

**Γ Ε Ω Π Ο Ν Ι Κ Ο Π Α Ν Ε Π Ι Σ Τ Η Μ Ι Ο Α Θ Η Ν Ω Ν**

**Τ Μ Η Μ Α Ε Π Ι Σ Τ Η Μ Η Σ Τ Ρ Ο Φ Ι Μ Ω Ν Κ Α Ι Δ Ι Α Τ Ρ Ο Φ Η Σ Τ Ο Υ Α Ν Θ Ρ Ω Π Ο Υ**

**Π Ρ Ο Γ Ρ Α Μ Μ Α Μ Ε Τ Α Π Τ Υ Χ Ι Α Κ Ω Ν Σ Π Ο Υ Δ Ω Ν**

**«Ε Π Ι Σ Τ Η Μ Η & Τ Ε Χ Ν Ο Λ Ο Γ Ι Α Τ Ρ Ο Φ Ι Μ Ω Ν & Δ Ι Α Τ Ρ Ο Φ Η Τ Ο Υ Α Ν Θ Ρ Ω Π Ο Υ»**

**Κ Α Τ Ε Υ Θ Υ Ν Σ Η Ε Π Ε Ξ Ε Ρ Γ Α Σ Ι Α Σ & Σ Υ Ν Τ Η Ρ Η Σ Η Σ Τ Ρ Ο Φ Ι Μ Ω Ν**

**Θερμική Υποβάθμιση των Ποιοτικών Χαρακτηριστικών του Ελαιολάδου**

**ΕΛΠΙΔΑ Γ. ΑΛΕΥΡΑ**

**ΑΘΗΝΑ 2015**

**ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ**

ΕΠΙΒΛΕΠΩΝ ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ

ΣΤΟΦΟΡΟΣ ΝΙΚΟΛΑΟΣ, ΑΝΑΠΛΗΡΩΤΗΣ ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ

**ΜΕΛΗ**

ΠΑΝΑΓΟΥ ΕΥΣΤΑΘΙΟΣ, ΕΠΙΚΟΥΡΟΣ ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ

ΜΑΛΛΟΥΧΟΣ ΑΘΑΝΑΣΙΟΣ, ΛΕΚΤΟΡΑΣ

*Στους γονείς μου Γρηγόρη και Άσπα*

## **ΠΡΟΛΟΓΟΣ**

Το ελαιόλαδο από την αρχαιότητα αποτελούσε αναπόσπαστο στοιχείο των διατροφικών, θρησκευτικών, αθλητικών και λοιπών συνηθειών του λαού μας. Αποτελεί τη βάση της Μεσογειακής διατροφής, η οποία είναι παγκοσμίως γνωστή όχι μόνο για την εξαιρετική γεύση και ποιότητά της, αλλά και για τα πολυάριθμα οφέλη της στην υγεία του ανθρώπου.

Λόγω της όψης του, το ελαιόλαδο ονομάστηκε από τον Όμηρο «υγρό χρυσάφι» και όχι άδικα καθώς πλέον είναι και επιστημονικά αποδεδειγμένο το ευεργετικό αποτέλεσμα της κατανάλωσής του στην ανθρώπινη υγεία. Η πλούσια σύνθεσή του σε αντιοξειδωτικά συστατικά το καθιστά ως το ανώτερης ποιότητας φυτικό έλαιο, τόσο για νωπή κατανάλωση όσο και σαν βάση για μαγείρεμα.

Για τους παραπάνω λόγους, αλλά και λόγω της βαθιάς έρευνας που έχει γίνει και εξακολουθεί να γίνεται πάνω στο ελαιόλαδο, έχει επιλεγθεί ως πρώτη ύλη για την εκπόνηση της μεταπτυχιακής αυτής διατριβής.

Το μεγαλύτερο κομμάτι της ερευνητικής διαδικασίας έλαβε μέρος στο Εργαστήριο Ανάλυσης και Χημείας Τροφίμων και ένα τμήμα της διεκπεραιώθηκε στο Εργαστήριο Μηχανικής Τροφίμων.

Στο σημείο αυτό θα ήθελα να ευχαριστήσω όσους συνέβαλαν στην εκπόνηση της εργασίας αυτής. Αρχικά τον επιβλέποντα καθηγητή μου, κύριο Νικόλαο Στοφόρο για την έμπειρη καθοδήγηση και τις εύστοχες παρατηρήσεις και συμβουλές του. Τους κ.κ. Πανάγου Ευστάθιο, Επίκουρο καθηγητή και Μαλλούχο Αθανάσιο, Λέκτορα για την τιμή που μου έκαναν να αποτελέσουν μέλη της επιτροπής επίβλεψης και αξιολόγησης αυτής της διπλωματικής εργασίας.

Στη συνέχεια τη Δρ. Αυγή Γαρδέλη για την πολύτιμη καθοδήγηση και βοήθεια στο εργαστήριο Ανάλυσης και Χημείας Τροφίμων και την Δρ. Μαρία Γεωργιάδου για τη βοήθεια που μου προσέφερε στο Εργαστήριο Μηχανικής Τροφίμων.

Την εταιρεία ΕΛΑΪΣ για την ευγενική χορηγία των δειγμάτων ελαιολάδου.

Ιδιαίτερες ευχαριστίες ανήκουν στους γονείς μου και τους φίλους μου για την αδιάκοπη συμπαράσταση και βοήθεια που μου προσφέρουν.

## ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η παρούσα μεταπτυχιακή διατριβή ασχολείται με τη θερμική υποβάθμιση του ελαιολάδου κατά την αποθήκευση του σε υψηλές θερμοκρασίες, παρουσία και απουσία οξυγόνου. Ο στόχος της μελέτης αυτής ήταν ο προσδιορισμός των κινητικών των μεταβολών ορισμένων ποιοτικών παραμέτρων. Οι ποιοτικές παράμετροι που εξετάστηκαν είναι η ελεύθερη οξύτητα, ο αριθμός υπεροξειδίων, οι συντελεστές απόσβεσης K232 και K270, η συγκέντρωση σε ολικά φαινολικά, ο χρόνος επαγωγής της οξείδωσης και η μεταβολή του χρώματος. Οι παράμετροι αυτές μελετήθηκαν για διαφορετικές θερμοκρασίες αποθήκευσης συναρτήσει του χρόνου αποθήκευσης.

Για τη διεξαγωγή του πειράματος χρησιμοποιήθηκαν δύο κατηγορίες ελαιολάδου: το εξαιρετικά παρθένο ελαιόλαδο και το ελαιόλαδο. Οι θερμοκρασίες οι οποίες εξετάστηκαν ήταν οι 40, 60, 80 και 100°C. Οι 40 και 60°C θεωρούνται θερμοκρασίες αποθήκευσης, ενώ οι 80 και 100°C θεωρούνται θερμοκρασίες μαγειρέματος. Στους 40°C τα δείγματα αποθηκεύθηκαν συνολικά για 150 ημέρες χωρίς οξυγόνο ενώ στους 60°C αποθηκεύθηκαν για 90 ημέρες παρουσία και απουσία οξυγόνου. Στους 80°C αποθηκεύθηκαν για 14 ημέρες και στους 100°C για 3,5 ημέρες (84 ώρες), παρουσία και απουσία οξυγόνου. Οι δειγματοληψίες πραγματοποιήθηκαν ανά διαφορετικά χρονικά διαστήματα για κάθε θερμοκρασία.

Τα πειραματικά αποτελέσματα που προέκυψαν, δείχνουν ότι οι ποιοτικές παράμετροι ακολούθησαν κινητική μηδενικής τάξης, μεταβαλλόμενες γραμμικά συναρτήσει του χρόνου. Επιπλέον, έγινε συσχετισμός των μεταβολών ορισμένων ποιοτικών παραμέτρων μεταξύ τους και βρέθηκε γραμμική συσχέτιση μεταξύ των μεταβολών του αριθμού υπεροξειδίων συναρτήσει του χρόνου επαγωγής της οξείδωσης. Η επίδραση της θερμοκρασίας στη μεταβολή των εξεταζόμενων παραμέτρων αποδόθηκε με τη χρήση της εξίσωσης Arrhenius ως δευτερογενούς μοντέλου. Ενσωματώνοντας την εξίσωση Arrhenius στο πρωτογενές, γραμμικό μοντέλο, έγινε προσδιορισμός των κινητικών παραμέτρων  $k_{T_{ref}}$  και  $E_A$  με προσαρμογή, σε ένα βήμα, του προκύπτοντος σύνθετου μοντέλου στις πειραματικές μετρήσεις. Οι προβλεπόμενες τιμές που προέκυψαν από την εφαρμογή του μοντέλου αυτού, ήταν σε καλή συμφωνία με τις πειραματικές τιμές που λήφθηκαν. Από το σύνθετο μαθηματικό μοντέλο που αναπτύχθηκε, έγινε προσεγγιστική εκτίμηση του χρόνου ζωής των δύο κατηγοριών ελαιολάδου εκτός των πειραματικών θερμοκρασιών και συγκεκριμένα στους 20, 30, 40 και 50°C.

Τα συμπεράσματα που προέκυψαν είναι ότι κατά την αποθήκευση στους 40°C απουσία οξυγόνου, οι μεταβολές στους εξεταζόμενους ποιοτικούς δείκτες ήταν πολύ μικρές για το εξαιρετικά παρθένο ελαιόλαδο, ενώ ήταν ανύπαρκτες στην περίπτωση του ελαιολάδου, καθώς καμία από τις παραμέτρους δε μεταβλήθηκε συναρτήσει του χρόνου. Οι μεταβολές των δεικτών οξείδωσης του ελαιολάδου, στις υψηλότερες θερμοκρασίες ήταν υπαρκτές αλλά περιορισμένες σε συνθήκες απουσίας οξυγόνου. Αντίθετα όταν τα δείγματα έρχονταν σε επαφή με το ατμοσφαιρικό οξυγόνο, παρατηρήθηκαν γραμμικές μεταβολές και στις δύο κατηγορίες ελαιολάδου.

## **ABSTRACT**

In the present master thesis investigated the thermal degradation of olive oil taking place during its storage at elevated temperatures, in presence and absence of oxygen. The aim of the study was to evaluate the kinetics that describe the changes of some quality indices. The quality indices examined, were free acidity (or acid value-AV), peroxide value (PV), indicators K232 and K270, total phenolic content (TPC), induction time of oxidation (IT) and changes of the color. All indices were measured for each storage temperature as functions of storage time.

For the experimental design two olive oil categories were used: extra virgin olive oil (EVOO) and olive oil (OO), which is a mixture of virgin and refined olive oils. The examined temperatures were 40, 60, 80 and 100°C. The temperatures of 40 and 60°C are considered as storage temperatures, while 80 and 100°C are considered to be cooking temperatures. The olive oil samples were stored at 40°C for 150 days without oxygen and at 60°C for 90 days, with and without the presence of oxygen. At 80°C the samples were stored for 14 days and at 100°C for 3.5 days (84 hours) in presence and absence of oxygen. The sampling schedule was set at different time intervals for each of the temperatures examined.

The experimental results obtained show that the changes of the quality indices as function of storage time followed zero-order kinetics. Moreover, a linear correlation was found between induction time of oxidation and peroxide value.

A composite predictive model of the kinetic indices  $k_{T_{ref}}$  and activation energy was developed, by using the Arrhenius equation as a secondary model. This specific predictive model shows the effect that storage temperature has, on the changes of the values of the quality indices studied. Predicted values were in agreement with the experimental data. The shelf life of both olive oil categories was approximately estimated by extrapolation at 20, 30, 40 and 50°C.

The results from this study indicate that in the absence of oxygen and while stored at 40°C, the changes in the examined quality indices were almost negligible for both extra virgin olive oil and olive oil, as none of the quality parameters changed over storage time. Changes in oxidation-quality indices of both olive oil and extra virgin olive oil did occur at more elevated storage temperatures, but they were limited in oxygen-free conditions. However, when the samples were in contact with the atmospheric oxygen, linear changes were observed over time, for both olive oil categories.

## **ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ**

<b>ΠΡΟΛΟΓΟΣ</b> .....	<b>iv</b>
<b>ΠΕΡΙΛΗΨΗ</b> .....	<b>v</b>
<b>ABSTRACT</b> .....	<b>vi</b>
<b>1 ΕΙΣΑΓΩΓΗ</b> .....	<b>1</b>
1.1 ΓΕΝΙΚΑ ΓΙΑ ΤΟ ΕΛΑΙΟΛΑΔΟ.....	1
1.2 ΠΑΡΑΛΑΒΗ ΕΛΑΙΟΛΑΔΟΥ.....	1
1.2.1 ΜΕΘΟΔΟΣ ΜΕ ΠΙΕΣΗ .....	2
1.2.2 ΜΕΘΟΔΟΣ ΜΕ ΔΙΗΘΗΣΗ .....	3
1.2.3 ΜΕΘΟΔΟΣ ΜΕ ΦΥΓΟΚΕΝΤΡΗΣΗ .....	4
1.3 ΧΗΜΙΚΗ ΣΥΣΤΑΣΗ ΕΛΑΙΟΛΑΔΟΥ.....	5
1.3.1 ΛΙΠΑΡΑ ΟΞΕΑ ΚΑΙ ΤΡΙΓΛΥΚΕΡΙΔΙΑ .....	5
1.3.2 ΥΔΡΟΓΟΝΑΝΘΡΑΚΕΣ.....	7
1.3.3 ΧΡΩΣΤΙΚΕΣ.....	8
1.3.4 ΣΤΕΡΟΛΕΣ.....	9
1.3.5 ΦΑΙΝΟΛΙΚΕΣ ΕΝΩΣΕΙΣ .....	10
1.3.5.1 ΛΙΠΟΦΙΛΕΣ ΦΑΙΝΟΛΙΚΕΣ ΕΝΩΣΕΙΣ .....	10
1.3.5.2 ΥΔΡΟΦΙΛΕΣ ΦΑΙΝΟΛΙΚΕΣ ΕΝΩΣΕΙΣ (ΠΟΛΙΚΑ ΦΑΙΝΟΛΙΚΑ) .....	10
1.3.6 ΜΗ ΓΛΥΚΕΡΙΔΙΚΟΙ ΕΣΤΕΡΕΣ.....	14
1.3.7 ΚΗΡΟΙ 14	
1.3.8 ΤΡΙΤΕΡΠΕΝΙΚΕΣ ΑΛΚΟΟΛΕΣ .....	14
1.3.9 ΑΛΕΙΦΑΤΙΚΕΣ ΑΛΚΟΟΛΕΣ.....	15
1.3.10 ΠΤΗΤΙΚΕΣ ΚΑΙ ΑΡΩΜΑΤΙΚΕΣ ΕΝΩΣΕΙΣ.....	15
1.4 ΠΟΙΟΤΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΕΛΑΙΟΛΑΔΟΥ .....	15
1.4.1 ΟΞΥΤΗΤΑ ΕΛΑΙΟΛΑΔΟΥ (ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΕΛΕΥΘΕΡΩΝ ΛΙΠΑΡΩΝ ΟΞΕΩΝ).....	15
1.4.2 ΑΡΙΘΜΟΣ ΥΠΕΡΟΞΕΙΔΙΩΝ .....	16
1.4.3 ΣΥΝΤΕΛΕΣΤΕΣ ΑΠΟΣΒΕΣΗΣ (K232 και K270).....	16
1.5 ΚΑΤΗΓΟΡΙΕΣ ΕΛΑΙΟΛΑΔΟΥ.....	17
1.6 ΟΞΕΙΔΩΣΗ ΕΛΑΙΟΛΑΔΟΥ .....	21
1.6.1 ΟΞΕΙΔΩΣΗ ΛΙΠΙΔΙΩΝ.....	21
<b>2 ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ</b> .....	<b>23</b>
2.1 ΔΕΙΓΜΑΤΑ ΕΛΑΙΟΛΑΔΟΥ.....	23
2.1.1 ΘΕΡΜΙΚΗ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ ΕΛΑΙΟΛΑΔΟΥ .....	23
2.1.2 ΑΠΟΘΗΚΕΥΣΗ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ.....	24
2.2 ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΤΩΝ ΕΛΕΥΘΕΡΩΝ ΛΙΠΑΡΩΝ ΟΞΕΩΝ, (ΕΝ ΨΥΧΡΩ ΜΕΘΟΔΟΣ).....	24
2.3 ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΤΟΥ ΑΡΙΘΜΟΥ ΥΠΕΡΟΞΕΙΔΙΩΝ .....	25
2.4 ΦΑΣΜΑΤΟΦΩΤΟΜΕΤΡΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ ΣΤΟ ΥΠΕΡΙΩΔΕΣ.....	27
2.5 ΜΕΤΡΗΣΗ ΟΞΕΙΔΩΤΙΚΗΣ ΣΤΑΘΕΡΟΤΗΤΑΣ ΕΛΑΙΟΛΑΔΟΥ (RANCIMAT METHOD) .....	33
2.6 ΜΕΤΡΗΣΗ ΤΗΣ ΜΕΤΑΒΟΛΗΣ ΤΟΥ ΧΡΩΜΑΤΟΣ .....	35
2.7 ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ.....	37
<b>3 ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΣΥΖΗΤΗΣΗ</b> .....	<b>38</b>
3.1 ΜΕΤΑΒΟΛΕΣ ΠΟΙΟΤΙΚΩΝ ΠΑΡΑΜΕΤΡΩΝ .....	38

3.1.1	ΘΕΥΤΗΤΑ.....	38
3.1.2	ΑΡΙΘΜΟΣ ΥΠΕΡΟΞΕΙΔΙΩΝ .....	40
3.1.3	ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΗ ΟΛΙΚΩΝ ΦΑΙΝΟΛΙΚΩΝ.....	42
3.1.4	ΧΡΟΝΟΣ ΕΠΑΓΩΓΗΣ ΤΗΣ ΟΞΕΙΔΩΣΗΣ.....	44
3.1.5	ΣΥΝΤΕΛΕΣΤΕΣ ΑΠΟΣΒΕΣΗΣ Κ232 ΚΑΙ Κ270.....	46
3.1.6	ΜΕΤΑΒΟΛΗ ΧΡΩΜΑΤΟΣ .....	49
3.2	ΣΥΣΧΕΤΙΣΗ ΤΗΣ ΜΕΤΑΒΟΛΗΣ ΤΟΥ ΧΡΟΝΟΥ ΕΠΑΓΩΓΗΣ ΤΗΣ ΟΞΕΙΔΩΣΗΣ ΚΑΙ ΤΟΥ ΑΡΙΘΜΟΥ ΥΠΕΡΟΞΕΙΔΙΩΝ .....	52
3.3	ΠΡΟΣΑΡΜΟΓΗ ΤΩΝ ΔΕΔΟΜΕΝΩΝ ΣΤΗΝ ΕΞΙΣΩΣΗ <i>ARRHENIUS</i> ΓΙΑ ΤΟΝ ΥΠΟΛΟΓΙΣΜΟ ΤΗΣ $E_A$ ΤΩΝ ΜΕΤΑΒΟΛΩΝ ΤΩΝ ΠΟΙΟΤΙΚΩΝ ΠΑΡΑΜΕΤΡΩΝ .....	53
3.4	ΔΗΜΙΟΥΡΓΙΑ ΣΥΝΘΕΤΟΥ ΜΟΝΤΕΛΟΥ ΠΡΟΒΛΕΨΗΣ ΤΩΝ ΜΕΤΑΒΟΛΩΝ ΤΩΝ ΠΟΙΟΤΙΚΩΝ ΠΑΡΑΜΕΤΡΩΝ.....	57
3.5	ΠΡΟΣΕΓΓΙΣΤΙΚΗ ΕΚΤΙΜΗΣΗ ΤΗΣ ΔΙΑΡΚΕΙΑΣ ΖΩΗΣ ΤΟΥ ΕΛΑΙΟΛΑΔΟΥ ΣΕ ΔΙΑΦΟΡΕΤΙΚΕΣ ΘΕΡΜΟΚΡΑΣΙΕΣ ΑΠΟΘΗΚΕΥΣΗΣ.....	65
<b>4</b>	<b>ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ .....</b>	<b>67</b>
<b>5</b>	<b>ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ .....</b>	<b>69</b>



## **ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΕΙΚΟΝΩΝ**

Εικόνα 1.1. Τα κύρια λιπαρά οξέα του ελαιολάδου και οι ποσοστιαίες συγκεντρώσεις τους (Ramírez-Tortosa et al. 2006).....	6
Εικόνα 1.2. Σχηματική απεικόνιση του σχηματισμού ενός τριγλυκεριδίου και η χημική δομή του (Ramírez-Tortosa et al. 2006) .....	7
Εικόνα 1.3. Χημική δομή του σκουαλενίου (Ramírez-Tortosa et al. 2006).....	7
Εικόνα 1.4. Οι χημικές δομές του β-καροτενίου και του λυκοπενίου (Ramírez-Tortosa et al. 2006) .....	8
Εικόνα 1.5. Οι χημικές δομές της χλωροφύλλης α και της χλωροφύλλης β (Ramírez-Tortosa et al. 2006) .....	9
Εικόνα 1.6. Οι κύριες στερόλες του ελαιολάδου (Boskou et al.2007) .....	9
Εικόνα 1.7. Χημικές δομές τοκοφερολών και τοκοτριενολών του ελαιολάδου (Ramírez-Tortosa et al. 2006) .....	10
Εικόνα 1.8. Χημική δομή των φαινολικών οξέων του ελαιολάδου (Ramírez-Tortosa et al. 2006) .....	11
Εικόνα 1.9. Χημική δομή των φαινολικών αλκοολών του ελαιολάδου (Ramírez-Tortosa et al. 2006) .....	12
Εικόνα 1.10. Χημική δομή των σεκοϊριδοειδών του ελαιολάδου (Ramírez-Tortosa et al. 2006) .....	12
Εικόνα 1.11. Χημική δομή των λιγνανών του ελαιολάδου (Ramírez-Tortosa et al. 2006) .....	13
Εικόνα 1.12. Χημική δομή των φλαβονών του ελαιολάδου (Ramírez-Tortosa et al. 2006) .....	13
Εικόνα 1.13. Χημικές δομές ερυθροδιόλης και ουβαόλης (Ramírez-Tortosa et al. 2006) .....	14
Εικόνα 1.14. Οξείδωση των πολυακόρεστων λιπαρών οξέων (PUFA) και σχηματισμός πρωτογενών (υδροϋπεροξειδία) και δευτερογενών (πτητικές και μη πτητικές ενώσεις) προϊόντων. (Aparicio et al. 2013) .....	22
Εικόνα 2.1. Φιαλίδια φύλαξης δειγμάτων ελαιολάδου.....	23
Εικόνα 2.2. Η συσκευή Rancimat 679 και το καταγραφικό της.....	33
Εικόνα 2.3. Καμπύλες αποτελεσμάτων για τρία δείγματα λαδιού όπως δίνονται από τη Rancimat. ....	34
Εικόνα 2.4. Σχηματικά η αρχή λειτουργίας της συσκευής Rancimat.....	35
Εικόνα 2.5. Κλίμακα μεταβολής των χρωμάτων στο σύστημα Munsell. (Figura & Texeira, 2007) .....	37
Εικόνα 3.1. Το χρώμα του εξαιρετικά παρθένου ελαιολάδου (EVOO) πριν και μετά την αποθήκευση στους 60°C με οξυγόνο (ορ). ....	51
Εικόνα 3.2. Το χρώμα του απλού ελαιολάδου (ΟΟ) πριν και μετά την αποθήκευσή του στους 60°C με οξυγόνο (ορ). ....	51

## **ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΠΙΝΑΚΩΝ**

Πίνακας 1.1. Ποιοτικά κριτήρια κατάταξης των διαφόρων τύπων ελαιολάδου (Κώδικας Τροφίμων και Ποτών, Αγορανομικός Κώδικας και Κανονισμός (ΕΚ) 1513/2001).....	20
Πίνακας 3.1 Επίδραση της θερμοκρασίας στο ρυθμό μεταβολής $k$ της ελεύθερης οξύτητας ( $\Delta AV/h$ ) για το εξαιρετικά παρθένο (EVOO) και το ελαιόλαδο (OO) κατά την αποθήκευσή τους με (op) και χωρίς (cl) οξυγόνο στις θερμοκρασίες των 60, 80 και 100°C. Η ενέργεια ενεργοποίησης $E_A$ για τη μεταβολή της ελεύθερης οξύτητας κάθε τύπου ελαιολάδου, υπολογίζεται σε απόλυτη θερμοκρασία (K) από τις κλίσεις των ευθειών του Σχήματος 3.17.A. ....	55
Πίνακας 3.2 Επίδραση της θερμοκρασίας στο ρυθμό μεταβολής $k$ του αριθμού υπεροξειδίων ( $\Delta PV/h$ ) για το εξαιρετικά παρθένο (EVOO) και το ελαιόλαδο (OO) κατά την αποθήκευσή τους με (op) και χωρίς (cl) οξυγόνο στις θερμοκρασίες των 60, 80 και 100°C. Η ενέργεια ενεργοποίησης $E_A$ για τη μεταβολή της ελεύθερης οξύτητας κάθε τύπου ελαιολάδου, υπολογίζεται σε απόλυτη θερμοκρασία (K) από τις κλίσεις των ευθειών του Σχήματος 3.17.B. ....	55
Πίνακας 3.3: Επίδραση της θερμοκρασίας στο ρυθμό μεταβολής $k$ της συγκέντρωσης των ολικών φαινολικών ( $\Delta TPC/h$ ) για το εξαιρετικά παρθένο (EVOO) και το ελαιόλαδο (OO) κατά την αποθήκευσή τους με (op) και χωρίς (cl) οξυγόνο στις θερμοκρασίες των 60, 80 και 100°C. Η ενέργεια ενεργοποίησης $E_A$ για τη μεταβολή της ελεύθερης οξύτητας κάθε τύπου ελαιολάδου, υπολογίζεται σε απόλυτη θερμοκρασία (K) από τις κλίσεις των ευθειών του διαγράμματος 3.17.C.....	56
Πίνακας 3.4 Επίδραση της θερμοκρασίας στο ρυθμό μεταβολής $k$ του χρόνου επαγωγής της οξειδωσης ( $\Delta IT/h$ ) για το εξαιρετικά παρθένο (EVOO) και το ελαιόλαδο (OO) κατά την αποθήκευσή τους με (op) και χωρίς (cl) οξυγόνο στις θερμοκρασίες των 60, 80 και 100°C. Η ενέργεια ενεργοποίησης $E_A$ για τη μεταβολή της ελεύθερης οξύτητας κάθε τύπου ελαιολάδου, υπολογίζεται σε απόλυτη θερμοκρασία (K) από τις κλίσεις των ευθειών του διαγράμματος 3.17.D. ....	56
Πίνακας 3.5 Επίδραση της θερμοκρασίας στο ρυθμό μεταβολής $k$ του συντελεστή απόσβεσης $K_{232}$ ( $\Delta K_{232}/h$ ) για το εξαιρετικά παρθένο (EVOO) και το ελαιόλαδο (OO) κατά την αποθήκευσή τους με (op) και χωρίς (cl) οξυγόνο στις θερμοκρασίες των 60, 80 και 100°C. Η ενέργεια ενεργοποίησης $E_A$ για τη μεταβολή της ελεύθερης οξύτητας κάθε τύπου ελαιολάδου, υπολογίζεται σε απόλυτη θερμοκρασία (K) από τις κλίσεις των ευθειών του διαγράμματος 3.17.E. ....	56

Πίνακας 3.6 Επίδραση της θερμοκρασίας στο ρυθμό μεταβολής $k$ του ολικού χρώματος ( $\Delta E/h$ ) για το εξαιρετικά παρθένο (EVOO) και το ελαιόλαδο (OO) κατά την αποθήκευσή τους με (op) και χωρίς (cl) οξυγόνο στις θερμοκρασίες των 60, 80 και 100°C. Η ενέργεια ενεργοποίησης $E_A$ για τη μεταβολή της ελεύθερης οξύτητας κάθε τύπου ελαιολάδου, υπολογίζεται σε απόλυτη θερμοκρασία (K) από τις κλίσεις των ευθειών του διαγράμματος 3.17.F.....	57
Πίνακας 3.7 Κινητικές παράμετροι $k_{70^\circ C}$ και $E_A$ του ρυθμού μεταβολής της οξύτητας, όπως αυτές υπολογίστηκαν με τη χρήση του σύνθετου μοντέλου πρόβλεψης (Εξ. 3), για το εξαιρετικά παρθένο (EVOO) και το ελαιόλαδο (OO) κατά την αποθήκευσή τους με (op) και χωρίς (cl) οξυγόνο στις θερμοκρασίες των 40, 60, 80 και 100°C.....	63
Πίνακας 3.8 Κινητικές παράμετροι $k_{70^\circ C}$ και $E_A$ του ρυθμού μεταβολής του αριθμού υπεροξειδίων, όπως αυτές υπολογίστηκαν με τη χρήση του σύνθετου μοντέλου πρόβλεψης (Εξ. 3), για το εξαιρετικά παρθένο (EVOO) και το ελαιόλαδο (OO) κατά την αποθήκευσή τους με (op) και χωρίς (cl) οξυγόνο στις θερμοκρασίες των 40, 60, 80 και 100°C. ....	63
Πίνακας 3.9 Κινητικές παράμετροι $k_{70^\circ C}$ και $E_A$ του ρυθμού μεταβολής του χρόνου επαγωγής της οξείδωσης, όπως αυτές υπολογίστηκαν με τη χρήση του σύνθετου μοντέλου πρόβλεψης (Εξ. 3), για το εξαιρετικά παρθένο (EVOO) και το ελαιόλαδο (OO) κατά την αποθήκευσή τους με (op) και χωρίς (cl) οξυγόνο στις θερμοκρασίες των 40, 60, 80 και 100°C. ....	63
Πίνακας 3.10 Κινητικές παράμετροι $k_{70^\circ C}$ και $E_A$ του ρυθμού μεταβολής του περιεχομένου σε ολικά φαινολικά, όπως αυτές υπολογίστηκαν με τη χρήση του σύνθετου μοντέλου πρόβλεψης (Εξ. 3), για το εξαιρετικά παρθένο (EVOO) και το ελαιόλαδο (OO) κατά την αποθήκευσή τους με (op) και χωρίς (cl) οξυγόνο στις θερμοκρασίες των 40, 60, 80 και 100°C .....	63
Πίνακας 3.11 Καταγραφή των προβλεπόμενων τιμών της σταθεράς $k_{70}$ του ρυθμού μεταβολής του περιεχομένου σε ολικά φαινολικά και της ενέργειας ενεργοποίησης $E_A$ , όπως αυτές υπολογίστηκαν με τη χρήση του σύνθετου μοντέλου πρόβλεψης (3), για το εξαιρετικά παρθένο (EVOO) και το ελαιόλαδο (OO) κατά την αποθήκευσή τους με (op) και χωρίς (cl) οξυγόνο στις θερμοκρασίες των 40, 60, 80 και 100°C.....	63
Πίνακας 3.12 Εκτιμώμενος χρόνος ζωής σε μήνες για το εξαιρετικά παρθένο ελαιόλαδο παρουσία(op) και απουσία οξυγόνου(cl), όπως υπολογίστηκε από την εξίσωση (4), αναφορικά με τα ανώτατα όρια του δείκτη $K_{270}$ .....	65
Πίνακας 3.13 Εκτιμώμενος χρόνος ζωής σε μήνες για το εξαιρετικά παρθένο ελαιόλαδο παρουσία(op) και απουσία οξυγόνου(cl), όπως υπολογίστηκε από την εξίσωση (4), αναφορικά με τα ανώτατα όρια του αριθμού υπεροξειδίων.. ....	66

## **ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΣΧΗΜΑΤΩΝ**

Σχήμα 1.1 Διάγραμμα ροής εξαγωγής ελαιολάδου με τη μέθοδο της πίεσης. ....	2
Σχήμα 1.2 Διάγραμμα ροής εξαγωγής ελαιολάδου με τη μέθοδο της διήθησης. ....	3
Σχήμα 1.3 Διάγραμμα ροής εξαγωγής ελαιολάδου με τη μέθοδο της φυγοκέντρωσης, με διαχωρισμό τριών φάσεων. ....	4
Σχήμα 3.1 Μεταβολή της οξύτητας σε δείγματα ελαιολάδου (ΟΟ) και εξαιρετικά παρθένου ελαιολάδου (EVOO), κατά την αποθήκευσή τους στους 40°C χωρίς οξυγόνο (αριστερά) και στους 60°C με (op) και χωρίς (cl) οξυγόνο (δεξιά). ....	39
Σχήμα 3.2 Μεταβολή της οξύτητας σε δείγματα ελαιολάδου (ΟΟ) και εξαιρετικά παρθένου ελαιολάδου (EVOO), με (op) και χωρίς (cl) οξυγόνο, στους 80°C (αριστερά) και στους 100°C (δεξιά). ....	39
Σχήμα 3.3 Μεταβολή του αριθμού υπεροξειδίων σε δείγματα ελαιολάδου (ΟΟ) και εξαιρετικά παρθένου ελαιολάδου (EVOO) κατά την αποθήκευσή τους στους 40°C, χωρίς οξυγόνο (αριστερά) και μεταβολή του αριθμού υπεροξειδίων σε δείγματα ελαιολάδου (ΟΟ) και εξαιρετικά παρθένου ελαιολάδου (EVOO), κατά την αποθήκευσή τους στους 60°C με (op) και χωρίς (cl) οξυγόνο (δεξιά). ....	40
Σχήμα 3.4 Μεταβολή του αριθμού υπεροξειδίων σε δείγματα ελαιολάδου (ΟΟ) και εξαιρετικά παρθένου ελαιολάδου (EVOO), κατά την αποθήκευσή τους με (op) και χωρίς (cl) οξυγόνο, στους 80°C (αριστερά) και στους 100°C (δεξιά). ....	41
Σχήμα 3.5 Μεταβολή της συγκέντρωσης των ολικών φαινολικών σε δείγματα ελαιολάδου (ΟΟ) και εξαιρετικά παρθένου ελαιολάδου (EVOO) στοις 40°C, απουσία οξυγόνου (αριστερά) και κατά την αποθήκευσή τους με (op) και χωρίς (cl) οξυγόνο, στους 60°C (δεξιά). ....	42
Σχήμα 3.6 Μεταβολή της συγκέντρωσης των ολικών φαινολικών σε δείγματα ελαιολάδου (ΟΟ) και εξαιρετικά παρθένου ελαιολάδου (EVOO), κατά την αποθήκευσή τους με (op) και χωρίς (cl) οξυγόνο, στους 80°C (αριστερά) και στους 100°C (δεξιά). ....	43
Σχήμα 3.7 Μεταβολή του χρόνου επαγωγής της οξείδωσης σε δείγματα ελαιολάδου (ΟΟ) και εξαιρετικά παρθένου ελαιολάδου (EVOO) στοις 40°C, απουσία οξυγόνου(αριστερά) και παρουσία (op) - απουσία (cl) οξυγόνου, κατά την αποθήκευσή τους στους 60°C (δεξιά). ....	44
Σχήμα 3.8 Μεταβολή του χρόνου επαγωγής της οξείδωσης σε δείγματα έξτρα παρθένου (EVOO) και απλού ελαιολάδου (ΟΟ), παρουσία (op) και απουσία (cl) οξυγόνου, κατά την αποθήκευσή τους στους 80°C (αριστερά) και στους 100°C (δεξιά) ....	45
Σχήμα 3.9 Μεταβολή του συντελεστή απόσβεσης K232 (αριστερά) και του συντελεστή απόσβεσης K270 (δεξιά), σε δείγματα ελαιολάδου (ΟΟ) και εξαιρετικά παρθένου ελαιολάδου (EVOO) στοις 40°C, απουσία οξυγόνου. ....	46

Σχήμα 3.10 Μεταβολή του συντελεστή απόσβεσης K232 (αριστερά) και του συντελεστή απόσβεσης K270 (δεξιά), σε δείγματα έξτρα παρθένου (EVOO) και απλού ελαιολάδου (OO), παρουσία (op) και απουσία (cl) οξυγόνου, κατά την αποθήκευσή τους στους 60°C. ....	47
Σχήμα 3.11 Μεταβολή του συντελεστή απόσβεσης K232 (αριστερά) και του συντελεστή απόσβεσης K270 (δεξιά), σε δείγματα έξτρα παρθένου (EVOO) και απλού ελαιολάδου (OO), παρουσία (op) και απουσία (cl) οξυγόνου, κατά την αποθήκευσή τους στους 80°C. ....	48
Σχήμα 3.12 Μεταβολή του συντελεστή απόσβεσης K232 (αριστερά) και του συντελεστή απόσβεσης K270 (δεξιά), σε δείγματα έξτρα παρθένου (EVOO) και απλού ελαιολάδου (OO), παρουσία (op) και απουσία (cl) οξυγόνου, κατά την αποθήκευσή τους στους 100°C. ....	48
Σχήμα 3.13 Μεταβολή του χρώματος του ελαιολάδου (OO) (αριστερά) και του εξαιρετικά παρθένου ελαιολάδου (EVOO) (δεξιά), μετά από 5μηνη αποθήκευση στους 40°C χωρίς οξυγόνο (cl). ....	49
Σχήμα 3.14 Μεταβολή του χρώματος του ελαιολάδου (OO), μετά από 3μηνη αποθήκευσή του, στους 60°C χωρίς οξυγόνο (cl) (αριστερά) και με οξυγόνο (op) (δεξιά). ....	50
Σχήμα 3.15 Μεταβολή του χρώματος του εξαιρετικά παρθένου ελαιολάδου (EVOO), μετά από 3μηνη αποθήκευσή του, στους 60°C χωρίς οξυγόνο (cl) (αριστερά) και με οξυγόνο (op) (δεξιά). ....	50
Σχήμα 3.16 Απεικόνιση της γραμμικής συσχέτισης των μεταβολών του αριθμού υπεροξειδίων και του χρόνου επαγωγής της οξείδωσης, σε έξτρα παρθένο (EVOO) και ελαιόλαδο (OO) με (op) και χωρίς (cl) οξυγόνο στους 60°C (επάνω) στους 80°C (μέση) και στους 100°C (κάτω). ....	52
Σχήμα 3.17 Εφαρμογή της εξίσωσης Arrhenius στις μεταβολές της ελεύθερης οξύτητας (AV-Acid Value) στο διάγραμμα A και στις μεταβολές του αριθμού υπεροξειδίων (PV-Peroxide Value) στο διάγραμμα B. Στο διάγραμμα C, ο Arrhenius εφαρμόζεται στις μεταβολές της συγκέντρωσης ολικών φαινολικών (TPC-Total Phenol Content) και στο D. στις μεταβολές του χρόνου επαγωγής της οξείδωσης (IT-Induction Time). Στο E βλέπουμε να εφαρμόζεται και στον συντελεστή απόσβεσης K232 και στο διάγραμμα F, στη συνολική μεταβολή του χρώματος (ΔE). Στην εξίσωση χρησιμοποιήθηκαν τρία σημεία, που αντιστοιχούν στις θερμοκρασίες των 60, 80 και 100°C. ....	54
Σχήμα 3.18 Επίδραση της θερμοκρασίας στη μεταβολή της ελεύθερης οξύτητας (AV) σε δείγματα ελαιολάδου (OO) και εξαιρετικά παρθένου ελαιολάδου (EVOO), κατά την αποθήκευσή τους με (op) και χωρίς (cl) οξυγόνο, στους 40, 60, 80 και 100°C. Οι γραμμές αντιστοιχούν σε προβλεπόμενες τιμές από την προσαρμογή των δεδομένων στην Εξ. (3) και τα σημεία στις πειραματικές τιμές. ....	58
Σχήμα 3.19 Επίδραση της θερμοκρασίας στη μεταβολή του αριθμού υπεροξειδίων (PV) σε δείγματα εξαιρετικά παρθένου ελαιολάδου (EVOO), κατά την αποθήκευσή τους με (op) και χωρίς (cl) οξυγόνο, στους 40, 60, 80 και	

100°C. Οι γραμμές αντιστοιχούν σε προβλεπόμενες τιμές από την προσαρμογή των δεδομένων στην Εξ. (3) και τα σημεία στις πειραματικές τιμές. ....59

Σχήμα 3.20 Επίδραση της θερμοκρασίας στη μεταβολή της συγκέντρωσης των ολικών φαινολικών (TPC) σε δείγματα εξαιρετικά παρθένου ελαιολάδου (EVOO) και ελαιολάδου (OO), κατά την αποθήκευσή τους με (op) και χωρίς (cl) οξυγόνο, στους 40, 60, 80 και 100°C. Οι γραμμές αντιστοιχούν σε προβλεπόμενες τιμές από την προσαρμογή των δεδομένων στην Εξ. (3) και τα σημεία στις πειραματικές τιμές. ....60

Σχήμα 3.21 Επίδραση της θερμοκρασίας στη μεταβολή του χρόνου επαγωγής της οξείδωσης (IT) σε δείγματα εξαιρετικά παρθένου ελαιολάδου (EVOO) και ελαιολάδου (OO), κατά την αποθήκευσή τους με (op) και χωρίς (cl) οξυγόνο, στους 40, 60, 80 και 100°C. Οι γραμμές αντιστοιχούν σε προβλεπόμενες τιμές από την προσαρμογή των δεδομένων στην Εξ. (3) και τα σημεία στις πειραματικές τιμές. ....61

Σχήμα 3.22 Επίδραση της θερμοκρασίας στη μεταβολή του δείκτη K270 σε δείγματα εξαιρετικά παρθένου ελαιολάδου (EVOO) και ελαιολάδου (OO), κατά την αποθήκευσή τους με (op) και χωρίς (cl) οξυγόνο, στους 40, 60, 80 και 100°C. Οι γραμμές αντιστοιχούν σε προβλεπόμενες τιμές από την προσαρμογή των δεδομένων στην Εξ. (3) και τα σημεία στις πειραματικές τιμές. ....612

# **1 ΕΙΣΑΓΩΓΗ**

## **1.1 ΓΕΝΙΚΑ ΓΙΑ ΤΟ ΕΛΑΙΟΛΑΔΟ**

Το ελαιόλαδο είναι το έλαιο που παράγεται αποκλειστικά από τον καρπό της ελιάς (*Olea- europaea*) (Aparicio 2013). Ελιά είναι το κοινό όνομα για περίπου 35 είδη αειθαλών θάμνων και δένδρων του γένους *Olea*, της οικογένειας *Olaeceae* που προέρχονται από τροπικές και θερμές περιοχές. Το πλέον δημοφιλές είδος ελιάς που είναι γνωστό για τους εδώδιμους καρπούς του είναι το *Olea europaea*. Ανάλογα με το υποείδος στο οποίο ανήκει και τις περιβαλλοντικές συνθήκες στις οποίες έχει καλλιεργηθεί, το ύψος του ελαιόδεντρου μπορεί να ποικίλει από 3 έως 20 μέτρα. Το κόστος βέβαια για τη σύγχρονη καλλιέργεια και συγκομιδή της ελιάς, έχει καταστήσει τα χαμηλότερα ελαιόδεντρα ύψους 4 με 5 μέτρων ως τα πιο δημοφιλή, καθώς διευκολύνουν τους αγροτικούς χειρισμούς στις χώρες που είναι γνωστές για την παραγωγή ελαιολάδου (Boskou 2007).

Στη Μεσόγειο η ελιά καλλιεργείται στις ακτές της Τουρκίας, τη Συρία, το Λίβανο, το Ισραήλ, την Ισπανία, τη Γαλλία, την Ιταλία και τη Β. Αφρική. Μέσω της Ισπανίας η καλλιέργεια της ελιάς έγινε γνωστή στο Μεξικό, την Αργεντινή και την Ουρουγουάη στη Λατινική Αμερική, ενώ οι Ιταλοί μετανάστες έκαναν γνωστή την καλλιέργειά της και στην Αυστραλία.

Στην Ελλάδα η μεγαλύτερη καλλιέργεια ελαιοδέντρων και παραγωγή ελαιολάδου γίνεται στις παράκτιες περιοχές της χώρας, στην Κρήτη, στην Πελοπόννησο, στα νησιά του Ανατολικού Αιγαίου, όπως η Λέσβος, η Σάμος και η Θάσος, καθώς και στα νησιά του Ιονίου. Επίσης η ελιά καλλιεργείται και στην Κύπρο (Boskou 2007).

## **1.2 ΠΑΡΑΛΑΒΗ ΕΛΑΙΟΛΑΔΟΥ**

Το διάγραμμα ροής των σύγχρονων μονάδων παραγωγής ελαιολάδου συνοψίζεται στις εξής τέσσερις βασικές λειτουργίες:

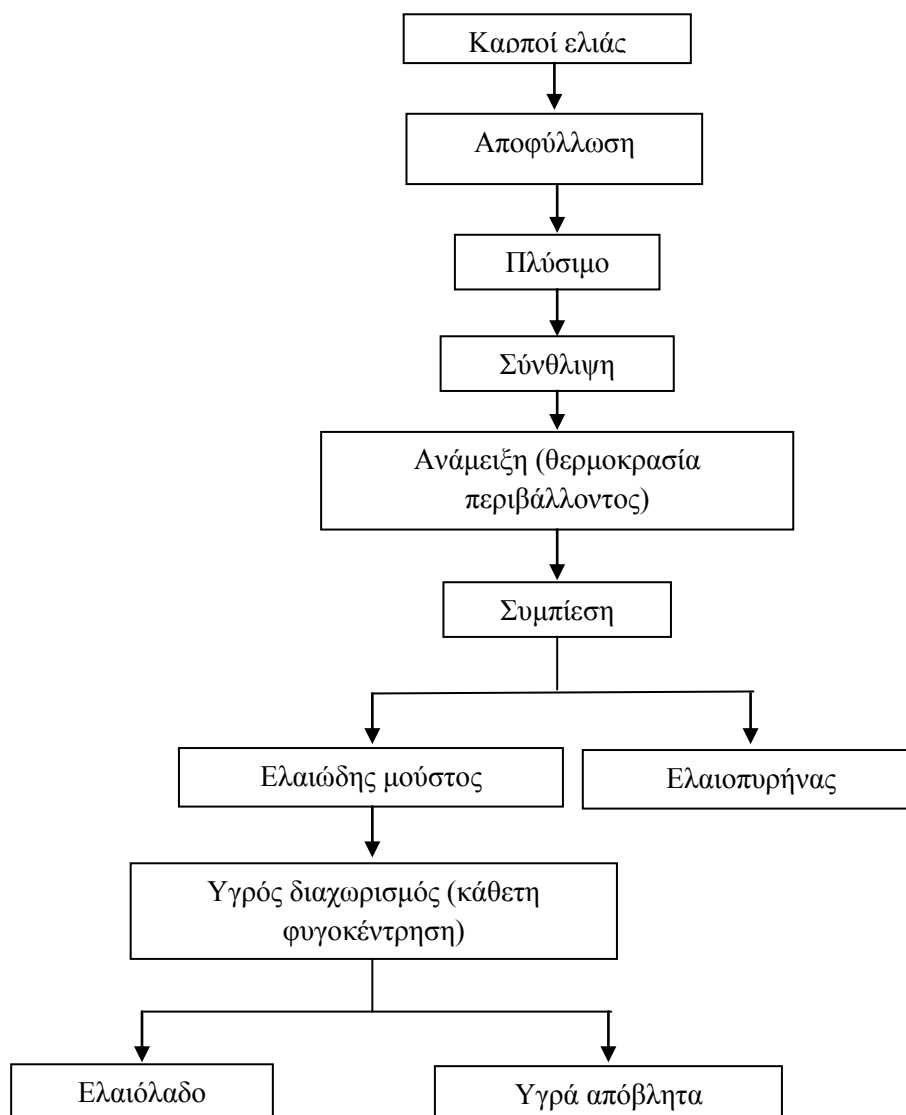
- Καθαρισμός των καρπών της ελιάς (απομάκρυνση φύλλων και ξένων σωμάτων και πλύσιμο καρπού)
- Προετοιμασία της πάστας ελιάς (σύνθλιψη, μάλαξη)
- Διαχωρισμός στερεής (ελαιοπυρήνας) και υγρής φάσης (ελαιώδης μούστος και υγρά λύματα)
- Διαχωρισμός υγρής φάσης (ελαιόλαδο και κατσίγαρος) (Boskou 2007).

Στα ελαιοτριβεία και στα εργοστάσια παραγωγής ελαιολάδου η μηχανική επεξεργασία των καρπών ελιάς γίνεται με τα εξής συστήματα :

- Πίεση
- Διήθηση
- Φυγοκέντρηση

### 1.2.1 ΜΕΘΟΔΟΣ ΜΕ ΠΙΕΣΗ

Αυτή η διαδικασία παραγωγής ελαιολάδου είναι η πλέον παραδοσιακή και χρησιμοποιούνταν για πολλούς αιώνες. Η πίεση που ασκείται στην πάστα της ελιάς, υπό κατάλληλες συνθήκες, προκαλεί τον διαχωρισμό της υγρής φάσης (ελαιόλαδο και νερό) από τη στερεά (ελαιοπυρήνας). Το διάγραμμα λειτουργίας της μεθόδου με πίεση φαίνεται στο Σχήμα 1.1 (Aragicio 2013).

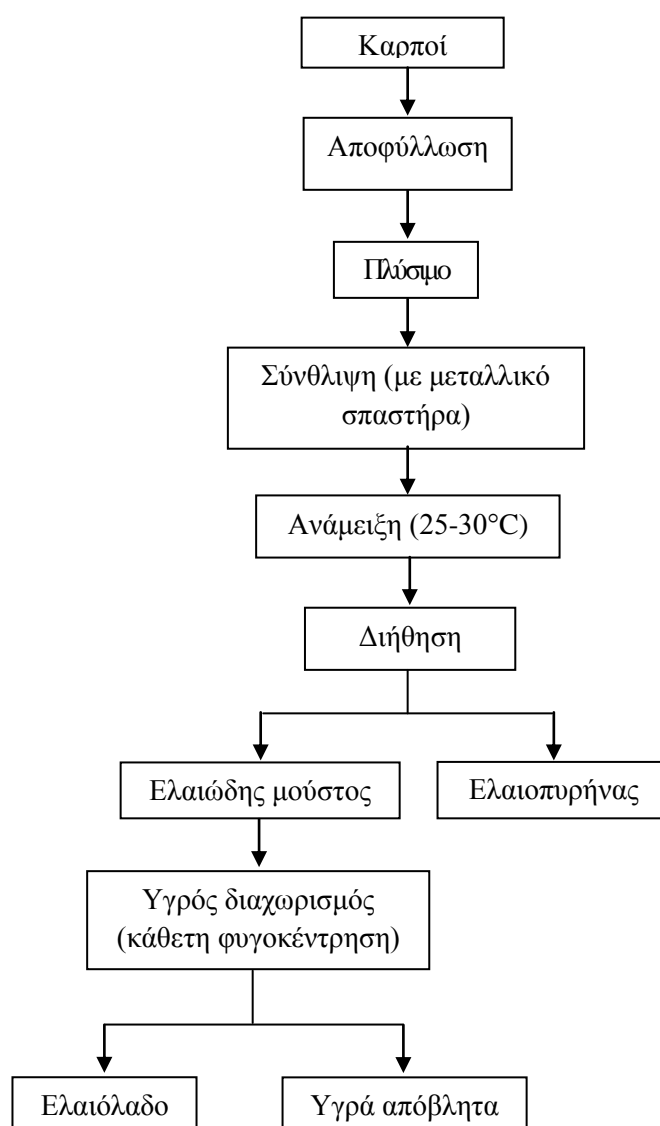


Σχήμα 1.1 Διάγραμμα ροής εξαγωγής ελαιολάδου με τη μέθοδο της πίεσης.



## 1.2.2 ΜΕΘΟΔΟΣ ΜΕ ΔΙΗΘΗΣΗ

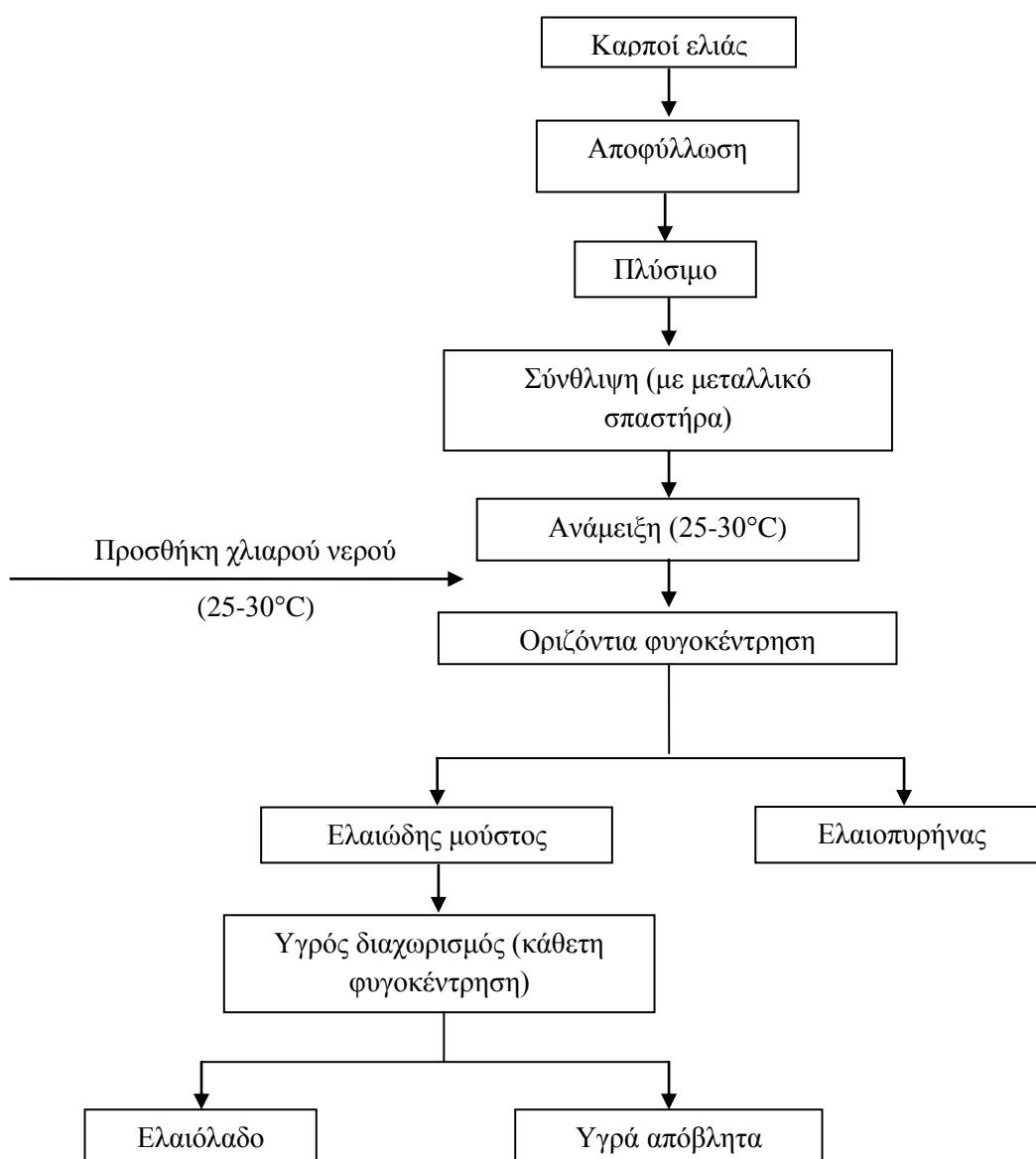
Η εξαγωγή ελαιολάδου με τη μέθοδο της διήθησης βασίζεται στη διαφορά της επιφανειακής τάσης μεταξύ του ελαίου και του νερού. Η διαφορά αυτή επιτρέπει σε μία ασάλινη λεπίδα που εμβαπτίζεται στην πάστα ελιάς να καλύπτεται επιλεκτικά με το λάδι. Όταν η ασάλινη λεπίδα αποσύρεται, το ελαιόλαδο στάζει και διαχωρίζεται από τις άλλες φάσεις δημιουργώντας μία ροή ελαιώδους μούστου. Αυτό οφείλεται στο ότι με την παρουσία των στερεών της πάστας ελιάς, το ελαιόλαδο έχει διεπιφανειακή τάση μικρότερη από του νερού. Το διάγραμμα λειτουργίας του συστήματος διήθησης παρουσιάζεται στο Σχήμα 1.2 (Aparicio 2013).



Σχήμα 1.2 Διάγραμμα ροής εξαγωγής ελαιολάδου με τη μέθοδο της διήθησης.

### 1.2.3 ΜΕΘΟΔΟΣ ΜΕ ΦΥΓΟΚΕΝΤΡΗΣΗ

Η μέθοδος με φυγοκέντρηση είναι μία συνεχής διαδικασία, η οποία διαχωρίζει το ελαιόλαδο από τις δύο άλλες φάσεις της πάστας ελιάς, δηλαδή την υγρή (υγρά απόβλητα) και την στερεά (ελαιοπυρήνας), μέσω της φυγόκεντρης δύναμης. Η μέθοδος της φυγοκέντρησης διακρίνεται σε φυγοκέντρηση με διαχωρισμό τριών φάσεων και σε φυγοκέντρηση με διαχωρισμό δύο φάσεων. Το διάγραμμα λειτουργίας της φυγοκέντρησης με διαχωρισμό τριών φάσεων φαίνεται στο Σχήμα 1.3 (Aparicio 2013).



Σχήμα 1.3 Διάγραμμα ροής εξαγωγής ελαιολάδου με τη μέθοδο της φυγοκέντρησης, με διαχωρισμό τριών φάσεων.

Οι ποιοτικές παράμετροι, όπως η ελεύθερη οξύτητα, ο αριθμός υπεροξειδίων και οι συντελεστές απόσβεσης K232 και K270 καθώς και τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά δεν παρουσιάζουν μεταβολές ανάμεσα στις δύο μεθόδους, το ίδιο και η συγκέντρωση της  $\alpha$ -τοκοφερόλης και του  $\beta$ -καροτενίου. Αυτό που φαίνεται να μεταβάλλεται είναι η περιεκτικότητα σε ολικά φαινολικά, που αποτελούν παράμετρο οξειδωτικής σταθερότητας του ελαιολάδου. Στη φυγοκέντρωση με διαχωρισμό δύο φάσεων η περιεκτικότητα του παραγόμενου ελαιολάδου σε ολικά φαινολικά είναι υψηλότερη από τον διαχωρισμό τριών φάσεων, λόγω του ότι δεν προστίθεται χλιαρό νερό κατά την ανάμειξη της πάστας ελιάς. Επίσης ο χρόνος επαγωγής της οξείδωσης είναι χαμηλότερος στη μέθοδο με διαχωρισμό τριών φάσεων (Boskou 2007).

Από τα παραπάνω, γίνεται αντιληπτό πως η μέθοδος της φυγοκέντρωσης με διαχωρισμό τριών φάσεων φαίνεται να υστερεί σε σύγκριση με τη φυγοκέντρωση με διαχωρισμό δύο φάσεων, στην οποία δεν προστίθεται χλιαρό νερό κατά την ανάμειξη της πάστας ελιάς. Για τον λόγο αυτό και η μέθοδος της φυγοκέντρωσης με διαχωρισμό δύο φάσεων χρησιμοποιείται στις μέρες μας σε μεγάλη κλίμακα, καθώς έτσι παράγεται ελαιόλαδο με υψηλότερη θρεπτική αξία, πιο έντονη γεύση και μεγαλύτερη σταθερότητα κατά την αποθήκευση.

### **1.3 ΧΗΜΙΚΗ ΣΥΣΤΑΣΗ ΕΛΑΙΟΛΑΔΟΥ**

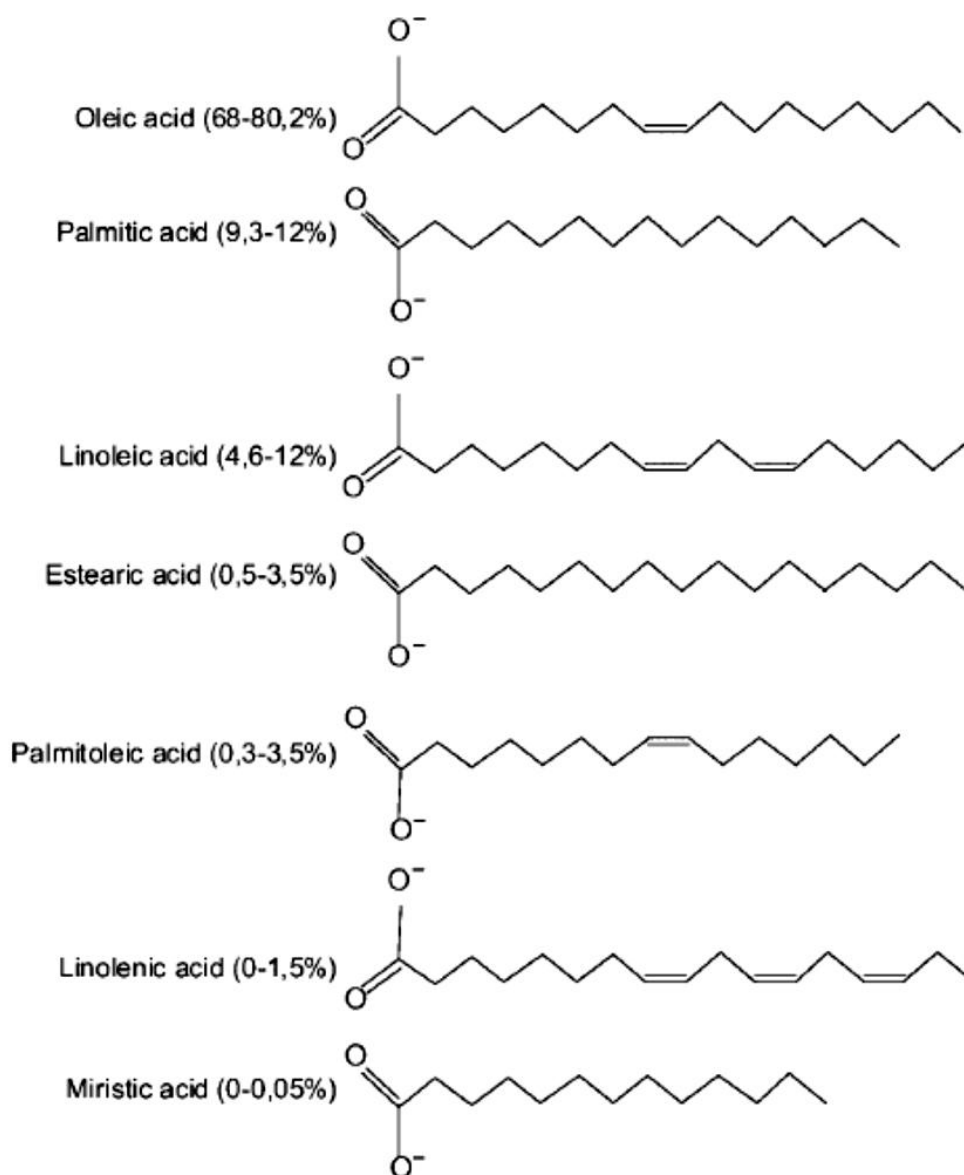
Το ελαιόλαδο αποτελείται κατά το μεγαλύτερο ποσοστό του (περίπου 98-99%) από τριγλυκερίδια και κατά το υπόλοιπο από ελεύθερα λιπαρά οξέα, μόνο- και διγλυκερίδια και μία σειρά ενώσεων, όπως υδρογονάνθρακες, στερόλες, αλειφατικές αλκοόλες, τοκοφερόλες και χρωστικές. Επίσης υπάρχουν στα συστατικά του πληθώρα φαινολικών και πτητικών ενώσεων.

Το ελαιόλαδο διακρίνεται σε σαπωνοποιήσιμο και ασαπωνοποίητο μέρος. Στο σαπωνοποιήσιμο ανήκουν τα λιπαρά οξέα (κορεσμένα και ακόρεστα) και τα τριγλυκερίδια. Στο ασαπωνοποίητο ανήκουν οι υδρογονάνθρακες (σκουαλένιο, τερπενικές αλκοόλες, στερόλες), οι χρωστικές (χλωροφύλλη  $\alpha$  και  $\beta$ , καροτένια, ξανθοφύλλη, λυκοπένιο), τα φωσφολιπίδια, οι τοκοφερόλες και οι φαινολικές ενώσεις. Το ασαπωνοποίητο μέρος αποτελεί περίπου το 1% της σύστασης του ελαιολάδου (Ramírez-Tortosa et al. 2006).

#### **1.3.1 ΛΙΠΑΡΑ ΟΞΕΑ ΚΑΙ ΤΡΙΓΛΥΚΕΡΙΔΙΑ**

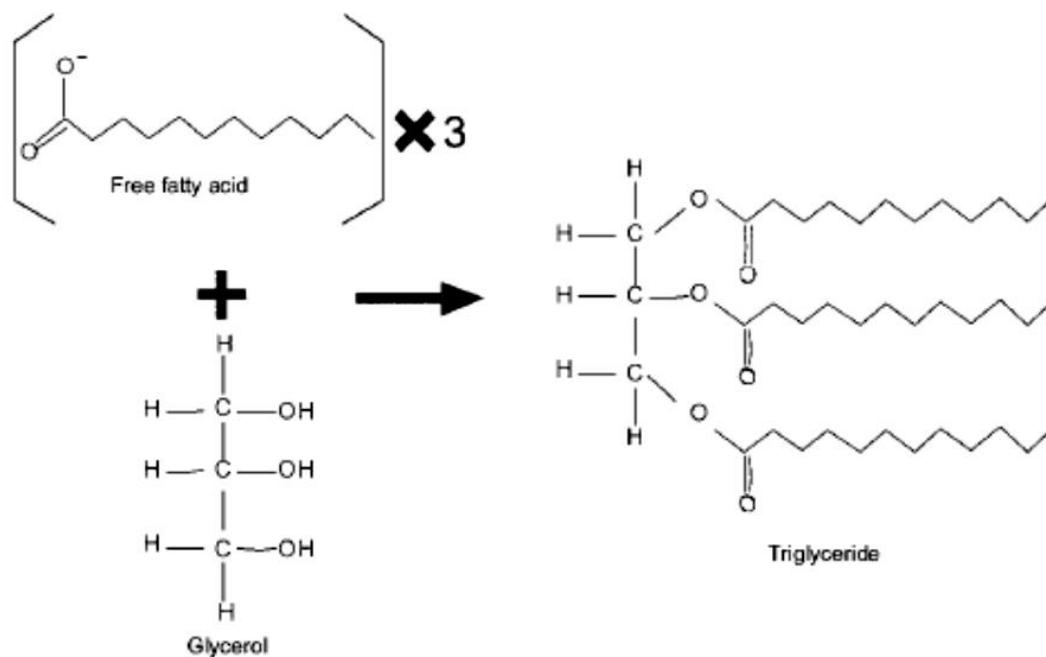
Τα λιπαρά οξέα του ελαιολάδου είναι το ελαϊκό οξύ (C18:1), ένα μονοακόρεστο λιπαρό οξύ, που έχει και τη μεγαλύτερη συγκέντρωση στο ελαιόλαδο, (68-81,5%), το παλμιτικό οξύ (C16:0), το παλμιτελαϊκό οξύ (C16:1), το στεατικό οξύ (C18:0), το λινελαϊκό οξύ (C18:2), το λινολενικό οξύ (C18:3) και το μυριστικό οξύ (C14:0), το οποίο στο λάδι απαντάται σε ελάχιστες ποσότητες. Στην Εικόνα 1.1 φαίνονται οι χημικές δομές των λιπαρών οξέων του ελαιολάδου καθώς και τα ποσοστά των συγκεντρώσεων τους στο ελαιόλαδο (Ramírez-Tortosa et al. 2006).

Η σύσταση των λιπαρών οξέων εξαρτάται από το στάδιο ωρίμανσης του καρπού της ελιάς. Το ελαϊκό οξύ είναι αυτό που σχηματίζεται πρώτο στον καρπό και φαίνεται να υπάρχει μία ισχυρή ανταγωνιστική σχέση ανάμεσα στο ελαϊκό και το παλμιτικό οξύ και ανάμεσα στο παλμιτελαϊκό και το λινελαϊκό οξύ (Boskou et al.2007).



Εικόνα 1.1. Τα κύρια λιπαρά οξέα του ελαιολάδου και οι ποσοστιαίες συγκεντρώσεις τους (Ramírez-Tortosa et al. 2006).

Τα περισσότερα από τα παραπάνω λιπαρά απαντώνται στο ελαιόλαδο με τη μορφή τριγλυκεριδίων. Το τριγλυκερίδιο σχηματίζεται όταν ένα μόριο γλυκερόλης ενωθεί με τρία λιπαρά οξέα, όπως φαίνεται στην Εικόνα 1.2. Τα ελεύθερα λιπαρά οξέα, τα μονογλυκερίδια και τα διγλυκερίδια βρίσκονται σε πολύ μικρά ποσοστά στο ελαιόλαδο συγκριτικά με τα τριγλυκερίδια.

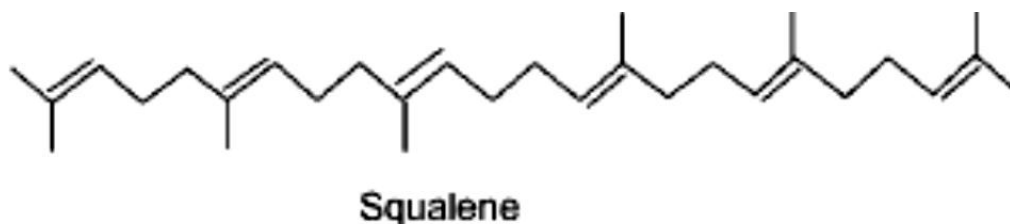


Εικόνα 1.2. Σχηματική απεικόνιση του σχηματισμού ενός τριγλυκεριδίου και η χημική δομή του (Ramírez-Tortosa et al. 2006).

### 1.3.2 ΥΔΡΟΓΟΝΑΝΘΡΑΚΕΣ

Οι υδρογονάνθρακες που συναντώνται στο ελαιόλαδο σε σημαντικές ποσότητες είναι το σκουαλένιο και το β-καροτένιο (για το οποίο γίνεται λόγος στην ενότητα με τις χρωστικές). Το σκουαλένιο είναι ο τελευταίος μεταβολίτης που προηγείται του σχηματισμού των δακτυλίων των στερολών. Η χημική του δομή φαίνεται στην Εικόνα 1.3. Η παρουσία του στο ελαιόλαδο θεωρείται σε μεγάλο ποσοστό υπεύθυνη για τις ωφέλιμες επιδράσεις του ελαιολάδου στην υγεία και συμμετέχει στην πρόληψη ορισμένων μορφών καρκίνου. Είναι το κύριο συστατικό του ασαπωνοποιήτου μέρους του ελαιολάδου και αποτελεί περισσότερο από το 90% του κλάσματος των υδρογονανθράκων.

Η συγκέντρωση του σκουαλενίου κυμαίνεται από 200-7500 mg/kg ελαιολάδου και έχουν αναφερθεί και υψηλότερα επίπεδα συγκεντρώσεων, όπως 12000 mg/kg ελαιολάδου. Η περιεκτικότητα σε σκουαλένιο εξαρτάται από την ποικιλία της ελιάς, την τεχνολογία εκχύλισης του ελαιολάδου και μειώνεται δραματικά κατά τη διαδικασία εξευγενισμού του ελαιολάδου (Boskou 2007).



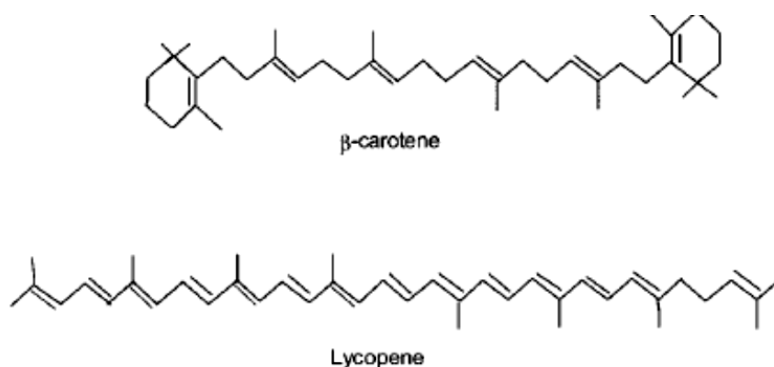
Εικόνα 1.3. Χημική δομή του σκουαλενίου (Ramírez-Tortosa et al. 2006).

### 1.3.3 ΧΡΩΣΤΙΚΕΣ

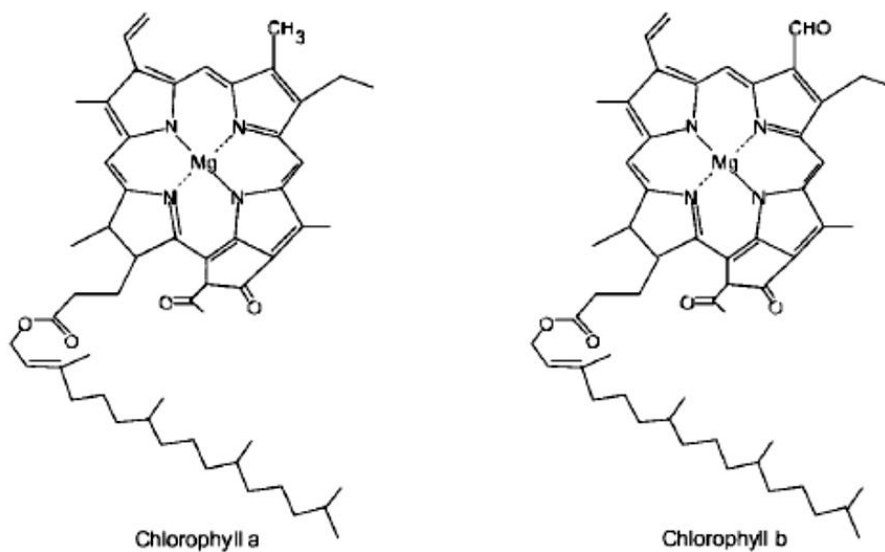
Η χημική ένωση που ευθύνεται σε μεγαλύτερο βαθμό για την πράσινη απόχρωση του ελαιολάδου, είναι η χλωροφύλλη. Οι χλωροφύλλες α και β καθώς και τα προϊόντα οξείδωσής τους, φαιοφυτίνες α και β αντίστοιχα, βρίσκονται στο ελαιόλαδο ως φυσικά συστατικά και η περιεκτικότητά τους εξαρτάται από αρκετούς παράγοντες (Cichelli & Pertesana, 2004). Ορισμένοι από τους παράγοντες που επηρεάζουν την περιεκτικότητα του ελαιολάδου σε χλωροφύλλη είναι η ποικιλία της ελιάς, ο βαθμός ωρίμανσης του ελαιοκάρπου, η μέθοδος εκχύλισης του ελαιολάδου καθώς και άλλοι βιολογικοί και τεχνικοί παράγοντες. Στο παρθένο ελαιόλαδο που προέρχεται από ώριμες ελιές, τα επίπεδα της χλωροφύλλης κυμαίνονται από 1 έως 10 mg/kg (Ramírez-Tortosa et al. 2006).

Τα καροτενοειδή είναι μία άλλη κατηγορία χρωστικών του ελαιολάδου, που ανήκουν στους υδρογονάνθρακες και στα οποία οφείλονται οι κίτρινες αποχρώσεις του ελαιολάδου. Τα κύρια καροτενοειδή του ελαιολάδου είναι το β-καροτένιο και το λυκοπένιο. Η περιεκτικότητα του ελαίου σε καροτενοειδή σχετίζεται με την παρουσία των χλωροφυλλών και επηρεάζεται από τους ίδιους παράγοντες. Στο κλάσμα των καροτενοειδών συμπεριλαμβάνονται και οι ξανθοφύλλες (Boskou et al.2007).

Οι χημικές δομές των κύριων χρωστικών του ελαιολάδου απεικονίζονται στις Εικόνες 1.4 και 1.5.



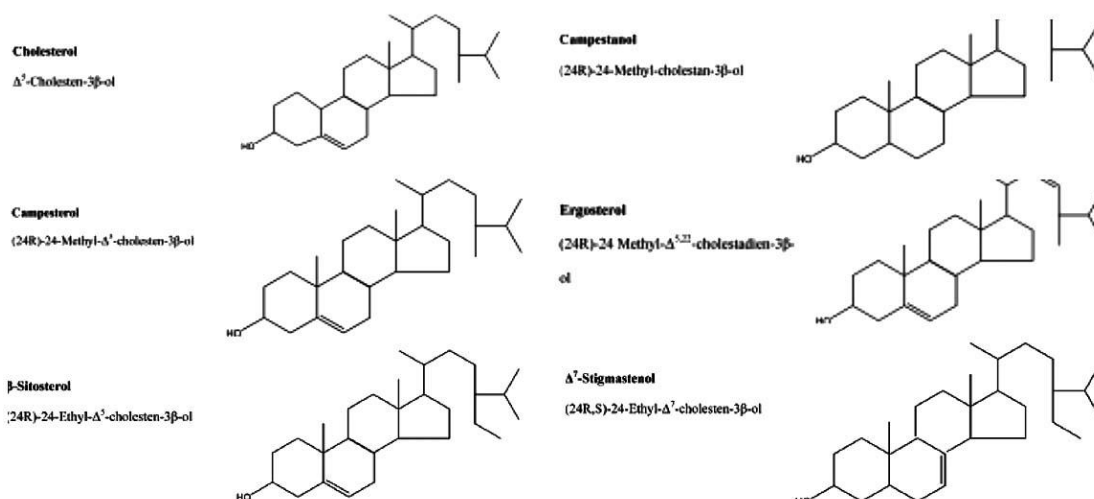
Εικόνα 1.4. Οι χημικές δομές του β-καροτενίου και του λυκοπενίου (Ramírez-Tortosa et al. 2006).



Εικόνα 1.5. Οι χημικές δομές της χλωροφύλλης α και της χλωροφύλλης β (Ramírez-Tortosa et al. 2006).

### 1.3.4 ΣΤΕΡΟΛΕΣ

Οι στερόλες είναι τετρακυκλικές ενώσεις που βιοσυντίθενται από το σκουαλένιο. Η περιεκτικότητα του ελαιολάδου σε στερόλες κυμαίνεται από 1800 έως 4939 mg/kg. Η ποσότητα των στερολών στο ελαιόλαδο χρησιμοποιείται ως δείκτης της προέλευσης και της καθαρότητάς του. Μειωμένο επίπεδο στερολών μπορεί να συσχετισθεί με αύξηση του αριθμού υπεροξειδίων κατά την αποθήκευση του ελαιολάδου (Ramírez-Tortosa et al. 2006). Στην Εικόνα 1.6 φαίνονται οι κύριες στερόλες του ελαιολάδου.



Εικόνα 1.6. Οι κύριες στερόλες του ελαιολάδου (Boskou et al.2007).

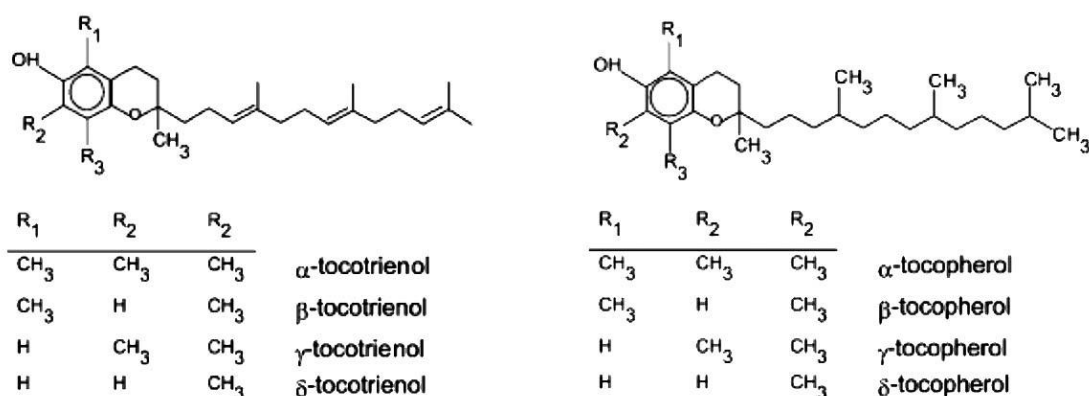
### 1.3.5 ΦΑΙΝΟΛΙΚΕΣ ΕΝΩΣΕΙΣ

Οι φαινολικές ενώσεις, είναι μια μεγάλη μία μεγάλη κατηγορία ενώσεων, που αποτελούν και τα κύρια αντιοξειδωτικά συστατικά του ελαιολάδου και διακρίνονται σε λιπόφιλες και υδρόφιλες (Servili et al. 2009).

#### 1.3.5.1 ΛΙΠΟΦΙΛΕΣ ΦΑΙΝΟΛΙΚΕΣ ΕΝΩΣΕΙΣ

Τα σημαντικότερα λιπόφιλα φαινολικά του ελαιολάδου είναι οι τοκοφερόλες και οι τοκοτριενόλες. Σε μεγαλύτερη αφθονία (90%) απαντάται η α-τοκοφερόλη (βιταμίνη E), η συγκέντρωση της οποίας κυμαίνεται από 12 έως 400 mg/kg (Ramírez-Tortosa et al. 2006).

Η συγκέντρωση της α-τοκοφερόλης παρουσιάζει έντονη διακύμανση ανάλογα με τα χαρακτηριστικά του εδάφους καλλιέργειας της ελιάς (σύσταση, δομή, υφή, κλίση, έκθεση), τους κλιματικούς παράγοντες (θερμοκρασία, ετήσια βροχόπτωση) και τις αγρονομικές συνθήκες, όπως η περιοχή προέλευσης, η ποικιλία και το στάδιο ωρίμανσης του καρπού (Servili et al. 2009). Οι χημικές δομές των διαφόρων τύπων τοκοφερολών και τοκοτριενολών παρουσιάζονται στην Εικόνα 1.7.



Εικόνα 1.7. Χημικές δομές τοκοφερολών και τοκοτριενολών του ελαιολάδου (Ramírez-Tortosa et al. 2006).

#### 1.3.5.2 ΥΔΡΟΦΙΛΕΣ ΦΑΙΝΟΛΙΚΕΣ ΕΝΩΣΕΙΣ (ΠΟΛΙΚΑ ΦΑΙΝΟΛΙΚΑ)

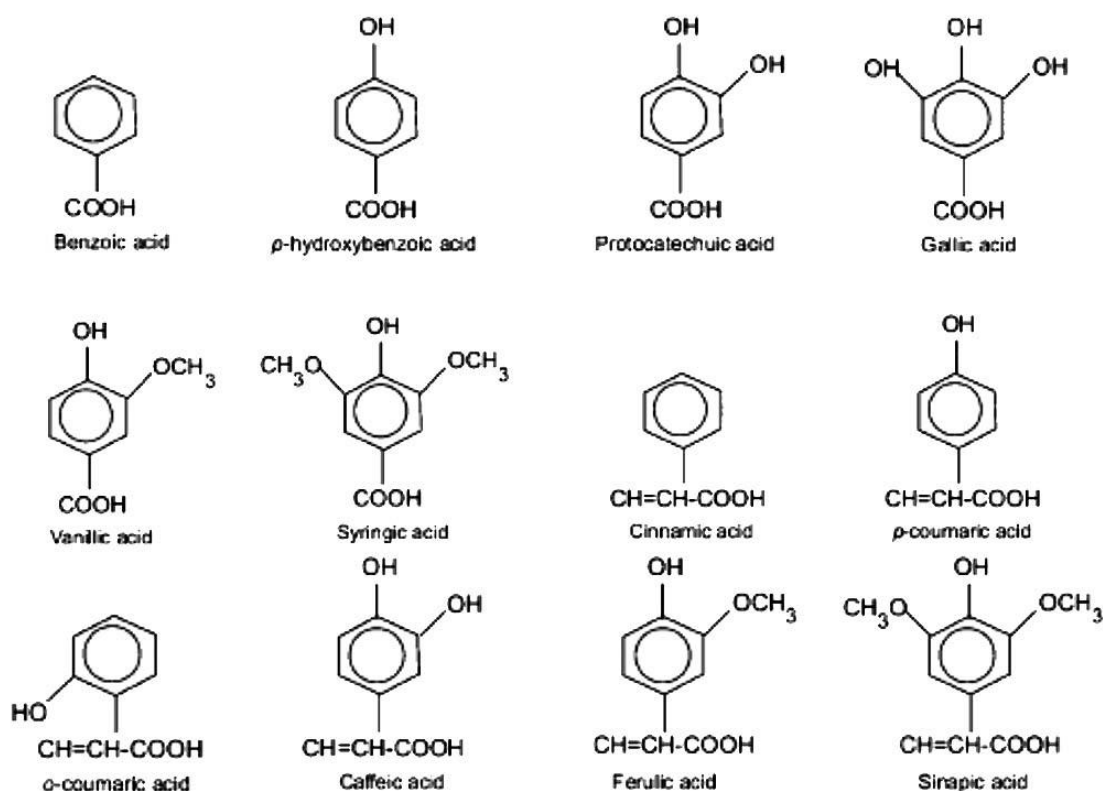
Το πολικό φαινολικό κλάσμα του ελαιολάδου που ήταν για πολλά χρόνια γνωστό ως “πολυφαινόλες” (όρος που θεωρείται ξεπερασμένος και δε χρησιμοποιείται από τη σύγχρονη βιβλιογραφία), είναι ένα πολύπλοκο μείγμα ενώσεων με διαφορετικές χημικές δομές, το οποίο ανακτάται με την εκχύλιση του ελαιολάδου σε διάλυμα μεθανόλης-νερού (Boskou 2009). Αυτές οι χημικές ενώσεις βρίσκονται κατά αποκλειστικότητα στο ελαιόλαδο και δεν συναντώνται σε κανένα άλλο φυτικό έλαιο.



Ταξινομούνται σε διαφορετικές κατηγορίες, οι οποίες αναφορικά είναι : τα φαινολικά οξέα, οι φαινολικές αλκοόλες, τα σεκοϊριδοειδή, οι λιγνάνες και οι φλαβόνες (Ramírez-Tortosa et al. 2006).

- Φαινολικά οξέα: κινναμωμικό οξύ, *p*-κουμαρικό οξύ, *o*-κουμαρικό οξύ, καφεϊκό οξύ, φερουλικό οξύ, σιναπικό οξύ, βενζοϊκό οξύ, *p*-υδροξυβενζοϊκό οξύ, πρωτοκατεχαϊκό οξύ, γαλλικό οξύ, βανιλικό οξύ και συριγγικό οξύ (García et al. 2003).

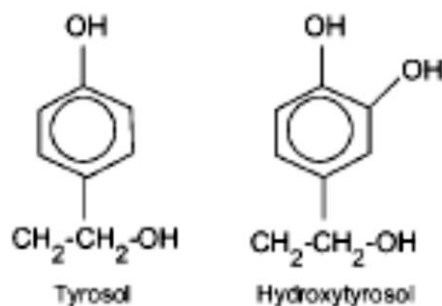
Οι χημικές δομές των φαινολικών οξέων φαίνονται στην εικόνα 1.8.



Εικόνα 1.8. Χημική δομή των φαινολικών οξέων του ελαιολάδου (Ramírez-Tortosa et al. 2006).

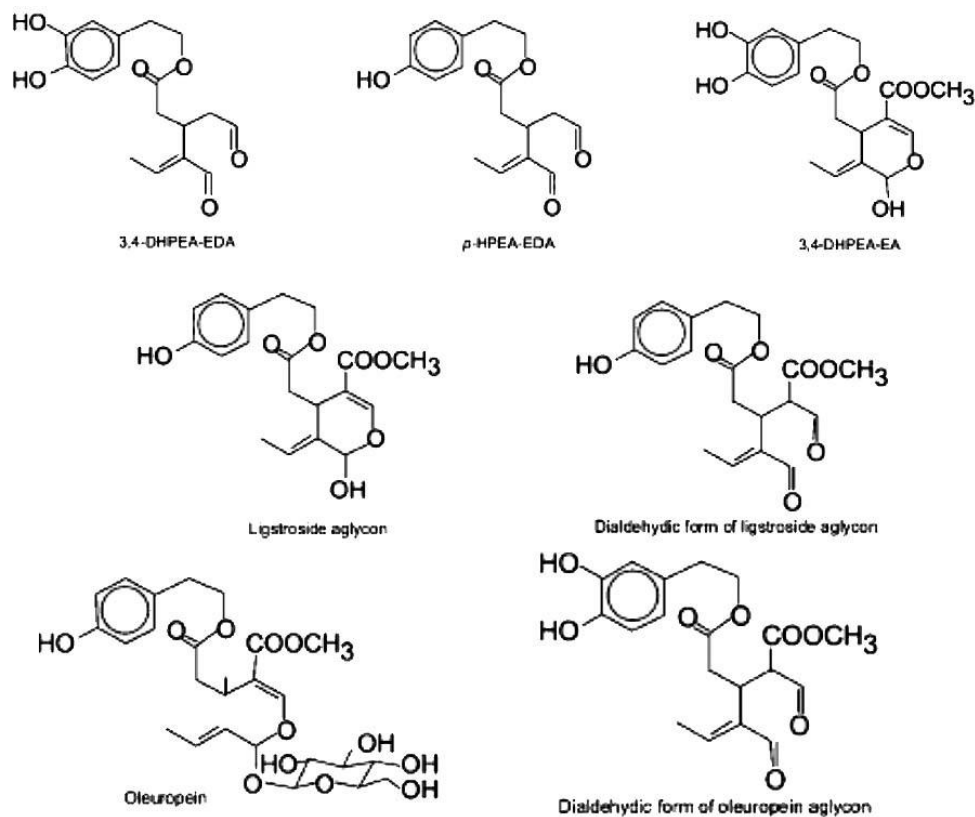
- Φαινολικές αλκοόλες: τυροσόλη (*p*-HPEA ή *p*-hydroxyphenyl ethanol) και υδροξυτυροσόλη (3,4-DHPEA ή 3,4-dihydroxyphenyl ethanol).

Η συγκέντρωση των φαινολικών αλκοολών είναι χαμηλή στο φρέσκο ελαιόλαδο και αυξάνεται κατά τη διάρκεια της αποθήκευσής του (Servili et al, 2002). Η χημικές δομές της τυροσόλης και της υδροξυτυροσόλης φαίνονται στην Εικόνα 1.9.



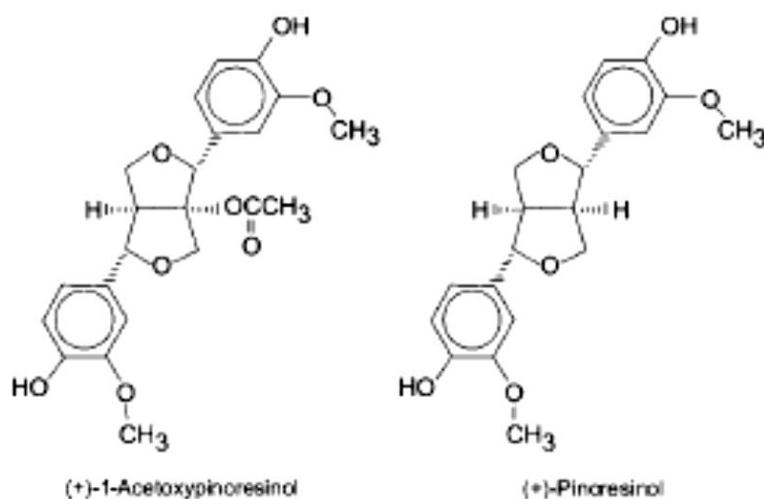
Εικόνα 1.9. Χημική δομή των φαινολικών αλκοολών του ελαιολάδου (Ramírez-Tortosa et al. 2006).

- Σεκοϊριδοειδή: είναι βασικά πολικά φαινολικά του παρθένου ελαιολάδου. Τα σημαντικότερα από αυτά αποτελούνται από την διαλδεϋδική μορφή του δικαρβοξυ-μεθυλ-ελενολικού οξέος που ενώνεται με την υδοξυτυροσόλη (3,4-DHPEA) και την τυροσόλη (p-HPEA) προς σχηματισμό 3,4-DHPEA-EDA και p-HPEA-EDA αντίστοιχα (Servili et al. 2009). Επίσης σημαντικά σεκοϊριδοειδή είναι οι αγλυκόνες της ελευρωπαΐνης (3,4-DHPEA-EA) και των λιγκστροσιδίων, η ελευρωπαΐνη, η διαλδεϋδική μορφή των αγλυκόνων της ελευρωπαΐνης και η διαλδεϋδική μορφή των αγλυκόνων των λιγκστροσιδίων, η χημική δομή των οποίων φαίνεται στην Εικόνα 1.10.

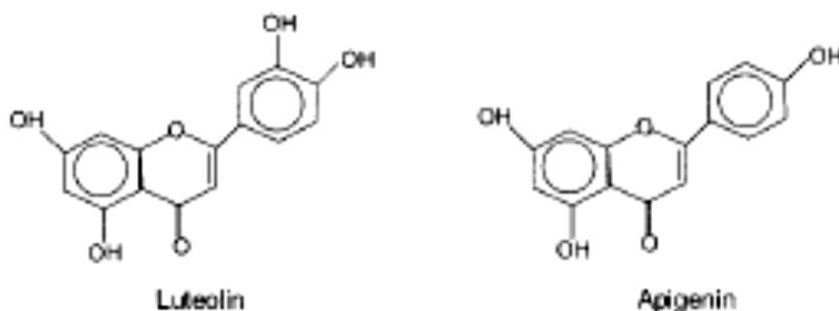


Εικόνα 1.10. Χημική δομή των σεκοϊριδοειδών του ελαιολάδου (Ramírez-Tortosa et al. 2006).

- Λιγνάνες: στην κατηγορία αυτή ανήκουν οι ενώσεις (+)-1-ακετοξυπινορεζινόλη και (+)-1-πινορεζινόλη. (Εικόνα 1.11)
- Φλαβόνες: στην κατηγορία αυτή ανήκουν οι ενώσεις λουτεολίνη και απιγενίνη. (Εικόνα 1.12)



Εικόνα 1.11. Χημική δομή των λιγνάνων του ελαιολάδου (Ramírez-Tortosa et al. 2006).



Εικόνα 1.12. Χημική δομή των φλαβονών του ελαιολάδου (Ramírez-Tortosa et al. 2006).

Οι φαινολικές ενώσεις του ελαιολάδου παίζουν το ρόλο φυσικού αντιοξειδωτικού με αποτέλεσμα, ένα ελαιολάδο πλούσιο σε φαινολικά συστατικά, να έχει μεγαλύτερη διάρκεια ζωής. Επίσης βελτιώνονται τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά όπως η γεύση και το άρωμα του (Servili, 2002).

Όταν λαμβάνονται μέσω του ελαιολάδου από τον ανθρώπινο οργανισμό, τα οφέλη για την υγεία είναι πολλαπλά, καθώς εκτός των αντιοξειδωτικών και αντικαρκινικών

ιδιοτήτων τους ενισχύουν την άμυνα του οργανισμού (Tripoli et al. 2005). Η περιεκτικότητα του ελαιολάδου σε φαινολικές ενώσεις μειώνεται δραματικά με τη διαδικασία του εξευγενισμού των λαδιών, γεγονός που καθιστά το εξαιρετικά παρθένο ελαιόλαδο το πλουσιότερο σε φαινολικά συστατικά (Ramírez-Tortosa et al. 2006).

### 1.3.6 ΜΗ ΓΛΥΚΕΡΙΔΙΚΟΙ ΕΣΤΕΡΕΣ

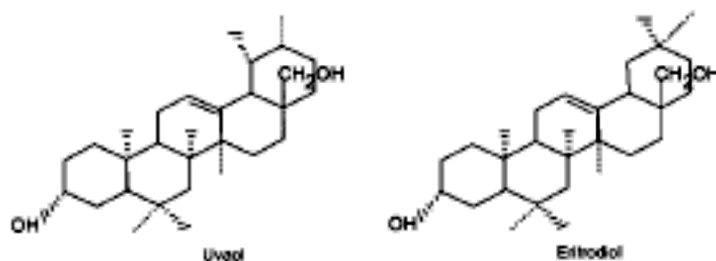
Τα περισσότερα από τα λιπαρά οξέα του ελαιολάδου είναι εστεροποιημένα με γλυκερόλη. Ωστόσο, μικρές ποσότητες αυτών των λιπαρών οξέων εστεροποιούνται με διαφορετικές αλκοολικές ενώσεις, όπως η μεθανόλη, η αιθανόλη και ορισμένες αλκοόλες μακράς αλυσίδας. Επίσης τα λιπαρά οξέα σχηματίζουν εστέρες με στερόλες, όπως η β-σιτοστερόλη, η στιγμαστερόλη, η καμπεστερόλη και με τριτερπενικές αλκοόλες, όπως η τρι-κυκλο-αρτενόλη και η 24-μεθυλο-κυκλοαρτενόλη. Η συνολική περιεκτικότητα των μη γλυκεριδικών εστέρων στο ελαιόλαδο κυμαίνεται από 100-250 mg/kg (Ramírez-Tortosa et al. 2006).

### 1.3.7 ΚΗΡΟΙ

Οι κηροί είναι εστέρες αλειφατικών αλκοολών μακράς αλυσίδας (C<sub>27</sub>-C<sub>32</sub>). Υπάρχουν κηροί που περιέχουν μέχρι και 58 άτομα άνθρακα, έτσι λόγω του υψηλού μοριακού τους βάρους παρουσιάζουν σημείο τήξης υψηλότερο από 70°C. Οι κηροί βρίσκονται στο φλοιό της ελιάς και δρουν προστατευτικά, έναντι των εχθρών και των απωλειών υγρασίας από τον καρπό. Βρίσκονται σε υψηλές συγκεντρώσεις στα πυρηνέλαια και στα ελαιόλαδα λαμπάντε (Ramírez-Tortosa et al. 2006).

### 1.3.8 ΤΡΙΤΕΡΠΕΝΙΚΕΣ ΑΛΚΟΟΛΕΣ

Οι σημαντικότερες τριτερπενικές αλκοόλες του ελαιολάδου είναι δύο δι-υδροξυτερπένια, η ερυθροδιόλη και η ουβαόλη (Εικόνα 1.13).



Εικόνα 1.13. Χημικές δομές ερυθροδιόλης και ουβαόλης (Ramírez-Tortosa et al. 2006).

Η περιεκτικότητα των τριτερπενικών αλκοολών στο ελαιόλαδο κυμαίνεται από 350-1500 mg/kg. Η σύσταση και η συγκέντρωσή τους επηρεάζονται από την ποικιλία της ελιάς, το έτος συγκομιδής και την επεξεργασία του ελαιοκαρπού (Boskou et al. 2007).

### 1.3.9 ΑΛΕΙΦΑΤΙΚΕΣ ΑΛΚΟΟΛΕΣ

Είναι ενώσεις που συντίθενται κυρίως από κορεσμένες αλκοόλες μακράς αλυσίδας (C<sub>18</sub>-C<sub>30</sub>). Η συνολική ποσότητα των ενώσεων αυτών στο ελαιόλαδο κυμαίνεται από 60 έως 200 mg/kg (Ramírez-Tortosa et al. 2006).

### 1.3.10 ΠΤΗΤΙΚΕΣ ΚΑΙ ΑΡΩΜΑΤΙΚΕΣ ΕΝΩΣΕΙΣ

Το κλάσμα των πτητικών ενώσεων των παρθένων ελαιολάδων αποτελείται από 280 αναγνωρισμένες ενώσεις. Από αυτές οι 80 είναι υδρογονάνθρακες, οι 45 αλκοόλες, οι 44 αλδεΐδες, οι 26 κετόνες, οι 13 οξέα, οι 55 εστέρες, οι 5 αιθέρες, οι 5 παράγωγα του φουρανίου, οι 5 παράγωγα του θειοφαινίου, η 1 πυρανόνη, η 1 θειόλη και η 1 πυραζίνη. Από αυτόν τον μεγάλο αριθμό ενώσεων, μόνο οι 67 βρέθηκαν σε υψηλά επίπεδα συγκεντρώσεων που φαίνεται να επηρεάζουν τις αρωματικές ιδιότητες του ελαιολάδου. Περίπου οι 20 από το σύνολο των ενώσεων αυτών φαίνεται να είναι υπεύθυνες για τη χαρακτηριστική γεύση του ελαιολάδου (Boskou et al. 2007).

## 1.4 ΠΟΙΟΤΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΕΛΑΙΟΛΑΔΟΥ

Οι παράμετροι που εξετάζονται προκειμένου να γίνει η ποιοτική κατάταξη του ελαιολάδου σε επιμέρους κατηγορίες, οι οποίες αναφέρονται στην παρακάτω ενότητα, είναι η ελεύθερη οξύτητα, ο αριθμός υπεροξειδίων και ο συντελεστής απόσβεσης στο υπεριώδες (δείκτες K232 και K270) (Boskou et al. 2007).

### 1.4.1 ΟΞΥΤΗΤΑ ΕΛΑΙΟΛΑΔΟΥ (ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΕΛΕΥΘΕΡΩΝ ΛΙΠΑΡΩΝ ΟΞΕΩΝ)

Η ελεύθερη οξύτητα είναι η βασικότερη παράμετρος που χρησιμοποιείται για την αξιολόγηση της ποιότητας του ελαιολάδου, δεδομένου ότι αντιπροσωπεύει την έκταση των υδρολυτικών δραστηριοτήτων. Ο προσδιορισμός της ελεύθερης οξύτητας γίνεται με τιτλοδότηση των ελεύθερων λιπαρών οξέων των ελαίων, κατόπιν αραίωσής τους με κατάλληλο μείγμα διαλυτών.

Τα έλαια που λαμβάνονται από υγιείς καρπούς και επεξεργάζονται αμέσως μετά τη συγκομιδή, παρουσιάζουν πολύ χαμηλές τιμές ελεύθερης οξύτητας, ανεξάρτητα από την ποικιλία. Σε περίπτωση που οι καρποί της ελιάς έχουν δεχτεί επίθεση από δάκο (*Bactocera oleae*), ή υποβάλλονται σε παρατεταμένη αποθήκευση πριν την επεξεργασία τους, ενεργοποιούνται τα υδρολυτικά ένζυμα με αποτέλεσμα την αύξηση της ελεύθερης οξύτητας. Επίσης η πιθανή εισβολή μικροοργανισμών (μούχλα) στους καρπούς, προκαλεί αξιοσημείωτη αύξηση της ελεύθερης οξύτητας λόγω της δράσης των λιπολυτικών ενζύμων (λιπάσες) των μικροοργανισμών (Boskou et al. 2007). Η ελεύθερη οξύτητα εκφράζεται σε γραμμάρια ελαϊκού οξέος ανά 100 γραμμάρια λιπαρής ύλης (Mariotti et al. 2001).

## 1.4.2 ΑΡΙΘΜΟΣ ΥΠΕΡΟΞΕΙΔΙΩΝ

Η αξιολόγηση του βαθμού οξείδωσης του ελαιολάδου βασίζεται σε προσδιορισμούς τόσο των πρωτογενών όσο και των δευτερογενών προϊόντων οξείδωσης.

Το πρωτογενές στάδιο της οξείδωσης είναι ο σχηματισμός υδροϋπεροξειδίων από πολυακόρεστα λιπαρά οξέα μέσω ενός μηχανισμού ελευθέρων ριζών. Η ανάλυση πραγματοποιείται με μία ιωδομετρική διαδικασία, η οποία περιλαμβάνει τη διάλυση του ελαίου σε ένα μείγμα οξικού οξέος-χλωροφορμίου και προσθήκη κορεσμένου διαλύματος ιωδιούχου καλίου. Το απελευθερούμενο ιώδιο τιτλοδοτείται με διάλυμα θειοθειικού νατρίου. Ο αριθμός των υπεροξειδίων εκφράζεται σε χιλιοστοϊσοδύναμα ενεργού οξυγόνου ανά κιλό ελαιολάδου (mEq O<sub>2</sub>/kg) και επιδιώκεται να είναι όσο το δυνατόν χαμηλότερος ή ίσος με το μηδέν.

Ο αριθμός υπεροξειδίων είναι μία παράμετρος η οποία αυξάνει ανάλογα με τις συνθήκες αποθήκευσης και συντήρησης του ελαιολάδου (ύπαρξη οξυγόνου, φως, θερμοκρασία και χρόνος συντήρησης). Μετά την επίτευξη μίας μέγιστης τιμής, ο αριθμός υπεροξειδίων μειώνεται, λόγω σχηματισμού δευτερογενών προϊόντων τάγγισης (Boskou et al. 2007).

## 1.4.3 ΣΥΝΤΕΛΕΣΤΕΣ ΑΠΟΣΒΕΣΗΣ (K232 και K270)

Οι συντελεστές απόσβεσης K232 και K270 εκφράζουν την απορρόφηση σε υπεριώδες φως και την κατάσταση οξείδωσης του ελαιολάδου.

Η απορρόφηση στα 232nm οφείλεται στην παρουσία των συζυγών διενίων, που σχηματίζονται σε μία ενδιάμεση κατάσταση οξείδωσης και στα υδροϋπεροξείδια του αρχικού σταδίου οξείδωσης του ελαιολάδου. Ο συντελεστής K232 αποτελεί δείκτη αποθήκευσης του ελαιολάδου υπό ακατάλληλες συνθήκες. Στο εξαιρετικά παρθένο ελαιόλαδο ο δείκτης K232 κυμαίνεται από 1,5 μέχρι 2,5. Στο ελαιόλαδο δεν ορίζονται συγκεκριμένες τιμές (Boskou et al. 2007).

Η απορρόφηση στα 270 nm οφείλεται στην παρουσία συζυγών τριενίων, που παράγονται κατόπιν βιομηχανικής επεξεργασίας του ελαιολάδου, καθώς και στην παρουσία καρβονυλικών ομάδων (κετόνες και αλδεΐδες). Η τιμή του K270 εξαρτάται από το πόσο φρέσκο είναι το ελαιόλαδο. Παλαιά ελαιόλαδα ή μείγματα με παλαιά ελαιόλαδα έχουν υψηλό K270. Για τον λόγο αυτό ο συντελεστής K270 χρησιμοποιείται και ως δείκτης νοθείας του ελαιολάδου. Επιπροσθέτως, η φασματοσκοπική τεχνική μας δίνει χρήσιμες πληροφορίες για τον έλεγχο της ποιότητας του ελαιολάδου που μας ενδιαφέρει (Casale M. et al. 2012). Η τιμή του K270 κυμαίνεται από 0,15 έως 0,22 για το έξτρα παρθένο και για το ελαιόλαδο έχει ανώτατο όριο την τιμή 0,90 (Maggio et al. 2011).

Η μέτρηση της ειδικής απορρόφησης σε αυτά τα δύο μήκη κύματος (232 & 270 nm) μας δίνει πληροφορίες για την ποιότητα ενός λίπους, την κατάσταση συντήρησής του

και τις μεταβολές που έχουν επέλθει σε αυτό μέσα από τεχνολογικές διαδικασίες με στόχο να κατατάξουμε το ελαιόλαδο που μας ενδιαφέρει σε μία κατηγορία βάσει του κανονισμού 2568/91.

## 1.5 ΚΑΤΗΓΟΡΙΕΣ ΕΛΑΙΟΛΑΔΟΥ

Σύμφωνα με την Νομοθεσία (Κώδικας Τροφίμων και Ποτών, Αγορανομικός Κώδικας και Κανονισμός (ΕΚ) 1513/2001 όπως τροποποίησε τον Κανονισμό 133/1966 (ΕΟΚ)), το ελαιόλαδο μπορεί να κατηγοριοποιηθεί ως ακολούθως :

### A. Παρθένα ελαιόλαδα

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

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

#### I. Εξαιρετικό παρθένο ελαιόλαδο

Παρθένο ελαιόλαδο του οποίου ο βαθμός οργανοληπτικής αξιολόγησης είναι ίσος ή ανώτερος του 6.5 του οποίου η ελεύθερη οξύτητα, εκφραζόμενη σε ελαϊκό οξύ, είναι κατά μέγιστο 0,8 g ανά 100 g λιπαρής ύλης. Ο αριθμός υπεροξειδίων εκφρασμένος σε mEq O<sub>2</sub>/kg ελαίου είναι μικρότερος ή ίσος του 20, η σταθερά K270 μικρότερη ή ίση με 0,22 και η σταθερά ΔΚ μικρότερη ή ίση με 0,01.

#### II. Παρθένο ελαιόλαδο

Παρθένο ελαιόλαδο του οποίου ο βαθμός οργανοληπτικής αξιολόγησης είναι ίσος ή ανώτερος του 5.5 του οποίου η ελεύθερη οξύτητα, εκφραζόμενη σε ελαϊκό οξύ, είναι κατά μέγιστο 2,0 g ανά 100 g λιπαρής ύλης. Ο αριθμός υπεροξειδίων και η τιμή ΔΚ καθορίζονται όπως στο ελαιόλαδο της προηγούμενης κατηγορίας, ενώ η τιμή K270 ορίζεται στα 0,25. και του οποίου τα λοιπά χαρακτηριστικά είναι σύμφωνα προς τα προβλεπόμενα για την κατηγορία αυτή (Πίνακας 1).

#### III. Υποβαθμισμένο (Lampante – Μειονεκτικό) ελαιόλαδο

Πρόκειται για παρθένο ελαιόλαδο του οποίου η ελεύθερη οξύτητα, εκφραζόμενη σε ελαϊκό οξύ, είναι ανώτερη των 2,0 g ανά 100 g λιπαρής ύλης και του οποίου τα λοιπά χαρακτηριστικά είναι σύμφωνα προς τα προβλεπόμενα για την κατηγορία αυτή. Το

ελαιόλαδο λαμπάντε είναι ακατάλληλο για κατανάλωση ως έχει και προορίζεται για ραφινάρισμα ή για βιομηχανική χρήση.

#### Β. Εξευγενισμένο ή ραφιναρτισμένο ελαιόλαδο

Ελαιόλαδο το οποίο λαμβάνεται από εξευγενισμένο παρθένο ελαιόλαδο, του οποίου η ελεύθερη οξύτητα, εκφραζόμενη σε ελαϊκό οξύ, δεν υπερβαίνει τα 0,3 g ανά 100 g λιπαρής ύλης, ενώ παράλληλα δεν έχει υποστεί αλλαγές στην αρχική δομή των τριγλυκεριδίων. Ο αριθμός υπεροξειδίων εκφρασμένος σε mEq O<sub>2</sub>/kg ελαίου είναι μικρότερος ή ίσος με 5, η σταθερά K270 μικρότερη ή ίση με 1,1 και η σταθερά ΔΚ μικρότερη ή ίση με 0,16. Τα λοιπά χαρακτηριστικά είναι σύμφωνα με τα προβλεπόμενα για την κατηγορία αυτή, όπως φαίνονται στον Πίνακα 1.

#### Γ. Ελαιόλαδο (αποτελούμενο από εξευγενισμένα ελαιόλαδα και παρθένα ελαιόλαδα).

Ελαιόλαδο προερχόμενο από ανάμιξη εξευγενισμένου ελαιόλαδου και παρθένου ελαιόλαδου με εξαίρεση του μειονεκτικού (υποβαθμισμένου –Lampante), του οποίου η ελεύθερη οξύτητα, εκφραζόμενη σε ελαϊκό οξύ, δεν υπερβαίνει το 1,0 g ανά 100 g λιπαρής ύλης και ο αριθμός υπεροξειδίων εκφρασμένος σε mEq O<sub>2</sub>/kg ελαίου είναι μικρότερος ή ίσος με 15, η σταθερά K270 μικρότερη ή ίση με 0,9 και η σταθερά ΔΚ μικρότερη ή ίση με 0,15. Τα λοιπά χαρακτηριστικά είναι σύμφωνα προς τα προβλεπόμενα για την κατηγορία αυτή (Lerma García, 2012).

#### Δ. Ακατέργαστο πυρηνέλαιο

Είναι το έλαιο το οποίο εξάγεται από την ελαιοπυρήνα ως υποπροϊόν της ελαιουργίας, με την χρησιμοποίηση διαλύτη. Το έλαιο αυτό δεν μπορεί να καταναλωθεί όπως είναι και πρέπει να υποστεί επεξεργασία του εξευγενισμού.

#### Ε. Εξευγενισμένο πυρηνέλαιο

Είναι το έλαιο το οποίο λαμβάνεται από ραφινάρισμα του ακατέργαστου πυρηνελαίου του οποίου η οξύτητα, εκφρασμένη σε ελαϊκό οξύ δεν υπερβαίνει τα 0,3 g ανά 100 g λιπαρής ύλης. Ο αριθμός υπεροξειδίων εκφρασμένος σε mEq O<sub>2</sub>/kg ελαίου είναι μικρότερος ή ίσος με 5, η σταθερά K270 μικρότερη ή ίση με 2 και η σταθερά ΔΚ μικρότερη ή ίση με 0,2.

#### ΣΤ. Πυρηνέλαιο

Είναι το έλαιο το οποίο αποτελείται από μείγμα ραφιναρτισμένου πυρηνελαίου και παρθένου (σε μικρότερο ποσοστό), του οποίου η οξύτητα εκφρασμένη σε ελαϊκό οξύ δεν υπερβαίνει το 1 g ανά 100 g λιπαρής ύλης. Ο αριθμός υπεροξειδίων εκφρασμένος



σε mEq O<sub>2</sub>/kg ελαίου είναι μικρότερος ή ίσος με 15, η σταθερά K270 μικρότερη ή ίση με 2 και η σταθερά ΔK μικρότερη ή ίση με 0,18 και του οποίου τα άλλα ιδιαίτερα χαρακτηριστικά είναι σύμφωνα με τα προβλεπόμενα για την κατηγορία αυτή (Lerma García, 2012).

Στον Πίνακα 1 φαίνονται τα βασικά χαρακτηριστικά των διαφόρων τύπων ελαιολάδων, όπως αυτά δημοσιεύτηκαν στην Επίσημη Εφημερίδα της Ευρωπαϊκής Ένωσης στις 28 Μαρτίου 2013.

Πίνακας 1.1. Ποιοτικά κριτήρια κατάταξης των διαφόρων τύπων ελαιολάδου (Κώδικας Τροφίμων και Ποτών, Αγορανομικός Κώδικας και Κανονισμός (ΕΚ) 1513/2001).

**ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΤΟΥ ΕΛΑΙΟΛΑΔΟΥ**

Κατηγορία	Οξύτητα (%) (*)	Αριθμός υπεροξειδίων mEq O <sub>2</sub> /kg (*)	Κηροί mg/kg (**)	2-μονοσαλμίνη (%)	Στηνμ-σποδιένο mg/kg (†)	Διαφορά ECN42-HPLC και ECN42 (θεωρητικές υπολογισμός)	K <sub>232</sub> (*)	K <sub>270</sub> (*)	Delta-K (*)	Οργανοληπτική αξιολόγηση του ελατιώματος (Md) (*)	Οργανοληπτική αξιολόγηση της εξέλιξης του φρουσιώδους (Mf) (*)
1. Εξαιρετικό παρθένο ελαιόλαδο	≤ 0,8	≤ 20	≤ 250	≤ 0,9 εάν % ολικό πάλματικό οξύ ≤ 14 % ≤ 1,0 εάν % ολικό πάλματικό οξύ > 14 %	≤ 0,10	≤ 0,2	≤ 2,50	≤ 0,22	≤ 0,01	Md = 0	Mf > 0
2. Παρθένο ελαιόλαδο	≤ 2,0	≤ 20	≤ 250	≤ 0,9 εάν % ολικό πάλματικό οξύ ≤ 14 % ≤ 1,0 εάν % ολικό πάλματικό οξύ > 14 %	≤ 0,10	≤ 0,2	≤ 2,60	≤ 0,25	≤ 0,01	Md ≤ 2,5	Mf > 0
3. Ελαιόλαδο λαμπάντε	> 2,0	—	≤ 300 (‡)	≤ 0,9 εάν % ολικό πάλματικό οξύ ≤ 14 % ≤ 1,1 εάν % ολικό πάλματικό οξύ > 14 %	≤ 0,50	≤ 0,3	—	—	—	Md > 2,5 (‡)	—
4. Εξυγνετισμένο ελαιόλαδο	≤ 0,3	≤ 5	≤ 350	≤ 0,9 εάν % ολικό πάλματικό οξύ ≤ 14 % ≤ 1,1 εάν % ολικό πάλματικό οξύ > 14 %	—	≤ 0,3	—	≤ 1,10	≤ 0,16	—	—
5. Σύνθετο ελαιόλαδο αποτελούμενο από εξυγνετισμένα και παρθένα ελαιόλαδα	≤ 1,0	≤ 15	≤ 350	≤ 0,9 εάν % ολικό πάλματικό οξύ ≤ 14 % ≤ 1,0 εάν % ολικό πάλματικό οξύ > 14 %	—	≤ 0,3	—	≤ 0,90	≤ 0,15	—	—
6. Ακατέργαστο πυρηνέλιο	—	—	> 350 (‡)	≤ 1,4	—	≤ 0,6	—	—	—	—	—
7. Εξυγνετισμένο πυρηνέλιο	≤ 0,3	≤ 5	> 350	≤ 1,4	—	≤ 0,5	—	≤ 2,00	≤ 0,20	—	—
8. Πυρηνέλιο	≤ 1,0	≤ 15	> 350	≤ 1,2	—	≤ 0,5	—	≤ 1,70	≤ 0,18	—	—

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

(‡) Η εάν η δειγματοληψία είναι μικρότερη ή ίση με 2,5 και η δειγματοληψία είναι μικρότερη ή ίση με 300 και 350 mg/kg θεωρούνται ελατέλαδα λαμπάντε, εάν οι ολικές ωλεφαρπτικές οξείλες είναι χαμηλότερες ή ίσες με 350 mg/kg ή εάν η εκατοστιαία ανάλυση είναι χαμηλότερη ή ίση με 3,5.

(\*) Τα έλαια με περιεκτικότητα σε κηρούς μεταξύ 300 και 350 mg/kg θεωρούνται ελατέλαδα λαμπάντε, εάν οι ολικές ωλεφαρπτικές οξείλες είναι χαμηλότερες ή ίσες με 350 mg/kg ή εάν η εκατοστιαία ανάλυση είναι χαμηλότερη ή ίση με 3,5.

(†) Τα έλαια με περιεκτικότητα σε κηρούς μεταξύ 300 και 350 mg/kg θεωρούνται ακατέργαστα πυρηνέλια, εάν οι ολικές ωλεφαρπτικές οξείλες υπερβαίνουν τα 350 mg/kg και εάν η εκατοστιαία ανάλυση είναι χαμηλότερη ή ίση με 3,5.

## 1.6 ΟΞΕΙΔΩΣΗ ΕΛΑΙΟΛΑΔΟΥ

Το παρθένο ελαιόλαδο είναι ίσως το μοναδικό βρώσιμο έλαιο που καταναλώνεται χωρίς καμία χημική επεξεργασία και παρουσιάζει υψηλή ανθεκτικότητα στην οξείδωση. Η ανθεκτικότητα αυτή οφείλεται τόσο στην φύση των λιπαρών οξέων του, δηλαδή στην υψηλή αναλογία μονοακόρεστων προς πολυακόρεστα λιπαρά οξέα, όσο και στην ύπαρξη ενώσεων με ισχυρή αντιοξειδωτική δράση, όπως τα φαινολικά, τα καροτενοειδή, οι στερόλες και οι τοκοφερόλες. Οι περισσότερες από αυτές τις ενώσεις απομακρύνονται κατά την επεξεργασία εξευγενισμού του ελαιολάδου και για τον λόγο αυτό βρίσκονται σε πολύ μικρές ποσότητες στα εξευγενισμένα ελαιόλαδα, σε αντίθεση με τα παρθένα ελαιόλαδα όπου βρίσκονται σε αφθονία (Ramírez-Tortosa et al. 2006).

### 1.6.1 ΟΞΕΙΔΩΣΗ ΛΙΠΙΔΙΩΝ

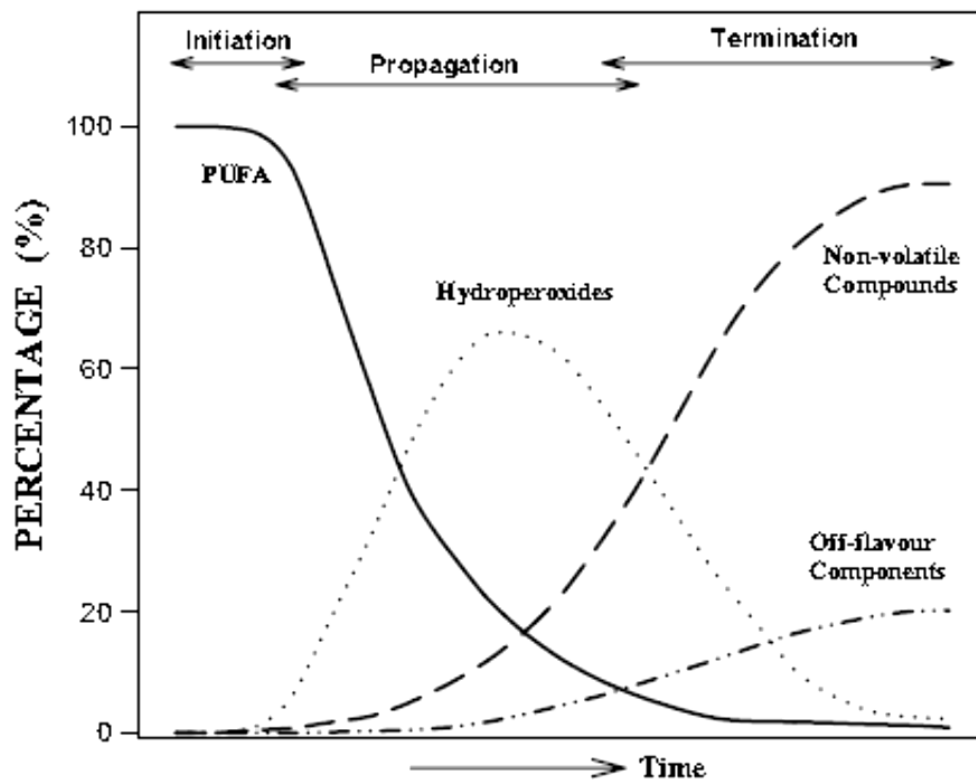
Η οξείδωση των λιπιδίων αναγνωρίζεται ως το βασικότερο πρόβλημα που επηρεάζει τα βρώσιμα έλαια, καθώς δημιουργεί σημαντικές δυσμενείς μεταβολές στη χημική τους σύσταση, τις θρεπτικές και οργανοληπτικές τους ιδιότητες. Η οξείδωση των λιπιδίων είναι μία αρκετά πολύπλοκη διαδικασία, διότι τα λιπίδια περιέχουν δευτερεύοντα συστατικά που μπορούν είτε να καταλύσουν είτε να αναστείλλουν την οξείδωση. Επιπλέον, τα πρωτογενή προϊόντα της οξείδωσης των λιπιδίων γρήγορα μετατρέπονται σε δευτερογενή (Aparicio et al. 2013).

Υπάρχει πληθώρα παραγόντων που καταλύει την οξείδωση των λιπιδίων. Οι βασικότεροι από αυτούς είναι η διαθεσιμότητα του οξυγόνου, η θερμοκρασία, η παρουσία ή απουσία φωτός και η επιμόλυνση από μέταλλα. Η οξειδωτική φθορά από εξωτερικούς παράγοντες σχετίζεται γενικά με τις συνθήκες αποθήκευσης και τα υλικά συσκευασίας του ελαιολάδου (Kanavouras et al. 2006).

Στις αντιδράσεις οξείδωσης των λιπιδίων σχηματίζονται ελεύθερες ρίζες καθώς και μονήρη οξυγόνα τα οποία αντιδρούν εύκολα. Τα βασικά υποστρώματα για τις αντιδράσεις αυτές είναι τα ακόρεστα λιπαρά οξέα και το οξυγόνο. Ο μηχανισμός των ελεύθερων ριζών της οξείδωσης των λιπιδίων χωρίζεται σε τρία στάδια. Την έναρξη, τη διάδοση και τη λήξη.

Στο στάδιο της έναρξης σχηματίζονται ελεύθερες ρίζες απευθείας από τα λιπαρά οξέα με την επίδραση των προαναφερθέντων παραγόντων. Καθώς οξειδώνονται τα λιπίδια στο στάδιο της διάδοσης, σχηματίζουν υδροϋπεροξειδία, τα οποία είναι ευαίσθητα σε περαιτέρω οξείδωση. Κατά τη διάρκεια της φάσης της διάδοσης μειώνεται το ποσοστό των πολυακόρεστων λιπαρών οξέων (polyunsaturated fatty acids-PUFAs) ενώ αυξάνονται τα υδροϋπεροξειδία. Τα δευτερογενή προϊόντα από την οξείδωση των υδροϋπεροξειδίων μπορεί να είναι πτητικά ή μη, όπως αλδεΐδες, κετόνες, οξέα και αλκοόλες και κάνουν την εμφάνισή τους στο στάδιο της λήξης της οξείδωσης. Οι ενώσεις αυτές επηρεάζουν αρνητικά το άρωμα, τη γεύση, τη θρεπτική αξία και γενικά την ποιότητα του ελαιολάδου. Στην Εικόνα 1.14 φαίνονται τα στάδια της οξείδωσης

των λιπιδίων και οι μεταβολές στα πρωτογενή και δευτερογενή προϊόντα οξείδωσης για κάθε στάδιο (Aparicio et al. 2013).



Εικόνα 1.14. Οξείδωση των πολυακόρεστων λιπαρών οξέων (PUFA) και σχηματισμός πρωτογενών (υδροϋπεροξειδία) και δευτερογενών (πητικές και μη πητικές ενώσεις) προϊόντων (Aparicio et al. 2013).

## **2 ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ**

### **2.1 ΔΕΙΓΜΑΤΑ ΕΛΑΙΟΛΑΔΟΥ**

Τα δείγματα ελαιολάδου ήταν χορηγία της εταιρείας ΕΛΑΪΣ και ήταν δύο ειδών :

- Εξαιρετικά παρθένο ελαιόλαδο και
- Ελαιόλαδο.

#### **2.1.1 ΘΕΡΜΙΚΗ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ ΕΛΑΙΟΛΑΔΟΥ**

Τα δείγματα ελαιολάδου αποθηκεύθηκαν σε σκουρόχρωμα γυάλινα φιαλίδια των 100 mL χωρίς κενό και με κλειστό ή ανοικτό πώμα.



Εικόνα 2.1: Φιαλίδια φύλαξης δειγμάτων ελαιολάδου

Η αποθήκευση έγινε σε θερμοστατούμενους φούρνους στις παρακάτω θερμοκρασίες και για τα παρακάτω χρονικά διαστήματα:

- 40°C για 150 ημέρες (5 μήνες)
- 60°C για 90 ημέρες (3 μήνες)
- 80°C για 14 ημέρες
- 100°C για 84 ώρες

Στους 40°C αποθηκεύθηκαν 7 φιαλίδια ελαιολάδου και 7 φιαλίδια εξαιρετικά παρθένου ελαιολάδου με κλειστό πώμα και χωρίς κενό. Στους 60, 80 και 100°C αποθηκεύθηκαν 7 φιαλίδια από κάθε είδος ελαιολάδου με κλειστό πώμα και χωρίς κενό και 7 φιαλίδια με ανοικτό πώμα και γεμισμένα μέχρι τη μέση.

Η θερμοκρασία των φούρνων παρέμενε σταθερή και ήταν ελεγχόμενη από θερμοκαταγραφικό μηχάνημα.

Οι χρόνοι δειγματοληψιών για κάθε θερμοκρασία αναφέρονται στα αποτελέσματα.

### **2.1.2 ΑΠΟΘΗΚΕΥΣΗ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ**

Κάθε δείγμα που φυλασσόταν προς περαιτέρω ανάλυση αποθηκευόταν στους  $-18^{\circ}\text{C}$  κατόπιν κορεσμού της ατμόσφαιρας του φιαλιδίου με αέριο άζωτο.

### **2.2 ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΤΩΝ ΕΛΕΥΘΕΡΩΝ ΛΙΠΑΡΩΝ ΟΞΕΩΝ, (ΕΝ ΨΥΧΡΩ ΜΕΘΟΔΟΣ)**

#### **Αντικείμενο της μεθόδου**

Ο προσδιορισμός ελεύθερων λιπαρών οξέων σε ελαιόλαδα. Η περιεκτικότητα σε ελεύθερα λιπαρά οξέα εκφράζεται ως οξύτητα υπολογισθείσα με συμβατικό τρόπο.

#### **Αρχή της μεθόδου**

Διαλύεται το δείγμα σε μείγμα διαλυτών και τα περιεχόμενα ελεύθερα λιπαρά οξέα ογκομετρούνται χρησιμοποιώντας υδατικό διάλυμα υδροξειδίου του νατρίου.

#### **Όργανα**

Συνηθισμένος εργαστηριακός εξοπλισμός, περιλαμβάνοντας :

- Αναλυτικό ζυγό.
- Κωνικές φιάλες των 250 mL.
- Προχοΐδα των 10 ml, βαθμονομημένη ανά 0,05 mL.
- Ογκομετρικούς κυλίνδρους των 100 mL.
- Πλαστικές πιπέτες Pasteur.

#### **Αντιδραστήρια**

Όλα τα αντιδραστήρια είναι αναγνωρισμένης αναλυτικής καθαρότητας από την SIGMA-ALDRICH<sup>®</sup> και το χρησιμοποιούμενο νερό είναι απεσταγμένο ή ισοδύναμης καθαρότητας.

- Μείγμα διαιθυλαιθέρα / αιθανόλης 95 % [με αναλογία 1:1 v/v].
- Πρότυπο υδατικό διάλυμα υδροξειδίου του νατρίου, κανονικότητας 0,1 mol/L.
- Φαινολοφθαλείνη, διάλυμα 10 g/l σε αιθανόλη 95-96 v/v

#### **Διαδικασία**

Ζυγίζονται 10 g δείγματος ελαιολάδου σε κωνική φιάλη των 250 mL με ακρίβεια 0,001 g.

Σε κωνική φιάλη των 250 mL προστίθενται 50 mL του μείγματος διαλυτών διαιθυλαιθέρα / αιθανόλης 95 % με αναλογία 1:1 v/v και κατόπιν προσθήκης δύο ή τριών σταγόνων φαινολοφθαλείνης ακολουθεί προεξουδετέρωσή του με την προσθήκη υδατικού διαλύματος καυστικού νατρίου 0,1 N, με ταυτόχρονη ανάδευση.

Το μείγμα είναι εξουδετερωμένο όταν αποκτήσει ρόδινη χροιά για τουλάχιστον 10 δευτερόλεπτα.

Στην πορεία το προεξουδετερωμένο μείγμα διαιθυλαιθέρα / αιθανόλης προστίθεται στην κωνική φιάλη, όπου έχει ζυγιστεί το δείγμα και αφού αναδευτεί ογκομετρείται με το διάλυμα 0,1 N του καυστικού νατρίου με ταυτόχρονη ανάδευση έως ότου αλλάξει χρώμα ο δείκτης (το ρόδινο χρώμα της φαινολοφθαλεΐνης επικρατεί επί τουλάχιστον 10 δευτερόλεπτα)( *KANONISMOS (EOK) αριθ. 2568/91, 2008*).

### **Έκφραση της οξύτητας επί τοις % συγκέντρωσης ελαϊκού οξέος**

Η οξύτητα, εκφρασμένη σε κατά βάρος εκατοστιαία αναλογία, ισούται με :

$$V \times c \times \frac{M}{1000} \times \frac{100}{m} = \frac{V \times c \times M}{10 \times m}$$

Όπου :

**V** είναι ο όγκος σε mL, του τιτλοδοτημένου διαλύματος υδροξειδίου του καλίου που έχει χρησιμοποιηθεί,

**c** είναι η ακριβής συγκέντρωση, σε moles/L, του τιτλοδοτημένου διαλύματος υδροξειδίου του νατρίου που έχει χρησιμοποιηθεί,

**M** είναι το γραμμομοριακό βάρος, σε γραμμάρια ανά mole, του οξέος που χρησιμοποιήθηκε για την έκφραση του αποτελέσματος (= 282),

**m** είναι το βάρος, σε γραμμάρια, του δείγματος δοκιμής.

Ως αποτέλεσμα λαμβάνεται ο αριθμητικός μέσος όρος τριών προσδιορισμών

Η οξύτητα εκφράζεται σε g ελαϊκού οξέος / 100 g λιπαρής ύλης (*KAN. αριθ. 2568/91, 2008*).

## **2.3 ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΤΟΥ ΑΡΙΘΜΟΥ ΥΠΕΡΟΞΕΙΔΙΩΝ**

### **Αντικείμενο της μεθόδου**

Η προδιαγραφή αυτή περιγράφει μια μέθοδο προσδιορισμού του αριθμού των υπεροξειδίων ελαίων και λιπών.

### **Αρχή της μεθόδου**

Ο αριθμός υπεροξειδίων εκφράζει την ποσότητα των συστατικών του δείγματος (εκφρασμένη σε χιλιοστοϊσοδύναμα (mEq) ενεργού οξυγόνου ανά kg) που οξειδώνουν το ιωδιούχο κάλιο κάτω από τις περιγραφόμενες συνθήκες ανάλυσης. Το ληφθέν δείγμα διαλύεται σε μείγμα οξικού οξέος και χλωροφόρμιου και προστίθεται διάλυμα ιωδιούχου καλίου. Ογκομέτρηση του απελευθερούμενου ιωδίου με πρότυπο

διάλυμα θειοθειικού νατρίου (*Επίσημη Εφημερίδα της ΕΕ, Παράρτημα III, 022.001 σελ 31-32, 2008*).

### **Όργανα**

- Εσφυρισμένες φιάλες με πόματα, χωρητικότητας περίπου 250 ml, οι οποίες προηγουμένως έχουν ξηρανθεί και στις οποίες έχει διαβιβασθεί αδρανές αέριο (άζωτο ή, προτιμότερα διοξείδιο του άνθρακα).
- Προχοΐδα των 25 ή 50 ml, βαθμολογημένη ανά 0,1 mL.
- Ογκομετρικοί κύλινδροι των 100 mL
- Πλαστικές πιπέτες Pasteur για τη ζύγιση του δείγματος
- Αναλυτικός ζυγός
- Μηχανική πιπέτα 100-1000  $\mu$ L.

### **Αντιδραστήρια**

Όλα τα αντιδραστήρια είναι αναγνωρισμένης αναλυτικής καθαρότητας από την SIGMA-ALDRICH<sup>®</sup> και το χρησιμοποιούμενο νερό είναι απεσταγμένο ή ισοδύναμης καθαρότητας.

- Χλωροφόρμιο αναλυτικής καθαρότητας, απαλλαγμένο οξυγόνου με διοχέτευση υπό πίεση, μέσα από αυτό, ρεύματος καθαρού ξηρού αδρανούς αερίου.
- Κρυσταλλικό οξικό οξύ αναλυτικής καθαρότητας, απαλλαγμένο οξυγόνου με διοχέτευση, υπό πίεση, μέσα από αυτό, καθαρού, ξηρού αερίου.
- Κεκορεσμένο υδατικό διάλυμα KI πρόσφατα παρασκευασμένο, απαλλαγμένο από ιώδιο και ιωδικά.
- Πρότυπο διάλυμα θειοθειικού νατρίου 0,01 N, τιτλοδοτημένο μόλις πριν χρησιμοποιηθεί.
- Υδατικό διάλυμα αμύλου 1% w/v, πρόσφατα παρασκευασμένο από φυσικό διαλυτό άμυλο.
- Απεσταγμένο νερό.

### **Διαδικασία**

Ζυγίζονται 10 g δείγματος ελαιολάδου σε εσφυρισμένη φιάλη των 250 mL με ακρίβεια 0,001 g.

Προστίθενται 30 mL μείγματος χλωροφορμίου / οξικού οξέος με αναλογία 1:1,5 v/v και κατόπιν ανάδευσης προστίθεται 1 mL διαλύματος ιωδιούχου καλίου. Η φιάλη πωματίζεται, αναδεύεται και αφήνεται στο σκοτάδι για 5 min. Στην πορεία προστίθενται 75 mL απεσταγμένου νερού και 4-5 σταγόνες δείκτη διαλύματος αμύλου. Το απελευθερούμενο ιώδιο ογκομετρείται με το διάλυμα του θειοθειικού νατρίου 0,01 N με ζωνρή ανάδευση. Το πέρας της τιτλοδότησης σηματοδοτείται από τον αποχρωματισμό του κυανού χρώματος του αμύλου.



Εκτελείται ταυτόχρονα λευκός προσδιορισμός (τυφλός). Εάν το αποτέλεσμα του τυφλού ξεπερνά τα 0,05 ml διαλύματος 0,01 N θειοθειικού νατρίου, αντικαθίστανται τα αντιδραστήρια.

#### **Έκφραση του αριθμού υπεροξειδίων**

Ο αριθμός υπεροξειδίων (AY) εκφράζεται σε χιλιοστοϊσοδύναμα (mEq) ενεργού οξυγόνου ανά kg, δίνεται από τη σχέση :

$$AY = \frac{(V - V') \times T \times 1000}{m}$$

Όπου :

**V** είναι ο αριθμός των mL του προτύπου διαλύματος θειοθειικού νατρίου που χρησιμοποιείται για την ογκομέτρηση του δείγματος,

**V'** είναι ο αριθμός των mL του προτύπου διαλύματος θειοθειικού νατρίου που χρησιμοποιείται για την ογκομέτρηση του τυφλού,

**T** είναι η ακριβής κανονικότητα του διαλύματος θειοθειικού νατρίου που χρησιμοποιείται,

**m** είναι το βάρος του δείγματος σε g.

## **2.4 ΦΑΣΜΑΤΟΦΩΤΟΜΕΤΡΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ ΣΤΟ ΥΠΕΡΙΩΔΕΣ**

### **Αντικείμενο της μεθόδου**

Η μέθοδος περιγράφει τη διαδικασία εκτέλεσης φασματοφωτομετρικής εξέτασης λιπών στο υπεριώδες.

### **Αρχή της μεθόδου**

Η φασματοφωτομετρική εξέταση στο υπεριώδες μπορεί να δώσει πληροφορίες ως προς την ποιότητα ενός λίπους, την κατάσταση συντήρησής του και τις μεταβολές που έχουν επέλθει οφειλόμενες σε τεχνολογικές διαδικασίες.

Η απορρόφηση στα μήκη κύματος που καθορίζονται στη μέθοδο οφείλεται στη παρουσία συζυγιακών συστημάτων διενίων και τριενίων. Οι απορροφήσεις αυτές εκφράζονται ως ειδικές αποσβέσεις  $E_{1cm} 1\%$  (η απόσβεση διαλύματος 1% του λίπους στον ορισμένο διαλύτη, σε πάχος 1 cm) συμβατικά παριστώμενες με **K** (που ονομάζεται επίσης συντελεστής αποσβέσεως).

Το υπό εξέταση λίπος διαλύεται στον απαιτούμενο διαλύτη και μετά προσδιορίζεται η απόσβεση του διαλύματος στα καθοριζόμενα μήκη κύματος αναφορικά προς καθαρό διαλύτη. Οι ειδικές αποσβέσεις υπολογίζονται από τις φασματοφωτομετρικές αναγνώσεις (*Επίσημη Εφημερίδα της ΕΕ, Παράρτημα ΙΧ, L 90/55, 2013*).

## Όργανα

- Φασματοφωτόμετρο JASCO V-530 UV/Vis,
- Ορθογώνιες κυψελίδες χαλαζία με καλύμματα, οπτικού μήκους 1 cm,
- Ογκομετρικές φιάλες των 10 mL.

## Αντιδραστήρια

- Φασματοφωτομετρικά καθαρό ισοοκτάνιο (2,2,4-τριμεθυλοπεντάνιο) από την SIGMA-ALDRICH®

## Διαδικασία

Ζυγίζονται με σχετική ακρίβεια 0,1 g του δείγματος σε ογκομετρική φιάλη των 10 mL, ο όγκος συμπληρώνεται έως τη χαραγή με το ισοοκτάνιο και ομογενοποιείται. Το διάλυμα που προκύπτει πρέπει να είναι εντελώς διαυγές. Αν υπάρχει αδιαφάνεια ή θολότητα διηθείται γρήγορα μέσω διηθητικού χαρτιού.

Γεμίζεται μία κυψελίδα με το αποκτηθέν διάλυμα και μετρώνται οι απορροφήσεις σε κατάλληλο μήκος κύματος μεταξύ 232 και 272 nm, λαμβάνοντας το χρησιμοποιούμενο διαλύτη ως αναφορά.

Οι καταγραφόμενες τιμές απόσβεσης πρέπει να βρίσκονται μέσα στη περιοχή 0,1-0,8. Εάν όχι, οι μετρήσεις πρέπει να επαναληφθούν, χρησιμοποιώντας, κατά περίπτωση, πυκνότερα ή αραιότερα διαλύματα.

## Έκφραση του συντελεστή απόσβεσης

Καταγράφονται οι ειδικές αποσβέσεις (συντελεστές αποσβέσεως) στα διάφορα μήκη κύματος, υπολογιζόμενες ως εξής :

$$K_{\lambda} = \frac{E_{\lambda}}{c \times s}$$

όπου:

$K_{\lambda}$  η ειδική απόσβεση σε μήκος κύματος  $\lambda$ ,

$E_{\lambda}$  η απόσβεση μετρηθείσα σε μήκος κύματος  $\lambda$ ,

$c$  η συγκέντρωση του διαλύματος σε g/100 mL,

$s$  το πάχος της κυψελίδας σε cm.

Τα αποτελέσματα εκφράζονται με δύο δεκαδικά ψηφία.

Η φασματοφωτομετρική ανάλυση ελαιόλαδου σύμφωνα με την επίσημη μέθοδο των κανονισμών της ΕΟΚ καθορίζει τον προσδιορισμό της ειδικής απόσβεσης σε διάλυμα ισοοκτανίου σε μήκη κύματος 232 και 268 nm και τον προσδιορισμό ΔΚ, ο οποίος αποδίδεται ως :

$$\Delta K = K_m - \frac{K_{m-4} + K_{m+4}}{2}$$

όπου  $K_m$  είναι η ειδική απόσβεση σε μήκος κύματος  $m$ , το μήκος κύματος μέγιστης απορρόφησης γύρω από τα 268 nm.

## ΧΡΩΜΑΤΟΜΕΤΡΙΚΟΣ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΤΩΝ ΟΛΙΚΩΝ ΦΑΙΝΟΛΙΚΩΝ ΣΤΟ ΕΛΑΙΟΛΑΔΟ ΜΕ ΤΗ ΜΕΘΟΔΟ FOLIN – CIOCALTEAU

### Αντικείμενο της μεθόδου

Η μέθοδος αυτή περιγράφει τον ποσοτικό προσδιορισμό του συνόλου των φαινολικών ενώσεων που υπάρχουν στο ελαιόλαδο και διαλύονται σε διάλυμα μεθανόλης / νερού και την αντίδρασή τους με το αντιδραστήριο Folin – Ciocalteau.

### Αρχή της μεθόδου

Τα ολικά φαινολικά συστατικά προσδιορίζονται με τη βοήθεια φασματοφωτομέτρου υπεριώδους – ορατού (UV-vis), με τη μέθοδο Folin-Ciocalteu και μέτρηση της απορρόφησης στα 765nm.

Η μέθοδος αυτή βασίζεται στην αναγωγή (οξειδωση φαινολικών συστατικών δείγματος) διαλύματος φωσφορομολυβδενικού και φωσφοροβολφραμικού οξέος (Folin-Ciocalteu reagent) με τις ακόλουθες δομές:



σε φωσφορομολυβδενικό / φωσφοροβολφραμικό-φαινολικό συμπλόκο, μπλέ χρώματος και σε αλκαλικό περιβάλλον.

Phenolics + alkaline + FC reagent → blue colored product, Abs 765nm

Ο ποσοτικός προσδιορισμός των ολικών φαινολικών συστατικών γίνεται με τη βοήθεια πρότυπης καμπύλης γαλλικού ή καφεϊκού οξέος, ενώ η ταυτοποίηση της κάθε ουσίας ξεχωριστά δεν είναι δυνατή.

Οι συγκεντρώσεις των ολικών φαινολικών στα εκχυλίσματα οι οποίες έχουν προσδιοριστεί βάση της Folin-Ciocalteu δεν αποτελούν απόλυτες τιμές των ποσοτήτων των φαινολικών συστατικών στο εκχύλισμα αλλά στη πραγματικότητα βασίζονται στην αναγωγική τους ικανότητα αναφορικά ισοδύναμη με την αναγωγική ικανότητα του γαλλικού ή του καφεϊκού οξέος.

### **Όργανα**

- Φασματοφωτόμετρο διπλής δέσμης ορατού/υπεριώδους φωτός (Jasco V-530)
- Πλαστικές κυψελίδες (2)
- Αναλυτικός ζυγός
- Κυκλοαναμίκτης (vortex)
- Ογκομετρικές φιάλες
- Δοκιμαστικοί σωλήνες με στατό
- Μηχανική πιπέττα μεταβλητού όγκου 100-1000  $\mu\text{L}$  με μπλέ ρύγχος
- Σιφόνια του 1 και των 10mL
- Πιπέττες μιας χρήσεως
- Προστατευτικά γάντια και γυαλιά

### **Αντιδραστήρια**

Όλα τα αντιδραστήρια είναι αναγνωρισμένης αναλυτικής καθαρότητας από την SIGMA-ALDRICH<sup>®</sup> και το χρησιμοποιούμενο νερό είναι απεσταγμένο ή ισοδύναμης καθαρότητας.

- Αντιδραστήριο Folin-Ciocalteu
- Πρότυπο διάλυμα καφεϊκού οξέος (σταθερό για λίγες μέρες στους 4°C)
- Μεθανόλη και εξάνιο αναλυτικής καθαρότητας
- Απεσταγμένο νερό
- Υδατικό διάλυμα ανθρακικού νατρίου 20% ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$  20% w/v)

### **Διαδικασία**

#### Κατασκευή πρότυπης καμπύλης

Παρασκευάζεται διάλυμα καφεϊκού οξέος συγκέντρωσης 100mg/L (μητρικό διάλυμα)

- Από το πρότυπο μητρικό διάλυμα καφεϊκού οξέως 100 mg/L που παρασκευάστηκε μεταφέρονται με σιφόνιο 1, 2, 4, 8 και 10 mL σε δοκιμαστικούς σωλήνες και συμπληρώνονται μέχρι τα 10 mL με διάλυμα μεθανόλης / νερού 60:40.
- Ομογενοποιείται το περιεχόμενο με χρήση κυκλοαναμίκτη (vortex).
- Οι συγκεντρώσεις των προτύπων διαλυμάτων μετά την αραιώση είναι 10, 20, 40, 80 και 100 mg/L αντίστοιχα.

#### Μέτρηση πρότυπων διαλυμάτων

- 0.5 mL από κάθε πρότυπο διάλυμα μεταφέρεται σε δοκιμαστικό σωλήνα και προστίθενται με τη σειρά τα ακόλουθα (σε κάθε στάδιο το διάλυμα αναδεύετε σε κυκλοαναμίκτη)
- 5 mL απιονισμένου νερού
- 0.5 mL αντιδραστηρίου Folin-Ciocalteu
- Αναμονή 3 min
- 1 mL διαλύματος ανθρακικού νατρίου (20% w/v).
- 3 mL απιονισμένου νερού

Ακολούθως, τα διαλύματα παραμένουν σε σκοτεινό μέρος για 2 h και κατόπιν μεταφέρονται σε πλαστικές κυψελίδες για μέτρηση της απορρόφησής τους στα 765 nm. Ως δείγμα αναφοράς για το μηδενισμό του οργάνου χρησιμοποιείται διάλυμα που έχει παρασκευαστεί κατά τον ίδιο τρόπο αντικαθιστώντας το πρότυπο διάλυμα με διάλυμα μεθανόλης / νερού 60:40.

Με βάση τις παραπάνω συγκεντρώσεις και τις απορροφήσεις τους κατασκευάζεται η πρότυπη καμπύλη του καφεϊκού οξέως ( $A=f(C)$ ).

#### Εκχύλιση των φαινολικών συστατικών του ελαιολάδου

1. Ζυγίζονται 2.5 g ελαιολάδου σε σωλήνες φυγοκέντρου
2. Προστίθενται 5 mL εξάνιο
3. Προστίθενται 5 mL μίγματος MeOH:Water / 60:40
4. Το διάλυμα αναδεύεται σε vortex για 2 min
5. Οι σωλήνες φυγοκεντρούνται για 10 min
6. Αφαιρείται η άνω στοιβάδα του εξανίου με τη χρήση πλαστικής πιπέτας Pasteur
7. Συλλέγεται η κατώτερη στοιβάδα (όγκου 5 mL) η οποία περιέχει το φαινολικό εκχύλισμα.

### Μέτρηση δείγματος

- 0.5 mL από την κατώτερη στοιβάδα (του φαινολικού εκχυλίσματος) μεταφέρονται σε δοκιμαστικό σωλήνα όπου προστίθενται με τη σειρά τα ακόλουθα (σε κάθε στάδιο αναδεύετε σε κυκλοαναμίκτη)
- 5 mL απιονισμένου νερού
- 0.5 mL αντιδραστηρίου Folin-Ciocalteu
- Αναμονή 3 min
- 1 mL διαλύματος ανθρακικού νατρίου (20%)
- 3 mL απιονισμένου νερού
- Ακολούθως, τα διαλύματα παραμένουν σε σκοτεινό μέρος για 30min και κατόπιν μεταφέρονται σε πλαστικές κυψελίδες για μέτρηση της απορρόφησής τους στα 765 nm
- Ως δείγμα αναφοράς για το μηδενισμό του οργάνου χρησιμοποιείται διάλυμα που έχει παρασκευαστεί κατά τον ίδιο τρόπο αντικαθιστώντας το δείγμα με απιονισμένο νερό.

### **Έκφραση των αποτελεσμάτων**

Η συγκέντρωση των ολικών φαινολικών του δείγματος υπολογίζεται ως εξής:

- Χρησιμοποιώντας την πρότυπη καμπύλη του καφεϊκού οξέος υπολογίζεται συγκέντρωση των φαινολικών συστατικών στο εκχύλισμα του ελαιολάδου.
- Το τελικό αποτέλεσμα εκφράζεται σε mg καφεϊκού οξέος / kg ελαιολάδου.

## 2.5 ΜΕΤΡΗΣΗ ΟΞΕΙΔΩΤΙΚΗΣ ΣΤΑΘΕΡΟΤΗΤΑΣ ΕΛΑΙΟΛΑΔΟΥ (RANCIMAT METHOD)

### Αντικείμενο της μεθόδου

Η μέθοδος αυτή έχει ως στόχο τον προσδιορισμό της οξειδωτικής σταθερότητας λιπών και ελαίων με την μέτρηση του χρόνου επαγωγής της οξείδωσής τους (679 Rancimat, instructions for use)

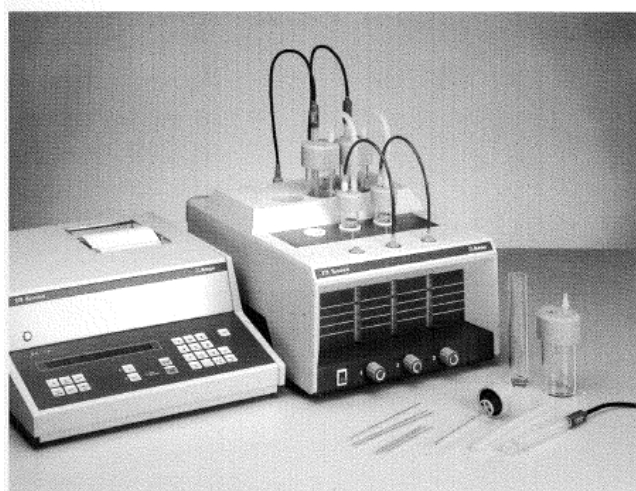
### Αρχή της μεθόδου

Με τη μέθοδο αυτή επιτυγχάνεται επιταχυνόμενη οξείδωση των μορίων των λιπαρών οξέων του δείγματος, μέσω της συνεχόμενης θέρμανσης του δείγματος καθώς και της συνεχούς ροής αέρα που διέρχεται μέσα από αυτό. Τα αρχικά προϊόντα οξείδωσης που σχηματίζονται είναι τα υπεροξείδια, ενώ τα δευτερεύοντα είναι πτητικά οργανικά οξέα, όπως το φορμικό οξύ και το οξικό οξύ. Αυτά τα πτητικά οξέα διοχετεύονται μέσω ενός σωλήνα από το δοχείο του δείγματος σε ένα δοχείο το οποίο περιέχει απιονισμένο νερό, με αποτέλεσμα να αυξάνεται η ηλεκτρική του αγωγιμότητα, η οποία μετράται με ειδικό ηλεκτρόδιο (Εικόνα 2.4).

Ο χρόνος που μεσολαβεί έως τον σχηματισμό των δευτερογενών προϊόντων οξείδωσης, ονομάζεται χρόνος επαγωγής της οξείδωσης και όσο μεγαλύτερη τιμή έχει ο χρόνος επαγωγής της οξείδωσης, τόσο σταθερότερο είναι το δείγμα που εξετάζεται. (Farhoosh et al. 2013)

### Όργανα

- Rancimat 679, Metrohn, Herisau, Switzerland (Εικόνα 2.2)
- Αναλυτικός ζυγός



Εικόνα 2.2: Η συσκευή Rancimat 679 και το καταγραφικό της.

## Αντιδραστήρια

- Απιονισμένο νερό,
- Δείγματα ελαιολάδων
- Σαπούνι SIGMA-ALDRICH® RBS 50 solution

## Διαδικασία

Ζυγίζονται 3 g από το προς ανάλυση δείγμα μέσα στο ειδικό γυάλινο δοχείο δείγματος. Στο ειδικό γυάλινο δοχείο αντίδρασης μπαίνουν 60 mL απιονισμένο νερό.

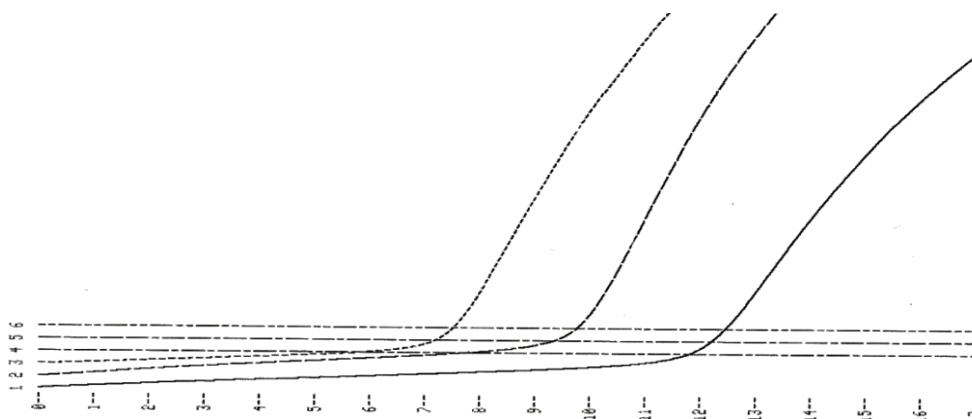
Αφού τοποθετηθούν τα δοχεία αντίδρασης της συσκευής Rancimat 679 στις θέσεις τους και γίνει η συνδεσμολογία με τους σωλήνες της ροής αέρα και τους σωλήνες μεταφοράς των πτητικών οξέων, ρυθμίζονται όλες οι παράμετροι λειτουργίας της συσκευής. Οι κυριότερες παράμετροι που αξίζει να αναφερθούν είναι :

- Η θερμοκρασία στην οποία θα θερμαίνεται το δείγμα, που είναι 120°C,
- Η ταχύτητα ροής του αέρα που θα διαρρέει το δείγμα, που είναι 20 L/h.

Όταν η συσκευή φτάσει την επιθυμητή θερμοκρασία τότε συνδέονται τα δοχεία με τα δείγματα, ξεκινά η διοχέτευση αέρα και αρχίζει η καταγραφή (Luis & Pe, 2010).

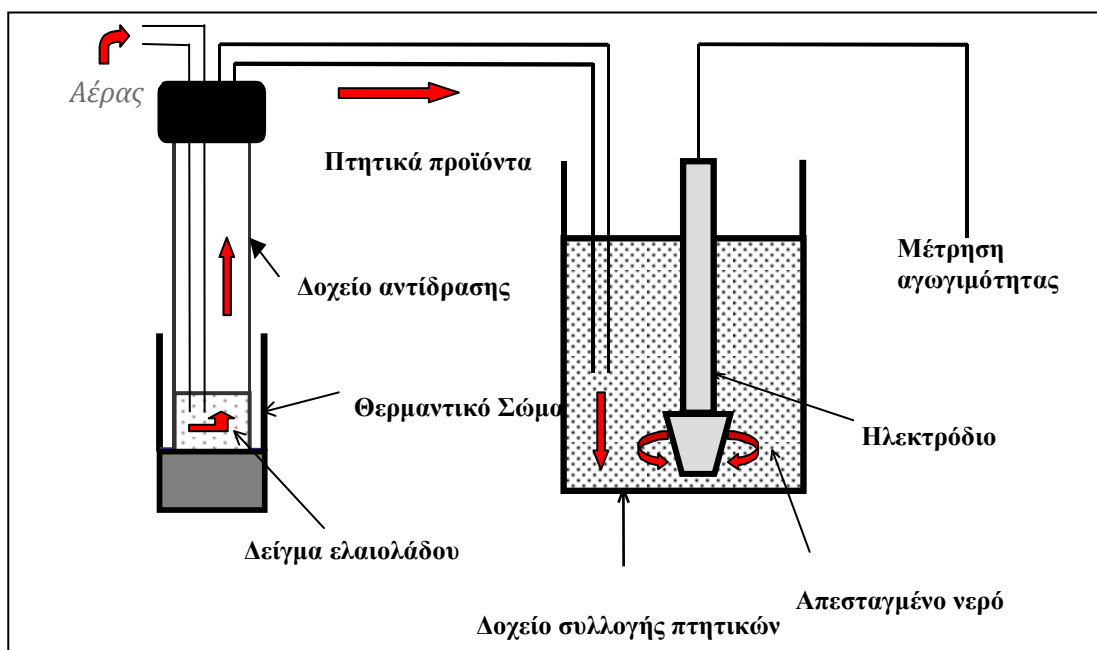
## Έκφραση του χρόνου επαγωγής της οξείδωσης

Τα αποτελέσματα που παίρνουμε από το καταγραφικό της Rancimat 679 φαίνονται στην Εικόνα 2.3 και είναι σε μορφή καμπύλης. Στον άξονα x βρίσκεται ο χρόνος σε ώρες (h) και στον άξονα y βρίσκεται η αγωγιμότητα του απιονισμένου νερού σε  $\mu\text{S}/\text{cm}$ . Ο χρόνος επαγωγής της οξείδωσης, είναι ο χρόνος που απαιτείται έως ότου η κάθε καμπύλη φτάσει το σημείο καμπής της. Το σημείο καμπής ορίζεται ως το σημείο τομής των εφαπτομένων των ευθύγραμμων τμημάτων κάθε καμπύλης. Από αυτό το σημείο τομής, μία κάθετος πάνω στον άξονα x ορίζει με ακρίβεια τον χρόνο επαγωγής της οξείδωσης για κάθε δείγμα (679 Rancimat, instructions for use).



Εικόνα 2.3: Καμπύλες αποτελεσμάτων για τρία δείγματα λαδιού όπως δίνονται από τη Rancimat.





Εικόνα 2.4: Σχηματικά η αρχή λειτουργίας της συσκευής Rancimat.

## 2.6 ΜΕΤΡΗΣΗ ΤΗΣ ΜΕΤΑΒΟΛΗΣ ΤΟΥ ΧΡΩΜΑΤΟΣ

### Αντικείμενο της μεθόδου

Η μέθοδος αυτή έχει ως στόχο την ανίχνευση τυχόν μεταβολής του χρώματος του ελαιολάδου, ύστερα από αποθήκευση για συγκεκριμένα χρονικά διαστήματα και σε συγκεκριμένες θερμοκρασιακές συνθήκες.

### Αρχή της μεθόδου

Το ελαιόλαδο έχει στη δομή του φυσικές χρωστικές, όπως χλωροφύλλη, καροτενοειδή, ξανθοφύλλη και λυκοπένιο (Aparicio & Harwood, 2013). Κατά την αποθήκευση του ελαιολάδου σε υψηλές θερμοκρασίες, καθώς και κατά τη θερμική του επεξεργασία, όπως για παράδειγμα το μαγείρεμα, παρατηρούνται μεταβολές στο χρώμα του, λόγω της οξείδωσης της χλωροφύλλης κυρίως, αλλά και των υπολοίπων χρωστικών (Pristouri et al. 2010).

Το χρωματόμετρο αποτελείται από:

- Μία πηγή που παράγει δέσμη φωτός
- Συνδυασμό φίλτρων που τροποποιούν την ενεργειακή διανομή του ανακλώμενου φωτός
- Φωτοηλεκτρικό (οπτικό) ανιχνευτή που μετατρέπει το ανακλώμενο φως σε ηλεκτρικό αποτέλεσμα (Sahin & Sumnu, 2006).

## Όργανα

- Χρωματόμετρο MINOLTA CR-200
- Γυάλινο κυλινδρικό πλακίδιο εισαγωγής δείγματος.

## Διαδικασία

Αφού γίνει η βαθμονόμηση (calibration) του χρωματόμετρου σε ένα λευκό πλακίδιο και ρυθμιστούν οι χρωματικές παράμετροι που θα εξεταστούν, τοποθετείται δείγμα σε ένα κυλινδρικό πλακίδιο μέχρι τη χαραγή του πλακιδίου, έτσι ώστε η ποσότητα του δείγματος που μετράται να είναι πάντα η ίδια. Τοποθετούμε το χρωματόμετρο πάνω από το δείγμα και παίρνουμε τη μέτρηση, η οποία εμφανίζεται στο καταγραφικό του χρωματόμετρου. Οι συνθήκες φωτισμού πρέπει να είναι ίδιες σε κάθε μέτρηση, καθώς και η βάση πάνω στην οποία ακουμπά το κυλινδρικό πλακίδιο πρέπει να έχει πάντα σταθερό χρώμα. Πάντοτε γίνεται μέτρηση τυφλού δείγματος, δηλαδή φρέσκου δείγματος ελαιολάδου και εξαιρετικά παρθένου ελαιολάδου.

## Έκφραση της μεταβολής του χρώματος

Για την έκφραση των αποτελεσμάτων έχει επιλεγθεί η καταγραφή του χρώματος με την κλίμακα τριών συντεταγμένων L-a-b (σύστημα Munsell). Η συνιστώσα L αντιπροσωπεύει τη φωτεινότητα, με το πολύ φωτεινό να μεταφράζεται ως L=100 και το σκοτεινό ως L=0. Η συνιστώσα a αντιπροσωπεύει τη διαφορά μεταξύ του πράσινου (-a) και του κόκκινου (+a) και η συνιστώσα b αντιπροσωπεύει τη διαφορά μεταξύ του μπλε (-b) και του κίτρινου (+b) (Figura & Teixeira, 2007).

Η μεταβολή του χρώματος συμβολίζεται ως ΔE και ισούται με (Sahin & Sumnu, 2006):

$$\Delta E = \sqrt{(\Delta L)^2 + (\Delta a)^2 + (\Delta b)^2}$$

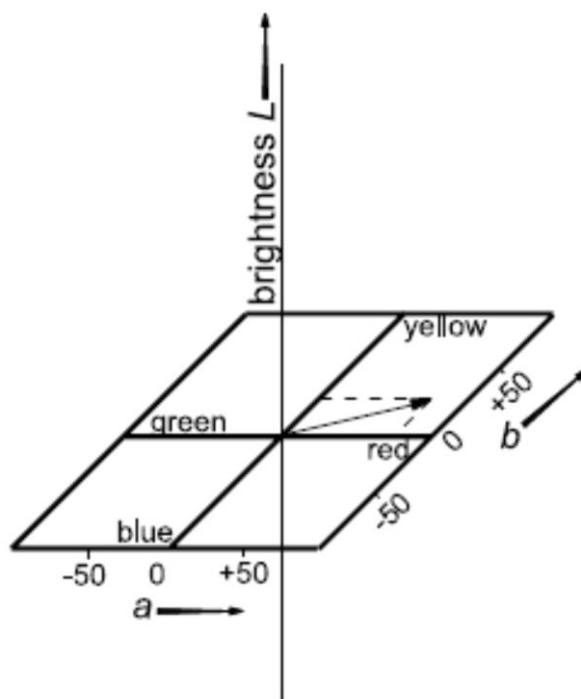
Όπου :

ΔL είναι η μεταβολή της φωτεινότητας του δείγματος σε σχέση με ένα τυφλό και ισούται με :  $\Delta L = L_{\text{δείγματος}} - L_{\text{τυφλού}}$

Δa είναι η μεταβολή κόκκινου / πράσινου και ισούται με :  $\Delta a = a_{\text{δείγματος}} - a_{\text{τυφλού}}$

Δb είναι η μεταβολή κίτρινου / μπλε και ισούται με :  $\Delta b = b_{\text{δείγματος}} - b_{\text{τυφλού}}$

Στην Εικόνα 2.5 φαίνεται η μεταβολή των χρωμάτων στο σύστημα τριών συντεταγμένων L-a-b.



Εικόνα 2.5: Κλίμακα μεταβολής των χρωμάτων στο σύστημα Munsell. (Figura & Texeira, 2007)

## 2.7 ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ

Τα αποτελέσματα των πειραματικών μετρήσεων που έγιναν με αναλυτικές χημικές μεθόδους, επεξεργάστηκαν στα στατιστικά προγράμματα Microsoft Excel™ και Systat™.

### **3 ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΣΥΖΗΤΗΣΗ**

Στο κεφάλαιο αυτό παρατίθενται τα αποτελέσματα των μετρήσεων των μεταβολών των εξεταζόμενων ποιοτικών και οξειδωτικών παραμέτρων. Στα σχήματα που ακολουθούν φαίνονται οι καμπύλες των μεταβολών συναρτήσει του χρόνου. Τα σημεία που χρησιμοποιήθηκαν είναι οι πειραματικές μετρήσεις σε κάθε χρόνο δειγματοληψίας και προέκυψαν από τον μέσο όρο τριών πειραματικών μετρήσεων. Σημειώνονται επίσης οι κατακόρυφες γραμμές σφαλμάτων, όπως προκύπτουν από τις τυπικές αποκλίσεις των πειραματικών δεδομένων.

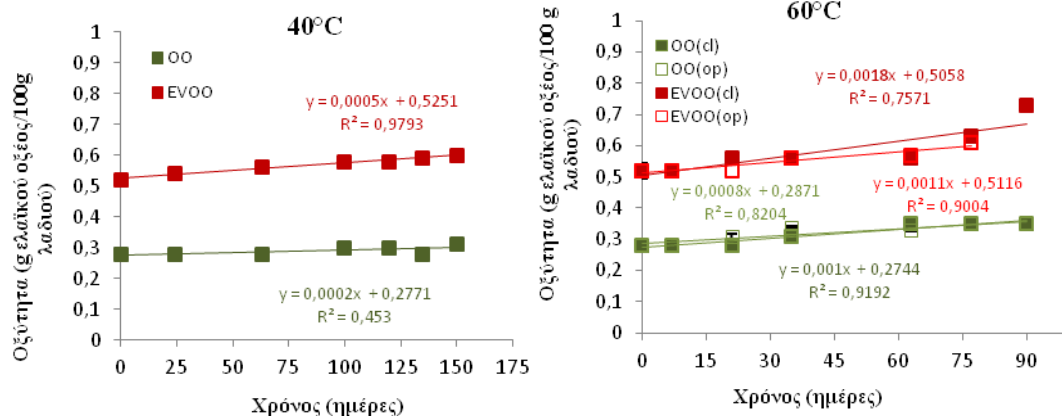
Τα δείγματα του εξαιρετικά παρθένου ελαιολάδου στα οποία επιδρά το οξυγόνο και ήταν αποθηκευμένα στις υψηλές θερμοκρασίες σε ανοιχτά φιαλίδια, συμβολίζονται συντομογραφικά ως EVOO(op). Αυτά στα οποία δεν επιδρά το οξυγόνο και ήταν αποθηκευμένα σε κλειστά φιαλίδια χωρίς κενό, συμβολίζονται ως EVOO(cl). Τα δείγματα του ελαιολάδου που αποθηκεύτηκαν παρουσία και απουσία οξυγόνου, συμβολίζονται ως OO(op) και OO(cl) αντίστοιχα. Η επεξεργασία των αποτελεσμάτων και τα διαγράμματα πραγματοποιήθηκαν με τη χρήση του Microsoft Excel™. Η μη γραμμική ανάλυση παλινδρόμησης με τη μέθοδο των ελαχίστων τετραγώνων, έγινε με το στατιστικό πρόγραμμα SigmaPlot Systat™.

#### **3.1 ΜΕΤΑΒΟΛΕΣ ΠΟΙΟΤΙΚΩΝ ΠΑΡΑΜΕΤΡΩΝ**

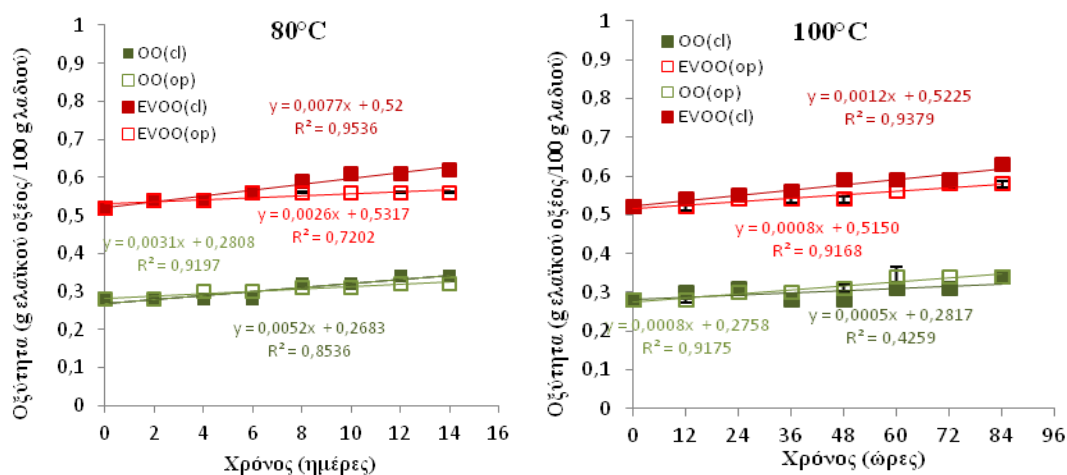
##### **3.1.1 ΟΞΥΤΗΤΑ**

Οι μεταβολές της οξύτητας κατά τη διάρκεια αποθήκευσης των δειγμάτων σε διαφορετικές θερμοκρασίες φαίνονται στα Σχήματα 3.1 και 3.2. Παρατηρούμε ότι η αρχική οξύτητα του ελαιολάδου είναι μικρότερη από την αρχική οξύτητα του εξαιρετικά παρθένου ελαιολάδου. Αυτή η παρατήρηση είναι σημαντική, καθώς η τιμή της οξύτητας, ως δείκτης της συγκέντρωσης του ελαιολάδου σε ελεύθερα λιπαρά οξέα, εκτός από κριτήριο ποιοτικό είναι και κριτήριο εκτίμησης του βαθμού εξευγενισμού του ελαιολάδου (Zhang et al. 2015). Η αύξηση της ελεύθερης οξύτητας πιθανώς οφείλεται στη δράση του λιπολυτικού ενζύμου λιπάση, που δρα λιπολυτικά στα τριγλυκερίδια με αποτέλεσμα την παραγωγή ελεύθερων λιπαρών οξέων τα οποία είναι υπεύθυνα για την ελεύθερη οξύτητα, καθώς και για την παραγωγή διγλυκεριδίων και μονογλυκεριδίων. Επίσης η ελεύθερη οξύτητα μπορεί να αυξηθεί λόγω της χημικής υδρόλυσης των τριγλυκεριδίων κατά τη διάρκεια της θέρμανσης (Santos et al. 2013).

Οι μεταβολές στην οξύτητα παρουσιάζουν γραμμικότητα και οι κλίσεις των ευθειών που τις περιγράφουν είναι θετικές και πολύ μικρές, λόγω της ελάχιστης αύξησης που παρατηρείται στις πειραματικές μετρήσεις.



Σχήμα 3.1: Μεταβολή της οξύτητας σε δείγματα ελαιολάδου (OO) και εξαιρετικά παρθένου ελαιολάδου (EVOO), κατά την αποθήκευσή τους στους 40°C χωρίς οξυγόνο (αριστερά) και στους 60°C με (op) και χωρίς (cl) οξυγόνο (δεξιά).



Σχήμα 3.2 Μεταβολή της οξύτητας σε δείγματα ελαιολάδου (OO) και εξαιρετικά παρθένο ελαιολάδου (EVOO), με (op) και χωρίς (cl) οξυγόνο, στους 80°C (αριστερά) και στους 100°C (δεξιά).

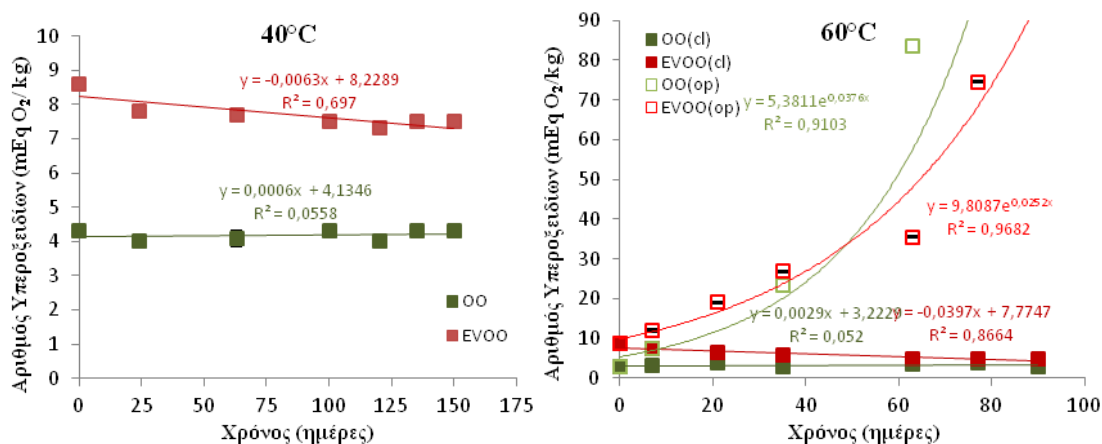
Από τα Σχήματα 3.1 & 3.2 βλέπουμε, πως η μεταβολή της οξύτητας για το ελαιόλαδο είναι ανεξάρτητη της επίδρασης ή μη του ατμοσφαιρικού οξυγόνου για όλες τις θερμοκρασίες αποθήκευσης. Αντίθετα, στο εξαιρετικά παρθένο παρατηρείται μεγαλύτερη αύξηση της οξύτητας απουσία οξυγόνου, στους 60, 80 και 100°C, σε σχέση με τα δείγματα που ήταν εκτεθειμένα στο ατμοσφαιρικό οξυγόνο.

Η παρουσίαση των ρυθμών μεταβολής της οξύτητας για τα δείγματα που εξετάστηκαν γίνεται στον Πίνακα 3.1, που παρατίθεται αργότερα στο τμήμα όπου μελετάται η επίδραση της θερμοκρασίας στους ρυθμούς μεταβολής των διαφόρων ποιοτικών χαρακτηριστικών.

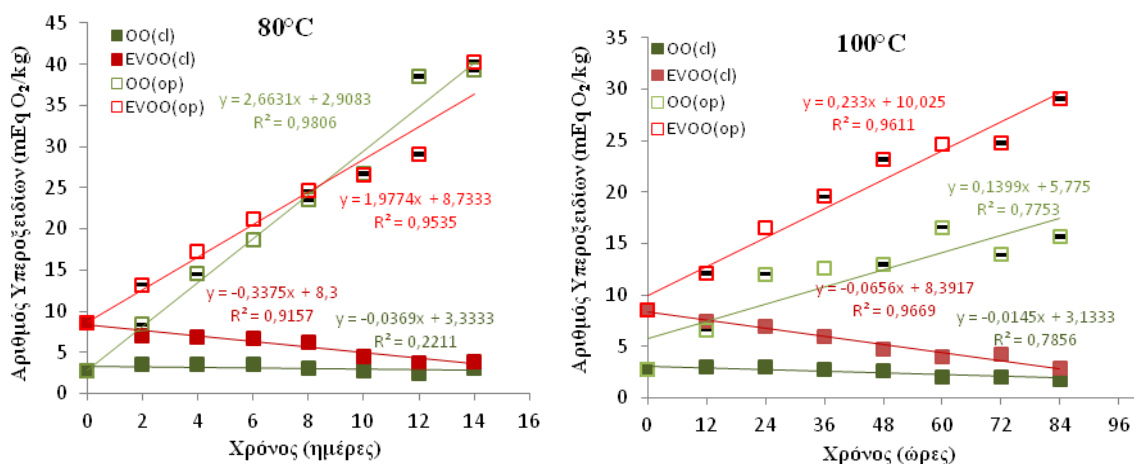
### 3.1.2 ΑΡΙΘΜΟΣ ΥΠΕΡΟΞΕΙΔΙΩΝ

Ο αριθμός υπεροξειδίων των δειγμάτων ελαιολάδου και εξαιρετικά παρθένου ελαιολάδου φαίνεται να επηρεάζεται αφενός από την παρουσία του οξυγόνου και αφετέρου από τον χρόνο και τη θερμοκρασία αποθήκευσης.

Αρχικά παρατηρούμε από τα σχήματα 3.3, 3.4, πως ο αριθμός υπεροξειδίων του εξαιρετικά παρθένου ελαιολάδου είχε αρχική τιμή υψηλότερη του απλού ελαιολάδου. Στους 40°C και σε συνθήκες απουσίας οξυγόνου, ο αριθμός υπεροξειδίων του ελαιολάδου παρέμεινε αμετάβλητος σε διάρκεια αποθήκευσης 5 μηνών (150 ημερών), ενώ το εξαιρετικά παρθένο ελαιόλαδο παρουσίασε μία μικρή, μείωση του αριθμού υπεροξειδίων του (Σχήμα 3.3. αριστερά). Την ίδια συμπεριφορά είχαν όπως φαίνεται στα Σχήματα 3.3 (δεξιά) και 3.4, τα δείγματα που αποθηκεύτηκαν στους 60, 80 και 100°C χωρίς να έρχονται σε επαφή με το ατμοσφαιρικό οξυγόνο. Ουσιαστικά δηλαδή παρουσιάστηκε μικρή πτώση του αριθμού υπεροξειδίων στο ελαιόλαδο και μεγαλύτερη στο εξαιρετικά παρθένο ελαιόλαδο, το οποίο είχε μεγαλύτερη αρχική τιμή ανεξάρτητα από το χρόνο και τη θερμοκρασία αποθήκευσης. Το παραπάνω είναι λογικό, καθώς λόγω έλλειψης οξυγόνου δεν σχηματίστηκαν υπεροξειδία και τα ήδη υπάρχοντα πιθανόν αποδομήθηκαν (Mancebo-Campos et al. 2007).



Σχήμα 3.3 Μεταβολή του αριθμού υπεροξειδίων σε δείγματα ελαιολάδου (OO) και εξαιρετικά παρθένου ελαιολάδου (EVOO) κατά την αποθήκευσή τους στους 40°C, χωρίς οξυγόνο (αριστερά) και μεταβολή του αριθμού υπεροξειδίων σε δείγματα ελαιολάδου (OO) και εξαιρετικά παρθένου ελαιολάδου (EVOO), κατά την αποθήκευσή τους στους 60°C με (op) και χωρίς (cl) οξυγόνο (δεξιά).



Σχήμα 3.4 Μεταβολή του αριθμού υπεροξειδίων σε δείγματα ελαιολάδου (OO) και εξαιρετικά παρθένου ελαιολάδου (EVOO), κατά την αποθήκευσή τους με (op) και χωρίς (cl) οξυγόνο, στους 80°C (αριστερά) και στους 100°C (δεξιά).

Αντίθετα τα δείγματα που αποθηκεύτηκαν με οξυγόνο παρουσίασαν σημαντικές μεταβολές. Συγκεκριμένα στους 60°C (Σχ.3.3 δεξιά) από τον πρώτο κιόλας μήνα αποθήκευσης άρχισε να παρουσιάζεται εκθετική τάση στην αύξηση του αριθμού υπεροξειδίων και στις δύο κατηγορίες ελαιολάδου. Αυτή η εκθετική αύξηση συνέχισε να εμφανίζεται στις πειραματικές μετρήσεις μέχρι και τους τρεις μήνες αποθήκευσης. Μετά τις 20 ημέρες αποθήκευσης στους 60°C και τα δύο είδη ελαιολάδου είχαν ξεπεράσει το ανώτατο όριο αριθμού υπεροξειδίων, που είναι τα 20 mEq O<sub>2</sub>/kg ελαιολάδου.

Στους 80°C τα δείγματα που αποθηκεύτηκαν με την επίδραση οξυγόνου παρουσίασαν έντονη γραμμική αύξηση, η οποία συνεχίστηκε μέχρι το πέρας της αποθήκευσης των 2 εβδομάδων (14 ημέρες). Το όριο των 20 mEq O<sub>2</sub>/kg ελαιολάδου φαίνεται πως ξεπεράστηκε, τόσο στο απλό ελαιόλαδο όσο και στο εξαιρετικά παρθένο, μετά τις 6 ημέρες αποθήκευσης (Σχήμα 3.4 αριστερά).

Στους 100°C ο αριθμός υπεροξειδίων των δειγμάτων που είναι εκτεθειμένα στο οξυγόνο, εμφάνισε γραμμική αύξηση καθ' όλη τη διάρκεια αποθήκευσης, που ήταν οι 84 ώρες (3,5 ημέρες). Παρατηρούμε πως ο αριθμός υπεροξειδίων του εξαιρετικά παρθένου ελαιολάδου αυξήθηκε εντονότερα από αυτόν του ελαιολάδου, το οποίο φάνηκε να είναι πιο σταθερό στην οξείδωση. Στο Σχήμα 3.4 δεξιά, φαίνεται πως το όριο των 20 mEq O<sub>2</sub>/kg ελαιολάδου, το εξαιρετικά παρθένο ελαιόλαδο το ξεπέρασε στις 36 ώρες αποθήκευσης στους 100°C, ενώ το ελαιόλαδο δεν το ξεπέρασε μέχρι και το πέρας της αποθήκευσης των 84 ωρών (Santos et al. 2013).

Βιβλιογραφικά υποστηρίζεται ότι κατά την πορεία της θέρμανσης (καθώς και κατά τη διάρκεια του τηγανίσματος), η αύξηση του αριθμού υπεροξειδίων ακολουθείται από τη μείωσή του. Αυτό οφείλεται στο γεγονός ότι τα υδροϋπεροξειδία αποδομούνται σε θερμοκρασίες τηγανίσματος (180°C) αλλά και με παρατεταμένη θέρμανση του ελαιολάδου λόγω του σχηματισμού δευτερογενών προϊόντων οξείδωσης

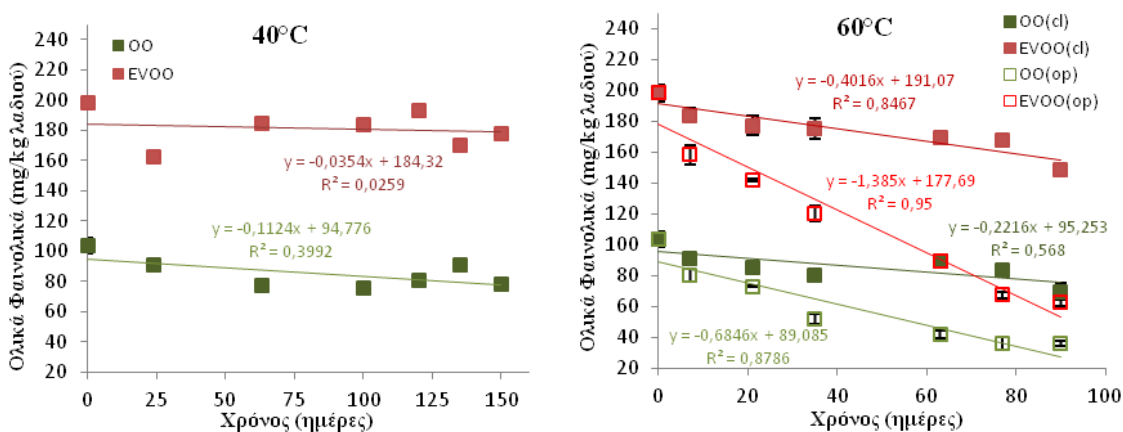
(Chatzilazarou et al. 2005). Θα ήταν επομένως αρκετά ενδιαφέρον να γίνει παράταση του χρόνου παραμονής των δειγμάτων σε υψηλές θερμοκρασίες.

Η παρουσίαση των ρυθμών μεταβολής του αριθμού υπεροξειδίων για τα δείγματα που εξετάστηκαν γίνεται στον Πίνακα 3.2, που παρατίθεται αργότερα στο τμήμα όπου μελετάται η επίδραση της θερμοκρασίας στους ρυθμούς μεταβολής των διαφόρων ποιοτικών χαρακτηριστικών.

### 3.1.3 ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΗ ΟΛΙΚΩΝ ΦΑΙΝΟΛΙΚΩΝ

Η συγκέντρωση των φαινολικών ενώσεων του ελαιολάδου είναι ενδεικτική της ποιότητας του, για τον λόγο αυτό όπως είναι αναμενόμενο παρατηρείται μεγάλη διαφορά ανάμεσα στις αρχικές συγκεντρώσεις των φαινολικών του εξαιρετικά παρθένου και του ελαιολάδου (Servili M., 2002). Στο εξαιρετικά παρθένο ελαιόλαδο είχαμε αρχική συγκέντρωση ίση με 200 mg/kg ελαιολάδου, ενώ στο ελαιόλαδο η αρχική συγκέντρωση ήταν περίπου 80 mg/kg ελαιολάδου, καθώς το μεγαλύτερο ποσοστό των φαινολικών του ενώσεων έχει παρασυρθεί με το νερό κατά τη διαδικασία του εξευγενισμού (Jaber et al. 2014)

Σε χαμηλή θερμοκρασία αποθήκευσης που είναι οι 40°C και χωρίς οξυγόνο, η συγκέντρωση των φαινολικών και στα δύο είδη ελαιολάδου παρέμεινε ουσιαστικά αμετάβλητη, καθώς παρατηρήθηκε πολύ μικρή αρνητική κλίση στις γραμμικές εξισώσεις του Σχήματος 3.5 (αριστερά).



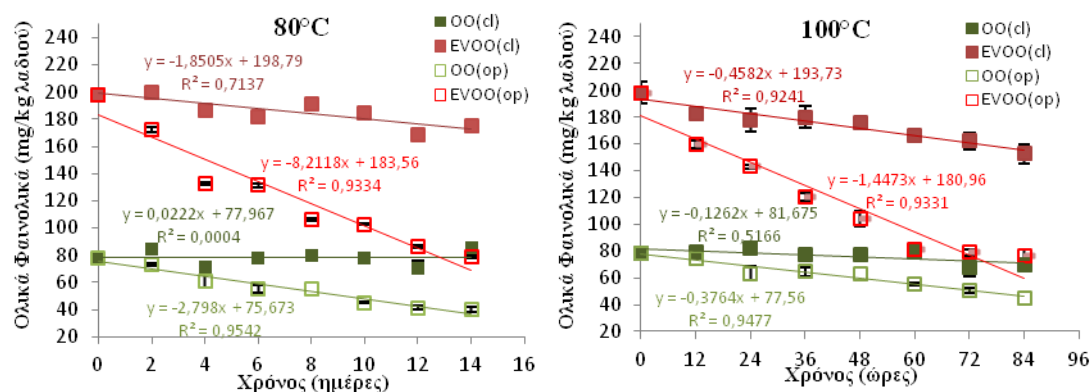
Σχήμα 3.5 Μεταβολή της συγκέντρωσης των ολικών φαινολικών σε δείγματα ελαιολάδου (OO) και εξαιρετικά παρθένο ελαιολάδου (EVOO) στους 40°C, απουσία οξυγόνου (αριστερά) και κατά την αποθήκευσή τους με (op) και χωρίς (cl) οξυγόνο, στους 60°C (δεξιά).



Στις υπόλοιπες θερμοκρασίες αποθήκευσης (60, 80 και 100°C), τα δείγματα του εξαιρετικά παρθένου ελαιολάδου τα οποία ήταν εκτεθειμένα στο ατμοσφαιρικό οξυγόνο (EVOO(op)), παρουσίασαν έντονη μείωση των συγκεντρώσεων των ολικών φαινολικών τους, σε σύγκριση με τα δείγματα του ελαιολάδου που ήταν σε επαφή με το οξυγόνο (OO(op)). Αυτό φαίνεται και στις αντίστοιχες γραμμικές εξισώσεις των Σχημάτων 3.5 και 3.6, οι οποίες περιγράφουν τη μείωση της συγκέντρωσης των φαινολικών στα δύο είδη ελαιολάδου. Οι κλίσεις των εξισώσεων που αντιστοιχούν στο εξαιρετικά παρθένο ελαιόλαδο είναι μεγαλύτερες από τις αντίστοιχες του ελαιολάδου. Αυτό οφείλεται στο αυξημένο αρχικό περιεχόμενο του εξαιρετικά παρθένου ελαιολάδου σε φαινολικές ενώσεις, οι οποίες καταναλώθηκαν με ταχείς ρυθμούς προκειμένου να διατηρηθεί η οξειδωτική σταθερότητα του ελαιολάδου (Nissiotis M & Tasioula-Margari M. 2002).

Τα δείγματα που δεν βρίσκονταν σε επαφή με οξυγόνο (EVOO(cl) και OO(cl)) παρουσίασαν την συμπεριφορά αλλά με μειωμένους ρυθμούς, καθώς οι συγκεντρώσεις των ολικών φαινολικών παρέμειναν αμετάβλητες συναρτήσει του χρόνου. Συγκεκριμένα το εξαιρετικά παρθένο ελαιόλαδο παρουσίασε ελάχιστη μείωση στη συγκέντρωση των φαινολικών, ενώ η συγκέντρωση του ελαιολάδου παρέμεινε σχεδόν σταθερή.

Η παρουσίαση των ρυθμών μεταβολής της συγκέντρωσης των ολικών φαινολικών για τα δείγματα που εξετάστηκαν γίνεται στον Πίνακα 3.3, που παρατίθεται αργότερα στο τμήμα όπου μελετάται η επίδραση της θερμοκρασίας στους ρυθμούς μεταβολής των διαφόρων ποιοτικών χαρακτηριστικών.



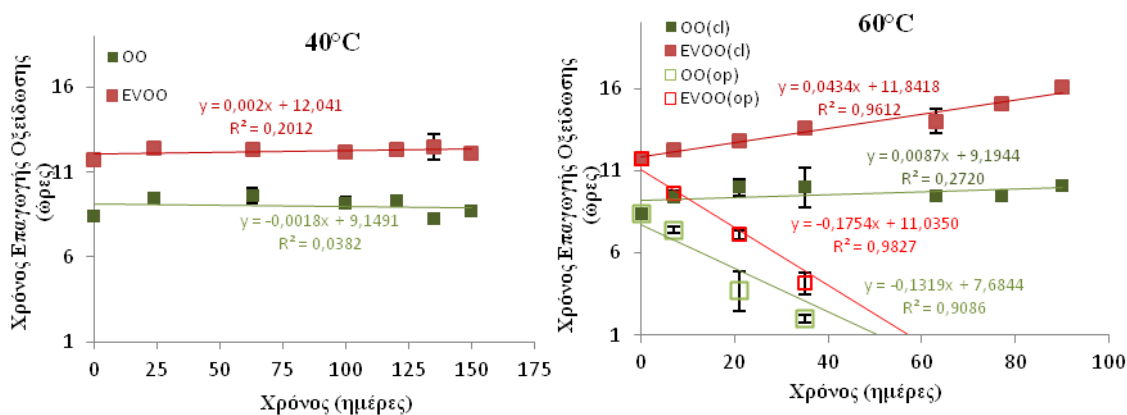
Σχήμα 3.6 Μεταβολή της συγκέντρωσης των ολικών φαινολικών σε δείγματα ελαιολάδου (OO) και εξαιρετικά παρθένο ελαιολάδου (EVOO), κατά την αποθήκευσή τους με (op) και χωρίς (cl) οξυγόνο, στους 80°C (αριστερά) και στους 100°C (δεξιά).

### 3.1.4 ΧΡΟΝΟΣ ΕΠΑΓΩΓΗΣ ΤΗΣ ΟΞΕΙΔΩΣΗΣ

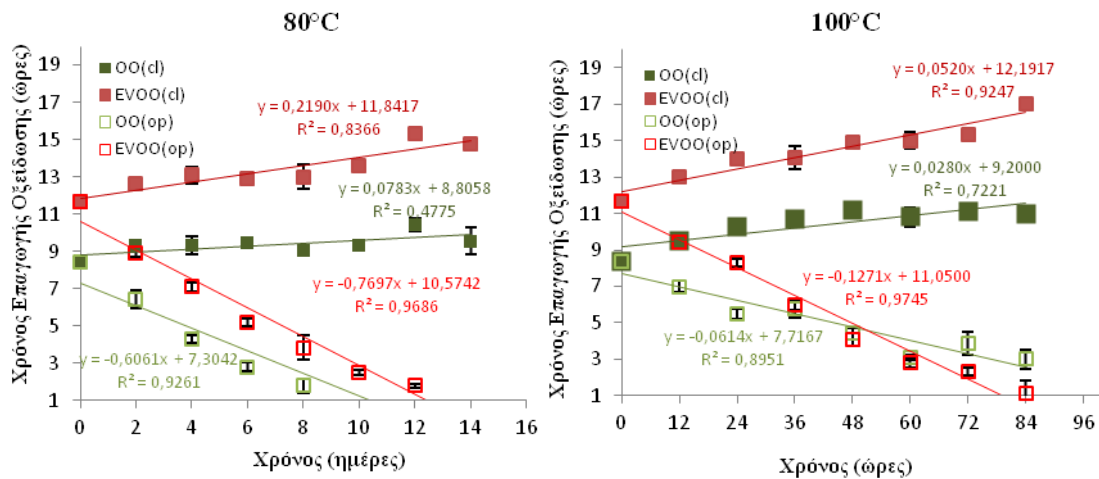
Ένας γενικός κανόνας σχετικά με τον χρόνο επαγωγής της οξείδωσης είναι πως όσο μεγαλύτερη τιμή έχει, τόσο σταθερότερο είναι το δείγμα που εξετάζεται. Τα φρέσκα λάδια έχουν μεγάλους χρόνους επαγωγής οξείδωσης, γεγονός που σημαίνει αυξημένη οξειδωτική σταθερότητα. Το έξτρα παρθένο ελαιόλαδο, λόγω του ότι είναι εφοδιασμένο με υψηλές συγκεντρώσεις αντιοξειδωτικών ενώσεων, όπως τα φαινολικά και οι τοκοφερόλες, έχει μεγαλύτερο αρχικό χρόνο επαγωγής οξείδωσης συγκριτικά με το ελαιόλαδο που είναι φτωχό σε φαινολικές ενώσεις (Franco et al. 2014). Οι αρχικές τιμές των εν προκειμένω δειγμάτων ήταν περίπου 12 ώρες για το εξαιρετικά παρθένο και περίπου 9 ώρες για το απλό ελαιόλαδο (Σχήματα 3.7 & 3.8).

Στους 40°C όπως φαίνεται από το Σχήμα 3.7, ο χρόνος επαγωγής της οξείδωσης παρέμεινε αμετάβλητος με την πάροδο του χρόνου αποθήκευσης και σε συνθήκες έλλειψης οξυγόνου και για τις δύο κατηγορίες ελαιολάδου.

Στα Σχήματα 3.7 (δεξιά) και 3.8 φαίνεται πως σε συνθήκες υψηλών θερμοκρασιών, όπως οι 60, 80 και 100°C υπήρξε γραμμική αύξηση με σχετικά υψηλούς ρυθμούς, του χρόνου επαγωγής της οξείδωσης του έξτρα παρθένο ελαιολάδου, το οποίο δεν ήταν σε επαφή με οξυγόνο. Το ελαιόλαδο παρουσίασε χαμηλότερους ρυθμούς αύξησης απουσία οξυγόνου, εν συγκρίσει με το έξτρα παρθένο.



Σχήμα 3.7 Μεταβολή του χρόνου επαγωγής της οξείδωσης σε δείγματα ελαιολάδου (OO) και εξαιρετικά παρθένο ελαιόλαδο (EVOO) στους 40°C, απουσία οξυγόνου(αριστερά) και παρουσία (op) - απουσία (d) οξυγόνου, κατά την αποθήκευσή τους στους 60°C (δεξιά).



Σχήμα 3.8 Μεταβολή του χρόνου επαγωγής της οξείδωσης σε δείγματα έξτρα παρθένου (EVOO) και απλού ελαιολάδου (OO), παρουσία (op) και απουσία (cl) οξυγόνου, κατά την αποθήκευσή τους στους 80°C (αριστερά) και στους 100°C (δεξιά)

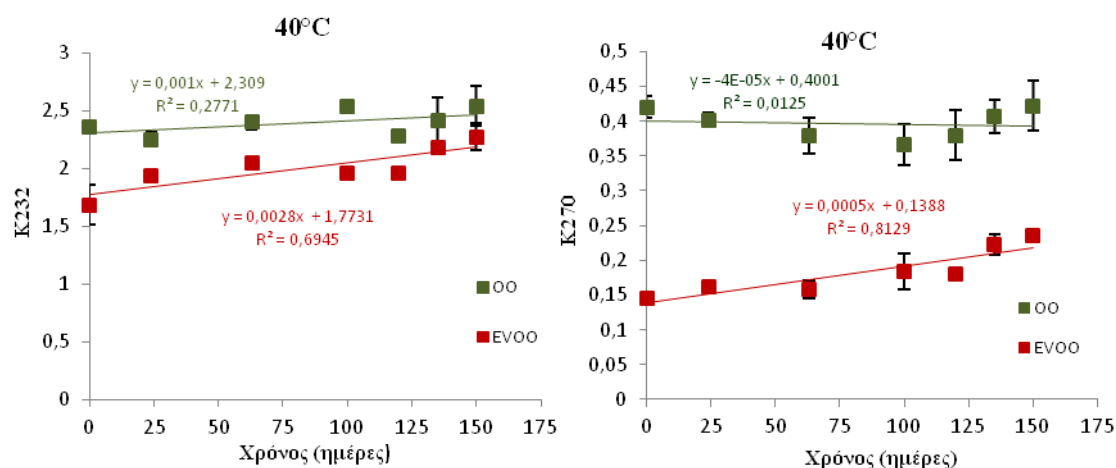
Μια πιθανή θεωρία στην οποία βασίζεται το παραπάνω φαινόμενο, είναι ότι η θέρμανση καταλύει την υδρόλυση των σεκοϊροδοειδών, όπως η ελευρωπαΐνη. Τα προϊόντα της υδρόλυσης αυτής είναι φαινολικές ενώσεις (υδροξυτυροσόλη και τυροσόλη) με πολύ υψηλή αντιοξειδωτική δράση (Fuentes et al. 2012). Αυτές οι φαινολικές ενώσεις που προκύπτουν είναι πιθανόν να αυξάνουν την ανθεκτικότητα του ελαιολάδου στην οξείδωση, κάτι το οποίο εκφράζεται με τους υψηλούς χρόνους επαγωγής της οξείδωσης (Mancebo-Campos et al. 2014).

Αντίθετα και οι δύο κατηγορίες ελαιολάδου παρουσία οξυγόνου έχασαν την οξειδωτική τους σταθερότητα, καθώς μειώθηκε γραμμικά και με μεγάλους σχετικά ρυθμούς ο χρόνος επαγωγής της οξείδωσής τους. Αυτό είναι φυσιολογικό, καθώς τα δείγματα αυτά είχαν ήδη υποστεί οξειδωτικό στρες κατά την αποθήκευσή τους σε υψηλές θερμοκρασίες με την επίδραση του ατμοσφαιρικού οξυγόνου (Martinez-Nieto et al. 2010). Το αποτέλεσμα, ήταν η μείωση της οξειδωτικής τους σταθερότητας, όπως δείχνουν οι μικροί χρόνοι επαγωγής της οξείδωσης στα Σχήματα 3.7 δεξιά και 3.8

Η παρουσίαση των ρυθμών μεταβολής του χρόνου επαγωγής της οξείδωσης για τα δείγματα που εξετάστηκαν γίνεται στον Πίνακα 3.4, που παρατίθεται αργότερα στο τμήμα όπου μελετάται η επίδραση της θερμοκρασίας στους ρυθμούς μεταβολής των διαφόρων ποιοτικών χαρακτηριστικών.

### 3.1.5 ΣΥΝΤΕΛΕΣΤΕΣ ΑΠΟΣΒΕΣΗΣ K232 ΚΑΙ K270

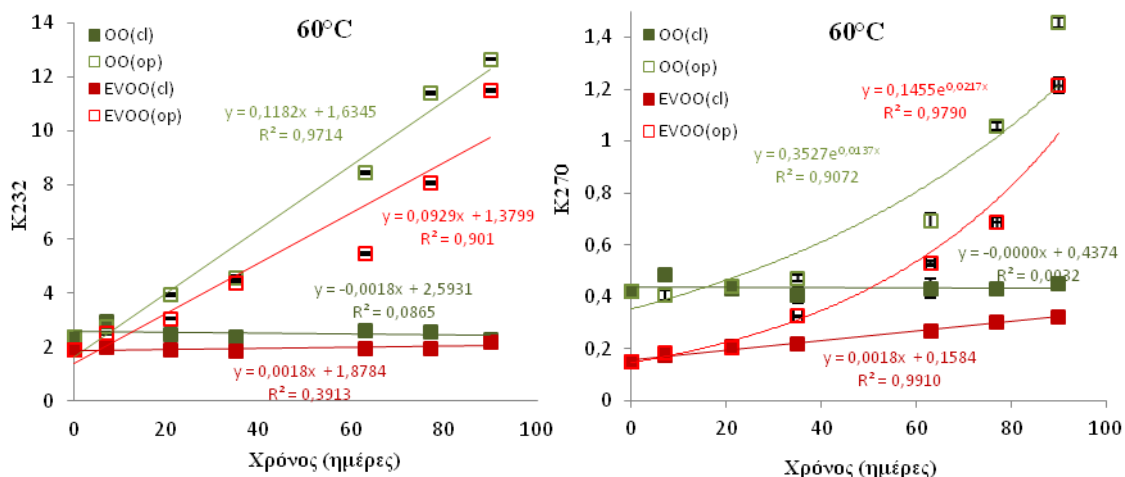
Ο συντελεστής απόσβεσης K232 παρέμεινε σχετικά αμετάβλητος για το ελαιόλαδο, ενώ αυξήθηκε γραμμικά για το εξαιρετικά παρθένο, χωρίς ωστόσο μετά από 5 μήνες αποθήκευσης άνευ οξυγόνου, να ξεπεράσει το 2,50 που είναι και το ανώτατο επιτρεπτό όριο για την κατανάλωσή του, όπως παρατηρούμε στο Σχήμα 3.9 αριστερά. Η τιμή του K270 διατηρήθηκε σταθερή συναρτήσει του χρόνου για το ελαιόλαδο, ενώ για το εξαιρετικά παρθένο παρατηρήθηκε πολύ μικρή αύξηση σε διάρκεια αποθήκευσης 5 μηνών απουσία οξυγόνου, όπως φαίνεται στο Σχήμα 3.9 δεξιά.



Σχήμα 3.9 Μεταβολή του συντελεστή απόσβεσης K232 (αριστερά) και του συντελεστή απόσβεσης K270 (δεξιά), σε δείγματα ελαιολάδου (OO) και εξαιρετικά παρθένου ελαιολάδου (EVOO) στους 40°C, απουσία οξυγόνου.

Στους 60°C ο δείκτης K232 παρέμεινε αμετάβλητος συναρτήσει του χρόνου, για τα δείγματα του έξτρα παρθένο και του ελαιολάδου άνευ οξυγόνου. Αυτό φαίνεται στο Σχήμα 3.10 αριστερά, καθώς οι μεταβολές για αυτά τα δύο δείγματα, περιγράφονται από ευθείες γραμμές παράλληλες στον άξονα του χρόνου. Αντίθετα το K232 στα δείγματα που ήταν εκτεθειμένα σε οξυγόνο, αυξήθηκαν γραμμικά και μάλιστα, το έξτρα παρθένο ελαιόλαδο ξεπέρασε το ανώτατο όριο του 2,50, από την πρώτη εβδομάδα αποθήκευσης στους 60°C.

Ο δείκτης K270 αυξήθηκε εκθετικά και για τις δύο κατηγορίες ελαιολάδου παρουσία οξυγόνου, από τους δύο μήνες αποθήκευσης και έπειτα όπως διακρίνεται στο Σχήμα 3.10 δεξιά. Επίσης το έξτρα παρθένο ξεπέρασε το ανώτατο όριο, μετά τις 20 ημέρες, ενώ το ελαιόλαδο μετά τις 75 ημέρες παραμονής του στους 60°C με οξυγόνο. Για το ελαιόλαδο παρέμεινε αμετάβλητος απουσία οξυγόνου, ενώ για το έξτρα παρθένο ελαιόλαδο ακολούθησε γραμμική αύξηση με χαμηλό ρυθμό, με αποτέλεσμα να ξεπεράσει την τιμή 0,22 μετά τον 1 μήνα στους 60°C χωρίς οξυγόνο.



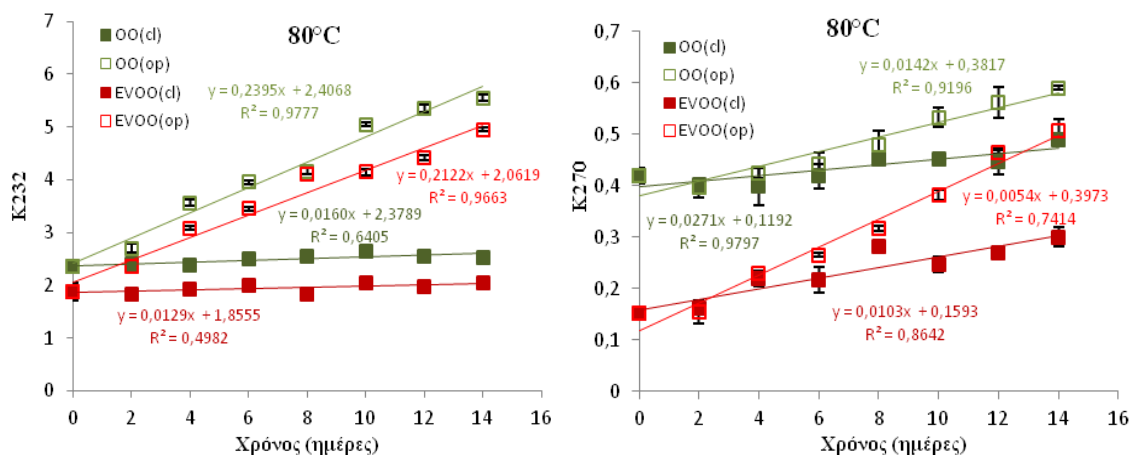
Σχήμα 3.10 Μεταβολή του συντελεστή απόσβεσης K232 (αριστερά) και του συντελεστή απόσβεσης K270 (δεξιά), σε δείγματα έξτρα παρθένου (EVOO) και απλού ελαιολάδου (OO), παρουσία (op) και απουσία (cl) οξυγόνου, κατά την αποθήκευσή τους στους 60°C.

Τα ίδια ακριβώς παρατηρούνται στους 80 και 100°C στα Σχήματα 3.11 και 3.12 αριστερά αντίστοιχα. Στους 80°C το εξαιρετικά παρθένο ελαιόλαδο ξεπέρασε το ανώτατο όριο του K232 την δεύτερη ημέρα αποθήκευσής του παρουσία οξυγόνου. Στους 100°C ο δείκτης K232 ξεπέρασε το ανώτατο όριο για το έξτρα παρθένο ελαιόλαδο από τις 12 πρώτες ώρες.

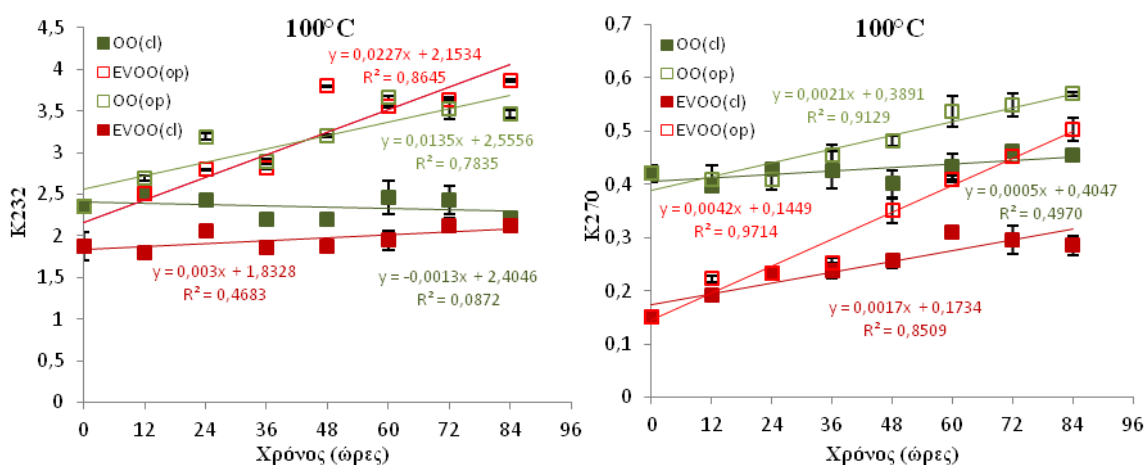
Στους 80°C όπως φαίνεται στο Σχήμα 3.11 δεξιά, το εξαιρετικά παρθένο και το ελαιόλαδο παρουσίασαν έντονη γραμμική αύξηση του δείκτη K270, παρουσία οξυγόνου. Το έξτρα παρθένο ελαιόλαδο ξεπέρασε το ανώτατο όριο της τιμής του K270 ύστερα από τις 4 ημέρες αποθήκευσης, ενώ στο ελαιόλαδο ο δείκτης δεν υπερέβη το ανώτατο όριο σε διάρκεια αποθήκευσης 2 εβδομάδων στους 80°C με οξυγόνο. Τα δείγματα που αποθηκεύτηκαν στους 80°C χωρίς οξυγόνο, παρουσίασαν μικρή γραμμική αύξηση, με το εξαιρετικά παρθένο να εμφανίζει υψηλότερο ρυθμό αύξησης από το ελαιόλαδο.

Στους 100°C επίσης παρατηρήθηκε έντονη γραμμική αύξηση της τιμής του K270 για τις δύο κατηγορίες ελαιολάδου παρουσία οξυγόνου, όπως φαίνεται στο Σχήμα 3.12 (δεξιά). Το εξαιρετικά παρθένο ελαιόλαδο ξεπέρασε την τιμή 0,22 από τη δωδέκατη ώρα στους 100°C και έπειτα, ενώ στο ελαιόλαδο ο δείκτης δεν υπερέβη το ανώτατο όριο σε διάρκεια αποθήκευσης 84 ωρών στους 100°C με οξυγόνο. Για τα δείγματα που αποθηκεύτηκαν χωρίς οξυγόνο στους 100°C εμφανίστηκε ακριβώς ότι και στους 80°C, δηλαδή παρουσίασαν μικρή γραμμική αύξηση, με το εξαιρετικά παρθένο ελαιόλαδο να εμφανίζει υψηλότερο ρυθμό αύξησης το K270 από το ελαιόλαδο και να υπερβαίνει το ανώτατο όριο μετά τις 24 ώρες παραμονής του στους 100°C.

Η παρουσίαση των ρυθμών μεταβολής του δείκτη K232 για τα δείγματα που εξετάστηκαν γίνεται στον Πίνακα 3.5, που παρατίθεται αργότερα στο τμήμα όπου μελετάται η επίδραση της θερμοκρασίας στους ρυθμούς μεταβολής των διαφόρων ποιοτικών χαρακτηριστικών.



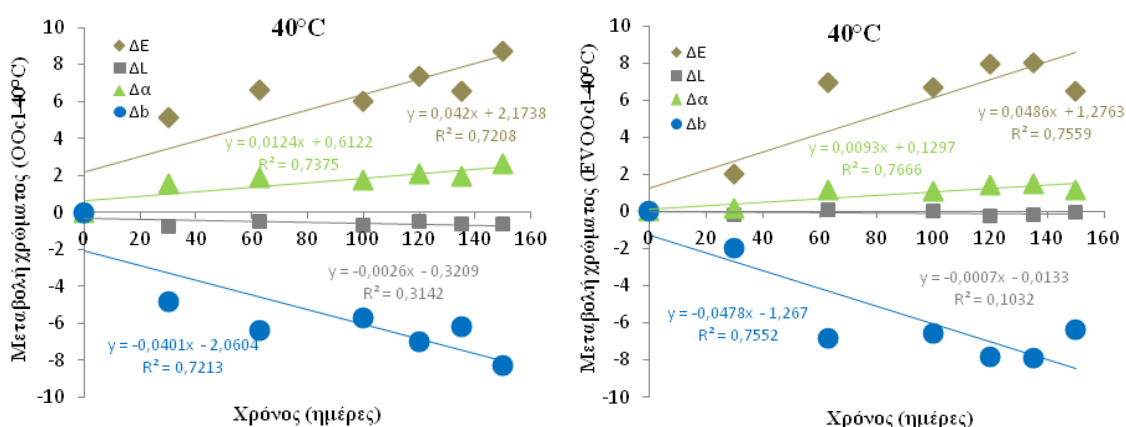
Σχήμα 3.11 Μεταβολή του συντελεστή απόσβεσης K232 (αριστερά) και του συντελεστή απόσβεσης K270 (δεξιά),σε δείγματα έξτρα παρθένου (EVOO) και απλού ελαιολάδου (OO), παρουσία (op) και απουσία (cl) οξυγόνου, κατά την αποθήκευσή τους στους 80°C.



Σχήμα 3.12 Μεταβολή του συντελεστή απόσβεσης K232 (αριστερά) και του συντελεστή απόσβεσης K270 (δεξιά),σε δείγματα έξτρα παρθένου (EVOO) και απλού ελαιολάδου (OO), παρουσία (op) και απουσία (cl) οξυγόνου, κατά την αποθήκευσή τους στους 100°C.

### 3.1.6 ΜΕΤΑΒΟΛΗ ΧΡΩΜΑΤΟΣ

Κατά την αποθήκευση των δύο κατηγοριών ελαιολάδων στους 40°C παρατηρήθηκαν ελάχιστες μεταβολές ως προς την αλλοίωση του χρώματος, όπως φαίνεται στο Σχήμα 3.13. Στην ουσία και οι δύο κατηγορίες ελαιολάδου διατήρησαν το κιτρινοπράσινο χρώμα τους, λόγω της χαμηλής θερμοκρασίας αποθήκευσης και της έλλειψης οξυγόνου. Αυτές οι δύο συνθήκες δεν ήταν σε θέση να επιφέρουν σημαντικές και ορατές μεταβολές στο χρώμα του ελαιολάδου. Αυτό έχει να κάνει με το ότι η μεταβολή του χρώματος στο ελαιόλαδο κατόπιν αποθήκευσής του και θερμικής του επεξεργασίας, οφείλεται στην οξείδωση των χρωστικών του, όπως οι χλωροφύλλες και τα καροτενοειδή τα οποία είναι υπεύθυνα για αυτούς το χαρακτηριστικό χρώμα του (Chatzilazarou et al. 2005).

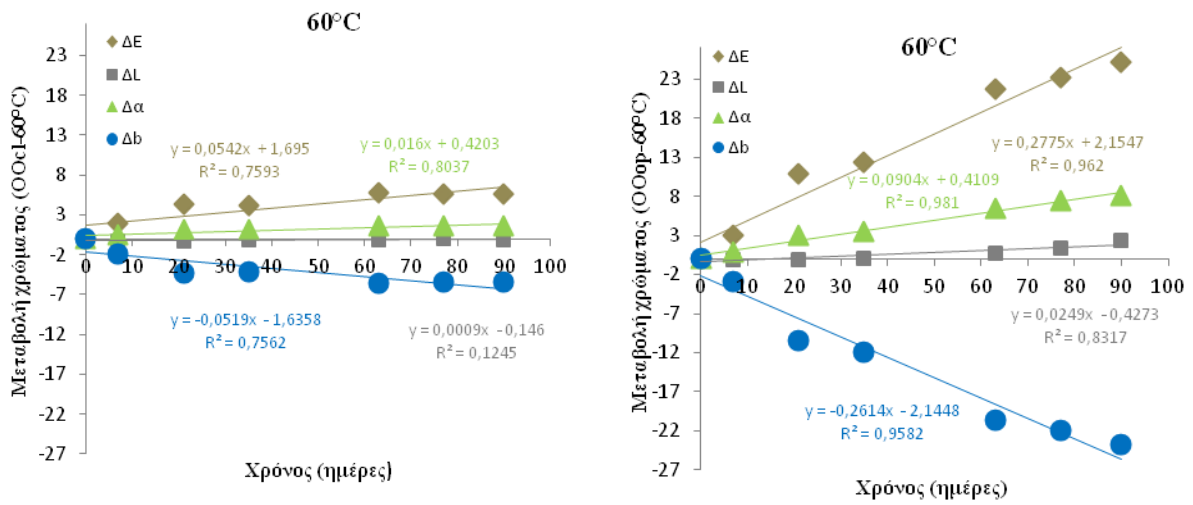


Σχήμα 3.13 Μεταβολή του χρώματος του ελαιολάδου (OO) (αριστερά) και του εξαιρετικά παρθένου ελαιολάδου (EVOO) (δεξιά), μετά από 5μηνη αποθήκευση στους 40°C χωρίς οξυγόνο (cl).

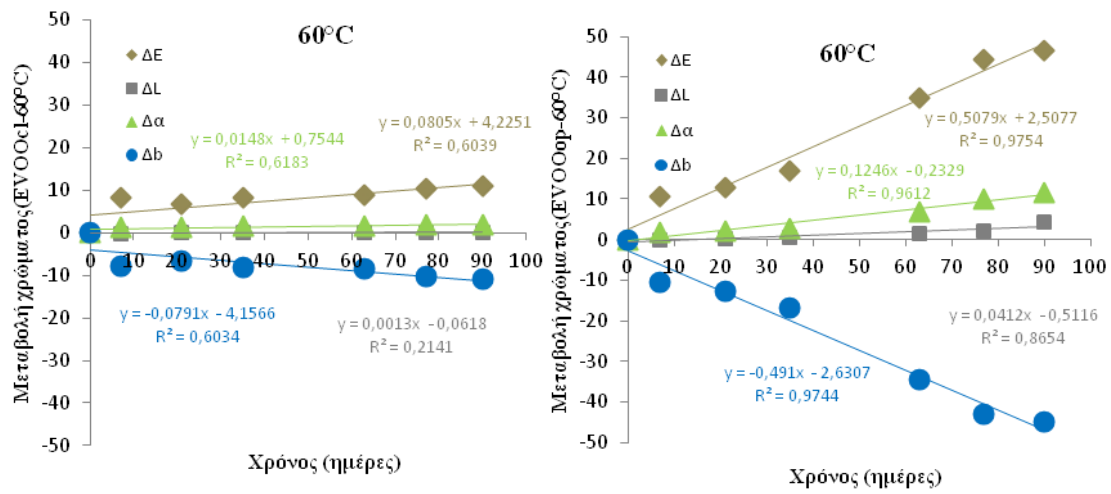
Στους 60°C παρατηρήθηκε μεγάλη μεταβολή του χρώματος, κάτι το οποίο προκάλεσε ο συνδυασμός υψηλής θερμοκρασίας αποθήκευσης και επίδρασης του ατμοσφαιρικού οξυγόνου. Συγκεκριμένα στο Σχήμα 3.14 (δεξιά) παρατηρείται μεγάλη διαφορά στο ελαιόλαδο που ήταν εκτεθειμένο στο οξυγόνο κατά την αποθήκευσή του, καθώς η συνολική μεταβολή χρώματος (ΔE), η μείωση του πράσινου χρώματος (που εκφράζεται με τη γραμμική αύξηση του Δa) και η μείωση του κίτρινου χρώματος (που φαίνεται στη γραμμική μείωση του Δb) ήταν πολύ μεγαλύτερες συγκριτικά με αυτές που παρατηρήθηκαν απουσία οξυγόνου (Σχήμα 3.14 αριστερά)(Malheiro et al. 2009).

Ακριβώς οι ίδιες μεταβολές παρατηρήθηκαν και στο εξαιρετικά παρθένο ελαιόλαδο, σε μεγαλύτερη όμως κλίμακα μόνο παρουσία οξυγόνου (Σχήμα 3.15). Η συνολική μεταβολή χρώματος και η μείωση του πράσινου και κίτρινου χρώματος, είναι πιο έντονες στο εξαιρετικά παρθένο σε σύγκριση με το ελαιόλαδο. Αυτό οφείλεται στο γεγονός ότι το πρώτο είναι πιο πλούσιο σε χρωστικές από το δεύτερο και έχει αρχικά πιο έντονο χρώμα από το δεύτερο. Μετά το πέρας της αποθήκευσης όμως, έχουν

υποστεί τέτοιο αποχρωματισμό, που έχουν σχεδόν το ίδιο χρώμα (Sánchez-Gimeno et al. 2008). Αυτό φαίνεται καθαρά στις Εικόνες 3.1 και 3.2.

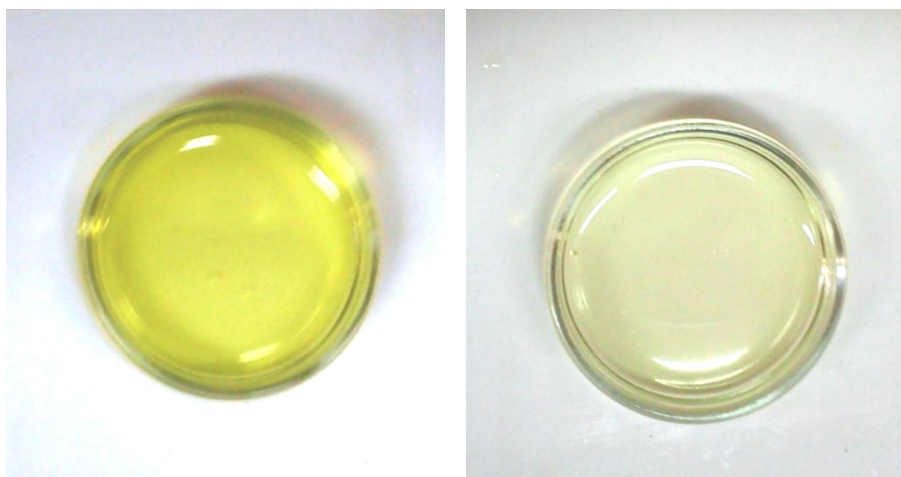


Σχήμα 3.14 Μεταβολή του χρώματος του ελαιολάδου (OO), μετά από 3μηνη αποθήκευσή του, στους 60°C χωρίς οξυγόνο (cl) (αριστερά) και με οξυγόνο (op) (δεξιά).

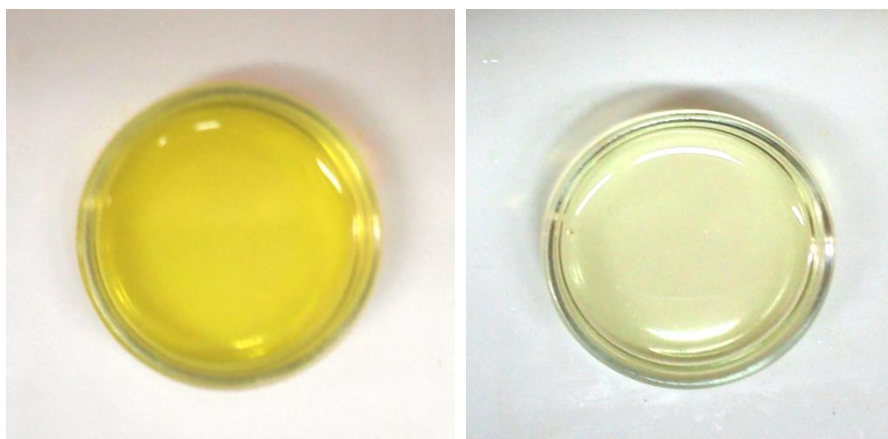


Σχήμα 3.15 Μεταβολή του χρώματος του εξαιρετικά παρθένου ελαιολάδου (EVOO), μετά από 3μηνη αποθήκευσή του, στους 60°C χωρίς οξυγόνο (cl) (αριστερά) και με οξυγόνο (op) (δεξιά).





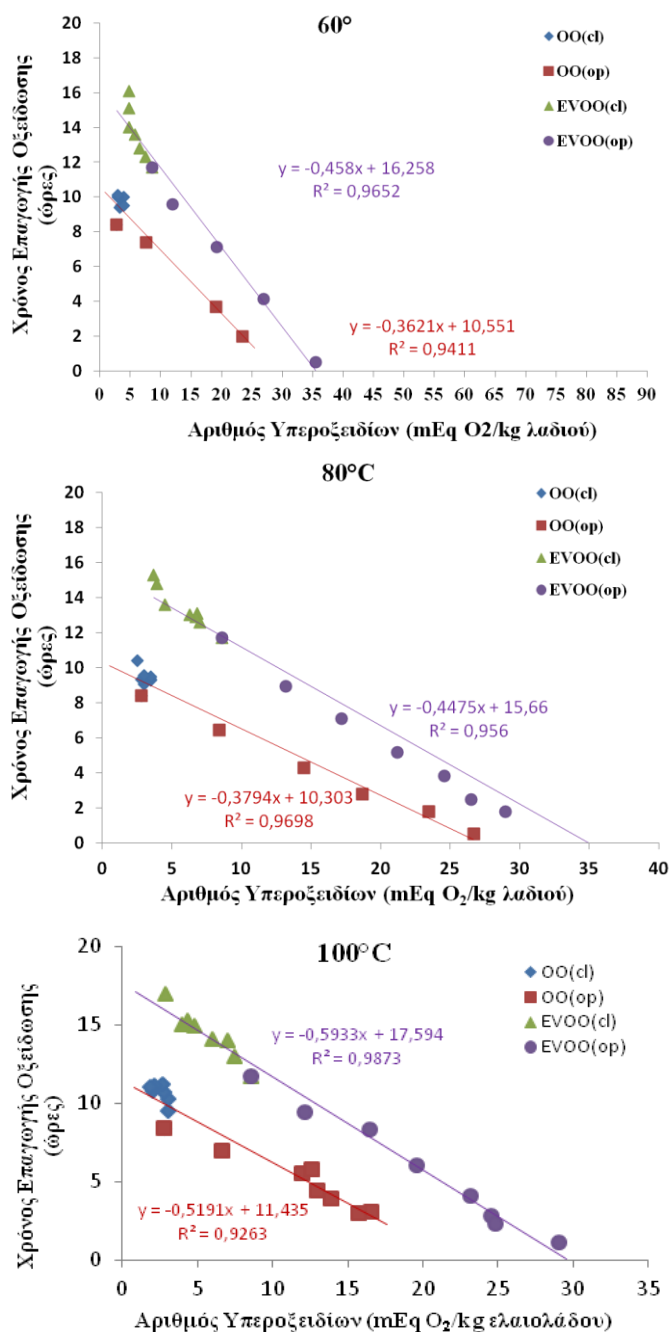
Εικόνα 3.1 Το χρώμα του εξαιρετικά παρθένου ελαιολάδου (EVOO) πριν και μετά την αποθήκευση στους 60°C με οξυγόνο (ορ) για 90 ημέρες.



Εικόνα 3.2 Το χρώμα του ελαιόλαδου (OO) πριν και μετά την αποθήκευσή του στους 60°C με οξυγόνο (ορ) για 90 ημέρες.

### 3.2 ΣΥΣΧΕΤΙΣΗ ΤΗΣ ΜΕΤΑΒΟΛΗΣ ΤΟΥ ΧΡΟΝΟΥ ΕΠΑΓΩΓΗΣ ΤΗΣ ΟΞΕΙΔΩΣΗΣ ΚΑΙ ΤΟΥ ΑΡΙΘΜΟΥ ΥΠΕΡΟΞΕΙΔΙΩΝ

Στο Σχήμα 3.16 παρατηρούμε πως τα σημεία ανά κατηγορία ελαιολάδου ανεξάρτητα από την ύπαρξη ή μη οξυγόνου, ενώνονται με ευθείες γραμμές που έχουν αρνητική κλίση. Αυτό σημαίνει, πως η αύξηση του αριθμού των υπεροξειδίων του ελαιολάδου κατά τη διάρκεια της αποθήκευσης σε υψηλές θερμοκρασίες (60, 80 και 100°C), είχε ως συνέπεια τη μείωση του χρόνου επαγωγής της οξείδωσης του ελαιολάδου.



Σχήμα 3.16 Απεικόνιση της γραμμικής συσχέτισης των μεταβολών του αριθμού υπεροξειδίων και του χρόνου επαγωγής της οξείδωσης, σε έξτρα παρθένο (EVOO) και ελαιόλαδο (OO) με (op) και χωρίς (c) οξυγόνο στους 60°C (επάνω) στους 80°C (μέση) και στους 100°C (κάτω).

### 3.3 ΠΡΟΣΑΡΜΟΓΗ ΤΩΝ ΔΕΔΟΜΕΝΩΝ ΣΤΗΝ ΕΞΙΣΩΣΗ *ARRHENIUS* ΓΙΑ ΤΟΝ ΥΠΟΛΟΓΙΣΜΟ ΤΗΣ $E_A$ ΤΩΝ ΜΕΤΑΒΟΛΩΝ ΤΩΝ ΠΟΙΟΤΙΚΩΝ ΠΑΡΑΜΕΤΡΩΝ

Όπως είναι διακριτό στα μέχρι τώρα αποτελέσματα, οι μεταβολές των ποιοτικών παραμέτρων που μελετήθηκαν, περιγράφονται με σχετική ακρίβεια από πρωτοβάθμιες εξισώσεις ευθειών, οι οποίες αποτελούν ένα πρωτογενές μοντέλο κινητικής μηδενικής τάξης με την εξίσωση:

$$y = y_0 - kt \quad (1)$$

Η ταχύτητα των περισσότερων αντιδράσεων αυξάνεται με την αύξηση της θερμοκρασίας. Έχει βρεθεί εμπειρικά ότι για τις περισσότερες αντιδράσεις οι σταθερές ταχύτητας ακολουθούν την εξίσωση Arrhenius:

$$k_T = k_0 e^{-E_A/RT} \quad (2)$$

Όπου:

$k_T$ : η σταθερά του ρυθμού αντίδρασης σε απόλυτη θερμοκρασία  $T$  ( $t^{-1}$ )

$k_0$ : προεκθετικός παράγοντας ή συντελεστής Arrhenius

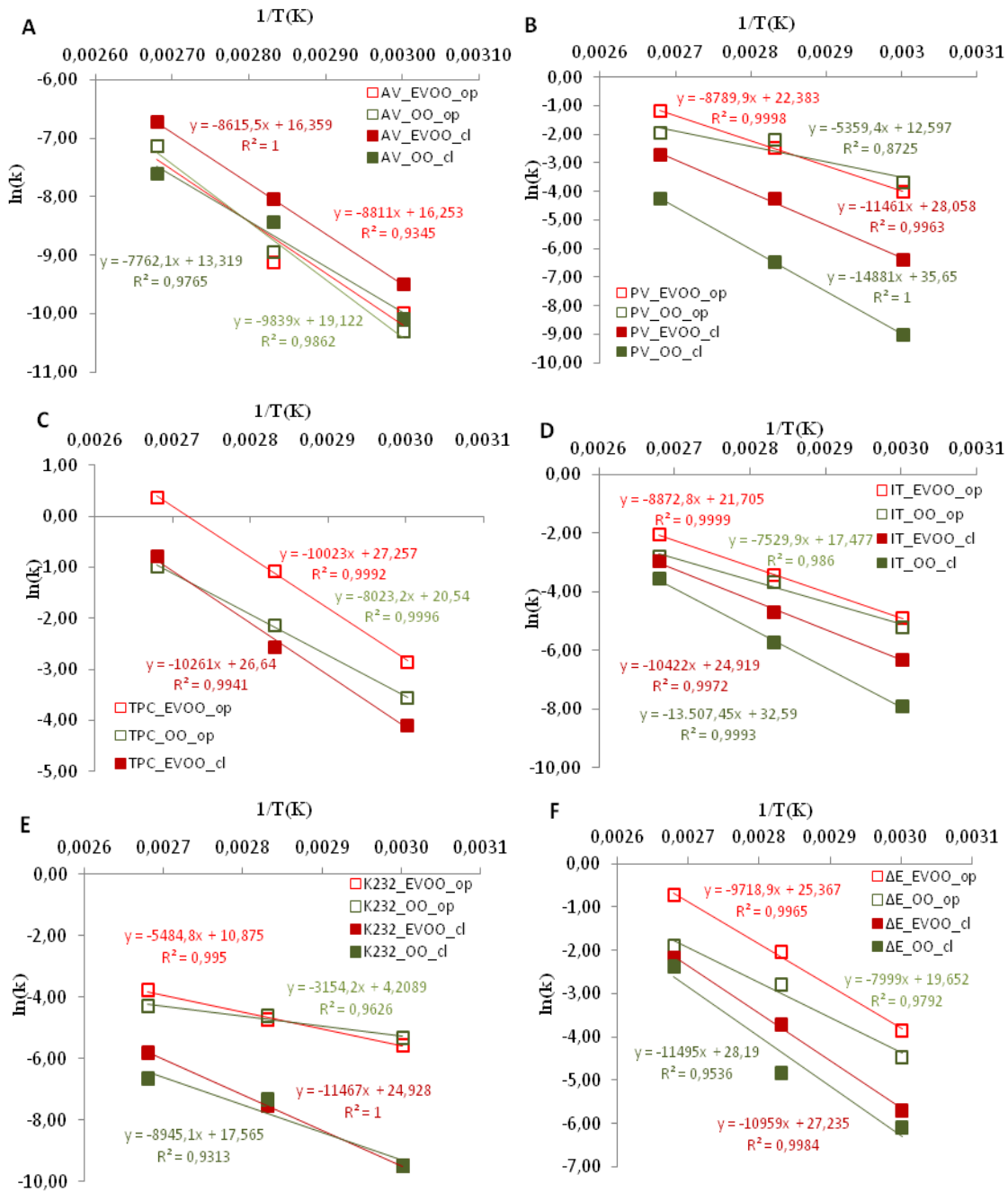
$E_A$ : η ενέργεια ενεργοποίησης της αντίδρασης σε kJ/mol

$R$ : η παγκόσμια σταθερά των αερίων ( $=8,314$  J/mol)

$T$ : η απόλυτη θερμοκρασία σε K

Για το προσδιορισμό των παραμέτρων της εξίσωσης Arrhenius, βρίσκουμε την σταθερά  $k_T$  σε τρεις διαφορετικές θερμοκρασίες, τους 60, 80 και 100°C. Με απεικόνιση του  $\ln k_T$  ως προς το  $1/T$ , ανακτούμε μία ευθεία με κλίση  $-E_A/R$ . Από την ευθεία αυτή υπολογίζουμε την ενέργεια ενεργοποίησης  $E_A$ .

Στα επιμέρους διαγράμματα του Σχήματος 3.18 παρατηρούμε πως οι μεταβολές των ποιοτικών δεικτών, προσαρμόζονται στη εξίσωση Arrhenius. Αυτό ισχύει για την ελεύθερη οξύτητα (AV), τον αριθμό υπεροξειδίων (PV), τη συγκέντρωση σε ολικά φαινολικά (TPC), τον χρόνο επαγωγής της οξειδωσης (IT), τον δείκτη K232 και την ολική μεταβολή του χρώματος (ΔΕ). Η προσαρμογή αυτή σημαίνει πως οι μεταβολές των παραμέτρων αυτών εξαρτώνται από την αύξηση της θερμοκρασίας.



Σχήμα 3.17 Εφαρμογή της εξίσωσης Arrhenius στις μεταβολές της ελεύθερης οξύτητας (AV) στο διάγραμμα A και στις μεταβολές του αριθμού υπεροξειδίων (PV) στο διάγραμμα B. Στο διάγραμμα C, ο Arrhenius εφαρμόζεται στις μεταβολές της συγκέντρωσης ολικών φαινολικών (TPC) και στο D, στις μεταβολές του χρόνου επαγωγής της οξείδωσης (IT). Στο E βλέπουμε να εφαρμόζεται και στον συντελεστή απόσβεσης K232 και στο διάγραμμα F, στη συνολική μεταβολή του χρώματος ( $\Delta E$ ). Στην εξίσωση χρησιμοποιήθηκαν τρία σημεία, που αντιστοιχούν στις θερμοκρασίες των 60, 80 και 100°C.

Στους Πίνακες 3.1-3.6 καταγράφονται οι τιμές των σταθερών  $k$  για κάθε μία από τις μεταβολές των παραγόντων που μελετήθηκαν και οι ενέργειες ενεργοποίησης, όπως αυτές υπολογίστηκαν από την εξίσωση Arrhenius για τις θερμοκρασίες των 60, 80 και

100°C. Τα  $k$  αφορούν στον αρχικό γραμμικό ρυθμό μεταβολής των υπό εξέταση παραμέτρων. Στον Πίνακα 3.1 καταγράφονται οι σταθερές  $k$  της μεταβολής της ελεύθερης οξύτητας συναρτήσει του χρόνου ( $\Delta AV/h$ ) για κάθε θερμοκρασία και οι ενέργειες ενεργοποίησης  $E_A$ . Στον Πίνακα 3.2 γίνεται το ίδιο για τη μεταβολή του αριθμού υπεροξειδίων ( $\Delta PV/h$ ), στον 3.3 για τη μεταβολή της συγκέντρωσης των ολικών φαινολικών ( $\Delta TPC/h$ ), στον 3.4 για τη μεταβολή του χρόνου επαγωγής της οξείδωσης ( $\Delta IT/h$ ), στον Πίνακα 3.5 για τη μεταβολή του δείκτη K232 ( $\Delta K232/h$ ) και τέλος στον Πίνακα 3.6 για τη μεταβολή του χρώματος ( $\Delta E/h$ ). Οι μεγάλες τιμές του  $E_A$  υποδηλώνουν τη μεγάλη επίδραση της θερμοκρασίας αποθήκευσης στους ρυθμούς μεταβολής των παραμέτρων.

Πίνακας 3.1 Επίδραση της θερμοκρασίας στο ρυθμό μεταβολής  $k$  της ελεύθερης οξύτητας ( $\Delta AV/h$ ) για το εξαιρετικά παρθένο (EVOO) και το ελαιόλαδο (OO) κατά την αποθήκευσή τους με (op) και χωρίς (cl) οξυγόνο στις θερμοκρασίες των 60, 80 και 100°C. Η ενέργεια ενεργοποίησης  $E_A$  για τη μεταβολή της ελεύθερης οξύτητας κάθε τύπου ελαιολάδου, υπολογίζεται σε απόλυτη θερμοκρασία (K) από τις κλίσεις των ευθειών του Σχήματος 3.17.A.

Κατηγορία ελαιολάδου	$k_{100^\circ C}$	$k_{80^\circ C}$	$k_{60^\circ C}$	$E_A$ (kJ/mol)	$R^2$
EVOO(op)	0,0008	0,000108	0,0000458	73,3	0,93
EVOO(cl)	0,0012	0,000321	0,000075	71,6	1
OO(op)	0,0008	0,000129	0,0000333	81,8	0,99
OO(cl)	0,0005	0,000217	0,0000417	64,5	0,98

Πίνακας 3.2 Επίδραση της θερμοκρασίας στο ρυθμό μεταβολής  $k$  του αριθμού υπεροξειδίων ( $\Delta PV/h$ ) για το εξαιρετικά παρθένο (EVOO) και το ελαιόλαδο (OO) κατά την αποθήκευσή τους με (op) και χωρίς (cl) οξυγόνο στις θερμοκρασίες των 60, 80 και 100°C. Η ενέργεια ενεργοποίησης  $E_A$  για τη μεταβολή της ελεύθερης οξύτητας κάθε τύπου ελαιολάδου, υπολογίζεται σε απόλυτη θερμοκρασία (K) από τις κλίσεις των ευθειών του Σχήματος 3.17.B.

Κατηγορία ελαιολάδου	$k_{100^\circ C}$	$k_{80^\circ C}$	$k_{60^\circ C}$	$E_A$ (kJ/mol)	$R^2$
EVOO(op)	0,3058	0,0833	0,0181	73,1	0,99
EVOO(cl)	0,0656	0,0141	0,00165	95,3	0,99
OO(op)	0,1399	0,111	0,0255	44,6	0,87
OO(cl)	0,0145	0,00154	0,000121	123,7	1

Πίνακας 3.3: Επίδραση της θερμοκρασίας στο ρυθμό μεταβολής  $k$  της συγκέντρωσης των ολικών φαινολικών ( $\Delta\text{TPC}/h$ ) για το εξαιρετικά παρθένο (EVOO) και το ελαιόλαδο (OO) κατά την αποθήκευσή τους με (op) και χωρίς (cl) οξυγόνο στις θερμοκρασίες των 60, 80 και 100°C. Η ενέργεια ενεργοποίησης  $E_A$  για τη μεταβολή της ελεύθερης οξύτητας κάθε τύπου ελαιολάδου, υπολογίζεται σε απόλυτη θερμοκρασία (K) από τις κλίσεις των ευθειών του διαγράμματος 3.17.C.

Κατηγορία ελαιολάδου	$k_{100^\circ\text{C}}$	$k_{80^\circ\text{C}}$	$k_{60^\circ\text{C}}$	$E_A$ (kJ/mol)	$R^2$
EVOO(op)	-1,4473	-0,3422	-0,0577	83,331	0,99
EVOO(cl)	-0,4582	-0,0771	-0,0167	85,310	0,99
OO(op)	-0,3764	-0,1166	-0,0285	66,703	0,99
OO(cl)*	-0,1262	0,0222	-0,2216	-	-

\* Δεν ήταν δυνατός ο υπολογισμός της  $E_A$ , καθώς δεν ακολουθείται η εξίσωση Arrhenius από το συγκεκριμένο δείγμα.

Πίνακας 3.4 Επίδραση της θερμοκρασίας στο ρυθμό μεταβολής  $k$  του χρόνου επαγωγής της οξείδωσης ( $\Delta\text{IT}/h$ ) για το εξαιρετικά παρθένο (EVOO) και το ελαιόλαδο (OO) κατά την αποθήκευσή τους με (op) και χωρίς (cl) οξυγόνο στις θερμοκρασίες των 60, 80 και 100°C. Η ενέργεια ενεργοποίησης  $E_A$  για τη μεταβολή της ελεύθερης οξύτητας κάθε τύπου ελαιολάδου, υπολογίζεται σε απόλυτη θερμοκρασία (K) από τις κλίσεις των ευθειών του διαγράμματος 3.17.D.

Κατηγορία ελαιολάδου	$k_{100^\circ\text{C}}$	$k_{80^\circ\text{C}}$	$k_{60^\circ\text{C}}$	$E_A$ (kJ/mol)	$R^2$
EVOO(op)	-0,1271	-0,0321	-0,00731	73,8	0,99
EVOO(cl)	0,0519	0,00913	0,00181	86,6	0,99
OO(op)	-0,0614	-0,0253	-0,0550	62,6	0,99
OO(cl)	0,0279	0,00326	0,000361	112,2	0,99

Πίνακας 3.5 Επίδραση της θερμοκρασίας στο ρυθμό μεταβολής  $k$  του συντελεστή απόσβεσης K232 ( $\Delta\text{K232}/h$ ) για το εξαιρετικά παρθένο (EVOO) και το ελαιόλαδο (OO) κατά την αποθήκευσή τους με (op) και χωρίς (cl) οξυγόνο στις θερμοκρασίες των 60, 80 και 100°C. Η ενέργεια ενεργοποίησης  $E_A$  για τη μεταβολή της ελεύθερης οξύτητας κάθε τύπου ελαιολάδου, υπολογίζεται σε απόλυτη θερμοκρασία (K) από τις κλίσεις των ευθειών του διαγράμματος 3.17.E.

Κατηγορία ελαιολάδου	$k_{100^\circ\text{C}}$	$k_{80^\circ\text{C}}$	$k_{60^\circ\text{C}}$	$E_A$ (kJ/mol)	$R^2$
EVOO(op)	0,0227	0,00884	0,00387	45,6	0,99
EVOO(cl)	0,0030	0,000538	0,000075	95,3	1
OO(op)	0,0135	0,00998	0,00493	26,2	0,96
OO(cl)	-0,0013	0,000667	-0,000075	74,4	0,93

Πίνακας 3.6 Επίδραση της θερμοκρασίας στο ρυθμό μεταβολής  $k$  του ολικού χρώματος ( $\Delta E/h$ ) για το εξαιρετικά παρθένο (EVOO) και το ελαιόλαδο (OO) κατά την αποθήκευσή τους με (op) και χωρίς (cl) οξυγόνο στις θερμοκρασίες των 60, 80 και 100°C. Η ενέργεια ενεργοποίησης  $E_A$  για τη μεταβολή της ελεύθερης οξύτητας κάθε τύπου ελαιολάδου, υπολογίζεται σε απόλυτη θερμοκρασία (K) από τις κλίσεις των ευθειών του διαγράμματος 3.17.F.

Κατηγορία ελαιολάδου	$k_{100^\circ\text{C}}$	$k_{80^\circ\text{C}}$	$k_{60^\circ\text{C}}$	$E_A$ (kJ/mol)	$R^2$
EVOO(op)	0,4798	0,1292	0,0217	80,8	0,99
EVOO(cl)	0,1135	0,0243	0,00335	91,1	0,99
OO(op)	0,1498	0,0619	0,0116	66,5	0,98
OO(cl)	0,0937	0,00797	0,00226	95,6	0,95

### 3.4 ΔΗΜΙΟΥΡΓΙΑ ΣΥΝΘΕΤΟΥ ΜΟΝΤΕΛΟΥ ΠΡΟΒΛΕΨΗΣ ΤΩΝ ΜΕΤΑΒΟΛΩΝ ΤΩΝ ΠΟΙΟΤΙΚΩΝ ΠΑΡΑΜΕΤΡΩΝ

Για τη δημιουργία ενός σύνθετου μαθηματικού μοντέλου που θα προβλέπει την πορεία των μεταβολών για τις διαφορετικές ποιοτικές παραμέτρους που εξετάζονται, η εξίσωση (2) (δευτερογενές μοντέλο), ενσωματώνεται στο πρωτογενές μοντέλο, που είναι εξίσωση κινητικής μηδενικής τάξης (1) η οποία περιγράφει το ρυθμό των μεταβολών συναρτήσει του χρόνου.

Η σύνθετη εξίσωση που προκύπτει έχει ως εξής:

$$y = y_0 + k_{T_{ref}} \exp \left[ \frac{-E_A}{R} \left( \frac{1}{T} - \frac{1}{T_{ref}} \right) \right] t \quad (3)$$

Όπου:  $y$ , η παράμετρος της οποίας την κινητική προβλέπουμε,

$k_{T_{ref}}$ , η σταθερά του ρυθμού αντίδρασης στη θερμοκρασία αναφοράς  $T_{ref}$ ,

$T_{ref}$ , η θερμοκρασία αναφοράς (K), εδώ  $T_{ref}=70^\circ\text{C}$ ,

$T$ , η απόλυτη θερμοκρασία αποθήκευσης (K),

$E_A$ , η ενέργεια ενεργοποίησης σε kJ/mol

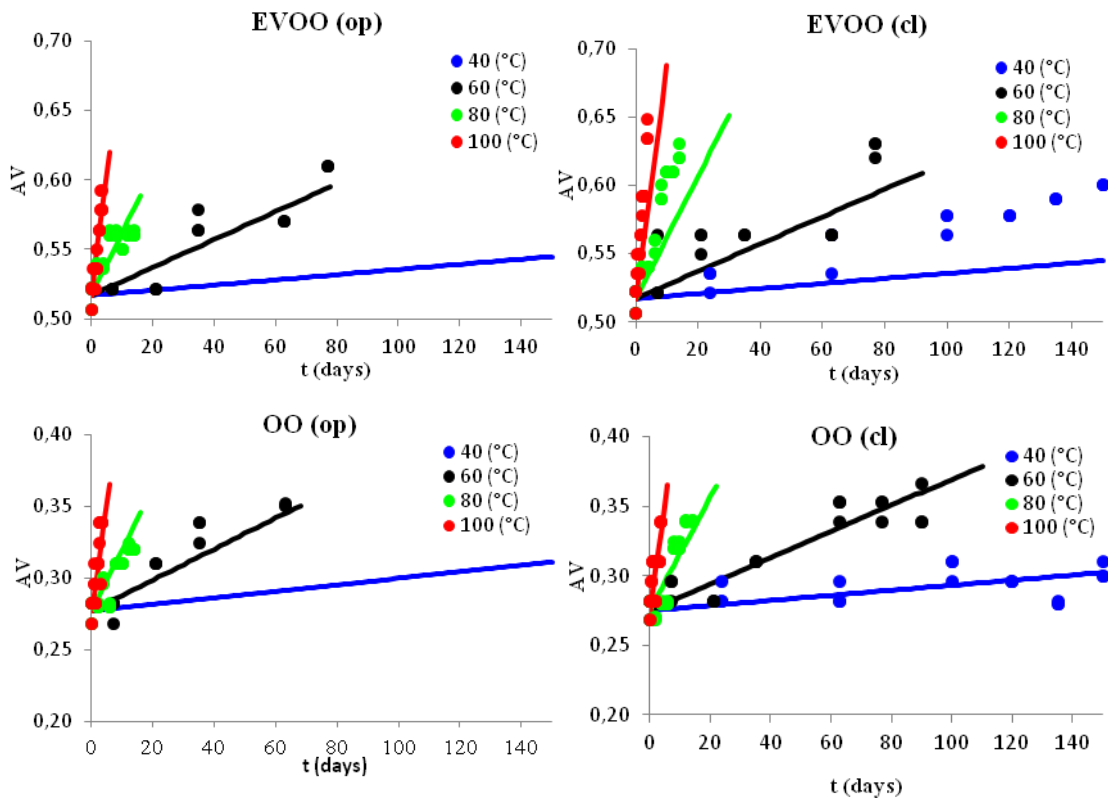
$R$ , η παγκόσμια σταθερά των αερίων που ισούται με 8,314 J/mol

$t$ , ο χρόνος αποθήκευσης σε ημέρες

Στην πορεία ακολούθησε μη γραμμική ανάλυση παλινδρόμησης με τη μέθοδο των ελαχίστων τετραγώνων, με τη χρήση του στατιστικού λογισμικού SYSTAT. Η επίδραση της θερμοκρασίας στη μεταβολή των εξεταζόμενων παραμέτρων

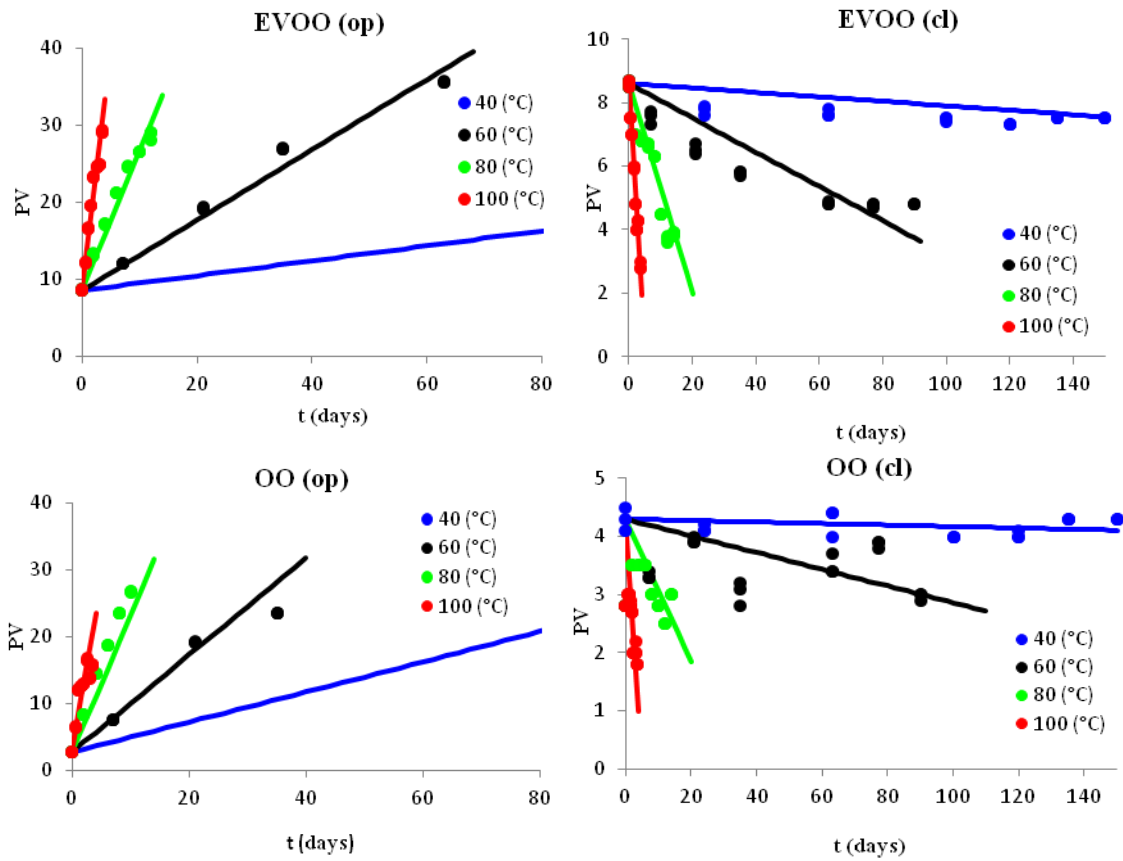
αποδόθηκε με τη χρήση της εξίσωσης Arrhenius ως δευτερογενούς μοντέλου. Ενσωματώνοντας την εξίσωση Arrhenius (2) στο πρωτογενές, γραμμικό, μοντέλο (1), έγινε προσδιορισμός των κινητικών παραμέτρων  $k_{70^{\circ}\text{C}}$  και  $E_A$  με προσαρμογή, σε ένα βήμα, του προκύπτοντος σύνθετου μοντέλου (3) στις πειραματικές μετρήσεις. Οι προβλεπόμενες τιμές που προέκυψαν από την εφαρμογή του μοντέλου αυτού ήταν σε καλή συμφωνία με τις πειραματικές τιμές που λήφθηκαν.

Στα Σχήματα 3.18, 3.19, 3.20 και 3.212 που προέκυψαν από την παραπάνω ανάλυση συγκρίνονται οι προβλεπόμενες τιμές με τις πειραματικές τιμές των παραμέτρων AV (ελεύθερη οξύτητα), PV (αριθμός υπεροξειδίων), IT (χρόνος επαγωγής της οξείδωσης) και TPC (συγκέντρωση των ολικών φαινολικών) για κάθε τύπο ελαιολάδου, στις θερμοκρασίες αποθήκευσης που μελετώνται, στην πορεία του χρόνου αποθήκευσης. Οι προβλεπόμενες μεταβολές παρουσιάζονται ως γραμμές στα επιμέρους γραφήματα, ενώ οι πειραματικές τιμές παρουσιάζονται ως σημεία.

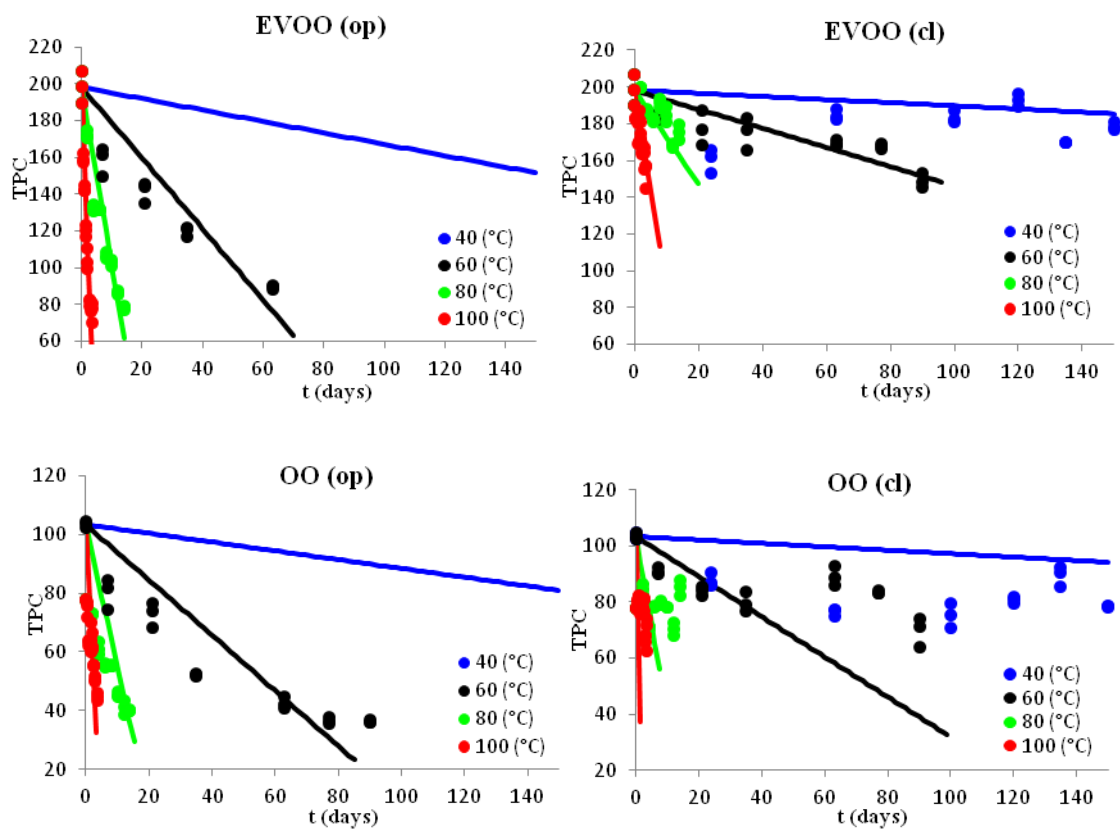


Σχήμα 3.18 Επίδραση της θερμοκρασίας στη μεταβολή της ελεύθερης οξύτητας (AV, g ελαϊκού οξέος/100g λαδιού) σε δείγματα ελαιολάδου (OO) και εξαιρετικά παρθένου ελαιολάδου (EVOO), κατά την αποθήκευσή τους με (op) και χωρίς (cl) οξυγόνο, στους 40, 60, 80 και 100°C. Οι γραμμές αντιστοιχούν σε προβλεπόμενες τιμές από την προσαρμογή των δεδομένων στην Εξ. (3) και τα σημεία στις πειραματικές τιμές.

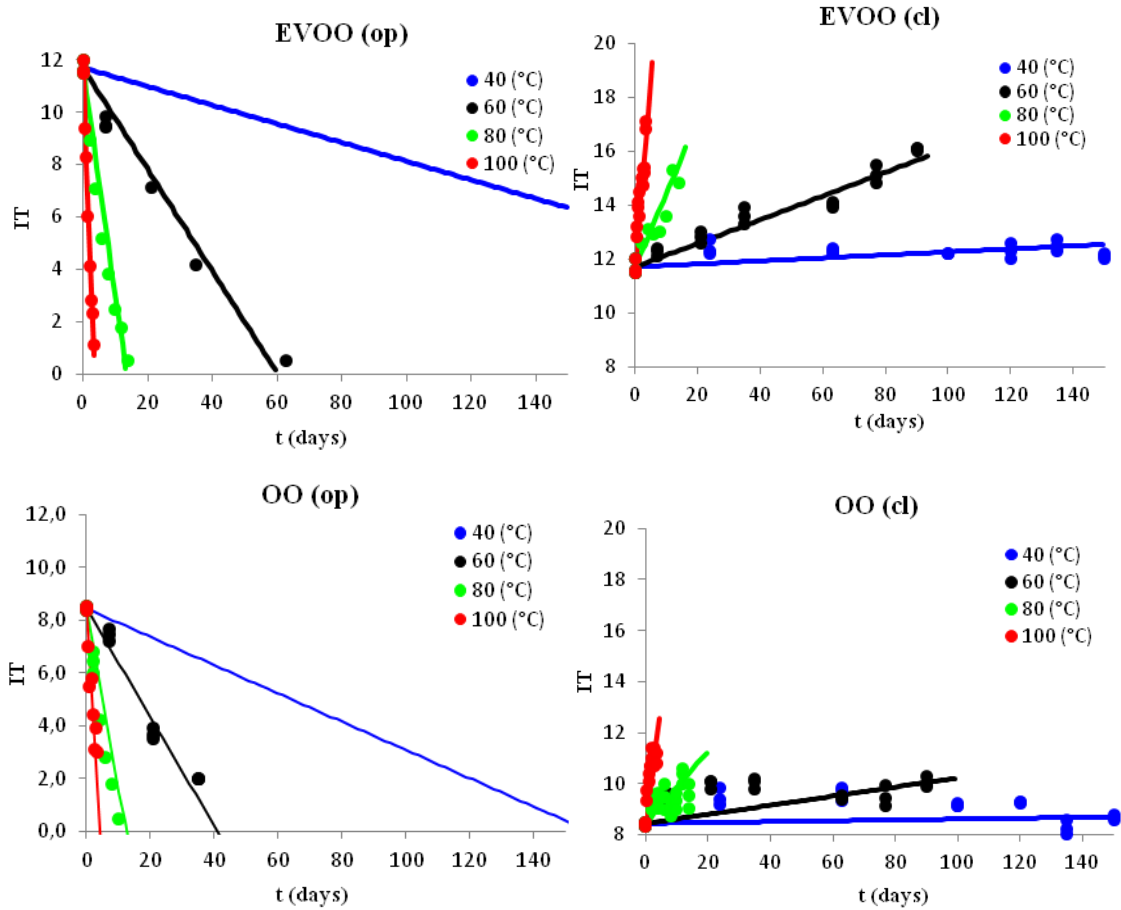




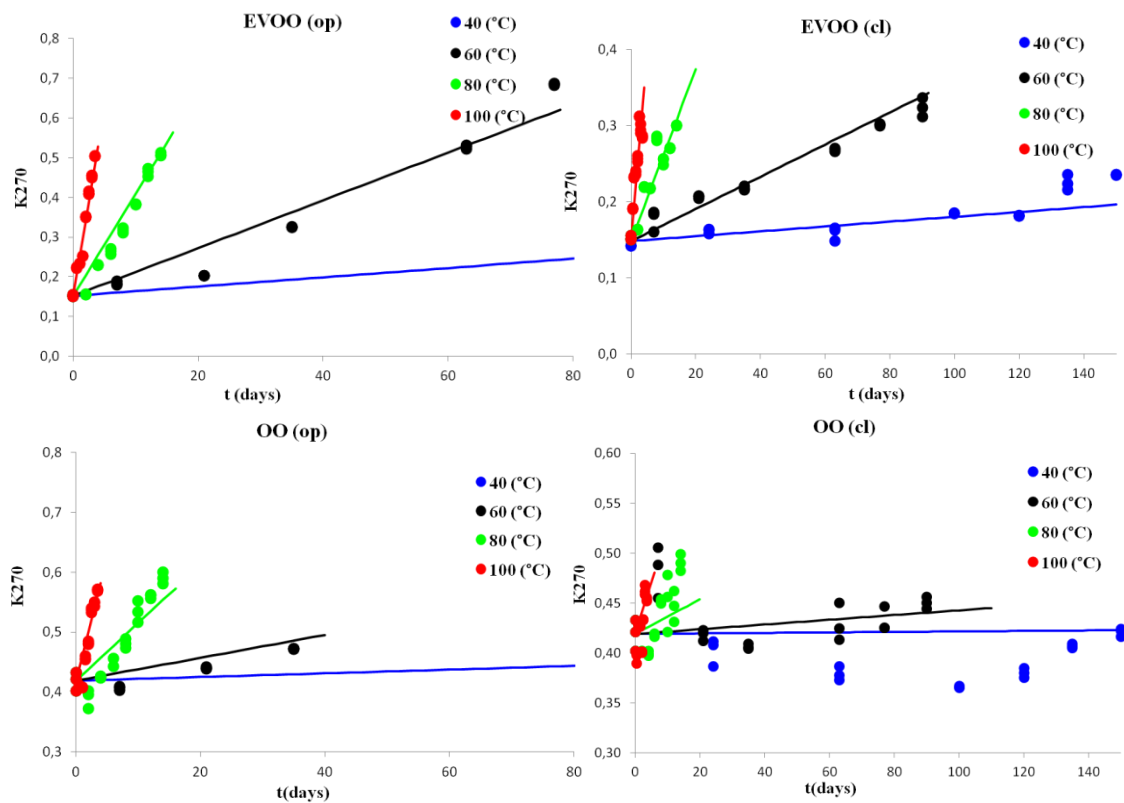
Σχήμα 3.19 Επίδραση της θερμοκρασίας στη μεταβολή του αριθμού υπεροξειδίων (PV, mEq ενεργού O<sub>2</sub>/kg λαδιού) σε δείγματα εξαιρετικά παρθένου ελαιολάδου (EVOO), κατά την αποθήκευσή τους με (op) και χωρίς (cl) οξυγόνο, στους 40, 60, 80 και 100°C. Οι γραμμές αντιστοιχούν σε προβλεπόμενες τιμές από την προσαρμογή των δεδομένων στην Εξ. (3) και τα σημεία στις πειραματικές τιμές.



Σχήμα 3.20 Επίδραση της θερμοκρασίας στη μεταβολή της συγκέντρωσης των ολικών φαινολικών (TPC, mg καφεϊκού οξέος/kg λαδιού) σε δείγματα εξαιρετικά παρθένου ελαιολάδου (EVOO) και ελαιολάδου (OO), κατά την αποθήκευσή τους με (op) και χωρίς (cl) οξυγόνο, στους 40, 60, 80 και 100°C. Οι γραμμές αντιστοιχούν σε προβλεπόμενες τιμές από την προσαρμογή των δεδομένων στην Εξ. (3) και τα σημεία στις πειραματικές τιμές.



Σχήμα 3.21 Επίδραση της θερμοκρασίας στη μεταβολή του χρόνου επαγωγής της οξείδωσης (IT, ώρες) σε δείγματα εξαιρετικά παρθένου ελαιολάδου (EVOO) και ελαιολάδου (OO), κατά την αποθήκευσή τους με (op) και χωρίς (cl) οξυγόνο, στους 40, 60, 80 και 100°C. Οι γραμμές αντιστοιχούν σε προβλεπόμενες τιμές από την προσαρμογή των δεδομένων στην Εξ. (3) και τα σημεία στις πειραματικές τιμές.



Σχήμα 3.22 Επίδραση της θερμοκρασίας στη μεταβολή του δείκτη K270 σε δείγματα εξαιρετικά παρθένου ελαιολάδου (EVOO) και ελαιολάδου (OO), κατά την αποθήκευσή τους με (op) και χωρίς (cl) οξυγόνο, στους 40, 60, 80 και 100°C. Οι γραμμές αντιστοιχούν σε προβλεπόμενες τιμές από την προσαρμογή των δεδομένων στην Εξ. (3) και τα σημεία στις πειραματικές τιμές.

Στους Πίνακες 3.7-3.11 καταγράφονται οι τιμές των σταθερών  $k_{70^\circ\text{C}}$  για κάθε μία από τις προβλεπόμενες μεταβολές των παραγόντων και οι προβλεπόμενες ενέργειες ενεργοποίησης ( $E_A$ ), όπως αυτές υπολογίστηκαν από το σύνθετο μοντέλο (3) με τα αντίστοιχα 95% διαστήματα εμπιστοσύνης. Στην τελευταία στήλη κάθε πίνακα καταγράφεται η τιμή  $R^2$  που προέκυψε από τη σύγκριση των πειραματικών τιμών με τις προβλεπόμενες.

Πίνακας 3.7 Κινητικές παράμετροι  $k_{70^{\circ}\text{C}}$  και  $E_A$  για την περιγραφή της μεταβολής της οξύτητας, όπως αυτές υπολογίστηκαν με τη χρήση του σύνθετου μοντέλου πρόβλεψης (Εξ. 3), για το εξαιρετικά παρθένο (EVOO) και το ελαιόλαδο (OO) κατά την αποθήκευσή τους με (op) και χωρίς (cl) οξυγόνο στις θερμοκρασίες των 40, 60, 80 και 100°C.

Κατηγορία ελαιολάδου	$AV_0^*$ (g ελαϊκού οξέος / 100 g λαδιού)	$k_{70^{\circ}\text{C}}^{**}$ (σε g ελαϊκού οξέος / 100 g λαδιού)/h	$E_A^{**}$ (kJ/mol)	$R^2$
EVOO(op)	0,517	0,00217±0,00018	73,3±4,3	0,79
EVOO(cl)	0,517	0,00217±0,00027	73,3±3,9	0,73
OO(op)	0,277	0,00221±0,00025	67,6±6,4	0,73
OO(cl)	0,277	0,00201±0,00016	71,4±4,6	0,75

\*Η τιμή αναφέρεται στην αρχική τιμή ελεύθερης οξύτητας των δειγμάτων όπως αυτή προέκυψε από πειραματικές μετρήσεις

\*\*Στο  $k_{70^{\circ}\text{C}}$  και στην ενέργεια ενεργοποίησης προστίθεται και αφαιρείται το 95% διάστημα εμπιστοσύνης.

Πίνακας 3.8 Κινητικές παράμετροι  $k_{70^{\circ}\text{C}}$  και  $E_A$  για την περιγραφή της μεταβολής του αριθμού υπεροξειδίων, όπως αυτές υπολογίστηκαν με τη χρήση του σύνθετου μοντέλου πρόβλεψης (Εξ. 3), για το εξαιρετικά παρθένο (EVOO) και το ελαιόλαδο (OO) κατά την αποθήκευσή τους με (op) και χωρίς (cl) οξυγόνο στις θερμοκρασίες των 40, 60, 80 και 100°C.

Κατηγορία ελαιολάδου	$PV_0^*$ (mEq $O_2$ /kg λαδιού)	$k_{70^{\circ}\text{C}}$ [(σε mEq $O_2$ /kg λαδιού)/h]	$E_A^{**}$ (kJ/mol)	$R^2$
EVOO(op)	8,6	0,927±0,03	67,4±1,7	0,98
EVOO(cl)	8,6	-0,137±0,0066	88,5±2,3	0,93
OO(op)	2,8	1,237±0,093	50,9±4,1	0,85
OO(cl)	4,3	-0,0434±0,0089	104,7±8,7	0,52

\*Η τιμή αναφέρεται στην αρχική τιμή του αριθμού υπεροξειδίων των δειγμάτων όπως αυτή προέκυψε από πειραματικές μετρήσεις

\*\*Στο  $k_{70^{\circ}\text{C}}$  και στην ενέργεια ενεργοποίησης προστίθεται και αφαιρείται το 95% διάστημα εμπιστοσύνης

Πίνακας 3.9 Κινητικές παράμετροι  $k_{70^{\circ}\text{C}}$  και  $E_A$  για την περιγραφή της μεταβολής του χρόνου επαγωγής της οξείδωσης, όπως αυτές υπολογίστηκαν με τη χρήση του σύνθετου μοντέλου πρόβλεψης (Εξ. 3), για το εξαιρετικά παρθένο (EVOO) και το ελαιόλαδο (OO) κατά την αποθήκευσή τους με (op) και χωρίς (cl) οξυγόνο στις θερμοκρασίες των 40, 60, 80 και 100°C.

Κατηγορία ελαιολάδου	$IT_0^*$ (h)	$k_{70^{\circ}\text{C}}$	$E_A^{**}$ (kJ/mol)	$R^2$
EVOO(op)	11,7	-0,421±0,026	73,5±3,2	0,98
EVOO(cl)	11,7	0,113±0,0062	89,6±2,6	0,92
OO(op)	8,44	-0,381±0,029	58,4±4,4	0,92
OO(cl)	8,44	0,052±0,0093	101,6±8,3	0,52

\*Η τιμή αναφέρεται στην αρχική τιμή του χρόνου επαγωγής της οξείδωσης των δειγμάτων όπως αυτή προέκυψε από πειραματικές μετρήσεις

\*\*Στο  $k_{70^{\circ}\text{C}}$  και στην ενέργεια ενεργοποίησης προστίθεται και αφαιρείται το 95% διάστημα εμπιστοσύνης

Πίνακας 3.10 Κινητικές παράμετροι  $k_{70^{\circ}\text{C}}$  και  $E_A$  για την περιγραφή της μεταβολής της συγκέντρωσης σε ολικά φαινολικά, όπως αυτές υπολογίστηκαν με τη χρήση του σύνθετου μοντέλου πρόβλεψης (Εξ. 3), για το εξαιρετικά παρθένο (EVOO) και το ελαιόλαδο (OO) κατά την αποθήκευσή τους με (op) και χωρίς (cl) οξυγόνο στις θερμοκρασίες των 40, 60, 80 και 100°C.

Κατηγορία ελαιολάδου	TPC <sub>0</sub> * (mg καφεϊκού οξέος/kg λαδιού)	$k_{70^{\circ}\text{C}}$	$E_A$ ** (kJ/mol)	R <sup>2</sup>
EVOO(op)	198,22	-4,442±0,3	79,3±3,4	0,92
EVOO(cl)	198,22	-1,177±0,134	78,1±6,1	0,49
OO(op)	103,41	-2,189±0,199	79,9±4,9	0,82
OO(cl)	103,41	-2,198±0,529	106,5±10,1	0,46

\*Η τιμή αναφέρεται στην αρχική τιμή της συγκέντρωσης σε ολικά φαινολικά των δειγμάτων όπως αυτή προέκυψε από πειραματικές μετρήσεις

\*\*Στο  $k_{70^{\circ}\text{C}}$  και στην ενέργεια ενεργοποίησης προστίθεται και αφαιρείται το 95% διάστημα εμπιστοσύνης

Πίνακας 3.11 Κινητικές παράμετροι  $k_{70^{\circ}\text{C}}$  και  $E_A$  για την περιγραφή της μεταβολής του δείκτη K270, όπως αυτές υπολογίστηκαν με τη χρήση του σύνθετου μοντέλου πρόβλεψης (Εξ. 3), για το εξαιρετικά παρθένο (EVOO) και το ελαιόλαδο (OO) κατά την αποθήκευσή τους με (op) και χωρίς (cl) οξυγόνο στις θερμοκρασίες των 40, 60, 80 και 100°C.

Κατηγορία ελαιολάδου	K270 <sub>0</sub> *	$k_{70^{\circ}\text{C}}$	$E_A$ ** (kJ/mol)	R <sup>2</sup>
EVOO(op)	0,152	0,0127±0,00511	71,1±2,3	0,96
EVOO(cl)	0,148	0,005±0,000252	82±2,6	0,89
OO(op)	0,419	0,00439±0,000766	79,1±0,9	0,89
OO(cl)	0,419	0,00066±0,000369	97,5±25	0,59

\*Η τιμή αναφέρεται στην αρχική τιμή του δείκτη K270 των δειγμάτων όπως αυτή προέκυψε από πειραματικές μετρήσεις

\*\*Στο  $k_{70^{\circ}\text{C}}$  και στην ενέργεια ενεργοποίησης προστίθεται και αφαιρείται το 95% διάστημα εμπιστοσύνης

### 3.5 ΠΡΟΣΕΓΓΙΣΤΙΚΗ ΕΚΤΙΜΗΣΗ ΤΗΣ ΔΙΑΡΚΕΙΑΣ ΖΩΗΣ ΤΟΥ ΕΛΑΙΟΛΑΔΟΥ ΣΕ ΔΙΑΦΟΡΕΤΙΚΕΣ ΘΕΡΜΟΚΡΑΣΙΕΣ ΑΠΟΘΗΚΕΥΣΗΣ

Η επίλυση του σύνθετου μοντέλου πρόβλεψης όπως εκφράζεται με την εξίσωση (3) ως προς  $t$  μας δίνει μια κατά προσέγγιση τον χρόνο ζωής και των δύο κατηγοριών ελαιολάδου και για επιπλέον θερμοκρασίες εκτός των πειραματικών. Από την επίλυση της εξίσωσης (3) ως προς  $t$  προκύπτει το  $t_{shelf\ life}$  με την εξίσωση:

$$t_{shelf\ life} = \frac{y-y_0}{k_{T_{ref}} e^{-\frac{E_A}{R} \left( \frac{1}{T} - \frac{1}{T_{ref}} \right)}} \quad (4)$$

Η εκτίμηση του  $t_{shelf\ life}$  έγινε με βάση τα ανώτατα όρια για τις παραμέτρους K270 και αριθμό υπεροξειδίων ξεχωριστά για τις δύο κατηγορίες ελαιολάδου που εξετάστηκαν, σε συνθήκες απουσίας και παρουσίας οξυγόνου. Οι δύο αυτοί δείκτες επιλέχθηκαν ως οι πλέον αυστηροί συγκριτικά με τους υπόλοιπους εξεταζόμενους, καθώς τα ανώτατα επιτρεπτά όρια αυτών, ήταν που ξεπεράστηκαν πρώτα από τις πειραματικές μετρήσεις. Οι θερμοκρασίες στις οποίες έγινε extrapolation για τον υπολογισμό του χρόνου ζωής είναι οι 20, 30, 40 και 50°C, οι οποίες προσομοιάζουν με πραγματικές θερμοκρασίες αποθήκευσης του ελαιολάδου.

Στους Πίνακες 3.12 και 3.13 παρουσιάζονται οι εκτιμώμενοι από την εξίσωση (4) χρόνοι ζωής σε μήνες, σύμφωνα με τα ανώτατα όρια του δείκτη K270 και του αριθμού υπεροξειδίων αντίστοιχα.

Πίνακας 3.12 Εκτιμώμενος χρόνος ζωής σε μήνες για το εξαιρετικά παρθένο ελαιόλαδο παρουσία(op) και απουσία οξυγόνου(cl), όπως υπολογίστηκε από την εξίσωση (4), αναφορικά με τα ανώτατα όρια του δείκτη K270.

Κατηγορία ελαιολάδου	$t_{shelf\ life_{20^{\circ}C}}$	$t_{shelf\ life_{30^{\circ}C}}$	$t_{shelf\ life_{40^{\circ}C}}$	$t_{shelf\ life_{50^{\circ}C}}$
EVOO(op)	12,5	4,8	1,9	0,8
EVOO(cl)	64,5	21,3	7,5	2,8

Πίνακας 3.13 Εκτιμώμενος χρόνος ζωής σε μήνες για το εξαιρετικά παρθένο ελαιόλαδο και για το ελαιόλαδο παρουσία οξυγόνου (op), όπως υπολογίστηκε από την εξίσωση (4), αναφορικά με τα ανώτατα όρια του αριθμού υπεροξειδίων.

Κατηγορία ελαιολάδου	$t_{shelf\ life_{20^{\circ}C}}$	$t_{shelf\ life_{30^{\circ}C}}$	$t_{shelf\ life_{40^{\circ}C}}$	$t_{shelf\ life_{50^{\circ}C}}$
EVOO(op)	23,0	9,2	3,9	1,8
OO(op)	6,9	8,7	1,8	1,0

Από τον πίνακα 3.12 παρατηρούμε πως απουσία οξυγόνου, ο χρόνος ζωής του εξαιρετικά παρθένου ελαιολάδου είναι πολύ μεγαλύτερος σε σχέση με την αποθήκευση παρουσία οξυγόνου στις θερμοκρασίες που αναφέρονται, ενώ στον Πίνακα 3.13 φαίνεται ο αυξημένος χρόνος ζωής του εξαιρετικά παρθένου ελαιολάδου σε σχέση με το ελαιόλαδο, σε συνθήκες αποθήκευσης με οξυγόνο, στις αναφερόμενες θερμοκρασίες. Παρατηρούμε ακόμα ότι χρησιμοποιώντας τον δείκτη K270 σαν κριτήριο για τον υπολογισμό του  $t_{shelf\ life}$ , αυτός προκύπτει στους μισούς περίπου μήνες σε σχέση με τη χρήση του αριθμού υπεροξειδίων ως βάση για τον υπολογισμό του.



#### 4 ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Τα αποτελέσματα των πειραματικών μετρήσεων που έγιναν με αναλυτικές χημικές μεθόδους και επεξεργάστηκαν στα στατιστικά προγράμματα Microsoft Excel™ και SigmaPlot Systat™, μπορούν να συνοψισθούν στα ακόλουθα συμπεράσματα:

- Οι μεταβολές που μελετήθηκαν στα δείγματα του εξαιρετικά παρθένου ελαιολάδου και του ελαιολάδου, ακολουθούν κινητική μηδενικής τάξης, καθώς παρουσιάζουν γραμμική αύξηση για τις περισσότερες παραμέτρους και για ορισμένες γραμμική μείωση.
- Οι μεταβολές στην οξύτητα παρουσιάζουν γραμμικότητα και οι κλίσεις των ευθειών που τις περιγράφουν είναι θετικές και πολύ μικρές, λόγω της ελάχιστης αύξησης που παρατηρείται στις πειραματικές μετρήσεις.
- Ο αριθμός υπεροξειδίων του ελαιολάδου παραμένει σχεδόν αμετάβλητος κατά την αποθήκευσή του χωρίς οξυγόνο, σε όλες τις πειραματικές θερμοκρασίες, ενώ ο αριθμός υπεροξειδίων του εξαιρετικά παρθένου ελαιολάδου παρουσίασε μικρή γραμμική μείωση, σε όλες τις θερμοκρασίες απουσία οξυγόνου. Σε συνθήκες επαφής των δειγμάτων με το ατμοσφαιρικό οξυγόνο και οι δύο κατηγορίες ελαιολάδου παρουσίασαν μεγάλη αύξηση του αριθμού υπεροξειδίων τους. Στους 60°C μόνο, παρατηρήθηκε εκθετική αύξηση του αριθμού υπεροξειδίων μετά τις 36 ημέρες αποθήκευσης τόσο για το ελαιόλαδο όσο και για το εξαιρετικά παρθένο ελαιόλαδο.
- Η συγκέντρωση των ολικών φαινολικών παρέμεινε σταθερή κατά την αποθήκευση στους 40°C απουσία οξυγόνου και για τις δύο κατηγορίες ελαιολάδου. Παρατηρήθηκε μείωση με υψηλούς ρυθμούς στα δείγματα που ήταν εκτεθειμένα στο οξυγόνο στις υψηλές θερμοκρασίες αποθήκευσης (60, 80 και 100°C), ενώ στις ίδιες θερμοκρασίες χωρίς οξυγόνο, τα δείγματα παρουσίασαν μειώσεις με μικρούς ρυθμούς.
- Ο χρόνος επαγωγής της οξείδωσης, όπως και η συγκέντρωση των ολικών φαινολικών στους 40°C παρέμεινε αμετάβλητος με την πάροδο του χρόνου αποθήκευσης και σε συνθήκες έλλειψης οξυγόνου και για τις δύο κατηγορίες ελαιολάδου. Αντίθετα στην αποθήκευση σε υψηλότερες θερμοκρασίες (60, 80 και 100°C) παρουσίασε έντονη μείωση στα δείγματα που ήταν σε επαφή με το οξυγόνο, ενώ μικρή αύξηση στα δείγματα που δεν είχαν επαφή με το οξυγόνο.
- Οι συντελεστές απόσβεσης K232 και K270 παρουσίασαν πολύ μικρή αύξηση στους 40°C χωρίς οξυγόνο για το εξαιρετικά παρθένο ελαιόλαδο, ενώ παρέμειναν σχεδόν αμετάβλητοι στο ελαιόλαδο στις ίδιες συνθήκες. Στις υπόλοιπες θερμοκρασίες ο δείκτης K232 αυξήθηκε γραμμικά παρουσία οξυγόνου και στις δύο κατηγορίες ελαιολάδου, ενώ απουσία οξυγόνου παρέμεινε αμετάβλητος. Ο δείκτης K270 αυξήθηκε στα δείγματα ελαιολάδου και εξαιρετικά παρθένου ελαιολάδου που ήταν αποθηκευμένα με οξυγόνο στους 80 και 100°C, ενώ στα δείγματα που ήταν

αποθηκευμένα στους 60°C παρουσία οξυγόνου αυξήθηκε εκθετικά από τις 36 ημέρες αποθήκευσης και ύστερα. Ο λόγος που παρατηρείται αυτή η διαφορά είναι πιθανόν λόγω μακράς διάρκειας αποθήκευσης στους 60°C. Αν τα δείγματα παρέμεναν και στις άλλες θερμοκρασίες αποθήκευσης για περισσότερο χρονικό διάστημα, πιθανότατα θα ακολουθούσαν εκθετική αύξηση.

- Οι μεταβολές του χρώματος ήταν πολύ μικρές σε όλες τις πειραματικές θερμοκρασίες όταν στα δείγματα δεν επιδρούσε το ατμοσφαιρικό οξυγόνο. Αντιθέτως, παρουσία οξυγόνου στις θερμοκρασίες αποθήκευσης των 60, 80 και 100°C οι μεταβολές του χρώματος ήταν πολύ αισθητές, κυρίως για το εξαιρετικά παρθένο ελαιόλαδο. Συγκεκριμένα ο δείκτης ολικής μεταβολής χρώματος ( $\Delta E$ ), αυξανόταν γραμμικά και με μεγάλο ρυθμό. Ο δείκτης έντασης του κίτρινου χρώματος ( $\Delta b$ ) μειωνόταν γραμμικά και ο δείκτης απώλειας του πράσινου χρώματος ( $\Delta a$ ) ακολουθούσε γραμμική αύξηση. Στα δείγματα που ήταν σε επαφή με το οξυγόνο της ατμόσφαιρας, παρατηρήθηκε έντονος αποχρωματισμός, λόγω οξειδώσεως των χλωροφυλλών και των καροτενοειδών που είναι υπεύθυνα για το κιτρινοπράσινο χρώμα του ελαιόλαδου.
- Βρέθηκε η ύπαρξη γραμμικής συσχέτισης μεταξύ της μείωσης του χρόνου επαγωγής της οξείδωσης συναρτήσει της αύξησης του αριθμού υπεροξειδίων.
- Η επίδραση της θερμοκρασίας στη μεταβολή των εξεταζόμενων παραμέτρων αποδόθηκε με τη χρήση της εξίσωσης Arrhenius ως δευτερογενούς μοντέλου. Ενσωματώνοντας την εξίσωση Arrhenius στο πρωτογενές, γραμμικό, μοντέλο, έγινε προσδιορισμός των κινητικών παραμέτρων  $k_{T_{ref}}$  και  $E_A$  με προσαρμογή, σε ένα βήμα, του προκύπτοντος σύνθετου μοντέλου στις πειραματικές μετρήσεις. Οι προβλεπόμενες τιμές που προέκυψαν από την εφαρμογή του μοντέλου αυτού ήταν σε καλή συμφωνία με τις πειραματικές τιμές που λήφθηκαν.
- Από το σύνθετο μαθηματικό μοντέλο, υπολογίστηκε κατά προσέγγιση ο χρόνος ζωής  $t_{shelf\ life}$  των εξεταζόμενων δειγμάτων σε μήνες, εκτός των πειραματικών θερμοκρασιών (extrapolation) και συγκεκριμένα στους 20, 30, 40 και 50°C. Για τον υπολογισμό του χρόνου ζωής του ελαιολάδου χρησιμοποιήθηκαν τα ανώτατα όρια των παραμέτρων K270 και του αριθμού υπεροξειδίων για τις δύο κατηγορίες ελαιολάδου. Προέκυψε ότι ο χρόνος ζωής εμφανίζεται μειωμένος με βάση τα ανώτατα όρια του K270 σε σχέση με εκείνα του αριθμού υπεροξειδίων. Επίσης τα δείγματα που αποθηκεύθηκαν χωρίς οξυγόνο εμφάνισαν μεγαλύτερους χρόνους ζωής σε σύγκριση με τα δείγματα που αποθηκεύθηκαν παρουσία οξυγόνου.

## 5 ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

Angerosa F. et al. 2007, Analysis and Authentication, Boskou D., Olive oil Chemistry and Technology, Second Edition, AOCS Press Champaign, Illinois. pp 113-172.

Barjol J-L, 2013. Introduction, In: Aparicio R. and Harwood.J., Handbook of Olive Oil, Second Edition, Springer New York Heidelberg Dordrecht London. pp 1-15.

Boskou D. et al. 2007, Olive Oil Composition, In: Boskou D., Olive oil Chemistry and Technology, Second Edition, AOCS Press Champaign, Illinois. pp 41-72.

Boskou D. et al. 2007, Polar Phenolic Compounds, In: Boskou D., Olive oil Chemistry and Technology, Second Edition, AOCS Press Champaign, Illinois. pp 73-92.

Boskou D., 2007. Characteristics of the Olive Tree and Olive Fruit, In: Boskou D., Olive oil Chemistry and Technology, Second Edition, AOCS Press Champaign Illinois. pp 13-17.

Casale M. et al. Characterisation of PDO olive oil Chianti Classico by non-selective (UV-visible, NIR and MIR spectroscopy) and selective (fatty acid composition) analytical techniques, Elsevier Analytica Chimica Acta, Volume 712. pp 56-63.

Chatzilazarou A., Zoidis E. & Tsaknis J., 2005. Physicochemical Changes of Olive Oil and Selected Vegetable Oils During Frying. Journal of Food Lipids, 13(2006). pp 27-35.

Chen L.Y., Cheng C.W. & Liang J.Y., 2015. Effect of esterification condensation on the Folin-Ciocalteu method for the quantitative measurement of total phenols. Food Chemistry, 170, pp.10-15. Available at: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0308814614012539>

Cichelli A. & Pertesana G. P., 2004. High-performance liquid chromatographic analysis of chlorophylls, pheophytins and carotenoids in virgin olive oils: Chemometric approach to variety classification. Journal of Chromatography A, 1046(1-2). pp 141-146.

Di Giovacchino L., 2013, Technological Aspects, In: Ramon A., Harwood J., 2013. Handbook of Olive Oil Second Edition., Springer New York Heidelberg Dordrecht London. pp 57-94.

Farhoosh R. et al. 2013. Shelf-life prediction of olive oils using empirical models developed at low and high temperatures. Food Chemistry, 141(1), pp.557-565. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.03.024>.

Franco M.N. et al. 2014. Phenolic compounds and antioxidant capacity of virgin olive oil. *Food chemistry*, 163, pp. 289–298. Available at: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S030881461400661X>.

Fuentes E. et al. 2012. Determination of Total Phenolic Content in Olive Oil Samples by UV-visible Spectrometry and Multivariate Calibration. *Food Analytical Methods*, 5 (2012), pp. 1311–1319.

García A., Brenes M. & García P., 2003. Phenolic content of commercial olive oils. *European Food Research and Technology*, 216, pp520–525. Available at: <http://www.springerlink.com/index/26LAQTNTDR80PG8N.pdf>.

Gomez-Alonso S. et al. 2003. Changes in phenolic composition and antioxidant activity of virgin olive oil during frying. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51, pp 667–672. Available at: <http://centaur.reading.ac.uk/13371/>.

Gómez-Alonso, S. et al. 2004. Oxidation kinetics in olive oil triacylglycerols under accelerated shelf-life testing (25-75°C). *European Journal of Lipid Science and Technology*, 106(6), pp 369–375.

Jaber, O. & Qutit, A., 2014. Determination of Total Polyphenolic Antioxidants Contents in West-Bank Olive Oil. *Journal of Natural Sciences Research*, 4(15), pp 71–77.

Kampa M. et al, 2009. Olive Oil Phenols, Basic Cell Mechanisms, and Cancer, In: Boskou D., *Olive Oil Minor Constituents and Health*, CRC Press Taylor & Francis Group. pp 129-152.

Kanavouras A. & Coutelieris F.A., 2006. Shelf-life predictions for packaged olive oil based on simulations. *Food Chemistry*, 96, pp 48–55.

Lerma García, M.J., 2012, Introduction, In: Lerma García, M.J., *Characterization and Authentication of Olive and Other Vegetable Oils New Analytical Methods*, Springer Heidelberg New York Dordrecht London. pp 1-38.

Maggio M., Vallib E., Bendini A., Gómez-Caravaca A.M., Toschi T., Cerretani L., A spectroscopic and chemometric study of virgin olive oils subjected to thermal stress, *Elsevier Food Chemistry*, Volume 127, Issue 1, pp 216–221.

Malheiro R. et al. 2009. Effect of microwave heating with different exposure times on physical and chemical parameters of olive oil. *Food and Chemical Toxicology*, 47(1), pp 92–97. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.fct.2008.10.014>.

Mancebo-Campos V., Salvador M.D. & Fregapane G., 2007. Evolution of major and minor components and oxidation indices of virgin olive oil during 21 months storage at room temperature. , *Food Chemistry*, 100(2007), pp 36–42.

- Mancebo-Campos V., Salvador M.D. & Fregapane G., 2014. Antioxidant capacity of individual and combined virgin olive oil minor compounds evaluated at mild temperature (25 and 40 C) as compared to accelerated and antiradical assays. *Food Chemistry*, 150(2014), pp 374–381.
- Mariotti E., Mascini M., Determination of extra virgin olive oil acidity by FIA-titration, *Elsevier Food Chemistry*, Volume 73, Issue 2, 2001, pp 235–238.
- Martinez-Nieto L., Hodaifa G. & Lozano-Pena J., 2010. Changes in phenolic compounds and Rancimat stability of olive oils from varieties of olives at different stages of ripeness. *SCI*, pp 2393–2398.
- Morales M.T. & Przybylski R., 2013, Olive Oil Oxidation, In: Aparicio R. and Harwood.J., *Handbook of Olive Oil*, Second Edition, Springer New York Heidelberg Dordrecht London. pp 480-505.
- Nissiotis M. & Tasioula-Margari M., 2002. Changes in antioxidant concentration of virgin olive oil during thermal oxidation. *Food Chemistry* , 77, pp 371–376.
- Pellegrini N. & Battino M., 2006, Total Antioxidant Capacity of Olive Oils, In: Quiles J.L. , Ramírez-Tortosa M.C. and Yaqoob P., *Olive Oil and Health*, CAB International 2006, pp 63-74.
- Petrakis C., 2007, Olive Oil Extraction, In: Boskou D., *Olive oil Chemistry and Technology*, Second Edition, AOCS Press Champaign Illinois, pp 191-221.
- Polymerou-Kamilakis A., 2007. The Culture of the Olive Tree (Mediterranean world), In: Boskou D., *Olive oil Chemistry and Technology*, Second Edition., AOCS Press Champaign, Illinois, pp 1-11.
- Ramírez-Tortosa M.C., Granados S. & Quiles J.L., 2006, Chemical Composition, Types and Characteristics of Olive Oil, In: Quiles J.L., Ramírez-Tortosa M.C. and Yaqoob P., *Olive Oil and Health*, CAB International 2006, pp 45-62.
- Sahin S., Sumnu S.G., 2006, Electromagnetic Properties, In : Sahin S., Sumnu S.G., *Physical Properties of Food*,s Heldman D.R., ed., 2006 Springer Science+Business Media, LLC, pp 157-173.
- Sánchez-Gimeno A. C. et al. 2008. Some physical changes in Bajo Aragón extra virgin olive oil during the frying process. *Food Chemistry*, 110(3), pp 654–658.
- Santos C.S.P. et al. 2013. Effect of cooking on olive oil quality attributes. *Food Research International*, 54(2), pp 2016–2024. Available at: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0963996913002421>

Servili M. et al. 2009, Phenolic compounds in olive oil: antioxidant, health and organoleptic activities according to their chemical structure. *Inflammopharmacology*, 17(2), pp 76–84. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19234678>

Servili M., Montedoro G., 2002. Contribution of phenolic compounds to virgin olive oil quality. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 104, pp 602–613.

Tripoli E. et al. 2005. The phenolic compounds of olive oil: structure, biological activity and beneficial effects on human health. *Nutrition research reviews*, 18(1), pp 98–112. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19079898>

Tsimidou M., 2007, Olive Oil Quality, In: Boskou D., *Olive oil Chemistry and Technology*, Second Edition, AOCS Press Champaign, Illinois. pp 93-111.

Zhang W. et al. 2015. A unique quantitative method of acid value of edible oils and studying the impact of heating on edible oils by UV – Vis spectrometry. *Food Chemistry*, 185, pp 326–332.

Επίσημη Εφημερίδα της Ευρωπαϊκής Ένωσης, Παράρτημα II, 022.001 σελ 29-30, 2008.

Επίσημη Εφημερίδα της Ευρωπαϊκής Ένωσης, Παράρτημα IX, L 90/55, 2013.

Επίσημη Εφημερίδα της Ευρωπαϊκής Ένωσης, Παράρτημα III, 022.001 σελ 31-32, 2008.