης).

Κρίνοντας τον ΚΤΠ σε ό,τι αφορά το πιπέρι σε σχέση με άλλους οργανισμούς, αλλά και με βάση τα αποτελέσματα, μπορούμε να πούμε ότι στο σύνολο του κρίνεται ανεπαρκής. Το ανώτατο όριο περιεκτικότητας που ορίζει για την υγρασία (15%), όταν το αντίστοιχο όριο άλλων οργανισμών δεν υπερβαίνει το 14%, το κατώτατο για το αιθέριο έλαιο (0,7%), όταν το σύνηθες όριο των άλλων οργανισμών είναι το 1%, η έλλειψη ορίου για την περιεκτικότητα πιπερίνης αλλά και άλλων παραμέτρων, όπως τα μη πτητικά αιθερικά εκχυλίσματα και τις ακατέργαστες ίνες, και η έλλειψη ξεχωριστών ορίων για το μαύρο και λευκό πιπέρι, είναι τα σημαντικότερα σημεία που επιβάλλουν μια συνολική αναθεώρηση του ΚΤΠ για το σημαντικότερο μπαχαρικό. Γνώμη μας είναι ότι για να διασφαλιστεί καλύτερα η ποιότητα του πιπεριού που κυκλοφορεί στην ελληνική αγορά, άρα και ο Έλληνας καταναλωτής, θα πρέπει τουλάχιστον να τροποποιηθεί το ανώτατο όριο για την υγρασία στο 14% και το κατώτατο όριο για το αιθέριο έλαιο στο 1,0%, και να θεσπιστεί κατώτατο όριο για την πιπερίνη το 4,0%. Πάντως, η δημιουργία οδηγίας ή κανονισμού εκ μέρους της Ευρωπαϊκής Ένωσης σχετική με τα ποιοτικά χαρακτηριστικά του πιπεριού είναι αναγκαία και θα βοηθούσε στην διασφάλιση της ποιότητας του πιπεριού, καθώς τα κράτη-μέλη, μεταξύ των οποίων και η χώρα μας, πιθανότατα θα αναγκάζονταν να εναρμονιστούν προς τις αντίστοιχες επιταγές.

Όσον αφορά το ISO, είναι πιο πλήρης καθώς περιλαμβάνει ξεχωριστές προδιαγραφές τόσο για το μαύρο και λευκό πιπέρι, όσο και για το ολόκληρο και τριμμένο πιπέρι. Ωστόσο, θεωρούμε το κατώτατο όριο για το αιθέριο έλαιο του λευκού πιπεριού (0,7% επί ξηρού) μάλλον χαμηλό και θα πρέπει να αυξηθεί στο 1,0%. Επιπλέον, η εισαγωγή νέων τεχνικών ελέγχου, όπως τα GC, IR και Raman ενδεχομένως να πρέπει να ερευνηθούν περαιτέρω και να εισαχθούν σε κάποια καινούρια και βελτιωμένη έκδοση προδιαγραφών. Η ύπαρξη κορυφών στο GC που θα μπορούσαν να συσχετισθούν με την προέλευση του αιθερίου ελαίου από το μαύρο ή το λευκό πιπέρι και κατ' επέκταση με την αυθεντικότητα του πιπεριού, ίσως θα μπορούσαν να χρησιμοποιηθούν για την αποφυγή νοθείας του λευκού τριμμένου πιπεριού με μαύρο, από τη στιγμή που η τιμή του λευκού είναι υψηλότερη. Επίσης, παρά τα όποια προβλήματα, η φασματοσκοπική μελέτη με όργανα IR και/ή Raman υψηλότερων προδιαγραφών από αυτά που χρησιμοποιήσαμε στο πειραματικό μέρος, θα μπορούσε να αποτελέσει έναν γρήγορο και καινοτόμο τρόπο ελέγχου της ποιότητας του πιπεριού. Τέλος, θα μπορούσε να γίνει διαχωρισμός των πιπεριών σε κατηγορίες ανάλογα με την περιεκτικότητα τους σε αιθέριο έλαιο και πιπερίνη. Για παράδειγμα, πιπέρι με περιεκτικότητα σε αιθέριο έλαιο και πιπερίνη μεγαλύτερη από 1,5 και 5,0% αντίστοιχα, να θεωρείται κατηγορίας I, πιπέρι με αντίστοιχες περιεκτικότητες 1,0-1,5 και 4,0-5,0% να θεωρείται κατηγορίας II κ.ο.κ.

## ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

### Ελληνική

Εκπαιδευτική Ελληνική Εγκυκλοπαίδεια, Πιπέρι, Φυτολογία-τόμος 10, Εκδοτική Αθηνών (1983) 243-244

Ιγνατιάδου-Ραγκούση Β., Χημεία φυσικών προϊόντων, Εκδόσεις Συμμετρία (2009) 233-234

Πολυσίου Μ., Ταραντίλης Π., Ενόργανη ανάλυση-Πανεπιστημιακές σημειώσεις, Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Αθήνα 2008

Σκούλικα Σ., Ανάπτυξη νέων αναλυτικών μεθόδων με τη φασματοσκοπία Raman, Διδακτορική διατριβή, Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Αθήνα (2001) 14-33

### Ξένη

Abbasi B.H., Ahmad N., Fazal H., Mahmood T., Review: Conventional and modern propagation techniques in *Piper nigrum*, Journal of medicinal plants research (2010) vol. 4(1), pp. 007-012

Alupului A., Calinescu I., Lavric C., Ultrasonic vs. microwave extraction intensification of active principles from medicinal plants, AIDIC Conference series (2009) vol.9, 1-8 DOI : 10.3303/ACOS 0909001  
<http://www.aidic.it/acos/09/09/001.pdf>

Atti-Santos A.C., Rossato M., Serafini L.A., Cassel E., Moyna P., Extraction of essential oils from lime (*Citrus latifolia* Tanaka) by hydrodistillation and supercritical carbon dioxide, Brazilian archives of biology and technology vol. 48, no 1 (2005) 155-160

Awoyinka O.A., Oyewole I.O., Amos B.M.W., Onasoga O. F., Comparative pesticidal activity of dichloromethane extracts of *Piper nigrum* against *Sitophilus zeamais* and *Callosobruchus maculatus*, African Journal of Biotechnology (2006) vol. 5 (24), 2446-2449

Bajad S., Singla A.K., Bedi K.L., Liquid chromatographic method for determination of piperine in rat plasma: application to pharmacokinetics, *Journal of chromatography B*, 776 (2002) 245–249

Bakkali F., Averbeck S., Averbeck D., Idaomar M., Biological effects of essential oils – A review, *Food and Chemical Toxicology* 46 (2008) 446–475

Baranska M., Schulz H., Chapter 4: Determination of alkaloids through infrared and raman spectroscopy, *The alkaloids*, Elsevier (2009) vol. 67, 244-245

Barceloux D.G., Pepper and Capsaicin (*Capsicum* and *Piper* Species), *Disease-a-Month* (2009) Volume 55, Issue 6, 380-390

Bagchi G.D., Srivastava G.N., Fruits and seeds - Spices and flavouring crops, *Encyclopedia of food sciences and nutrition-second edition-vol.9*, Academic press (2003) 5465-5491

Bicchi C., Gas Chromatography, III / Essential oils, *Encyclopedia of Separation Science*, 2007, Academic Press (2000) 2744-2755

Busatta C., Mossi A.J., Rodrigues M.R.A., Cansian R.L., Oliveira J.V., Evaluation of *Origanum vulgare* essential oil as antimicrobial agent in sausage, *Brazilian Journal of Microbiology* 38 (2007) 610-616

Comes P.C.S., Oliveira H.R.C., Vicente A.M.S., Ferreira M.F., Production, transformation and essential oils composition of leaves and stems of lemon verbena (*Aloysia triphylla* (L' Herit.) Britton) grown in Portugal, *Rev. Bras. Pl. Med., Botucatu*, v.8 (2006) n.esp. 130-135,

De Morais S.M., Facundo V.A., Bertini L.M., Cavalcanti E.S.B., Dos Anjos J.F.J., Ferreira S.A., De Brito E.S., De Souza Neto M.A., Chemical composition and larvicidal activity of essential oils from *Piper* species, *Biochemical systematics and ecology* 35 (2007) 670-675

Dos Santos P.R.D., De Lima Moreira D., Guimaraes E.F., Kaplan M.A.C., Essential oil analysis of 10 *Piperaceae* species from the Brazilian Atlantic forest, *Phytochemistry* 58 (2001) 547–551

Epstein W.W., Isolation of piperine from black pepper, *Journal of chemical education*, vol.70 n.7 (1993) 598-599

Fakhari A.R., Peyman S., Rouhollah H., Ebrahimi S.N., Haddad P.R., Hydrodistillation-headspace solvent microextraction, a new method for analysis of the essential oils components of *lavandula augustifolia* mill, *Journal of chromatography A* (2005) 1098, 14-18

Ferreira S.R.S., Meireles M.A.A., Cabral F.A., Extraction of essential oil of black pepper with liquid carbon dioxide, *Journal of food engineering* 20 (1993) 12 1- 133

Geisler J.G., Gross G.G., The Biosynthesis of piperine in *piper nigrum*, *Phytochemistry*, vol. 29, no. 2 (1990) 489- 492

Grosso C., Tavares Cardoso M.A., Figueredo A.C., Moldao-Martins M., Burillo J., Urieta J.S., Barroso J.G., Goelho J.A., Palavra A.M., Supercritical fluid extraction, hydrodistillation and Soxhlet extraction of the aerial part of winter savory. Comparative evaluation of the extract method on the chemical composition, Congress of Chemical Engineering, Copenhagen, 16-20 September, 2007

Harzallah-Skhiri F., Cheraif I., Ben Jannet H., Hammami M., Chemical composition of essential oils from leaves-stems, flowers and roots of *inula graveolens* from Tunisia, *Pakistan Journal of Biological Sciences* 8 (2): (2005) 249-254

Jagella T., Grosch W., Flavour and off-flavour compounds of black and white pepper (*Piper nigrum* L.) I. Evaluation of potent odorants of black pepper by dilution and concentration techniques, *European food research technology* 209 (1999)16–21

Jirovetz L., Buchbauer G., Ngassoum M.B., Geissler M., Aroma compound analysis of *Piper nigrum* and *Piper guineense* essential oils from Cameroon using solid-phase microextraction–gas chromatography, solid-phase microextraction–gas chromatography– mass spectrometry and olfactometry, *Journal of chromatography A*, 976 (2002) 265–275

Joy C.M., Pittappillil G.P., Jose K.P., Drying of black pepper (*Piper nigrum* L.) using solar tunnel dryer, *Pertanika J. Trap. Agric. Sci.* 25 (1) (2002) 39 - 45

[http://psasir.upm.edu.my/3381/1/Drying\\_of\\_Black\\_Pepper\\_\(Piper\\_nigrum\\_L.\)\\_Using\\_Solar\\_Tunnel\\_Dryer.pdf](http://psasir.upm.edu.my/3381/1/Drying_of_Black_Pepper_(Piper_nigrum_L.)_Using_Solar_Tunnel_Dryer.pdf)

Kouninki K., Ngamo L.S.T., Hance T., Ngassam M.B., Potential use of essential oils from local Cameroonian plants for the control of red flour weevil *tribolium castaneum* (herbst.) (coleopteran: tenebrionidae), African Journal of food agriculture nutrition and development, v. 7, no 5, 2007

Li Y., Zhang Y., Wang X.L., Huong Z., Cao X.P., Stereoselective synthesis of piperamide alkaloids by modified Ramberg-Bcklund reaction, Chinese chemical letters (2004) vol.15 no 6 631-634

McMurry J., Οργανική χημεία – τόμος II, Πανεπιστημιακές εκδόσεις Κρήτης (2006) 1356-1361

Nair K.P., The agronomy and economy of black pepper (*Piper nigrum* L.) - the “king of spices”, Advances in agronomy, Academic press, Volume 82 (2004), 271- 389

Ngamo T.S.L., Ngatanko I., Ngassoum M.B., Mapongmestsem P.M., Hance T., Persistence of insecticidal activities of crude essential oils of three aromatic plants towards four major stored product insect pests, African Journal of agriculture research, v. 2 (4), pp. 173-177, Apr 2007

Nisha P., Singhal R.S., Pandit A.B., The degradation kinetics of flavor in black pepper (*piper nigrum* L.), Journal of food engineering 92 (2009) 44–49

Parthasarathy V., Sasikumar B., Nair R., George K., Plant breeding reviews – vol.29, John Wiley and sons (2007) 198-199

Perakis C., Louli V., Magoulas K., Supercritical fluid extraction of black pepper, Journal of food engineering 71 (2005) 386-393

Peres V.F., Saffi J., Melecchi M.I.S., Abad F.C., de Assis Jacques R., Martinez M.M., Oliveira E.C., Caramao E.B., Comparison of soxhlet, ultrasound-assisted and pressurized liquid extraction of terpenes, fatty acids and vitamin E from *piper gaudichaudianum* Kunth, Journal of chromatography A, 1105 (2006) 115–118

Plessi M., Bertelli D., Miglietta F., Effect of microwaves on volatile compounds in white and black pepper, Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie 35 (2002) 260–264

Ravindran P.A., Black pepper, piper nigrum. Medicinal and aromatic plants—Industrial profiles, vol. 13 (2000) Harwood Academic Publishers, The Netherlands

Ribeiro T.S., Freire-de-Lima L., Previato J.O., Mendonca-Previato L., Heise N., Freire de Lima M.E, Toxic effects of natural piperine and its derivatives on epimastigotes and amastigotes of *Trypanosoma cruzi*, *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* 14 (2004) 3555–3558

Rouatbi M., Duquenoy A., Giampaoli P., Extraction of the essential oil of thyme and black pepper by superheated steam, *Journal of food engineering* 78 (2007) 708–714

Samuelsson G., Φαρμακευτικά Προϊόντα Φυσικής Προελεύσεως, Πανεπιστημιακές Εκδόσεις Κρήτης (2004) 203-204

Sankarikutty B., Narayanan C.S., Essential oils - Isolation and production, *Encyclopedia of food sciences and nutrition - second edition - Academic Press* (2003) 2185-2189

Sartoratto A., Machado A.L.M., Delarmelina C., Figueira G.M., Duarte M.C.T., Rehder V.L.G., Composition and antimicrobial activity of essential oils from aromatic plants used in Brazil, *Brazilian Journal of Microbiology* v.35, no 4, Oct/Dec (2004)

Schulz H., Baranska M., Quilitzsch R., Schütze W., Lösing G., Characterization of peppercorn, pepper oil and pepper oleoresin by vibrational spectroscopy methods, *Journal of agricultural and food chemistry* (2005) 53, 3358-3363

Schulz H., Baranska M., Identification and quantification of valuable plant substances by IR and Raman spectroscopy, *Vibrational spectroscopy* 43 (2007) 13–25

Schulz H., Quilitzsch R., Krüger H., Rapid evaluation and quantitative analysis of thyme, oregano and chamomile essential oils by ATR-IR and NIR spectroscopy, *Journal of molecular structure* 661-662 (2003) 299–306

Singh G., Marimuthu P., Catalan C., deLampasona M.P., Chemical, antioxidant and antifungal activities of volatile oil of black pepper and its acetone extract, *Journal of the science of food and agriculture*, 84 (2004) 1878–1884

Stefanini M.B., Ming L.C., Marques M.O.M., Facanal R., Merreles M.A.A., Moura L.S., Marchese J.A., Sousa L.A., Essential oils constituents of different organs of fennel (*Foeniculum vulgare* var. *vulgare*), *Rev. Bras. Pl. Med., Botucatu*, v.8 (2006) n.esp. 193-198

Suresh D., Manjunatha H., Srinivasan K., Effect of heat processing of spices on the concentrations of their bioactive principles: Turmeric (*Curcuma longa*), red pepper (*Capsicum annuum*) and black pepper (*Piper nigrum*), *Journal of Food Composition and Analysis* 20 (2007) 346–351

Vila R., Milo B., Tomi F., Casanova J., Ferro E.A., Cañigüeral S., Chemical composition of the essential oil from the leaves of *Piper fulvescens*, a plant traditionally used in Paraguay, *Journal of Ethnopharmacology* 76 (2001) 105–107

Wilson L.A., Use of spices in the food industry, *Spices and flavouring crops*, *Encyclopedia of food sciences and nutrition-second edition-vol.9*, Academic press (2003) 5460-5465

Wood A.B., Barrow M.L., James D.J., Piperine determination in pepper (*P. nigrum*) and its oleoresins - A reversed-phase high-performance liquid chromatographic method, *Flavour and fragrance journal*, vol.3 (1988) 55-64

### **Διαδίκτυο**

Kokkini S., Karousou R., Hanlidou E., Lanaras T., Essential oil composition of Greek (*origanum vulgare* spp. *Hirtum*) and Turkish (*origanum onites*) oregano: a tool for their distinction, *Journal of essential oil research*, jul/aug (2004)  
[http://findarticles.com/p/articles/mi\\_qa4091/is\\_/ai\\_n9450509\\_47k-](http://findarticles.com/p/articles/mi_qa4091/is_/ai_n9450509_47k-)

Parthasarathy V.A., Chempakam B., Zachariah T.J., *Chemistry of spices*, CABI (2008) 21-41  
[http://books.google.gr/books?id=5WY08iuJyawC&pg=PA21&lpg=PA21&dq=%22black+pepper%22%2Bmoisture&source=bl&ots=1KwiUAbUUC&sig=BUUnKuhSuB7MfvVAXVk\\_s4cXheME&hl=el&ei=-igzTY2CGIeVswaBtNmTCg&sa=X&oi=book\\_result&ct=result&resnum=4&ved=0CDAQ6AEwAzge#v=onepage&q=%22black%20pepper%22%20moisture&f=false](http://books.google.gr/books?id=5WY08iuJyawC&pg=PA21&lpg=PA21&dq=%22black+pepper%22%2Bmoisture&source=bl&ots=1KwiUAbUUC&sig=BUUnKuhSuB7MfvVAXVk_s4cXheME&hl=el&ei=-igzTY2CGIeVswaBtNmTCg&sa=X&oi=book_result&ct=result&resnum=4&ved=0CDAQ6AEwAzge#v=onepage&q=%22black%20pepper%22%20moisture&f=false)



Piper nigrum - Master document, Quality Control Department, Natural remedies – Research centre, Bangalore, 2000

[http://www.allianceingredients.com/pdfdocs/PIPER\\_NIGRUM.PDF](http://www.allianceingredients.com/pdfdocs/PIPER_NIGRUM.PDF)

White C., Infrared analysis of piperine in black pepper, Athens Technical college, Athens, GA (1995)

<http://www.terrificscience.org/lessonpdfs/PiperineAnalysis.pdf>

[http://en.wikipedia.org/wiki/Black\\_pepper](http://en.wikipedia.org/wiki/Black_pepper)

<http://en.wikipedia.org/wiki/Piperine>

[http://en.wikipedia.org/wiki/Spice\\_trade](http://en.wikipedia.org/wiki/Spice_trade)

<http://www.chempage.de/lexi/soxhlet.htm>

[http://www.plantcultures.org/plants/black\\_pepper\\_production\\_\\_trade.html](http://www.plantcultures.org/plants/black_pepper_production__trade.html)

[http://www.uni-graz.at/~katzner/engl/Pipe\\_nig.html](http://www.uni-graz.at/~katzner/engl/Pipe_nig.html)

## ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ

### I. Κατάλογος συντημήσεων

AEDA	Aroma Extract Dilution Analysis
AOAC	Association of Official Analytical Chemists
ASTA	American Spice Trade Association
ATR	Attenuated Total Reflectance Spectroscopy
BHA	Βουτυλο-υδροξύ-ανισόλη
BHT	Βουτυλο-υδροξύ-τολουόλιο
DRIFT	Diffuse Reflectance Fourier Transformed
ESA	European Spice Association
FAO/WHO	Food Agriculture Organization / World Health Organization
FID	Flame Ionization Detector
FT-IR	Fourier Transform Infra Red
GC	Gas Chromatography
HPLC	High Performance Liquid Chromatography
HPTLC	High Performance Thin-Layer Chromatography
HS	Head Space
NIR	Near Infra Red
IPC	International Pepper Community
ISO	International Organization of Standardization
IUPAC	International Union of Pure and Applied Chemistry
ΚΤΠ	Κώδικας Τροφίμων και Ποτών
MD	Multidimensional
MS	Mass Spectrometer
NMR	Nuclear Magnetic Resonance
PCA	Principal Component Analysis
SFE	Supercritical Fluid Extraction
SIM	Single Ion Monitoring
SPME	Solid-Phase Microextraction
TLC	Thin-Layer Chromatography
UV	Ultra Violet

## II. Μετρήσεις

### 1. Υγρασία (%)

Προϊόν	Είδος	Αρχικό βάρος κάψας (g)	Βάρος κάψας+δείγματος	Τελ. βάρος κάψας (g)	Υγρασία (%)	Μ.Τιμή (%)
Appetito	M	12,3189	14,8813	14,6174	10,3	10,3±0,1
		13,8900	16,4073	16,1462	10,4	
	Λ	12,8119	15,3248	15,0583	10,6	10,6±0,0
		13,1574	15,6273	15,3647	10,6	
Captain`s	M	13,8898	16,4246	16,2076	8,6	8,6±0,0
		12,3169	14,8371	14,6207	8,6	
	Λ	12,8118	15,3797	15,1374	9,4	9,4±0,0
		13,1573	15,7274	15,4848	9,4	
Carrefour	M	13,8898	16,4196	16,1573	10,4	10,4±0,1
		12,3165	15,8305	15,4608	10,5	
	Λ	12,8117	15,3599	15,0986	10,3	10,3±0,0
		13,1571	15,7247	15,4606	10,3	
Ήλιος	M	12,3166	14,8301	14,5980	9,2	9,2±0,0
		13,8898	16,4006	16,1687	9,2	
	Λ	12,3166	14,8423	14,5938	9,8	9,8±0,0
		13,8898	16,4465	16,1966	9,8	
Σκλαβενίτης	M	13,8903	16,4082	16,1428	10,5	10,5±0,0
		12,3174	14,8267	14,5667	10,5	
	Λ	12,8118	15,3512	15,0604	11,5	11,4±0,1
		13,1576	15,7018	15,4122	11,4	
365	M	12,8119	15,3176	15,0470	10,8	10,8±0,1
		13,1571	15,6592	15,3878	10,9	
	Λ	13,8901	16,4409	16,1544	11,2	11,2±0,0
		12,3166	14,9149	14,6246	11,2	
Λίρα - Dia	M	11,7102	14,3483	14,1152	8,8	8,8±0,0
		12,8120	15,3628	15,1380	8,8	

## 2. Αιθέριο έλαιο επί ξηρού (%)

Προϊόν	Είδος	Βάρος δείγματος (g)	Αιθέριο έλαιο (ml)	Αιθέριο έλαιο επί ξηρού (%)
Appetito	Μαύρο	40,1	0,95	2,64
	Λευκό	40,3	0,50	1,39
Captain`s	Μαύρο	40,0	0,50	1,37
	Λευκό	40,1	0,40	1,10
Carrefour	Μαύρο	40,2	1,00	2,78
	Λευκό	40,8	0,45	1,23
Ήλιος	Μαύρο	40,0	0,50	1,38
	Λευκό	40,3	0,45	1,24
Σκλαβενίτης	Μαύρο	40,0	1,10	3,07
	Λευκό	40,0	0,65	2,12
365	Μαύρο	40,0	1,15	3,23
	Λευκό	40,1	0,75	2,11
Λίρα - Dia	Μαύρο	40,5	0,40	1,08

### 3. Πιπερίνη επί ξηρού (%)

Προϊόν	Είδος	Βάρος δειγματος (g)	Απορρόφηση 343nm	Πιπερίνη (%)	Μ.Τιμή (%)
Appetito	Μαύρο	0,2501	0,648	5,83	5,55±0,27
		0,2508	0,543	5,29	
		0,2504	0,567	5,54	
	Λευκό	0,2504	0,659	5,94	5,84±0,14
		0,2503	0,580	5,68	
Captain`s	Μαύρο	0,2499	0,696	6,15	5,79±0,42
		0,2515	0,621	5,89	
		0,2504	0,555	5,32	
	Λευκό	0,2513	0,635	5,77	5,80±0,14
		0,2529	0,600	5,77	
Carrefour	Μαύρο	0,2498	0,578	5,21	5,60±0,39
		0,2532	0,578	5,59	
		0,2538	0,622	6,00	
	Λευκό	0,2510	0,688	6,17	5,91±0,23
		0,2547	0,607	5,83	
`Ηλιος	Μαύρο	0,2501	0,655	5,82	6,08±0,29
		0,2521	0,668	6,40	
		0,2522	0,640	6,03	
	Λευκό	0,2507	0,618	5,52	5,61±0,26
		0,2514	0,610	5,90	
Σκλαβενίτης	Μαύρο	0,2512	0,660	5,93	5,97±0,09
		0,2512	0,622	6,07	
		0,2508	0,605	5,91	
	Λευκό	0,2505	0,635	5,78	5,98±0,18
		0,2528	0,620	6,07	
365	Μαύρο	0,2510	0,710	6,40	6,39±0,04
		0,2504	0,652	6,40	
		0,2517	0,651	6,36	
	Λευκό	0,2517	0,619	5,59	5,77±0,15
		0,2521	0,596	5,84	
Λίρα - Dia	Μαύρο	0,2509	0,756	6,85	6,35±0,43
		0,2518	0,640	6,11	
		0,2516	0,638	6,10	