



ΓΕΩΠΟΝΙΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ

ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ ΚΑΙ ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ ΤΟΥ ΑΝΘΡΩΠΟΥ

ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΧΗΜΕΙΑΣ

ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ

«ΘΕΤΙΚΕΣ ΕΠΙΣΤΗΜΕΣ ΣΤΗ ΓΕΩΠΟΝΙΑ ΚΑΙ ΣΤΟ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝ»

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

**ΤΑΧΕΙΕΣ ΑΝΑΛΥΤΙΚΕΣ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΕΣ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΥ ΝΟΘΕΙΑΣ
ΕΛΑΙΟΥ ARGAN: ΦΘΟΡΙΣΜΟΜΕΤΡΙΑ ΣΥΓΧΡΟΝΗΣ ΣΑΡΩΣΗΣ**



**ΦΩΤΕΙΝΗ Ν. ΜΕΛΛΟΥ
ΧΗΜΙΚΟΣ**

ΕΠΙΒΛΕΠΩΝ ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ ΚΩΝΣΤΑΝΤΙΝΟΣ ΓΕΩΡΓΙΟΥ

ΑΘΗΝΑ 2014



ΓΕΩΠΟΝΙΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ

ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ ΚΑΙ ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ ΤΟΥ ΑΝΘΡΩΠΟΥ

ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΧΗΜΕΙΑΣ

ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ

«ΘΕΤΙΚΕΣ ΕΠΙΣΤΗΜΕΣ ΣΤΗ ΓΕΩΠΟΝΙΑ ΚΑΙ ΣΤΟ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝ»

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

**ΤΑΧΕΙΕΣ ΑΝΑΛΥΤΙΚΕΣ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΕΣ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΥ ΝΟΘΕΙΑΣ
ΕΛΑΙΟΥ ARGAN: ΦΘΟΡΙΣΜΟΜΕΤΡΙΑ ΣΥΓΧΡΟΝΗΣ ΣΑΡΩΣΗΣ**

ΦΩΤΕΙΝΗ Ν. ΜΕΛΛΟΥ
ΧΗΜΙΚΟΣ

ΕΠΙΒΛΕΠΩΝ ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ ΚΩΝΣΤΑΝΤΙΝΟΣ ΓΕΩΡΓΙΟΥ

ΑΘΗΝΑ 2014

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

**ΤΑΧΕΙΕΣ ΑΝΑΛΥΤΙΚΕΣ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΕΣ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΥ ΝΟΘΕΙΑΣ
ΕΛΑΙΟΥ ARGAN: ΦΘΟΡΙΣΜΟΜΕΤΡΙΑ ΣΥΓΧΡΟΝΗΣ ΣΑΡΩΣΗΣ**

**ΦΩΤΕΙΝΗ Ν. ΜΕΛΛΟΥ
ΧΗΜΙΚΟΣ**

**ΕΠΙΒΛΕΠΩΝ ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ
ΚΩΝΣΤΑΝΤΙΝΟΣ ΓΕΩΡΓΙΟΥ**

ΜΕΛΗ ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗΣ

ΚΩΝΣΤΑΝΤΙΝΟΣ ΓΕΩΡΓΙΟΥ, Καθηγητής Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών

ΓΕΩΡΓΙΟΣ ΜΟΥΣΔΗΣ, Ερευνητής Β' Εθνικού Ιδρύματος Ερευνών

ΠΕΤΡΟΣ ΤΑΡΑΝΤΙΛΗΣ, Αναπλ. Καθηγητής Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών

Η παρούσα μεταπτυχιακή διατριβή εκπονήθηκε υπό την επίβλεψη του Καθηγητή Κωνσταντίνου Γεωργίου τον οποίο θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά όχι μόνο για την επιλογή του θέματος αλλά πολύ περισσότερο για την πολύτιμη καθοδήγησή του, τις συμβουλές και υποδείξεις κατά τη διάρκεια της διατριβής. Ιδιαίτερα θα ήθελα να ευχαριστήσω και να εκφράσω την ευγνωμοσύνη μου στον Ερευνητή Γιώργο Μούσδη για τη σημαντική και απαραίτητη συμβολή του στη διατριβή με τις απαραίτητες οδηγίες και γνώσεις του. Επιπρόσθετα, θέλω να ευχαριστήσω και τους δυο για την βοήθειά τους οποτεδήποτε τη χρειάστηκα.

Επίσης ευχαριστώ τον καθηγητή Aziz Amine του Πανεπιστημίου HassanII-Mohammedia του Μαρόκο ο οποίος μας προμήθευσε τα δείγματα ελαίου Argan και τον καθηγητή John Kalivas του Πανεπιστημίου του Idaho (Ηνωμένες Πολιτείες Αμερικής) οποίος επεξεργάστηκε τα δεδομένα που ελήφθησαν χρησιμοποιώντας χημειομετρικές μεθόδους ανάλυσης.

Επιπλέον αισθάνομαι την ανάγκη να ευχαριστήσω τον "κόσμο" του Εθνικού Ιδρύματος Ερευνών όπου έλαβε χώρα το πειραματικό μέρος της διατριβής για τη φιλοξενία και το ευχάριστο και φιλικό περιβάλλον εργασίας.

Επίσης, ευχαριστώ τη Γενική Γραμματεία Έρευνας και Τεχνολογίας για τη χορήγηση υποτροφίας.

Τέλος, υπερευχαριστώ τη μητέρα μου, η οποία με στηρίζει πάντα...

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η φασματοφθορισμομετρία διέγερσης-εκπομπής είναι μια αναλυτική τεχνική μέτρησης εκλεκτικότητας και εξαιρετικά υψηλής ευαισθησίας που μπορεί να εφαρμοστεί στην ανίχνευση αναλυτών σε περιβαλλοντικά και βιολογικά δείγματα. Τα όρια ανίχνευσης είναι στην περιοχή 10^{-9} έως 10^{-12} M ενώ η εκλεκτικότητα είναι ξεκάθαρα μεγαλύτερη από εκείνη της φασματοσκοπίας ορατού υπεριώδους μικρότερη όμως των δονητικών τεχνικών, έτσι εφαρμόζεται για την ανάλυση στην κλίμακα των $\mu\text{g/mL}$. Ωστόσο, αυτές οι εφαρμογές σε ανάλυση δειγμάτων πολλαπλών συστατικών μειώνονται σημαντικά λόγω της αλληλεπικάλυψης των φασμάτων. Η περιορισμένη εκλεκτικότητα της φασματοφθορισμομετρίας διέγερσης-εκπομπής μπορεί να βελτιωθεί με εφαρμογή συνολικής φωταύγειας ή τεχνικές φθορισμομετρίας σύγχρονης σάρωσης.

Το παρθένο έλαιο Argan συλλέγεται από τον καρπό του δέντρου Argan το οποίο είναι ενδημικό στο Νοτιοδυτικό Μαρόκο και προστατεύεται από την UNESCO. Το έλαιο Argan είναι διαδεδομένο για τις καλλυντικές, φαρμακευτικές και διατροφικές εφαρμογές και διαθέτει ιδιαίτερα μοναδικές οργανοληπτικές ιδιότητες που σχετίζονται με το πλούσιο άρωμά του και την ιδιαίτερη γεύση του. Θεωρείται προϊόν πολυτελείας και εξάγεται από το Μαρόκο σε όλο τον κόσμο. Σημειώνεται ότι το έλαιο Argan είναι προστατευόμενης ονομασίας προέλευσης από τη νομοθεσία της Ευρωπαϊκής Ένωσης. Το γεγονός αυτό δεν επιτρέπει το χαρακτηρισμό έλαιο Argan όταν αυτό παράγεται σε άλλες από το Μαρόκο χώρες π.χ. Ισραήλ.

Κατά συνέπεια, ο προσδιορισμός της αυθεντικότητας και της ανίχνευσης νοθείας του ελαίου Argan είναι θέματα αυξανόμενης σημασίας. Η πιστοποίηση του ελαίου Argan απαιτεί ταχείες και απλές τεχνικές για έλεγχο ποιότητας/νοθείας.

Η παρούσα μελέτη επικεντρώνει στη δυνατότητα της χρήσης των φασμάτων φθορισμού σύγχρονης σάρωσης για τη διαφοροποίηση του ελαίου Argan από το αραβοσιτέλαιο. Επιπλέον παρουσιάζεται η εφαρμογή των φασμάτων φθορισμού σύγχρονης σάρωσης συνδυαζόμενα με χημειομετρικές μεθόδους ανάλυσης για τον ποσοτικό προσδιορισμό της νοθείας του ελαίου Argan.

Διαφορετικά δείγματα ελαίου Argan νοθεύτηκαν με αραβοσιτέλαιο σε ποικίλα επίπεδα με έμφαση σε χαμηλές συγκεντρώσεις. Τα φάσματα φθορισμού σύγχρονης σάρωσης λήφθηκαν μεταβάλλοντας το μήκος κύματος διέγερσης στην περιοχή 300-800 nm και σε $\Delta\lambda$ από 10 έως 100 nm. Τα τρισδιάστατα φάσματα για το αραβοσιτέλαιο, σε αντίθεση με το έλαιο Argan, δείχνουν μια περιοχή φθορισμού στην κλίμακα μήκους κύματος διέγερσης 330-410 nm.

Για $\Delta\lambda$ 10 nm, στην περιοχή των 365-375 nm, η κλίση της καμπύλης αναφοράς η οποία είναι η ένταση του φθορισμού (αυθαίρετες μονάδες) συναρτήσει της % (w/w) συγκέντρωσης

αραβοσιτελαίου είναι $1,52 \pm 0,01$ και η τεταγμένη επί την αρχή $6,3 \pm 0,3$ με τιμή συντελεστή συσχέτισης $0,9998$. Για $\Delta\lambda$ 20 nm, στην περιοχή των 345-355 nm, η κλίση της καμπύλης αναφοράς είναι $8,51 \pm 0,04$ και η τεταγμένη επί την αρχή 34 ± 2 με τιμή συντελεστή συσχέτισης $0,9996$. Για $\Delta\lambda$ 30 nm, στην περιοχή των 360-370 nm, η κλίση είναι $10,21 \pm 0,04$ και η τεταγμένη επί την αρχή 32 ± 2 με τιμή συντελεστή συσχέτισης $0,9997$. Για $\Delta\lambda$ 40 nm, στην περιοχή των 360-370 nm, η κλίση βρέθηκε $22,7 \pm 0,1$ με τεταγμένη επί την αρχή $90,5 \pm 5,9$ και $0,9995$ ο συντελεστής συσχέτισης. Για $\Delta\lambda$ 50 nm, στην περιοχή των 380-390 nm, η κλίση είναι $16,18 \pm 0,07$, η τεταγμένη επί την αρχή $48,7 \pm 3,1$ με τιμή συντελεστή συσχέτισης $0,9997$. Για $\Delta\lambda$ 60 nm, στην περιοχή των 385-395 nm, η κλίση είναι $22,6 \pm 0,1$ και η τεταγμένη επί την αρχή $79,4 \pm 5,1$ με τιμή συντελεστή συσχέτισης $0,9996$. Για $\Delta\lambda$ 70 nm, στην περιοχή των 410-420 nm, η κλίση είναι $9,36 \pm 0,04$ και η τεταγμένη επί την αρχή $58,9 \pm 1,7$ με τιμή συντελεστή συσχέτισης $0,9997$. Για $\Delta\lambda$ 80 nm, στην περιοχή των 415-425 nm, η κλίση είναι $11,25 \pm 0,05$ και η τεταγμένη επί την αρχή $75,8 \pm 2,1$ με τιμή συντελεστή συσχέτισης $0,9997$, για $\Delta\lambda$ 90 nm, στην περιοχή των 415-425 nm, η κλίση είναι $17,61 \pm 0,09$ και η τεταγμένη επί την αρχή $102,7 \pm 3,8$ με τιμή συντελεστή συσχέτισης $0,9996$ ενώ για $\Delta\lambda$ 100 nm, στην περιοχή των 435-445 nm, η κλίση είναι $8,45 \pm 0,04$ και η τεταγμένη επί την αρχή $59,8 \pm 1,6$ με τιμή συντελεστή συσχέτισης $0,9997$. Η τεταγμένη επί την αρχή οφείλεται στον εγγενή φθορισμό του ελαίου Argan.

Σημειώνεται, ότι η μέθοδος δίνει τη δυνατότητα για ανάλυση στο σημείο της παραγωγής/εμπορίας χωρίς να υπάρχει ανάγκη μεταφοράς στο εργαστήριο. Η προτεινόμενη τεχνική είναι ταχεία, δεν απαιτεί προκατεργασία των δειγμάτων με αποτέλεσμα να είναι μια απλή και εύχρηστη μέθοδος.

ΕΠΙΣΤΗΜΟΝΙΚΗ ΠΕΡΙΟΧΗ/ΛΕΞΕΙΣ ΚΛΕΙΔΙΑ

Χημεία Τροφίμων/Φθορισμομετρία σύγχρονης σάρωσης, έλαιο Argan, νοθεία, αυθεντικότητα.

ABSTRACT

Excitation-emission (EE) spectrofluorimetry is an analytical technique of moderate selectivity and extremely high sensitivity, which can be applied to the detection of analytes in environmental and biological samples. The detection limits are in the range of 10^{-8} – 10^{-10} M, while the selectivity is greater than that of UV Visible spectroscopy but smaller than that of vibrational techniques thus, it is applied for the analysis of concentrations in the range of pg/mL. However, these performances in multi-component analysis fall off considerably due to the overlapping of the spectra, so that resolution of mixtures is unsatisfactory. The limited selectivity of EE spectrofluorimetry can be improved by applying total luminescence or synchronous scanning fluorescence techniques.

Argan oil is made from the Argan tree, endemic from southwestern Morocco protected by UNESCO. Argan oil is well known for its cosmetic, pharmaceutical and nutritional applications and has particularly unique organoleptic properties, related to its rich aroma and nutty flavour. It is considered a luxury product and is exported from Morocco around the world. It should be noted that Argan oil is protected designations of origin by the legislation of the European Union. This fact does not allow the characterization of "Argan oil" if the oil is produced in other countries than Morocco, for instance Israel.

Consequently the determination of Argan oil authenticity and the detection of adulteration are issues of increasing importance. The authentication of Argan oil requires fast and simple techniques for quality control and testing.

This study focuses on the potential of total synchronous fluorescence (TSyF) spectra to differentiate Argan oil from corn oil. Synchronous fluorescence spectra combined with multivariate analysis to assess the adulteration of Argan oil is also demonstrated. Different Argan oils samples were adulterated with corn oil at varying levels with emphasis at low concentrations. TSyF spectra were acquired by varying the excitation wavelength in the region 300-800 nm and wavelength interval ($\Delta\lambda$) in the region from 10 to 100 nm. TSyF contour plots for corn oil, in contrast to Argan oil, show a fluorescence region in the excitation wavelength range 330-410 nm.

For $\Delta\lambda$ 10 nm, in the region of 365-375 nm the slope of the calibration curve that is fluorescence intensity (arbitrary units) versus % (w/w) corn oil, is $1,52\pm 0,01$ and the intercept $6,3\pm 0,3$ with 0,9998 correlation coefficient. For $\Delta\lambda$ 20 nm, in the region of 345-355 nm, the slope was found to be $8,51\pm 0,04$ and the intercept 34 ± 2 with 0,9996 correlation coefficient. For $\Delta\lambda$ 30 nm, in the region of 360-370 nm, the slope was found to be $10,21\pm 0,04$ and the intercept 32 ± 2 with 0,9997 correlation coefficient. For $\Delta\lambda$ 40 nm, in the region of 360-370 nm, the slope was found to be $22,7\pm 0,1$ with intercept $90,5\pm 5,9$ and 0,9995 correlation coefficient.

For $\Delta\lambda$ 50 nm, in the region of 380-390 nm, the slope was found to be $16,18\pm0,07$, and the intercept $48,7\pm3,1$ with 0,9997 correlation coefficient. For $\Delta\lambda$ 60 nm, in the region of 385-395 nm, the slope is $22,6\pm0,1$ and the intercept $79,4\pm5,1$ with 0,9996 correlation coefficient. For $\Delta\lambda$ 70 nm, in the region of 410-420 nm, the slope was found to be $9,36\pm0,04$ and the intercept $58,9\pm1,7$ with 0,9997 correlation coefficient. For $\Delta\lambda$ 80 nm, in the region of 415-425 nm, the slope was found to be $11,25\pm0,05$ and the intercept $75,8\pm2,1$ with 0,9997 correlation coefficient. For $\Delta\lambda$ 90 nm, in the region of 415-425 nm, the slope was found to be $17,61\pm0,09$ and the intercept $102,7\pm3,8$ with 0,9996 correlation coefficient, while for $\Delta\lambda$ 100 nm, in the region of 435-445 nm, the slope was found to be $8,45\pm0,04$ and the intercept $59,8\pm1,6$ with 0,9997 correlation coefficient. The intercept is due to the intrinsic fluorescence of Argan oil.

It should be noted that this method gives the ability for analysis at the point of production/marketing without the need to transfer to the laboratory. Moreover, the recommended technique is rapid, requires no sample pretreatment steps resulting in simple and easy to use method.

SCIENTIFIC AREA/KEYWORDS

Food Chemistry/Synchronous fluorescence spectroscopy, Argan oil, adulteration, authentication.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1

	Εισαγωγή	1
1.1	Δέντρο Argan	5
1.2	Καρποί δέντρου Argan	7
1.3	Ξύλο δέντρου Argan	8
1.4	Φύλλα δέντρου Argan	8
1.5	Έλαιο Argan (Argan Oil)	9
1.5.1	Μέθοδοι παραλαβής παρθένου ελαίου Argan	9
1.5.1.1	Παραδοσιακή μέθοδος	9
1.5.1.2	Ημιβιομηχανική μέθοδος- Παραλαβή με πίεση, Παραλαβή με διαλύτες, Εμπλουτισμένο έλαιο Argan	10
1.5.1.3	Σύγκριση μεταξύ παραδοσιακής και ημι βιομηχανικής μεθόδου παραλαβής	11
1.5.2	Αναλυτική μελέτη ελαίου Argan	11
1.5.2.1	Φυσικοχημικά δεδομένα	11
1.5.2.2	Σύσταση παρθένου ελαίου Argan: Λιπαρά οξέα, Τριγλυκερίδια, Πολυφαινόλες, Τοκοφερόλες, Κηροί, Στερόλες, Τριτερπενοειδείς αλκοόλες, Άλλες δευτερεύουσες ενώσεις	11
1.5.2.3	Αντοχή του ελαίου Argan στην οξείδωση	21
1.5.2.4	Παραπροϊόντα της παραλαβής του ελαίου Argan- Στερεό υλικό που παραμένει μετά την παραλαβή μέσω πίεσης (Press cake), Υδρο-αλκοολικό εκχύλισμα, Πολτός (Πούλπα)	22
1.5.2.5	Έλαιο Argan ως λειτουργικό τρόφιμο- Έλαιο Argan και διατροφική ασφάλεια, Έλαιο Argan και καρδιαγγειακή νόσος, Έλαιο Argan και διαβήτη, Αντικαρκινική δράση ελαίου Argan, Αντιθρομβωτική δράση ελαίου Argan	23
1.5.2.6	Συντήρηση/αποθήκευση ελαίου Argan	27
1.5.2.7	Εθνοφαρμακολογική χρήση του ελαίου Argan	28
1.5.2.8	Άλλες χρήσεις/εφαρμογές	28

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2

2.1	Φθορισμομετρία	29
2.1.1	Θεωρία του φθορισμού	29
2.1.2	Ενεργειακά διαγράμματα μορίων που εμφανίζουν φωτοφωταύγεια	30
2.1.3	Μηχανισμοί αποδιέγερσης- Δονητική επαναφορά, Εσωτερική μετατροπή, Εξωτερική μετατροπή, Διασυστηματική διασταύρωση, Φωσφορισμός	32
2.1.4	Παράμετροι που επηρεάζουν το φθορισμό	34
2.1.5	Φάσματα διέγερσης και εκπομπής	36
2.1.6	Τα φάσματα εκπομπής είναι τυπικά ανεξάρτητα του μήκους κύματος διέγερσης	37
2.1.7	Εξαιρέσεις στον κανόνα του κατοπτρικού ειδώλου	37
2.2.	Φθορισμομετρία σύγχρονης σάρωσης	38
2.2.1	Πλεονεκτήματα και μειονεκτήματα φθορισμομετρίας σύγχρονης σάρωσης	39

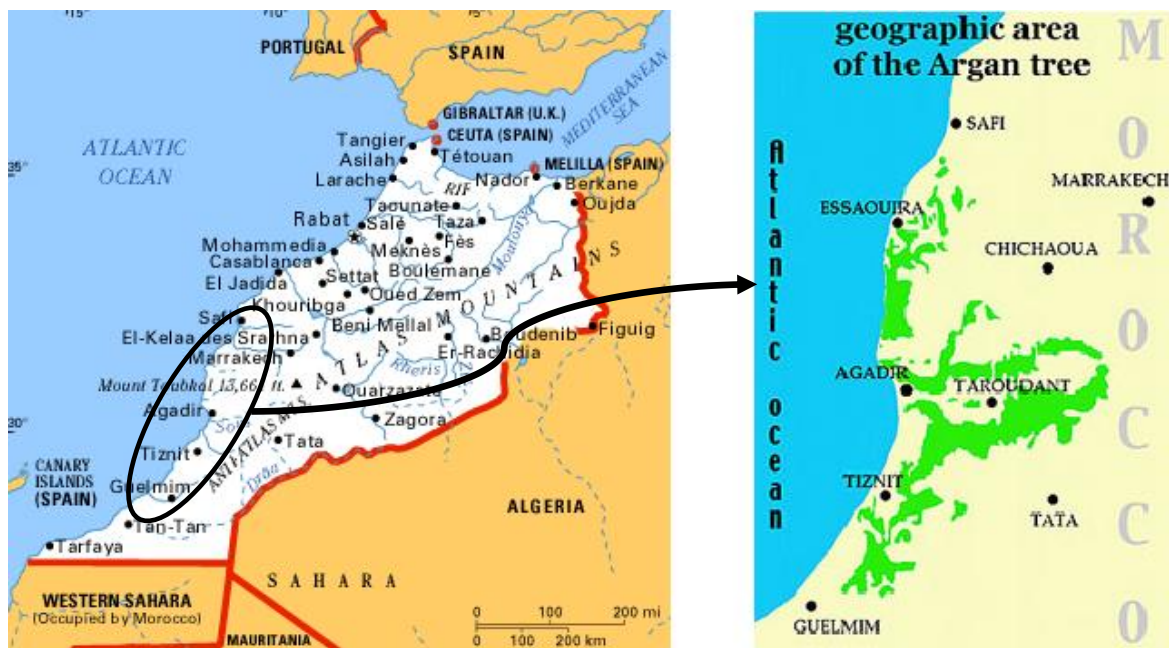
2.2.2	Εφαρμογές της φθορισμομετρίας σύγχρονης σάρωσης- Περιβαλλοντικά δείγματα, Βιολογικά και φαρμακευτικά δείγματα, Δείγματα τροφίμων και προϊόντων πετρελαίου	41
2.2.3	Οργανολογία- Χαρακτηριστικά τυπικού Φασματοφθορισμομέτρου	44
	ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3	
3.1	Πολυπαραμετρικές Στατιστικές Μέθοδοι	47
3.1.1	Βαθμονόμηση πολυμεταβλητών στην αναλυτική χημεία- Μέθοδος μερικών ελαχίστων τετραγώνων (Partial Least Squares, PLS)	47
	ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	
	ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4	
4.1	Σκοπός μεταπτυχιακής διατριβής	50
4.2.	Δείγματα/Αντιδραστήρια	51
4.2.1	Έλαια	51
4.2.2	Διαλύτης	51
4.3.	Οργανολογία	51
4.4	Παράμετροι λήψης φασμάτων	52
4.5	Λογισμικό	52
4.6	Στατιστική ανάλυση	52
4.7	Φάσματα φθορισμού σύγχρονης σάρωσης ελαίου Argan και αραβοσιτελαίου	53
4.8	Ποσοτικός προσδιορισμός νοθείας ελαίου Argan	62
	ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5	
5.1	Συμπεράσματα	70
	ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	71
	ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ	81

ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1

Εισαγωγή

Το παρθένο έλαιο Argan συλλέγεται από τον καρπό του δέντρου Argan *Argania spinosa* [L.] Skeels, ένα είδος το οποίο είναι ενδημικό στο Νοτιοδυτικό Μαρόκο και στην περιοχή της Αλγερίας Τίντουφ στη δυτική Μεσογειακή περιοχή, όπου αναπτύσσεται σε πάνω από περίπου 320000 τετραγωνικά μέτρα (Εικόνα 1).



Εικόνα 1. Περιοχή καλλιέργειας του δέντρου Argan.

Το δέντρο Argan προστατεύεται από την UNESCO (United Nations Educational, Scientific and Cultural Organization), λόγω της μοναδικότητάς του και της σημασίας του. Το δέντρο Argan, ικανό να επιβιώνει ακόμα και σε εξαιρετική ξηρασία και πτωχό έδαφος, παρέχει περιβαλλοντική προστασία μειώνοντας την ερημοποίηση. Το δέντρο παράγει καρπούς μεγέθους δαμάσκηγου που περιέχουν μια δομή η οποία μοιάζει με πέτρα που εγκλείει έναν έως τρεις πυρήνες με υψηλό περιεχόμενο σε έλαιο. Για αιώνες, η παραγωγή του παρθένου ελαίου Argan ασκεί ανεκτίμητο οικονομικό ρόλο στο Μαρόκο και σήμερα η συνολική ετήσια παραγωγή φτάνει περίπου τους 4.000 τόνους/χρόνο. Το έλαιο Argan χρησιμοποιείται στη μαγειρική στο Νοτιοδυτικό Μαρόκο, αντιπροσωπεύοντας το 25 % του συνολικής πρόσληψης διαιτητικού λίπους σε αυτή την περιοχή. Το έλαιο το οποίο έχει μια εκλεπτυσμένη γεύση έχει επεκταθεί τελευταία στην Ευρωπαϊκή αγορά ελαίου και απαντάται εύκολα σε καταστήματα

gourmet στην Ιαπωνία και τις Ηνωμένες Πολιτείες. Με τιμή περίπου 100 € το λίτρο στη Ευρώπη το έλαιο Argan θεωρείται τρόφιμο πολυτελείας. Ωστόσο, οι εξαγωγές πιθανότατα θα αυξηθούν στο κοντινό μέλλον, ιδιαίτερα εφόσον οι μοναδικές ιδιότητες αυτού του ελαίου γίνονται ευρύτερα γνωστές.

Το παρθένο έλαιο Argan χαρακτηρίζεται από υψηλά επίπεδα λινελαϊκού και ελαϊκού οξέος και είναι πλούσιο σε πολυφαινόλες και τοκοφερόλες οι οποίες εμφανίζουν σημαντική αντιοξειδωτική δράση. Επιπρόσθετα, η παρουσία δευτερευόντων ενώσεων όπως στερολών, καροτενοειδών, ξανθοφυλλών και σκουαλενίου συνεισφέρει στην θρεπτική του αξία και τις ιδιότητες για την υγεία, τα διαιτητικά και οργανοληπτικά του χαρακτηριστικά και τις ιδιότητές του ως συντηρητικό. Η γεωγραφική προέλευση του δέντρου Argan είναι περιορισμένη και συγκεκριμένη, και ως αποτέλεσμα η χημική σύσταση (κύρια και δευτερεύοντα συστατικά) του παρθένου ελαίου Argan είναι υψηλά αναπαραγόμενη.

Υπό Μαροκινή δικαιοδοσία, ένας κανονισμός εισήχθη το 2003 γνωστός ως Μαροκινή Νόρμα (Norme Marocaine) για να ορίσει τις προδιαγραφές ποιότητας για το παρθένο έλαιο Argan (Πίνακας 1) και την κατάταξη των ελαίων Argan σε διαφορετικές κατηγορίες. Το έξτρα παρθένο ελαιόλαδο είναι στο υψηλότερο επίπεδο ποιότητας και αναφέρεται σε ένα έλαιο με τιμή οξύτητας χαμηλότερη από 1,0 (Πίνακας 2).

Πίνακας 1. Διακριτικά κριτήρια ποιότητας για το παρθένο έλαιο Argan, σύμφωνα με τη Μαροκινή Νόρμα 08.5.090 (2003).

Παράμετρος		Τιμή	
Πυκνότητα (g/mL)		0,906–0,919	
Αριθμός σαπωνοποίησης		189,0–199,1	
Αριθμός Ιωδίου		91,0–110,0	
Δείκτης Διάθλασης (στους 20°C)		1,463–1,472	
Μη σαπωνοποιημένο κλάσμα		≤1,1 %	
Σύσταση λιπαρών οξέων (%)	Μυριστικό οξύ	≤0,2	
	Πενταδεκαενοϊκό οξύ	≤0,1	
	Παλμιτικό οξύ	≤11,5-15,0	
	Παλμιτελαϊκό οξύ	≤0,2	
	Επταδεκαενοϊκό οξύ	-	
	Στεατικό οξύ	4,3-7,2	
	Ελαϊκό οξύ	43,0-49,1	
	Λινελαϊκό οξύ	29,3-36,0	
	Λινολενικό οξύ	≤0,3	
	Αραχιδονικό οξύ	≤0,5	
	Γκαντελαϊκό οξύ	≤0,5	
	Μπεχενικό οξύ	≤0,2	
	Περιεχόμενο σε στερόλες	Ολικό	≤220 mg/100 g
		Σκοτενόλη	44,0-49,0 %
Σπιναστερόλη		34,0-44,0 %	
Δέλτα-7-αβεναστερόλη		4,0-7,0 %	
Στιγκμάστα 8-22-διεν-3β-όλη		3,2-5,7 %	
Σύσταση τοκοφερολών	Καμπστερόλη	≤0,4 %	
	Ολική	60-90 mg/100g	
	α-τοκοφερόλη	2,4-6,5 %	
	β-τοκοφερόλη	0,1-0,3 %	
	γ-τοκοφερόλη	81,0-92,0 %	
Trans λιπαρά οξέα	δ-τοκοφερόλη	6,2-8,2 %	
	C18:1T	≤0,05	
Τριγλυκερίδια με παλμιτικό οξύ στη θέση 2	C18:3T	≤0,05 %	
		≤0,5 %	

Πίνακας 2. Κριτήρια ποιότητας για το έλαιο Argan, σύμφωνα με τη Μαροκινή Νόρμα 08.5.090 (2003).

Χαρακτηρισμός ποιότητας	Έξτρα παρθένο	Καλό παρθένο	Κοινό παρθένο	Λαμπάντε
Οξύτητα (% ελαϊκό οξύ)	≤1,0	≤2,0	≤3,3	>3,3
Αριθμός υπεροξειδίων (meq O ₂ /Kg)	≤20	≤20	≤20	-
K ₂₇₀	≤0,25	≤0,25	≤0,30	-
ΔΚ	≤0,01	≤0,01	≤0,01	-
Οργανοληπτικά κριτήρια				
Χρώμα	Χαρακτηριστικό του προσδιοριζόμενου προϊόντος.			
Οσμή και γεύση	Ελεύθερο οσμής, ασυνήθιστης γεύσης και δυσσομίας.			
Διατροφικά πρόσθετα	Δεν επιτρέπονται τα πρόσθετα για το παρθένο έλαιο Argan.			
Υγρασία & πτητικά συστατικά %	≤0,1	≤0,2	≤0,2	≤0,3
Αδιάλυτα συστατικά σε πετρελαϊκό αιθέρα (%)	≤0,3	≤0,3	≤0,3	≤0,4
Ιχνοστοιχεία (mg/Kg)				
Σίδηρος	≤3,0	≤3,0	≤3,0	≤3,0
Χαλκός	≤0,1	≤0,1	≤0,1	≤0,1
Μόλυβδος	≤0,1	≤0,1	≤0,1	≤0,1
Αρσενικό	≤0,1	≤0,1	≤0,1	≤0,1

Το έλαιο Argan συνιστάται ως ενυδατικό δέρματος και αντιφολιδωτικός παράγοντας, ως θεραπεία για τη νεανική ακμή και ως θρεπτικό conditioner για τα μαλλιά (Moukal A., 2009, El Babili. F. et al., 2010). Επίσης, συνταγογραφείται στην παραδοσιακή ιατρική για τις δεδομένες του καλλυντικές, βακτηριοκτόνες και μυκητοκτόνες ιδιότητες (Charrouf Z. & Guillaume D., 1999).

Επιπλέον, μεγάλος αριθμός μελετών δείχνουν ότι ίσως έχει σημαντικό ρόλο να διαδραματίσει σε πρόληψη ασθενειών λόγω της αντιοξειδωτικής του δυναμικής και των υπολιπιδαιμικών, υποχοληστεριναιμικών και αντιυπερτασικών δράσεων του (Bennani H. et al., 2007, Drissi A. et al., 2004, Derouiche A. et al., 2005, Berrougui H., et al., 2004).

Πολυάριθμες επίσης είναι οι δημοσιευμένες επιστημονικές αναφορές που αφορούν στις βιοενεργές ενώσεις που είναι παρούσες στο παρθένο έλαιο Argan, μαζί με τις πιθανές ευεργετικές επιδράσεις στην ανθρώπινη υγεία, που θα μπορούσε να δικαιολογήσει τη θεώρηση αυτού του ελαίου ως νέο λειτουργικό τρόφιμο (Cabrera-Vique C. et al., 2012).

1.1 Δέντρο Argan

Το δέντρο Argan (Εικόνα 2) της οικογένειας Sapotaceae, είναι ενδημικό όπου αναπτύσσεται σε πάνω από περίπου 320000 τετραγωνικά μίλια.



Εικόνα 2. Δέντρο Argan.

Αυτό το αργά αναπτυσσόμενο και ακανθώδες δέντρο, το οποίο μπορεί να είναι θαμνώδες ή να φτάσει μέχρι τα επτά ή δέκα μέτρα, πιθανότατα προήλθε από την περιοχή Argana, ένα χωριό βορειοανατολικά του Agadir (Εικόνα 3). Ζει περισσότερο από το ελαιόδεντρο και δεν απαιτεί καλλιέργεια.



Εικόνα 3. Περιοχή Argana.

Για αιώνες, έχει διαδραματίσει μια βασική οικολογική λειτουργία σε αυτή την περιοχή του Μαρόκο. Πραγματικά, προστατεύει αποτελεσματικά το έδαφος από έντονες βροχοπτώσεις ή διάβρωση προκαλούμενη από ανέμους και, επιπλέον, δημιουργώντας σκιά σε όλα τα είδη καλλιέργειας, διατηρεί την εδαφική ευφορία. Επιπρόσθετα, όπως προαναφέρθηκε, λόγω της ικανότητάς του να επιβιώνει σε άνυδρες συνθήκες, έχει βοηθήσει στην επιβράδυνση της ερημοποίησης.

Επιπλέον αυτών των οικολογικών θέσεων, τα δέντρα Argan ενισχύουν οικονομικά ιθαγενείς πληθυσμούς εδώ και πολλά χρόνια (Morton J.F. & Voss G.L., 1987), αφού όχι μόνο καλλιέργειες σιτηρών ή εγχώριες γεωργικές παραγωγές που καλλιεργούνται στη σκιά του είναι γενικά απαραίτητες για την γηγενή οικονομία, αλλά οι καρποί των δέντρων Argan παρέχουν ένα εδώδιμο και κατάλληλο για πώληση έλαιο το οποίο παρέχει μέχρι το 25 % του ημερήσιου λιπιδικού διαιτολογίου (Collier A. & Lemaire B., 1974). Τα φύλλα του δέντρου Argan επίσης χρησιμοποιούνται ως "κρεμάμενη ζωοτροφή" για ζώα (κατσίκες και πρόβατα) και αυτή η ζωοτροφή συμπληρώνεται από τα ενεργητικά κατάλοιπα που λαμβάνονται μετά την παραλαβή του ελαίου.

Κατά συνέπεια, αναπτυσσόμενα δέντρα που παράγουν εγχώρια τροφή, πολύτιμα παράγωγα και ζωοτροφή κάνει τους πληθυσμούς πιο σίγουρους στο να επενδύσουν σε αυτό το είδος καλλιέργειας.

Το έλαιο Argan και παρασκευάσματα που περιλαμβάνουν έλαιο Argan έχουν χρησιμοποιηθεί στην παραδοσιακή Μαροκινή ιατρική για αιώνες για τη θεραπεία δερματικών

παθήσεων (Bellakhdar J., 1997). Η χρήση του ελαίου Argan, ή οποιουδήποτε δευτερογενή μεταβολίτη στην κοσμητολογία θα μπορούσε προφανώς να προωθήσει εμφύτευση των δέντρων Argan στο νοτιοδυτικό Μαρόκο. Παράγωγα σαπωνινών έχουν προταθεί ως προστατευτικοί παράγοντες εναντίον μολυσματικών μυκήτων (Bowyer P. et al, 1995) και εφόσον το δέντρο Argan είναι υψηλά ανθεκτικό και πλούσιο σε σαπωνίνες, θα μπορούσε να θεωρηθεί ως πηγή πολύτιμων σαπωνινών. Βέβαια, πριν από οποιαδήποτε καλλυντική ή φυτοπροστατευτική εφαρμογή, η απομόνωση και ταυτοποίηση των εν δυνάμει βιολογικά δραστικών συστατικών των δέντρων Argan ή του ελαίου Argan είναι προαπαιτούμενα.

1.2 Καρποί δέντρου Argan

Οι καρποί του δέντρου Argan έχουν μέγεθος καρυδιού είναι σφαιρικοί, ωειδείς ή κωνικοί. Στο εσωτερικό ενός γαλακτώδους πολτού καλυμμένου από χοντρή φλούδα υπάρχει ένα σπέρμα με σκληρό περίβλημα που αντιπροσωπεύει περίπου ένα τέταρτο του βάρους του φρέσκου καρπού. Τα σπέρματα περιέχουν μέχρι τρεις πλούσιους σε έλαιο λευκούς πυρήνες από τους οποίους εξάγεται το έλαιο Argan με απόδοση 30-55 % η οποία εξαρτάται από τη μέθοδο παραλαβής (Εικόνα 4).



Εικόνα 4. Καρποί του δέντρου Argan.

1.3 Ξύλο δέντρου Argan

Το ξύλο του δέντρου Argan όπως και το περικάρπιο του σπέρματος που ανακτάται μετά από παραλαβή του ελαίου από το ενδόσπερμα του καρπού χρησιμοποιούνται παραδοσιακά ως καύσιμο (Boukhobza M. & Pichon-Prum N., 1988, Habibi Y. & Vignon M. R., 2005).

Η φυτοχημική μελέτη του ξύλου οδήγησε στην ταυτοποίηση τριών νέων σαπωνινών που ονομάζονται αργανίνη G, H και J. (Oulad-Ali A. et al., 1996), που το άγλυκο τμήμα τους είναι η μπαιογενίνη, ενώ δεν υπάρχουν διαθέσιμα βιολογικά δεδομένα για τις τρεις αυτές ενώσεις (Charrouf Z., & Guillaume D., 1999).

1.4 Φύλλα δέντρου Argan

Όπως αναφέρθηκε νωρίτερα, τα φρέσκα φύλλα (Εικόνα 5) χρησιμοποιούνται ως τροφή αιγοπροβάτων. Η χημική σύσταση έχει μελετηθεί από τον Chahboun, (Chahboun J., 1993). Τα λιπίδια αποτελούν το 4,4 % των ξερών φύλλων. Αυτό το λιπιδικό εκχύλισμα αποτελείται από 27 % ασαπωνωπιόητων υλικών περιέχοντας κυρίως μονο και διυδροξυλιωμένα τριτερπένια όπως ερύθροδιόλη, λουπεόλη, α και β-αμυρίνη, ταραξαστερόλη, ψ-ταραξαστερόλη. Στερόλες όπως σκοτενόλη και σπιναστερόλη έχουν επίσης απομονωθεί μαζί με τοκοφερόλη (μέχρι 16 %). Επιπρόσθετα, έχουν απομονωθεί δυο φλαβονοειδή, η κερκετίνη και η μυρικετίνη. Αυτά τα δυο παράγωγα είναι γνωστά ότι διαθέτουν μυκητοκτόνες και βακτηριοκτόνες ιδιότητες (Charrouf Z. & Guillaume D., 1999).



Εικόνα 5. Φύλλα του δέντρου Argan.

1.5 Έλαιο Argan (Argan oil)

1.5.1 Μέθοδοι παραλαβής παρθένου ελαίου Argan

1.5.1.1 Παραδοσιακή μέθοδος

Για αιώνες, το παρθένο έλαιο Argan παρασκευάζονταν αποκλειστικά από τις γυναίκες της φυλής των Βερβερίνων που χρησιμοποιούσαν μια διαδικασία που μεταβιβάζονταν από γενιά σε γενιά. Πρόσφατα, αυτή η παραδοσιακή μέθοδος (πίεση με τα χέρια), εκτελούμενη από ντόπιες γυναίκες μόνο και μόνο για λόγους οικιακής κατανάλωσης, συνυπάρχει με ημι-βιομηχανοποιημένη ή ημι-αυτοματοποιημένη μέθοδο (μηχανική ψυχρή πίεση) που εφαρμόζεται σε πρόσφατα εξελιγμένες επιχειρήσεις για να παράγουν και να εκμεταλλευτούν εμπορικά παρθένο έλαιο Argan πιστοποιημένης ποιότητας. Και στις δυο περιπτώσεις οι καρποί του δέντρου συλλέγονται μεταξύ Μαΐου και Αυγούστου και αποξηραίνονται στον ήλιο πριν την αφαίρεση του περικάρπιου για να ληφθούν τα σπέρματα. Κατά μέσο όρο 100 Kg ξηρών καρπών και 15 ανθρωπο-ωρών είναι απαραίτητα για να ληφθούν 60 Kg σπέρματα τα οποία, αφού ανοιχτούν με σπάσιμο και ξηραθούν στον αέρα σε πήλινα δοχεία, θα αποδώσουν μόνο 6,5 Kg πυρήνες. Για την παραγωγή εδώδιμου ελαίου Argan, οι πυρήνες πρέπει να σιγοψηθούν για λίγα λεπτά και η υπερθέρμανση πρέπει να αποφευχθεί εφόσον επηρεάζει αρνητικά την τελική γεύση. Κατά τη διάρκεια του ψησίματος, χρησιμοποιούνται θερμοκρασίες πάνω από 100 °C που έχουν ως αποτέλεσμα σημαντικές αλλαγές στη δομή του υλικού και τη διάρρηξη των πυρήνων που περιέχουν έλαιο. Τέτοιες θερμοκρασίες ευνοούν αντιδράσεις Maillard και το σχηματισμό των προϊόντων τους. Ορισμένα από αυτά τα προϊόντα είναι γνωστό ότι διαθέτουν υψηλή αντιοξειδωτική δράση. Έτσι, έλαια που παράγονται από ψημένους πυρήνες έχουν υψηλότερο περιεχόμενο σε αντιοξειδωτικά. (Matthaus B. et al., 2010, Cabrera-Vique C. et al., 2012).

Κατά την παραδοσιακή μέθοδο, οι ψημένοι πυρήνες ψύχονται και αλέθονται δίδοντας ζύμη καφέ χρώματος. Η ζύμη αναμιγνύεται τελικά με νερό (με τα χέρια) για ορισμένα λεπτά. Για την παραλαβή του ελαίου η ζύμη πιέζεται με τα χέρια μέχρι να γίνει στερεή και το λαμβανόμενο καφέ γαλάκτωμα μεταγγίζεται παρέχοντας μετά από ορισμένα λεπτά ένα διαυγές έλαιο με γεύση φουντουκιού. Το στερεό υλικό που παραμένει μετά την παραλαβή του ελαίου μέσω πίεσης ή αλλιώς "press cake" είναι σκούρο καφέ προς μαύρο και γενικά ακόμη περιέχει μέχρι 10 % έλαιο. Είναι πολύ εύγεστο στα ζώα.

Αυτή η τεχνική παραλαβής είναι πολύ αργή και περίπου 10 ώρες είναι απαραίτητες για να ληφθεί ένα λίτρο ελαίου. Αυτή η τεχνική σπάνια παρέχει περισσότερο από 30 % ελαίου με μικρή σταθερότητα λόγω του προστιθέμενου νερού κατά τη διάρκεια της διαδικασίας

παραλαβής. Παραδοσιακά το έλαιο παραλαμβάνεται λίγο πριν από τη χρήση του και αλάτι προστίθεται για τη συντήρησή του (Charrouf Z.& Guillaume D., 1999).

Η μέθοδος αυτή, επιπλέον, οδηγεί σε παρτίδες ελαίων με ποικίλες οργανοληπτικές ιδιότητες και σημαντικές διαφορές στη χημική σύσταση, που οφείλονται κυρίως στις μή αναπαραγόμενες συνθήκες ψησίματος. Επιπλέον, εξαιτίας των συνθηκών παραλαβής, τα έλαια που λαμβάνονται με αυτή τη μέθοδο είναι συχνά χαμηλής ποιότητας. (Cabreria-Vique C. et al., 2012).

1.5.1.2 Ημιβιομηχανική μέθοδος

Παραλαβή με πίεση

Με αυτή τη μέθοδο για την παραλαβή του ελαίου χρησιμοποιούνται μηχανικές πρέσες. Χρησιμοποιώντας αυτή την τεχνική, δεν είναι απαραίτητη ανάμιξη της ζύμης και νερού και οι πυρήνες μπορούν απευθείας να συμπιεστούν. Όλα τα άλλα βήματα παραμένουν χωρίς αλλαγή και το έλαιο παραλαμβάνεται με περίπου 45 % απόδοση. Επίσης, μόλις ληφθούν οι πυρήνες, απαιτείται μόνο μισή ώρα για να ληφθεί ένα λίτρο ελαίου του οποίου η τιμή οξύτητας είναι μικρότερη από εκείνη του ελαίου που λαμβάνεται με τον παραδοσιακό τρόπο (Charrouf Z. et al, 1997).

Παραλαβή με διαλύτες

Για βιομηχανικούς (Hatinguais P. FR2553 788-B1, 1983) και εργαστηριακούς σκοπούς το έλαιο Argan είναι δυνατό να παραληφθεί από τους αλεσμένους πυρήνες χρησιμοποιώντας οποιοδήποτε λιπόφιλο διαλύτη. Μετά την απομάκρυνση του διαλύτη, το έλαιο λαμβάνεται με απόδοση 50-55 % (Charrouf M., 1984).

Ωστόσο αυτός ο τύπος παραλαβής παρέχει έλαιο με μη ικανοποιητικές οργανοληπτικές ιδιότητες, συγκρινόμενο με το παραδοσιακά και με πίεση παραλαμβανόμενο έλαιο. Αυτή η τεχνική χρησιμοποιείται αποκλειστικά για την παραγωγή ελαίου για καλλυντικούς σκοπούς.

Εμπλουτισμένο έλαιο Argan

Επίσης αποκλειστικά χρησιμοποιούμενο για καλλυντικούς σκοπούς ένα ονομαζόμενο "εμπλουτισμένο έλαιο Argan" μπορεί να παραχθεί με απόσταξη μιας βαθμίδας, υπό ελαττωμένη πίεση στους 270 °C, από το ακατέργαστο υλικό που λήφθηκε προηγουμένως υπό πίεση (press extraction). Το επίπεδο των μη σαπωνοποιημένων υλικών που περιέχονται σε αυτό το έλαιο είναι τρεις φορές υψηλότερο από την τιμή που παρατηρείται για το παραλαμβανόμενο με πίεση έλαιο (Charrouf Z.& Guillaume D., 1999).

1.5.1.3 Σύγκριση μεταξύ παραδοσιακής και ημιβιομηχανικής μεθόδου παραλαβής

Η κύρια διαφορά μεταξύ της παραδοσιακής προσέγγισης και της ημι-βιομηχανικής μεθόδου είναι ότι στην τελευταία το έλαιο παραλαμβάνεται με μηχανική ψυχρή πίεση χωρίς την προσθήκη νερού. Χάρη στην ημι-βιομηχανική μέθοδο, μπορεί να παραχθεί υψηλής ποιότητας έλαιο σε μεγάλη κλίμακα (Matthaus B. et al., 2010).

Οποιαδήποτε μέθοδος παρασκευής χρησιμοποιείται, η ποιότητα του ακατέργαστου υλικού και η κατεργασία του ελαίου απευθείας επιδρούν στην ποιότητα του τελικού προϊόντος, επηρεάζοντας σημαντικά μεταβλητές όπως η οξύτητα, ο δείκτης υπεροξειδίων και άλλες παραμέτρους ποιότητας, τη φυσικοχημική σύσταση, τη θρεπτική αξία και τις οργανοληπτικές ιδιότητες (Cayuela J.A. et al., 2008, Marfil R. et al., 2008, Matthaus B. et al., 2010, Hilali M. et al., 2005, Cabrera-Vique C. et al., 2012).

1.5.2 Αναλυτική μελέτη ελαίου Argan

1.5.2.1 Φυσικοχημικά δεδομένα

Οι φυσικοχημικές ιδιότητες του ελαίου που ελήφθησαν με παραδοσιακές και βιομηχανικές μεθόδους έχουν αναφερθεί (Berrada M., 1972, Charrouf M., 1984), και οι τιμές αναφέρονται στον Πίνακα 3 (Charrouf Z. & Guillaume D., 1999).

Πίνακας 3. Χημικά χαρακτηριστικά του ελαίου Argan λαμβανόμενα με παραδοσιακή παραλαβή και παραλαβή με διαλύτη.

	Παραδοσιακή παραλαβή	Παραλαβή με διαλύτη
Πυκνότητα (g/mL)	-	0,9
Δείκτης διάθλασης, 20 °C	1,463	1,468
Οξύτητα (% ελαϊκό οξύ)	1,3	1,0
Αριθμός ιωδίου	96,1-96,7	98,1
Αριθμός σαπωνοποίησης	190,9-193,8	195,2
Μη σαπωνοποιημένο υλικό (%)	1,03	1,0

1.5.2.2 Σύσταση παρθένου ελαίου Argan

Λιπαρά οξέα

Γλυκερίδια (που περιλαμβάνουν 95 % τριγλυκερίδια) συνιστούν το 99 % του ελαίου. Ακόρεστα λιπαρά οξέα είναι τα κύρια συστατικά (μαζί το ελαϊκό και το λινελαϊκό οξύ συνιστούν το 80 % των λιπαρών οξέων) και το λινολενικό οξύ είναι παρόν μόνο σε ίχνη (Charrouf M., 1984, Farines M. et al., 1984b). Οι τιμές αναφέρονται στον Πίνακα 4 (Charrouf Z. & Guillaume D., 1999).

Πίνακας 4. Σύσταση λιπαρών οξέων του ελαίου Argan (%).

Οξύ	Παραδοσιακά παραλαμβανόμενο έλαιο	Έλαιο με παραλαβή με διαλύτη
Μυριστικό	0,2	0-0,2
Πενταδεκανοϊκό	-	0-0,1
Παλμιτικό	11,7-14,3	13,5-13,9
Παλμιτελαϊκό	-	0-0,2
Επταδεκανοϊκό	-	0-0,1
Στεατικό	5-5,9	5,6
Ελαϊκό	46,4-48,1	45,2-46,9
Λινελαϊκό	31,5-34,9	31,6-34,6
Λινολενικό	0-0,6	0-0,1
Δεκαεννεαενοϊκό	-	0-0,1
Αραχιδονικό	-	0-0,4
Εικοσενοϊκό	-	0-0,5
Μπεχενικό	-	0-0,1

Υψηλά επίπεδα ακόρεστων λιπαρών οξέων έχουν θεωρηθεί η κύρια παράμετρος που συνδέει την κατανάλωση ελαίου Argan με τις παρατηρούμενες διατροφικές επιδράσεις. Διάφορες μελέτες έχουν δείξει πως το έλαιο Argan είναι πλούσιο στα οξέα ελαϊκό, λινελαϊκό, στεατικό και παλμιτικό, όπως φαίνεται και στον παραπάνω πίνακα και επιπλέον το ελαϊκό οξύ είναι το κυρίαρχο λιπαρό οξύ. Πρόσφατη μελέτη (Marfil R. et al., 2009), υποδεικνύει ότι η αναλογία του ελαϊκού οξέος στο παρθένο έλαιο Argan ποικίλει μεταξύ 36,60 % και 47,70 %. Αυτό είναι υψηλότερο από το περιεχόμενο του ελαϊκού οξέος σε άλλα σπορέλαια όπως το βαμβακέλαιο και το σογιέλαιο, αλλά μικρότερο από αυτό στο κραμβέλαιο, το αμυγδαλέλαιο και το ελαιόλαδο, όπως φαίνεται στον Πίνακα 5 (Cabregra-Vique C. et al., 2012).

Πίνακας 5. Συγκριτικά προφίλ λιπαρών οξέων του παρθένου ελαίου Argan έναντι άλλων εδώδιμων ελαίων εκφραζόμενα σε ποσοστά,

Λιπαρό οξύ	Λαουρικό	Μυριστικό	Παλμιτικό	Παλμιτελαϊκό	Στεατικό	Ελαϊκό	Λινελαϊκό	Λινολενικό	Αραχιδονικό	Ερουκικό	Μπεχενικό	Λιγνοκερικό
Παρθένο ελαιόλαδο Argan	-	-	11,5-15	-	4-7	43-49	29-36	-	-	-	-	-
Παρθένο ελαιόλαδο	-	0,10-0,16	11,7-13,9	0,01-0,14	4,9-8,3	36,6-47,7	31,3-40,4	0,09-2,63	0,33-0,43	-	0,12-0,23	0,06-0,28
Ηλιέλαιο	-	-	7,5-15,6	0,3-1,9	1,4-3,4	60,9-82,1	4,5-16,1	0,4-1,2	0,3-0,5	0,2-0,5	0,0-0,2	0,0-0,1
Σογιέλαιο	-	0,08	7,4	0,09	4,56	25,17	60,15	0,3	-	-	-	0,34
Καρδαμέλαιο	-	-	6,0	0,4	2,2	26,1	50,1	14,5	-	-	-	-
Αμυγδαλέλαιο	-	-	9,78	-	3,08	26,12	53,98	5,67	0,49	0,23	0,48	0,16
Βαμβακέλαιο	-	-	6-11	-	1-10	4-12	55-81	1	0,5	-	-	-
Κραμβέλαιο	-	0,06	6,85	0,63	1,29	69,24	21,52	0,16	0,16	-	0,05	-
Φυστικέλαιο	-	0,03	5,9-6,7	0,18-0,82	-	72,5-79,9	13,5-19,8	-	-	-	-	-
Αραβοσιτέλαιο	-	-	17-31	-	1-4	13-44	33-59	0,1-2,1	0,7	-	-	-
Έλαιο σπόρων σταφυλιού	-	-	22,96	0,90	2,3	16,8	55,42	0,02	-	-	-	-
Σησαμέλαιο	-	0,6-0,9	20,6-25,1	0,4-0,5	2,1-2,8	15,2-18,2	51,9-56,4	0,1-0,2	0,2-0,3	-	0,1-0,2	0,1-0,2
Φοινικοπυρηνέλαιο	-	-	3,1	0,4	-	61,4	25,8	9,5	-	-	-	-
Φοινικέλαιο	-	0,1	5,0	0,3	2,0	63,1	19,8	7,2	0,6	1,1	0,3	-
Καρυδέλαιο	-	-	2-10	-	2-7	9-20	1,4-6,6	-	-	-	-	-
	-	-	7,5-14,4	-	3,1-4,6	40,3-64,7	11,3-37,1	1,0-1,4	-	-	-	-
	-	-	8-19	0,5	0,5-4	19-50	34-62	2	1	-	-	-
	-	-	13,4	<0,1	1,5	27,4	56,0	0,9	0,2	-	-	-
	-	-	5,5-11	1,2	3-6	12-28	58-78	1	1	-	-	-
	-	0,06	8,3-9,3	0,10-0,12	3,2-4,3	12,2-18,7	67,6-72,9	0,3-0,9	0,2-0,3	0,1	0,02-0,06	0,01-0,02
	-	-	7-12	0,5	3,6-6	35-50	35-80	0,1	0,5	-	-	-
	<0,01	0,5-1,8	3,9-8,7	<0,01	3,8-9,5	31,7-37,6	42,4-51,61	3,8-9,4	0,2	-	-	-
	51,3	22,8	12,1	-	1,3	10,7	-	-	-	-	-	-
	35,8	38,0	5,6	-	1,67	8,19	1,67	0,02	0,07	-	-	-
	-	0,97	37,42	0,19	4,79	43,37	11,75	0,37	0,22	0,15	0,05	-
	0,21-0,61	4,48-4,90	45,9	0,20-0,25	4,9-6,6	31,4-32,4	10,1-10,5	0,2-0,62	0,31-0,42	-	-	-
	-	-	38,27	-	4,09	40,51	9,37	0,24	-	-	-	-
	0,28-0,33	1,5-4,46	40,3-43,9	0,26-0,28	4,3-4,9	35,0-38,0	10,8-12,5	0,18-0,30	0,25-0,44	-	-	-
	49,1	21,8	8,4	-	2,8	6,1	1,2	-	-	-	-	-

Η θρεπτική αξία του ελαϊκού οξέος και η σχέση αυτού του λιπαρού οξέος με μείζονες παράγοντες κινδύνου για καρδιαγγειακές παθήσεις έχει περιγραφεί εκτεταμένα (Monfalouti H.E. et al., 2011). Είναι ευρέως γνωστό ότι το ελαϊκό οξύ (*cis* 18:1n-9) μειώνει σημαντικά τα επίπεδα των λιποπρωτεϊνών χαμηλής πυκνότητας (low density lipoproteins-LDL) και ακόμα αυξάνει ελαφρώς τα επίπεδα των λιποπρωτεϊνών υψηλής πυκνότητας (high-density lipoproteins-HDL) (Berrougui H. et al., 2003, Cherki M. et al., 2005). Επιπρόσθετα, πρόσφατες μελέτες καταδεικνύουν ότι το ελαϊκό οξύ έχει υποτασικές επιδράσεις (Teres S. et al., 2008). Η κατανάλωση ελαίου Argan φαίνεται πως παρέχει ένα κατάλληλο ποσό απαραίτητων ωμέγα-6 πολυακόρεστων λιπαρών οξέων, βελτιώνοντας έτσι το λιπιδικό προφίλ το οποίο μπορεί να βοηθήσει στην προστασία εναντίον καταστάσεων σχετιζόμενων με οξειδωτική βλάβη, όπως καρδιαγγειακές παθήσεις, διαβήτη και καρκίνος. Το έλαιο Argan είναι πλούσιο σε πολυακόρεστα λιπαρά οξέα (35 %) από τα οποία το λινελαϊκό αντιπροσωπεύει τη μεγαλύτερη αναλογία. Βρέθηκε (Marfil R. et al., 2009) ότι το περιεχόμενο λινελαϊκό οξύ στο έλαιο Argan κυμαίνεται από 31,26 % έως 40,41 %, ενώ μεταγενέστερη μελέτη (Charrouf Z. & Guillaume D., 2010) ανέφερε περιεχόμενο σε λινελαϊκό τουλάχιστο 29 %. Το επίπεδο αυτό είναι υψηλό, συγκρινόμενο με αυτό που βρέθηκε στο ελαιόλαδο (Πίνακας 5), αν και ορισμένες ποικιλίες ελαιολάδου ίσως περιέχουν μέχρι 20 % (Zargouk M. et al., 2009). Το λινελαϊκό οξύ διαθέτει διάφορες φαρμακολογικές ιδιότητες. Για παράδειγμα, δίαιτες που περιλαμβάνουν 0,1 % λινελαϊκό οξύ έχουν δείξει πρόσφατα ότι αναστέλλουν τη μετάσταση των καρκινικών κυττάρων του παχέος εντέρου (Soel S.M. et al., 2007). Μόνο ίχνη του α λινολενικού οξέος είναι παρόντα στο παρθένο έλαιο Argan. Έχουν αναφερθεί (Hilali M. et al., 2005) περιεκτικότητες των 0,030–0,10 %, ενώ άλλη μελέτη αναφέρει 0,09–2,63 % (Marfil R. et al., 2009). Από την άλλη μεριά, κορεσμένα λιπαρά οξέα βρίσκονται στο έλαιο Argan σε παρόμοιες ή ελαφρά υψηλότερες ποσότητες (19,6 %) (Drissi A. et al., 2004), συγκρινόμενες με αυτές που βρίσκονται σε άλλα φυτικά έλαια όπως το φοινικέλαιο και το καρυδέλαιο. Σύμφωνα με προαναφερόμενη μελέτη (Marfil R. et al., 2009), το παλμιτικό (11,74–13,94 %) και το στεατικό οξύ (4,91–8,29 %) αντιπροσωπεύουν την μεγαλύτερη αναλογία των κορεσμένων λιπαρών οξέων στο έλαιο Argan.

Η σύσταση των λιπαρών οξέων του ελαίου Argan μαζί με τα συστατικά του μή σαπωνοποιημένου κλάσματος αυτού (το οποίο είναι περίπου 1,1 %), το κάνουν ένα έλαιο με μοναδικές ιδιότητες, εν δυνάμει ευεργετικές για την ανθρώπινη υγεία.

Κρίνεται απαραίτητο να αναφερθεί ότι μια πρόσφατη ανασκόπηση συνέκρινε τις διατροφικές ιδιότητες του ελαίου Argan με εκείνες του ελαιολάδου. Καταδείχτηκε ότι οι διατροφικές αξίες και των δύο ελαίων τείνουν να είναι ταυτόσημες, με δεδομένο ότι και τα δυο έλαια περιέχουν υψηλά επίπεδα ελαϊκού οξέος, και τα δυο περιέχουν λινελαϊκό οξύ ως δεύτερο κύριο λιπαρό οξύ και τα δυο περιέχουν τα κορεσμένα λιπαρά οξέα παλμιτικό και στεατικό οξύ (Cabregra-Vique C. et al., 2012).

Τριγλυκερίδια

Το κλάσμα των τριγλυκεριδίων έχει μελετηθεί το 1992 (Maurin R. et al, 1992). Τα κύρια τριγλυκερίδια περιλαμβάνουν τρία μόρια ελαϊκού οξέος (O, O, O), δύο λινελαϊκού και ένα ελαϊκού (L, L, O), ένα παλμιτικού, ένα ελαϊκού και ένα λινελαϊκού, (P, O, L), δυο ελαϊκού και ένα λινελαϊκού, (O, O, L), ή ένα παλμιτικού και δύο ελαϊκού (P, O, O).

Επιπλέον, πραγματοποιήθηκε στερεοειδική ανάλυση με τη μέθοδο Brockerhoff (Brockerhoff H., 1965). Η ανάλυση αυτή δείχνει ότι κορεσμένα λιπαρά οξέα (παλμιτικό και στεατικό) γενικά υποκαθιστούν τα άκρα της γλυκερόλης (Sn-1 και Sn-3) ενώ το λινελαϊκό οξύ γενικά εστεροποιεί το δευτεροταγές υδροξύλιο της γλυκερόλης (Sn-2). Το ελαϊκό οξύ μπορεί να βρεθεί ισοδύναμα σε οποιαδήποτε από τις τρεις θέσεις (Πίνακας 6). (Charrouf Z.& Guillaume D., 1999).

Πίνακας 6. Κατανομή των λιπαρών οξέων στις τρεις θέσεις της γλυκερόλης (%).

Οξύ	Sn-1	Sn-2	Sn-3
Παλμιτικό	54,0	9,4	36,6
Στεατικό	19,4	1,7	78,9
Ελαϊκό	33,3	39,7	27,0
Λινελαϊκό	29,5	40,0	30,5

Πολυφαινόλες

Οι πολυφαινόλες που ανιχνεύονται σε εδώδιμα έλαια είναι επωφελείς διότι η δράση τους εναντίον ελευθέρων ριζών είναι δυνατόν να προστατεύσει τις τοκοφερόλες από αποικοδόμηση κατά τη διάρκεια της αποθήκευσης και μαγειρέματος (Valavanidis A. et al., 2004). Επίσης, οι πολυφαινόλες είναι βιοενεργά μόρια που δεσμεύουν τις ελεύθερες ρίζες. Ως τέτοια, είναι κυρίως υπεύθυνα για την παρεμπόδιση της αυτοοξειδωσης των ακόρεστων λιπαρών οξέων, αυξάνοντας έτσι τη διάρκεια ζωής του ελαίου στο "ράφι". Τα τελευταία χρόνια, οι επιστήμονες ενδιαφέρονται ιδιαίτερα για τις παρεμποδιστικές δράσεις των πολυφαινολών εναντίον ενεργών ουσιών οξυγόνου (reactive oxygen species, ROS) που εμπλέκονται στην παθολογία ασθενειών όπως ο διαβήτης, η νόσος Alzheimer, η παραφροσύνη, η νόσος του Parkinson ή ο μυϊκός εκφυλισμός.

Οι φαρμακολογικές ιδιότητες του παρθένου ελαίου Argan γενικά αποδίδονται στις φαινολικές ενώσεις του. Οι πολυφαινόλες στο έλαιο Argan είναι παρούσες σε επίπεδο των περίπου 56 ppm και η χημική τους σύσταση έχει πρόσφατα ανασκοπηθεί (Charrouf Z., & Guillaume D., 2007). Δεν έχουν ταυτοποιηθεί όλες οι φαινολικές ενώσεις που περιέχονται στο έλαιο Argan. Μέχρι σήμερα, έχουν ταυτοποιηθεί καφεϊκό, βανιλικό, φερουλικό, συριγικικό

και π-υδρόξυ βενζοϊκό οξύ. Η ελαιοευρωπείνη, ένα παράγωγο του οποίου το άγλυκο τμήμα μειώνει ισχυρά την βιωσιμότητα των καρκινικών κυττάρων του μαστού, είναι δευτερεύον συστατικό του ελαίου Argan (Charrouf Z. & Guillaume D., 2010).

Μελέτη που πραγματοποιήθηκε (Marfil R. et al., 2011), εφαρμόζοντας τη μέθοδο Folin-Ciocalteu για να εκτιμηθεί το ολικό ποσό των φαινολικών ενώσεων παρόντων στο παρθένο έλαιο Argan, αναφέρει ένα εύρος των 6,07–152,04 mg ισοδυνάμων γαλλικού οξέος (gallic acid equivalents, GAE) ανά κιλό ελαίου. Η υψηλή διακύμανση μεταξύ των διαφορετικών δειγμάτων θα μπορούσε να ερμηνευθεί από την επίδραση γενετικών, περιβαλλοντικών και τεχνολογικών παραγόντων (όπως θερμοκρασία και χρόνος ψησίματος των σπορίων, το ποσό του προστιθέμενου νερού κατά τη διάρκεια της διαδικασίας παραλαβής και συνθήκες αποθήκευσης) στα αντιοξειδωτικά του ελαίου.

Σύμφωνα με βιβλιογραφικά δεδομένα, το περιεχόμενο σε πολυφαινόλες του παρθένου ελαίου Argan είναι χαμηλότερο από αυτό του ελαιολάδου αλλά υψηλότερο από αυτό άλλων εδώδιμων φυτικών ελαίων. Έχουν αναφερθεί (Pellegrini N. et al., 2003) δεδομένα σχετικά με το περιεχόμενο πολυφαινολών στα έξτρα παρθένα ελαιόλαδα, παρθένα ελαιόλαδα και ραφιναρισμένα ελαιόλαδα (73–265 mg, 14–24 mg, και 4 mg GAE/kg ελαίου, αντίστοιχα). Επίσης έχει βρεθεί περιεχόμενο πολυφαινολών σε παρθένα ελαιόλαδα της τάξεως των 1.085,92–1.406,40 mg GAE/kg ελαίου (Sanchez C.S. et al., 2007). Ωστόσο, θα πρέπει να ληφθεί υπόψη ότι η χημική σύσταση των παρθένων ελαιολάδων όπως και το παρθένο έλαιο Argan δείχνει μεγάλες διακυμάνσεις. Για συγκριτικούς σκοπούς, αναλύθηκε το ολικό φαινολικό περιεχόμενο διαφορετικών εδώδιμων ελαίων και δημοσιεύθηκαν δεδομένα των 170–210 mg GAE/kg στο έξτρα παρθένο ελαιόλαδο, 60 mg–80 mg GAE/kg στο σογιέλαιο, 3 mg–4 mg GAE/kg στο ηλιέλαιο και λιγότερο από 1 mg GAE/kg στο αραβοσιτέλαιο (Valavanidis A. et al., 2004).

Τοκοφερόλες

Οι τοκοφερόλες ανήκουν στην ομάδα ενώσεων της βιταμίνης E και εμφανίζουν δραστικές και συγκεκριμένες διατροφικές ιδιότητες. Τα όρια αναφοράς αυτής της παραμέτρου κυμαίνονται από 60 mg και 90 mg τοκοφερολών ανά 100 g ελαίου. Το περιεχόμενο σε τοκοφερόλες αποτελεί την κύρια διαφορά μεταξύ των δευτερευόντων συστατικών του ελαιολάδου και του ελαίου Argan. Προσδιορίστηκε το ολικό περιεχόμενο σε τοκοφερόλες 22 δειγμάτων ελαίου Argan και βρέθηκαν τιμές που κυμαίνονταν από 427,0 mg/kg έως 654,0 mg/kg (μέση τιμή, 518,90 mg/kg) (Marfil R. et al., 2011). Άλλες μελέτες ανέφεραν παρόμοιες τιμές (Khallouki F. et al., 2003, Cayuela J.A. et al., 2008), αλλά οι Charrouf Z. και Guillaume D. ανέφεραν υψηλότερες τιμές (Charrouf Z. & Guillaume D., 2010). Πρόσφατη μελέτη κατέδειξε επιπλέον ότι τα με τα χέρια παραλαμβανόμενα έλαια έχουν σημαντικά υψηλότερο

ολικό περιεχόμενο τοκοφερολών από ότι έλαια που προέρχονται με τη μέθοδο της ημι-βιομηχανικής παραλαβής που μπορεί να αποδοθεί στη θερμική αποικοδόμηση των τοκοφερολών που προκαλείται από τις υψηλότερες θερμοκρασίες που χρησιμοποιούνται στην ημι-βιομηχανική παραλαβή (Cayuela J.A. et al., 2008).

Οι τοκοφερόλες, γνωστοί αντιοξειδωτικοί παράγοντες, είναι πολύ σημαντικές και πιθανών υπεύθυνες για την καλή διατήρηση και σταθερότητα του ελαίου Argan, αλλά αποικοδομούνται όταν εκτίθενται σε μη κατάλληλες συνθήκες αποθήκευσης. Έτσι, είναι πιθανό ότι το περιεχόμενο σε τοκοφερόλες του ελαίου Argan μπορεί να βελτιωθεί με εξασφάλιση καλών διαδικασιών αποθήκευσης. Στην πραγματικότητα έχει αναφερθεί (Matthaus B. et al., 2010) ότι το ποσό των δραστικών ενώσεων της βιταμίνης E σε μηχανικά παραλαμβανόμενο έλαιο Argan γενικά κυμαίνεται από 400 mg/kg έως 775 mg/kg ενώ, κατά τη διάρκεια αποθήκευσης στους 60 °C το ολικό περιεχόμενο σε τοκοφερόλες ποικίλει μεταξύ 224 mg/kg και 457 mg/kg. Αναφέρεται επίσης πως το έλαιο Argan είναι περίπου δυο φορές πιο πλούσιο σε τοκοφερόλη από ότι το ελαιόλαδο (Cabrera-Vique C. et al., 2012, Charrouf Z. & Guillaume D., 1999).

Γενικά, το ολικό περιεχόμενο σε τοκοφερόλες του παρθένου ελαίου Argan είναι υψηλότερο από αυτό του έξτρα παρθένου ελαιολάδου αλλά χαμηλότερο από αυτό άλλων εδωδιμων φυτικών ελαίων (Πίνακας 7) (Cabrera-Vique C. et al., 2012).

Πίνακας 7. Περιεχόμενο σε τοκοφερόλες στο παρθένο έλαιο Argan έναντι εκείνου σε άλλα εδώδιμα έλαια.

Έλαιο	Ολικό περιεχόμενο	α	β	γ	β+γ	δ	Βιβλιογραφική αναφορά
Παρθένο έλαιο Argan	427-654 mg/ Kg Μέση τιμή 518,9 mg/ Kg	7,75 %	0,33 %	84,68 %		7,29 %	Man Y.B.C. & Rohman A., 2011
Έξτρα παρθένο ελαιόλαδο	400-775 mg/ Kg						Matthaus B. et al., 2010
	660 mg/ Kg 600-900 mg/ Kg 389-503 mg/ Kg	7 %	-	76 %		17 %	Khallouki F. et al., 2003 Charrouf Z. & Guillaume D., 2007 Cayuela J.A. et al., 2008 Pellegriani N. et al., 2003
Παρθένο ελαιόλαδο Αραβοσιτέλαιο	177±3 mg/ Kg 130-190 mg/ Kg	163±3 mg/ Kg 130-190 mg/ Kg 96 ppm					Gliszczynska-Swiglo A. et al., 2007 Szydłowska-Czerniak A., et al., 2008 Kamal-Eldin A. & Andersson R., 1997
	1.618,4 mg/ Kg		6 ppm	12 ppm			
Σογιέλαιο	829±23 mg/ Kg 1.797,6 mg/ Kg	222 ppm 207±11 mg/ Kg 23-573 mg/ Kg	1 ppm	570 ppm			Tuberoso C.I.G. et al., 2007 Kamal-Eldin A. & Andersson R., 1997 Gliszczynska-Swiglo A. et al., 2007 Codex Alimentarius FAO-WHO, 2003
			0-356 mg/ Kg	268-2.468 mg/ Kg	592±20 mg/ Kg	3 ppm 30,0±1,0 mg/ Kg 23-75 mg/ Kg	
Ηλιέλαιο	829±12 mg/ Kg	116 ppm 152±1 mg/ Kg 90-352 mg/ Kg	17 ppm	578 ppm		263 ppm 182±3 mg/ Kg 154-932 mg/ Kg	Kamal-Eldin A. & Andersson R., 1997 Gliszczynska-Swiglo A. et al., 2007 Li S. et al., 1996
	236,7±5,3 mg/ Kg 535±8 mg/ Kg	211,5±5,5 mg/ Kg 671 ppm 490±8 mg/ Kg	- 23 ppm	89-2,307 mg/ Kg 25,2±1,2 ppm 4 ppm		0 ppm 0 ppm 10,1±0,1 mg/ Kg	Codex Alimentarius FAO-WHO, 2003 Kamal-Eldin A. & Andersson R., 1997 Gliszczynska-Swiglo A. et al., 2007
Φοινικέλαιο		403-935 mg/ Kg 377 ppm	0±45 mg/ Kg 1 ppm	0-34 mg/ Kg 4 ppm		0-7 mg/ Kg -	Codex Alimentarius FAO-WHO, 2003 Kamal-Eldin A. & Andersson R., 1997
	110,2±11 mg/ Kg	102,3±9,7 ppm	-	7,9±1,7 ppm		0 ppm	Li S. et al., 1996
Λινέλαιο	367±8 mg/ Kg	-	-	588 ppm		6 ppm	Kamal-Eldin A. & Andersson R., 1997
Σησαμέλαιο		4 ppm	-	584 ppm	363±7 mg/ Kg	5,2±0,8 mg/ Kg	Gliszczynska-Swiglo A. et al., 2007
Κραμβέλαιο		0-3,3 mg/ Kg	0 mg/ Kg	521-983 mg/ Kg		9 ppm 4-21 ppm	Kamal-Eldin A. & Andersson R., 1997 Codex Alimentarius FAO-WHO, 2003
	83,9-173,8 mg/ Kg	19,3-68,5 mg/ Kg		0,0-2,6 mg/ Kg		44,2-118,9 mg/ Kg	Seker I. et al., 2008
	434±9 mg/ Kg 555-690 mg/ Kg	181±5 mg/ Kg 180-300 mg/ Kg			244±7 mg/ Kg	9,3±0,1 mg/ Kg 5-10 mg/ Kg	Gliszczynska-Swiglo A. et al., 2007 Szydłowska-Czerniak A. et al., 2008

Πίνακας 8. Αντιοξειδωτική ικανότητα του παρθένου ελαίου Argan έναντι εκείνης άλλων βρώσιμων ελαίων σύμφωνα με την εφαρμοζόμενη αναλυτική μέθοδο προσδιορισμού.

Αναλυτική μέθοδος προσδιορισμού	mmol Τροlox/Kg ελαίου
ΑΒΤS-διάλυση σε n-εξάνιο	14,16-28,02 ^α
Παρθένο έλαιο Argan	1,53-2,69 ^β
Παρθένο ελαιόλαδο	1,79 ^β
Αραβοσιτέλαιο	1,29 ^β
Σογιέλαιο	2,20 ^β
Ηλιέλαιο	1,17 ^β
Φυσικέλαιο	0,61 ^β
ΑΒΤS-μεθανολικό εκχύλισμα	
Παρθένο έλαιο Argan	2,31-14,15 ^α
Παρθένο ελαιόλαδο	0,78-2,64 ^γ
Έξτρα παρθένο ελαιόλαδο	0,56-1,00 ^δ
ΔΡΡΗ-μεθανολικό εκχύλισμα	
Παρθένο έλαιο Argan	0,19-0,85 ^α
Σογιέλαιο	0,41 ^ε
Ελαιόλαδο	0,42 ^ε
Αραβοσιτέλαιο	0,45 ^ε
Φυσικέλαιο	0,08 ^ε
Ηλιέλαιο	0,16 ^ε
Βαμβακέλαιο	0,25 ^ε
Έλαιο Ελαιοκράμβης	0,26 ^ε
Λινέλαιο	0,19 ^ε
Έξτρα παρθένο ελαιόλαδο	0,20-0,59 ^ε
Έξτρα παρθένο ελαιόλαδο	0,69-0,75 ^{στ}
FRAP-μεθανολικό εκχύλισμα	
Παρθένο έλαιο Argan	0,62-2,32 ^α
Ραφινέ βαμβακέλαιο	0,95-1,86 ^ζ
Παρθένο βαμβακέλαιο	2,84-5,52 ^ζ
Ελαιόλαδο	0,32-1,03 ^ζ
Έξτρα παρθένο ελαιόλαδο	0,62-1,67 ^ζ

Ακρωνύμια: ΑΒΤS, 2,2'- azobis-(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfuric acid), ΔΡΡΗ, 2,2'-diphenyl-1-picrylhydrazyl, FRAP, ferric-reducing antioxidant power.

α Marfil R. et al., 2011

β Pellegrini N. et al., 2003

γ Gorinstein S. et al., 2003

δ Sánchez C.S. et al., 2007

ε Tuberoso C.I.G. et al., 2007

στ Gómez-Alonso S. et al., 2003

ζ Szydłowska-Czerniak A. et al., 2008

Όπως φαίνεται στον Πίνακα 8 η αντιοξειδωτική ενεργότητα του ελαίου Argan είναι μεγαλύτερη από αυτή του παρθένου ελαιολάδου, του αραβοσιτελαίου, του σογιελαίου, του ηλιελαίου και του φυσικελαίου όταν μετρείται με την τεχνική ΑΒΤS με διάλυση σε n-εξάνιο και ΑΒΤS στο μεθανολικό εκχύλισμα. Όταν όμως χρησιμοποιείται η τεχνική ΔΡΡΗ ή η τεχνική FRAP στο μεθανολικό εκχύλισμα, τα αποτελέσματα δεν διαφοροποιούνται τόσο πολύ. Αυτό πιθανώς οφείλεται στις τρεις διαφορετικές χημείες: ΑΒΤS, ΔΡΡΗ και FRAP.

Μεταξύ των τοκοφερολών που είναι παρούσες στο παρθένο έλαιο Argan η γ-τοκοφερόλη βρέθηκε σε μεγαλύτερη αναλογία (84,68 % του ολικού περιεχομένου) ενώ οι α-, δ- και β-τοκοφερόλες αποτελούν το 7,75 %, 7,29 % και 0,33 % του συνόλου αντίστοιχα (Marfil R. et al., 2011). Οι τοκοφερόλες έχουν διαφορετικές δραστηριότητες ως αντιοξειδωτικά με την

ακόλουθη σειρά δραστηριότητας, όπως φαίνεται από πολλούς συγγραφείς: δ-τοκοφερόλη> γ-τοκοφερόλη~ β-τοκοφερόλη>α-τοκοφερόλη (Valavanidis A. et al., 2004, Espin J.C. et al., 2000). Επιπρόσθετα, η γ-τοκοφερόλη είναι πιθανό αντιοξειδωτικό με ισχυρή αντιφλεγμονώδη δράση και τα επίπεδα του πλάσματος αυτής της τοκοφερόλης είναι αντιστρόφως συνδεδεμένα με καρδιαγγειακές παθήσεις (Devaraj S. & Jialal I., 2005). Γενικά, έχει προταθεί ότι δίαιτες που παρέχουν σημαντικά ποσά γ-τοκοφερόλης θα μπορούσαν να προστατεύσουν από ROS που δημιουργούνται από φλεγμονές. Κατά συνέπεια, η κατανάλωση γ-τοκοφερόλης συνιστάται και έχει συνδεθεί με μειωμένο κίνδυνο προσβολής από σχετικές παθήσεις (Wright M.E. et al., 2007). Επιπλέον, η γ-τοκοφερόλη έχει σημειώσει καρκινο-προληπτικές ιδιότητες, πιθανώς όντας η πιο δραστική μορφή της βιταμίνης E. (Yang C.S. et al., 2010).

Είναι σημαντικό να σημειωθεί ότι η γ-τοκοφερόλη είναι η κύρια τοκοφερόλη στο παρθένο έλαιο Argan, ενώ η α-τοκοφερόλη η κυρίαρχη τοκοφερόλη στο ελαιόλαδο (Πίνακας 7). Διαφορετικές δραστηριότητες μπορεί να είναι αναμενόμενες από τρόφιμα πλούσια σε α- ή γ-τοκοφερόλη γιατί η γ-τοκοφερόλη αλλά όχι η α-τοκοφερόλη έχει αντιφλεγμονώδεις ιδιότητες (Reiter E. et al., 2007), ενώ η προηγούμενη μπορεί να είναι πιο δραστική στην πρόληψη του καρκίνου (Yang C.S. et al., 2010). Επίσης, συμπλήρωμα με α-τοκοφερόλη έχει ως αποτέλεσμα μείωση στα επίπεδα γ-τοκοφερόλης στο πλάσμα και τους ιστούς (Friedrich M.J., 2004, Devaraj S. et al., 2008).

Κηροί

Το περιεχόμενο σε κηρούς στο ελαιόλαδο χρησιμοποιείται ως παράμετρος εκτίμησης ποιότητας. Για το λόγο αυτό το μέγιστο περιεχόμενο σε κηρούς ρυθμίζεται από τη νομοθεσία. Το μέγιστο επίπεδο κηρού που επιτρέπεται στο ελαιόλαδο, 250 mg/kg, τέθηκε για να παρεμποδιστεί η νοθεία με την προσθήκη πυρηνελαίων και/ή λαμπάντε ελαίων. Δεν υπάρχουν αναφορές για το περιεχόμενο σε κηρούς των διαφορετικών τύπων του παρθένου ελαίου Argan που να περιλαμβάνονται στη Norme Marocaine 08.5.090. Σε μελέτη το 2009 (Marfil R. et al., 2009), βρέθηκε ότι τα επίπεδα κηρού στο έλαιο Argan μεταβάλλονταν μεταξύ 7,0 mg/kg και 95 mg/kg, με μέση τιμή τα 26,4 mg/kg, υποδεικνύοντας μεγάλη διακύμανση στα αποτελέσματα. Επιπλέον, σε αυτή την μελέτη παρατηρήθηκε μεγάλη διαφορά μεταξύ των ελαίων που παραλήφθηκαν με παραδοσιακές μεθόδους και εκείνων που παραλήφθηκαν με ημι-βιομηχανικές μεθόδους. Παλαιότερη μελέτη (Nota G. et al., 1999), αναφέρει ότι το περιεχόμενο σε κηρούς στα ελαιόλαδα κυμαίνεται μεταξύ 94 mg/kg και 203 mg/kg. Ορισμένες μελέτες έχουν συνδέσει την αύξηση στο περιεχόμενο σε κηρούς με αυξημένη θερμοκρασία κατά τη διάρκεια της αποθήκευσης (Garcia J.M. et al., 1996). Οι κηροί αυξάνονται σημαντικά πάνω από τους 20 °C. Άλλοι παράγοντες όπως η θερμοκρασία κατά

τη διαδικασία παραλαβής και το υλικό συσκευασίας επίσης επιδρούν στο περιεχόμενο σε κηρούς του ελαίου.

Γενικά η παρουσία κηρού δεν μεταβάλλει τις θρεπτικές ιδιότητες του ελαίου. Επιπλέον, αν το περιεχόμενο σε κηρούς είναι εντός των ορίων που έχουν καθοριστεί με ρυθμιστικούς κανονισμούς, η παρουσία κηρού δεν πρέπει να θεωρείται ελάττωμα αλλά καλύτερα το αποτέλεσμα θερμικών φαινομένων που επηρεάζουν το προϊόν προσωρινά. Ωστόσο, συνιστάται τα έλαια να αποθηκεύονται σε θερμοκρασίες κάτω των 20 °C, σε απόλυτο σκοτάδι και απουσία οξυγόνου (Cabrera-Vique C. et al., 2012).

Στερόλες

Τέσσερις στερόλες έχουν βρεθεί στο έλαιο Argan (Farines M. et al., 1984b). Οι δυο κύριες είναι σπιναστερόλη και σκοτερόλη (44 και 48 % αντίστοιχα), ενώ οι δύο δευτερεύουσες σιγκμάστα -8,22-διεν-3β-όλη (22-E, 24-S) και σιγκμάστα -7,24-28-διεν-3β-όλη (24-Z) και οι δυο έχουν απομονωθεί με ολική συγκέντρωση 4 %. Ιδιαίτερο ενδιαφέρον προκαλεί το γεγονός πως Δ-5 στερόλες, οι οποίες ωστόσο είναι συχνά ευρισκόμενες σε φυτικά έλαια, δεν έχουν απομονωθεί.

Τριτερπενοειδείς αλκοόλες

Διάφορες τριτερπενοειδείς αλκοόλες έχουν απομονωθεί από τα μη σαπωνοποιημένα υλικά του ελαίου Argan (Farines M. et al., 1984b). Οι τρεις κύριες έχουν ταυτοποιηθεί ως εξής: βουτυροσπερμόλη (18,1 %), τிருκαλόλη (27,9 %) και β-αμυρίνη (27,3 %), οι τέσσερις ελάσσονες έχουν ταυτοποιηθεί ως λουπεόλη (7,1 %), 24-μεθυλένο κυκλοαρτανόλη (4,5 %), σιποσταδιενόλη (3,9 %) και κυκλοευκαλενόλη (λιγότερο από 5 %) (Charrouf Z. & Guillaume D., 1999).

Άλλες δευτερεύουσες ενώσεις

Η παρουσία ενώσεων όπως καρτενοειδή, ξανθοφύλλες και σκουαλένιο στο έλαιο Argan είναι σημαντική. Το σκουαλένιο, ένας υδρογονάνθρακας-ενδιάμεσο προϊόν στη σύνθεση στερολών τόσο στα φυτά όσο στα ζώα, είναι άφθονο στο εν λόγω έλαιο (μέχρι 2 g/kg) (Cabrera-Vique C. et al., 2012).

1.5.2.3 Αντοχή του ελαίου Argan στην οξειδωση

Το 1994 δείχτηκε πως το έλαιο Argan είναι λιγότερο ευπαθές στη οξειδωση από ότι το ελαιόλαδο (Chimi H. et al., 1994). Αυτή η σταθερότητα έχει αποδοθεί στη παρουσία

τοκοφερολών και πολυφαινολών όπως το καφεϊκό οξύ και η ελαιοευρωπείνη (Chimi H. et al., 1988).

1.5.2.4 Παραπροϊόντα της παραλαβής του ελαίου Argan

Στερεό υλικό που παραμένει μετά την παραλαβή μέσω πίεσης (Press cake)

Λόγω της υψηλής ενεργειακής του αξίας το στερεό υλικό χρησιμοποιείται ως ζωτροφή. Αποτελείται από υδατάνθρακες, πρωτεΐνες και σαπωνίνες (Charrouf Z. et al., 1992). Επιπλέον, έχει εκτιμηθεί (Cotton S., 1888) ότι αποτελείται από 26,3 % υγρασία, 3,6 % ανόργανα συστατικά, 24,6 % αζωτούχα παράγωγα, 18,9 % λιπίδια, 26,6 % γλυκοζίδες περιλαμβάνοντας 1,6 % κυτταρίνη.

Υδρο-αλκοολικό εκχύλισμα

Μετά από εκχύλιση του στερεού υλικού με μίγμα νερού και αλκοόλης, μπορεί επίσης να παραληφθεί ένα πλούσιο σε σουκρόζη εκχύλισμα που περιέχει 4 % τριτερπενοειδείς σαπωνίνες (Charrouf et al., 1992).

Οι ακατέργαστες σαπωνίνες απομονώθηκαν με χρωματογραφία υψηλής πίεσης αντίστροφης φάσης και ταυτοποιήθηκαν συνδυάζοντας χημικές και φασματοσκοπικές μεθόδους (Massiot G., & Lavaud C., 1995). Επτά σαπωνίνες συμπεριλαμβανομένων των ενώσεων αργανίνη A, B, C, D-F έχουν απομονωθεί από το υδρο-αλκοολικό εκχύλισμα.

Πολτός (Πούλπα)

Ο πολτός των σπερμάτων Argan είναι πλούσιος σε γλυκοζίδες και χρησιμοποιείται, σε ξηρή ή νωπή μορφή, για να τραφούν τα ζώα στη φυτεία των δέντρων Argan. Η χημική του σύσταση έχει προσδιοριστεί αλλά έχουν παρατηρηθεί μεγάλες διαφορές αντικατοπτρίζοντας ίσως την γενετική ποικιλότητα του *A. spinosa*. Μια από τις προσδιοριζόμενες χημικές συστάσεις του πολτού φαίνεται στον Πίνακα 9.

Πίνακας 9. Χημική σύσταση της πούλπας των καρπών του *Argania spinosa* (%).

Υγρασία	20-50
Ανόργανα συστατικά	4,1
Κυτταρίνη	12,9
Αζωτούχα παράγωγα	5,9
Λιπίδια	6,0
Υδατάνθρακες	18,5

Το λιπιδικό κλάσμα αποτελείται από γλυκερίδια (33,3 %), κόμμι (63,4 %) και ασαπωνοποίητα υλικά (3,3 %) (Fellat-Zarrouk K. et al.,1987). Αυτό το τελευταίο κλάσμα αποτελείται από τριτερπενοειδή και στερόλες. Τα τριτερπενοειδή είναι η ερυθροδιόλη (Charrouf Z. et al.,1990), λουπεόλη, α και β-αμυρίνη, ταραξαστερόλη, ψ-ταραξαστερόλη, μπετούλιν-αλδεΐδη και μπετουλίνη. Οι στερόλες είναι δευτερεύοντα συστατικά και είναι η σκοτενόλη και η σπιναστερόλη (Charrouf Z., 1991).Το κόμμι (λάτεξ) αποτελείται από cis και trans πολυισοπρένιο (86 και 14 % αντίστοιχα) (Fellat-Zarrouk K. et al., 1987, Charrouf Z. & Guillaume D., 1999).

1.5.2.5 Έλαιο Argan ως λειτουργικό τρόφιμο

Τα λειτουργικά τρόφιμα (Functional foods) είναι τρόφιμα και συστατικά τροφίμων που παρέχουν επιπλέον όφελος στην υγεία εκτός από τη βασική διατροφή. Το έλαιο Argan έχει μελετηθεί ως λειτουργικό τρόφιμο επί τη βάσει της σύστασής του και της αναφερόμενης δράσης του ως αντιδιαβητικό, για την καταστολή του κυτταρικού πολλαπλασιασμού και τις παρατηρούμενες προστατευτικές δράσεις σε καρδιαγγειακές παθήσεις. Το ενδιαφέρον για το έλαιο Argan ως λειτουργικό τρόφιμο έχει ως αποτέλεσμα διάφορες ευρεσιτεχνίες (πατέντες) όπως επίσης ισχυρισμούς για να ενσωματωθεί το έλαιο αυτό σε λιπαρά γαλακτώματα για παρεντερική διατροφή (Bensouda Y., WO 2008002116 (A1), 2008), σε διατροφικά παρασκευάσματα για τη μείωση των επιπέδων της χοληστερόλης (Ertus P, 2926441(A1), 2009) και σε λειτουργικά τρόφιμα για ασθενείς με φλεγμονώδεις παθήσεις του εντέρου (Moreno-Torres Herrera R., WO/2010/149815, 2010).

Έλαιο Argan και διατροφική ασφάλεια

Από την άποψη της διατροφικής ασφάλειας, μια περίπτωση αλλεργικής αντίδρασης αναφέρθηκε πρόσφατα σε έναν μαροκινό άνδρα χωρίς ιστορικό αλλεργίας, ο οποίος ανέφερε ρινίτιδα και επιπεφυκίτιδα ως αποτέλεσμα οσμής ελαίου Argan. Η απορρόφηση του ελαίου προκάλεσε επιγαστραλγία και υπερέκκριση σιάλου. Είκοσι λεπτά μετά από θετικό τεστ ευαισθησίας (prick-test) με έλαιο Argan ή πάστα του καρπού Argan, ο ασθενής ανέπτυξε μια συστηματική αντίδραση αποτελούμενη από γενικευμένο ερύθημα, ξεκινώντας από τα χέρια ακολουθούμενου από δευτερογενή ουρτικάρια. Μια ανάλυση των πρωτεϊνών που εκχυλίστηκαν από το έλαιο Argan ταυτοποίησε μια πρωτεΐνη 10 kDa ως υπεύθυνη για την ανοσοσφαιρίνη E (IgE)-ενδιάμεση αναφυλακτική αντίδραση. Ωστόσο, η κατανάλωση ελαίου Argan γενικά έχει αποδειχτεί ότι είναι ασφαλής.

Έλαιο Argan και καρδιαγγειακή νόσος

Από τα διάφορα οφέλη για την υγεία που έχουν αποδοθεί στο έλαιο Argan, η δυνατότητα να μειώνει τον καρδιαγγειακό κίνδυνο ξεχωρίζει (Cherki M. et al., 2005). Τόσο οι ισορροπημένες αναλογίες των πολυακόρεστων και μονοακόρεστων λιπαρών οξέων, όσο και το υψηλό περιεχόμενο σε αντιοξειδωτικά στο έλαιο Argan θεωρούνται πως είναι υπεύθυνα για αυτή τη δράση. Είναι γνωστό ότι η υπέρταση και τα επίπεδα της LDL χοληστερόλης στον ορό, ή τα κορεσμένα λιπαρά οξέα σχετίζονται θετικά με τον κίνδυνο καρδιαγγειακής νόσου, ενώ τα επίπεδα της HDL χοληστερόλης στον ορό, ή τα πολυακόρεστα λιπαρά οξέα και τα αντιοξειδωτικά είναι αρνητικά σχετιζόμενα με τον προαναφερόμενο κίνδυνο.

Τρεις σημαντικές μελέτες σε ανθρώπους έχουν δείξει τις επιδράσεις του ελαίου Argan στο λιπιδικό προφίλ του ορού και την οξειδωση (Drissi A. et al., 2004, Derouiche A. et al., 2005, Cherki M. et al., 2005). Στην πρώτη μελέτη, οι λιπιδικές παράμετροι του ορού και τα επίπεδα των αντιοξειδωτικών σε 62 άτομα που κατανάλωναν συστηματικά παρθένο έλαιο Argan συγκρίθηκαν με εκείνα 34 μη καταναλωτών. Η μέση ημερήσια πρόσληψη ελαίου Argan στην ομάδα των καταναλωτών ήταν 15 g. Υψηλότερα επίπεδα στον ορό πολυακόρεστων λιπαρών οξέων και χαμηλότερων επιπέδων LDL χοληστερόλης παρατηρήθηκαν στην ομάδα καταναλωτών ελαίου Argan. Επίσης, τα επίπεδα υπεροξειδίων λιπαρών οξέων στο πλάσμα ήταν χαμηλότερα στην ομάδα κατανάλωσης ελαίου Argan, που είχε επίσης υψηλότερα επίπεδα αντιοξειδωτικών. Προέκυψε έτσι το συμπέρασμα πως η πρόσληψη αυτού του ελαίου έχει ως αποτέλεσμα μια θετική τροποποίηση του λιπιδικού προφίλ και προστασία εναντίον της οξειδωσης. Στις άλλες δύο μελέτες, η πρόσληψη παρθένου ελαίου Argan συγκρίθηκε με αυτή του έξτρα παρθένου ελαιολάδου, το "χρυσό πρότυπο" στα διατροφικά έλαια. Οι εθελοντές (60 άτομα) για αυτές τις μελέτες έλαβαν 25 g βουτύρου ανά ημέρα για 2 εβδομάδες και έπειτα το ίδιο ποσό παρθένου ελαίου Argan ή παρθένου ελαιολάδου για μια

επιπλέον περίοδο 3 εβδομάδων. Τα έλαια και το βούτυρο λήφθηκαν σε μια δόση με ψωμί την ώρα του πρωινού. Και τα δυο έλαια μείωσαν εξίσου τα επίπεδα στο πλάσμα των κορεσμένων λιπαρών οξέων και αύξησαν τα επίπεδα στο πλάσμα των επιπέδων της HDL και της A-1 απολιποπρωτεΐνης. Διαφορές παρατηρήθηκαν στα επίπεδα των LDL, τα οποία μειώθηκαν μόνο με την κατανάλωση του παρθένου ελαιολάδου και στα επίπεδα των τριγλυκεριδίων που μειώθηκαν μόνο με την κατανάλωση του παρθένου ελαίου Argan. Η οξειδωτική κατάσταση -όπως εκτιμήθηκε με τη μέτρηση των υπεροξειδίων των λιπαρών οξέων και το σχηματισμό συζυγιακών διενίων, όπως επίσης και από την ευπάθεια των LDL στην υπεροξειδωση- είχε επηρεαστεί και στην ομάδα του ελαιολάδου και στην ομάδα του ελαίου Argan.

Εν κατακλείδι, τα ευρήματα από αυτές τις δυο μελέτες δείχνουν ότι η επίδραση του παρθένου ελαίου Argan στα λιπίδια του πλάσματος και την οξείδωση είναι συγκρίσιμα με αυτά του παρθένου ελαιολάδου, ενώ το έλαιο Argan δεν έχει καμιά επίδραση στα επίπεδα της LDL χοληστερόλης. Στις τρεις προαναφερόμενες μελέτες, δείχτηκε ότι το παρθένο έλαιο Argan μειώνει τα υπεροξειδία των λιπαρών οξέων και αυξάνει την αντιοξειδωτική δράση. Το εύρημα αυτό είναι ενδιαφέρον διότι ένα σημαντικό κλάσμα των λιπαρών οξέων του παρθένου ελαίου Argan είναι ωμέγα-6 και κανονική κατανάλωση ελαίων πλούσιων σε αυτού του τύπου λιπαρών οξέων αυξάνει τα λιποϋπεροξειδία του πλάσματος. Είναι πιθανό ότι η το υψηλό περιεχόμενο βιταμίνης E του παρθένου ελαίου Argan (Πίνακας 7) μαζί με την υψηλή αντιοξειδωτική ικανότητα (Πίνακας 8) εμποδίζει την αύξηση των υπεροξειδίων των λιπαρών οξέων. Στην πραγματικότητα, έχειδειχτεί ότι η επιπλέον χορήγηση βιταμίνης E σε ανθρώπους και ζώα μειώνει την υπεροξειδωση λιπιδίων (Singh U. et al., 2005). Αυτή η εξήγηση θα μπορούσε να συμφωνεί με τα υψηλότερα επίπεδα βιταμίνης E που ανιχνεύθηκαν στην ομάδα του παρθένου ελαίου Argan στις δύο τελευταίες μελέτες. Από την άλλη μεριά, *in vitro* μελέτες έδειξαν ότι το φαινολικό εκχύλισμα από το έλαιο Argan παρεμποδίζει την οξείδωση των LDL στους ανθρώπους, υποδεικνύοντας ότι οι φαινολικές ενώσεις στο παρθένο έλαιο Argan επίσης συμβάλλουν στην αντιοξειδωτική δράση. Δεν υπάρχουν μελέτες σχετικά με τις επιδράσεις του ελαίου Argan στην πίεση του αίματος των ανθρώπινων οργανισμών. Ωστόσο, διάφορες μελέτες που πραγματοποιήθηκαν (Berrada Y. et al., 2000, Berrougui H. et al., 2004), εκτίμησαν τις επιδράσεις του ελαίου Argan στην πίεση του αίματος σε υπερτασικούς αρουραίους.

Σε όλες τις μελέτες το έλαιο Argan έδειξε να μειώνει την πίεση. Η επίδραση συνοδευόταν με μείωση στη γλυκαιμία του πλάσματος, στη χοληστερόλη του πλάσματος, την LDL χοληστερόλη και την ινσουλιναίμια. Η αντιυπερτασική επίδραση του ελαίου αποδόθηκε στο μειωμένο οξειδωτικό στρες.

Συμπερασματικά, τα προαναφερόμενα δεδομένα υποστηρίζουν τον ισχυρισμό ότι το έλαιο Argan θα μπορούσε να χρησιμοποιηθεί ως λειτουργικό τρόφιμο για να μειώσει τον καρδιαγγειακό κίνδυνο.

Έλαιο Argan και διαβήτης

Δεν έχουν πραγματοποιηθεί μελέτες σε ανθρώπους για ελεγχθεί η επίδραση του ελαίου Argan στο διαβήτη. Ωστόσο ελάχιστες μελέτες σε ζώα δείχνουν ότι αυτό το έλαιο θα μπορούσε να έχει αντιδιαβητικές ιδιότητες. Ανάμεσα σε αυτές (Bnouham M. et al., 2008, Bellahcen S. et al., 2012) μια πρόσφατη μελέτη δείχνει πως η πρόσληψη ελαίου Argan σε αρουραίους δεν έχει επίδραση στα επίπεδα γλυκόζης νηστείας στο αίμα. Παρόλα αυτά, σε ένα μοντέλο διαβήτη επαγόμενο από πρόσληψη alloxan (οξυγονωμένο παράγωγο της πυριμιδίνης, τοξικό ανάλογο γλυκόζης, χρησιμοποιείται για να επάγει διαβήτη σε πειραματόζωα) οι ερευνητές περιγράφουν μείωση στα επίπεδα γλυκόζης στο αίμα, αύξηση στο ηπατικό γλυκογόνο και παρεμπόδιση απώλειας βάρους σε αρουραίους που τους χορηγήθηκε έλαιο Argan για 7 μέρες πριν την επαγωγή του τύπου 1 σακχαρώδη διαβήτη.

Οι παρατηρούμενες αντιδιαβητικές επιδράσεις του ελαίου Argan θεωρούνται ότι αποδίδονται στο προφίλ των λιπαρών του οξέων και στο υψηλό περιεχόμενο σε τοκοφερόλες που επαυξάνουν την αντιοξειδωτική κατάσταση των ιστών. Ειδικότερα, χαμηλές συγκεντρώσεις κυκλοφορούσας και διαιτητικής α τοκοφερόλης έχουν συσχετιστεί με την εξέλιξη του τύπου 1 και τύπου 2 διαβήτη, ενώ η συμπλήρωση με βιταμίνη E είναι ευεργετική για τους διαβητικούς, βελτιώνοντας την ινσουλινο-ευαισθησία. Πρόσφατες μελέτες υποδεικνύουν ότι και η α και γ τοκοφερόλη μπορούν να ασκούν επιπρόσθετες δράσεις πέρα από την αντιοξειδωτική τους ικανότητα.

Το φερουλικό οξύ θα μπορούσε να εμπλέκεται στην αντιδιαβητική επίδραση του ελαίου Argan. Αυτή η φαινολική ένωση έχει δείξει πως έχει ευεργετικές επιδράσεις σε μοντέλα ζώων του τύπου 1 και 2 διαβήτη καταστέλλοντας τα επίπεδα γλυκόζης αίματος και ελαχιστοποιώντας το οξειδωτικό στρες (Cabrera-Vique C. et al., 2012).

Σε έρευνα που πραγματοποιήθηκε το 2011, μελετήθηκε η επίδραση της κατανάλωσης ελαίου Argan στα λιπίδια του ορού, στις απολιποπρωτεΐνες (A1 και B), στη C αντιδρώσα πρωτεΐνη (C Reactive Protein, CRP) η οποία είναι ένας δείκτης φλεγμονής, και στην ευπάθεια των LDL στην οξείδωση σε ασθενείς με τύπου 2 διαβήτη οι οποίοι είναι γνωστό ότι έχουν υψηλό επίπεδο καρδιαγγειακού κινδύνου λόγω των ανωμαλιών των λιπιδίων και υπεροξειδωσή των. Τα ευρήματα της έρευνας αυτής δείχνουν για πρώτη φορά ότι κατανάλωση ελαίου Argan ίσως έχει αντιαθηρωματική επίδραση βελτιώνοντας τα λιπίδια, την απολιποπρωτεΐνη A1 και την ευπάθεια των LDL στην οξείδωση σε ασθενείς με τύπου 2 διαβήτη με δυσλιπιδαιμία και είναι δυνατόν έτσι να συνιστάται στην διατροφική διαχείριση του τύπου 2 διαβήτη (OuldMohamedou M.M. et al., 2011).

Αντικαρκινική δράση ελαίου Argan

Διάφοροι ερευνητές έχουν τονίσει τις αντικαρκινικές επιδράσεις του ελαίου Argan σε διαφορετικές καρκινικές κυτταρικές σειρές, ένδειξη που δηλώνει ότι αυτό το έλαιο ίσως έχει χημειοπροστατευτικές ιδιότητες εναντίον του καρκίνου. Δύο μελέτες (Drissi A. et al., 2004, Bennani H. et al., 2011) έδειξαν ότι διαφορετικές ενώσεις που παραλήφθηκαν από το παρθένο έλαιο Argan (πολυφαινόλες, στερόλες, τοκοφερόλες και σαπωνίνες) ασκούν αποπρωτικές επιδράσεις στις κυτταρικές σειρές του καρκίνου του προστάτη. Άλλη μια έρευνα (Samane S. et al., 2006) έδειξε αντικαρκινικές επιδράσεις του ασαπωνοποιητού κλάσματος του ελαίου Argan χρησιμοποιώντας μια καρκινική κυτταρική σειρά, μια επιθετική παραλλαγή του καρκίνου νεφρού (Cabregra-Vique C. et al., 2012).

Αντιθρομβωτική δράση ελαίου Argan

Σύμφωνα με πρόσφατη έρευνα, εξετάστηκε *in vivo* η αντιθρομβωτική ικανότητα του ελαίου Argan σε ένα μοντέλο πειραματικής θρόμβωσης σε ποντίκια: οξύς πνευμονικός θρομβοεμβολισμός και *in vitro* την επίδρασή του σε μια δοκιμή συσσωμάτωσης. Αυτή η εργασία ανέφερε την αντιθρομβωτική δράση του ελαίου Argan που θα μπορούσε να σχετιστεί με αντιαιμοπεταλιακή παρά με αντιπηκτική δράση. Προτάθηκε ότι το έλαιο Argan θα μπορούσε να είναι μια ενδιαφέρουσα φυσική διαιτητική πηγή για τη διατροφική αποφυγή της αιμόστασης και καρδιαγγειακών διαταραχών. Κλινικές δοκιμές θα ήταν επιπλέον απαραίτητες και σχετικές για να επιβεβαιωθεί αυτός ο ισχυρισμός (Mekhfi et al., 2012).

Επιπλέον, πειραματικές μελέτες έδειξαν ότι το παρθένο έλαιο Argan προάγει μείωση του επιπέδου των τριγλυκεριδίων στους άντρες (Derouiche A, et al., 2005) και της LDL χοληστερόλης σε υγιή άτομα (Drissi A. et al., 2004, Cherki M. et al., 2005, Mekhfi H. et al., 2012).

1.5.2.6 Συντήρηση/αποθήκευση ελαίου Argan

Σε πρόσφατη έρευνα μελετήθηκε η οξειδωτική σταθερότητα διαφόρων τύπων εδώδιμου ελαίου Argan παραλαμβανόμενου με τα χέρια (Artisanally extracted Argan oil, AAO), μηχανικά παραλαμβανόμενο (mechanically extracted Argan oil, MAO) και παραδοσιακά παραλαμβανόμενο με τα χέρια, λαμβανόμενο από αποφλοιωμένο από κασίκες καρπό (traditional artisanal Argan oil obtained from goat-peeled fruit, GPAO). Τα αποτελέσματα της έρευνας αυτής υποδεικνύουν το φως ως τον κύριο παράγοντα που εμπλέκεται στην οξειδωση του ελαίου Argan. Μετά από δυο χρόνια αποθήκευσης στους 25 °C MAO προστατευμένο από το φως του ήλιου, παρουσιάζει ταυτόσημη συμπεριφορά όσον αφορά την υπεροξειδωση των λιπαρών υλών με το φρεσκοπαρασκευασμένο έλαιο Argan.

ΜΑΟ είναι ο τύπος του ελαίου Argan που πωλείται στη διεθνή αγορά και ο χρόνος ζωής στο ράφι των δυο χρόνων μπορεί λογικά να συσταθεί για τέτοιο έλαιο εφόσον προστατεύεται από το ηλιακό φως. Το εδώδιμο έλαιο Argan έχει ένα χαρακτηριστικό χάλκινο χρώμα που βοηθά τους καταναλωτές να το ξεχωρίζουν γρήγορα από άλλα έλαια. Συνεπώς, η χρήση *έγχρωμων* γυάλινων μπουκαλιών είναι απίθανο να γίνει εύκολα αποδεκτή από την πλειοψηφία των καταναλωτών. Τα μπουκάλια με το έλαιο Argan γενικά πακετάρονται σε χάρτινα κουτιά και τέτοια πρακτική πρέπει να διατηρηθεί για να ενισχυθεί η συντήρηση αυτού του ελαίου (Gharby S. et al., 2011).

1.5.2.7 Εθνοφαρμακολογική χρήση του ελαίου Argan

Η κύρια παραδοσιακή χρήση του ελαίου Argan είναι χωρίς καμιά αμφιβολία για διατροφικούς σκοπούς. Οι ιθαγενείς είτε απευθείας τρώνε το έλαιο πάνω σε φρυγανιές, γενικά για πρωινό, ή το χρησιμοποιούν για μαγείρεμα.

Ως καλλυντικό (έχει ευρέως ενσωματωθεί σε πολλά προϊόντα κοσμητολογίας), το έλαιο αυτό είναι παραδοσιακά ενδεικνυόμενο για τη θεραπεία όλων των τύπων δερματικών εξανθημάτων και πιο ιδιαίτερα τη νεανική ακμή (Hatinguais P., 2,553,788, 1985, Pauly G., 1,213,025, 2002, 1,213,024, 2002, 1,149,578, 2001) και τις φλύκταινες της ανεμοβλογιάς. Επιπλέον, συνιστάται για τη μείωση των προβλημάτων των ξηρών δερμάτων και επιβραδύνει την εμφάνιση ρυτίδων.

Επιπρόσθετα, χρησιμοποιείται στη ρευματολογία. Σε αυτό το τελευταίο πεδίο, όπως επίσης και στον ευρύτερο τομέα της κοσμητολογίας, το έλαιο Argan χρησιμοποιείται ως λουσιόν για το δέρμα και εφαρμόζεται στην πάσχουσα περιοχή (Habibi Y. & Vignon M. R., 2005, Charrouf Z. & Guillaume D., 1999).

Επίσης, όπως και το ελαιόλαδο, το έλαιο Argan χρησιμοποιείται από το στόμα και παραδοσιακά συνταγογραφούμενο ως ηπατοπροστατευτικός παράγοντας καθώς και στην περίπτωση της υπερχοληστεριναιμίας και της αθηροσκλήρωσης (Charrouf Z. & Guillaume D., 1999).

1.5.2.8 Άλλες χρήσεις/εφαρμογές

Το έλαιο Argan περιλαμβάνεται στα είδη των εδώδιμων φυτικών ελαίων που θα μπορούσαν να χρησιμοποιηθούν στην παραγωγή βιοντίζελ (Demirbas A., 2009). Βέβαια, δεν είναι οικονομικά προσοδοφόρο γιατί είναι εξαιρετικά ακριβό.

Τέλος, αυτό το ασυνήθιστο και ακριβό έλαιο χρησιμοποιείται στην τεχνική της μάλαξης (μασάζ) και παρεκκλίνει από το να είναι αφροδισιακό (Marccone M. F., 2004).

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2

2.1 Φθορισμομετρία

Ο φθορισμός, αλλά και οι συγγενείς τεχνικές με τον φθορισμό, ο φωσφορισμός και η χημειοφωταύγεια, είναι τεχνικές κατά τις οποίες τα μόρια του αναλύτη διεγείρονται. Τα διεγερμένα χημικά είδη δίνουν φάσματα εκπομπής που παρέχουν χρήσιμες πληροφορίες για ποιοτική και ποσοτική ανάλυση. Συνολικά και οι τρεις τεχνικές είναι γνωστές ως τεχνικές μοριακής φωταύγειας.

Ο φθορισμός και ο φωσφορισμός μοιάζουν κατά το ότι η διέγερση προκαλείται με απορρόφηση φωτονίων. Για το λόγο αυτό τα δύο φαινόμενα αναφέρονται με το γενικότερο όρο φωτοφωταύγεια. Όπως θα δειχθεί παρακάτω, ο φθορισμός διαφέρει από τον φωσφορισμό ως προς το ότι η υπεύθυνη για το φθορισμό ηλεκτρονιακή ενεργειακή μετάπτωση, δεν περιλαμβάνει μεταβολή του ηλεκτρονιακού spin. Ο φθορισμός είναι βραχύβιο φαινόμενο και η παραγόμενη φωταύγεια εξαφανίζεται αμέσως ($<10^{-5}$ s). Αντίθετα, η εκπομπή φωσφορισμού συνοδεύεται από μεταβολή του ηλεκτρονιακού spin η οποία προκαλεί ακτινοβολία εύκολα ανιχνεύσιμη για χρόνο που μπορεί να φτάσει μερικά δευτερόλεπτα ή και περισσότερο μετά τη διακοπή της ακτινοβόλησης.

Ένα από τα σημαντικότερα χαρακτηριστικά των μεθόδων φωταύγειας είναι η εγγενής ευαισθησία τους, με όρια ανίχνευσης κατά δυο έως τέσσερις τάξεις μεγέθους χαμηλότερα από αυτά της φασματομετρίας απορρόφησης. Τα τυπικά όρια ανίχνευσης βρίσκονται στην περιοχή των ppb. Ένα άλλο πλεονέκτημα των μεθόδων φωταύγειας είναι οι μεγάλες γραμμικές περιοχές συγκεντρώσεων που είναι επίσης μεγαλύτερες από αυτές που συναντώνται στις μεθόδους απορρόφησης. Λόγω της μεγάλης τους ευαισθησίας οι ποσοτικές μέθοδοι φωταύγειας υπόκεινται σε παρεμποδίσεις από συστατικά της μήτρας του δείγματος. Για το λόγο αυτό οι μετρήσεις φωταύγειας συνδυάζονται με τεχνικές διαχωρισμού χρωματογραφίας και ηλεκτροφόρησης.

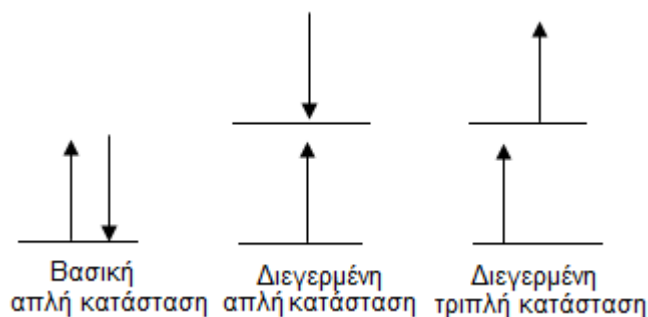
2.1.1 Θεωρία του φθορισμού

Ο φθορισμός εμφανίζεται τόσο σε απλά όσο και σε σύνθετα χημικά συστήματα αερίων, υγρών και στερεών. Το απλούστερο είδος φθορισμού εμφανίζεται σε αραιούς ατομικούς ατμούς. Ο τύπος του φθορισμού κατά τον οποίο η ακτινοβολία απορροφάται και επανεκπέμπεται χωρίς μεταβολή της συχνότητας, είναι γνωστός ως ακτινοβολία συντονισμού ή φθορισμός συντονισμού. Πολλά σωματίδια εμφανίζουν φθορισμό συντονισμού. Ωστόσο, πολύ πιο συχνά εμφανίζονται ζώνες μοριακού φθορισμού σε μήκη κύματος μεγαλύτερα από

αυτά της γραμμής συντονισμού. Η μετατόπιση προς μεγαλύτερα μήκη κύματος είναι γνωστή ως μετατόπιση Stokes.

Κρίνεται απαραίτητο, για την κατανόηση του φαινομένου του φθορισμού, να γίνει μια σύντομη ανασκόπηση των όρων απλή/τριπλή κατάσταση. Έτσι, μια μοριακή ηλεκτρονιακή κατάσταση στην οποία όλα τα spin είναι συζευγμένα, καλείται απλή κατάσταση και όταν το μόριο εκτεθεί σε ένα μαγνητικό πεδίο δεν παρατηρείται σχάση των ηλεκτρονιακών ενεργειακών επιπέδων. Αντίθετα, η βασική κατάσταση μιας ελεύθερης ρίζας είναι μια διπλή κατάσταση, διότι το μονό ηλεκτρόνιο μπορεί να αποκτήσει δύο προσανατολισμούς σε μαγνητικό πεδίο, το οποίο διαχωρίζει το σύστημα σε δύο ελαφρά διαφορετικές ενεργειακές καταστάσεις.

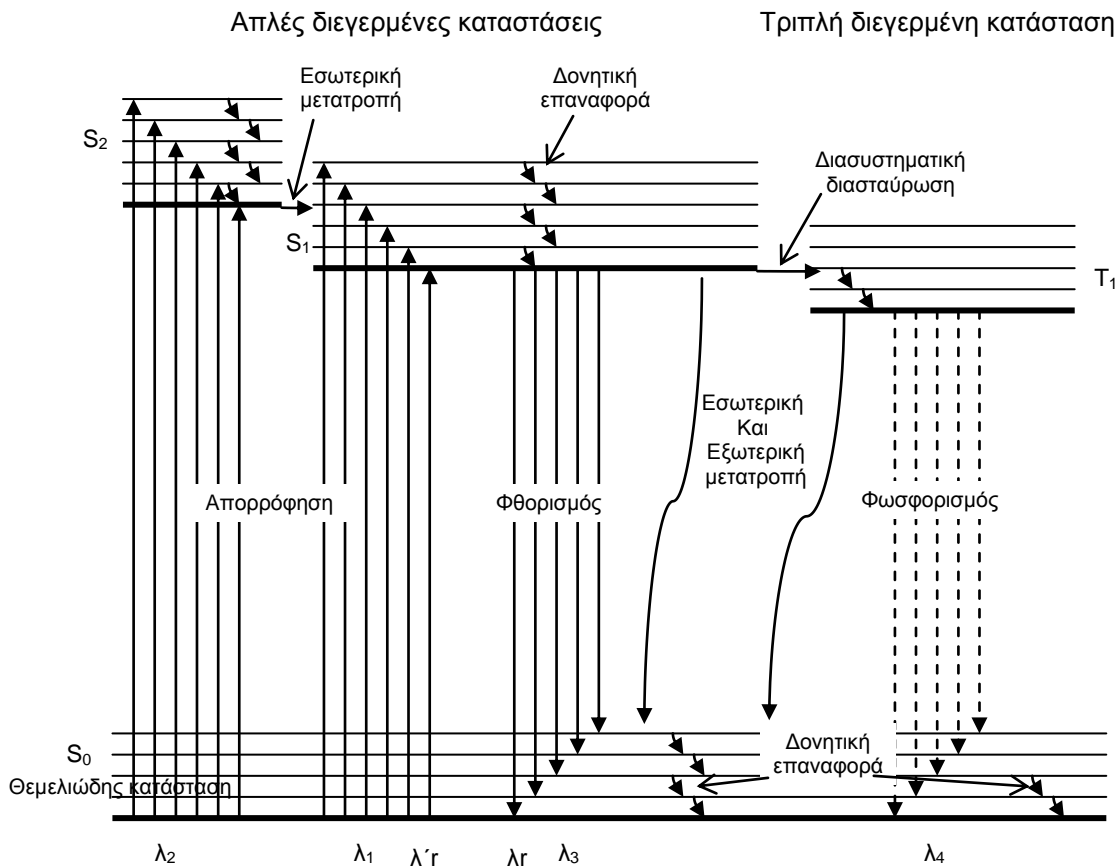
Όταν ένα από τα συζευγμένα ηλεκτρόνια ενός μορίου διεγείρεται σε υψηλότερα ενεργειακά επίπεδα, σχηματίζεται μια απλή ή μια τριπλή κατάσταση. Στη διεγερμένη απλή κατάσταση το ενεργειακά ανυψούμενο ηλεκτρόνιο εξακολουθεί να αποτελεί ζεύγος με το ηλεκτρόνιο της βασικής κατάστασης ως προς τα spin τους. Στην τριπλή κατάσταση, τα spin των δύο ηλεκτρονίων αποσυζεύγγονται και γίνονται παράλληλα. Οι καταστάσεις αυτές παριστάνονται όπως δείχνεται στο Σχήμα 1, όπου τα τόξα δείχνουν την κατεύθυνση της στροφορμής. Τέλος, πρέπει να αναφερθεί ότι η τριπλή διεγερμένη κατάσταση είναι ενεργειακά χαμηλότερη από την αντίστοιχη απλή διεγερμένη.



Σχήμα 1. Ηλεκτρονιακές καταστάσεις.

2.1.2 Ενεργειακά διαγράμματα μορίων που εμφανίζουν φωτοφωταύγεια

Στο Σχήμα 2 παρουσιάζεται τμήμα του ενεργειακού διαγράμματος ενός τυπικού φωτοφωταυγάζοντος μορίου. Η κατώτατη παχιά οριζόντια γραμμή αντιστοιχεί στη βασική ενεργειακή κατάσταση του μορίου, που συνήθως συμβολίζεται ως S_0 . Στη θερμοκρασία δωματίου η κατάσταση αυτή εκπροσωπεί τις ενέργειες όλες σχεδόν των μορίων σε ένα διάλυμα.



Σχήμα 2. Μερικό ενεργειακό διάγραμμα ενός φωτοφωταυγάζοντος συστήματος.

Οι ανώτερες παχιές γραμμές αντιστοιχούν στα βασικά δονητικά ενεργειακά επίπεδα των τριών διεγερμένων ηλεκτρονιακών καταστάσεων. Οι δυο γραμμές αριστερά εκπροσωπούν την πρώτη (S_1) και τη δεύτερη (S_2) ηλεκτρονιακή κατάσταση. Η γραμμή στα δεξιά (T_1) εκπροσωπεί την ενέργεια της πρώτης διεγερμένης τριπλής ηλεκτρονιακής κατάστασης. Όπως συμβαίνει συνήθως, η τιμή της ενέργειας της πρώτης διεγερμένης τριπλής είναι μικρότερη από αυτή της αντίστοιχης απλής κατάστασης.

Από τις λεπτές οριζόντιες γραμμές φαίνεται ότι σε κάθε μια από τις τέσσερις ηλεκτρονιακές καταστάσεις αντιστοιχεί μεγάλος αριθμός δονητικών ενεργειακών επιπέδων.

Όπως φαίνεται στο Σχήμα 2 η διέγερση του μορίου αυτού είναι δυνατό να επιτευχθεί με απορρόφηση ακτινοβολίας δυο περιοχών μήκους κύματος, μιας επικεντρωμένης γύρω από το μήκος κύματος λ_1 ($S_0 \rightarrow S_1$) και μιας δεύτερης γύρω από το μικρότερο μήκος κύματος λ_2 ($S_0 \rightarrow S_2$). Η διαδικασία διέγερσης προκαλεί τη μετάβαση του μορίου σε οποιαδήποτε από τις διάφορες διεγερμένες δονητικές καταστάσεις. Η απευθείας διέγερση του μορίου στην τριπλή κατάσταση δεν παρουσιάζεται στο διάγραμμα, διότι η μετάπτωση αυτή περιλαμβάνει μια αλλαγή πολλαπλότητας, φαινόμενο το οποίο έχει πολύ μικρή πιθανότητα εμφάνισης (απαγορευμένη μετάπτωση).

Ο ρυθμός με τον οποίο ένα φωτόνιο απορροφάται είναι πολύ ταχύς και ο μηχανισμός απαιτεί χρόνο της τάξεως του 10^{-14} έως 10^{-15} s, ενώ η εκπομπή φθορισμού συμβαίνει με σημαντικά βραδύτερο ρυθμό. Σε αυτή την περίπτωση ο χρόνος ζωής της διεγερμένης κατάστασης είναι αντιστρόφως ανάλογος προς τη γραμμομοριακή απορροφητικότητα της κορυφής που αντιστοιχεί στη διέγερση. Έτσι, για γραμμομοριακές απορροφητικότητες της τάξεως 10^3 μέχρι 10^5 οι χρόνοι ζωής των διεγερμένων καταστάσεων είναι 10^{-7} με 10^{-9} s. Για συστήματα με ασθενή απορροφητικότητα, όπου η πιθανότητα μετάπτωσης είναι μικρότερη, οι χρόνοι ζωής φτάνουν τα 10^{-6} έως 10^{-5} s. Ο μέσος ρυθμός μετάπτωσης από τριπλή σε απλή κατάσταση είναι μικρότερος από αυτόν της μετάπτωσης από απλή σε απλή. Έτσι ο φωσφορισμός εκπέμπεται σε χρόνους μετά τη διέγερση 10^{-4} έως 10 s ή και μεγαλύτερους.

2.1.3 Μηχανισμοί αποδιέγερσης

Η αποδιέγερση ενός διεγερμένου μορίου προς τη βασική του κατάσταση είναι δυνατό να πραγματοποιηθεί με συνδυασμό διαφόρων μηχανισμών. Όπως φαίνεται με τα ευθύγραμμα κάθετα τόξα του Σχήματος 2, δύο από αυτούς τους μηχανισμούς, ο φθορισμός και ο φωσφορισμός πραγματοποιούνται με εκπομπή φωτονίου. Τα άλλα στάδια αποδιέγερσης (κυματιστά τόξα) αποτελούν μηχανισμούς χωρίς εκπομπή ακτινοβολίας. Η προτιμώμενη πορεία προς τη βασική κατάσταση είναι αυτή που ελαχιστοποιεί το χρόνο ζωής της διεγερμένης κατάστασης. Έτσι, αφού η αποδιέγερση με εκπομπή φθορισμού είναι ταχύτερη σε σχέση με το μη ακτινοβόλο μηχανισμό, θα παρατηρηθεί εκπομπή ακτινοβολίας φθορισμού. Αντίθετα, αν η μη ακτινοβόλος διαδρομή ευνοείται περισσότερο, δε θα εμφανιστεί καθόλου φθορισμός ή θα εμφανιστεί με πολύ μικρή ένταση.

Η φωτοφωταύγεια εμφανίζεται σε σχετικά μικρό αριθμό συστημάτων τα οποία εμπεριέχουν δομικά και περιβαλλοντικά χαρακτηριστικά που επιβραδύνουν τους ρυθμούς μη ακτινοβόλου αποδιέγερσης σε τέτοιο βαθμό που η αντίδραση να ανταγωνίζεται από κινητική άποψη. Τα δεδομένα ως προς τους μηχανισμούς εκπομπής είναι επαρκή και επιτρέπουν μια ποσοτική εκτίμηση των ρυθμών εμφάνισής τους. Η ερμηνεία της φωτοφωταύγειας απαιτεί συνεξέταση όλων των δυνατών διαδρομών αποδιέγερσης.

Δονητική επαναφορά

Όπως φαίνεται στο Σχήμα 2 ένα μόριο είναι δυνατό κατά την ηλεκτρονική διέγερση να ανυψωθεί σε οποιοδήποτε από τα δονητικά επίπεδα. Φυσικά, σε ένα διάλυμα η περίσσεια της δονητικής ενέργειας χάνεται αμέσως λόγω των κρούσεων μεταξύ των μορίων του διεγερμένου σωματιδίου και του διαλύτη. Αυτός ο μηχανισμός επαναφοράς είναι τόσο αποτελεσματικός, ώστε ο μέσος χρόνος ζωής ενός δονητικά διεγερμένου μορίου είναι 10-12 s ή μικρότερος και είναι σημαντικά μικρότερος από το μέσο χρόνο ζωής μιας ηλεκτρονικά

διεγερμένης κατάστασης. Για το λόγο αυτό, η εμφάνιση φθορισμού σε διάλυμα περιλαμβάνει πάντα μετάπτωση από το κατώτατο δονητικό επίπεδο σε μια διεγερμένη ηλεκτρονιακή κατάσταση. Ωστόσο, πάντα παράγονται φάσματα με πολλές πυκνά χωροθετημένες γραμμές διότι το ηλεκτρόνιο είναι δυνατό να επιστρέψει σε οποιοδήποτε δονητικό επίπεδο της βασικής κατάστασης από όπου μεταπίπτει ταχύτατα στο χαμηλότερο δονητικό επίπεδο της βασικής ηλεκτρονικής κατάστασης με περαιτέρω δονητική αποδιέγερση.

Έτσι, οι ζώνες φθορισμού μιας συγκεκριμένης ηλεκτρονιακής μετάπτωσης εμφανίζονται μετατοπισμένες προς χαμηλότερες συχνότητες ή μεγαλύτερα μήκη κύματος ως προς την αντίστοιχη ζώνη απορρόφησης (μετατόπιση Stokes). Στο Σχήμα 2, το μήκος κύματος λ_r της απορροφούμενης ακτινοβολίας που παράγει κορυφή συντονισμού συμβολίζεται με λ'_r .

Εσωτερική μετατροπή

Ο όρος εσωτερική μετατροπή περιγράφει ενδομοριακούς μηχανισμούς με τους οποίους ένα μόριο καταλήγει σε ενεργειακά χαμηλότερη ενεργειακή κατάσταση χωρίς εκπομπή ακτινοβολίας. Οι μηχανισμοί αυτοί δεν είναι καθορισμένοι ούτε επαρκώς κατανοητοί, αλλά είναι προφανές ότι χαρακτηρίζονται από μεγάλη απόδοση, αφού είναι σχετικά μικρός ο αριθμός των ενώσεων που φθορίζουν.

Εξωτερική μετατροπή

Η αποδιέγερση μιας διεγερμένης ηλεκτρονιακής κατάστασης μπορεί να περιλαμβάνει αλληλεπίδραση και μεταφορά ενέργειας μεταξύ διεγερμένου μορίου και μορίων του διαλύτη ή άλλου συστατικού του διαλύματος. Οι μηχανισμοί αυτοί ονομάζονται συλλογικά εξωτερική μετατροπή ή κρουστική απόσβεση.

Διασυστηματική διασταύρωση

Η διασυστηματική διασταύρωση είναι ένας μηχανισμός κατά τον οποίο το spin ενός διεγερμένου ηλεκτρονίου αναστρέφεται με αποτέλεσμα την αλλαγή της πολλαπλότητας του μορίου. Η πιθανότητα αυτής της μετάπτωσης αυξάνει όταν τα δονητικά επίπεδα των δύο καταστάσεων επικαλύπτονται. Η διασυστηματική διασταύρωση είναι συνηθέστερη σε μόρια με βαρέα άτομα όπως βρώμιο και ιώδιο.

Φωσφορισμός

Η αποδιέγερση διεγερμένων ηλεκτρονιακών καταστάσεων μπορεί επιπλέον να οδηγήσει σε φωσφορισμό. Μετά τη διασυστηματική διασταύρωση σε μια τριπλή κατάσταση είναι δυνατό να ακολουθήσει αποδιέγερση με εσωτερική ή εξωτερική μετατροπή ή με

φωσφορισμό. Μια τριπλή \rightarrow απλή μετάπτωση είναι πολύ λιγότερο πιθανή από ότι μια απλή \rightarrow απλή μετατροπή. Έτσι, όπως προαναφέρθηκε, ο μέσος χρόνος ζωής της διεγερμένης τριπλής κατάστασης ως προς την εκπομπή βρίσκεται στην περιοχή τιμών 10^{-4} - 10 ή και μεγαλύτερων. Άρα μετά από μια τέτοια μετάπτωση είναι δυνατή η συνέχιση εκπομπής για κάποιο χρόνο μετά τη διακοπή της ακτινοβολία διέγερσης. Οι εσωτερικές και εξωτερικές μετατροπές ανταγωνίζονται αποτελεσματικά το φωσφορισμό, ώστε αυτό το είδος εκπομπής να παρατηρείται μόνο σε χαμηλές θερμοκρασίες, σε ιξώδη διαλύματα ή σε μόρια που έχουν προσροφηθεί σε επιφάνειες στερεών.

2.1.4 Παράμετροι που επηρεάζουν το φθορισμό

Η **κβαντική απόδοση** για τον φθορισμό είναι ο λόγος του αριθμού των μορίων τα οποία φωταυγάζουν προς τον ολικό αριθμό των διεγερμένων μορίων. Για μόρια που έχουν υψηλά επίπεδα φθορισμού η κβαντική απόδοση πλησιάζει κάτω υπό ορισμένες συνθήκες τη μονάδα. Ουσίες που δε φθορίζουν αισθητά έχουν τιμές κβαντικής απόδοσης που πλησιάζουν το μηδέν.

Επιπλέον, η **δομή** επηρεάζει το φθορισμό. Ο εντονότερος και αναλυτικά χρησιμότερος φθορισμός παρατηρείται σε ενώσεις που περιέχουν αρωματικές δραστικές ομάδες με χαμηλά ενεργειακά επίπεδα μεταπτώσεων $\pi \rightarrow \pi^*$. Ενώσεις που περιέχουν αλειφατικές και αλεικυκλικές καρβονυλικές δομές ή δομές διπλών δεσμών υψηλής συζυγίας εμφανίζουν επίσης φθορισμό αλλά ο αριθμός τους είναι μικρός σε σύγκριση με το μεγάλο αριθμό των αρωματικών συστημάτων. Οι περισσότεροι μη υποκατεστημένοι αρωματικοί υδρογονάνθρακες φθορίζουν σε διαλύματα. Οι κβαντικές αποδόσεις συνήθως αυξάνουν με τον αριθμό των δακτυλίων και το βαθμό συμπύκνωσής τους. Οι απλές ετεροκυκλικές ενώσεις δε φθορίζουν, ενώ αντίθετα οι συμπυκνωμένες δομές φθορίζουν. Έχει βρεθεί εμπειρικά πως ο φθορισμός ευνοείται σε μόρια με άκαμπτη δομή.

Η κβαντική απόδοση φθορισμού των περισσότερων μορίων μειώνεται με αύξηση της **θερμοκρασίας**, καθότι η αύξηση του αριθμού των κρούσεων στις υψηλές θερμοκρασίες αυξάνει και την πιθανότητα αποδιέγερσης με εξωτερική μετατροπή (Skoog D.A. et al., 2005).

Αν και οι φθορισμομετρικοί προσδιορισμοί μπορούν να γίνουν άμεσα στους αναλύτες σε αέρια ή στερεή φάση, στις περισσότερες περιπτώσεις οι προσδιορισμοί γίνονται σε υγρή φάση. Όσον αφορά στο **διαλύτη** που χρησιμοποιείται, οι περισσότεροι ερευνητές χρησιμοποιούν οργανικούς διαλύτες (Yang H.M. et al., 2009, Zhou P.C. et al., 2008), ενώ υπάρχουν μελέτες που αναφέρουν προσδιορισμούς σε υδατικά διαλύματα (Pistonosi M.F. et al., 2006), ιδιαίτερα αν χρησιμοποιούνται μικκυλιακά συστήματα για το σχηματισμό συμπλόκων με τους αναλύτες-στόχους. Μείωση του ιξώδους του διαλύτη επειδή αυξάνει την πιθανότητα εμφάνισης εξωτερικής μετατροπής, οδηγεί σε μείωση της κβαντικής απόδοσης.

Ο φθορισμός ενός μορίου μειώνεται σε διαλύτες που περιέχουν βαρέα άτομα ή άλλα συστατικά του διαλύματος με τέτοια άτομα στο μόριό τους.

Ο φθορισμός μιας αρωματικής ένωσης με όξινους ή βασικούς υποκαταστάτες συνήθως εξαρτάται από το **pH**. Τόσο το μήκος κύματος όσο και η ένταση της εκπομπής μπορεί να είναι διαφορετικά για τον ιοντισμένο και μη ιοντισμένο τύπο της ένωσης. Έτσι, κατά την εφαρμογή αναλυτικών μεθόδων που βασίζονται στο φθορισμό απαιτείται συχνά αυστηρός έλεγχος του pH.

Η επίδραση του διαλυμένου οξυγόνου στα σήματα είναι εξαιρετικά σημαντική. Συχνά η παρουσία **διαλυμένου οξυγόνου** μειώνει την ένταση φθορισμού ενός διαλύματος. Πιθανώς αυτό οφείλεται σε φωτοχημικά επαγόμενη οξειδωση του φθορίζοντος σωματιδίου. Ωστόσο στις περισσότερες περιπτώσεις η απόσβεση οφείλεται στις παραμαγνητικές ιδιότητες του μοριακού οξυγόνου, το οποίο διευκολύνει τη διασυστηματική διασταύρωση και τη μετατροπή του διεγερμένου μορίου στην τριπλή κατάσταση. Για την αντιμετώπιση αυτού του προβλήματος συνιστάται απομάκρυνση του οξυγόνου των διαλυμάτων με ρεύμα αζώτου με σκοπό την επίτευξη χαμηλότερων ορίων ανίχνευσης (Limits of Detection, LODs) και ορίων ποσοτικοποίησης (Limits of Quantification, LOQs). Επιπλέον, και άλλα παραμαγνητικά μόρια μπορούν να προκαλέσουν απόσβεση του φθορισμού.

Επιπρόσθετα, η **γεωμετρία των μετρήσεων** φθορισμομετρίας επηρεάζει το σήμα του φθορισμού. Η συνήθης γεωμετρία των μετρήσεων είναι μέτρηση της ακτινοβολίας του φθορισμού σε γωνία 90° σε σχέση με την ακτινοβολία διέγερσης (Andrade- Eiroa Á. et al., 2010, Skoog D.A. et al., 2005).

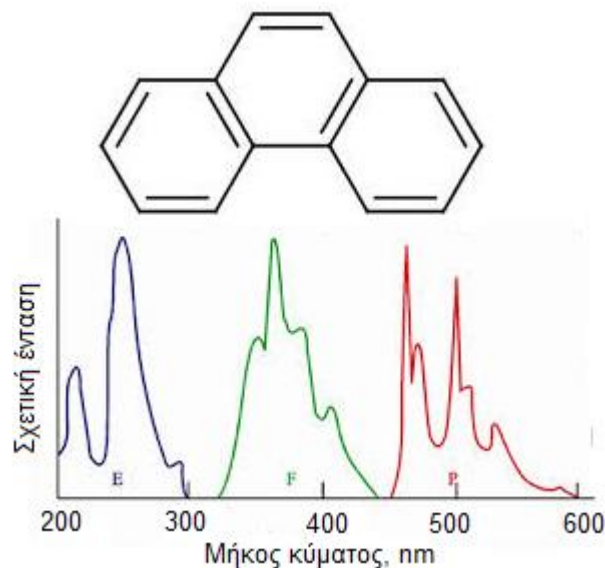
Επίσης, το **εύρος των μηκών κύματος** είναι ένας ακόμα παράγοντας που επηρεάζει το φθορισμό. Συνήθως, οι σύγχρονες σαρώσεις καταγράφονται στην περιοχή των 200–600 nm, αν και ορισμένες ενώσεις που εκπέμπουν στην περιοχή IR απαιτούν διαφορετικό εύρος (Hu Z. & Tong C., 2007).

Όσον αφορά την επίδραση της **συγκέντρωσης** της φθορίζουσας ουσίας στην ένταση φθορισμού, η γραφική παράσταση της έντασης φθορισμού ενός διαλύματος ως συνάρτηση της συγκέντρωσης της φθορίζουσας ουσίας πρέπει να είναι γραμμική σε χαμηλές συγκεντρώσεις. Όταν η συγκέντρωση αυξηθεί αρκετά, ώστε να κάνει την απορρόφηση μεγαλύτερη από το 0.05, αίρεται η γραμμικότητα της καμπύλης αναφοράς. Για την αρνητική απόκλιση της καμπύλης αναφοράς σε υψηλές συγκεντρώσεις υπεύθυνοι είναι δυο ακόμη παράγοντες, η **αυτοαπόσβεση** και η **αυτοαπορρόφηση**. Ο πρώτος οφείλεται σε συγκρούσεις μεταξύ των διεγερμένων μορίων, οπότε μεταφέρεται ενέργεια στα μόρια του διαλύτη χωρίς εκπομπή ακτινοβολίας, πιθανώς κατά τρόπο ανάλογο με τη μεταφορά που συμβαίνει κατά την εξωτερική μετατροπή. Η αυτοαπόσβεση αυξάνει με τη συγκέντρωση διότι αυξάνει η πιθανότητα συγκρούσεων. Η αυτόαπορρόφηση συμβαίνει όταν το μήκος κύματος της εκπομπής επικαλύπτει μια κορυφή απορρόφησης. Ο φθορισμός μειώνεται καθώς η

ακτινοβολία του επαναπορροφάται από άλλα φθορίζοντα μόρια κατά τη διέλευσή της από το διάλυμα. Ως αποτέλεσμα των φαινομένων αυτών, το διάγραμμα έντασης φθορισμού ως προς τη συγκέντρωση είναι δυνατό να παρουσιάζει ένα μέγιστο (Skoog D.A. et al., 2005).

2.1.5 Φάσματα διέγερσης και εκπομπής

Στο Σχήμα 3 παρουσιάζονται τρεις τύποι φασμάτων φωταύγειας του φαινανθρενίου. Το φάσμα διέγερσης (E στο Σχήμα 3) λαμβάνεται με καταγραφή της έντασης φωταύγειας σε καθορισμένο μήκος κύματος ενώ μεταβάλλεται το μήκος κύματος της ακτινοβολίας διέγερσης. Επειδή το πρώτο στάδιο για παραγωγή φθορισμού είναι η απορρόφηση ακτινοβολίας που παράγει τις διεγερμένες καταστάσεις, ένα φάσμα διέγερσης βασικά είναι παρόμοιο με ένα φάσμα απορρόφησης το οποίο λαμβάνεται με τις ίδιες συνθήκες. Αντίθετα, τα φάσματα φθορισμού και φωσφορισμού (F και P αντίστοιχα στο Σχήμα 3), λαμβάνονται με διέγερση σε καθορισμένο μήκος κύματος και καταγραφή της έντασης εκπομπής ως συνάρτηση του μήκους κύματος.



Σχήμα 3. Φάσματα του φαινανθρενίου: E διέγερσης, F φθορισμού, P φωσφορισμού.

Όπως αναφέρθηκε και παραπάνω, η φωταύγεια εμφανίζεται σε μήκη κύματος μεγαλύτερα από αυτό της διέγερσης. Επιπρόσθετα, οι κορυφές του φάσματος φωσφορισμού βρίσκονται γενικά σε μεγαλύτερα μήκη κύματος από ότι αυτές του φάσματος φθορισμού, επειδή η διεγερμένη τριπλή κατάσταση, στις περισσότερες περιπτώσεις, βρίσκεται ενεργειακά χαμηλότερα από ότι η απλή. Στην πράξη, η διαφορά του μήκους κύματος μεταξύ των δύο φασμάτων αποτελεί έναν εύκολο τρόπο μέτρησης της ενεργειακής διαφοράς μεταξύ της τριπλής και απλής κατάστασης (Skoog D.A. et al., 2005).

2.1.6 Τα φάσματα εκπομπής είναι τυπικά ανεξάρτητα του μήκους κύματος διέγερσης

Μια άλλη ιδιότητα του φθορισμού είναι ότι παρατηρείται το ίδιο φάσμα εκπομπής φθορισμού ανεξάρτητα από το μήκος κύματος διέγερσης. Αυτό είναι γνωστό ως κανόνας του Kasha (Kasha's rule). Κατά τη διέγερση σε υψηλότερα ηλεκτρονικά και δονητικά επίπεδα, η περίσσεια ενέργειας γρήγορα εξαφανίζεται, αφήνοντας το φθοροφόρο στο κατώτατο δονητικό επίπεδο S_1 . Αυτή η εκτόνωση γίνεται σε περίπου 10^{-12} s και πιθανώς είναι αποτέλεσμα μιας ισχυρής επικάλυψης μεταξύ πολυάριθμων καταστάσεων με σχεδόν ίση ενέργεια. Εξαιτίας αυτής της ραγδαίας εκτόνωσης τα φάσματα εκπομπής είναι συνήθως ανεξάρτητα του μήκους κύματος διέγερσης. Εξαιρέσεις υπάρχουν, όπως φθοροφόρα που υφίστανται σε δυο καταστάσεις ιονισμού, κάθε μια από τις οποίες εμφανίζει ευδιάκριτα φάσματα απορρόφησης και εκπομπής. Επίσης, ορισμένα μόρια είναι γνωστά να εκπέμπουν από το επίπεδο S_2 , αλλά τέτοια εκπομπή είναι σπάνια και γενικά μη παρατηρήσιμη σε βιολογικά μόρια.

2.1.7 Εξαιρέσεις στον κανόνα του κατοπτρικού ειδώλου

Αν και γενικά ισχύει ο κανόνας του κατοπτρικού ειδώλου, σύμφωνα με τον οποίο το φάσμα φθορισμού είναι αντικατοπτρικό είδωλο του φάσματος απορρόφησης, υπάρχουν πολλές εξαιρέσεις. Αποκλίσεις από τον κανόνα συνήθως υποδεικνύουν μια διαφορετική γεωμετρική διεύθυνση των πυρήνων στη διεγερμένη κατάσταση συγκρινόμενη με τη θεμελιώδη κατάσταση. Πυρηνικές εκτοπίσεις μπορούν να συμβούν πριν την εκπομπή εξαιτίας της σχετικά μεγάλης διάρκειας της S_1 κατάστασης, που επιτρέπει χρόνο για κίνηση ακολουθώντας τη στιγμιαία διαδικασία της απορρόφησης.

Αντιδράσεις στη διεγερμένη κατάσταση, εκτός της γεωμετρικής αναδιάταξης, μπορούν επίσης να έχουν ως αποτέλεσμα αποκλίσεις από τον κανόνα του κατοπτρικού ειδώλου.

Ορισμένα φθοροφόρα είναι δυνατό να σχηματίσουν σύμπλοκα μεταξύ τους, καθώς επίσης και άλλες διαδικασίες σε διεγερμένη κατάσταση μπορούν να συμβούν που μετατοπίζουν τα φάσματα εκπομπής και μπορούν ή όχι να αλλάξουν το προφίλ του φάσματος (Lakowicz J.R., 1999).

2.2 Φθορισμομετρία σύγχρονης σάρωσης

Όπως προαναφέρθηκε, η φθορισμομετρία είναι ο πιο κοινός και χρήσιμος τύπος φωταύγειας στην αναλυτική χημεία. Η φασματοφθορισμομετρία διέγερσης-εκπομπής είναι μια αναλυτική τεχνική μέτριας εκλεκτικότητας και εξαιρετικά υψηλής ευαισθησίας που μπορεί να εφαρμοστεί στην ανίχνευση μιας πολύ μεγάλης κλίμακας αναλυτών σε περιβαλλοντικά και βιολογικά δείγματα. Η ικανότητα ανίχνευσης είναι περίπου τριών τάξεων μεγέθους μεγαλύτερη από αυτή της φασματοσκοπίας μοριακής απορρόφησης και η εκλεκτικότητα είναι ξεκάθαρα μεγαλύτερη από εκείνη άλλων φασματοσκοπικών μεθόδων, έτσι εφαρμόζεται για την ανάλυση στην κλίμακα των $\mu\text{g/mL}$ σε σύνθετες μήτρες. Ωστόσο, αυτές οι εφαρμογές σε ανάλυση πολλαπλών συστατικών (multi-component analysis) μειώνονται σημαντικά λόγω της αλληλεπικάλυψης των φασμάτων, οπότε παρουσιάζονται διάφορες παρεμποδίσεις. Η περιορισμένη εκλεκτικότητα της φασματοφθορισμομετρίας διέγερσης-εκπομπής μπορεί να βελτιωθεί με εφαρμογή συνολικής φωταύγειας ή τεχνικές Φθορισμομετρίας Σύγχρονης Σάρωσης, ΦΣΣ (synchronous scanning fluorescence).

Η ΦΣΣ εισήχθη τη δεκαετία 1980 και είναι εφικτή με τους ακόλουθους τρόπους:

Σταθερής διαφοράς μήκους κύματος. Η μέθοδος αυτή περιλαμβάνει την καταγραφή των φασμάτων φθορισμού με ταυτόχρονη σάρωση για όλα τα μήκη κύματος διέγερσης και εκπομπής στην ίδια ταχύτητα (σύγχρονα) και συνεπώς διατηρώντας μια σταθερή διαφορά ή αύξηση μεταξύ του μήκους κύματος εκπομπής (λ_e) και εκείνου της διέγερσης (λ_δ), Δλ.

Σταθερής ενέργειας. Στην περίπτωση αυτή η σάρωση πραγματοποιείται διατηρώντας μια σταθερή διαφορά ενέργειας μεταξύ των μονοχρωματόρων διέγερσης και της εκπομπής.

Ενώ η ΦΣΣ είναι μια γνωστή, καθιερωμένη τεχνική για δεκαετίες, πολλοί περιορισμοί έχουν παρεμποδίσει την εφαρμογή της σε περιβαλλοντικά, τροφίμων, βιομηχανικών και βιολογικών δειγμάτων (πχ επίδραση εσωτερικού φίλτρου, απόσβεση, ισχυρή επικάλυψη σημάτων από μείγματα πολλών συστατικών). Ωστόσο, η γρήγορη εξέλιξη της χημειομετρίας (όπως η μέθοδος μερικών ελαχίστων τετραγώνων) και η κατάλληλη εφαρμογή στα σήματα ΦΣΣ κάνει δυνατή την ακριβή και γρήγορη ποσοτικοποίηση αναλυτών, αποσυνέλιξη κορυφών σε σύνθετες μήτρες, ακόμα και ποσοτικοποίηση φθορίζοντων ουσιών που υφίστανται επίδραση εσωτερικού φίλτρου, αποφεύγοντας βήματα προκατεργασίας.

Ωστόσο, η εμφάνιση μοντέρνων διαδικασιών προκατεργασίας και προσυμπύκνωσης ή η εξέλιξη της άμεσης μέτρησης φθορισμού σε στερεή επιφάνεια έχουν διευκολύνει την εφαρμογή της ΦΣΣ σε σύνθετα δείγματα (που περιλαμβάνουν τρόφιμα, καύσιμα κλπ). Επιπρόσθετα, ασθενώς φθορίζοντα ή μη φθορίζοντα είδη μπορούν να μετατραπούν σε φθορίζοντα είδη (αυξάνοντας την κβαντική απόδοση φθορισμού) με χρήση ενός αντιδραστήριου, υδρόλυση, θερμική κατεργασία κλπ.

Όσον αφορά την οργανολογία και τις τεχνικές βελτιώσεις, η ενσωμάτωση νέων πηγών εκπομπής με στενό εύρος μηκών κύματος και η ταχύτατη ψύξη των δειγμάτων κάνει δυνατή τη λήψη στενότερων γραμμών εκπομπής απομονωμένων μορίων-στόχων παγιδευμένων στη μήτρα κατά τη διάρκεια ψύξης, διευκολύνοντας έτσι ανάλυση σύνθετων μειγμάτων.

Εκτός από τα προαναφερόμενα, η ταυτόχρονη εφαρμογή μαγνητικού πεδίου και πόλωσης σε ΦΣΣ συντονισμού (λχ για $\Delta\lambda$ 0 nm) είναι μια άλλη δημοφιλής προσέγγιση για την εξάλειψη του διαχέοντος φωτός του υποβάθρου που παρατηρείται στο φθορισμό. Επιπρόσθετα, η ολική εσωτερική αντανάκλαση φθορισμού (total internal reflection fluorescence, TIRF) είναι ένα φλέγον θέμα στη ΦΣΣ λόγω της μεγάλης ιδιαιτερότητας στη μελέτη ιδιοτήτων αλληλεπίδρασης.

Τέλος, η ΦΣΣ έχει πρόσφατα ενσωματωθεί στην ανάλυση διαδοχικής έγχυσης sequential-injection analysis (SIA).

2.2.1 Πλεονεκτήματα και μειονεκτήματα φθορισμομετρίας σύγχρονης σάρωσης

Μεταξύ των κύριων πλεονεκτημάτων είναι η βελτιωμένη εκλεκτικότητα σε σχέση με την φθορισμομετρία διέγερσης-εκπομπής, υψηλότερη ευαισθησία, μειωμένες παρεμποδίσεις, ταχύτητα και απλοποίηση της πολυπλοκότητας των φασμάτων. Η ΦΣΣ παρέχει αποτελέσματα που συμφωνούν με εκείνα που λαμβάνονται με υγρή χρωματογραφία υψηλής απόδοσης (high-performance liquid chromatography, HPLC) και αέρια χρωματογραφία συνδυασμένη με φασματομετρία μαζών (gas chromatography with mass spectrometry, GC-MS).

Ορισμένες φορές, η ΦΣΣ παρέχει ακόμα και καλύτερα αποτελέσματα από την GC-MS και την φασματοσκοπία υπερύθρου (infrared spectroscopy, IR) αν και αποτελέσματα και συμπεράσματα δείχνουν να εξαρτώνται από την εξεταζόμενη μήτρα. Έτσι, η ΦΣΣ έχει πλεονεκτήματα έναντι της HPLC σε ακατέργαστα πετρελαιοειδή, διότι βαριές ενώσεις τείνουν να απορροφώνται στην αναλυτική στήλη και ελαφρές ενώσεις μπορούν να χαθούν με εξάτμιση. Ωστόσο, η HPLC είναι αποτελεσματικότερη της ΦΣΣ ως αναλυτικό εργαλείο σε πολλές περιβαλλοντικές και βιολογικές μήτρες. Όσον αφορά σύγκριση ΦΣΣ και φθορισμομετρίας διέγερσης-εκπομπής, το ποια μέθοδος παρέχει τα πιο ικανοποιητικά και ακριβή αποτελέσματα εξαρτάται από το εξεταζόμενο δείγμα. Όσον αφορά τα όρια ανίχνευσης, δεν υπάρχει συμφωνία στη βιβλιογραφία (Andrade-Eiroa Á. et al., 2010). Έτσι, αν και γενικά έχει αναφερθεί υψηλή ευαισθησία χρησιμοποιώντας ΦΣΣ, ιδιαίτερα στον προσδιορισμό δραστικών ουσιών σε φαρμακευτικά προϊόντα (Madrakian T. et al., 2009) και σύνθετα βιολογικά δείγματα, μελέτη που πραγματοποιήθηκε το 2009 (Yang H.M. et al., 2009) αναφέρει ότι η μεθοδολογία ΦΣΣ που εφαρμόστηκε έδειξε χαμηλή ευαισθησία σε πρωτεΐνες.

Μεταξύ των μειονεκτημάτων της ΦΣΣ ως αναλυτικό εργαλείο, αξίζει να αναφερθεί ότι εξαρτάται από πολλούς παράγοντες (Andrade-Eiroa Á. et al., 2010):

- Πολικότητα (Boubellouta T. et al., 2008) και ιξώδες διαλύτη (Marangoni A.G., 1992)
- Συγκέντρωση αλάτων (Hu Z. et al., 2007)
- Παρεμβολές
- Φωτοχημική διάσπαση της φθορίζουσας ένωσης (Karim A. et al., 2006)
- pH (Yang H.M. et al., 2009, Wang, L. et al., 2008, Hu Z. et al., 2007)
- Θερμοκρασία
- Χρόνο επώασης δειγμάτων, όταν είναι απαραίτητο
- Διαδικασίες προκατεργασίας (Tairova Z.M. et al., 2009)
- Σειρά προσθήκης αντιδραστηρίων (Wang L. et al., 2008)
- Ύπαρξη αυτοαπορρόφησης (quenching, self-absorption) και
- Επιδράσεις εσωτερικού φίλτρου που συχνά δημιουργούν πολλά προβλήματα σε ποσοτικούς προσδιορισμούς ειδικά σε πολύ πυκνά και σύνθετα δείγματα (Divya O. et al., 2008).

Η απόσβεση περιλαμβάνει μείωση της έντασης του φθορισμού που παράγεται από ένα μεγάλο εύρος φαινομένων που συνεπάγονται διαδικασίες ενεργειακής μεταφοράς, όπως προαναφέρθηκε. Η στατική απόσβεση οφείλεται στο σχηματισμό συμπλόκου σταθερής κατάστασης μεταξύ φθοροφόρων και αποσβέστη, ενώ η απόσβεση σύγκρουσης ή δυναμική απόσβεση αποτελεί αποτέλεσμα συγκρούσεων μεταξύ φθοροφόρων και αποσβέστη. Ωστόσο, στατική και δυναμική απόσβεση πραγματοποιούνται ταυτόχρονα.

Η επίδραση του εσωτερικού φίλτρου εμφανίζεται όταν ένα συστατικό (φθορίζων ή όχι) απορροφά μέρος της ενέργειας διέγερσης (πρωτογενές εσωτερικό φίλτρο) ή της ενέργειας εκπομπής (δευτερογενές εσωτερικό φίλτρο) αντιστοιχώντας σε άλλο συστατικό του δείγματος (ή και τα δύο, αυτό που εκπέμπει ή άλλο συστατικό του δείγματος), οδηγώντας σε διαφορετικά προφίλ εκπομπής και διέγερσης για τους αναλύτες που επηρεάζονται από δείγμα σε δείγμα, όχι μόνο σε ένταση αλλά και σε μορφή (Hu Z. et al., 2007).

Η πιο κοινά χρησιμοποιούμενη μέθοδος για την ανίχνευση διαδικασιών ενεργειακής μεταφοράς είναι η μελέτη της ύπαρξης επικάλυψης μεταξύ των φασμάτων απορρόφησης ορισμένων ενώσεων και φασμάτων εκπομπής άλλων σε σύνθετα μείγματα (Fei T. et al., 2005), κάτι πολύ συνηθισμένο στην περίπτωση βιομορίων και φαρμακοκινητικών. Μέχρι πρόσφατα οι ερευνητές προσπαθούσαν να εξαλείψουν αυτές τις ανεπιθύμητες επιδράσεις με διάλυση του δείγματος, εφόσον η επίδραση εσωτερικού φίλτρου θεωρείται αμελητέα σε πολύ αραιωμένα δείγματα (Fang et al., 2003). Ωστόσο, έχουν αναφερθεί απορροφήσεις εκπεμπόμενης ενέργειας ακόμα και σε πολύ χαμηλά επίπεδα συγκεντρώσεων.

Για τη διόρθωση των επιδράσεων εσωτερικού φίλτρου από ορισμένους ερευνητές προτιμάται η εφαρμογή μιας εξίσωσης για φυσικά φαινόμενα ή εμπειρικές εξισώσεις (Andrade-Eiroa A. et al., 2000), αν και πρόσφατα οι ερευνητές βασίζονται σε πιο απλές διορθώσεις (π.χ. χρήση δεδομένων UV/Vis απορρόφησης).

Συνοψίζοντας, απευθείας χρήση ΦΣΣ κάποιες φορές ξεπερνά το πρόβλημα του ποιοτικού διαχωρισμού (Patra D. et al., 2002), αλλά όχι πάντα, με τον ποσοτικό προσδιορισμό (Nevin A. et al., 2006) σπάνια να χρειάζεται:

- Διαδικασίες προεκχύλισης
- Διορθώσεις εσωτερικού φίλτρου
- Εφαρμογή εξελιγμένης μεθοδολογίας πολυμεταβλητών ή ακόμα
- Συνδυασμό διαδικασιών καθαρισμού και μεθοδολογίας πολυμεταβλητών.

2.2.2 Εφαρμογές της φθορισμομετρίας σύγχρονης σάρωσης

Το Σχήμα 4 απεικονίζει συνοπτικά τις εφαρμογές της ΦΣΣ ως αναλυτικό εργαλείο, εστιάζοντας κυρίως σε πρόσφατες καινοτόμες προόδους σε αυτό το πεδίο της έρευνας. Φαίνονται οι αναλυτικές εφαρμογές διαφορετικών μεθοδολογιών της ΦΣΣ-σταθερού μήκους κύματος και σταθερής ενέργειας. Υπάρχουν περισσότερες από 200 αναφορές στις τελευταίες εξελίξεις σε αυτή την τεχνική.

Επιγραμματικά αναφέρονται (Andrade- Eiroa Á. et al., 2010):

Περιβαλλοντικά δείγματα

- ✓ *Υδατα*
 - Οργανικοί ρυπαντές (πχ πολυαρωματικοί υδρογονάνθρακες- PolyAromatic Hydrocarbons, PAHs ή εντομοκτόνα)
 - Χουμικά και φουλβικά οξέα
 - Χαρακτηριστικά υδατικών αποβλήτων και φυσικές παράμετροι υδάτων
 - Έλεγχο και παρακολούθηση ρυπαντών σε νερό διαμέσου της τοξικής επίδρασης σε άλγη
- ✓ *Εδάφη*
- ✓ *Αέρια και ατμοσφαιρικά σωματίδια*

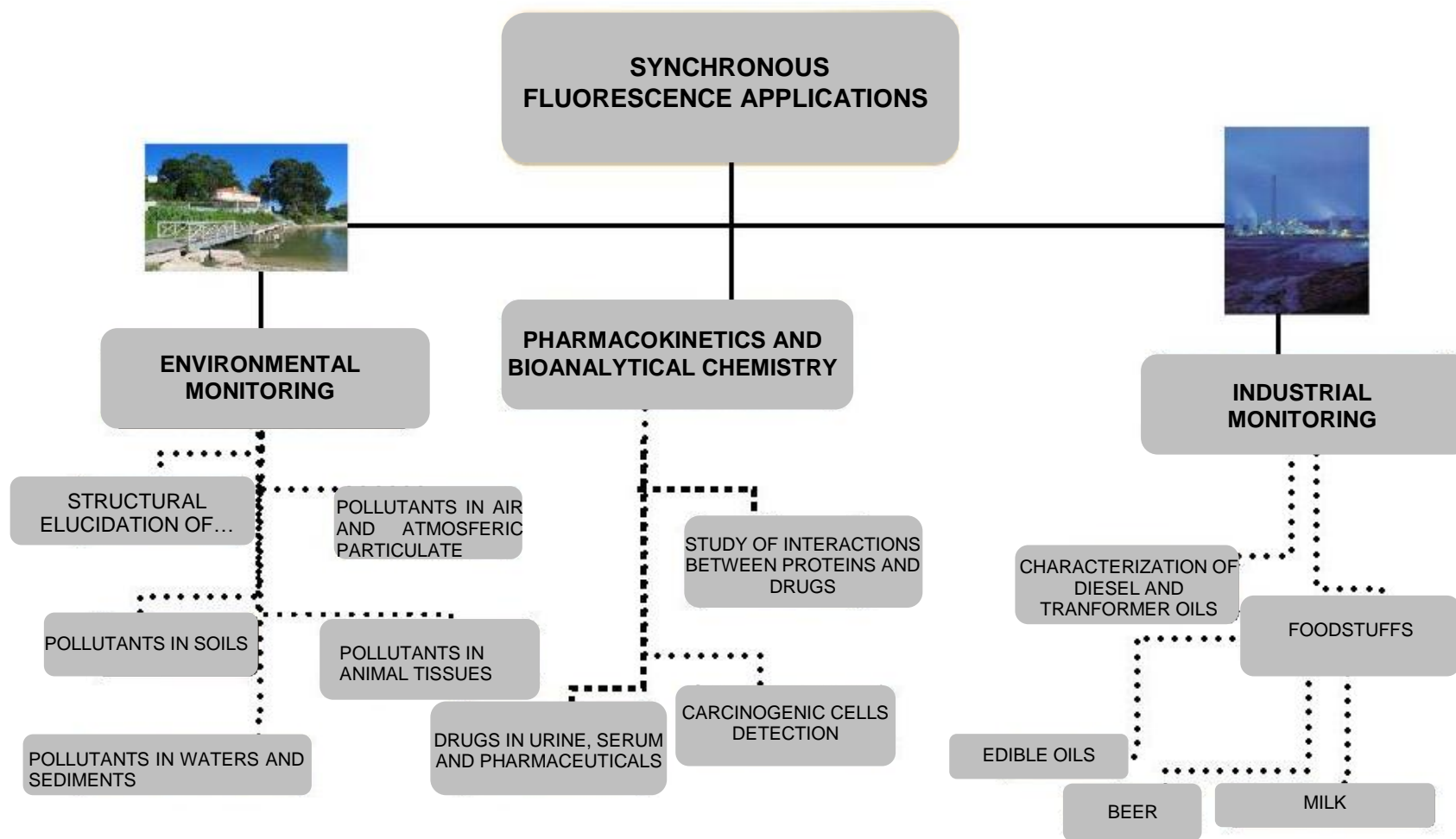
Βιολογικά και φαρμακευτικά δείγματα

- ✓ *Ούρα*
 - Για προσδιορισμό φαρμάκων
 - Για προσδιορισμό των μεταβολιτών των PAHs
- ✓ *Ορός*

- ✓ *Ολικό αίμα*
- ✓ *Κόπρανα*
- ✓ *Ζωικός ιστός*
 - Για προσδιορισμό ενζυμικών δράσεων
 - Για προσδιορισμό τοξικών και/ή χημικών ουσιών
- ✓ *Ρυπαντές σε φυτικά φύλλα*
- ✓ *Άλγη*
- ✓ *Φαρμακευτικά προϊόντα*

Δείγματα τροφίμων και προϊόντων πετρελαίου

- ✓ *Τρόφιμα*
 - Φρούτα και λαχανικά
 - Έλαια
- ✓ *Παράγωγα πετρελαίου*
 - Πετρέλαια κίνησης.



Σχήμα 4. Εφαρμογές της φθορισμομετρίας σύγχρονης σάρωσης.

2.2.3 Οργανολογία

Χαρακτηριστικά τυπικού Φασματοφθορισμομέτρου

Το Σχήμα 5 δείχνει ένα σχηματικό διάγραμμα ενός φασματοφθορισμομέτρου γενικής χρήσης. Το όργανο αυτό διαθέτει μια λυχνία τόξου ξένου ως πηγή φωτός. Τέτοιες λάμπες είναι χρήσιμες λόγω της μεγάλης τους έντασης σε όλα τα μήκη κύματος που κυμαίνονται πάνω από τα 250 nm. Το απεικονιζόμενο όργανο είναι εξοπλισμένο με μονοχρωμάτορες για επιλογή των μηκών κύματος τόσο της διέγερσης όσο και της εκπομπής. Και οι δυο μονοχρωμάτορες μετακινούνται επιτρέποντας αυτόματη σάρωση μήκους κύματος. Ο φθορισμός ανιχνεύεται με φωτοπολλαπλασιαστή και ποσοτικοποιείται με κατάλληλες ηλεκτρονικές διατάξεις. Το αποτέλεσμα συνήθως παρουσιάζεται με μορφή γραφήματος και τυπικά αποθηκεύεται στο δίσκο του υπολογιστή.

Το Σχήμα 5 δείχνει επίσης τα εξαρτήματα της οπτικής μονάδας που περιβάλλει το θάλαμο τοποθέτησης του δείγματος. Μεταβλητά και σταθερά εξαρτήματα είναι απαραίτητα σε ένα φασματοφθορισμόμετρο. Διαφράγματα παρέχονται για να αποκόψουν την ακτινοβολία διέγερσης ή την ακτινοβολία εκπομπής. Ένας διαχωριστής δέσμης υπάρχει στη διαδρομή της ακτινοβολίας διέγερσης, ο οποίος κατευθύνει μέρος της ακτινοβολίας διέγερσης σε μια κυψελίδα αναφοράς που συνήθως περιέχει ένα σταθερό φθοροφόρο αναφοράς. Μεταβολές στην ένταση της λυχνίας τόξου μπορεί να διορθωθούν με διαίρεση της έντασης του δείγματος με εκείνη του φθοροφόρου αναφοράς.

Επιπλέον, πολωτές είναι παρόντες στις διαδρομές του φωτός διέγερσης και εκπομπής.

Άλλο ένα χαρακτηριστικό είναι η ικανότητα να τοποθετούνται οπτικά φίλτρα στις διαδρομές του φωτός διέγερσης και εκπομπής. Φίλτρα χρειάζονται ως προσθήκη σε έναν μονοχρωμάτορα για να απομακρύνονται τα ανεπιθύμητα μήκη κύματος στη δέσμη φωτός διέγερσης ή για να απομακρυνθεί το διαχεόμενο φως από την ακτινοβολία εκπομπής.

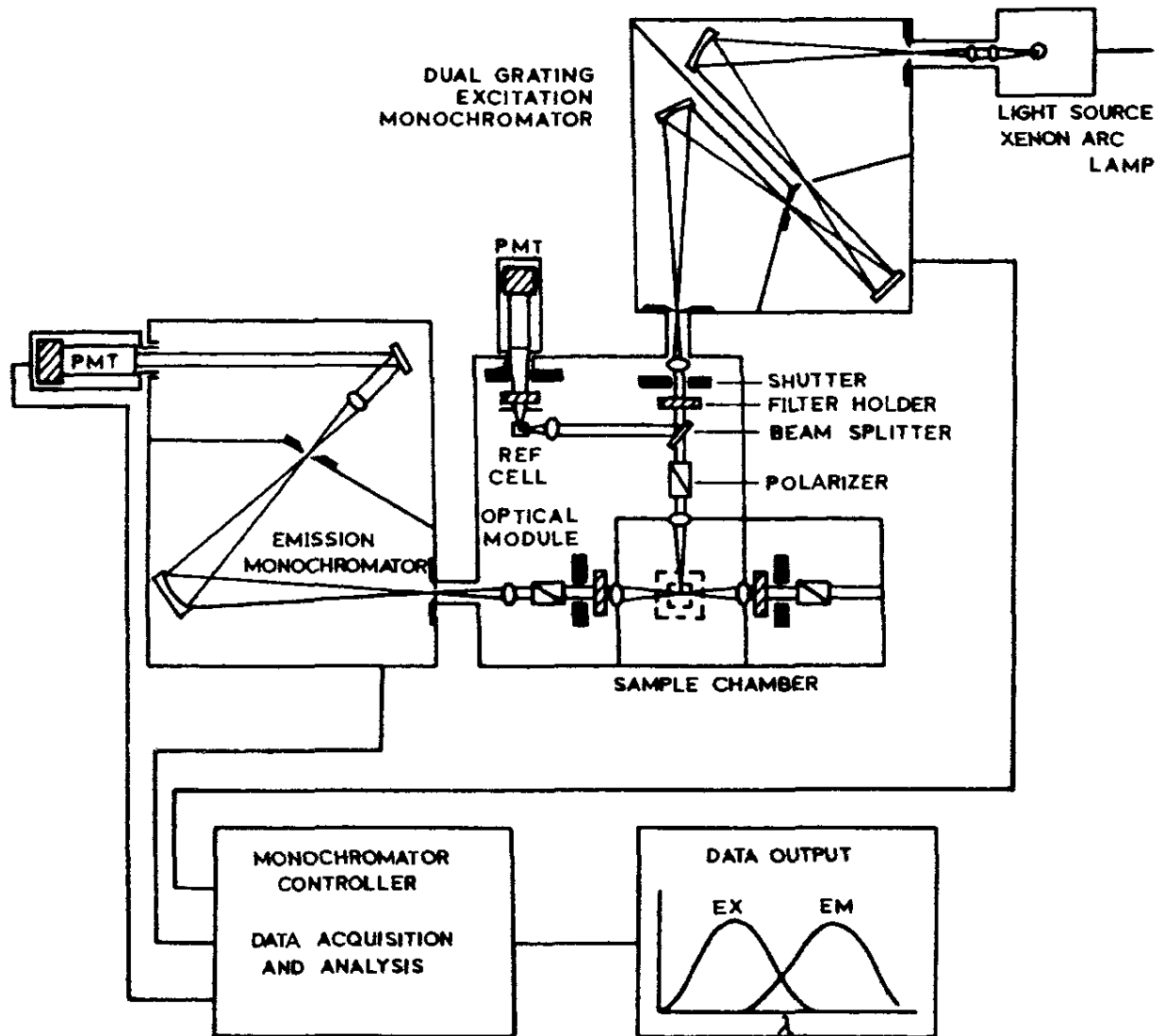
Είναι επιθυμητό να καταγράφονται φάσματα διέγερσης και εκπομπής που αντιπροσωπεύουν τη σχετική ένταση φωτονίου ανά μήκος κύματος. Για να λαμβάνονται τέτοια "διορθωμένα" φάσματα εκπομπής, τα επιμέρους εξαρτήματα πρέπει να έχουν τα ακόλουθα χαρακτηριστικά:

- Η πηγή φωτός πρέπει να παράγει σταθερή απόδοση φωτονίων σε όλα τα μήκη κύματος
- Ο μονοχρωμάτορας πρέπει επιτρέπει τη διέλευση φωτονίων όλων των μηκών κύματος με ίδια απόδοση
- Η απόδοση του μονοχρωμάτορα πρέπει να είναι ανεξάρτητη της πόλωσης

- Ο ανιχνευτής (φωτοπολλαπλασιαστής) πρέπει να ανιχνεύει φωτόνια όλων των μηκών κύματος με ίδια απόδοση.

Τα παραπάνω χαρακτηριστικά για ένα ιδανικό φασματοφθορισμόμετρο δεν είναι υπαρκτά. Έτσι, αναγκαστικά γίνεται συμβιβασμός για την επιλογή των εξαρτημάτων και διόρθωση της μη ιδανικής απόκρισης του οργάνου.

Ένα φασματοφωτόμετρο απορρόφησης περιέχει τα ίδια εξαρτήματα, οπότε προκύπτει το ερώτημα γιατί είναι δυνατό να καταγράφονται σωστά φάσματα απορρόφησης χωρίς ιδιαίτερες διατάξεις διόρθωσης. Κατά την καταγραφή φάσματος απορρόφησης, μετράται η ένταση φωτός που διαβιβάζεται από το δείγμα, σε σχέση αυτού που διαβιβάζεται από το τυφλό. Αυτές οι συγκριτικές μετρήσεις πραγματοποιούνται με τα ίδια εξαρτήματα, στα ίδια μήκη κύματος. Με τον τρόπο αυτό, η μη ιδανική συμπεριφορά των εξαρτημάτων ακυρώνεται στις συγκριτικές μετρήσεις. Σε αντίθεση με τις μετρήσεις απορρόφησης, οι μετρήσεις έντασης φθορισμού είναι απόλυτες, όχι σχετικές. Αυτό σημαίνει ότι σύγκριση του δείγματος φθορισμού με ένα τυφλό δεν είναι χρήσιμο διότι το τυφλό καταρχήν δεν παρουσιάζει σήμα. Επιπλέον το αδύναμο σήμα του υποβάθρου έχει μια άγνωστη φασματική κατανομή και έτσι δε μπορεί να χρησιμοποιηθεί για διόρθωση της εξάρτησης του μήκους κύματος από τα οπτικά εξαρτήματα. Ως εκ τούτου, η ευκαιρία για εσωτερική διόρθωση είναι περιορισμένη (Lakowicz J.R., 1999).



Σχήμα 5. Σχηματικό διάγραμμα ενός φασματοφθορισμομέτρου. PMT, (PhotoMultiplier Tube), φωτοπολλαπλασιαστής (Lakowicz J.R., 1999).

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3

3.1 Πολυπαραμετρικές Στατιστικές Μέθοδοι

3.1.1 Βαθμονόμηση πολυμεταβλητών στην αναλυτική χημεία

Η βαθμονόμηση πολυμεταβλητών αποτελεί ιστορικά τον κύριο θεμέλιο λίθο της χημειομετρίας όπως εφαρμόζεται στην αναλυτική χημεία. Κάποιες σκανδιναβικές και βορειοαμερικανικές ομάδες έχουν στηρίξει αρκετή από την εξέλιξή τους κυρίως σε εφαρμογές του αλγορίθμου των μερικών ελαχίστων τετραγώνων (Partial Least Squares, PLS). Συγκεκριμένα στη Σκανδιναβία χρησιμοποιείται η μέθοδος PLS σχεδόν για όλα τα προβλήματα παλινδρόμησης, ενώ σχετικές μέθοδοι όπως η πολλαπλή γραμμική παλινδρόμηση (Multiple Linear Regression, MLR) χρησιμοποιούνται πιο ευρέως από τους στατιστικούς.

Αν και η μέθοδος PLS αρχικά αναπτύχθηκε στο πεδίο των οικονομικών, οι περισσότεροι διακεκριμένοι συνήγοροί της είναι χημικοί. Στην αγορά υπάρχουν εμπορικά πακέτα που εκτελούν PLS βαθμονόμηση και καταλήγουν σε μια ποικιλία διαγνωστικών στατιστικών. Αξίζει να σημειωθεί πως η κύρια ιστορική (και οικονομική) κινητήρια δύναμη ήταν η φασματοσκοπία εγγύς υπερύθρου (near infrared spectroscopy, NIR) αρχικά στη βιομηχανία τροφίμων και στην αναλυτική χημεία που χρησιμοποιείται για παρακολούθηση βιομηχανικών διαδικασιών. Σε πολλούς στατιστικούς κύκλους η NIR και χημειομετρικές μέθοδοι είναι σχεδόν άρρηκτα δεμένες. Ωστόσο, άλλες πιο μοντέρνες τεχνικές εμφανίζονται ακόμα στην ανάλυση διαδικασιών οπότε δεν είναι σίγουρο πως η επένδυση στη χρήση PLS και NIR θα είναι τόσο προνομιούχα στο μέλλον. Ανεξάρτητα από αυτό, οι χημειομετρικές προσεγγίσεις στη βαθμονόμηση έχουν πολύ ευρεία δυναμική εφαρμογή σε όλα τα πεδία της ποσοτικής αναλυτικής χημείας.

Υπάρχουν πολλές περιπτώσεις στις οποίες οι μέθοδοι βαθμονόμησης πολυμεταβλητών είναι κατάλληλες. Η δυσκολία είναι ότι για να αναπτυχθεί μια πολύ “δυνατή” σειρά δεδομένων για μια ιδιαίτερη κατάσταση απαιτείται μεγάλη επένδυση πόρων και χρόνου, έτσι οι εφαρμογές της βαθμονόμησης πολυμεταβλητών σε ορισμένα πεδία έρευνας έχουν χρησιμοποιηθεί λιγότερο από ότι σε άλλα.

Υπάρχουν πολυάριθμα λογισμικά πακέτα διαθέσιμα όπως τα Pirouette, Unscrambler, SIMCA και Matlab Toolkit, αναλόγως της εμπειρίας του χρήστη. Ωστόσο, πολλά από αυτά τα πακέτα περιέχουν ένα μεγάλο αριθμό στατιστικών που ίσως να μην είναι απαραίτητα σχετικών με ένα συγκεκριμένο πρόβλημα και μερικές φορές ωθούν το χρήστη σε ένα συγκεκριμένο τρόπο σκέψης. Για τους περισσότερους βασισμένους στον υπολογιστή

στατιστικολόγους, χρησιμοποιώντας το Matlab για την ανάπτυξη εφαρμογών επιτρέπει μεγαλύτερο βαθμό ευελιξίας. Είναι σημαντικό να τονιστεί ότι οι βασικοί αλγόριθμοι για βαθμονόμηση πολυμεταβλητών είναι στην πραγματικότητα πολύ απλοί και μπορούν εύκολα να εφαρμοστούν στα περισσότερα περιβάλλοντα, όπως τα Excel, Visual Basic ή C.

Μέθοδος μερικών ελαχίστων τετραγώνων (Partial Least Squares, PLS)

Η PLS συχνά θεωρείται ως η κύρια τεχνική παλινδρόμησης για δεδομένα πολλών μεταβλητών. Στη φασματοσκοπία και τη χρωματογραφία συνήθως αναμένεται γραμμική προσθετικότητα και αυτή είναι ειδικά η κατάσταση στην αναλυτική χημεία (βαθμονόμηση). Ωστόσο, η PLS μπορεί να είναι ένα χρήσιμο εργαλείο όταν υπάρχει μερική γνώση των δεδομένων. Αντίθετα με την MLR, δεν απαιτεί ένα ακριβές μοντέλο για όλα τα συστατικά στα δεδομένα. Τα μοντέλα PLS μπορούν να είναι πολύ δυνατά με την προϋπόθεση ότι μελλοντικά δείγματα περιέχουν παρόμοια χαρακτηριστικά με τα πρωτότυπα δεδομένα αλλά οι προβλέψεις είναι απαραίτητα στατιστικές.

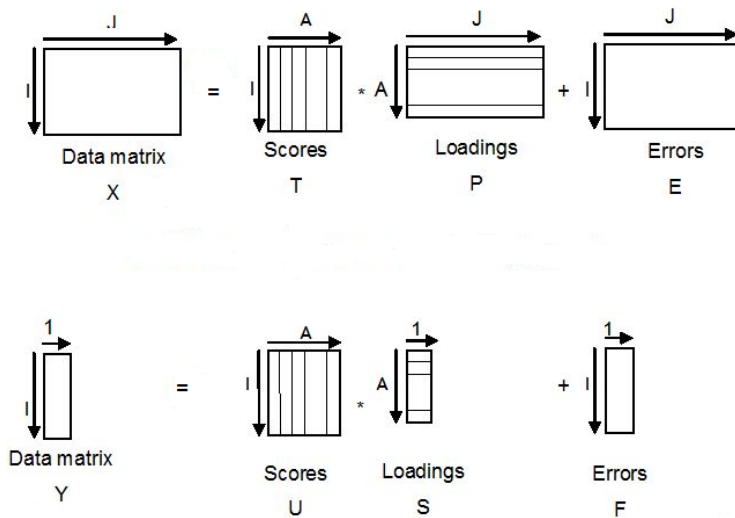
Μια σημαντική πρακτική άποψη της PLS είναι ότι λαμβάνει υπόψη σφάλματα τόσο στις εκτιμήσεις συγκέντρωσης όσο και στα φάσματα. Άλλες μέθοδοι, όπως η PCR (Principal Components Regression) θεωρούν ότι οι εκτιμήσεις συγκέντρωσης είναι απαλλαγμένες σφαλμάτων. Πολλές όμως παραδοσιακές στατιστικές βασίζονται στην υπόθεση, ότι όλα τα σφάλματα είναι στις εξαρτημένες μεταβλητές (φάσματα). Στη χημεία υπάρχουν συχνά σημαντικά σφάλματα στην παρασκευή δειγμάτων, για παράδειγμα ακρίβεια ζυγίσεων και διαλύσεων και έτσι η ανεξάρτητη μεταβλητή (c), μέσα της επίσης εμπεριέχει σφάλματα. Με σύγχρονα φασματομέτρα αυτά είναι μερικές φορές μεγαλύτερα από ότι τα φασματοσκοπικά σφάλματα. Ένας τρόπος για να αντιμετωπιστεί αυτή η δυσκολία είναι να γίνει προσπάθεια να ελαχιστοποιηθεί το γινόμενο απόκλισης από το μέσο όρο (covariance) μεταξύ και των δυο τύπων μεταβλητών δηλαδή των x (φασματοσκοπική) και c (συγκέντρωση) μεταβλητών.

Στη μέθοδο αυτή, αντί να μοντελοποιούνται αποκλειστικά οι x μεταβλητές, λαμβάνονται δυο σετ μοντέλων της μορφής:

$$X = T \cdot P + E$$

$$C = T \cdot q + f$$

Όπου q είναι ανάλογο του ανύσματος φορτίων (loadings vector) αν και δεν είναι κανονικοποιημένο. Οι μήτρες αυτές απεικονίζονται στο Σχήμα 6. Έτσι, το προϊόν του T και P προσεγγίζει στα φασματικά δεδομένα και το προϊόν του T και q στις πραγματικές συγκεντρώσεις.



Σχήμα 6. Αρχές της μεθόδου PLS.

Ένα σημαντικό χαρακτηριστικό της PLS είναι ότι είναι πιθανό να ληφθούν συντεταγμένες (scores matrix) μήτρας που είναι κοινή και στις συγκεντρώσεις (c) και στις μετρήσεις (x). Το άθροισμα των τετραγώνων των συντεταγμένων (squares of the scores) του κάθε διαδοχικού συστατικού συχνά καλείται χαρακτηριστική ρίζα. Τέλος υπάρχει ένας αριθμός εναλλακτικών τρόπων παρουσίασης της παλινδρόμησης PLS στη βιβλιογραφία όλοι, στην πράξη, ισοδύναμοι (Brereton R.G, 2000).

ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4

4.1 Σκοπός μεταπτυχιακής διατριβής

Ο προσδιορισμός της αυθεντικότητας διατροφικών προϊόντων και η ανίχνευση νοθείας είναι προβλήματα αυξανόμενης σημασίας στη βιομηχανία τροφίμων. Αυτό είναι ιδιαίτερα ενδιαφέρον για τα προϊόντα υψηλής "προστιθέμενης αξίας", όπου οι πιθανές οικονομικές ανταμοιβές για υποκατάσταση με φθηνότερα συστατικά είναι υψηλές. Οι καταναλωτές δεν είναι ικανοί να ανιχνεύσουν αυτά τα φθηνά συστατικά στα τρόφιμα για τα οποία πληρώνουν μια υψηλή τιμή. Όπως προαναφέρθηκε, το έλαιο Argan χρησιμοποιείται εκτενώς στην παραδοσιακή ιατρική για τις κοσμητολογικές, βακτηριοκτόνες και μυκητοκτόνες ιδιότητές του και λαμβάνει αυξανόμενη προσοχή λόγω της φαρμακολογικής του δυναμικής, όπως η μείωση του καρδιαγγειακού κινδύνου και της παρουσίας αντικαρκινικών ουσιών. Είναι ένα σχετικά νέο διεθνές προϊόν το οποίο σήμερα εξάγεται μόνο από το Μαρόκο, ενώ διάφορες εταιρίες στην Ευρώπη και την Βόρεια Αμερική το διανέμουν στον υπόλοιπο κόσμο. Ωστόσο, μπορεί να υποτεθεί ότι η εξαγωγή ενός τέτοιου προϊόντος θα αυξηθεί στο κοντινό μέλλον λόγω των μοναδικών του ιδιοτήτων του.

Επιπρόσθετα, το έλαιο Argan παράγεται με χαμηλή απόδοση και η παρασκευή του είναι χρονοβόρα, γεγονός που το κάνουν ακριβό. Στην Ευρώπη η μέση τιμή του μπουκαλιού των 200 mL είναι περίπου 20 US\$, γεγονός που υποκινεί κάποιους να υποκαθιστούν μέρος του ελαίου Argan με φθηνότερα εδωδιμα έλαια (σογιέλαιο, ηλιέλαιο και άλλα έλαια δίχως οσμές). Συνεπώς, ο έλεγχος της ποιότητας του ελαίου Argan είναι ένα σημαντικό θέμα. Επιπλέον, λόγω της οικονομικής, κοινωνικής, και πολιτισμικής σημασίας του ελαίου Argan στο Μαρόκο, είναι σημαντικό να παρεμποδίζεται η απάτη-νοθεία με εγγύηση της προέλευσης και ποιότητάς του και ελέγχοντας πιθανές νοθείες (Oussama A. et al., 2012).

Οι περισσότερες από τις μεθόδους που χρησιμοποιούνται για την ανίχνευση νοθείας ελαίου βασίζονται σε υγρή και αέρια χρωματογραφία, μικροεκχύλιση στερεής φάσης, αέρια χρωματογραφία με ανιχνευτή ιονισμού φλόγας, φασματομετρία μαζών συνδυασμένη με ανάλυση κυρίων συνιστωσών, Raman, υπέρυθρο και φθορισμό. Ωστόσο, όλες αυτές οι μέθοδοι είναι χρονοβόρες και απαιτούν ειδικευμένους χειριστές. Πρόσφατα, βρέθηκε ότι η φθορισμομετρία σύγχρονης σάρωσης έχει δυνατότητα να διακρίνει το ελαιόλαδο από τα άλλα έλαια (Kunz M. et al., 2011, Poulli K. et al., 2007, Poulli K. et al., 2006).

Η χημική διαφοροποίηση μεταξύ του ελαίου Argan και των άλλων ελαίων είναι τέτοια που απαιτείται πολύ υψηλής ποιότητας φάσματα επιβάλλοντας δύσκολες πειραματικές απαιτήσεις ώστε να χρησιμοποιηθούν στη διάκριση του ελαίου Argan από τα υπόλοιπα έλαια.

Στην παρούσα μελέτη αναπτύχθηκε ένα επιτυχημένο μοντέλο διαφοροποίησης του ελαίου Argan και καθορίστηκε μια κατάλληλη μέθοδος που συνίσταται στην εφαρμογή φθορισμομετρίας σύγχρονης σάρωσης και τη βοήθεια πολυπαραμετρικών μεθόδων. Η μεθοδολογία αυτή ενδείκνυται για χρήση ακόμα και από μη εκπαιδευμένο χειριστή και χαρακτηρίζεται από αυξημένη ταχύτητα ανάλυσης.

4.2. Δείγματα/Αντιδραστήρια

4.2.1 Έλαια

Χρησιμοποιήθηκαν πέντε δείγματα ελαίου Argan. Η Olvea Vegetable Oils προσέφερε το έλαιο Argan που στα αποτελέσματα καλείται με το όνομα 1Arganoil. Το έλαιο αυτό συνοδεύτηκε με όλα τα απαραίτητα πιστοποιητικά και οι προδιαγραφές συμφωνούν με τον κανονισμό EC n° 1907/2006. Τα υπόλοιπα 4 δείγματα (2Arganoil, 3Arganoil, 4Arganoil, 5Arganoil) προήλθαν κατευθείαν από το Μαρόκο και συγκεκριμένα από τις περιοχές Agadir, Essaouira, Taroudant και Taroudant (Ouled Berhil) αντίστοιχα. Το αραβοσιτέλαιο αγοράστηκε από το ελεύθερο εμπόριο. Όλα τα έλαια φυλάσσονταν σε σκοτεινό μέρος μέχρι τη μέρα της ανάλυσης.

4.2.2 Διαλύτης

Ο οργανικός διαλύτης που χρησιμοποιήθηκε ήταν κανονικό εξάνιο αναλυτικού βαθμού καθαρότητας αγορασμένο από την εταιρεία Merck (Merck KGaA, Darmstadt, Germany).

4.3 Οργανολογία

Τα φάσματα φθορισμού σύγχρονης σάρωσης ελήφθησαν χρησιμοποιώντας το φασματοφθορισμόμετρο Jobin Yvon–Horiba Nanolog. Συνοπτικά, το όργανο έχει τα ακόλουθα χαρακτηριστικά:

- Πηγή ακτινοβολίας λυχνία τόξου ξένου 450W
- Μονοχρωμάτορα διέγερσης
- Θάλαμο δείγματος

- Ανιχνευτής φωτοπολλαπλασιαστής με τάση λειτουργίας 950 V.

Τα εξαρτήματα του φασματοφθορισμομέτρου (μονοχρωμάτορας, θάλαμος δείγματος, φασματόμετρο, βοηθητικά τμήματα) συνδέονται με έναν ελεγκτή (SpectrAcq controller) που διαδοχικά μεταφέρει πληροφορίες προς και από τον ηλεκτρονικό υπολογιστή.

Επιπλέον, τα φάσματα φθορισμού σύγχρονης σάρωσης ελήφθησαν με τη ταυτόχρονη σάρωση των δύο μονοχρωματόρων διατηρώντας το $\Delta\lambda$ σταθερό και μέτρηση στη περιοχή μήκους κύματος διέγερσης 300-800 nm. Το εύρος σχισμής των δύο μονοχρωματόρων ήταν 2 nm. Τα φάσματα ελήφθησαν στην περιοχή 300-800 nm ανά 1 nm με χρόνο ολοκλήρωσης 0,1 s. Η τρισδιάστατή τους μορφή έγινε με μέτρηση στην ίδια φασματική περιοχή σε $\Delta\lambda$ από 10 μέχρι 100 nm ανά 10 nm. Τα φάσματα που ελήφθησαν ήταν διορθωμένα ως προς τη λάμπα διέγερσης, την απόκριση του φωτοπολλαπλασιαστή και τις απώλειες των μονοχρωματόρων.

4.4 Παράμετροι λήψης φασμάτων

Χρησιμοποιήθηκε κυψελίδα οπτικής διαδρομής 10 mm. Η γεωμετρία των μετρήσεων ήταν μέτρηση της ακτινοβολίας φθορισμού σε γωνία 90° σε σχέση με την ακτινοβολία διέγερσης.

4.5 Λογισμικό

Τα φάσματα φθορισμού σύγχρονης σάρωσης καθώς και τα τρισδιάστατα φάσματα ΦΣΣ έγιναν με τη χρήση του λογισμικού Origin 8.0 (OriginLab, USA, 2002).

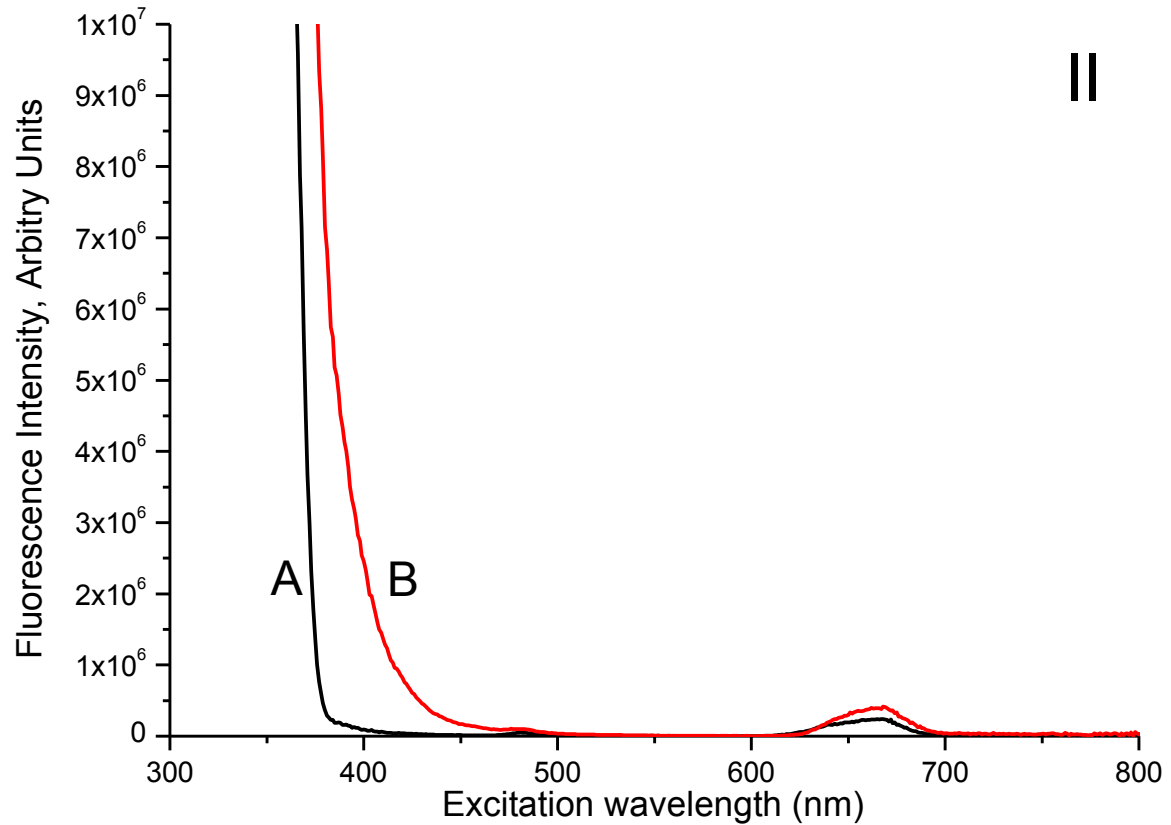
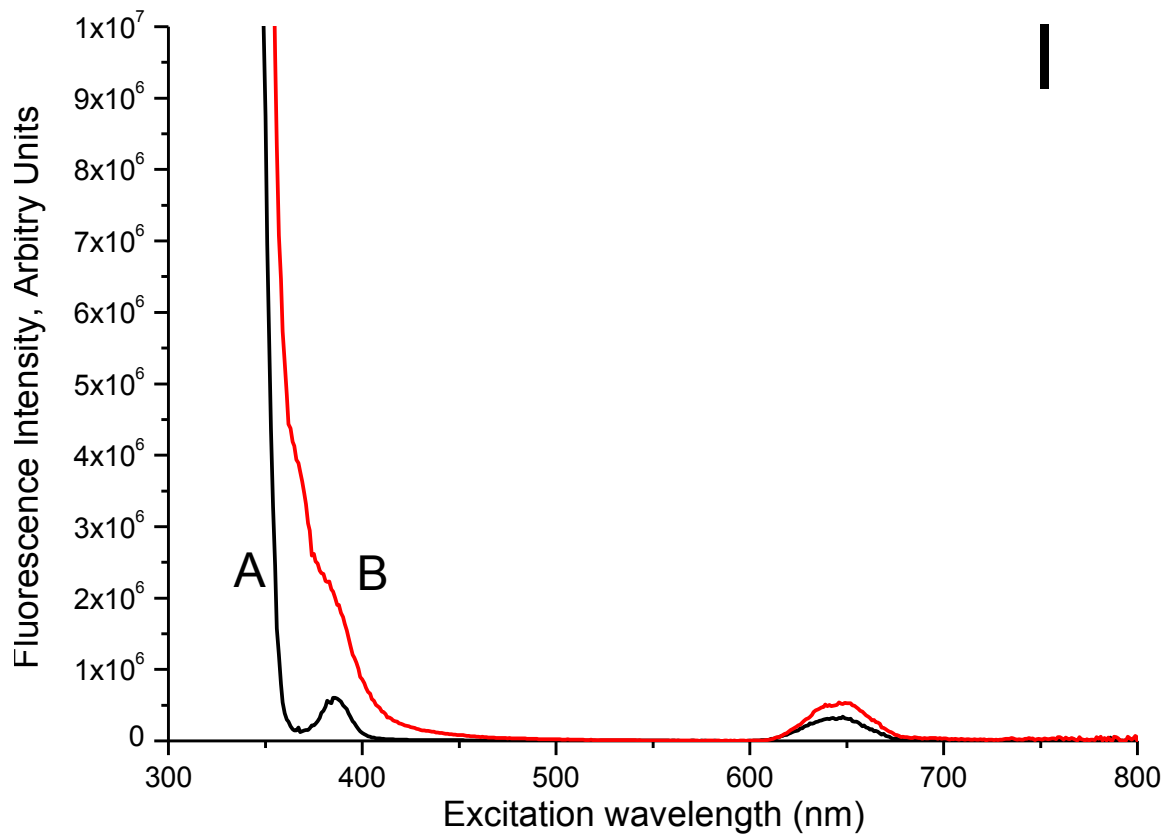
4.6 Στατιστική ανάλυση

Για το συσχετισμό των εντάσεων φθορισμού με τις πραγματικές συγκεντρώσεις νοθείας χρησιμοποιήθηκε η διαδικασία των μερικών ελαχίστων τετραγώνων (PLS). Η φασματική περιοχή που χρησιμοποιείται για την ανάλυση είναι 300-800 nm με χρήση $\Delta\lambda$ 10 έως 100 nm ώστε να μελετήσουμε πιθανή βελτίωση του ορίου ανίχνευσης με αλλαγή του $\Delta\lambda$.

4.7 Φάσματα φθορισμού σύγχρονης σάρωσης ελαίου Argan και αραβοσιτελαίου

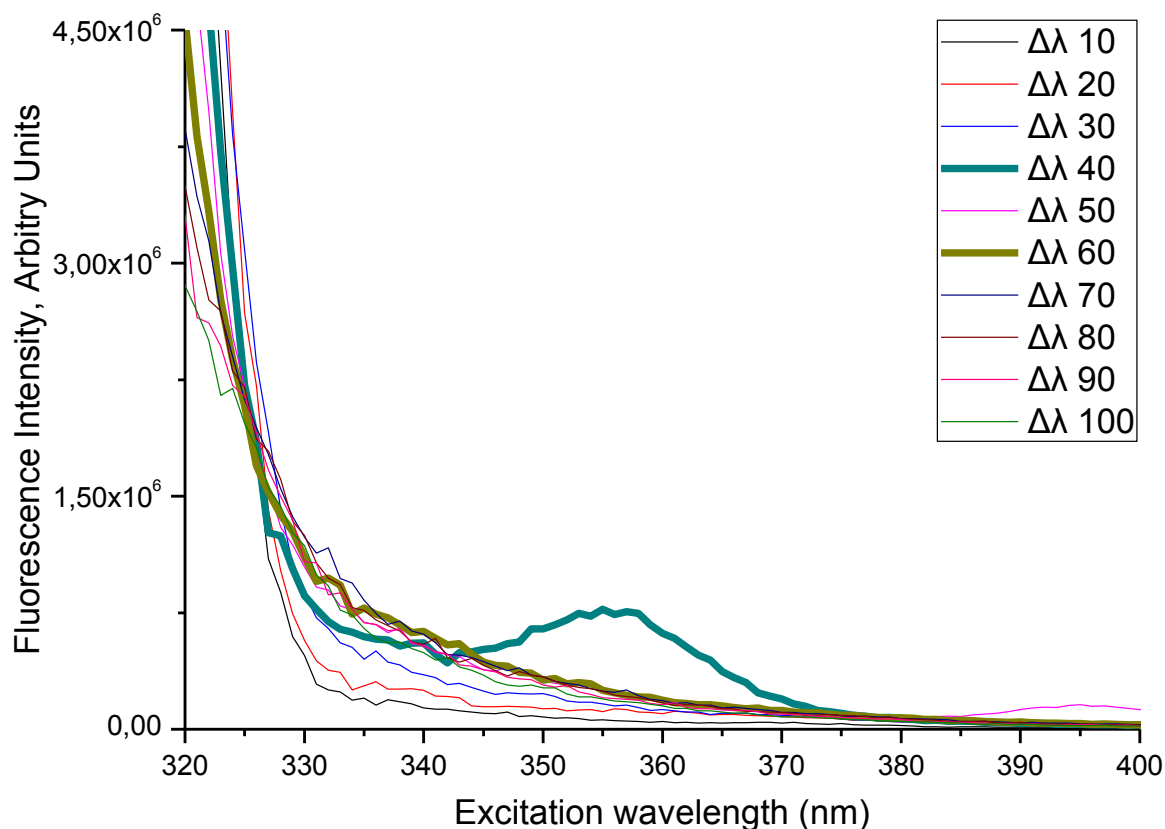
Αρχικά ελήφθησαν φάσματα απορρόφησης των καθαρών ελαίων ως έχουν. Οι απορροφήσεις των δειγμάτων ήταν πολύ μεγάλες γεγονός που αυξάνει τη βαρύτητα της αυτοαπορρόφησης στο φθορισμό. Για το λόγο αυτό παρασκευάστηκαν διαλύματα ελαίων σε συγκεντρώσεις 1,0 % w/v σε εξάνιο. Έχει ήδη μελετηθεί η επίδραση της έντασης του φθορισμού σύγχρονης σάρωσης συναρτήσει της συγκέντρωσης και έχει βρεθεί ότι υπάρχει γραμμική συσχέτιση μεταξύ των εντάσεων ΦΣΣ και συγκέντρωσης μέχρι 1,0 % w/v για τα περισσότερα έλαια, ενώ σε μεγαλύτερες συγκεντρώσεις υπάρχει αρνητική απόκλιση. Κατά συνέπεια, επιλέχθηκε η αραίωση των δειγμάτων στο 1,0 % w/v σε εξάνιο. Με την αραίωση αυτή πετυχαίνεται μείωση της απορρόφησης των διαλυμάτων κάτω από το 0,1 (Πουλλή Κ., 2009).

Τα φάσματα φθορισμού σύγχρονης σάρωσης του ελαίου Argan και του αραβοσιτελαίου σε Δλ 40 nm και σε Δλ 60 nm φαίνονται στο Σχήμα 7. Παρατηρείται ότι το έλαιο Argan δίνει, σε αντίθεση με το αραβοσιτέλαιο, μια κορυφή στα 387 nm, σε Δλ 40 nm. Η κορυφή αυτή πιθανώς μπορεί να ερμηνευτεί λαμβάνοντας υπόψη ένα από τα κύρια χαρακτηριστικά της φθορισμομετρίας σύγχρονης σάρωσης που είναι η απλοποίηση του φάσματος εκπομπής, σύμφωνα με το οποίο στις περιπτώσεις μιγμάτων, είναι δυνατό να αυξηθεί εκλεκτικά η κορυφή με την ισχυρότερη ένταση χρησιμοποιώντας το κατάλληλο Δλ. Επίσης η κορυφή χαμηλής έντασης που παρατηρείται στα φάσματα και των δύο ελαίων στα 660 nm αποδίδεται στη χλωροφύλλη που είναι παρούσα σε ελάχιστο ποσοστό τόσο στο αραβοσιτέλαιο όσο και στο έλαιο Argan.



Σχήμα 7. Φάσματα φθορισμού σύγχρονης σάρωσης σε $\Delta\lambda$ 40 nm (I) και $\Delta\lambda$ 60 nm (II) ελαίων αραιωμένων 1,0 % w/v σε κανονικό εξάνιο. Α. Έλαιο Argan, Β. Αραβοσιτέλαιο.

Στο Σχήμα 8 παρουσιάζονται τα φάσματα φθορισμού σύγχρονης σάρωσης του μίγματος του ελαίου Argan με αραβοσιτέλαιο σε συγκέντρωση 10 % w/w για τα διαφορετικά $\Delta\lambda$ που μελετήθηκαν. Επιλέχθηκε η συγκέντρωση των 10 % σε αραβοσιτέλαιο, καθώς σε υψηλές συγκεντρώσεις υπάρχουν σημαντικές διαφορές.

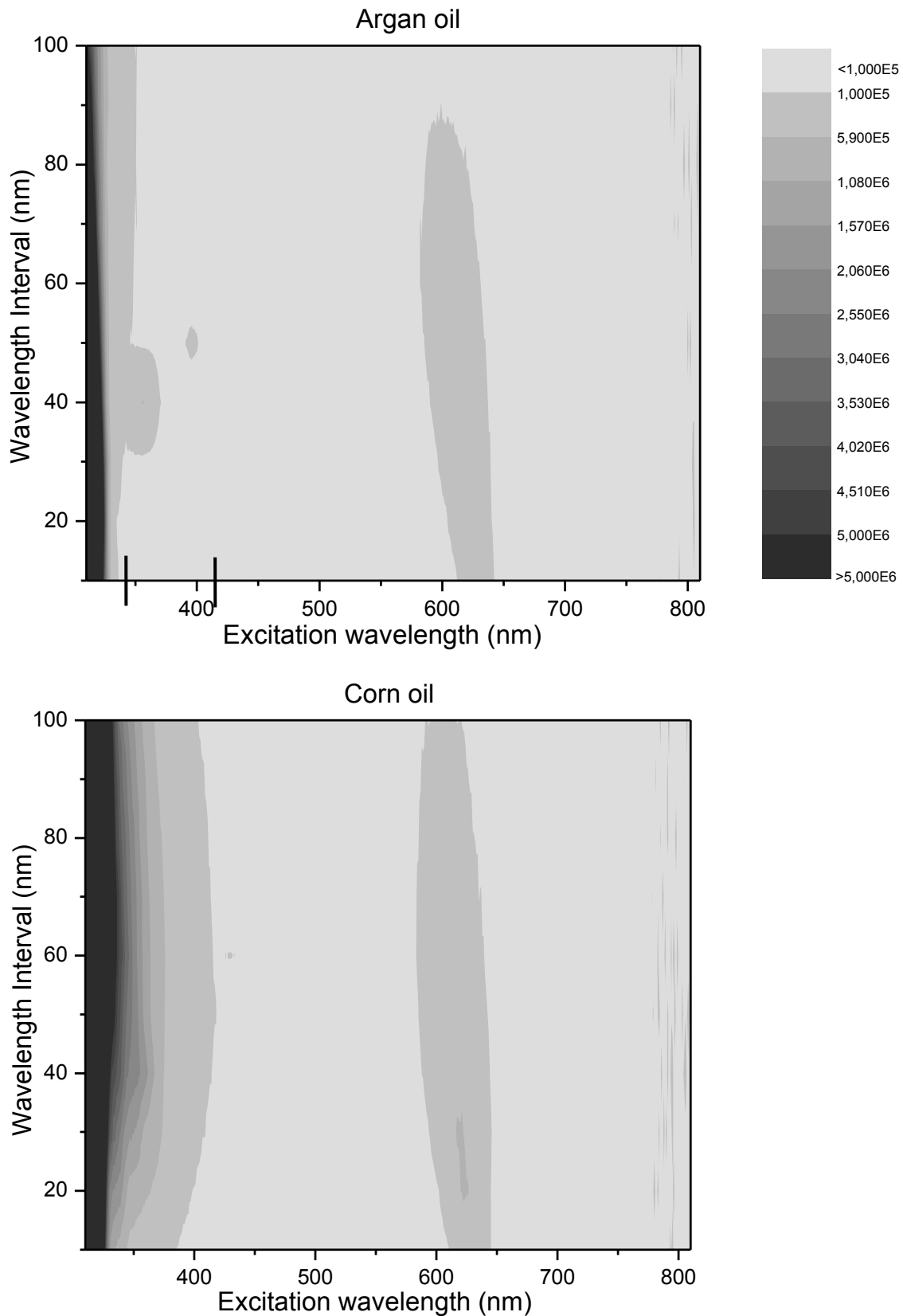


Σχήμα 8. Φάσματα φθορισμού σύγχρονης σάρωσης του ελαίου Argan νοθευμένο με αραβοσιτέλαιο σε συγκέντρωση 10 % w/w, αραιωμένου σε κανονικό εξάνιο (1,0 % w/v) για $\Delta\lambda$ από 10 έως 100 nm.

Από το πιο πάνω Σχήμα φαίνεται ότι οι υψηλότερες εντάσεις φθορισμού εμφανίζονται για $\Delta\lambda$ 40 nm και ακολούθως για $\Delta\lambda$ 60 nm, ενώ για όλα τα υπόλοιπα $\Delta\lambda$ παρατηρείται μικρότερος φθορισμός.

Τα τρισδιάστατα φάσματα ως ισοϋψείς καμπύλες των δύο ελαίων παρουσιάζονται στο Σχήμα 9.

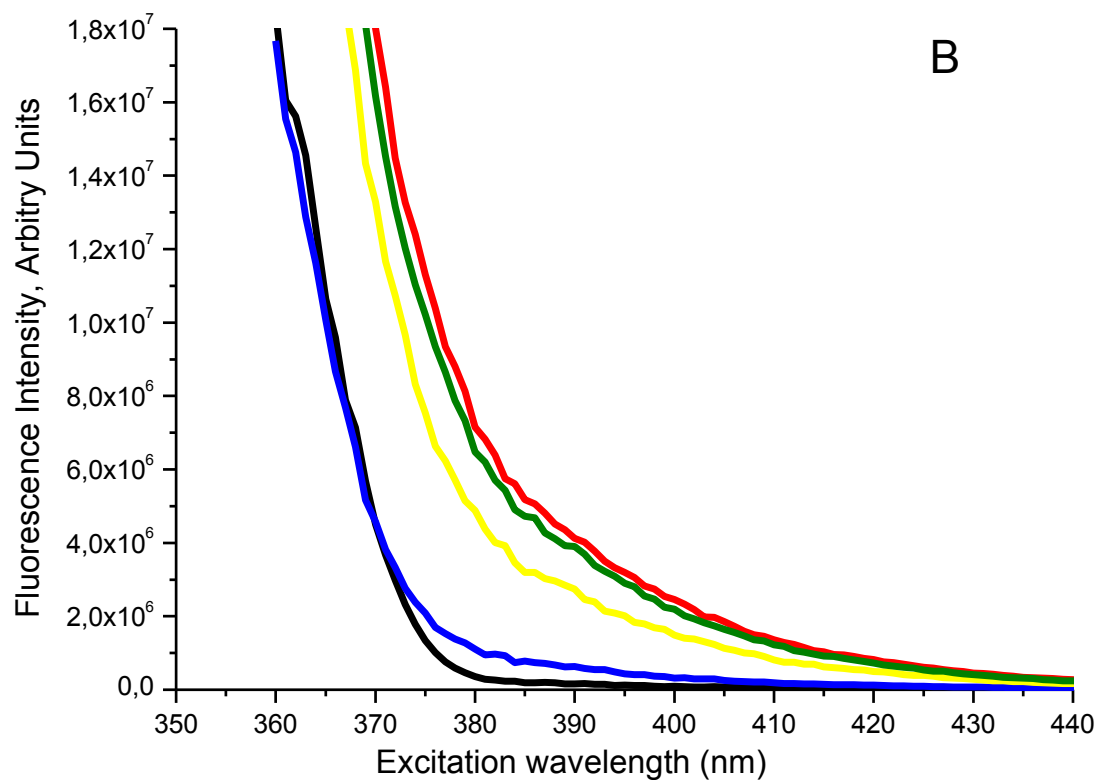
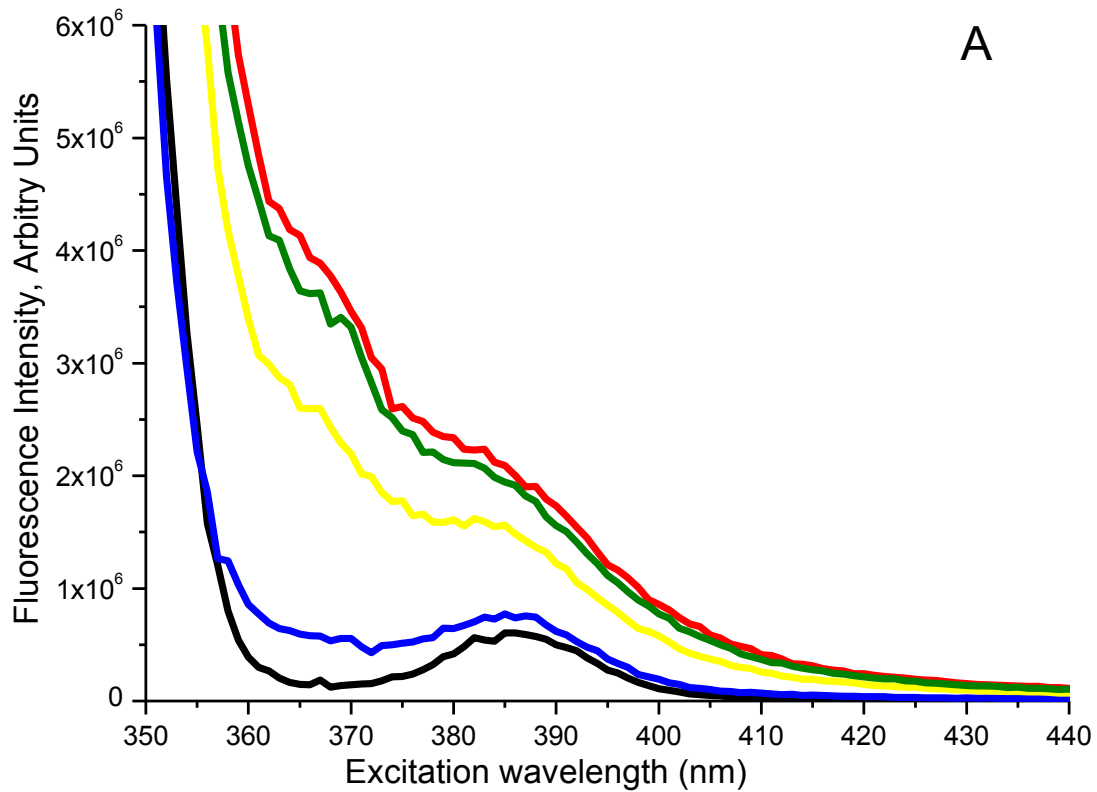
Όπως φαίνεται, το έλαιο Argan δίνει ταινία στην περιοχή μήκους κύματος διέγερσης 300-330 nm σε $\Delta\lambda$ 10-100 nm, ενώ τα φασματικά χαρακτηριστικά του αραβοσιτελαίου φαίνονται στην περιοχή 300-410 nm. Παρατηρείται επίσης πως τόσο το αραβοσιτέλαιο όσο και το έλαιο Argan εμφανίζουν έντονο φθορισμό στην περιοχή των 300-320 nm.



Σχήμα 9. Τρισδιάστατη απεικόνιση (contour plots) φασμάτων σύγχρονης σάρωσης του ελαίου Argan και του αραβοσιτελαίου. Οι χρωματισμοί είναι ενδεικτικοί της έντασης του φθορισμού (κάθε χρώμα αντιστοιχεί σε φθορισμό ίσης έντασης, όπως φαίνεται αναλυτικά στη δεξιά πλευρά της τρισδιάστατης απεικόνισης του ελαίου Argan).

Οι πληροφορίες που προκύπτουν από το παραπάνω Σχήμα αναδεικνύουν τη δυνατότητα των τρισδιάστατων φασμάτων φθορισμού σύγχρονης σάρωσης να διαφοροποιήσουν το έλαιο Argan από το αραβοσιτέλαιο. Το αραβοσιτέλαιο δίνει ταινία στην περιοχή διέγερσης 340-410 nm σε $\Delta\lambda$ 40 nm και $\Delta\lambda$ 60 nm σε αντίθεση με το έλαιο Argan, οπότε η διαφοροποίηση επιτυγχάνεται εύκολα χρησιμοποιώντας τη συγκεκριμένη περιοχή.

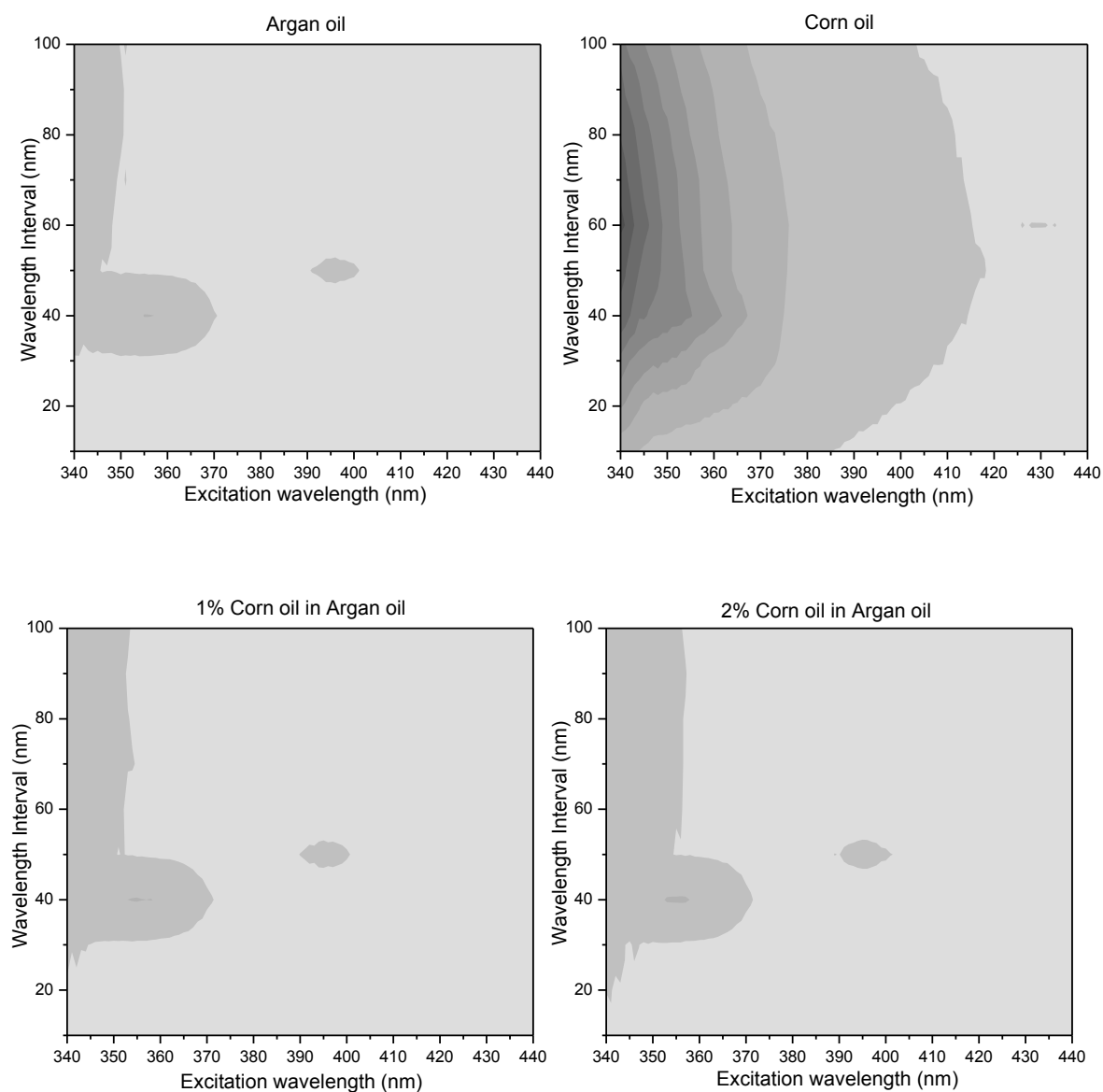
Στο Σχήμα 10 παρουσιάζεται η επίδραση της παρουσίας αραβοσιτελαίου στα φάσματα ΦΣΣ, του ελαίου Argan σε $\Delta\lambda$ 40 nm και σε $\Delta\lambda$ 60 nm. Η αύξηση της συγκέντρωσης του αραβοσιτελαίου (νοθευτή) στην περιοχή 350-440 nm έχει ως αποτέλεσμα την αύξηση της έντασης του φθορισμού.

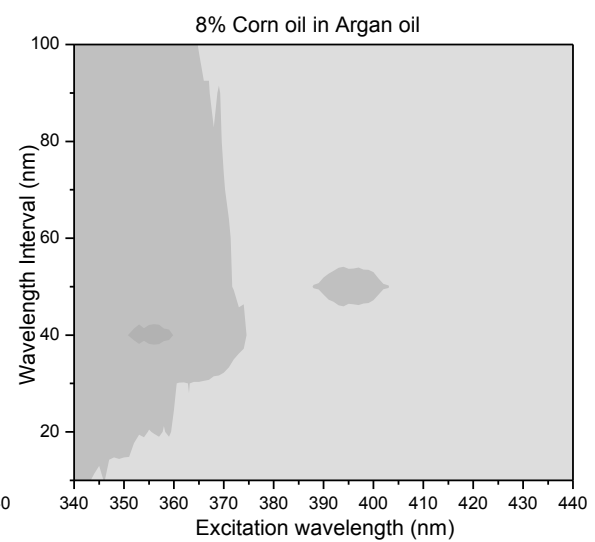
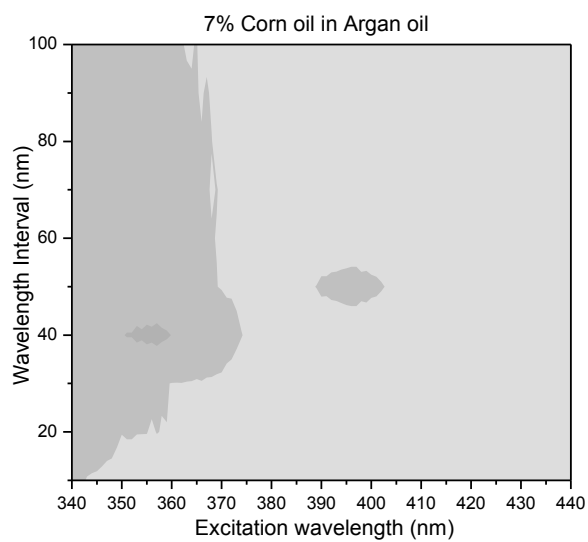
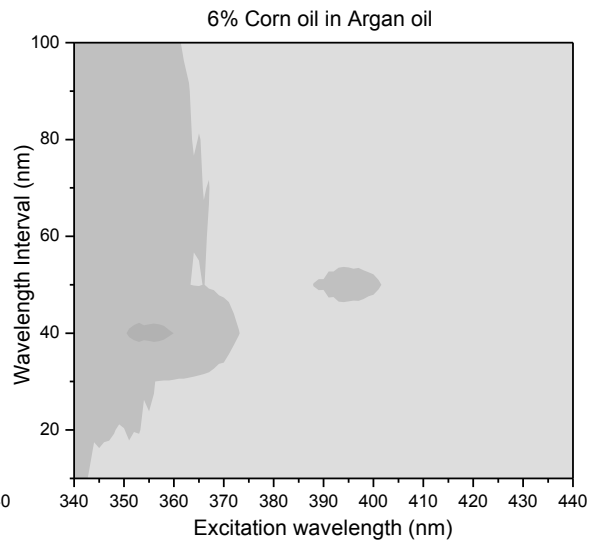
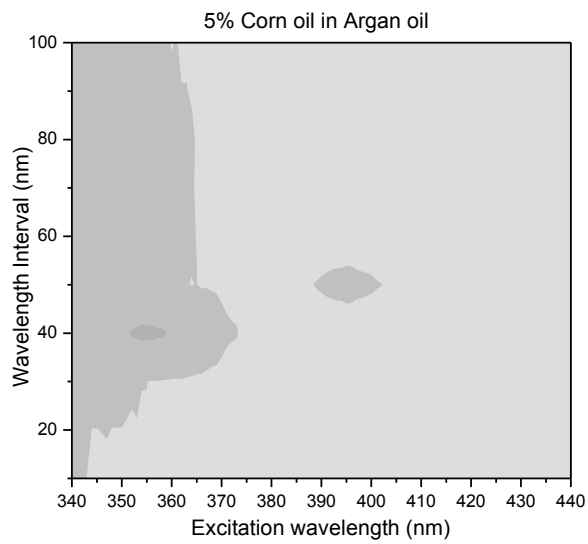
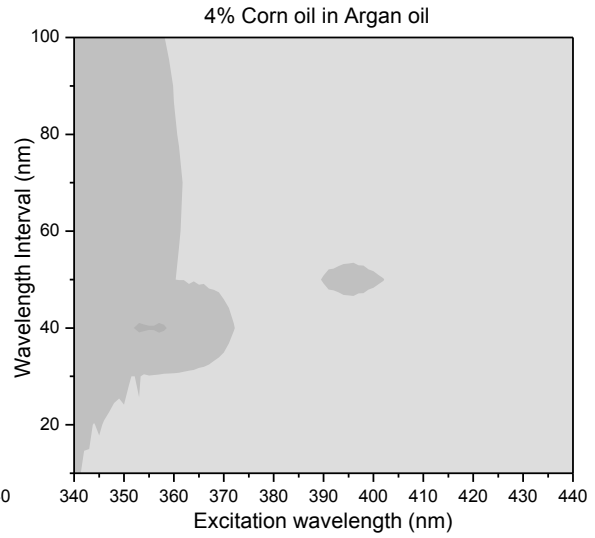
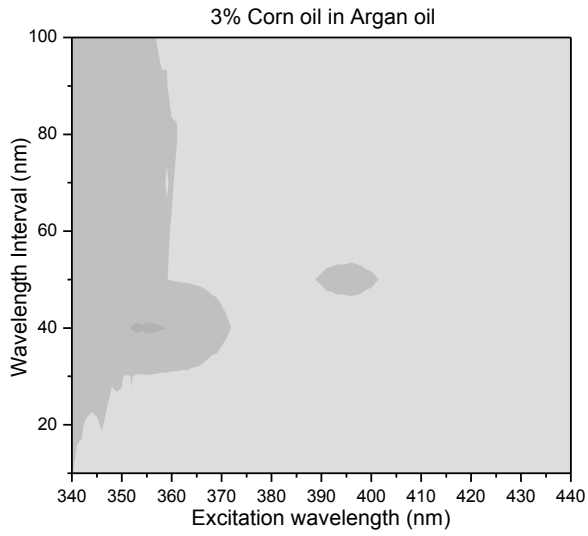


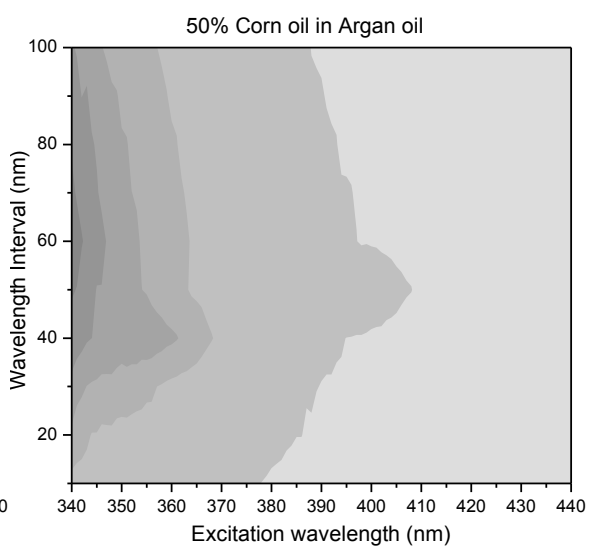
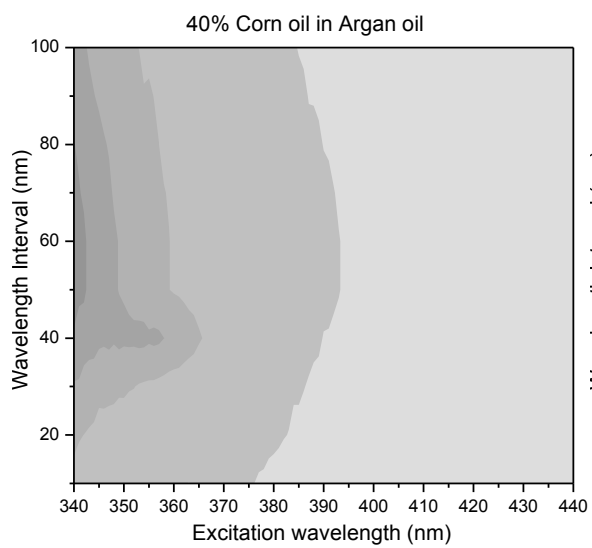
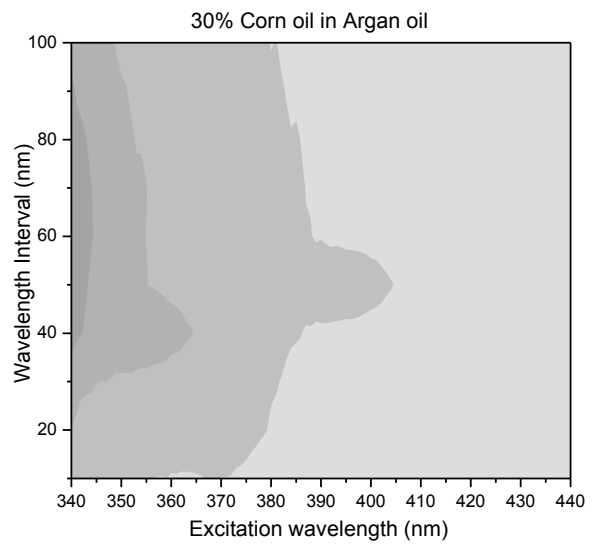
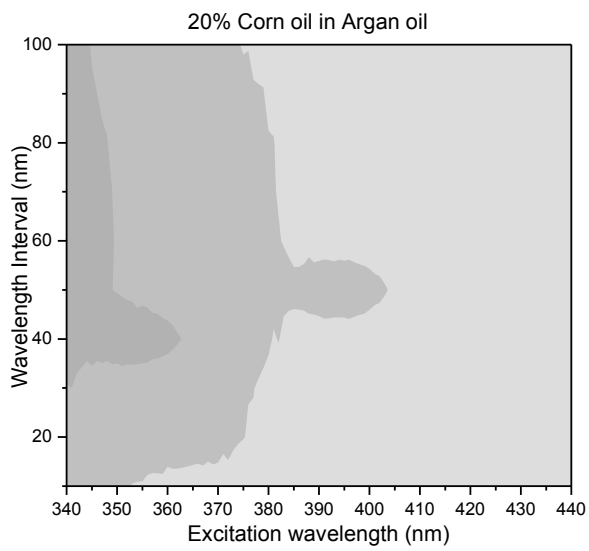
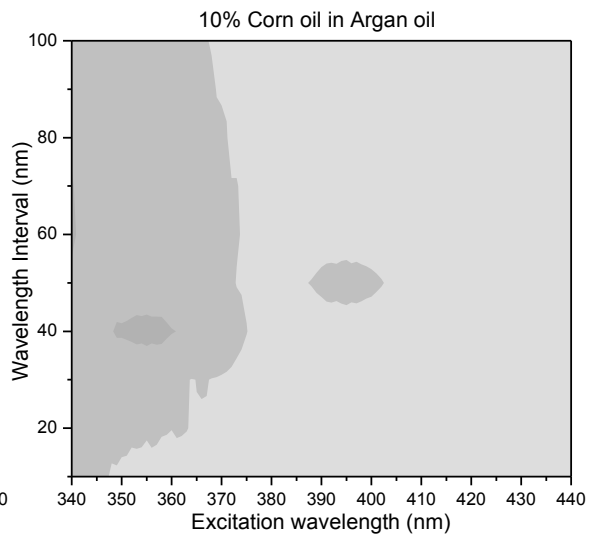
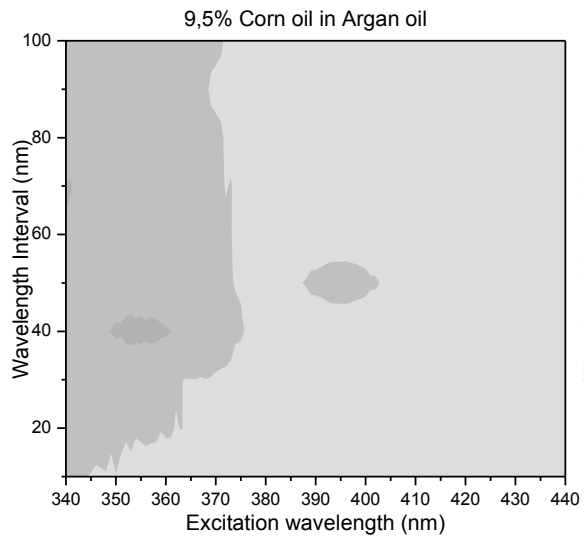
Σχήμα 10. Φάσματα φθορισμού σύγχρονης σάρωσης των ελαίων Argan (—) και αραβοσιτελαίου (—) καθώς και μιγμάτων του ελαίου Argan νοθευμένο με αραβοσιτέλαιο σε συγκεντρώσεις: 10 % (—), 60 % (—), 90 % (—) w/w, αραιωμένα σε κανονικό εξάνιο (1,0 % w/v) σε Δλ 40 nm (A) και Δλ 60 nm (B).

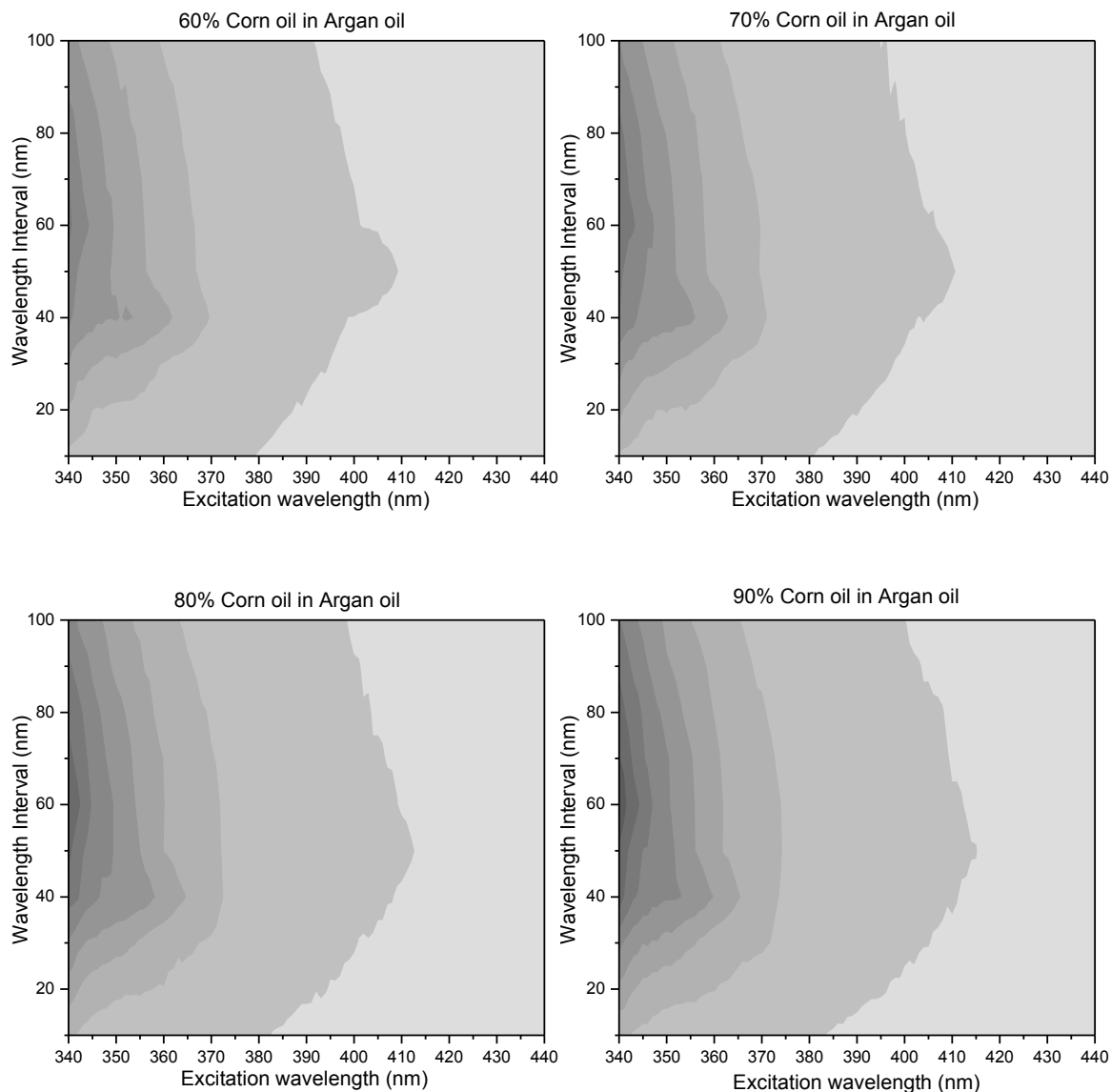
Τα ανωτέρω φαίνονται αναλυτικά στις τρισδιάστατες απεικονίσεις που παρουσιάζονται στο Σχήμα 11. Εδώ φαίνεται ξεκάθαρα ότι με αύξηση του ποσοστού του νοθευτή παρατηρείται αύξηση των σημάτων στην περιοχή 340-440 nm και ότι τα διάφορα ποσοστά νοθείας διαφοροποιούνται.

Στο Σχήμα 11 παρουσιάζονται οι τρισδιάστατες απεικονίσεις φασμάτων σύγχρονης σάρωσης του ελαίου Argan, του αραβοσιτελαίου και του ελαίου Argan νοθευμένου με διαφορετικές συγκεντρώσεις με αραβοσιτέλαιο.







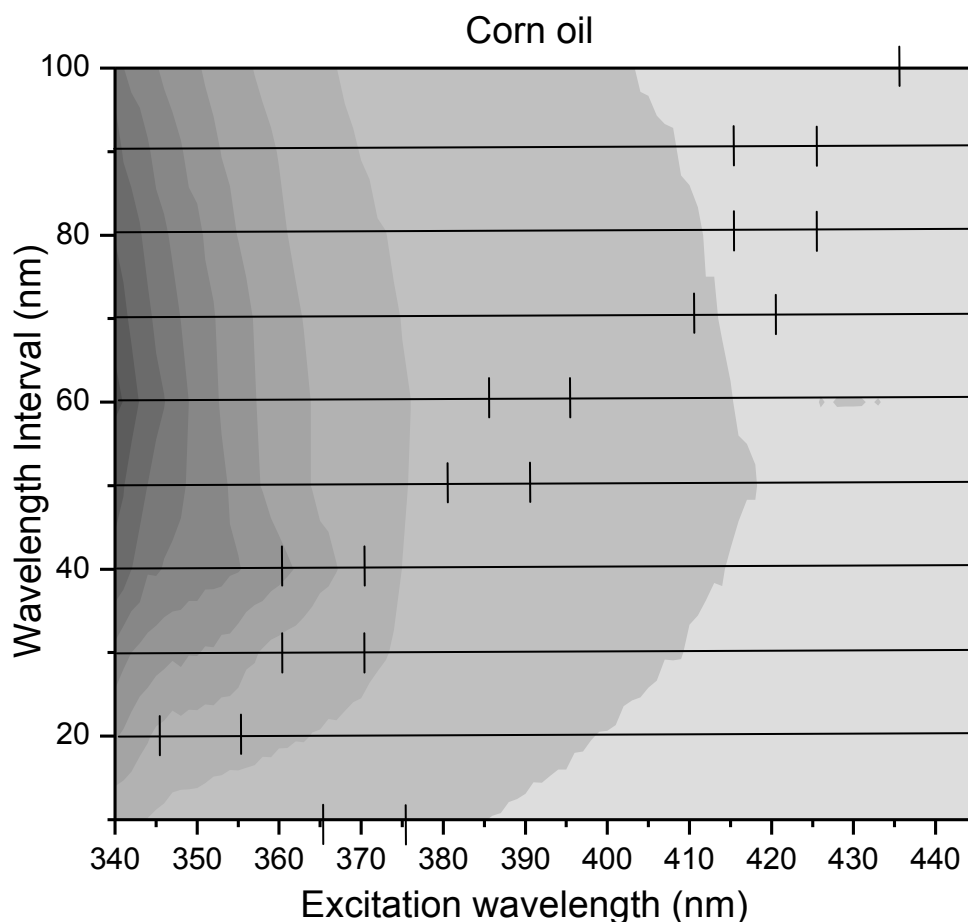


Σχήμα 11. Τρισδιάστατες απεικονίσεις (contour plots) φασμάτων σύγχρονης σάρωσης του ελαίου Argan και του αραβοσιτελαίου καθώς και διαφορετικών μιγμάτων των δύο ελαίων στην περιοχή των 340-440 nm. Οι χρωματισμοί είναι ενδεικτικοί της έντασης του φθορισμού (κάθε χρώμα αντιστοιχεί σε φθορισμό ίσης έντασης).

4.8 Ποσοτικός προσδιορισμός νοθείας ελαίου Argan

Παρασκευάστηκαν εκατόν πενήντα τρία μίγματα με νόθευση ελαίου Argan με αραβοσιτέλαιο συγκέντρωσης 0,5-95 % w/w, με έμφαση σε συγκεντρώσεις χαμηλότερες από 10 % w/w, χρησιμοποιώντας πέντε διαφορετικά έλαια Argan. Για τη μελέτη χρησιμοποιήθηκαν διαλύματα των δειγμάτων αυτών σε κανονικό εξάνιο 1,0 % w/v υψηλής αναλυτικής καθαρότητας. Τα δείγματα χρησιμοποιήθηκαν ως έχουν, χωρίς κάποια προκατεργασία.

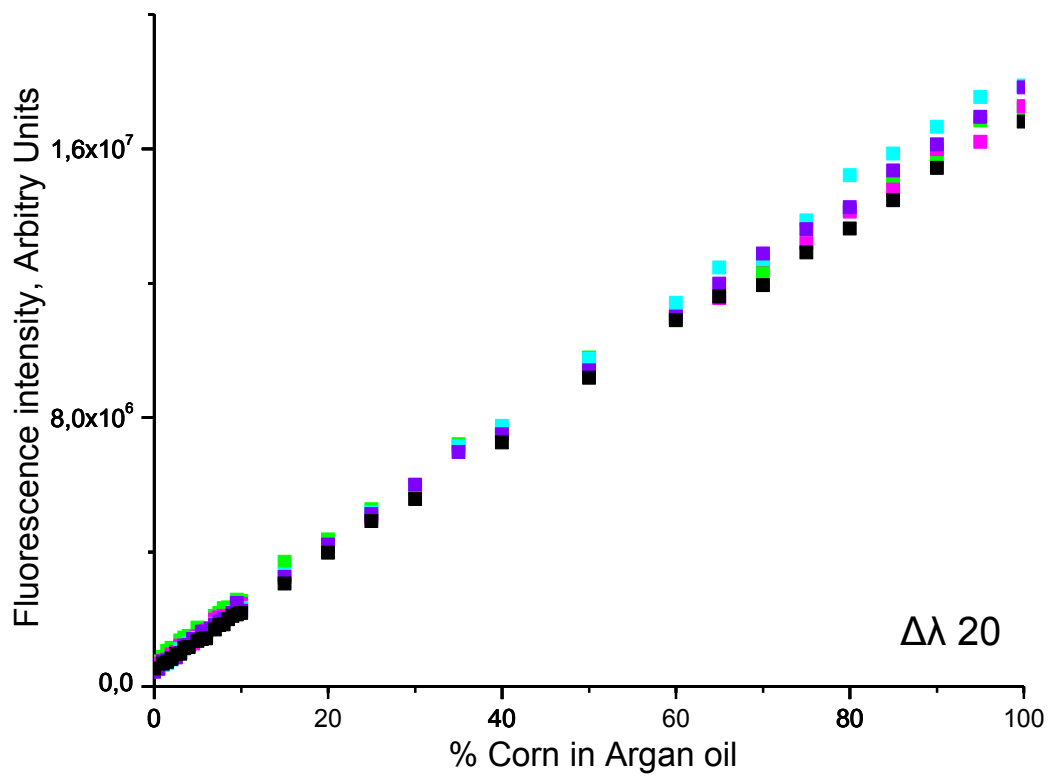
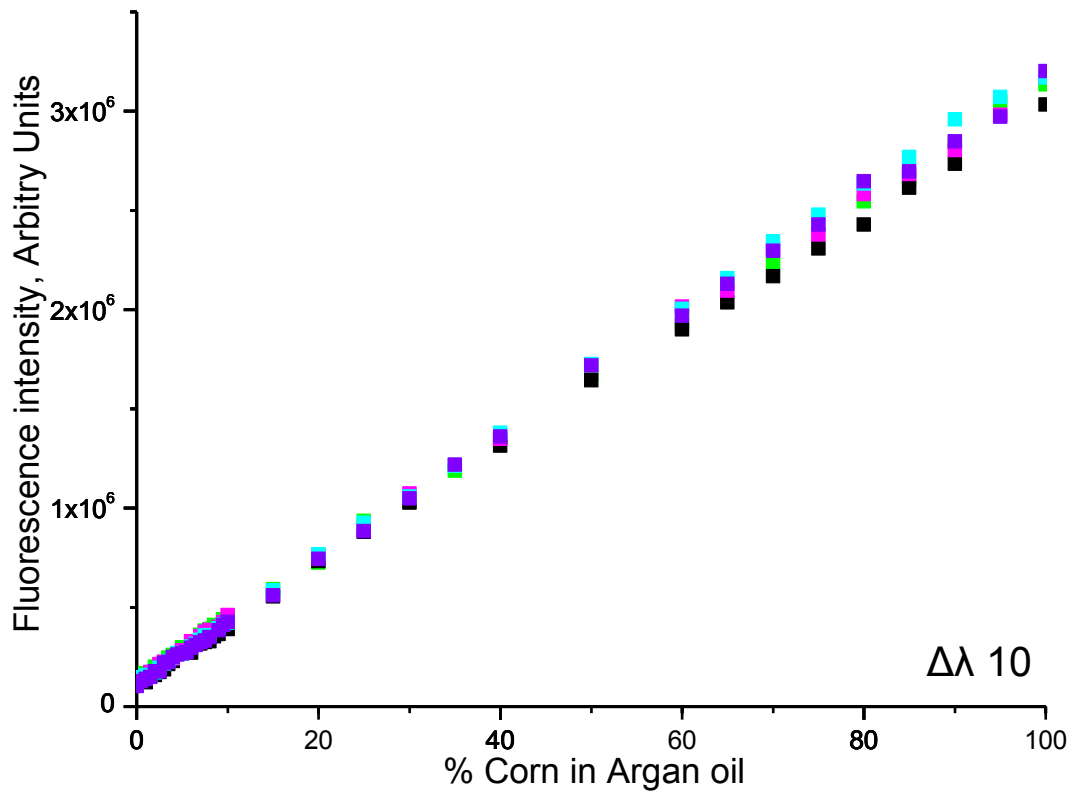
Στο Σχήμα 12 παρουσιάζεται η τρισδιάστατη απεικόνιση (contour plot) φασμάτων σύγχρονης σάρωσης του αραβοσιτελαίου στην οποία έχουν σημειωθεί οι περιοχές των μηκών κύματος στις οποίες παρατηρείται η βέλτιστη διαφοροποίηση των δύο ελαίων για όλα τα $\Delta\lambda$: 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90 και 100 nm.

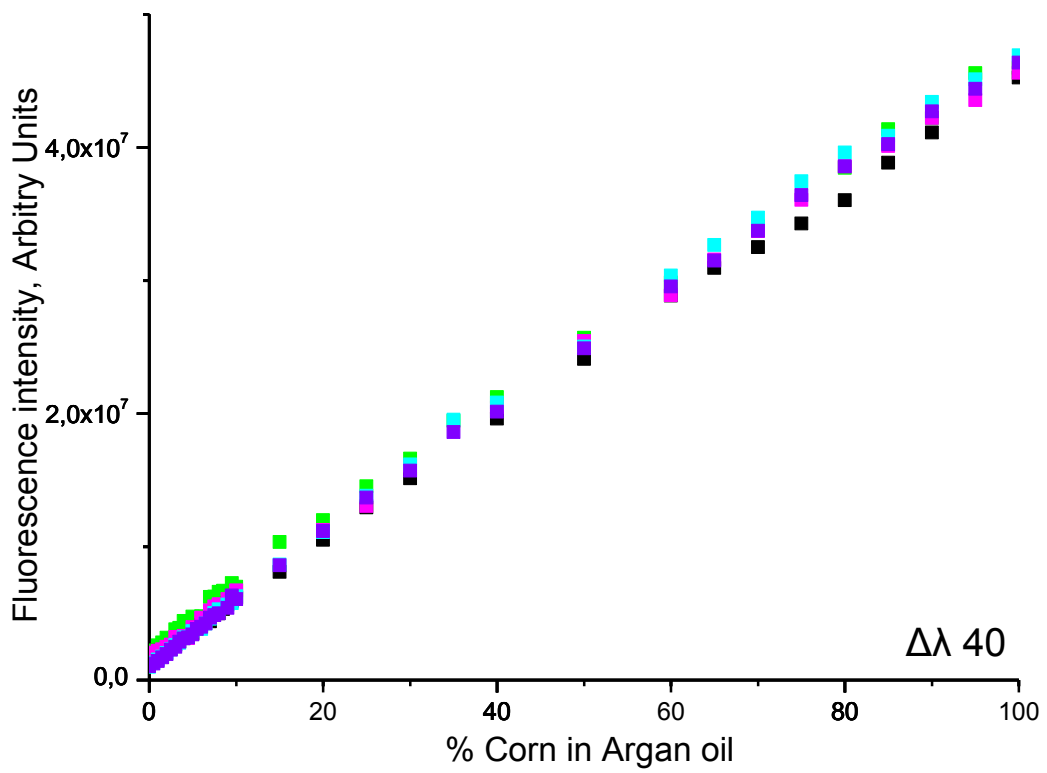
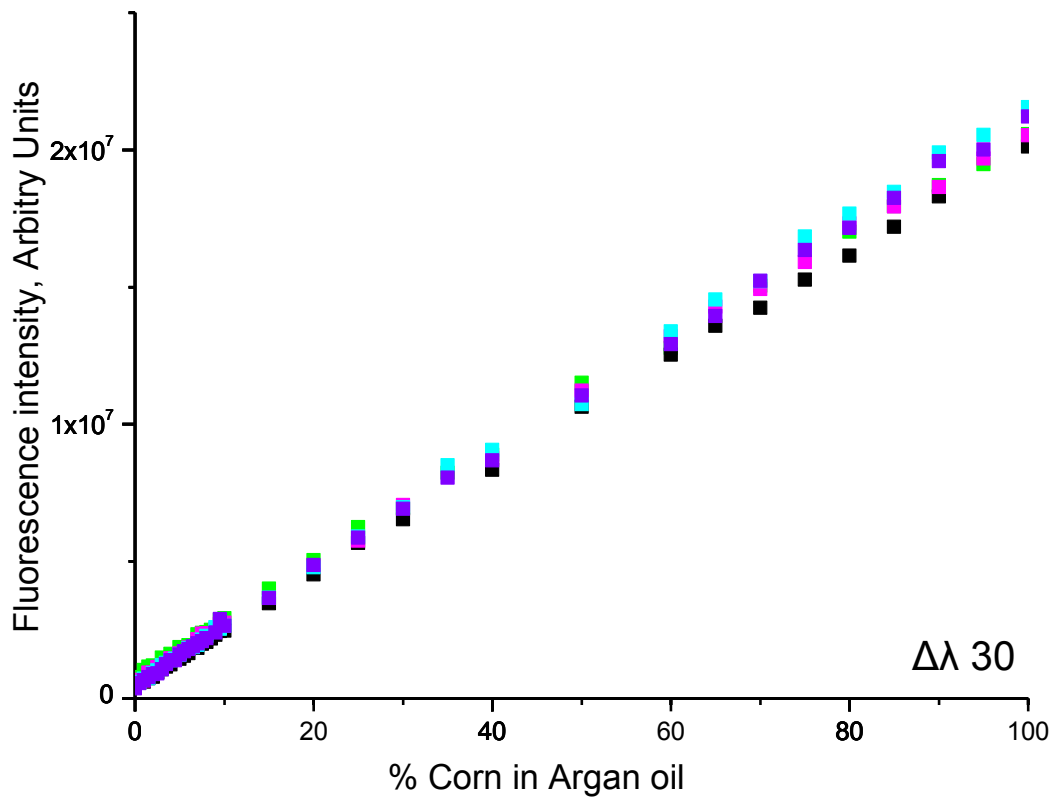


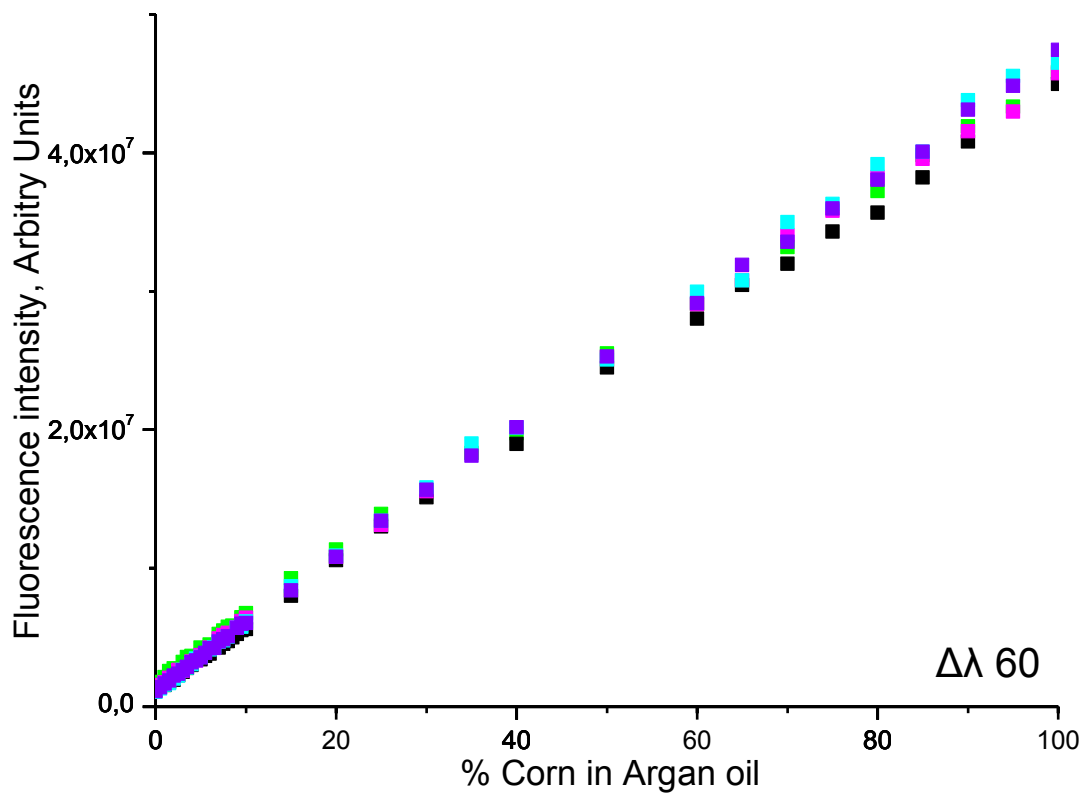
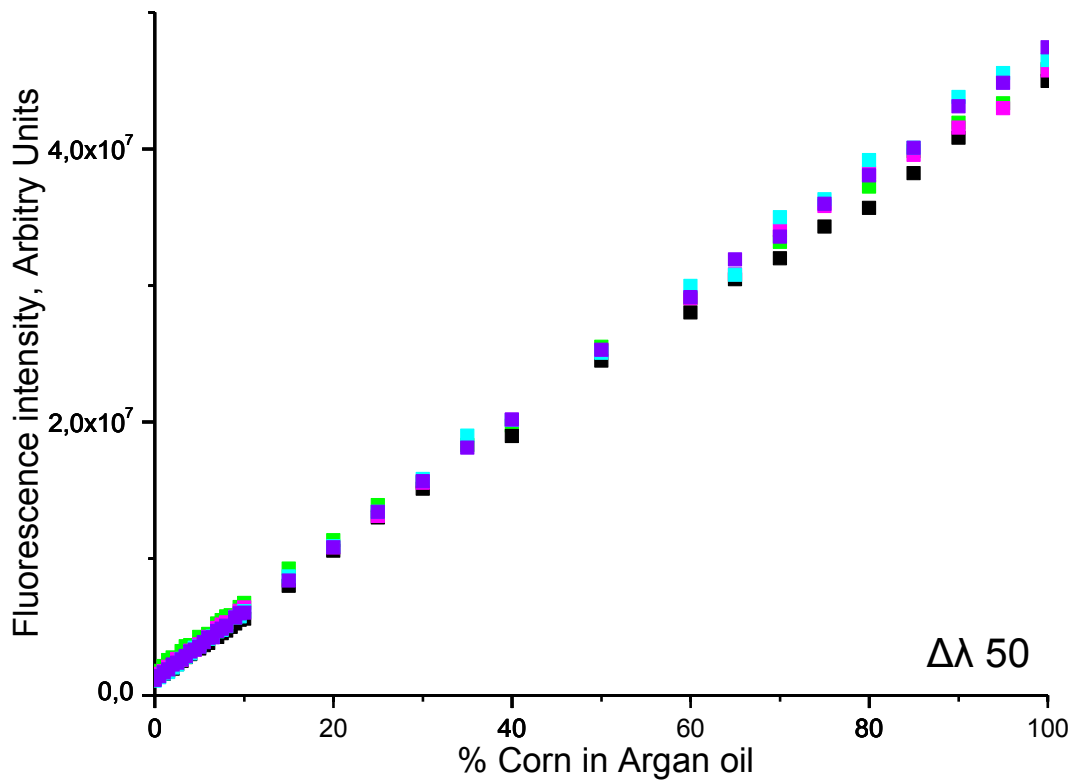
Σχήμα 12. Τρισδιάστατη απεικόνιση (contour plot) φασμάτων σύγχρονης σάρωσης του αραβοσιτελαίου. Οι κατακόρυφες γραμμές σε κάθε $\Delta\lambda$ δείχνουν την περιοχή μηκών κύματος όπου παρουσιάζεται η μέγιστη διαφοροποίηση με το έλαιο Argan.

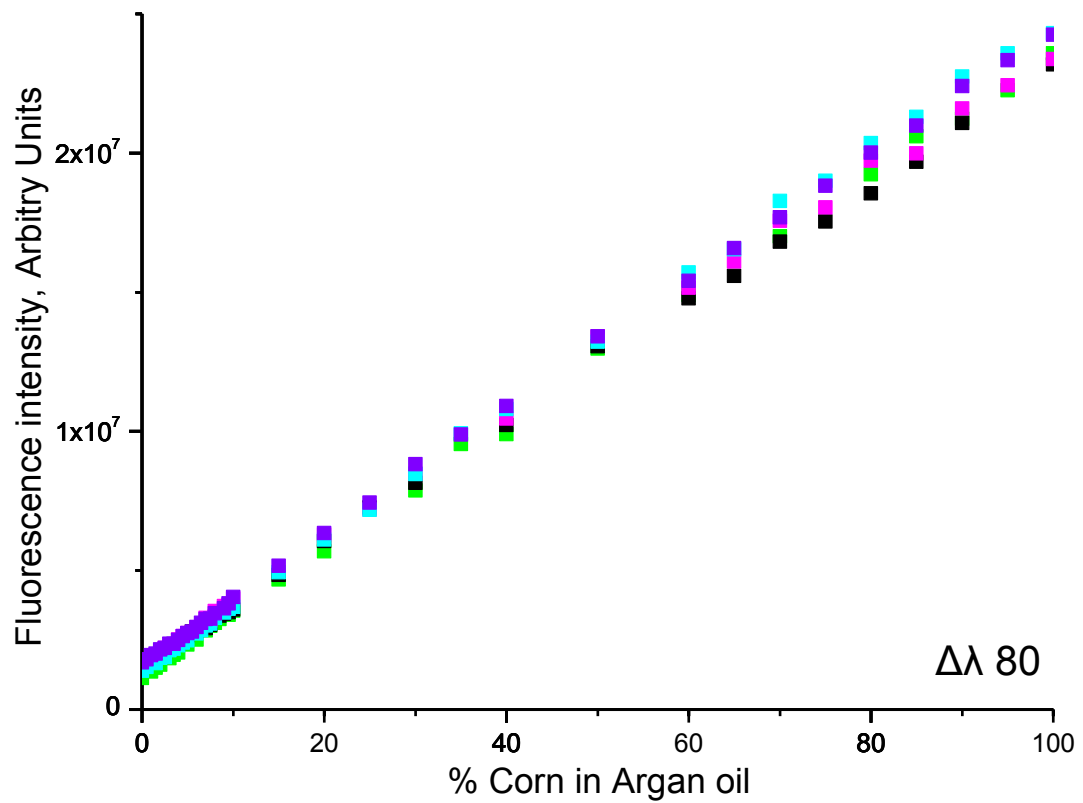
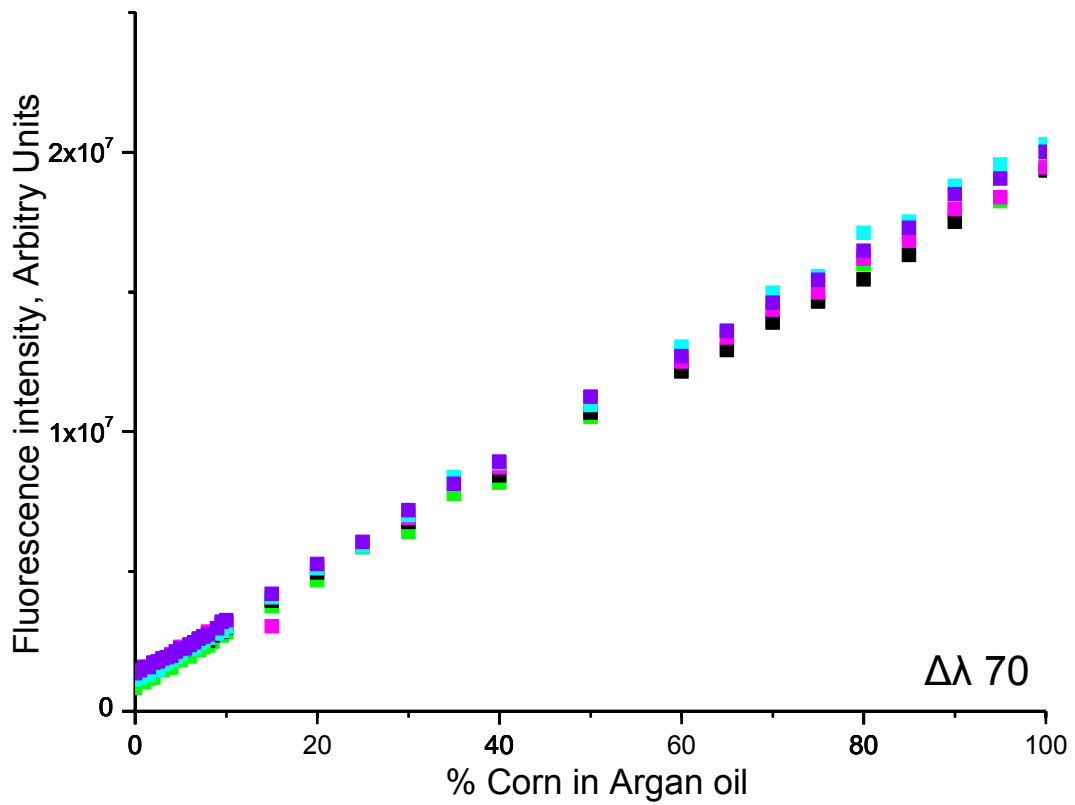
Για την βαθμονόμηση (καμπύλες αναφοράς) χρησιμοποιήθηκαν οι περιοχές μηκών κυμάτων διέγερσης που παρουσιάζονται στο Σχήμα 12: 365-375 nm για $\Delta\lambda$ 10 nm, 345-355 nm για $\Delta\lambda$ 20 nm, 360-370 nm για $\Delta\lambda$ 30 nm, 360-370 nm για $\Delta\lambda$ 40 nm, 380-390 nm για $\Delta\lambda$ 50 nm, 385-395 nm για $\Delta\lambda$ 60 nm, 410-420 nm για $\Delta\lambda$ 70 nm, 415-425 nm για $\Delta\lambda$ 80 nm, 415-425 nm για $\Delta\lambda$ 90 nm και 435-445 nm για $\Delta\lambda$ 100 nm. Οι περιοχές αυτές καθώς και η διαφοροποίηση των δύο ελαίων φαίνεται ξεκάθαρα στο Σχήμα 12.

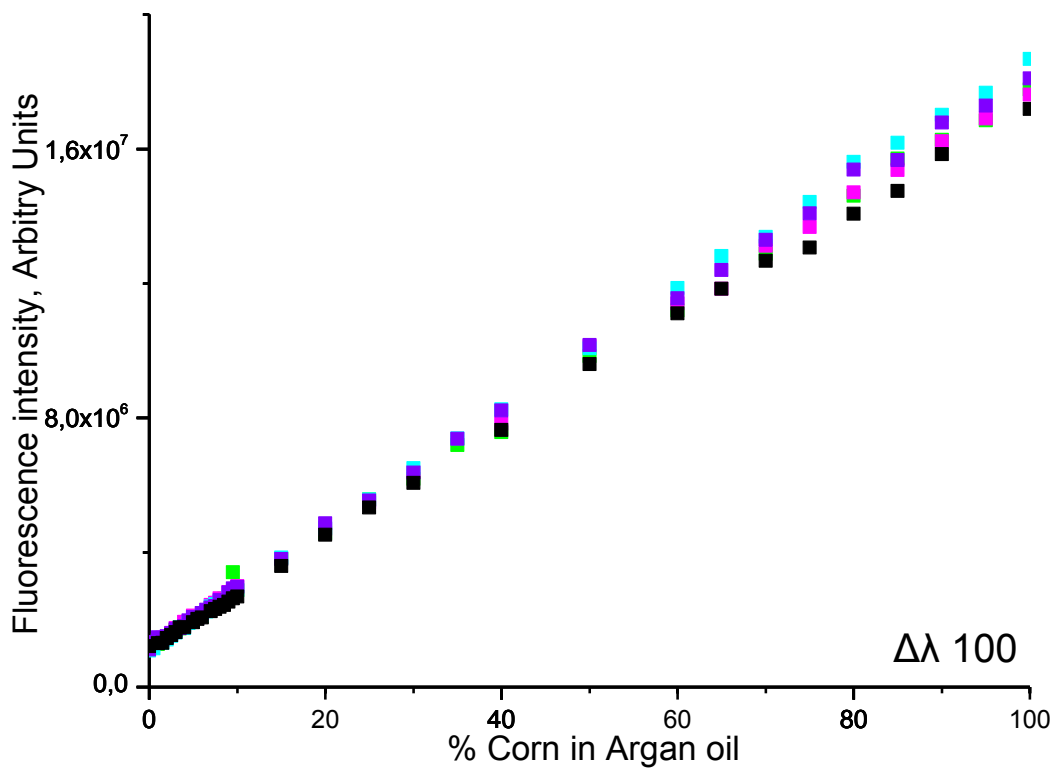
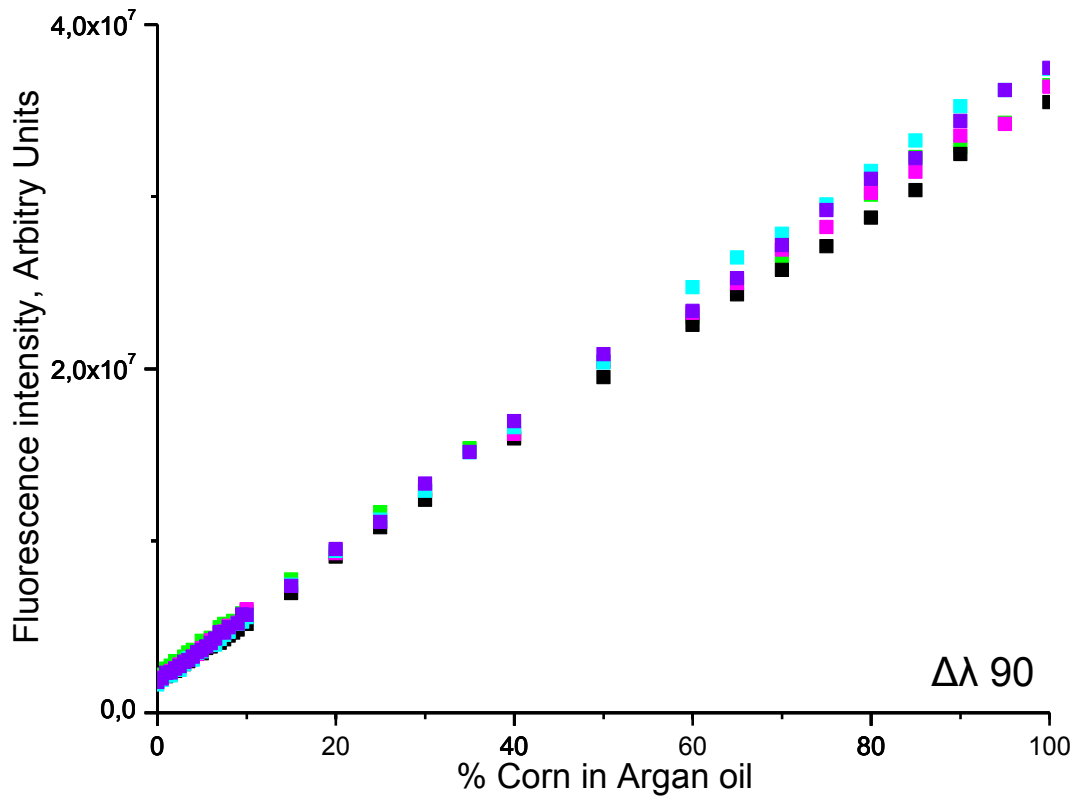
Το Σχήμα 13 δείχνει τη γραφική παράσταση της συγκέντρωσης του αραβοσιτελαίου συναρτήσει της έντασης του φθορισμού, στα διαφορετικά $\Delta\lambda$ που μελετήθηκαν.











Σχήμα 13. Καμπύλες αναφοράς για τα 5 διαφορετικά έλαια Argan. Για τους υπολογισμούς χρησιμοποιήθηκαν οι διάφορες, ανάλογα με το $\Delta\lambda$, περιοχές μηκών κύματος όπως φαίνονται στο Σχήμα 12. (■) 1Arganoil, (■) 2Arganoil, (■) 3Arganoil, (■) 4Arganoil, (■) 5Arganoil.

Επιπρόσθετα, η μέθοδος των μερικών ελαχίστων τετραγώνων χρησιμοποιήθηκε για τον υπολογισμό της νοθείας ελαίου Argan με χρήση φασμάτων φθορισμού σύγχρονης σάρωσης τα οποία ελήφθησαν στην περιοχή 300-800 nm και σε Δλ από 10 έως 100 nm. Οι περιοχές των μηκών κύματος, η τυπική απόκλιση, ο συντελεστής συσχέτισης, η κλίση των ευθειών καθώς και τα όρια ανίχνευσης για κάθε Δλ φαίνονται αναλυτικά στον Πίνακα που ακολουθεί (Πίνακας 10).

Κατά την επεξεργασία των αποτελεσμάτων, λήφθηκαν οι μέσοι όροι των κλίσεων και των τεταγμένων επί την αρχή κάθε μιας από τις καμπύλες αναφοράς για τα διαφορετικά δείγματα ελαίου Argan που εξετάστηκαν σε όλα τα Δλ που μελετήθηκαν (10 έως 100 nm).

Πίνακας 10. Αποτελέσματα εφαρμογής της μεθόδου των μερικών ελαχίστων τετραγώνων.

Δλ (nm)	Περιοχή μηκών κύματος (nm)	Κλίση (αυθαίρετες μονάδες)±Τυπική απόκλιση	Τεταγμένη επί την αρχή (αυθαίρετες μονάδες)±Τυπική απόκλιση	Συντελεστής συσχέτισης	Όριο ανίχνευσης (w/w)
10	365-375	1,52±0,01	6,3±0,3	0,9998	0,59
20	345-355	8,51±0,04	34±2	0,9996	0,70
30	360-370	10,21±0,04	32±2	0,9997	0,59
40	360-370	22,7±0,1	90,5±5,9	0,9995	0,78
50	380-390	16,18±0,07	48,7±3,1	0,9997	0,57
60	385-395	22,6±0,1	79,4±5,1	0,9996	0,68
70	410-420	9,36±0,04	58,9±1,7	0,9997	0,68
80	415-425	11,25±0,05	75,8±2,1	0,9997	0,56
90	415-425	17,61±0,09	102,7±3,8	0,9996	0,65
100	435-445	8,45±0,04	59,8±1,6	0,9997	0,57

Όπως φαίνεται στον Πίνακα 10, τα χαμηλότερα όρια ανίχνευσης υπολογισμένα ως τρεις φορές η τυπική απόκλιση του σημείου τομής με τον άξονα τεταγμένων δια την κλίση της καμπύλης αναφοράς, παρουσιάζονται σε Δλ 50 nm και 90 nm. Στο Δλ 80 nm δεν επιλέγεται παρόλο που εμφανίζει χαμηλότερο όριο ανίχνευσης διότι η κλίση είναι πιο χαμηλή. Το ίδιο παρατηρούμε, σε μεγαλύτερο ακόμα βαθμό και σε Δλ 100 nm. Εν τούτοις, οι υψηλότερες κλίσεις καμπύλης παρουσιάζονται σε Δλ 40 nm και 60 nm.

Σύμφωνα με τα προαναφερόμενα αποτελέσματα, η δυνατότητα πρόβλεψης της συγκέντρωσης αραβοσιτελαίου στο έλαιο Argan βελτιώνεται ελαφρά με χρήση Δλ 50 nm.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5

5.1 Συμπεράσματα

Στην παρούσα μεταπτυχιακή διατριβή μελετήθηκε μια νέα φασματοσκοπική μέθοδος εκτίμησης ποιότητας και αυθεντικότητας παρθένου ελαίου Argan με τη βοήθεια πολυπαραμετρικών μεθόδων.

Λήφθηκαν τα τρισδιάστατα φάσματα φθορισμού σύγχρονης σάρωσης του ελαίου Argan και του αραβοσιτελαίου από τη σύγκριση των οποίων προκύπτει πως το έλαιο Argan διαφοροποιείται σαφώς από το αραβοσιτέλαιο. Με την τεχνική των ελαχίστων τετραγώνων πραγματοποιήθηκε επιπλέον ποσοτικός προσδιορισμός της νοθείας.

Η μέθοδος που αναπτύχθηκε είναι ταχεία, δεν απαιτείται εξειδικευμένος χειριστής και είναι δυνατόν να εφαρμοστεί για να ανιχνεύσει πολύ χαμηλά επίπεδα νοθείας μόλις 0,6 % (w/w) σε ελάχιστο χρόνο χωρίς να προηγηθεί καμιά κατεργασία των δειγμάτων.

Πραγματοποιήθηκε βελτιστοποίηση της μεθόδου προσδιορίζοντας τις καταλληλότερες διαφορές του μήκους κύματος Δλ. Επίσης εντοπίστηκαν οι περιοχές μηκών κύματος στις οποίες παρατηρείται η βέλτιστη διαφοροποίηση των δύο ελαίων για κάθε Δλ που εξετάστηκε. Πιο συγκεκριμένα βρέθηκε ότι για Δλ 50 nm στην περιοχή μηκών κύματος 380-390 nm το όριο ανίχνευσης είναι 0,57 % (w/w), ενώ για Δλ 90 nm στην περιοχή μηκών κύματος 415-425 nm το όριο ανίχνευσης είναι 0,65 % (w/w) ενώ η κλίση των αντίστοιχων καμπύλων αναφοράς είναι $16,18 \pm 0,07$ και $17,61 \pm 0,09$ ένταση φθορισμού (αυθαίρετες μονάδες)/% w/w συγκέντρωσης αραβοσιτελαίου.

Η μελέτη αυτή είναι δυνατό να εξελιχθεί περαιτέρω μελετώντας τη διαφοροποίηση του ελαίου Argan από άλλα εδώδιμα έλαια και ιδιαίτερα το ελαιόλαδο το οποίο, καθώς παρουσιάζει πολλές ομοιότητες με το έλαιο Argan αποτελεί άριστο "υποψήφιο" νοθευτή. Κρίνεται απαραίτητο να επισημανθεί, ότι η μέθοδος παρέχει τη δυνατότητα ανάλυσης στο σημείο της παραγωγής/εμπορίας χωρίς να υπάρχει ανάγκη μεταφοράς στο εργαστήριο.

Συμπερασματικά, η τεχνική της φθορισμομετρίας σύγχρονης σάρωσης καταδεικνύεται ένα χρήσιμο εργαλείο για την ανάλυση οργανικών ενώσεων στον τομέα των τροφίμων που χαρακτηρίζεται από υψηλή ευαισθησία και χαμηλό όριο ανίχνευσης.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Andrade-Eiroa Á., De Armas G., Estela J.M., Cerdà V., Critical approach to synchronous spectrofluorimetry. I, Trends in analytical chemistry, 2010, 29 (8) 885-901.
- Andrade-Eiroa A., Vázquez-Blanco E., López-Mahía P., Muniategui-Lorenzo S., Prada-Rodríguez D., Modeling of inner filter effect in synchronous spectrofluorimetry by using partial least squares, Analisis, 2000, 28(2):148-154.
- Bellahcen S., Mekhfi H., Ziyat A., Legssyer A., Hakkou A., Aziz M., Bnouham M., Prevention of chemically induced diabetes mellitus in experimental animals by virgin Argan oil, Phytotherapy Research, 2012, 26:180–185.
- Bellakhdar J., La pharmacopée marocaine traditionnelle, Ibis Press, Paris, 1997, 486–488.
- Bennani H., Drissi A., Giton F., Kheuang L., Fiet J., Adlouni A., Antiproliferative effect of polyphenols and sterols of virgin Argan oil on human prostate cancer cell lines, Cancer Detection and Prevention, 2007, 31(1):64–69.
- Bensouda Y., inventor, Bensouda Y., assignee, Formulation of Argan oil-based lipid emulsion for parenteral nutrition, French patent WO 2008002116 (A1), 2008.
- Berrada M., Etude de la composition de l'huile d'Argan, Al Awamia, 1972, 42: 1–14.
- Berrada Y., Settaf A., Baddouri K., Cherrah A., Hassar M., Experimental assessment of antihypertensive and hypolipidemic effects of oil of Argan, Argania sideroxyylon [in French], Therapie, 2000, 55(3):375–378.
- Berrougui H., Alvarez de Sotomayor M., Perez-Guerrero C., Ettaib A., Hmamouchi M., Marhuenda E., Herrera M. D., Argan (*Argania spinosa*) oil lowers blood pressure and improves endothelial dysfunction in spontaneously hypertensive rats, British Journal of Nutrition, 2004, 92:921–929.
- Berrougui H., Cloutier M., Isabelle M., Khalil A., Phenolic-extract from Argan oil (*Argania spinosa* L.) inhibits human low-density lipoprotein (LDL) oxidation and enhances cholesterol efflux from human THP-1 macrophages), Atherosclerosis, 2006, 184(2):389-96.
- Berrougui H., Ettaib A., Herrera Gonzalez M.D., Alvarez de Sotomayor M., Bennani-Kabchi N., Hmamouchi M., Hypolipidemic and hypocholesterolemic effect of Argan oil (*Argania spinosa* L.) in Meriones shawi rats, Journal of Ethnopharmacology, 2003, 89(1):15–18.
- Bnouham M., Bellahcen S., Benalla W., Legssyer A., Ziyat A., Mekhfi H., Antidiabetic activity assessment of *Argania spinosa* oil, Journal of Complementary and Integrative Medicine, 2008, 5(1):1–12.
- Boubellouta T., Dufour E., Effects of mild heating and acidification on the molecular structure of milk components as investigated by synchronous front-face fluorescence

- spectroscopy coupled with parallel factor analysis, *Applied Spectroscopy*, 2008, 62(5):490-496.
- Boukhobza M.; Pichon-Prum N., Hemicellulose-type polysaccharides were isolated from the pericarp of seeds of *Argania spinosa* (L.) Skeels fruit by sequential alkaline extractions and fractionated by precipitation, *Phytotherapy*, 1988, 27:21–26.
- Bowyer P., Clarke B.R., Lunness P., Daniels M.J., Osbourn A.E., Host range of a plant pathogenic fungus determined by a saponin detoxifying enzyme, *Science*, 1995, 267:371–374.
- Brereton R.G., Introduction to multivariate calibration in analytical chemistry, *The Analyst*, 2000, 125(11):2125-2154.
- Brockerhoff H., Stereospecific analysis of triglycerides, *Journal of Lipid Research*, 1965, 6:10–15.
- Cabrera-Vique C., Marfil R., Gimenez R., Augustin O. M., Bioactive compounds and nutritional significance of virgin Argan oil – an edible oil with potential as a functional food, *Nutrition Reviews*, 2012, 70(5): 266–279.
- Cayuela J.A., Rada M., Perez-Camino M.D., Benaissa M., Abdelaziz E., Guinda Á., Characterization of artisanally and semiautomatically extracted Argan oils from Morocco, *European Journal of Lipid Science and Technology*, 2008, 110:1159–1166.
- Chahboun J., La filière triterpénique dans les lipides des feuilles d'*Argania spinosa*, PhD Thesis, Institut national polytechnique, Toulouse, 1993.
- Charrouf M., Contribution à l'étude chimique de l'huile d'*Argania spinosa* (L.) (Sapotaceae), PhD Thesis, University of Perpignan, France, 1984.
- Charrouf Z., El Kabouss A., Nouaim R., Bensouda Y., Yaméogo R., Etude de la composition chimique de l'huile d'Argan en fonction de son mode d'extraction. *Al Biruniya, Reviews in Marine Pharmacology*, 1997, 13:35–39.
- Charrouf Z., Fkih-Tétouani S., Rouessac F., Occurrence of erythrodiol in *Argania spinosa* (Sapotacées), *Al Biruniya, Revue Marocaine de Pharmacognosie*, 1990, 6:135–139.
- Charrouf Z., Guillaume D., Ethnoeconomical, ethnomedical, and phytochemical study of *Argania spinosa* (L.) Skeels, *Journal of Ethnopharmacology*, 1999, 67:7–14.
- Charrouf Z., Guillaume D., Phenols and polyphenols from *Argania spinosa*, *American Journal of Food Technology*, 2007, 2:679–683.
- Charrouf Z., Guillaume D., Should the amazing diet (regular and moderate Argan-oil consumption) have a beneficial impact on human health?, *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 2010, 50:473–477.
- Charrouf Z., Wieruzeski J.M., Fkih-Tétouani S., Leroy Y., Charrouf M., Fournet B., Triterpenoid saponins from *Argania spinosa*. *Phytochemistry*, 1992, 31(16):2079–2086.

- Charrouf, Z., Valorisation d' *Argania spinosa* (L.) Sapotaceae: Etude de la composition chimique et de l'activité biologique du tourteau et de l'extrait lipidique de la pulpe, Phd Thesis, University of Rabat, Maroc, 1991.
- Cherki M., Berrougui H., Drissi A., Adlouni A., Khalil A., Argan oil: Which benefits on cardiovascular diseases?, *Pharmacological Research*, 2006, 54:1–5.
- Cherki M., Derouiche A., Drissi A., El Messal M., Bamou Y., Idrissi-Ouadghiri A., Khalil A., Adlouni A., Consumption of Argan oil may have an antiatherogenic effect by improving paraoxonase activities and antioxidant status: intervention study in healthy men, *Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases*, 2005, 15(5):352–360.
- Chimi H., Cillard J., Cillard P., Autooxydation de l'huile d'Argan. *Argania spinosa* L. du Maroc, *Sciences des Aliments*, 1994, 14:117–124.
- Chimi, H., Rahmani, M., Cillard, J., Cillard, P., Etude de la fraction phénolique des huiles d'olive vierge et d'Argan du Marocain, *Actes Institut Agronomique Vétérinaire*, 1988, 8:17–21.
- Collier A., Lemaire B., Etude des caroténoïdes de l'huile d'Argan, *Cahiers de Nutrition et de Diététique*, 1974, 9:300–301.
- Cotton S., Etude sur la noix d'Argan: nouveau principe immédiat, l'Arganine, *Journal de Pharmacie et de Chimie*, 1888, 18:298-302.
- Demirbas A., Progress and recent trends in biodiesel fuels, *Energy Conversion and Management*, 2009, 50:14–34.
- Derouiche A., Cherki M., Drissi A., Bamou Y., El Messal M., I drissi-Oudghiri A., Nutritional intervention study with Argan oil in man: effects on lipids and apolipoproteins, *Annals of Nutrition and Metabolism*, 2005, 49:196–201.
- Devaraj S., Jialal I., Failure of vitamin E in clinical trials: is gamma-tocopherol the answer?, *Nutrition Reviews*, 2005, 63:290–293.
- Devaraj S., Leonard S., Traber M.G., Jialal I., Gamma-tocopherol supplementation alone and in combination with alpha-tocopherol alters biomarkers of oxidative stress and inflammation in subjects with metabolic syndrome, *Free Radical Biology and Medicine*, 2008, 44:1203–1208.
- Divya O., Mishra A. K., Understanding the concept of concentration-dependent red-shift in synchronous fluorescence spectra: Prediction of λ SFS max and optimization of $\Delta\lambda$ for synchronous fluorescence scan, *Analytica Chimica Acta-ACTA*, 2008, 630(1):47-56.
- Drissi A., Girona J., Cherki M., Godàs G., Derouiche A., El Messal M., Saile R., Kettani A., Solà R., Masana L., Adlouni A., Evidence of hypolipemiant and antioxidant properties of Argan oil derived from the Argan tree (*Argania spinosa*), *Clinical Nutrition*, 2004, 23:1159–1166.

- El Babili F., Bouajila J., Fouraste I., Valentin A., Mauret S., Moulis C., Chemical study, antimalarial and antioxidant activities, and cytotoxicity to human breast cancer cells (MCF7) of *Argania spinosa*, *Phytomedicine*, 2010, 17(2):157–160.
- Ertus P., Leveugle C., inventors, Ertus P., assignee, Integration of the Argan oil in food preparations, which is useful, e.g. as seasoning on green salads or compounds and to reduce cholesterol level, comprises adding Argan oil extracted from kernels of the Argan tree, to the food, French patent 2926441 (A1), 2009.
- Espin J.C., Soler-Rivas C., Wichers H.J., Characterization of the total free radical scavenger capacity of vegetable oils and oil fractions using 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl radical, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2000, 48:648–656.
- Eteshola E., Borowy C N., Mizrahi Y., Growth and oil production of Argan in the Negev desert of Israel Nerd, *Industrial Crops and Products*, 1994, 2:89-95.
- Fanget B., Devos O., Draye M., Correction of inner filter effect in mirror coating cells for trace level fluorescence measurements, *Analytical Chemistry*, 2003, 75(11):2790-2795.
- Farines M., Soulier J., Charrouf M., Cavé A., Etude de l'huile des Ichoh d'*Argania spinosa* (L.); Sapotaceae. II. Stérois, alcohols, triterpéniques et méthylstérois de l'huile d'Argan, *Revue Française des Corps Gras*, 1984b , 31:443–448.
- Fei T., Ming G., QinSen Y., Studies on interaction between gatifloxacin and human serum albumin as well as effect of copper(II) on the reaction, *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 2005, 61(13–14):3006-3012.
- Fellat-Zarrouk K., Smoughen S., Maurin R., Etude de la pulpe du fruit de l'Arganier (*Argania spinosa*) du Maroc. Matière grasse et latex, *Actes Institut Agronomique Vétérinaire Rabat*, 1987, 7:17–22.
- Friedrich M.J., To “E” or not to “E,” vitamin E’s role in health and disease is the question, *Journal of the American Medical Association*, 2004, 292:671–673.
- Garcia J.M., Gutierrez F., Castellano J.M., Perdiguero, S., Morilla, A., Albi, M.A., Influence of storage temperature on fruit ripening and olive oil quality, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 1996, 44:264–267.
- Gharby S., Harhar H., Guillaume D., Haddad A., Matthäus B., Charrouf Z., Oxidative stability of edible Argan oil: A two-year study, *LWT-Food Science and Technology*, 2011, 44:1-8.
- Gliszczynska-Swiglo A., Sikorska E., Simple reversed-phase liquid chromatography method for determination of tocopherols in edible plant oils, *Journal of Chromatography A*, 2004, 1048:195-198.
- Gomez-Alonso S., Fregapane G., Salvador M.D., Gordon M.H., Changes in phenolic composition and antioxidant activity of virgin olive oil during frying. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2003, 51(3):667–672.

- Gorinstein S., Martin-Belloso O., Katrich E., Lojek A., Cíz M., Gligelmo-Miguel N., Haruenkit R., Park Y.S., Jung S.T., Trakhtenberg S., Comparison of the contents of the main biochemical compounds and the antioxidant activity of some Spanish olive oils as determined by four different radical scavenging tests, *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 2003, 14(3):154–159.
- Guillaume D., Charrouf Z., Argan Oil, *Alternative Medicine Review*, 2011, 16(3):275-279.
- Habibi Y., Vignon M. R., Isolation and characterization of xylans from seed pericarp of *Argania spinosa* fruit, *Carbohydrate Research*, 2005, 340:1431–1436.
- Hatinguais P., Trebosc M. T., Belle, R., French Patent 2,553,788, 1985.
- Hatinguais P., Trebosc M.T., Belle R., Extrait lipidique du fruit de l'Arganier, procédé de préparation et application en cosmétologie, French Patent FR2553 788-B1, 1983.
- Herschel Sir J. F. W., On the case of superficial colour presented by a homogeneous liquid internally colourless, *Philosophical Transactions of the Royal Society of London*, 1845, 135:143-145.
- Hilali M., Charrouf Z., Soulhi Ael A., Hachimi L., Guillaume D., Influence of origin and extraction method on Argan oil physico-chemical characteristics and composition, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2005, 53:2081–2087.
- Hilali M., Charrouf Z., Soulhi Ael A., Hachimi L., Guillaume D., Influence of origin and extraction method on Argan oil physico-chemical characteristics and composition, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2005, 53:2081–2087.
- Hu Z., Tong C., Synchronous fluorescence determination of DNA based on the interaction between methylene blue and DNA, *Analytica Chimica Acta*, 2007, 587(2):187-193.
- Ju J., Picinich S.C., Yang Z., Zhao Y., Suh N., Kong A.N., Yang C.S., Cancer-preventive activities of tocopherols and tocotrienols, *Carcinogenesis*, 2010, 31:533–542.
- Kamal-Eldin A., Andersson R., A multivariate study of the correlation between tocopherol content and fatty acid composition in vegetable oils. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 1997, 74:375-380.
- Karim M. M., Jeon C. W., Lee H. S., Alam S. M., Choi J. H., Jin S. O., Das A.K., Simultaneous Determination of Acetylsalicylic Acid and Caffeine in Pharmaceutical Formulation by First Derivative Synchronous Fluorimetric Method, *Journal of Fluorescence*, 2006, 16:713-721.
- Khallouki F., Younos C., Soulimani R., Oster T., Charrouf Z., Spiegelhalter B., Bartsch H., Owen R.W., Consumption of Argan oil (Morocco) with its unique profile of fatty acids, tocopherols, squalene, sterols and phenolic compounds should confer valuable cancer chemopreventive effects, *European Journal of Cancer Prevention*, 2003, 12:67–75.

- Kunz M., Ottaway J., Kalivas J., Georgiou C., Mousdis G., Updating a synchronous fluorescence spectroscopic virgin olive oil adulteration calibration to a new geographical region, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2011, 59(4):1051-1057.
- Lakowicz, J.R., Principles of fluorescence spectroscopy, 2nd edition, Kluwer academic/ Plenum publishers, New York, Boston, Dordrecht, London, Moscow, 1999, ISBN:0-306-46093-9.
- Li S., Cherian S., Ahn D., Hardin R., Sim J., Storage, heating, and tocopherols affect cholesterol oxide formation in food oils, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 1996, 44:3830-3834.
- Madrakian T., Afkhami A., Mohammadnejad M., Simultaneous spectrofluorimetric determination of levodopa and propranolol in urine using feed-forward neural networks assisted by principal component analysis, *Talanta*, 2009, 78:1051-1055.
- Man Y.B.C., Rohman A., Detection of lard in vegetable oils, *Lipid Technology*, 2011, 23(8):180-182.
- Marangoni, A.G., Steady-state fluorescence polarization spectroscopy as a tool to determine microviscosity and structural order in food systems, *Food Research International*, 1992, 25:67–80.
- Marcone M. F., Composition and properties of Indonesian palm civet coffee (Kopi Luwak) and Ethiopian civet coffee, *Food Research International*, 2004, 37:901–912.
- Marfil R., Cabrera C., Gimenez R., Martinez O., Socorro O., Importancia nutricional, económica y natural del aceite de argán (*Arganias spinosa*). Madrid: Fundación Euroárabe de Altos Estudios (Eds), Granada, 2009, ISBN: 978-84-613-7022-1.
- Marfil R., Cabrera-Vique C., Gimenez R., Bouzas P.R., Martínez O., Sánchez J.A., Metal content and physicochemical parameters used as quality criteria in virgin Argan oil: influence of the extraction method, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2008, 56(16):7279–7284.
- Marfil R., Gimenez R., Martinez O., Bouzas P. R., Rufián-Henares J.A., Mesías M., Cabrera-Vique C., Determination of polyphenols, tocopherols, and antioxidant capacity in virgin Argan oil (*Argania spinosa*, Skeels), *Euroean Journal of Lipid Science and Technology*, 2011, 113:886–893.
- Massiot G., Lavaud C., Structural elucidation of saponins. In: ur-Rahman, A. (Ed.), *Studies in Natural Product Chemistry*, 1995, 15:187–224.
- Matthaus B., Guillaume D., Gharby S., Haddad A., Harhar H., Charrouf Z., Effect of processing on the quality of edible Argan oil, *Food Chemistry*, 2010, 120:426–432.

- Maurin R., Fellat-Zarrouk K., Ksir M., Positional analysis and determination of triacylglycerol structure of *Argania spinosa* seed oil, *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 1992, 62:141–145.
- McGregor H. V., Dupont L., Stuu Jan-B. W., Kuhlmann H., Vegetation change, goats, and religion: a 2000-year history of land use in southern Morocco, *MARUM Center for Quaternary Science Reviews*, 2009, 28:1434–1448.
- Mekhfi H., Belmekki F., Ziyat A., Legssyer A., Bnouham M., Aziz M., Antithrombotic activity of Argan oil: An *in vivo* experimental study, *Nutrition*, 2012, 28:937–941.
- Monfalouti H.E., Guillaume D., Denhez C., Alvarez de Sotomayor M., Bennani-Kabchi N., Hmamouchi M., Therapeutic potential of Argan oil: a review, *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 2011, 62:1669–1675.
- Moreno-Torres Herrera R., Alcalá Torres J., Pérez Moreno A., Pérez Roca C., Romero de Soto D., inventors, Olifarma S.L., assignee, Olive-oil-based functional oils, United States patent WO/2010/149815, 2010.
- Morton J.F., Voss G.L., The Argan tree (*Argania sideroxylon*, sapotaceae), a desert source of edible oil, *Economic Botany*, 1987, 41:221–233.
- Moukal A., L'Arganier, *Argania spinosa* L. skeels usage thérapeutique, cosmetique et alimentaire [in French], *Phytotherapie*, 2009, 5:135–141.
- Nevin A., Cather S., Anglos D., Fotakis C., Analysis of protein-based binding media found in paintings using laser induced fluorescence spectroscopy, *Analytica Chimica Acta*, 2006, 573-574:341-346.
- Norme Marocaine 08.5.090. Corps gras d'origines animale et végétale Huiles d'Argane Spécifications. In: *Ministre de l'Industrie dC, de l'Energie et des Mines. Rabat*, ed, 2003.
- Nota G., Naviglio D., Romano R., Sabia V., Spagna Musso S., Improta C., Determination of the wax ester content in olive oils. Improvement in the method proposed by EEC regulation 183/93, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 1999, 47:202–205.
- Oulad-Ali A., Guillaume D., Belle R., David B., Anton R., Sulphated steroidal derivatives from *Ruscus aculeatus*, *Pytochem*, 1996, 42:895-897.
- OuldMohamedou M.M., Zouirech K., ElMessal M., El Kebbaj M.S., Chraibi A., Adlouni A., Argan Oil Exerts an Antiatherogenic Effect by Improving Lipids and Susceptibility of LDL to Oxidation in Type 2 Diabetes Patients, *International Journal of Endocrinology Volume*, 2011, Article ID 747835, 8 pages.
- Oussama A., Elabadi F., Devos O., Analysis of Argan Oil Adulteration Using Infrared Spectroscopy, *Spectroscopy Letters*, 2012, 45:458–463.
- Patra D., Mishra A.K., Recent developments in multicomponent synchronous fluorescence scan analysis, *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 2002, 21:787-798.

- Pauly G., Henry F., Danoux L., Charrouf Z., European Patent Application 1,213,025, 2002.
- Pauly G., Henry F., Moser P., Charrouf Z., European Patent Application 1,213,024, 2002.
- Pauly G., Henry F., Moser P., European Patent Application 1,149,578, 2001.
- Pellegrini N., Serafini M., Colombi B., Del Rio D., Salvatore S., Bianchi M., Brighenti F., Total antioxidant capacity of plant foods, beverages and oils consumed in Italy assessed by three different *in vitro* assays, *Journal of Nutrition*, 2003, 133:2812–2719.
- Pistonesi M.F., Di Nezio M.S., Centuriòn M.E., Palomeque M.E., Lista A.G., Fernández Band B.S., Determination of phenol, resorcinol and hydroquinone in air samples by synchronous fluorescence using partial least-squares (PLS), *Talanta*, 2006, 69(5):1265-1268.
- Poulli K., Mousdis G., Georgiou C., Rapid Synchronous Fluorescence Method for Virgin Olive Oil Adulteration Assessment, *Food Chemistry*, 2007, 105:369-375.
- Poulli K., Mousdis G., Georgiou C., Synchronous fluorescence spectroscopy for quantitative determination of virgin olive oil adulteration with sunflower oil, *Anal. Bioanal. Chem*, 2006, 386:1571-1575.
- Reiter E., Jiang Q., Christen S., Anti-inflammatory properties of alpha- and gamma-tocopherol, *Molecular Aspects of Medicine*, 2007, 28:668–691.
- Samane S., Noel J., Charrouf Z., Amarouch H., Haddad P. S., Insulin-sensitizing and anti-proliferative effects of *Argania spinosa* seed extracts, *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2006, 3(3):317–327.
- Sánchez C.S., Gonzalez A.M.T., Garcia-Parrilla M.C., Quesada-Granados J.J., Lopez-Garcia de la Serrana H., Lopez-Martinez M.C., Different radical scavenging tests in virgin olive oil and their relation to the total phenol content, *Analytica Chimica Acta*, 2007, 593:103–107.
- Seker I., Livneh D.J., Makela J.J., Mathews J.D., Tracking F-region plasma depletion bands using GPS-TEC, incoherent scatter radar, and all-sky imaging at Arecibo, *Earth Planets Space*, 2008, 60:633-646.
- Shao J., Linear Model Selection by Cross-Validation, *American Statistical Association*, 1993, 88(422):486-494.
- Singh U., Devaraj S., Jialal I., Vitamin E, oxidative stress, and inflammation, *Annual Review of Nutrition*, 2005, 25:151–174.
- Skoog D.A., Holler F.J., Nieman T.A., Αρχές της ενόργανης ανάλυσης, 5^η έκδοση, σε μετάφραση των Καραγιάννη Μ.Ι., Ευσταθίου Κ.Η., Χανιωτάκη Ν., Εκδόσεις Κωσταράκης, Αθήνα, 2005, ISBN: 960-8278-03-1.
- Soel S.M., Choi O.S., Bang M.H., Yoon Park J.H., Kim W.K., Influence of conjugated linoleic acid isomers on the metastasis of colon cancer cells *in vitro* and *in vivo*, *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 2007, 18:650–657.

- Szydłowska-Czerniak A., Karlovits G., Dianoczki C., Recseg K., Szlyk E., Comparison of two analytical methods for assessing antioxidant capacity of rapeseed and olive oils, *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 2008, 85(2):141–149.
- Tairova, Z., Giessing, A., Hansen, R. & Andersen, O., 1-Hydroxypyrene as a biomarker of PAH exposure in the marine polychaete *Nereis diversicolor*, *Marine Environmental Research*, 2009, 67(1):38-46.
- Teres S., Barcelo-Coblijn G., Benet M., Alvarez R., Bressani R., Halver J.E., Escribá P.V., Oleic acid content is responsible for the reduction in blood pressure induced by olive oil, *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2008, 105(37):13811–13816.
- Tuberoso C.I.G., Kowalczyk A., Sarritzu E., Cabras P., Determination of antioxidant compounds and antioxidant activity in commercial oilseeds for food use, *Food Chemistry*, 2007, 103:1494–1501.
- Valavanidis A., Nisiotou C., Papageorgiou Y., Kremli I., Satravelas N., Zinieris N., Zygalki H., Comparison of the radical scavenging potential of polar and lipidic fractions of olive oil and other vegetable oils under normal conditions and after thermal treatment, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2004, 52:2358–2365.
- van de Waterbeemd H., Testa B., *Drug Bioavailability: Estimation of Solubility, Permeability, Absorption and bioavailability*, 2nd edition, *Methods and Principles in Medicinal Chemistry*, WILEY-VCH Verlag GmbH & Co KGaA, Weiheim, 2009, ISBN: 978-3-527-32051-6.
- Wang L., Liang A.N., Chen H.Q., Liu Y., Qian B.B., Fu J., Ultrasensitive determination of silver ion based on synchronous fluorescence spectroscopy with nanoparticles, *Analytica Chimica Acta*, 2008, 616(2):170-176.
- Wright M.E., Weinstein S.J., Lawson K.A., Albanes D., Subar A.F., Dixon L. B., Mouw T., Schatzkin A., Leitzmann M.F., Supplemental and dietary vitamin E intakes and risk of prostate cancer in a large prospective study, *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention*, 2007, 16:1128–1135.
- Yang H.M., Wang Y.S., Li J.H., Li G.R., Wang Y., Tan X., Xue J.H., Xiao X.L. Kang R.H., Synchronous fluorescence determination of urinary 1-hydroxypyrene, beta-naphthol and 9-hydroxyphenanthrene based on the sensitizing effect of betacyclodextrin, *Analytica Chimica Acta*, 2009, 636(1):51-57.
- Zarrouk M., Zarrouk W., Baccouri B., Taamalliv, Trigui A., Daoud D., Oil fatty acid composition of eighteen Mediterranean olive varieties cultivated under the arid conditions of Boughrara (southern Tunisia), *Grasas y Aceites*, 2009, 60:498–506.

- Zhou P.C., Huang W., Zhang R.B., Zou Z.X., Luo H.D., Falih A.A., Li Y.Q., A simple and rapid fluorimetric method for simultaneous determination of protoporphyrin IX and zinc protoporphyrin IX in whole blood, *Applied Spectroscopy*, 2008, 62(11):1268-73.
- Zunzunegui M., Ain-Lhout F., Jáuregui J., Díaz Barradas M.C., Boutaleb S., Álvarez-Cansino L., Esquivias M.P., Fruit production under different environmental and management conditions of Argan, *Argania spinosa* (L.), *Journal of Arid Environments*, 2010, 74:1138-1145.
- Πουλλή Κ., Ανάπτυξη νέων μεθόδων ποιοτικού ελέγχου βρώσιμων ελαίων με φθορισμομετρία σύγχρονης σάρωσης και σύγκριση με κλασσικές μεθόδους, Διδακτορική διατριβή, Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Ελλάδα, 2009.

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ

Ακρωνύμια

AAO	Artisanally extracted Argan Oil
CRP	C Reactive Protein
GAE	Gallic Acid Equivalents
GC-MS	Gas Chromatography with Mass Spectrometry
GPAO	Argan Oil obtained from Goat-Peeled fruit
HPLC	High-Performance liquid chromatography
IR	InfraRed spectroscopy
LDL	Low Density Lipoproteins
LODs	Limits of Detection
LOOCV	Leave One Out Cross Validation
LOQs	Limits of Quantification
MAO	Mechanically extracted Argan Oil
NIR	Near Infrared Spectroscopy
PAHs	PolyAromatic Hydrocarbons
PLS	Partial Least Squares
ROS	Reactive Oxygen Species
SIA	Sequential-Injection Analysis
TIRF	Total Internal Reflection Fluorescence
TSyF	Total Synchronous Fluorescence
UNESCO	United Nations Educational, Scientific and Cultural Organization
UV	UltraViolet spectroscopy
HDL	High Density Lipoproteins
ΦΣΣ	Φθορισμομετρία Σύγχρονης Σάρωσης