

ΓΕΩΠΟΝΙΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ
ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ ΚΑΙ ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ ΤΟΥ ΑΝΘΡΩΠΟΥ
ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΧΗΜΕΙΑΣ ΚΑΙ ΑΝΑΛΥΣΗΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ

ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ
ΕΠΙΣΤΗΜΗ ΤΡΟΦΙΜΩΝ ΚΑΙ ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ ΤΟΥ ΑΝΘΡΩΠΟΥ
ΚΑΤΕΥΘΥΝΣΗ: ΣΥΣΤΗΜΑΤΑ ΔΙΑΧΕΙΡΙΣΗΣ ΠΟΙΟΤΗΤΑΣ ΚΑΙ ΑΣΦΑΛΕΙΑΣ
ΤΡΟΦΙΜΩΝ

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

ΘΕΜΑ

«Προσδιορισμός Βιοδραστικών Συστατικών σε Ελληνικά
Μονοποικιλιακά Εξαιρετικά Παρθένα Ελαιόλαδα»



ΜΠΙΑΤΡΙΣΙΑ ΝΑΝΙ
ΕΠΙΣΤΗΜΟΝΑΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ ΚΑΙ ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ

ΑΘΗΝΑ 2018

ΓΕΩΠΟΝΙΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ

**ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ ΚΑΙ ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ ΤΟΥ ΑΝΘΡΩΠΟΥ
ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΧΗΜΕΙΑΣ ΚΑΙ ΑΝΑΛΥΣΗΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ**

**ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ
ΕΠΙΣΤΗΜΗ ΤΡΟΦΙΜΩΝ ΚΑΙ ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ ΤΟΥ ΑΝΘΡΩΠΟΥ
ΚΑΤΕΥΘΥΝΣΗ: ΣΥΣΤΗΜΑΤΑ ΔΙΑΧΕΙΡΙΣΗΣ ΠΟΙΟΤΗΤΑΣ ΚΑΙ ΑΣΦΑΛΕΙΑΣ
ΤΡΟΦΙΜΩΝ**

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

ΘΕΜΑ

**«Προσδιορισμός Βιοδραστικών Συστατικών σε Ελληνικά
Μονοποικιλιακά Εξαιρετικά Παρθένα Ελαιόλαδα»**



**ΜΠΑΤΡΙΣΙΑ ΝΑΝΙ
ΕΠΙΣΤΗΜΟΝΑΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ ΚΑΙ ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ**

ΑΘΗΝΑ 2018

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

ΘΕΜΑ

**«Προσδιορισμός βιοδραστικών συστατικών σε ελληνικά
μονοποικιλιακά εξαιρετικά παρθένα ελαιόλαδα»**

**ΜΠΙΑΤΡΙΣΙΑ ΝΑΝΙ
ΕΠΙΣΤΗΜΟΝΑΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ ΚΑΙ ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ**

Τριμελής Συμβουλευτική και Εξεταστική Επιτροπή:

Όνομα Επιβλέποντος: Αθανάσιος Μαλλούχος
Όνομα Α' μέλους Τριμελούς: Πέτρος Ταραντίλης
Όνομα Β' μέλους Τριμελούς: Βασιλική Ευαγγελίου

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Η παρούσα μεταπτυχιακή διατριβή εκπονήθηκε στο πλαίσιο του Μεταπτυχιακού Προγράμματος Σπουδών, του Τμήματος Επιστήμης Τροφίμων και Διατροφής του Ανθρώπου, με τίτλο «Επιστήμη Τροφίμων και Διατροφής του Ανθρώπου», στην κατεύθυνση «Συστήματα Διαχείρισης Ποιότητας και Ασφάλειας Τροφίμων», στο Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών. Το εργαστηριακό μέρος της μελέτης πραγματοποιήθηκε στο εργαστήριο Χημείας και Ανάλυσης Τροφίμων κατά το ακαδημαϊκό έτος 2017-2018.

Η ανάθεση και η επίβλεψη της εργασίας έγινε από τον Λέκτορα κ. Αθανάσιο Μαλλούχο, τον οποίο θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά για την ενεργή καθοδήγησή του, την πολύτιμη και εποικοδομητική βοήθειά του, τις σημαντικές συμβουλές του και την υποστήριξή του καθ' όλη τη διάρκεια διεκπεραίωσης της παρούσας μελέτης. Είμαι ιδιαίτερα ευγνώμων για την άριστη συνεργασία, το χρόνο που διέθεσε αλλά και για την διόρθωση της μεταπτυχιακής μου εργασίας.

Ιδιαίτερες ευχαριστίες θα ήθελα να απευθύνω επίσης και στην τριμελή επιτροπή, που αφιέρωσαν χρόνο στο να διαβάσουν την μελέτη μου και να την αξιολογήσουν. Θα ήθελα ακόμα να ευχαριστήσω γενικά όλα τα μέλη του εργαστηρίου Χημείας και Ανάλυσης Τροφίμων για το ευχάριστο κλίμα συνεργασίας καθ' όλη τη διάρκεια της μεταπτυχιακής μου μελέτης αλλά και την παροχή δειγμάτων για τις αρχικές δοκιμές.

Ιδιαίτερος θα ήθελα να εκφράσω την βαθιά ευγνωμοσύνη μου στην οικογένειά μου αλλά και τους κοντινούς και αγαπημένους μου ανθρώπους καθώς η ηθική και η ψυχολογική υποστήριξή τους στάθηκε πολύτιμη βοήθεια για τη συγγραφή της παρούσας μεταπτυχιακής μελέτης.

Μπιατρίσια Νάνι

*«Όπου κι αν λαχό κατοικία
δεν μου απολείπουν οι καρποί,
μα έχει ο θεός ευλογημένη
και είμαι γεμάτη προκοπή,
είμαι η ελιά η τιμημένη...»*

Κοστής Παλαμάς

Αφιερωμένη στην οικογένειά μου

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Είναι ευρέως γνωστό ότι η κατανάλωση εξαιρετικού παρθένου ελαιολάδου στα πλαίσια μιας ισορροπημένης και υγιούς διατροφής μπορεί να δράσει προστατευτικά έναντι πολλών χρόνιων και εκφυλιστικών ασθενειών. Οι ιδιότητες αυτές οφείλονται κατά κύριο λόγο στα βιοδραστικά συστατικά του ελαιολάδου, όπως οι βιοφαινόλες, τοκοφερόλες και σκουαλένιο. Αν και η χημική σύσταση του ελαιολάδου επηρεάζεται από διάφορους παράγοντες, η ποικιλία της ελιάς προσδίδει μοναδικά χαρακτηριστικά σε κάθε ελαιόλαδο. Ως εκ τούτου, ο κύριος σκοπός της παρούσας μελέτης ήταν ο προσδιορισμός της περιεκτικότητας των προαναφερθέντων βιοδραστικών συστατικών σε μονοποικιλιακά εξαιρετικά παρθένα ελαιόλαδα που παράγονται και συσκευάζονται στην Ελλάδα, λαμβάνοντας υπόψη τον περιορισμένο αριθμό δημοσιευμένων μελετών που αφορούν κυρίως ισπανικά και ιταλικά ελαιόλαδα.

Για τον σκοπό αυτό, δεκατέσσερα μονοποικιλιακά εξαιρετικά παρθένα ελαιόλαδα (ΜΕΠΕ) προμηθεύτηκαν από την τοπική αγορά της Αθήνας και διαδικτυακών καταστημάτων. Τα περισσότερα δείγματα ελαιολάδου προέρχονταν από την ποικιλία Κορωνέικη (3 από την Καλαμάτα και 2 από την Κρήτη), ενώ τα υπόλοιπα ήταν από τις ποικιλίες Κολοβή (3 δείγματα από τη Λέσβο), Αθηνολιά (2 δείγματα από τη Λακωνία), Μεγαρίτικη (1 δείγμα από την Κορινθία) και Μανάκι (2 δείγματα από την Αργολίδα και 1 από την Κορινθία). Για τον προσδιορισμό του σκουαλενίου, πραγματοποιήθηκε αρχικά απομόνωση με εκχύλιση στερεάς φάσης (Solid Phase Extraction) και στη συνέχεια υγροχρωματογραφικός προσδιορισμός με HPLC-DAD. Οι τοκοφερόλες προσδιορίστηκαν με υγρή χρωματογραφία κανονικής φάσης και φθορισμομετρικό ανιχνευτή (μέθοδος ISO), ενώ οι βιοφαινόλες προσδιορίστηκαν σύμφωνα με την μέθοδο του Διεθνούς Συμβουλίου Ελαιολάδου (IOOC) με χρήση στήλης τύπου core-shell προς επιτάχυνση της διαδικασίας. Παράλληλα, προσδιορίστηκε η αντιοξειδωτική ικανότητα των ελαιολάδων με την μέθοδο DPPH.

Σύμφωνα με τα αποτελέσματα, η περιεκτικότητα σκουαλενίου κυμάνθηκε από 2,496 έως 5,836 mg/kg, με την «Κορωνέικη» Καλαμάτας να σημειώνει την μεγαλύτερη τιμή ενώ η «Κολοβή» Λέσβου τη μικρότερη. Τα επίπεδα των τοκοφερολών κυμάνθηκαν μεταξύ 208 έως 516 mg/kg, με την «Μεγαρίτικη» να σημειώνει την μεγαλύτερη τιμή και το «Μανάκι» Αργολίδας την μικρότερη. Το περιεχόμενο σε ολικές βιοφαινόλες κυμάνθηκε μεταξύ 108 έως 230 mg/kg με την «Κορωνέικη» Κρήτης να σημειώνει τη μεγαλύτερη τιμή και την «Μεγαρίτικη» Κορινθίας την μικρότερη. Ανάλογα αποτελέσματα βρέθηκαν και στον προσδιορισμό της αντιοξειδωτικής ικανότητας των ελαιολάδων. Τέλος, η επίδραση της ποικιλίας ελιάς βρέθηκε να επηρεάζει σημαντικά το περιεχόμενο του σκουαλενίου, των βιοφαινολών και της αντιοξειδωτικής ικανότητας (DPPH). Αντιθέτως, η ποικιλία της ελιάς δεν φαίνεται να αποτελεί καθοριστικό παράγοντα στα τελικά επίπεδα τοκοφερολών στο ελαιόλαδο.

Λέξεις Κλειδιά: Μονοποικιλιακό ελαιόλαδο, Σκουαλένιο, Βιοφαινόλες, Τοκοφερόλες, Αντιοξειδωτική Δράση, Κορωνέικη, Αθηνολιά, Μεγαρίτικη, Κολοβή, Μανάκι

ABSTRACT

It is well known that the consumption of extra virgin olive oil in the context of a balanced and healthy diet can protect against many chronic and degenerative diseases. These properties are mainly due to the bioactive components of olive oil, such as biophenols, tocopherols and squalene. Although the chemical composition of olive oil is influenced by various factors, the olive variety gives unique characteristics to each oil. Therefore, the main purpose of this study was to determine the content of the aforementioned bioactive ingredients in monovarietal extra virgin olive oils produced and packaged in Greece, taking into account the limited number of published studies concerning mainly Spanish and Italian olive oils.

For this purpose, fourteen monovarietal extra virgin olive oils were purchased from the local market and online stores. Most samples of olive oil were derived from the variety *Koroneiki* (3 samples from Kalamata and 2 from Crete), while the rest were from the variety *Kolovi* (3 samples from Lesvos), *Athinolia* (2 samples from Laconia), *Megaritiki* (1 sample from Corinthia) and *Manaki* (2 samples from Argolida and 1 from Corinthia). Squalene was initially isolated using Solid Phase Extraction (SPE) and determined by liquid chromatography (HPLC-DAD). Tocopherols were determined by normal phase liquid chromatography with fluorescence detection (ISO method), while biophenols were determined according to the International Olive Oil (IOOC) method using a core-shell column to accelerate the process. At the same time, the antioxidant capacity of the oils was determined by the DPPH method.

According to the results, the squalene content ranged from 2,496 to 5,836 mg/kg, with the samples of *Koroneiki* (Kalamata) exhibiting the highest value, whereas the samples of *Kolovi* variety (Lesvos) the smallest one. Tocopherol levels ranged from 208 to 516 mg/kg, with the samples of *Megaritiki* (Korinthia) having the highest content and the samples of *Manaki* (Argolida) the smallest. The content of biophenols ranged from 108 to 230 mg/kg, with the samples of *Koroneiki* (Crete) accounting for the highest value and the samples of *Megaritiki* the smallest. Similar results were found for the antioxidant capacity of the oils which correlated linearly with biophenol content. Finally, olive variety was found to significantly affect the content of squalene, biophenols and antioxidant capacity (DPPH). On the contrary, the variety of olive does not seem to be a determining factor in the final levels of tocopherols in olive oil.

Keywords: monovarietal olive oil, squalene, biophenols, tocopherols, antioxidant activity, *Koroneiki*, *Athinolia*, *Megaritiki*, *Kolovi*, *Manaki*

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	10
ΕΙΣΑΓΩΓΗ	11
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1: Βοτανικά Γνωρίσματα της Ελιάς	12
1.1. Το Δέντρο της Ελιάς.....	12
1.2. Μορφολογικός Χαρακτήρας και Σύσταση Ελαιόκαρπου	13
1.3. Ελληνικές Ποικιλίες Ελιάς.....	13
1.4. Ξένες ποικιλίες Ελιάς.....	22
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2: Τεχνολογία Παραγωγής Ελαιολάδου	23
2.1. Παραγωγική Διαδικασία	23
2.2. Κατηγορίες Ελαιολάδου	28
2.3. Παγκόσμια Παραγωγή και Κατανάλωση Ελαιολάδου	30
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3: Χημική Σύσταση Ελαιολάδου	32
3.1. Σαπωνοποιήσιμα Συστατικά του Ελαιολάδου	33
3.2. Ασαπωνοποιήσιμα Συστατικά του Ελαιολάδου	34
3.3. Επίδραση των Συστατικών του Ελαιολάδου στην Υγεία του Ανθρώπου.....	41
3.4. Επίδραση της Ποικιλίας στα Βιοδραστικά Συστατικά του Παρθένου Ελαιολάδου	42
ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	45
ΣΚΟΠΟΣ	44
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4: Μεθοδολογία Πειραμάτων	46
Δείγματα Ελαιολάδων.....	46
4.1. Προσδιορισμός Σκουαλενίου	49
4.2. Προσδιορισμός Τοκοφερολών	54
4.3. Μεθοδολογία Προσδιορισμού Βιοφαινολών (HPLC-DAD)	58
4.4. Προσδιορισμός Αντιοξειδωτικής Ικανότητας με την Μέθοδο DPPH	63
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5: Αποτελέσματα και Συζήτηση	67
5.1. Αποτελέσματα Προσδιορισμού Σκουαλενίου.....	68
5.2. Αποτελέσματα προσδιορισμού α -Τοκοφερόλης.....	74

5.3. Αποτελέσματα Προσδιορισμού Βιοφαινολών	78
5.4. Αποτελέσματα Προσδιορισμού Ικανότητας Εξουδετέρωσης Ελευθέρων Ριζών (DPPH)	83
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 6: Συμπεράσματα	87
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	89
Ξένη Βιβλιογραφία	89
Ελληνική Βιβλιογραφία	99
Ιστοσελίδες	99

ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Ανάμεσα στα φυτικά έλαια, το παρθένο ελαιόλαδο (ΠΕ) και το εξαιρετικό παρθένο ελαιόλαδο (ΕΠΕ) έχουν διατροφικά και οργανοληπτικά χαρακτηριστικά που τα κάνουν μοναδικά και βασικά συστατικά της Μεσογειακής Διατροφής (Caramia *et al.*, 2012). Το ελαιόλαδο που ονομάστηκε από τον Homer και ως «υγρός χρυσός», έχει χρησιμοποιηθεί στη διάρκεια των αιώνων για την προληπτική του δράση και τις θεραπευτικές του ιδιότητες, καθώς και ως ένα πολύτιμο διατροφικό λιπιδικό συστατικό στη μαγειρική (Clodoveo *et al.*, 2014). Τα τελευταία χρόνια, το ελαιόλαδο έχει γίνει δημοφιλές και στους καταναλωτές της βόρειας Ευρώπης, των ΗΠΑ, του Καναδά και άλλων χωρών, παρόλο που αυτοί οι νέοι καταναλωτές δεν έχουν εμπειρισταωμένη γνώση πάνω στις ιδιότητες και τα χαρακτηριστικά αυτού του φυσικού προϊόντος (Boskou, 2011).

Τις τελευταίες τρεις δεκαετίες, έχουν γίνει πολλές έρευνες συσχέτισης των δευτερευόντων βιοδραστικών συστατικών στο ΠΕ/ΕΠΕ με την ποιότητα και την γνησιότητα, τα οφέλη για την υγεία και τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά (Aparicio, 1999). Μια άλλη εξίσου σημαντική πτυχή όμως είναι και η διακύμανση της ποσότητας των συστατικών στο ΠΕ/ΕΠΕ (μακρο- και μικροσυστατικά) που οφείλεται σε παράγοντες διαφορετικής προέλευσης (Aparicio *et al.*, 2013). Μερικοί από αυτούς τους παράγοντες είναι α) *οι αγρονομικές μεταβλητές* (συνθήκες περιβάλλοντος, γεωργικές και γεωγραφικές συνθήκες, μέθοδοι και χρονιά συγκομιδής, ελαιοκαλλιέργεια, ποικιλία, στάδιο ωρίμανσης ελιάς κατά τη διάρκεια της φάσης μετασχηματισμού), β) *οι τεχνολογικές μεταβλητές* (άλεση, μάλαξη και διαχωρισμός φάσεων), και δ) *οι παράμετροι αποθήκευσης/διανομής* (χρόνος, θερμοκρασία, φως, συσκευασία) (Gomez-Caravaca *et al.*, 2016; Romer *et al.*, 2016).

Λόγω της ποιότητας και της γνησιότητας του ΕΠΕ, υπάρχει μια εντατικοποίηση του ενδιαφέροντος των καταναλωτών για αυτό το προϊόν αλλά και για ορισμένες κατηγορίες όπως τα βιολογικά ελαιόλαδα, τα ελαιόλαδα με πιστοποιημένες γεωγραφικές ενδείξεις και ονομασίας προέλευσης και τα ελαιόλαδα που δηλώνουν ότι είναι μονοποικιλιακά (Di Vita *et al.*, 2013). Λαμβάνοντας υπόψη ότι οι καταναλωτές είναι πρόθυμοι να πληρώσουν υψηλότερες τιμές γι'αυτές τις κατηγορίες ελαιολάδων, η τιμή για τα προϊόντα αυτά είναι συχνά αξιοσημείωτα υψηλή, γεγονός που τους καθιστά επιρρεπείς σε υποτιμήσεις και πρακτικές παραπλανητικής συμπεριφοράς (Garcia *et al.*, 2013). Για οικονομικούς λόγους λοιπόν, το ΕΠΕ μπορεί να νοθευτεί με την προσθήκη φθηνότερων ελαίων, όπως για παράδειγμα με ραφιναρισμένα έλαια, με έλαια που έχουν απομείνει από άλλη παραγωγή, με συνθετικά προϊόντα ελαιολάδου-γλυκερίνης και με σπορέλαια (Gomez-Caravaca *et al.*, 2016). Επιπλέον, η εγγύηση της αυθεντικής και αξιόπιστης γεωγραφικής και ποικιλιακής προέλευσης του ελαιολάδου είναι ένα εξίσου σημαντικό θέμα (Dias *et al.*, 2014). Έτσι, προκειμένου να εξασφαλιστεί η ταυτοποίηση του ελαιολάδου, ερευνητές εργάζονται συνεχώς για την ανάπτυξη πιο ισχυρών, αποτελεσματικών, ευαίσθητων, ταχέων και οικονομικά αποδοτικών, αναλυτικών μεθοδολογιών για την εξασφάλιση της ποιότητας, της αυθεντικότητας, των γεωγραφικών χαρακτηριστικών και την προέλευση της ποικιλίας του ελαίου, προωθώντας την πρόσφατη τεχνολογική πρόοδο στο αναλυτικό πεδίο (Bajoub *et al.*, 2016).

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1: Βοτανικά Γνωρίσματα της Ελιάς

1.1. Το Δέντρο της Ελιάς

Η ονομασία του δέντρου της ελιάς στη συστηματική βοτανική είναι η *Olea europaea* και περιλαμβάνει πάνω από 25 γένη. Τα σπουδαιότερα από αυτά είναι *Olea*, *Syringa*, *Forsythia*, *Ligustrum*, *Fraxinus* και *Phillyrea*. Η προέλευση του όρου *Olea* είναι ελληνική. Η ελιά υπάγεται στην οικογένεια των ελαιιδών (*Oleaceae*), η οποία περιλαμβάνει γύρω στα 30 διαφορετικά είδη που είναι διασπαρμένα στις πέντε ηπείρους. Τα σπουδαιότερα από αυτά είναι τα εξής: 1) *Olea europaea*. L., υποείδος *euromediterranea*, 2) *Olea europaea*. L., υποείδος *cuspidata* Vall, Cif, 3) *Olea europaea*. L., υποείδος *laperrini* Batt και Trab, 4) *Olea chrysopylla* Lamk, 5) *Olea hochstetteri*, 6) *Olea somaliensis*, 7) *Olea subtrinervata*, 8) *Olea mssolinii*, 9) *Olea kilimandsharica*, 10) *Olea schliebeni*, 11) *Olea guineensis* και 12) *Olea excelsa*. Πολλά από τα ανωτέρω είδη απαντούν σε άγρια μορφή, συνήθως θαμνώδη με αγκάθια και πολύ μικρούς καρπούς ενώ το *Olea euromediterranea sativa* ή το *Olea sativa* Hoffm και Link είναι η καλλιεργούμενη ελιά, η οποία περιλαμβάνει ένα μεγάλο αριθμό βελτιωμένων ποικιλιών. Πολλοί βοτανικοί υποστηρίζουν πως το *Olea europaea* var. *oleaster* Hoffm και Link αποτελεί την πρωταρχική μορφή της ελιάς από την οποία προήλθε η καλλιεργούμενη ελιά *Olea europaea* var. *oleaster* Hoffm και Link (Μπαλατσούρας, 1994).

Από βοτανικής άποψης, η ελιά είναι ένα αειθαλές δέντρο ιδιαίτερα ανθεκτικό, που μπορεί να επιβιώσει σε περιοχές με ελάχιστες βροχοπτώσεις, ακόμη και με 220 mm βροχής το χρόνο, όπως είναι η ανατολική Κρήτη. Αναπτύσσεται και παράγει καρπό σε ξηροθερμικές περιοχές αλλά και σε πετρώδη, ασβεστολιθικά, άγονα εδάφη. Το ριζικό σύστημα των δέντρων αυτών φτάνει σε αρκετό βάθος και απλώνεται σε πολύ μεγάλη έκταση. Το δέντρο της ελιάς φτάνει σε πλήρη αναπαραγωγή ύστερα από 25-30 χρόνια, αλλά μπορεί να ζήσει για αιώνες, ακόμη περισσότερο και από 1000 χρόνια. Δεν ευδοκιμεί σε περιοχές όπου οι θερμοκρασίες το χειμώνα πέφτουν κάτω από -9°C (Κυριτσάκης, 2007).

Το ελαιόδεντρο, στην άγρια μορφή του, πρωτοεμφανίστηκε στην περιοχή μεταξύ της Συρίας και του Ιράν, ενώ κατά τον Almeida (1963) ο τόπος προελεύσεώς του είναι το Αφγανιστάν. Η καλλιέργεια του ελαιόδεντρου, βάση των θρύλων και των παραδόσεων, τοποθετείται πριν από 5.000-6.000 χρόνια στην περιοχή γύρω από τη λεκάνη της Ανατολικής Μεσογείου, αλλά και πέραν αυτής στις γειτονικές της χώρες, όπως η Μικρά Ασία, μέρος της Ινδίας, της Αφρικής και της Ευρώπης. Στη διάδοση της καλλιέργειας της ελιάς προς τη Δυτική Μεσόγειο πρωτοστάτησαν οι Φοίνικες, οι Έλληνες και οι Εβραίοι (Μπαλατσούρας, 2004).

1.2. Μορφολογικός Χαρακτήρας και Σύσταση Ελαιόκαρπου

Ο καρπός της ελιάς είναι δρύπη (πυρηνόκαρπο) με σχήμα ωοειδές που συχνά καταλήγει σε μυτερό άκρο. Ο ελαιόκαρπος χωρίζεται σε τρία κύρια μέρη, στο **επικάρπιο** (επιδερμίδα ή φλοιός), στο **μεσοκάρπιο** (σάρκα) και στο σκληρό και αποξηλωμένο **ενδοκάρπιο** (πυρήνας). Το επικάρπιο ή επιδερμίδα ή μεμβράνη, καλύπτει το 1,5-3,5% του βάρους του καρπού. Το μεσοκάρπιο ή σάρκα, καλύπτει το 70-90% του καρπού και τέλος το ενδοκάρπιο ή πυρήνας καλύπτει το υπόλοιπο μέρος του καρπού (Κυριτσάκης, 2007). Ο πυρήνας εξωτερικά φέρει γλυφές (αυλάκια), που μπορούν να διευκολύνουν τη διάκριση των διαφόρων ποικιλιών, ενώ εσωτερικά περικλείει το σπέρμα. Το σπέρμα αποτελείται από την επιδερμίδα, το ενδοσπέρμιο, τις κοτυληδόνες και το έμβρυο. Σύμφωνα με τον Fedeli (1977) η μέση χημική σύνθεση του ελαιόκαρπου είναι νερό 50%, υδατάνθρακες 19,1%, πρωτεΐνες 1,6%, κυτταρίνη 5,8%, λιπίδια 22% και τέφρα 1,5%.

1.3. Ελληνικές Ποικιλίες Ελιάς

Υπολογίζεται ότι οι ποικιλίες ελιάς που καλλιεργούνται σε όλο τον κόσμο σε μικρή ή μεγάλη έκταση φθάνουν τις 600, δηλαδή έναν αριθμό ρεκόρ που σπάνια είδη του φυτικού βασιλείου έχουν να επιδείξουν. Ασυνήθιστα μεγάλος είναι ο αριθμός ποικιλιών ελιάς στην Ιταλία που έφθαναν κατά το Λύχνο τις 150 και κατά τον Morettini σε παλαιότερή του περιγραφή τις 280 ενώ σε μεταγενέστερα συγγράμματα της ιταλικής ελαιοκομίας περιορίστηκαν στις 100 περίπου ποικιλίες (Μπαλατσούρας, 1994).

Για τον πετυχημένο χαρακτηρισμό των ποικιλιών ελιάς και για την μεταξύ τους διάκριση, το 8^ο Διεθνές Συνέδριο Ελαιοκομίας στην Ισπανία το 1950, θέσπισε ένα σύνολο μορφολογικών χαρακτήρων όπως του δέντρου, της δρύπης, των φύλλων, της ανθοταξίας, του ενδοκαρπίου, του σπέρματος και τα εκατοστιαία ποσοστά του μεσοκαρπίου, του ενδοκαρπίου και του σπέρματος.

Στην Ελλάδα με την ταξινόμηση της ελιάς ασχολήθηκε αρχικά ο αείμνηστος καθηγητής της Δεντροκομίας Π. Αναγνωστόπουλος το 1940 (Αναγνωστόπουλος, 1940) που χρησιμοποίησε σαν κριτήριο το μέγεθος (βάρος) του καρπού και διέκρινε τις 38 ποικιλίες σε μικρόκαρπες (καρπός>2g), μεσόκαρπες (2<καρπός<3) και σε αδρόκαρπες (3,5g<καρπός). Συμπληρωματικά, χρησιμοποίησε τα γνωρίσματα των φύλλων, των καρπών, του βλαστού, των ανθέων, των πυρήνων και τη σχέση της σάρκας προς τον πυρήνα (Παπαναστασίου, 1966).

Αργότερα ο Ν. Λύχνος (Λύχνος, 1948) βασίστηκε για την κατάταξη των ελληνικών ποικιλιών ελιάς σε χαρακτηριστικά του πυρήνα και των φύλλων, που επηρεάζονται ελάχιστα από τους περιβαλλοντικούς παράγοντες και παραμένουν πρακτικά σταθερά. Ταξινόμησε συνολικά 42 ποικιλίες και τις διέκρινε σε:

- ✓ Μικροπύρηνες με βάρος πυρήνα 0,16-0,35 g
- ✓ Μεσοπύρηνες με βάρος πυρήνα 0,35-0,65 g
- ✓ Μακροπύρηνες με βάρος πυρήνα 0,65- 1,3 g

Στην πορεία, δημιουργήθηκαν ερωτήματα όπως αν οι παραπάνω χαρακτήρες είναι συνδεδεμένοι με την ποικιλία ή και με τα δέντρα ατομικά σε κάθε περίπτωση και αν το εκάστοτε περιβάλλον μέσα στο οποίο αναπτύσσεται μια ποικιλία ελιάς μπορεί να επηρεάσει το φαινότυπό της. Τέτοια ερωτήματα θα μπορούσαν να βρουν απάντηση με τη μελέτη βιοχημικών χαρακτήρων των ποικιλιών, δηλαδή χαρακτήρων ελεγχόμενων από το μηχανισμό κληρονομικότητας που δεν στηρίζονται σε φαινομενικά χαρακτηριστικά και είναι άμεσα προϊόντα της δράσης των γόνων.

Σχετική έρευνα πραγματοποιήθηκε για την ταυτοποίηση 27 καλλιεργούμενων ποικιλιών με την εφαρμογή ηλεκτροφορητικής τεχνικής για τη μελέτη 16 ενζυμικών πολυμορφισμών τους (Pontikis *et al.*, 1980; Loukas & Pontikis, 1981). Το βιολογικό υλικό που χρησιμοποιήθηκε ήταν κόκκοι γύρης. Για την ανίχνευση τυχόν γενετικής ποικιλομορφίας εντός των καλλιεργούμενων ποικιλιών, δείγματα ποικιλιών από διαφορετικές περιοχές της χώρας μας, μελετήθηκαν για τα 16 ενζυμικά συστήματα. Όλα τα δείγματα καθεμιάς ποικιλίας, ανεξάρτητα περιοχής προελεύσεως, έδωσαν τους ίδιους ηλεκτοφορητικούς φαινοτύπους, δείχνοντας ότι δεν υπάρχει γενετική ποικιλομορφία εντός των καλλιεργούμενων ποικιλιών ελιάς. Από τις 27 ποικιλίες, οι 20 έδωσαν μοναδικούς ηλεκτροφορητικούς φαινοτύπους για ένα τουλάχιστον ενζυμικό σύστημα. Με τόσο αξιόλογα αποτελέσματα τα τελευταία χρόνια χρησιμοποιείται με επιτυχία η βιοχημική μέθοδος πολυμορφισμού DNA με τυχαιοποιημένους εκκινητές (Random Amplified Polymorphic DNA) για την διάκριση των ποικιλιών της ελιάς (Bogani *et al.*, 1994).

Σύμφωνα με τα τελευταία δεδομένα (Therios, 2009), τα κριτήρια για την ταξινόμηση των ποικιλιών ελιάς είναι τα ακόλουθα:

- Ύψος δέντρου ελιάς
- Χαρακτηριστικά φύλλων και ταξιανθών
- Χαρακτηριστικά καρπών (σχήμα, χρώμα, μέγεθος, ποσοστά σάρκας και πυρήνα, αναλογία σάρκας : πυρήνα, σχήμα πυρήνα και καρπού, ποσοστό ελαίου)
- Πρωιμότητα και παραγωγικότητα
- Αντοχή σε παράσιτα και ασθένειες
- Προσαρμοστικότητα στις εδαφοκλιματικές συνθήκες
- Χρήση δεικτών DNA για τον διαχωρισμό των ποικιλιών

Ο Μπαλατσούρας στο σύγγραμμά του (1994) διακρίνει τις ποικιλίες της ελιάς στηριζόμενος στη βιβλιογραφία του Αναγνωστόπουλου (1940), σε:

- ✓ Μικρόκαρπες με βάρος καρπού έως και 2 g
- ✓ Μεσόκαρπες με βάρος καρπού κυμαινόμενο από 2 έως 3,5 g και σε

- ✓ Αδρόκαρπες με βάρος καρπού μεγαλύτερο από 3,5 g

Ενώ ο Ποντίκης (2000) επίσης στηριζόμενος στη βιβλιογραφία του κ. Αναγνωστόπουλου, 1940, σε:

- ✓ Μικρόκαρπες με βάρος καρπού από 1,2 έως 2,6 g
- ✓ Μεσόκαρπες με βάρος καρπού από 2,7 έως 4,2 g και σε
- ✓ Αδρόκαρπες με βάρος καρπού μεγαλύτερο από 4,3 έως 10,5 g

Συνοπτικά παρουσιάζονται στον παρακάτω **Πίνακα 1** οι Ελληνικές Ποικιλίες στην επικράτεια της χώρας:

Πίνακας 1: Οι Ελληνικές ποικιλίες

Ποικιλίες	Συνώνυμα	Περιοχές Καλλιέργειας	Μέσο Βάρος Καρπού και Πυρήνα	Περιεκτικότητα σε Ελαιόλαδο
Μικρόκαρπες				
Αγριελιά	-		Καρπός: ~1,14 g Πυρήνας: ~0,3 g	10%-20%
Κορωνέικη	Βάτσικη, Κρητικιά, Κορωνιά, Κορώνι, Λαδολιά, Λιανολιά, Ψιλολιά	Στους νομούς Μεσσηνίας, Λακωνίας, Αχαΐας, Αιτωλοακαρνανίας, Κεφαλληνίας, Ζακύνθου, Σάμου, Κυκλάδων, Χανίων, Ρεθύμνου, Ηρακλείου και Λασιθίου.	Καρπός: ~1,3 g Πυρήνας: ~0,17 g	~27%
Κουτσουρελιά (Olea europaea var. 15astoids or microphylla)	Κουτσουλιέρα, Λαδολιά, Λιανολιά, χονδρή, Λιανολιά ψιλή, Ντόπια, Πατρινή, Πατρινιά	Στους νομούς Κορινθίας, Λακωνίας, Αχαΐας, Αιτωλοακαρνανίας	Καρπός: ~1,2 g Πυρήνας: ~0,2 g	≤ 25%
Λιανολιά Κέρκυρας (Olea europaea var. Craniomorpha)	Κορφολιά, Λαδολιά, Νερολιά, Πρεβεζάνα, Σουβλολιά, Στυφυτολιά	Στο νομό Κερκύρας και σε μικρότερη έκταση στους νομούς Ζακύνθου, Κεφαλληνίας, Λευκάδας, Πρεβέζης, Θεσπρωτίας	Καρπός: ~2,3 g Πυρήνας: ~0,27 g	19-22%
Μαστοειδής (O. europaea var. mamilaris) ή Τσουνάτη (Olea	Αθηνολιά, Μαστολιά, Μαστολιά, Μουρατολιά,	Στους νομούς Λακωνίας, Αρκαδίας (περιοχή Μεγαλοπόλεως),	Καρπός: ~2,6 g Πυρήνας: ~0,37 g	~20%

europaea var. mamilaris subvar. Minima)	Τσουνάτη, Πιτσαδέικη	Μεσσηνίας (άνω Μεσσηνία), Ρεθύμνης και Χανίων της Κρήτης		
Θιακή	Ανωησάνα, Θιακό, Πλεξιδένια, Ντόπια	Στο νομό Κερκύρας (περιοχή Ιθάκης) και σποραδικά στο νομό Κεφαλληνίας	Καρπός: ~1,6 g Πυρήνας: ~0,23 g	~21%
Μυρτολιά	Μεθωνιά και Μουρατολιά	Κυρίως στους νομούς Λακωνίας και Λασιθίου	Καρπός: ~0,32 g Πυρήνας: -	~19%
Τραγολιά	Νερολιά	Σποραδικά στους νομούς Μεσσηνίας και Κεφαλληνίας	Καρπός: ~2,4 g Πυρήνας: ~0,34 g	~27,5%
Ασπρολιά	Λευκόκαρπος	Δεν έχει συγκεκριμένες περιοχές	Καρπός: ~0,6 g Πυρήνας: ~0,17 g	~12,5%
Μελολιά	-	Σποραδικά στο νομό Κερκύρας	Καρπός: ~2,4 g Πυρήνας: ~0,4 g	~12%
Χρυσολιά	-	Δεν έχει συγκεκριμένες περιοχές	Καρπός: ~0,45 g Πυρήνας: ~0,20 g	-
Μεσόκαρπες				
Αγουρομανακολιά	Αγουρομανάκο και Αγουρομανάκι	Στους νομούς Αργολίδος, Κορινθίας και Αρκαδίας	Καρπός: ~3,3 g Πυρήνας: ~0,47 g	~30%
Γαλατσάνικη	του Αγίου Όρους ή Γαλατιστή	Άγιο Όρος	-	20%
Αδραμυττινή ή Αδραμυτιανή (Olea europaea var. med. subvar. otunda)	Αϊβαλιώτικη, Μυτιληνιά, Καγδαγλίτισσα, Περαϊκή, Φραγκολιά	Στον νομό Λέσβου	Καρπός: ~3,5 g Πυρήνας: ~0,54 g	~23%
Βαλανολιά ή Κολοβή (Olea europaea var. pyriformis)	Βαλάνα, Μυτιληνιά και Κολοβή	Στους νομούς Λέσβου, Χίου και Ευβοίας (νήσο Σκύρο)	Καρπός: - Πυρήνας: ~0,65 g	~25%
Θρουμπολιά (ή Θρούμπα)	Ασκούδα, Θασίτικη, Λαδολιά, Ντόπια, Ξανθολιά, Ρεθυμνιώτικη και Χονδρολιά	Στους νομούς Χανίων, Ρεθύμνης, Λασιθίου, Ηρακλείου καθώς και στη νήσο Θάσο	Καρπός: ~3,3 g Πυρήνας: ~0,653 g	≤ 28%
Μεγαρίτικη (Olea europaea var. argentata)	Βοβωδίτικη, Περαχωράτικη, Χονδρολιά βοβώδης και Λαδολιά	Στους νομούς Αττικής, Βοιωτίας και σποραδικά στους νομούς Κορινθίας, Αχαΐας, Αργολίδος, Αρκαδίας (περιοχή	Καρπός: ~4,2 g Πυρήνας: ~0,42 g	21-25%

		Κυνουρίας), Ευβοίας, Φθιώτιδος, Μαγνησίας		
Πικρολιά	-	Νομός Κέρκυρας	Καρπός:~3,2 g Πυρήνας:~0,33 g	~11%
Καλοκαιρίδα	-	Νομός Κέρκυρας	Καρπός:~3,2 g Πυρήνας:~0,37 g	~22%
Δαφνελιά	Δαφνόκαρπος, Σιφνέικη, Ντόπια	Στους νομούς Σάμου, Χίου και Κυκλάδων	Καρπός:~2,7 g Πυρήνας: -	~19%
Θασίτικη	Θάσου, Θρούμπα ή Θρουμπολιά	Νήσος Θάσος	-	20%
Αδρόκαρπες				
Αμυδαλολιά (Olea europaea var. amygdaliformis)	Αμυγδαλοραχάτη, Ισπανική, Κουρομύτα, Στραβομύτα	Στους νομούς Αττικής και Φωκίδος	Καρπός:~8,4 g Πυρήνας:~0,73 g	~22%
Βασιλικάδα	Βασιλική, Ισπανική, Κολοκυθάτη, Ροβιάτικη, Σελέρνειος	Στο νομό Κερκύρας και σποραδικά στους νομούς Ευβοίας και Χαλκιδικής	Καρπός:~6 g Πυρήνας:~0,7 g	~16%
Γαϋδουρελιά (Olea europaea var. major macrocarpa)	Αδρόκαρπος, Δαμασκηνάτη, Κορομηλολιά, Ισπανική και Παλαμάρα	Σποραδικά σε όλες τις ελαιοπαραγωγικές περιοχές της χώρας	Καρπός:~10,5 g Πυρήνας:~0,98 g	~17%
Καρολιά (Olea europaea var. makima)	Καρούλα και Στραβολιά	Σποραδικά στους νομούς Λέσβου, Κερκύρας και Ζακύνθου	Καρπός:~7,6 g Πυρήνας:~0,86 g	~17%
Καρυδολιά ή Χονδρολιά Χαλκιδικής	Καρυδοραχάτη, Κολυμπάδα, Κολυμπάτη, Απολυτή, Χαλκιδικής και Κωνική	Κυρίως στο νομό Χαλκιδικής και σποραδικά στους νομούς Φωκίδος, Αττικής και Ευβοίας	Καρπός:~5,8 g Πυρήνας:~0,7 g	~14%
Καλαμών (Olea europaea var. ceraticarpa calamata)	Αετονύχι, Αετονυχολιά, Καλαματιανή, Κορακολιά, Τσιγκέλι, Τσιγκελοελιά και Χονδρολιά	Κυρίως στους νομούς Μεσσηνίας, Λακωνίας, Αιτωλοακαρνανίας και Φθιώτιδος	Καρπός:~5,6 g Πυρήνας:~0,6 g	~17%
Κοθρέϊκη (Olea europaea var. minor rotunda)	Κορινθιακή, Γλυκομανάκι, Γλυκομανακολιά, Μανάκι και	Κυρίως στους νομούς Αργολίδος, Κορινθίας, Αρκαδίας (περιοχή	Καρπός:~4,7 g Πυρήνας:~0,7 g	~20%

	Μανακολιά	Κυνουρίας), Φωκίδος και Φθιώτιδος		
Κονσερβολιά (Olea europaea var. med. rotunda)	Αγρινίου, Αμφίσσης, Αρτας, Βόλου, Βολιώτικη, Βοϊδολιά, Εμπορεύσιμη, Κορομηλάτη, Μηλολιά, Ξηροχωρίου, Πατρινή, Πηλίου, Στρογγυλολιά και Χονδρολιά	Στους νομούς Φωκίδος, Φθιώτιδος, Άρτης, Ευβοίας, Μαγνησίας, Λαρίσης και Αχαΐας	Καρπός: ~5,7 g Πυρήνας: ~0,51 g	~16%
Κολυμπάδα	Καρυδολιά, Κολυμπάτη, Μηλολιά και Στρουμπολολιά	Στους νομούς Αττικής, Κυκλάδων, Μεσσηνίας και Ευβοίας	Καρπός: ~6 g Πυρήνας: ~1,15 g	~19%
Στρογγυλολιά	Γαλανή, Πρασινολιά, Στρογγυλοραχάτ η και Μηλολιά	Νομός Χαλκιδικής	Καρπός: ~4,6 g Πυρήνας: ~0,6 g	~16%

Παρακάτω παρατίθενται αναλυτικές πληροφορίες για τις σημαντικότερες ελαιοποιήσιμες ποικιλίες ελιάς της χώρας:

1.3.1. Μικρόκαρπες

Κορωνέικη (Olea europaea var. microcarpa alba)

Η Κορωνέικη φέρει και τις συνωνυμίες: Βάτσικη, Κρητικιά, Κορωνιά, Κορώνι, Λαδολιά, Λιανολιά, και Ψιλολιά. Καλλιεργείται κυρίως στους νομούς Μεσσηνίας, Λακωνίας, Αχαΐας, Αιτωλοακαρνανίας, Κεφαλληνίας, Ζακύνθου, Σάμου, Κυκλάδων, Χανίων, Ρεθύμνου, Ηρακλείου και Λασιθίου. Όπως υποδεικνύει το όνομα, η Κορωνέικη ποικιλία προήλθε από την περιοχή της Κορώνης, μια ιστορική πόλη της Μεσσηνίας και είναι μακράν η κυρίαρχη ποικιλία σε ποσοστό άνω του 95% που καλλιεργείται σε όλη τη Μεσσηνία (Therios, 2009). Αυτή είναι η κυρίαρχη ελληνική ποικιλία, καθώς πάνω από το 60% του ελληνικού ελαιολάδου είναι από αυτή την ποικιλία (Monteleone et Langstaff, 2014). Αναπτύσσεται σε δέντρο ύψους 5-7 μέτρων. Τα φύλλα της είναι βαθυπράσινα μήκους $5,47 \pm 0,52$ cm και πλάτους $1,03 \pm 0,12$ cm. Ο καρπός έχει σχήμα κυλινδροκωνικό, μέσο βάρος 1,3 g και φέρει μικρή θηλή. Η σχέση σάρκας προς πυρήνα του καρπού είναι 6.6:1. Ο πυρήνας έχει σχήμα ωοειδές-κυλινδροκωνικό, μέσο βάρος 0,17 g και φέρει οξεία ακίδα στην άκρη και επτά αβαθείς γλυφές. Η περιεκτικότητα του καρπού σε λάδι φτάνει μέχρι 27%. Χρησιμοποιείται αποκλειστικά για την παραγωγή λαδιού εκλεκτής ποιότητας.

Το φρέσκο λάδι ανεξαρτήτως οξύτητας, προκαλεί αίσθηση καψίματος κατά τη βρώση του, ιδιότητα που οφείλεται στις φαινολικές ενώσεις οι οποίες μειώνονται κατά την πάροδο του χρόνου και κατ'επέκταση εξαλείφεται η παραπάνω αίσθηση. Μπορεί όμως και να εξαλειφθεί ή να μην γίνεται αισθητή στο φρέσκο λάδι αν ο καρπός της κατά την ελαιοποίηση αναμειχθεί με καρπό άλλης ποικιλίας. Θεωρείται ποικιλία πολύ παραγωγική και ανθεκτική στις ξηροθερμικές περιοχές της χώρας αλλά αρκετά ευαίσθητη στο *Dacus oleae*, *Euphyllura olivina*, *Pseudomonas savastanoi* και στις επιθέσεις από ριנגίτες.

Μαστοειδής (*O. europaea* var. *mamilaris*) ή Τσουνάτη (*Olea europaea* var. *mamilaris* subvar. *minima*)

Η Μαστοειδής φέρει και τις συνωνυμίες: Αθηνολιά, Ματσολιά, Μαστολιά, Μουρατολιά, Τσουνάτη, Πιτσαδέικη. Καλλιεργείται κυρίως στους νομούς Λακωνίας, Αρκαδίας (περιοχή Μεγαλόπολεως), Μεσσηνίας (άνω Μεσσηνία), Ρεθύμνης και Χανίων της Κρήτης. Αναπτύσσεται σε δέντρο ύψους 6-8 μέτρων. Τα φύλλα της είναι ανοιχτοπράσινα μήκους $6,18 \pm 0,67$ cm και πλάτους $1,18 \pm 0,13$ cm. Ο καρπός έχει σχήμα ωοειδές, μέσο βάρος 2,6 g και φέρει θηλή. Η σχέση σάρκας προς πυρήνα του καρπού είναι 6/1. Ο πυρήνας έχει σχήμα ωοειδές έως κυλινδροκωνικό, μέσο βάρος 0,37 g και φέρει ακίδα στην άκρη και δέκα αβαθείς γλυφές. Η περιεκτικότητα του καρπού σε λάδι κυμαίνεται γύρω στο 20%. Χρησιμοποιείται κυρίως για την παραγωγή λαδιού εκλεκτής ποιότητας. Θεωρείται ποικιλία ανεκτική στο ψύχος.

1.3.2. Μεσόκαρπες

Βαλανολιά ή Κολοβή (*Olea europaea* var. *pyriformis*)

Η Βαλανολιά φέρει και τις συνωνυμίες: Βαλάνα, Μυτιληνιά και Κολοβή. Καλλιεργείται στους νομούς Λέσβου, όπου αποτελεί το 70% των ελαιώνων αυτού, Χίου και Ευβοίας (νήσο Σκύρο). Αναπτύσσεται σε δέντρο ύψους 6-8 μέτρων. Τα φύλλα της είναι βαθυπράσινα μήκους $6,21 \pm 0,72$ cm και πλάτους $1,24 \pm 0,11$ cm. Η σχέση σάρκας προς πυρήνα του καρπού είναι 4,9/1. Ο πυρήνας έχει σχήμα παρόμοιο με τον καρπό, μέσο βάρος 0,65 g και φέρει εννιά αβαθείς γλυφές. Η περιεκτικότητα του καρπού σε λάδι κυμαίνεται γύρω στο 25%. Χρησιμοποιείται κυρίως για την παραγωγή λαδιού εκλεκτής ποιότητας και μόνο εν μέρει για το πάστωμα πράσινης και μαύρης επιτραπέζιας ελιάς. Θεωρείται μία από τις καλύτερες ποικιλίες και είναι ευαίσθητη στο *Cycloconium*.

Μεγαρίτικη (*Olea europaea* var. *argentata*)

Η Μεγαρίτικη φέρει και τις συνωνυμίες: Βοβωδίτικη, Περαχωράτικη, Χονδρολιά βοβώδης και Λαδολιά. Καλλιεργείται κυρίως στους νομούς Αττικής, Βοιωτίας και σποραδικά στους νομούς Κορινθίας, Αχαΐας, Αργολίδος, Αρκαδίας (περιοχή Κυνουρίας), Ευβοίας, Φθιώτιδος, Μαγνησίας. Αναπτύσσεται σε δέντρο πλαγιόκλαδο ύψους 5-8 μέτρων. Τα φύλλα της είναι πράσινα μήκους $6,64 \pm 0,59$ cm και πλάτους $0,93 \pm 0,13$ cm. Ο καρπός έχει σχήμα κυλινδροκωνικό με τη μια πλευρά κυρτωμένη, μέσο βάρος 4,2 g και φέρει θηλή. Η σχέση σάρκας προς πυρήνα του καρπού είναι 9/1. Ο πυρήνας έχει σχήμα ροπαλοειδές, λεπτό προς τη βάση του, με τη μια πλευρά κυρτωμένη, μέσο βάρος 0,42 g και φέρει δέκα αβαθείς γλυφές. Η περιεκτικότητα του καρπού σε λάδι κυμαίνεται γύρω στο 21% ενώ σε άλλες αναφορές το ποσοστό φτάνει έως και 25%. Χρησιμοποιείται κυρίως για την παραγωγή λαδιού καλής ποιότητας και για την παραγωγή επιτραπέζιων ελιών (πράσινες τσακιστές και μαύρες πατητές). Θεωρείται ποικιλία παραγωγική και ανεκτική στο ψύχος. Έχει χαμηλή ανοχή στα *Aspidiotus hederae*, *Parlatoria oleae* και *Saissetia oleae*, μέτρια ανοχή στην αλατότητα και στο *Verticillium dahliae* και υψηλή ανοχή στην ξηρασία.

1.3.3. Αδρόκαρπες

Καρυδολιά ή Χονδρολιά Χαλκιδικής

Η Καρυδολιά φέρει και τις συνωνυμίες: Καρυδοραχάτη, Κολυμπάδα, Κολυμπάτη, Απολυτή, Χαλκιδικής και Κωνική. Καλλιεργείται κυρίως στο νομό Χαλκιδικής και σποραδικά στους νομούς Φωκίδος, Φθιώτιδος, Αττικής και Ευβοίας. Αναπτύσσεται σε δέντρο ύψους 5-8 μέτρων. Τα φύλλα της είναι ανοιχτοπράσινα μήκους $6,94 \pm 0,63$ cm και πλάτους $1,4 \pm 0,17$ cm. Ο καρπός έχει σχήμα κυλινδροκωνικό, μέσο βάρος 5,8 g και φέρει θηλή και δύο ράχες αντίθετες καθ' όλο το μήκος του καρπού. Η σχέση σάρκας προς πυρήνα του καρπού είναι 6,6/1. Ο πυρήνας έχει σχήμα κυλινδροκωνικό με τη μια πλευρά κυρτωμένη, μέσο βάρος 0,7 g και φέρει ακίδα στην κορυφή και δέκα αβαθείς γλυφές. Οι καλύτεροι επικονιαστές αυτής της ποικιλίας είναι η Αμφίσσης, η Μεγαρίτικη, η Κορωνέικη, η Μαντζανίλο και η Γκόρνταλς. Η περιεκτικότητα του καρπού σε λάδι κυμαίνεται γύρω στο 14%. Χρησιμοποιείται κυρίως για την παρασκευή κονσερβών γεμιστών (με αμύγδαλο ή τσίλι) πράσινων και μαύρων ελιών καλής ποιότητας. Το υπόλοιπο προϊόν ακατάλληλο για επεξεργασία χρησιμοποιείται για το παραγωγή ελαιολάδου. Θεωρείται ποικιλία παραγωγική και ανεκτική στο ψύχος αλλά πολύ ευαίσθητη στο *Dacus oleae*.

Κοθρέϊκη (*Olea europaea* var. *minor rotunda*)

Η Κοθρέϊκη φέρει και τις συνωνυμίες: Κορινθιακή, Γλυκομανάκι, Γλυκομανακολιά, Μανάκι και Μανακολιά. Καλλιεργείται κυρίως στους νομούς Αργολίδος, Κορινθίας, Αρκαδίας (περιοχή

Κυνουρίας), Φωκίδος και Φθιώτιδος. Αναπτύσσεται σε δέντρο ύψους 5-7 μέτρων. Τα φύλλα της είναι βαθυπράσινα μήκους $5,68 \pm 0,65$ cm και πλάτους $1,36 \pm 0,17$ cm. Ο καρπός έχει σχήμα ωοειδές ή σφαιρικό, σάρκα συνεκτική και μέσο βάρος 4,7 g. Η σχέση σάρκας προς πυρήνα του καρπού είναι 5,7/1. Ο πυρήνας έχει σχήμα κυλινδρικό, μέσο βάρος 0,7 g και φέρει ακίδα στην κορυφή και επτά αβαθείς γλυφές. Η περιεκτικότητα του καρπού σε λάδι κυμαίνεται γύρο στο 20%. Χρησιμοποιείται κυρίως για την παραγωγή λαδιού καλής ποιότητας και για την παρασκευή μαύρων κονσερβών. Εκτιμάται για την παραγωγή βρώσιμων ελιών σε περιοχές που ευδοκίμει η Κονσερβολιά. Θεωρείται ποικιλία ανθεκτική στο ψύχος και μπορεί να αναπτυχθεί μέχρι και στα 800 μέτρα ύψος.

1.3.4. Διάκριση με Βάση τη Χρήση τους

Επιτραπέζιες

Ο καρπός χρησιμοποιείται για επιτραπέζια κατανάλωση. Μερικές από τις πιο εμπορικές ποικιλίες είναι η Κονσερβολιά, που είναι η κυριότερη εγχώρια επιτραπέζια ελιά με ποσοστό στην ολική παραγωγή 80-85%, η Νυχάτη Καλαμών με περιορισμένη διάδοση και η Χαλκιδικής ή Γαιδουρολιά, που καλλιεργείται σχεδόν αποκλειστικά στην Χαλκιδική.

Ελαιοποιήσιμες

Ο καρπός χρησιμοποιείται για την παραγωγή ελαιολάδου. Οι πιο γνωστές είναι η Κορωνέικη, η Λιανολιά Κέρκυρας (ή Λαδολιά, Πρεβεζάνα, Νερολιά κλπ.), η οποία καλλιεργείται κυρίως στους Παξούς και την Κέρκυρα και είναι απαιτητική σε υγρασία, αλλά δίνει καλής ποιότητας ελαιόλαδο, η Αγουρομανακολιά, που δίνει εξαιρετικής ποιότητας λάδι και είναι πολύ ανθεκτική στο ψύχος, η Βαλανολιά (Κολοβή), καλλιεργείται κυρίως στην Μυτιλήνη και πρόκειται για μία από τις καλύτερες ελαιοποιήσιμες ποικιλίες και η Τσουνάτη, που παράγει αρκετό λάδι υψηλής ποιότητας, είναι ανθεκτική στο ψύχος και καλλιεργείται κυρίως στην Λακωνία και την Κρήτη.

Διπλής χρήσης

Ο καρπός χρησιμοποιείται είτε για παραγωγή ελαιολάδου ή επιτραπέζιων ελιών. Οι πιο γνωστές εμπορικές ποικιλίες είναι η Μεγαρίτικη, που είναι η πιο ανθεκτική στην ξηρασία ποικιλία και αποδίδει πολύ καλά στην Αττική και την Βοιωτία, η Κοθρέικη, η οποία καλλιεργείται κυρίως στη Φωκίδα και δίνει τελικό προϊόν εξαιρετικό σε χρώμα και οργανοληπτικές ιδιότητες, η Καρυδολιά, που θεωρείται κλώνος της Κονσερβολιάς και σχεδόν αποκλειστικά καλλιεργείται στη Εύβοια και τέλος η Θρουμπολιά, με το ιδιαίτερο χαρακτηριστικό να ξεπικρίζει αυτόματα ο καρπός πάνω στο δένδρο κατά το στάδιο της ωρίμανσης (Μπαλατσούρας, 1994; Ποντικής, 2000).

1.4. Ξένες ποικιλίες Ελιάς

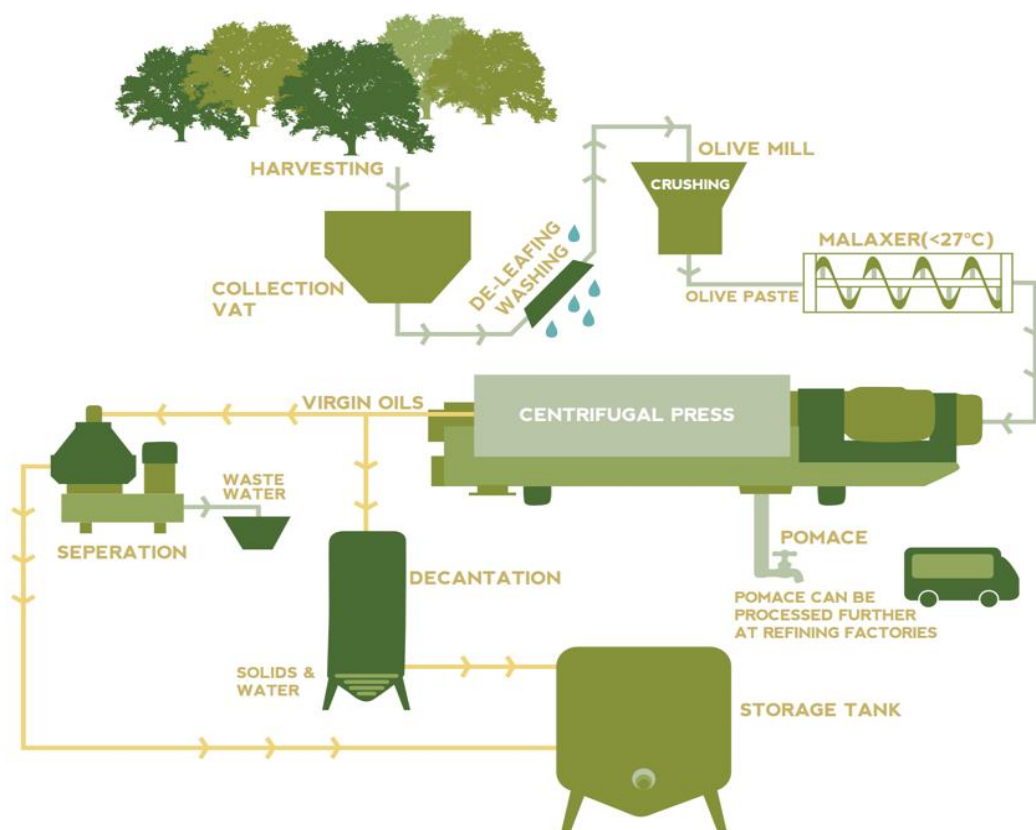
Περίπου 1275 ποικιλίες ελαιόδεντρων καλλιεργούνται στον κόσμο (Bertolini et al., 1998). Ωστόσο, ο αριθμός είναι πολύ μικρότερος όταν η σημασία των ποικιλιών αναλύεται λαμβάνοντας υπόψη τις παραμέτρους όπως η παραγωγή και η κατανάλωση. Πολλές ποικιλίες παράγουν μερικές εκατοντάδες εκατόλιτρα ελαιολάδου, ενώ αυτό από άλλες ποικιλίες πωλείται σε μικρή γεωγραφική περιοχή και καταναλώνονται κυρίως τοπικά. Έτσι μόνο λίγες δεκάδες από μονοποικιλιακά ελαιόλαδα είναι οικονομικά ενδιαφέροντα αν και οι άλλοι τύποι δεν στερούνται επιστημονικού ενδιαφέροντος (Aparicio et Luna, 2002).

Πίνακας 2: Ενδεικτικές ποικιλίες ελιάς σε διάφορες χώρες του κόσμου

Χώρα	Ποικιλίες
Ισπανία	Picual, Hojiblanca (Nevadilla blanca), Arbequine, Cornicabra (Mora de Toledo), Verdial (Verdal), Negral
Ιταλία	Frantoio (Frantoiano, Correglio, Razzo), Moraiolo, Coratine (Racioppa, Rocema), Leccino (Leccio)
Γαλλία	Angladean, Araban, Colombale, Verdale, Saurin, Triparde κτλ.
Τουρκία	Ayvalik, Cakir
Λίβανος	Soury (Beladi, Ayroumi, Bayadi), Beladi (Bayadi, Khoudri, Zeitou), Ayrouni (Souri Bizri, Soummaki), Chamy, Smoukmoki
Πορτογαλία	Galaga, Verdal, Carrasquenha
Αλγερία	Chemlal, Azeradj (Adjeraz), Limli (Imeli, Limeli), Bouchouk
Τυνησία	Chemlali (Sahali), Chetoui (Chitoui), Ouslati (El-Ala, El-Horr), Gerboua, Zarazi, Zammati, Chemlali de Djerba
Μαρόκο	Picholine Marocaine
Ισραήλ	Souri, Malissi
Συρία	Kderie, Temrani, Douebli, Dermlali, Minekiri, Safraoui, Sourani, Dan, Massabi, Taffahi
Αργεντινή	Arbeguine, Frantoio, Leccino, Empeltre, Liguria
Αυστραλία	Manzanella, Verdial
Λιβύη	Enduri, Pasli, Zarazi, Frantoio, Moraiolo, Leccino, Maurino, Ouslati
Ηνωμένες Πολιτείες Αμερικής	Nevadillo blanco, Picholine
Χιλή	Huaso, Liguria, Empeltre

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2: Τεχνολογία Παραγωγής Ελαιόλαδου

2.1. Παραγωγική Διαδικασία



Εικόνα 1: Σχεδιάγραμμα Παραγωγικής Διαδικασίας Ελαιολάδου (*Oliveoilaustralia.com*)

Στην παραπάνω **Εικόνα 1** φαίνεται παραστατικά μια ενδεικτική παραγωγική διαδικασία ελαιολάδου που λαμβάνει χώρα σε ένα ελαιοτριβείο. Τα στάδια της παραγωγής αναλύονται παρακάτω:

2.1.1. Παραλαβή του Καρπού

Μετά τη συγκομιδή οι ελιές παραδίδονται στις μεταποιητικές μονάδες για επεξεργασία το ταχύτερο δυνατόν. Η μεταφορά τους γίνεται σε πλαστικά τελάρα (κλούβες) με οπές αερισμού ή πλαστικούς σάκους. Σε περίπτωση που χρειάζεται να αποθηκευτεί ο καρπός θα πρέπει να είναι για μικρό χρονικό διάστημα σε χώρο με καλό αερισμό διότι διαφορετικά πρόκειται να συμβεί υδρολυτική τάγγιση με μετατροπή των τριακυλογλυκερολών σε γλυκερόλη και λιπαρά οξέα που έχει ως αποτέλεσμα την υποβάθμιση του ελαιολάδου.

2.1.2. Πλύσιμο και Απομάκρυνση Φύλλων

Οι ελιές τοποθετούνται αρχικά σε μια χοάνη παραλαβής ελαιοκάρπου και στη συνέχεια με μεταφορική ταινία οδηγούνται στο αποφυλλωτήριο, όπου απομακρύνονται τα φύλλα και άλλα ανεπιθύμητα υλικά. Ακολουθεί πλύσιμο για την απομάκρυνση ξένων υλών (σκόνη, χώμα, κ.λ.π.). Το νερό μπορεί να ανακυκλωθεί μετά από κατακρήμνιση ή διήθηση των στερεών συστατικών του. Απαιτούνται περίπου 100-120 L νερού για την πλύση 1000 kg ελαιοκάρπου. Η αφαίρεση φύλλων και η πλύση ελιάς είναι σημαντικές και απαραίτητες διαδικασίες όταν χρησιμοποιείται σύστημα φυγοκέντρησης. Όταν εκτελούνται, είναι δυνατόν να αποφευχθεί η ζημιά στα μηχανικά μέρη που περιστρέφονται με υψηλές ταχύτητες. Επιπλέον, αποφεύγεται η αίσθηση της επίδραση των φύλλων στο ελαιόλαδο.

2.1.3. Σπάσιμο και Άλεση Ελαιοκάρπου

Στα παραδοσιακά ελαιοτριβεία η άλεση του καρπού γίνεται με κυλινδρικές μυλόπετρες. Στις σύγχρονες μονάδες όμως χρησιμοποιούνται πλέον μεταλλικοί μύλοι, σφυρόμυλοι και σπαστήρες με οδοντωτούς δίσκους. Εάν οι ελιές που υποβάλλονται σε επεξεργασία είναι παγωμένες ή πολύ ξηρές, προστίθεται μια μικρή ποσότητα νερού (100-150 L ανά 1000 kg καρπού).

2.1.4. Μάλαξη Ελαιόπαστας

Μετά την άλεση, η ελαιοζύμη αναμιγνύεται στο μαλακτήρα μετά την προσθήκη ζεστού νερού. Η μάλαξη αποτελεί βασικό στάδιο της επεξεργασίας και συντελεί στην συνένωση των μικρών ελαιοσταγονιδίων με μεγαλύτερες σταγόνες λαδιού. Η μάλαξη μειώνει ή αφαιρεί τα γαλακτώματα που προκύπτουν κατά την απότομη και βίαιη σύνθλιψη της ελιάς προκαλώντας συσσωμάτωση των σταγονιδίων στην πάστα ελιάς, αυξάνοντας έτσι την ελεύθερη ποσότητα ελαίου και, ως εκ τούτου, προκύπτουν μεγαλύτερες αποδόσεις ελαιολάδου. Επιπλέον, η μάλαξη βοηθά επίσης στην αύξηση του εξαγωγίμου ελαίου προωθώντας τη διάσπαση των αδιάσπαστων κυττάρων που περιέχει λάδι για μηχανική και ενζυματική δράση (Aparicio and Harwood, 1999). Για τη διευκόλυνση της διαδικασίας η ελαιοζύμη θερμαίνεται από 25 έως 33°C για χρονικό διάστημα από 30 έως 60 min ανάλογα την περίπτωση. Στο μαλακτήρα προστίθεται νερό μέχρι και 10% της ποσότητας της ελαιοζύμης, πριν την εξαγωγή του ελαιόλαδου σε διφασικό ή τριφασικό φυγοκεντρικό σύστημα. Τα κυριότερα συστατικά της πάστας μετά τη μάλαξη είναι το ελαιόλαδο, μικρά κομμάτια πυρήνα, νερό και κυτταρικά υπολείμματα (Boskou, 2011).

2.1.5. Μέθοδοι Ελαιοποίησης

2.1.5.1. Παραδοσιακή μέθοδος πίεσης

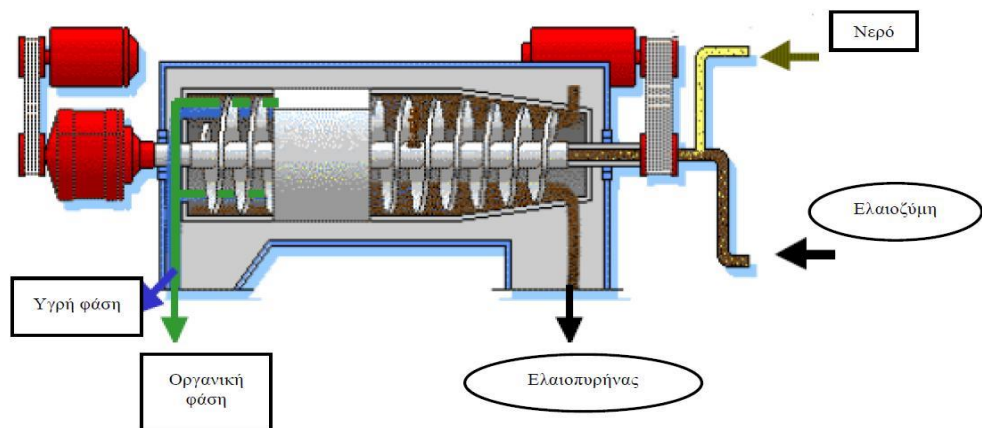
Η παραδοσιακή μέθοδος (Σχήμα 1α) είναι η παλαιότερη μέθοδος εξαγωγής ελαιολάδου και εξακολουθεί να χρησιμοποιείται, αν και δεν είναι ευρέως διαδεδομένη. Ουσιαστικά είναι μια ασυνεχής διαδικασία που διαφοροποιείται σε δύο φάσεις με την πίεση των αλεσμένων καρπών. Η υγρή φάση (μίγμα νερού/λαδιού) διαχωρίζεται αργότερα προκειμένου να ληφθεί το ελαιόλαδο. Υπολογίζεται ότι από 1000 kg καρπού παράγονται περίπου 350 kg ελαιοπυρήνα (περιεκτικότητα σε υγρασία 25 %) και περίπου 450 kg υγρά απόβλητα (απόνερα). Μερικά από τα πλεονεκτήματα της μεθόδου, σύμφωνα με το IOC (1990), είναι ότι απαιτείται μικρή επένδυση, χρησιμοποιούνται απλά και αξιόπιστα μηχανήματα, απαιτείται ελάχιστη ηλεκτρική ενέργεια και άρα η κατανάλωση είναι χαμηλή, ο ελαιοπυρήνας είναι λιγότερο υγρός και μια μικρή ποσότητα νερού από τον καρπό περιέχει και λίγο λάδι. Εντούτοις, αν και είναι πιο οικολογική, η τεχνική αυτή είναι ασυνεχής, γεγονός που αποτελεί μειονέκτημα για τη σύγχρονη βιομηχανία. Παράλληλα, το μηχάνημα είναι δυσκίνητο, χρειάζεται περισσότερη εργασία, τα υποστρώματα φιλτραρίσματος θα μπορούσαν να είναι μολυσμένα, και η παραγωγικότητα είναι χαμηλή (Aparicio and Harwood, 1999).

2.1.5.2. Ψυχρή Έκθλιψη

Η ψυχρή έκθλιψη είναι η διαδικασία εκχύλισης του ελαιολάδου από πάστα ελιάς σε θερμοκρασία μικρότερη από 25°C (Tsimidou et al., 2003).

2.1.5.3. Μέθοδος τριφασικού συστήματος

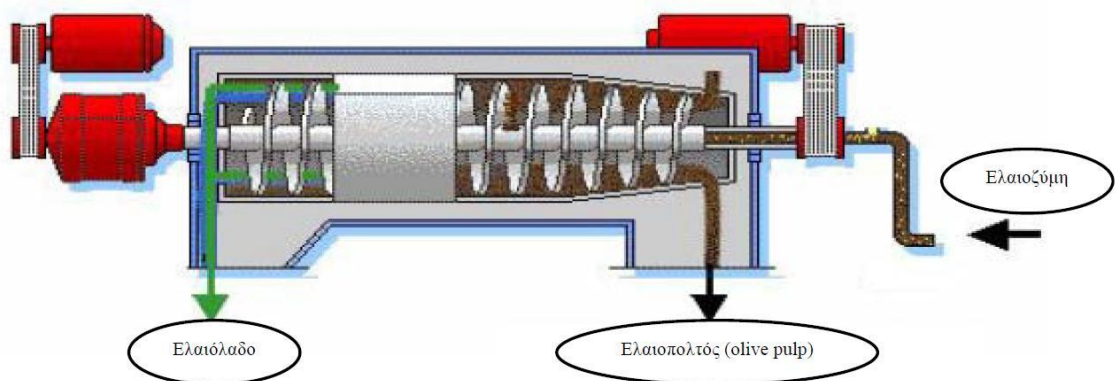
Η τριφασική διαδικασία (Σχήμα 1.β) είναι μια συνεχής διαδικασία που έχει αντικαταστήσει την παραδοσιακή μέθοδο. Χρονολογείται από τη δεκαετία του 1970-1980. Οι αλεσμένες ελιές τοποθετούνται σε ένα τριφασικό φυγοκεντρικό διαχωριστήρα (decanter) (Εικόνα 2) όπου τα διαφορετικά μέρη (ελαιόλαδο, απόνερα, ελαιοπυρήνας) διαχωρίζονται με την επίδραση της φυγόκεντρου δύναμης. Δύο από τα πλεονεκτήματα του συστήματος αυτού είναι η υψηλότερη παραγωγικότητα και το πυρηνέλαιο έχει κανονική περιεκτικότητα σε υγρασία. Το κύριο μειονέκτημα της μεθόδου είναι η μεγάλη κατανάλωση ενέργειας και οι μεγάλες ποσότητες ύδατος που απαιτούνται και συνεπώς η παραγωγή σημαντικού όγκου υγρών αποβλήτων που προκαλούν ρύπανση. Επίσης παράγεται μεγάλες ποσότητες νερού από τον καρπό πράγμα που οδηγεί και στη μείωση του ολικού φαινολικού περιεχομένου στο παραγόμενο ελαιόλαδο καθώς τα νερά αυτά απομακρύνονται και άρα το προϊόν είναι πιο ασταθές. Υπολογίζεται ότι από 1000 kg καρπού, παράγονται 500 kg ελαιοπυρήνα (περιεκτικότητα σε υγρασία 50%) και 1200 kg υγρά απόβλητα.



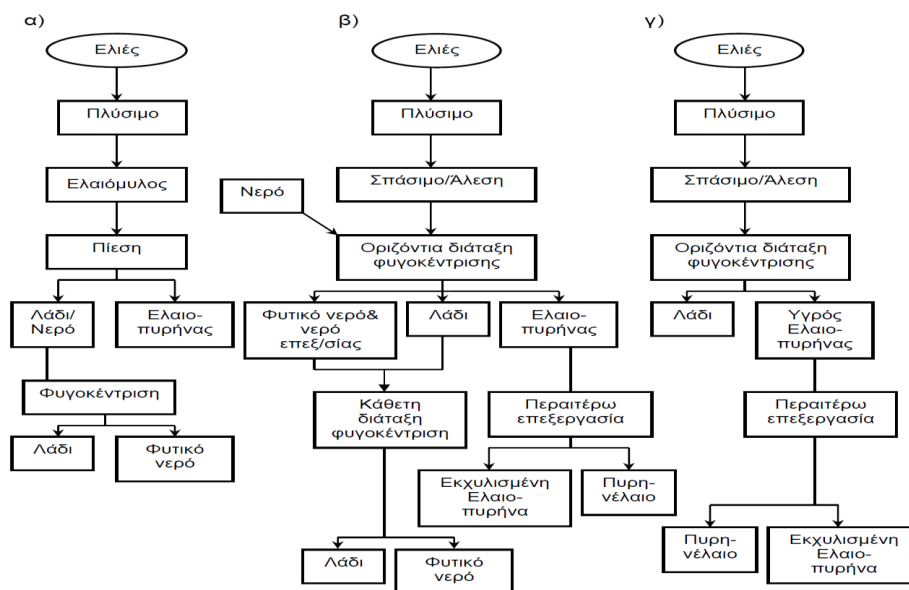
Εικόνα 2: Ο τριφασικός διαχωριστήρας (decanter)

2.1.5.4. Μέθοδος διφασικού συστήματος

Πριν μερικά χρόνια εμφανίστηκε στην αγορά το διφασικό σύστημα (αποκαλούμενο και «οικολογικό σύστημα») (Σχήμα 1γ) (Εικόνα 3). Σε αυτή τη διαδικασία, δεν προστίθενται νερό και τα τελικά προϊόντα είναι το ελαιόλαδο και ο ελαιοπυρήνας στον οποίο ενσωματώνονται τα απόνερα. Το σημαντικότερο πλεονέκτημα του συστήματος είναι η μειωμένη κατανάλωση νερού και η έλλειψη υγρών αποβλήτων. Έτσι το παραγόμενο ελαιόλαδο είναι πιο πλούσιο σε ολικά φαινολικά από αυτό που παράγεται από το τριφασικό σύστημα και άρα είναι και πιο σταθερό. Επιπλέον δεν παράγεται νερό από τον καρπό και η κατανάλωση ενέργειας είναι χαμηλή. Υπολογίζεται ότι κατά την επεξεργασία 1000 kg καρπού παράγονται 800 kg περίπου υγρού ελαιοπυρήνα. Σοβαρό μειονέκτημα της μεθόδου όμως είναι ότι ο ελαιοπυρήνας που προκύπτει έχει αυξημένη υγρασία και είναι δύσκολος στον χειρισμό, στη μεταφορά και την επεξεργασία. Επιπλέον, ξηραίνεται με αργό ρυθμό και έχει υψηλό ρυπαντικό φορτίο.



Εικόνα 3: Διφασικός διαχωριστήρας



Σχήμα 1: Οι τρεις τύποι μεθόδων για την παραλαβή ελαιολάδου α) κλασική μέθοδος με πιεστήριο, β) Τριφασική μέθοδος και γ) Διφασική μέθοδος

2.1.6. Καθαρισμός

Τα στερεά σωματίδια (τεμαχίδια σάρκας, φλοιού, θρύμματα πυρηνόξυλου, κλπ) που βρίσκονται διαλυμένα στην υγρή φάση απομακρύνονται με τη χρήση παλινδρομικών κινούμενων κοσκίνων (κόσκινα απολάσπωσης). Σημειώνεται ότι το βάρος των στερεών σωματιδίων υπολογίζεται σε ποσοστό 0.5-1 % επί του συνολικού βάρους της υγρής φάσης.

2.1.7. Διήθηση-Τελικός Διαχωρισμός

Ο τελικός διαχωρισμός του ελαιόλαδου (διήθηση) από τα φυτικά υγρά γίνεται με τη χρήση φυγοκεντρικών ελαιοδιαχωριστήρων με πιάτα. Όπως ήδη αναφέρθηκε, οι τρεις διαφορετικές επεξεργασίες παραλαβής ελαιόλαδου (παραδοσιακή, τριφασική και διφασική) διαφέρουν σημαντικά στον όγκο και τη σύσταση των αποβλήτων που παράγουν (Πετρωτός, 2015).

2.1.8. Αποθήκευση Παραγόμενου Ελαιολάδου

Το ελαιόλαδο πριν την μεταφορά του στο τυποποιητήριο για εμφιάλωση, θα πρέπει να αποθηκεύεται όσο το δυνατόν γρηγορότερα σε μεγάλες μεταλλικές δεξαμενές από ανοξείδωτο χάλυβα για αποφυγή επιμόλυνσης από άλλα υλικά. Παράλληλα οι δεξαμενές αυτές θα πρέπει να διατηρούνται υπό κάλυψη (δηλαδή το ελαιόλαδο να μην έρχεται σε επαφή με τον αέρα γιατί αυτό θα συντελέσει στην οξείδωσή του) μέσα

στα κτίρια μακριά από το φως σε συνθήκες θερμοκρασίας 13-18°C. Τέλος, το δοχείο πρέπει να είναι πλήρως γεμάτο (με τον αέρα να καταλαμβάνει λιγότερο από το 3-4% του συνολικού όγκου) και σε περίπτωση που αυτό δεν είναι εφικτό, τότε ο αέρας συνίσταται να αντικαθίσταται με αδρανές αέριο, όπως το άζωτο.

2.2. Κατηγορίες Ελαιολάδου

Οι περιγραφές και οι ορισμοί του ελαιολάδου, καθώς και η ονομασία του, αποτελούν ουσιαστικό στοιχείο του καθεστώτος της αγοράς, θέτοντας πρότυπα ποιότητας και παρέχοντας στους καταναλωτές επαρκή πληροφόρηση για το προϊόν. Στο παράρτημα VII του **Κανονισμού (ΕΕ) αριθ. 1308/2013** προβλέπονται η περιγραφή και ο ορισμός των ελαιολάδων και των πυρηνελαίων που διατίθενται στο εμπόριο στο εσωτερικό κάθε κράτους μέλους, καθώς και όσον αφορά τις ενδοκοινοτικές συναλλαγές και τις συναλλαγές με τις τρίτες χώρες. Η χρήση των περιγραφών και των ορισμών του ελαιολάδου και του πυρηνελαίου που περιλαμβάνονται στο παράρτημα VII (ΜΕΡΟΣ VIII) του εν λόγω κανονισμού είναι υποχρεωτική όσον αφορά την εμπορία των εν λόγω προϊόντων εντός της Κοινότητας, καθώς και στο εμπόριο με τρίτες χώρες, εφόσον είναι συμβατή με διεθνείς υποχρεωτικούς κανόνες. Μόνον οι παρακάτω κατηγορίες ελαιολάδου επιτρέπεται να διακινούνται και να πωλούνται ενδοκοινοτικά σε επίπεδο λιανικού εμπορίου εφόσον περιγράφονται και ορίζονται ως εξής:

2.2.1. Παρθένα Ελαιόλαδα

Έλαια λαμβανόμενα από τον ελαιόκαρπο μόνο με μηχανικές μεθόδους ή άλλες φυσικές επεξεργασίες με συνθήκες που δεν προκαλούν αλλοίωση του ελαίου, και τα οποία δεν έχουν υποστεί καμία άλλη επεξεργασία πλην της πλύσης, της μετάγγισης, της φυγοκέντρισης και της διήθησης· εξαιρούνται τα έλαια που λαμβάνονται με διαλύτες, με βοηθητικές ύλες παραλαβής που έχουν χημική ή βιοχημική δράση, ή με μεθόδους επανεστεροποίησης ή πρόσμειξης με έλαια άλλης φύσης. Τα παρθένα ελαιόλαδα κατατάσσονται αποκλειστικά και περιγράφονται με τις ακόλουθες ονομασίες:

2.2.1.1. Εξαιρετικό παρθένο ελαιόλαδο

Παρθένο ελαιόλαδο του οποίου η περιεκτικότητα σε ελεύθερα λιπαρά οξέα, εκφραζόμενη σε ελαιϊκό οξύ, δεν υπερβαίνει τα 0,8 g ανά 100 g και του οποίου τα άλλα ιδιαίτερα χαρακτηριστικά του είναι σύμφωνα με τα προβλεπόμενα για την κατηγορία αυτή.

2.2.1.2. Παρθένο ελαιόλαδο

Παρθένο ελαιόλαδο του οποίου η περιεκτικότητα σε ελεύθερα λιπαρά οξέα, εκφραζόμενη σε ελαϊκό οξύ, δεν υπερβαίνει τα 2 g ανά 100 g και του οποίου τα άλλα ιδιαίτερα χαρακτηριστικά είναι σύμφωνα με τα προβλεπόμενα για την κατηγορία αυτή.

2.2.1.3. Ελαιόλαδο Λαμπάντε (μειονεκτικό)

Παρθένο ελαιόλαδο του οποίου η οξύτητα, εκφρασμένη σε ελαϊκό οξύ, υπερβαίνει το 2%. Είναι ακατάλληλο για κατανάλωση ως έχει και προορίζεται για ραφινάρισμα ή για βιομηχανική χρήση.

2.2.2. Σύνθετο Ελαιόλαδο

2.2.2.1. Εξευγενισμένο ελαιόλαδο

Ελαιόλαδο το οποίο παραλαμβάνεται έπειτα από εξευγενισμό παρθένων ελαιολάδων και του οποίου η οξύτητα, εκφρασμένη σε ελαϊκό οξύ, δεν υπερβαίνει το 0,3% και τα άλλα ιδιαίτερα χαρακτηριστικά του είναι σύμφωνα με τα προβλεπόμενα για την κατηγορία αυτή.

2.2.2.2. Αποτελούμενο από Εξευγενισμένα Ελαιόλαδα και Παρθένα Ελαιόλαδα

Έλαιο που αποτελείται από ανάμειξη εξευγενισμένου ελαιόλαδου και παρθένων ελαιολάδων, εκτός από το ελαιόλαδο λαμπάντε, του οποίου η περιεκτικότητα σε ελεύθερα λιπαρά οξέα, εκφραζόμενη σε ελαϊκό οξύ, δεν υπερβαίνει το 1 g ανά 100 g και του οποίου τα άλλα ιδιαίτερα χαρακτηριστικά είναι σύμφωνα με τα προβλεπόμενα για την κατηγορία αυτή.

Οι παραπάνω δύο κατηγορίες καθώς και η κατηγορία του μειονεκτικού ελαιολάδου (λαμπάντε) πρέπει να έχουν υποστεί εξευγενισμό, προκειμένου τα έλαια να διατεθούν προς κατανάλωση

2.2.3. Πυρηνέλαιο

2.2.3.1. Ακατέργαστο πυρηνέλαιο

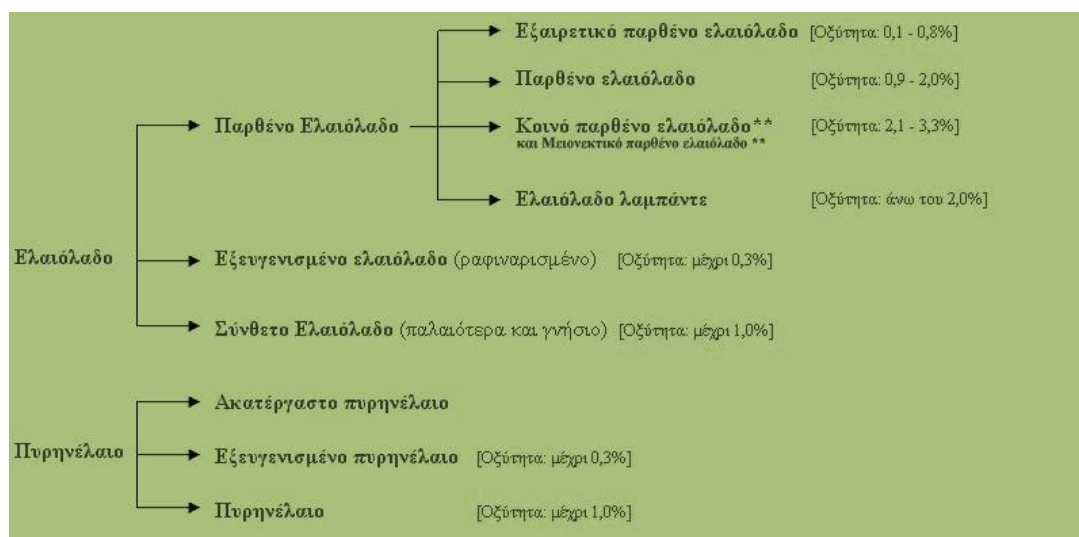
Έλαιο το οποίο εξάγεται από τον ελαιοπυρήνα ως υποπροϊόν της ελαιουργίας με την χρησιμοποίηση διαλύτη. Δεν μπορεί να καταναλωθεί ως έχει και πρέπει να υποστεί εξευγενισμό

2.2.3.2. Εξευγενισμένο

Έλαιο το οποίο λαμβάνεται έπειτα από τον εξευγενισμό του ακατέργαστου πυρηνελαίου και του οποίου η οξύτητα, εκφρασμένη σε ελαϊκό οξύ, δεν υπερβαίνει το 0,3% και τα άλλα ιδιαίτερα χαρακτηριστικά του είναι σύμφωνα με τα προβλεπόμενα για την κατηγορία αυτή

2.2.3.3. Πυρηνέλαιο

Έλαιο που αποτελείται από μείγμα εξευγενισμένου πυρηνελαίου και παρθένων ελαιολάδων (εκτός από ελαιόλαδο λαμπάντε), του οποίου η οξύτητα, εκφρασμένη σε ελαϊκό οξύ, δεν υπερβαίνει 1% και τα άλλα ιδιαίτερα χαρακτηριστικά του είναι σύμφωνα με τα προβλεπόμενα για την κατηγορία αυτή (ΕΦΕΤ, 2015).



Σχήμα 2 : Κατηγορίες Ελαιολάδου ανάλογα με την οξύτητα

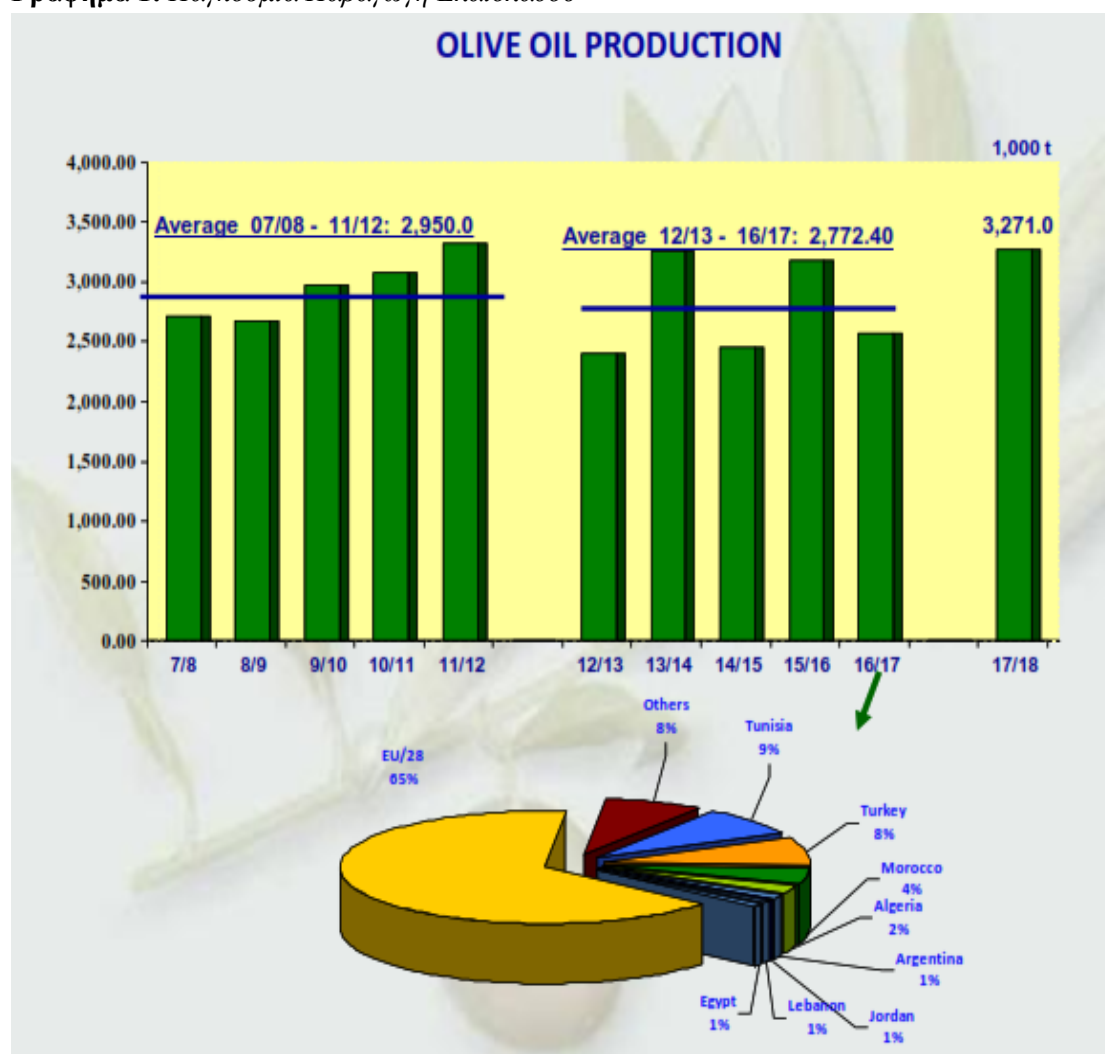
2.3. Παγκόσμια Παραγωγή και Κατανάλωση Ελαιολάδου

Σύμφωνα με τα πρόσφατα στοιχεία του IOOC (International Olive Oil Council, Απρίλιος του 2018) η παγκόσμια παραγωγή για το έτος συγκομιδής 2017/2018, όπως φαίνεται και στο **Γράφημα 1**, εκτιμήθηκε τον Νοέμβριο του 2017 σε 2.988.500 τόνους, αλλά σύμφωνα με τα τελευταία στοιχεία των χωρών, η παραγωγή ανέρχεται σε 3.271.000 περίπου τόνους, δηλαδή αύξηση κατά 27% (+697.000 τόνους) σε σύγκριση με το προηγούμενο έτος συγκομιδής. Η αύξηση αυτή οφείλεται εν μέρει στην ομάδα ευρωπαϊκών παραγωγών, η οποία στο σύνολό της θα αυξηθεί κατά 22% από έτος σε έτος. Αν και η παραγωγή στην Ισπανία θα μειωθεί κατά περίπου 3% στο 1.250.000 τόνων, στην Ιταλία θα αυξηθεί κατά 137% (432.000 τόνοι), στην Ελλάδα κατά 64,1% (320.000 τόνοι) και στην Πορτογαλία κατά 80,1% (125.000 τόνους). Ολοκληρωτικά, αυτές οι ευρωπαϊκές χώρες παραγωγής παράγουν περισσότερα από

2.143.000 τόνους, δηλαδή μια αύξηση κατά 391.500 τόνους κατά το τελευταίο έτος συγκομιδής. Επιπλέον, η παραγωγή στις περισσότερες χώρες-μέλη του ΙΟΟC θα αυξηθεί και θα φτάσει σε ένα σύνολο κατά προσέγγιση 950.000 τόνων, το οποίο είναι 49,8% αύξηση σε ετήσια βάση. Η Τουρκία οδηγεί αυτή την ομάδα χωρών με παραγωγή 263.000 τόνους (+26%) ακολουθούμενη από την Τυνησία με 280.000 τόνους (+180%), το Μαρόκο με 140.000 τόνους (+ 27%), η Αλγερία με 80.000 τόνους (+ 27%), η Αργεντινή με 37.500 τόνους (+74%) και η Ιορδανία με 25.000 τόνους (+ 25%). Αντίθετα, στην Παλαιστίνη αναμένεται μείωση κατά 2,6% στα 19.000 τόνους. Η παραγωγή σε άλλες χώρες μέλη του ΙΟΟC θα παραμείνει σε επίπεδα παρόμοια με τα προηγούμενα έτη συγκομιδής.

Η παγκόσμια κατανάλωση ελαιολάδου το 2017/18 αναμένεται να ανέλθει σε 2.950.000 τόνους, που είναι κατά 8% υψηλότερη από το τελευταίο έτος συγκομιδής.

Γράφημα 1: Παγκόσμια Παραγωγή Ελαιολάδου



ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3: Χημική Σύσταση Ελαιολάδου

Η σύσταση του ελαιολάδου απεικονίζεται συνοπτικά στο παρακάτω **Σχήμα 3**:



Σχήμα 3: Χημική σύσταση Ελαιολάδου (Κυριτσάκης, 2007)

Σύμφωνα με το USDA, τα θρεπτικά συστατικά που κυριαρχούν στο ελαιόλαδο συνοψίζονται στον **Πίνακα 3**. Σ' αυτό το σημείο θα πρέπει να σημειωθεί ότι η πραγματική ημερήσια πρόσληψη του ελαιολάδου είναι σήμερα πολύ κάτω από 50 g ανά ημέρα (Fogliano and Sacchi, 2006).

Πίνακας 3: Θρεπτικά συστατικά που εντοπίζονται σε 100 g σε παρθένο ελαιόλαδο (USDA, 2018)

Θρεπτική ουσία	Μονάδες	Ποσότητα στα 100g
Βασικά στοιχεία		
Ενέργεια	kcal	884
Ολικά λιπίδια	g	100,00
Ανόργανα Συστατικά		
Νάτριο, Na	mg	2
Ασβέστιο	mg	1
Σίδηρος	mg	0,56
Ολικά κορεσμένα λιπαρά οξέα	g	13,81

Ολικά μονοακόρεστα	g	72,96
Ολικά πολυακόρεστα	g	10,52
Ολικά trans λιπαρά οξέα	g	0
Χοληστερόλη	mg	0
Βιταμίνη E	mg	14,35
Βιταμίνη K	μg	60,2

3.1. Σαπωνοποιήσιμα Συστατικά του Ελαιολάδου

3.1.1. Τριακυλογλυκερόλες

Οι κύριες τριακυλογλυκερόλες που ανευρίσκονται στο ελαιόλαδο είναι: OOO (40-59%), POO (12-20%), OOL (12,5-20%), POL (5.5-7%), SOO (3-7%) όπου (O= ελαϊκό οξύ, P= παλμιτικό οξύ, S= στεατικό οξύ, και L= λινελαϊκό οξύ).

3.1.2. Μονο- και διακυλογλυκερόλες

Η παρουσία τους στο ελαιόλαδο οφείλεται είτε σε ατελή βιοσύνθεση των τριακυλογλυκερολών είτε σε υδρολυτικές αντιδράσεις κατά τη συλλογή του ελαιοκάρπου, την παραγωγή ή την αποθήκευση του ελαίου. Στο παρθένο ελαιόλαδο, η συγκέντρωση των διακυλογλυκερολών κυμαίνεται από 1 έως 2,8%. Στο κλάσμα διακυλογλυκερολών επικρατούν ενώσεις με άτομα C-34 και C-36. Οι μονοακυλογλυκερόλες υπάρχουν σε πολύ μικρότερες ποσότητες (λιγότερο από 0,25%) στο ελαιόλαδο (Boskou et al., 2006).

3.1.3. Λιπαρά Οξέα

Η σύσταση των λιπαρών οξέων του ελαιολάδου έχει διαφορετικές διακυμάνσεις ανά δείγμα αλλά σε γενικές γραμμές κυμαίνεται από 7,5 έως 20,0% σε παλμιτικό οξύ, 0,5 έως 5,0% σε στεατικό οξύ, 0,3 έως 3,5% σε παλμιτελαϊκό οξύ, 55,0 έως 83,0% σε ελαϊκό οξύ, 2,5 έως 21,0% σε λινελαϊκό οξύ, 0,0 έως 1,0% σε λινολενικό οξύ, 0,0 έως 0,6% σε αραχιδικό οξύ, 0,0-0,4% σε εικοσενοϊκό οξύ, 0,0 έως 0,2% σε βεχενικό οξύ, και 0,0 έως 0,2% σε λιγνοκηρικό οξύ. Τα λιπαρά οξέα επηρεάζονται από την ποικιλία της ελιάς, τις εδαφοκλιματικές συνθήκες της περιοχής και τον βαθμό ωρίμανσης του καρπού.

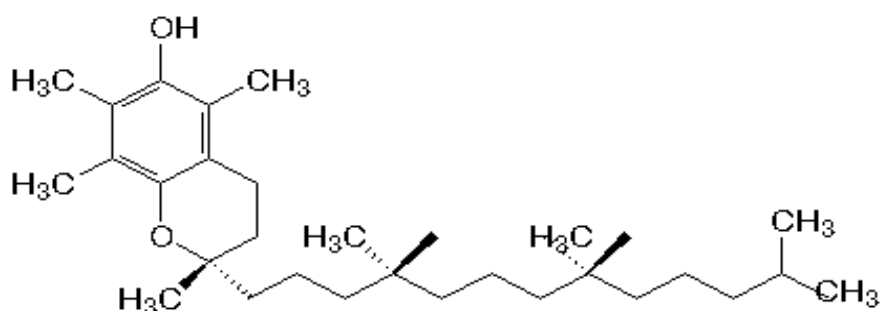
3.1.4. Φωσφολιπίδια

Τα φωσφολιπίδια συγκαταλέγονται στα υπόλοιπα συστατικά του ελαιολάδου που βρίσκονται σε ελάχιστες ποσότητες. Τα κύρια φωσφολιπίδια που υπάρχουν στο ελαιόλαδο είναι η φωσφατιδυλοχολίνη, η φωσφατιδυλαιθανολαμίνη, η φωσφατιτυλινοσιτόλη, και η φωσφατιδυλοσερίνη. Η σύνθεση των λιπαρών οξέων βρέθηκε να είναι παρόμοια με εκείνη των τριακυλογλυκερολών. Τα φωσφολιπίδια μπορούν να δράσουν συνεργιστικά (στην αναγέννηση αντιοξειδωτικών της α-τοκοφερόλη ή άλλων φαινολών) ή να συντελέσουν στην απομάκρυνση των μετάλλων. Σε υψηλά επίπεδα, ωστόσο, τα φωσφολιπίδια μπορεί να προκαλέσουν αφρισμό ή αλλαγή χρώματος ελαίου σε σκούρο κατά τη διάρκεια του τηγανίσματος (Boskou et al., 2006).

3.2. Ασαπωνοποίητα Συστατικά του Ελαιολάδου

3.2.2. Τοκοφερόλες

Τα διατροφικά οφέλη του ελαιολάδου οφείλονται εν μέρει στην παρουσία της α-τοκοφερόλης και των άλλων φυσικών αντιοξειδωτικών. Η α-τοκοφερόλη (Σχήμα 4) δεν λειτουργεί μόνο ως παράγοντας παγίδευσης ελεύθερων ριζών, αλλά και ως παράγοντας δέσμευσης οξυγόνου απλής κατάστασης (singlet oxygen). Αυτή η προστατευτική επίδραση έναντι της φωτοξείδωσης ενισχύεται από την παρουσία του β-καροτένιου. Τα κύρια ομόλογα των μορφών της βιταμίνης E που υπάρχουν στο ελαιόλαδο είναι η α-τοκοφερόλη, η οποία αποτελεί περίπου το 95% των συνολικών τοκοφερολών. Το άλλο 5% είναι οι β- και οι γ-τοκοφερόλες. Τα φρέσκα παρθένα ελαιόλαδα καλής ποιότητας έχουν μια σημαντική περιεκτικότητα σε α-τοκοφερόλη (200-300 mg/kg).



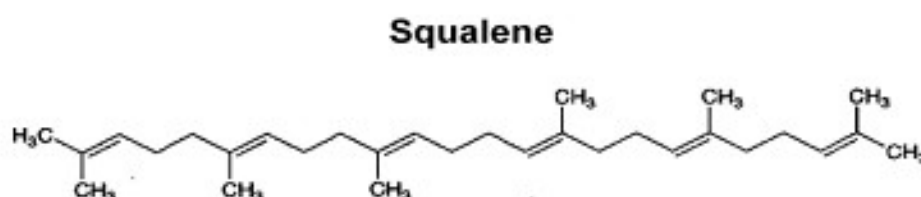
Vitamin E (α -tocopherol)

Σχήμα 4: Χημική Δομή Βιταμίνης E (α-τοκοφερόλης)

3.2.3. Υδρογονάνθρακες

3.2.3.1. Σκουαλένιο

Το σκουαλένιο (**Σχήμα 5**) [(6E, 10E, 14E, 18E) 2,6,10,15,19,23-εξαμεθυλοεικοσιτετρα-2,6,10,14,18,22-εξαένιο] (C₃₀H₅₀), είναι μια χημική ένωση που υπάρχει τόσο στα φυτικά όσο και στα ζωικά βασίλεια (Dessi et al., 2002) συμπεριλαμβανομένων των ανθρώπων, όπου είναι ένα από τα κύρια συστατικά των επιφανειακών λιπιδίων του δέρματος αλλά υπάρχει και στο ήπαρ (Wang et al.,2011; Huang, et al.,2009; Xiao et al., 2016). Μεταφέρεται στο αίμα από λιποπρωτεΐνες πολύ χαμηλής πυκνότητας και χαμηλής πυκνότητας και εκκρίνονται σε μεγάλες ποσότητες από σμηγματογόνους αδένες (Matyas et al., 2004). Αποτελεί ένα ενδιάμεσο στη βιοσύνθεσης της χοληστερόλης αλλά και γενικότερα των στεροειδών και τερπενοειδών (Darmaki et al., 2012; Camin et al.,2010; Benveniste, 2004). Είναι ο κύριος πολυακόρεστος τριτερπενοειδής υδρογονάνθρακας του ελαιολάδου και περιέχει έξι μονάδες ισοπρενίου (Aguilera et al., 2005; Moreda et al.,2001). Το σκουαλένιο είναι ένα ελαιώδες υγρό με χαμηλό ιξώδες. Όταν καθαριστεί, γίνεται πολύ ανοικτό κίτρινο έως άχρωμο και δεν έχει σχεδόν καθόλου οσμή.



Σχήμα 5: Χημική Δομή Σκουαλενίου σε ανοιχτή μορφή (Amarowicz, 2009)

Η κύρια πηγή του σκουαλενίου είναι το λάδι από το συκώτι του καρχαρία (Squalus spp., Centrophorus squamosus) απ' όπου προέρχεται και το όνομά του, (Gershbein & Sing, 1969) με περιεκτικότητα σκουαλενίου στο περίπου 15-80% και της φάλαινας (Physeter macrocephalus) (Jahaniaval, et al., 2000) αλλά υπάρχει και στο ελαιόλαδο (Hernández et al., 2010) σε συγκέντρωση που κυμαίνεται από 0,7 έως 12 g ανά kg ελαίου, ενώ ο Μπόσκου αναφέρει ότι οι τιμές κυμαίνονται συνήθως από 200 έως 7500 mg/kg (Boskou, 2009), αν και έχουν αναφερθεί τιμές μέχρι 12.000 mg/kg σε παρθένο ελαιόλαδο (Lanzon, et al., 1994). Σκουαλένιο έχει βρεθεί στο φύτρο του σιταριού και στο πίτουρο ρυζιού (Wang et al.,2011; Reddy and Couvreur, 2009; Schnetzler et Breene, 1994).

Η μέση πρόσληψη σκουαλενίου είναι 30 mg/ημέρα, ωστόσο, όταν η κατανάλωση ελαιολάδου είναι υψηλή ή σε συνδυασμό με άλλα τρόφιμα που περιέχουν αυτό το μόριο, η πρόσληψη του σκουαλενίου μπορεί να φτάσει έως και 200-400 mg/ημέρα, όπως παρατηρήθηκε στις μεσογειακές χώρες (Saitta et al., 2009; Salvo et al., 2017).

Το περιεχόμενο του σκουαλενίου εξαρτάται από την ποικιλία της ελιάς και την τεχνολογία έκθλιψης του ελαιολάδου, μειώνεται δραματικά κατά τη διάρκεια του ραφινάρισματος. Παράλληλα, πρόσφατα έχει εισαχθεί και ως πρόσθετο καλλυντικών

και συμπληρωμάτων αλλά χρησιμοποιείται και από τη βιομηχανία φαρμάκων για την παραγωγή εμβολίων, για γαλακτώματα μεταφοράς φαρμάκων, ως ενυδατική κρέμα σε καλλυντικά και ως επιφανειοδραστικό σε στεγνό καθάρισμα (Chun et al., 2013; Fernández-Cuesta et al., 2013; Russo et al., 2010; Fox, 2009; Ping He et al., 2002).

3.2.3.2. Καροτένια

Η περιγραφή τους παρατίθεται παρακάτω στις χρωστικές του ελαιολάδου.

3.2.4. Στερόλες

3.2.4.1. Φυτοστερόλες

Οι φυτοστερόλες ή οι φυτικές στερόλες είναι φυσικά συστατικά των φυτών με παρόμοια χημική δομή και βιολογική λειτουργία όπως η χοληστερόλη των θηλαστικών και χρησιμοποιούνται ευρέως μαζί με τα παράγωγά τους στην παρασκευή λειτουργικών τροφίμων (Pironen, et al., 2000; Bacchetti, et al., 2011). Έχουν ένα επίπεδο απορρόφησης 20 φορές χαμηλότερο από εκείνο της χοληστερόλης. Οι φυτοστερόλες, λόγω της ομοιότητάς τους με την χοληστερόλη, μειώνουν ή και αναστέλλουν την εντερική απορρόφηση της χοληστερόλης στο σώμα κατά τη διάρκεια της πέψης (Plat & Mensink, 2005). Τέσσερις κατηγορίες στερολών εντοπίζονται στο ελαιόλαδο, οι κοινές στερόλες (4α-απομεθυλοστερόλες), 4α-μεθυλοστερόλες, 4,4-διμεθυλοστερόλες, και τριτερπενικές διαλκοόλες (ερυθροδιόλη και ουβαόλη). Η κύρια κατηγορία είναι η 4α-απομεθυλοστερόλες. Το ολικό στερολικό περιεχόμενο σε παρθένα ελαιόλαδα κυμαίνεται μεταξύ 1000-2000 mg/kg. Ένα μέρος των συνολικών στερολών βρίσκεται υπό την μορφή εστέρων με λιπαρά οξέα. Η β-σιτοστερόλη φτάνει έως και 60-90% του συνολικού κλάσματος των στερολών. Άλλες στερόλες που απαντώνται είναι η Δ⁵-αβεναστερόλη (5-36% του συνολικού κλάσματος των στερολών), η καμπεστερόλη (4%) και η στιγμαστερόλη (2%). Ορισμένες στερόλες είναι πιθανώς υπεύθυνες για την αντίσταση του ελαιολάδου στην ταχεία φθορά κάτω από υψηλές θερμοκρασίες. Για το παρθένο ελαιόλαδο, ο κανονισμός της ΕΕ καθιερώνει ελάχιστη περιεκτικότητα σε ολικές στερόλες 1000 mg/kg και μια ελάχιστη συγκέντρωση της τάξης του 93% της φαινόμενης β-σιτοστερόλης, η οποία περιλαμβάνει τόσο την β-σιτοστερόλη όσο και άλλες στερόλες (Fernández-Cuesta et al., 2013; Ευρωπαϊκή Επιτροπή, 2002; Boskou, et al., 2006).

3.2.4.2. Τριτερπενικές Αλκοόλες (4,4-διμεθυλοστερόλες)

Οι κυριότερες είναι η β-αμυρίνη, η βουτυροσπερμολόλη, η 24-μεθυλενοκυκλοαρτανόλη και η κυκλοαρτενόλη. Τα συνολικά επίπεδα τριτερπενικών αλκοολών έχουν βρεθεί να κυμαίνονται μεταξύ 350 και 1500 mg/kg. Η σύστασή τους

και η συνολική περιεκτικότητά τους επηρεάζονται από την καλλιέργεια, το έτος συγκομιδής και την επεξεργασία.

3.2.4.3. Τριτερπενικές Διαλκοόλες

Η ερυθροδιόλη και η ουβαόλη είναι οι κύριες τριτερπενικές διαλκοόλες που βρίσκονται στο ελαιόλαδο. Η περιεκτικότητά τους σε ελαιόλαδο επηρεάζεται κυρίως από την ποικιλία. Τα παρθένα ελαιόλαδα βρέθηκαν να περιέχουν συνολική ερυθροδιόλη σε επίπεδα που κυμαίνεται από 19 έως 69 mg/kg (Aparicio and Luna, 2002) και ελεύθερη ερυθροδιόλη σε επίπεδα συνήθως περισσότερο από 50 mg/kg. Το άθροισμα της συγκέντρωσης ερυθροδιόλης και ουβαόλης συνήθως δίδεται ως ποσοστό του κλάσματος των ολικών στερολών, επειδή οι τριτερπενικές αλκοόλες συν-χρωματογραφούνται με τις 4α-απομεθυλοστερόλες. Το ποσοστό αυτό, το οποίο δεν πρέπει να υπερβαίνει το όριο που έχει θέσει η Ευρωπαϊκή Επιτροπή (Κανονισμός 1989/2003), χρησιμοποιείται ως αξιόπιστος δείκτης για τη διάκριση ελαιολάδου και ελαιολάδου που εξάγεται με διαλύτη (Boskou et al., 2006).

3.2.5. Πτητικές και Αρωματικές Ενώσεις

Έχουν εντοπιστεί περισσότερες από 100 ενώσεις στο παρθένο ελαιόλαδο, κυρίως υδρογονάνθρακες, αλκοόλες, αλδεΐδες, εστέρες και κετόνες. Ωστόσο, μόνο λίγες από αυτές τις ενώσεις συμβάλλουν σημαντικά στο άρωμά του. Οι πιο σημαντικές οσμηρές ουσίες είναι εκείνες με έξι άτομα άνθρακα, που προκύπτουν από την ενζυμική οξείδωση τόσο του λινελαϊκού όσο και του λινολενικού οξέος κατά τη διάρκεια της σύνθλιψης και μάλαξης της ελιάς. Γενετικοί, αγροκλιματικοί και τεχνολογικοί παράμετροι, όπως η ποικιλία της ελιάς, ο βαθμός ωρίμανσης των φρούτων, οι συνθήκες σύνθλιψης και μάλαξης ή το σύστημα εξαγωγής επηρεάζουν την ενζυμική δραστηριότητα και μεταβάλλουν την ποιότητα και την ένταση του αρώματος. Ορισμένες ενώσεις βρέθηκαν να είναι υπεύθυνες για τα επιθυμητά χαρακτηριστικά αρώματος, π.χ., η (Z)-3-εξενάλη για την οσμή «πράσινου μήλου», η εξανάλη για την οσμή πράσινου (κομμένο χόρτο), η (E)-2-εξενάλη για την οσμή «πράσινου, πικραμύγδαλου», 2-οξικός (Z)-3-εξενυλεστερας για το «φρουτώδες» άρωμα. Άλλες ενώσεις όπως C5 διακλαδισμένες αλδεΐδες και κετόνες, C6-C10 διενάλες, C8 κετόνες, είναι υπεύθυνες για ορισμένα αρνητικά οργανοληπτικά χαρακτηριστικά.

3.2.6. Χρωστικές Ουσίες

3.2.6.1. Χλωροφύλλες

Το χρώμα του ελαιολάδου οφείλεται κυρίως στην φαιοφυτίνη (α- και β-). Μπορούν να βρεθούν ίχνη α- και β-χλωροφυλλών μόνο σε φρέσκα λάδια. Το περιεχόμενο χλωροφύλλης στα παρθένα ελαιόλαδα κυμαίνεται από ιχνοποσότητες μέχρι και σε

περισσότερο από 30 mg/kg⁻¹. Το επίπεδο των χλωροφυλλών (και των καροτενοειδών) εξαρτάται από γενετικούς παράγοντες, τον βαθμό ωρίμανσης των φρούτων, και την τεχνολογία παραλαβής. Το επίπεδο μειώνεται καθώς ωριμάζει ο καρπός. Απουσία φωτός, οι χλωροφύλλες πιθανόν να δρουν ως αδύναμα αντιοξειδωτικά. Παρουσία φωτός, είναι αποδεκτό ότι οι χλωροφύλλες δρουν ως ισχυροί προοξειδωτικοί παράγοντες. Οι χλωροφύλλες είναι υπεύθυνες για το πράσινο χρώμα του λαδιού.

3.2.6.2. Καροτενοειδή

Τα κύρια καροτενοειδή που υπάρχουν στο ελαιόλαδο είναι το β-καροτένιο και η λουτεΐνη. Σε ίχνη απαντώνται η νεοξανθίνη, βιολαξανθίνη, κρυπτοξανθίνη, και άλλα. Η περιεκτικότητα των ολικών καροτενοειδών μπορεί να κυμαίνεται μεταξύ 1-20 mg/kg ελαίου, ενώ οι συνήθεις τιμές δεν υπερβαίνουν τα 10 mg/kg. Έχει αναφερθεί ότι τα ελαιόλαδα έχουν ένα υψηλότερο περιεχόμενο σε λουτεΐνη και λιγότερο σε β-καροτένιο και το αντίστροφο. Μέχρι στιγμής, οι μελέτες έχουν δείξει μια αντίστροφη συσχέτιση μεταξύ της πρόσληψης β-καροτενίου και της συχνότητας εμφάνισης καρδιαγγειακής νόσου, αλλά δεν έχει αποδειχθεί κάποια σαφή επίδραση στην οξείδωση της λιποπρωτεΐνης χαμηλής πυκνότητας (LDL) από το β-καροτένιο.

3.2.7. Αλκοόλες

3.2.7.1. Λιπαρές Αλκοόλες και Κηροί

Αυτή η κατηγορία δευτερευόντων συστατικών αποτελείται από γραμμικές κορεσμένες αλκοόλες με περισσότερα από 16 άτομα άνθρακα που υπάρχουν σε ελεύθερη και εστεροποιημένη μορφή. Οι κυριότερες είναι αυτές που περιέχουν 22-28 άτομα άνθρακα. Τα επίπεδα ολικών λιπαρών αλκοολών σε παρθένο ελαιόλαδο συνήθως δεν υπερβαίνουν τα 250 mg/kg. Η περιεκτικότητα σε λιπαρές αλκοόλες επηρεάζεται από την ποικιλία, την καλλιέργεια, το έτος, την ωριμότητα του καρπού και την επεξεργασία (Boskou et al., 2006).

Οι εστέρες των λιπαρών αλκοολών με λιπαρά οξέα (κηροί) αποτελούν σημαντικά δευτερεύοντα συστατικά και χρησιμοποιούνται ως κριτήριο διαφοροποίησης μεταξύ των κατηγοριών ελαιολάδου. Τα παρθένα ελαιόλαδα συνήθως περιέχουν κήπους που δεν ξεπερνούν τα 150 mg/kg. Οι κυριότεροι κήροι που συναντώνται στο ελαιόλαδο είναι εστέρες του ελαϊκού ή παλμιτικού οξέος με 36, 38, 40, 42, 44 και 46 άτομα C (συνολικά). Το περιεχόμενο και η σύσταση των κηρών επηρεάζεται τόσο από την ποικιλία όσο και από το έτος συγκομιδής και την επακόλουθη επεξεργασία του.

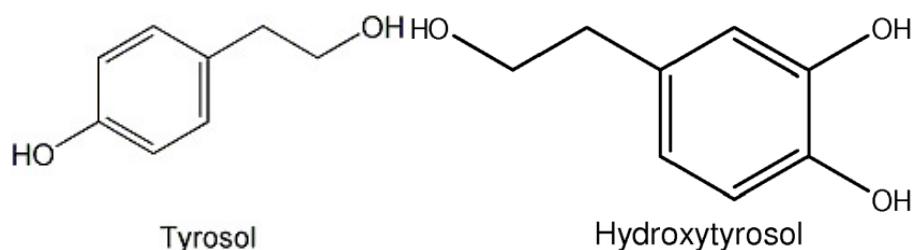
3.2.7.2. Διτερπενικές Αλκοόλες

Η φυτόλη και η γερανυλογερνανόλη είναι δύο άκυκλα διτερπενοειδή που περιέχονται στο κλάσμα των αλειφατικών αλκοολών του ελαιολάδου σε ελεύθερη και εστεροποιημένη μορφή. Η φυτόλη, η οποία πιθανώς προέρχεται από την

χλωροφύλλη, έχει βρεθεί σε μονοποικιλιακά παρθένα ελαιόλαδα σε επίπεδα που κυμαίνεται από 25 έως 595 mg/kg (Aparicio et Luna, 2002) ενώ η γερανυλογεραννόλη να κυμαίνεται σε τιμές χαμηλότερες από 50 mg/kg.

3.2.8. Φαινολικά Συστατικά

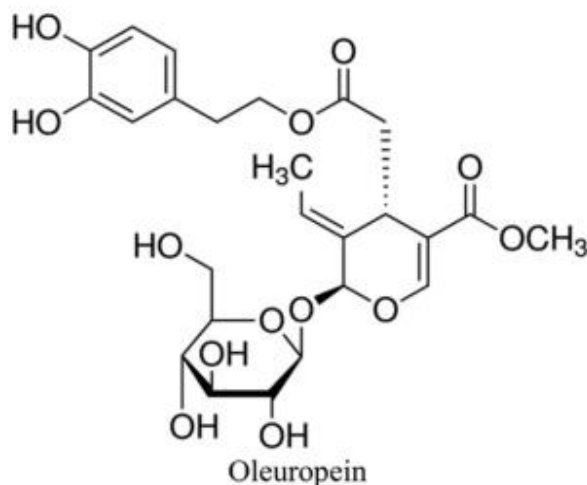
Φαινόλες είναι οι ουσίες που περιέχουν τουλάχιστον ένα βενζολικό δακτύλιο και ένα ή περισσότερα υδροξύλια στο δακτύλιο. Ως πολικές ενώσεις, είναι υδατοδιαλυτές και ελάχιστα λιποδιαλυτές. Παρουσιάζουν σημαντική αντιοξειδωτική δράση, συνεισφέρουν στα ιδιαίτερα οργανοληπτικά συστατικά του και πολλές ευεργετικές ιδιότητες στον ανθρώπινο οργανισμό οφείλονται σε αυτές (Boskou, 2006). Το ελαιόλαδο είναι μια πηγή τουλάχιστον 30 φαινολικών ενώσεων (Tuck and Hayball, 2002). Το παρθένο ελαιόλαδο περιέχει φαινολικές ουσίες που επηρεάζουν τη σταθερότητα και τη γεύση του. Οι κατηγορίες των φαινολικών ενώσεων που απαντώνται στο ελαιόλαδο είναι: 1) Φαινολικά οξέα, 2) Φαινολικές αλκοόλες, 3) Φλαβονοειδή, 4) Υδροξυ-ισοχρωμάνες, 5) Σεκοϊριδοειδή και 6) Λιγνάνες. Τα δύο τελευταία αποτελούν το πιο άφθονο κλάσμα ενώ τα υπόλοιπα ανευρίσκονται σε μικρότερες ποσότητες. Παρακάτω παρατίθενται οι χημικές δομές δύο σημαντικών φαινολικών ουσιών:



Σχήμα 6: Χημικές Δομές Τυροσόλης και Υδροξυτυροσόλης (Wani et al., 2018)

Η περιεκτικότητα σε φαινολικές ενώσεις ποικίλει ευρέως. Όταν η συγκέντρωσή τους υπερβεί τα 300 mg/kg, το λάδι μπορεί να έχει πικρή γεύση. Ωστόσο, μια υψηλή περιεκτικότητα σε φαινολικά συστατικά φαίνεται να είναι ευεργετική για την διάρκεια ζωής του ελαίου, και υπάρχει καλή συσχέτιση της σταθερότητας και του συνολικού περιεχομένου σε ολικά φαινολικά συστατικά. Τα φρέσκα ελαιόλαδα φαίνεται να έχουν μεγαλύτερη ποσότητα σεκοϊριδοειδών, ενώ σε αποθηκευμένα ελαιόλαδα βρίσκονται συνήθως πιο απλές φαινόλες. (Aparaccio et Hardwood, 2013). Μεταξύ των διαφόρων φαινολικών ενώσεων που έχουν ελεγχθεί για τη συμβολή τους στη σταθερότητα, η υδροξυτυροσόλη και το καφεϊκό οξύ βρέθηκαν να είναι τα πιο ισχυρά αντιοξειδωτικά ενώ σε κάποιες άλλες αναφορές θεωρούν την ελαιασίνη. Τα αντιοξειδωτικά που υπάρχουν στο έξτρα παρθένο ελαιόλαδο βρέθηκε ότι αυξάνουν την αντίσταση των λιποπρωτεϊνών χαμηλής πυκνότητας στην οξείδωση σε *in-vitro* και *in-vivo* πειράματα. Η ολευρωπεΐνη (Σχήμα 7) παρουσιάζει επίσης πολύτιμες λειτουργικές ιδιότητες, αλλά στο ελαιόλαδο ανευρίσκεται συνήθως σε μικρές ποσότητες. Βρίσκεται σε αφθονία στον ελαιόκαρπο και στα φύλλα ελιάς (Boskou, et al., 2006). Η υδροξυτυροσόλη και η ολευρωπεΐνη έχουν αντιμικροβιακή δράση έναντι ATTC

βακτηριακών στελεχών και κλινικών βακτηριακών στελεχών (Tuck and Hayball, 2002). Οι παράγοντες που επηρεάζουν τη σύσταση των φαινολικών συστατικών είναι η ποικιλία, ο βαθμός ωρίμανσης του καρπού, η γεωγραφική ζώνη, η διαθεσιμότητα σε νερό, η κατάσταση της υγείας του καρπού και οι διάφοροι τεχνολογικοί παράγοντες (π.χ. άλεση, χρόνος και θερμοκρασία μάλαξης, ποσότητα νερού που προστίθενται). (Boskou, 2006)



Σχήμα 7: Χημική Δομή Ολευρωπεΐνης (Wani et al., 2018)

Μια από τις πιο γνωστές φαινολικές ενώσεις (σεκοϊριδοειδές) που είναι παρούσα στο ελαιόλαδο, η ελαιοκανθάλη (διαλδεϋδική μορφή της αγλυκόνης του αποκαρβοξυμεθυλολιγκστροσιδίου), είχε προηγουμένως αναγνωριστεί ως μία από τις κύριες ουσίες που είναι υπεύθυνες για την πικρή γεύση του ελαιολάδου αντιπροσωπεύοντας περίπου το 10% των συνολικών φαινολικών ενώσεων και σχετίζεται δομικά με το αντι-φλεγμονώδες φάρμακο *ibuprofen*. Οι συγγραφείς εκτιμούν για την ελαιοκανθάλη μια ημερήσια πρόσληψη 9 mg, που αντιστοιχεί σε περίπου 10% της πρότυπης δόσης της ιβουπροφαίνης, με βασική ημερήσια κατανάλωση 50 g ελαιόλαδο που περιέχει 200 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (200 ppm) ελαιοκανθάλη. Με αυτά τα στοιχεία κατά νου, οι συγγραφείς υποστήριξαν ότι οι καρδιαγγειακές-προστατευτικές επιδράσεις που έχουν αποδοθεί στο MD κατά κάποιο τρόπο σχετίζεται με την τακτική πρόσληψη ολεοκανθάλης. Επίσης έχει αναφερθεί ότι η ολεοκανθάλη έχει αντιοξειδωτική δράση και ότι μπορεί να αναστείλει το ρίσκο εμφάνισης της νόσου Alzheimer (Angelis et al., 2017).

3.3. Επίδραση των Συστατικών του Ελαιολάδου στην Υγεία του Ανθρώπου

Αρκετές μελέτες έχουν δείξει ότι η κατανάλωση ελαιολάδου, πλούσιο σε φαινολικές ενώσεις, συσχετίζεται με μειωμένο κίνδυνο καρδιαγγειακής νόσου, παχυσαρκίας, μεταβολικού συνδρόμου και διαβήτη τύπου 2 (López et al., 2010; Michel et al., 2015). Επιπροσθέτως, από πολλές μελέτες διαπιστώθηκε ότι το ελαιόλαδο εμφανίζει αντιθρομβωτική και αντι-αθηρογενετική δράση λόγω των μονοακόρεστων λιπαρών οξέων (ελαιικό οξύ) (Huang and Sumpio 2008), των διαφόρων μικροσυστατικών που εντοπίζονται κυρίως στα μη ραφινρισμένα ελαιόλαδα, των φαινολικών (Lopez et al., 2007), των αντιοξειδωτικών βιταμινών του (Βιταμίνη Ε κυρίως), των στερολών και των λιπιδίων που προέρχονται από το λιπιδικό πολικό κλάσμα του ελαιολάδου (Trichopoulos and Trichopoulou, 2009; Covas, 2007).

Όσον αφορά το σκουαλένιο, υπάρχουν ισχυρισμοί ότι μπορεί να βελτιώσει την ποιότητα της ζωής, εάν λαμβάνεται συνεχώς, και ότι η κατανάλωσή του είναι ευεργετική για τους ασθενείς με καρδιακή νόσο, διαβήτη, αρθρίτιδα, ηπατίτιδα, και άλλες ασθένειες (Khor et Chieng, 1997). Έχει διατυπωθεί η άποψη ότι η υψηλή περιεκτικότητα σκουαλενίου στο ελαιόλαδο, σε σύγκριση με εκείνη των άλλων τροφίμων, είναι ένας σημαντικός παράγοντας στη μείωση του κινδύνου εμφάνισης καρκίνου (Fernández-Cuesta et al., 2013; Huang et al., 2009; Smith, 2000; Chan et al., 1996; Storm et al., 1993). Έχει επίσης προταθεί ότι το σκουαλένιο έχει χημειοπροληπτική επίδραση στον καρκίνο του παχέος εντέρου και του μαστού (Hye et al., 2013; Spanova et Daum, 2011; Rao et Newmark, 1998). Κλινικές έρευνες έδειξαν ότι τα τρόφιμα που εμπλουτίστηκαν με σκουαλένιο, μειώνουν τα επίπεδα χοληστερόλης και τριγλυκεριδίων στα ζώα (Kelly, 1999; Sakouhi et al., 2011).

Το σκουαλένιο, ως ευρέως χρησιμοποιούμενο λειτουργικό τρόφιμο, θα μπορούσε να ενισχύσει τη βιωσιμότητα του κυττάρου, την προώθηση του μεταβολισμού, τη βελτίωση της λειτουργίας της ανοσίας, τη σεξουαλική ζωτικότητα, την αντιγήρανση ως αντιοξειδωτικό, την μείωση κούρασης, την προώθηση της έκκρισης της χολής, τη μείωση της ολικής χοληστερόλης του ορού και την προσαρμογή της λιποπρωτεΐνης χαμηλής πυκνότητας για την πρόληψη της αθηροσκλήρωσης (Miettinen et Vanhanen, 1994; Xiao et al., 2016). Δεδομένης της βιολογικής του προέλευσης, και δεδομένου ότι χρησιμοποιείται συχνά ως συμπλήρωμα διατροφής, το σκουαλένιο είναι ευνοϊκά προδιατεθειμένο από τοξικολογικής άποψης (Wang et al., 2011). Τέλος, η λειτουργία του στον άνθρωπο είναι να προστατεύει την επιφάνεια του δέρματος από την οξειδωση των λιπιδίων, δρώντας ως παράγοντας δέσμευσης του οξυγόνου απλής κατάστασης (singlet oxygen, $^1\text{O}_2$) (Vazquez et al., 2007).

3.4. Επίδραση της Ποικιλίας στα Βιοδραστικά Συστατικά του Παρθένου Ελαιόλαδου

Από πολλές μελέτες έχει διαπιστωθεί ότι μεταξύ άλλων παραγόντων, η ποικιλία της ελιάς παίζει σημαντικό ρόλο στη χημική σύσταση και κατ' επέκταση στις ευεργετικές ιδιότητες του παρθένου ελαιόλαδου. Συγκεκριμένα επηρεάζει σημαντικά τη συγκέντρωση των λιπαρών οξέων, του σκουαλενίου, των τοκοφερολών, των φαινολικών ενώσεων, των χρωστικών, των πτητικών ενώσεων και άλλων μικροσυστατικών. Παρόλα αυτά λίγες μελέτες έχουν εξετάσει τις ελληνικές ποικιλίες και κατά πόσο αυτές επηρεάζουν τα βιοδραστικά συστατικά του ελαιολάδου.

Η δομή των τριακυλογλυκερολών του ελαιολάδου είναι ένας σημαντικός παράγοντας για τη σταθερότητά του αλλά και για την ανθρώπινη υγεία. Διαφέρει σημαντικά με την ποικιλία ως προς το ποσοστό διαφορετικών τύπων λιπαρών οξέων. Ειδικά προφίλ λιπαρών οξέων έχουν καθοριστεί για τις περισσότερες από τις κοινές ποικιλίες στις παραδοσιακές περιοχές καλλιέργειας και έχουν προταθεί ως ένα από τα πρότυπα για τον προσδιορισμό του αν ένα λάδι πληρεί τις προδιαγραφές της Προστατευόμενης Ονομασίας προέλευσης (ΠΟΠ). Η περιεκτικότητα σε στερόλες στο ελαιόλαδο συσχετίζεται επίσης σε μεγάλο βαθμό με την ποικιλία και μπορεί ακόμη και να χρησιμοποιηθεί για να βοηθήσει στην αναγνώριση ποικιλιών και είναι σημαντική και στα πρότυπα του ΙΟΟC. Το κλάσμα των λιπαρών οξέων αντιστοιχεί σε περισσότερο από 98% των συστατικών του ελαιολάδου και βασίζεται κυρίως σε έξι κύρια λιπαρά οξέα. Στην τράπεζα γενετικών πλασμάτων στην Κόρδοβα (Ισπανία), η οποία σύγκρινε 73 από τις πιο συνηθισμένες ποικιλίες στον κόσμο, διαπίστωσε ότι υπάρχει μεταβλητότητα μεταξύ ποικιλιών που οφείλεται σε γενετικές διαφορές και το ποσοστό παλμιτικού λιπαρού οξέος κυμάνθηκε από 8,49% έως 16,46%, το παλμιτεολικό από 0,41% έως 2,26%, το στεατικό από 1,46% έως 3,79%, το ελαϊκό από 56,12% έως 78,34%, το λινελαϊκό από 4,44% έως 13,34% και το α-λινολενικό από 0,63% έως 1,19%. Παρόμοια αποτελέσματα παρατηρήθηκαν επίσης σε συγκριτικές μελέτες από την Αργεντινή, την Αυστραλία και την Ιταλία (Aparacio et Harwood, 2013).

Από τις μελέτες που έχουν γίνει μέχρι σήμερα, όσον αφορά τα φαινολικά συστατικά, έχουν μελετηθεί ευρέως και σε σύγκριση με την ποικιλία έχει βρεθεί ότι παρουσιάζουν διαφορετικές διακυμάνσεις. Οι τιμές που βρέθηκαν σε ισπανικές ποικιλίες ελαιολάδου κυμαίνονταν από 130 έως 1203 mg/kg. Όσο υψηλότερη είναι η τιμή των φαινολικών ενώσεων, τόσο περισσότερη οξειδωτική σταθερότητα παρουσιάζει το ελαιόλαδο. Παράλληλα, στην οξειδωτική σταθερότητα συμβάλλουν και οι τοκοφερόλες αλλά σε μικρότερο βαθμό από τις βιοφαινόλες (Franco et al., 2014). Επιπροσθέτως, Το γευστικό προφίλ του παρθένου ελαιολάδου προέρχεται από πτητικές και φαινολικές ενώσεις, οι οποίες επηρεάζονται σε μεγάλο βαθμό από την ποικιλία (Aparacio and Harwood, 2013).

Ανάλογες συμπεριφορές με τις φαινολικές ενώσεις παρατηρήθηκαν και στο περιεχόμενο τοκοφερολών, σκουαλενίου και άλλων βιοδραστικών συστατικών. Μάλιστα σε σύγκριση που έχει γίνει μεταξύ ισπανικών και ιταλικών ποικιλιών, έχει

διαπιστωθεί ότι το περιεχόμενο τοκεφερολών στις ισπανικές ποικιλίες είναι υψηλότερο από το αντίστοιχο των ιταλικών ελαιολάδων και έχει επισημανθεί ότι ανάλογα με την ποικιλία, οι τιμές των επιμέρους τοκοφερολών διαφέρουν (Franco et al., 2014).

Σημαντικές διακυμάνσεις παρατηρήθηκαν και σε διάφορες άλλες έρευνες που μελέτησαν την περιεκτικότητα σκουαλενίου σε διαφορετικές ποικιλίες. Μέχρι σήμερα στην Ελλάδα δεν έχει γίνει κάποια σχετική έρευνα σε σχέση με άλλες χώρες όπως στην Τυνησία και στην Ιταλία. Και στις δύο χώρες, τα αποτελέσματα έδειξαν ότι η συγκέντρωση του σκουαλενίου επηρεάζεται από την ποικιλία.

Πολλές από τις πτητικές ενώσεις που είναι υπεύθυνες για το άρωμα και την φρεσκάδα του ελαιόλαδου προέρχονται από ενζυματικές αντιδράσεις στο εσωτερικό του καρπού της ελιάς κατά τη διάρκεια της επεξεργασίας. Μελέτες έχουν πραγματοποιηθεί για να προσδιοριστούν οι μηχανισμοί και οι επιδράσεις στις αντιδράσεις αυτές, και διαπιστώθηκε ότι το γενετικό αποτέλεσμα (ποικιλία) είναι μία από τις πιο σημαντικές. Οι συγκεκριμένες πτητικές ενώσεις και η αντίστοιχη οσμή και γεύση τους έχουν συσχετιστεί με ομάδες καλλιεργειών και μεμονωμένων ποικιλιών, έτσι ώστε να μπορούν να διακριθούν από το τεράστιο εύρος συγκεντρώσεων από το ένα στο άλλο. Αυτές οι ενώσεις χρησιμοποιούνται για να διακριθούν ποικιλίες για χρήση ως γενετικό υλικό σε προγράμματα εκτροφής, από τους αγρότες για την προσθήκη καλύτερων χαρακτηριστικών ποιότητας ελαιολάδου, για να προσδιορίσουν την αυθεντικότητα των προστατευόμενων γεωγραφικών Ενδείξεων (ΠΓΕ) και να ταυτοποιήσουν τις ποικιλίες για τα πρότυπα DOP (Aparacio and Harwood, 2013).

ΣΚΟΠΟΣ

Σκοπός της παρούσας μελέτης είναι ο προσδιορισμός της περιεκτικότητας των πιο σημαντικών βιοδραστικών συστατικών, όπως φαινολικά συστατικά, σκουαλένιο και τοκοφερόλες, σε μονοποικιλιακά εξαιρετικά παρθένα ελαιόλαδα που παράγονται και συσκευάζονται στην Ελλάδα. Είναι ευρέως γνωστό ότι η κατανάλωση εξαιρετικού παρθένου ελαιολάδου στα πλαίσια μιας ισορροπημένης και υγιούς διατροφής μπορεί να δράσει προστατευτικά έναντι πολλών χρόνιων και εκφυλιστικών ασθενειών. Οι ιδιότητες αυτές οφείλονται κατά κύριο λόγο στα παραπάνω βιοδραστικά συστατικά. Αν και η χημική σύσταση του ελαιολάδου επηρεάζεται από διάφορους παράγοντες, η ποικιλία της ελιάς προσδίδει μοναδικά χαρακτηριστικά σε κάθε ελαιόλαδο. Παρόλο που υπάρχουν αρκετές μελέτες στη διεθνή βιβλιογραφία για διάφορα ελαιόλαδα, κυρίως ισπανικά και ιταλικά, η πρωτοτυπία της παρούσας μελέτης έγκειται στο γεγονός ότι θα εστιάσει στον προσδιορισμό των βιοδραστικών συστατικών σε ελληνικά μονοποικιλιακά εξαιρετικά παρθένα ελαιόλαδα, για τα οποία τα δεδομένα είναι ελλιπή, ιδιαίτερος όσον αφορά τυποποιημένα προϊόντα. Ένα επιπρόσθετο αντικείμενο μελέτης θα αποτελέσει η ανάπτυξη μίας απλής μεθοδολογίας ταυτόχρονου προσδιορισμού σκουαλενίου και τοκοφερολών σε ελαιόλαδο, η οποία θα μπορεί να εφαρμοσθεί είτε στον επίσημο έλεγχο του ελαιολάδου ή από τους παραγωγούς για την βελτίωση της διατροφικής αξίας του προϊόντος.

ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4: Μεθοδολογία Πειραμάτων

Δείγματα Ελαιολάδων

Στην παρούσα πτυχιακή μελέτη μελετήθηκαν συνολικά δεκατέσσερα τυποποιημένα Εξαιρετικά Παρθένα Ελαιόλαδα (**Πίνακας 4**) τα οποία προμηθεύτηκαν από την τοπική αγορά της Αθήνας αλλά και μέσω διαδικτυακών καταστημάτων.

Πίνακας 4: Εξεταζόμενα δείγματα Μονοποικιλιακών Εξαιρετικών Παρθένων Ελαιολάδων

Κωδικός Δείγματος	Όνομα Προϊόντος	Ποικιλία	Προέλευση	Ημερομηνία Παραγωγής
KOR-Cre1 	ΕΠΕ ΓΑΕΑ 1L Π.Ο.Π. Σητεία Λασιθίου Κρήτης	Κορωνέικη	Κρήτη (Σητεία Λασιθίου)	07/2016
KOR-Cre2 	ΕΠΕ Ανωσκέλη Π.Ο.Π. Κολυμπάρι Χανίων Κρήτης 1L	Κορωνέικη	Κρήτη (Κολυμπάρι Χανίων)	03/2017
KOR-Kal1 	ΕΠΕ BIO Olivi 750mL	Κορωνέικη	Καλαμάτα	08/2017
KOR-Kal2	ΕΠΕ Green & Blu BIO 500 mL Kalamata P.D.O.	Κορωνέικη	Καλαμάτα	04/2017

					
KOR-Kal3		ΕΠΕ Olea Tree BIO 1L	Κορωνέικη	Καλαμάτα	2016/2017
MAN-Kor1		ΕΠΕ Ελαίων BIO Σκούρτη 750mL	Μανάκι	Κορινθία (Χιλιμόδι)	11/09/17
MAN-Arg1		ΕΠΕ Αργολίδας «Moria Elea» 500ml	Μανάκι	Αργολίδα Πελοποννήσου (Ερμιόνη)	-
MAN-Arg2		ΕΠΕ «Μανάκι» "39/22" Tin 500ml	Μανάκι	Αργολίδα Πελοποννήσου	-
ATH-Lak1		ΕΠΕ «Αθηνολιά» "39/22" Tin 500ml	Αθηνολιά	Λακωνία Πελοποννήσου	-
ATH-Lak2		ΕΠΕ Lithos 250 MI BIO	Αθηνολιά	Σπάρτη (Ταύγετος,	09/09/2017

			Σουσιτιανή, μικρό χωριό)	
MEG-Kor1 	ΕΠΕ Ladolea 500 mL	Μεγαρίτικη	Κορινθία (Ορεινό χωριό Δένδρο)	10/05/2017
KOL-Les1 	ΕΠΕ Π.Γ.Ε. Λέσβος «Lesvos Gold» "Ένωση Αγροτικών Συνεταιρισμ ών Λέσβου" 500ml	Κολοβή	Λέσβος (Μυτιλήνη)	-
KOL-Les2 	ΕΠΕ BIO Aeolion 250ml - Lesvian Mountains	Κολοβή	Λέσβος (Λεσβιακά όρη Γέρας)	09/2016
KOL-Les3 	ΕΠΕ Terra Lesvica 250 mL	Κολοβή	Λέσβος (Γέρας)	07/2017

4.1. Προσδιορισμός Σκουαλενίου

4.1.1. Σκοπός

Ο ποσοτικός προσδιορισμός της ολικής περιεκτικότητας σκουαλενίου στα εξεταζόμενα δείγματα Μονοποικιλιακών Εξαιρετικών Παρθένων Ελαιολάδων.

4.1.2. Αρχή Μεθόδου

Το σκουαλένιο απομονώνεται με εκχύλιση στερεάς φάσης (Solid Phase Extraction) και έπειτα προσδιορίζεται με υγρή χρωματογραφία υψηλής απόδοσης με ανιχνευτή συστοιχίας φωτοδιόδων. Η μέθοδος βασίζεται σε αυτή που περιγράφεται από τους [Grigoriadou et al, 2007](#); [Camino et al., 2002](#).

4.1.3. Υλικά και Αντιδραστήρια

- Εξάνιο, αναλυτικής καθαρότητας
- Αιθανόλη, αναλυτικής καθαρότητας
- Ακετονιτρίλιο (καθαρότητας HPLC)
- Ακετόνη (καθαρότητας HPLC)
- Αέριο Άζωτο

4.1.4. Όργανα και Εξοπλισμός

- Φυσίγγια SPE πυριτίου Resprep Si 1g (Restek)
- Ποτήρια ζέσεως
- Αναλυτικός ζυγός (ακρίβεια 0,1 mg)
- Μηχανικά σιφώνια σταθερού όγκου 1000 μ L και 100 μ L
- Γυάλινες πιπέτες Παστέρ
- Φιαλίδια των 1,5 mL με βιδωτό πώμα
- Περιστροφικός εξατμιστήρας κενού ρυθμιζόμενος στους 40°C
- Θερμόμετρο
- Γυάλινοι κωνικοί σωλήνες των 15 mL
- Σιφόνιο των 2 mL
- Φίλτρα σύριγγας PVDF 0,45 μ m
- Πλαστικές Σύριγγες
- Μικροσύριγγα ακριβείας του 1 mL και 0,5 mL
- Γυάλινο φίλτρο διαλυτών με μεμβράνη φίλτρου (νάιλον 0,45 μ m)
- Φιαλίδια με πώμα των 10 mL
- Κυκλοαναδευτήρας (Vortex)
- Διηθητικό χαρτί για ηθμούς

- Γυάλινο χωνί
- Ογκομετρικές φιάλες των 10 mL
- Σύστημα HPLC της εταιρείας Perkin Elmer, μοντέλο Flexar, αποτελούμενο από αντλία με σύστημα απαέρωσης διαλυτών, αυτόματο δειγματολήπτη, συσκευή θερμοστάτησης στηλών και ανιχνευτή συστοιχίας φωτοδιόδων (PDA)

Συνθήκες Υγροχρωματογραφίας:

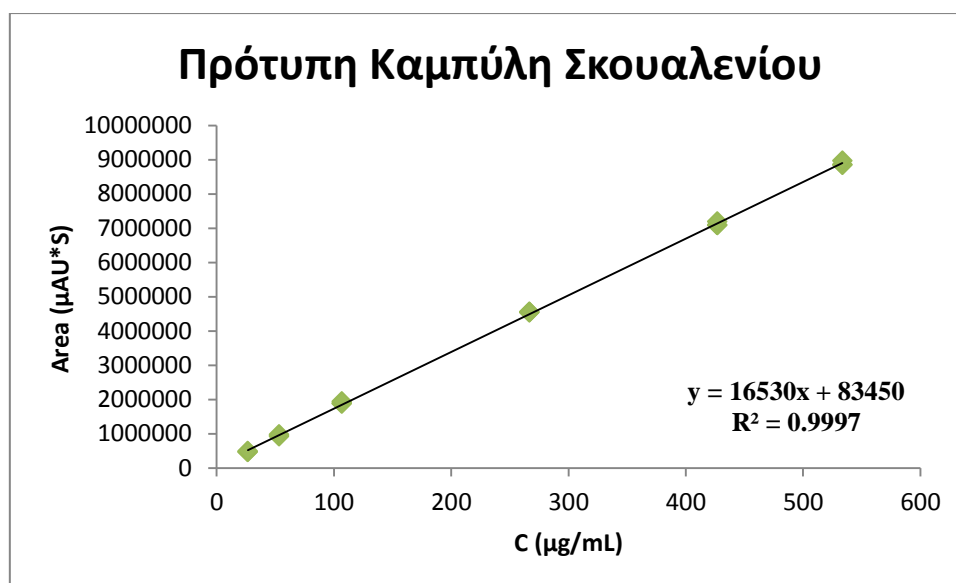
Ανιχνευτής	Συστοιχίας Διόδων με εύρος σάρωσης 200-400 nm
Στήλη χρωματογραφίας	Waters Spherisorb 5μm ODS2 4,6 x 250 mm
Ισοκρατικό σύστημα έκλουσης διαλυτών	Ακετονιτρίλιο/Ακετόνη 70:30 v/v
Ροή κινητής φάσης	1,5 mL/min
Όγκος έγχυσης	10 μL
Μήκος κύματος προσδιορισμού	210 nm
Θερμοκρασία στήλης	30° C
Χρόνος ανάλυσης	6 min

4.1.5. Κατασκευή πρότυπης καμπύλης αναφοράς

Παρασκευή πρότυπου μητρικού διαλύματος σκουαλενίου

Ζυγίζεται περίπου 0,1 g (με ακρίβεια 0,1 mg) σκουαλένιο σε ογκομετρική φιάλη των 10 mL και συμπληρώνεται με εξάνιο μέχρι την χαραγή (συγκέντρωση 10 mg/mL). Στη συνέχεια, από το μητρικό διάλυμα μεταφέρονται 50, 100, 250, 400 και 500 μL με μικροσύριγγα ακριβείας σε φιαλίδια των 1,5 mL. Εξατμίζεται ο διαλύτης σε ρεύμα αζώτου και προστίθενται 1 mL ακετόνης.

Μετά από ανάλυση στον χρωματογράφο προέκυψε η ακόλουθη καμπύλη αναφοράς:



Διάγραμμα 1: Πρότυπη Καμπύλη Αναφοράς Σκουαλενίου

4.1.6. Πειραματική Διαδικασία

4.1.6.1. Απομόνωση σκουαλενίου με εκχύλιση στερεάς φάσης (SPE)

1. Προστίθενται στο φυσίγγιο πυριτίου 6 mL εξάνιο και αφήνεται να εκλουστεί ο διαλύτης με τη βαρύτητα και ροή περίπου 0,5 mL/min (ο διαλύτης πρέπει πάντα να καλύπτει τη στερεή φάση)
2. Μεταφέρονται στο φυσίγγιο 0,1 g δείγματος ελαιολάδου, τα οποία έχουν προηγουμένως διαλυτοποιηθεί σε φιαλίδιο με 0,5 mL εξανίου. Ξεπλένονται τα τοιχώματα του φιαλιδίου με άλλα 0,5 mL εξανίου και μεταφέρεται η υπολειπόμενη ποσότητα στο φυσίγγιο.
3. Αφήνεται να εισέλθει όλη η ποσότητα του δείγματος στη στατική φάση (με ροή < 0,5 mL/min, δηλαδή περίπου μία σταγόνα ανά sec).
4. Στη συνέχεια, το κλάσμα του σκουαλενίου εκλύεται με 10 mL εξάνιο και συλλέγεται σε κωνικό σωλήνα.
5. Εξατμίζεται ο διαλύτης σε περιστροφικό εξατμιστήρα κενού (40° C) και το κλάσμα σκουαλενίου επαναδιαλύεται με την προσθήκη 2 mL ακετόνης.
6. Ακολουθεί διήθηση με φίλτρο σύριγγας PVDF 0,45 μm και ανάλυση HPLC.

4.1.6.2. Πειραματική Πορεία για HPLC-DAD

1. Πριν ξεκινήσει η ανάλυση των δειγμάτων ελαιολάδου, πραγματοποιείται αρχικά διήθηση της κινητής φάσης μέσω ηθμού 0,45 μm (PVDF, Phenomenex).
2. Στη συνέχεια εκλούεται η στήλη προκειμένου να εξισορροπηθεί το σύστημα, για τουλάχιστον 15 min.
3. Πραγματοποιείται ανάλυση λευκού δείγματος με έγχυση 10 μL διαλύματος ακετονιτριλίου/ακετόνης (70:30 v/v). Με αυτόν τον τρόπο βεβαιώνεται η μη ύπαρξη παρεμποδιζουσών ουσιών.
4. Τοποθετούνται τα πρότυπα δείγματα και τα δείγματα ελαιολάδου στον ειδικό δίσκο του αυτόματου δειγματολήπτη. Ο όγκος έγχυσης είναι 10 μL. Καταγράφονται τα χρωματογραφήματα στα 210 nm.
5. Μετά το τέλος της ανάλυσης όλων των δειγμάτων, η χρωματογραφική στήλη εκπλένεται με διάλυμα ακετονιτριλίου /ακετόνη (1:1 v/v) για τουλάχιστον 15 min.

4.1.6.3. Πειραματική Πορεία για Κλασματική Κρυστάλλωση-Συγκριτική Μέθοδος

Η ακόλουθη διαδικασία (Nenadis et Tsimidou, 2002) εφαρμόζεται σε δύο διαφορετικά δείγματα ελαιολάδου εις τριπλούν (ένα με χαμηλή συγκέντρωση σκουαλενίου και ένα με υψηλή συγκέντρωση σκουαλενίου). Στη συγκεκριμένη περίπτωση εξετάστηκαν τα δείγματα με κωδικούς **KOL-Les3** & **KOR-Kal3**.

1. Ζυγίζονται περίπου 0,1 g ελαιολάδου ($\pm 0,1$ mg) μέσα σε γυάλινο φιαλίδιο των 10 mL και προτίθενται σ' αυτό 5 mL μίγματος μεθανόλης/ακετόνης (7:3 v/v). Γίνεται καλή ανάδευση με τη βοήθεια κυκλοαναδευτήρα (Vortex) για περίπου 1,5 min και αποθηκεύονται τα δείγματα στην κατάψυξη οικιακού ψυγείου για 24 ώρες.
2. Την επόμενη μέρα, προετοιμάζονται 6 ηθμοί από διηθητικό χαρτί. Ο κάθε ηθμός τοποθετείται σε γυάλινο χωνί και διαβρέχεται με λίγη αιθανόλη.
3. Φιλτράρεται το υπερκείμενο υγρό γρήγορα μέσω του διηθητικού χαρτιού και συλλέγεται σε κωνικούς γυάλινους σωλήνες. (Το δείγμα διηθείται γρήγορα, όσο δηλαδή είναι ακόμα παγωμένο).
4. Ακολούθως, εξατμίζεται ο διαλύτης στον περιστροφικό εξατμιστήρα κενού και επαναδιαλύεται το υπόλειμμα σε 1 mL ακετόνης.
5. Το κάθε δείγμα ελαιολάδου μεταφέρεται σε φιαλίδιο HPLC, αφού πρώτα διηθηθεί μέσω φίλτρου σύριγγας (PVDF 0,45 μm) και είναι έτοιμο προς χρωματογραφική ανάλυση.

4.1.6.4. Επικύρωση μεθόδου

Επαναληψιμότητα

Η επαναληψιμότητα της μεθόδου ελέγχθηκε με την απομόνωση και προσδιορισμό σκουαλενίου σε ένα δείγμα ελαιολάδου έξι φορές (n=6). Το δείγμα που χρησιμοποιήθηκε στην συγκεκριμένη περίπτωση ήταν το KOL-Les3-δείγμα.

Ανάκτηση

Η διαδικασία εφαρμόζεται σε δείγμα ελαιολάδου με την ελάχιστη περιεκτικότητα σκουαλενίου όπως καθορίστηκε προηγουμένως (χρησιμοποιήθηκε το ίδιο δείγμα με αυτό από τη μέτρηση της επαναληψιμότητας).

- Παρασκευή πρότυπου διαλύματος σκουαλενίου 1000 µg/mL: Λαμβάνεται 1 mL με την μικροσύριγγα από το αρχικό διάλυμα σκουαλενίου (το οποίο έχει συγκέντρωση 10 mg/mL, και μεταφέρεται σε ογκομετρική φιάλη των 10 mL. Συμπληρώνεται με εξάνιο μέχρι την χαραγή.
- Ζυγίζεται 0,1 g δείγματος ελαιολάδου σε φιαλίδιο των 1,5 mL και προστίθενται σε αυτό με μικροσύριγγα 70 µL πρότυπου διαλύματος σκουαλενίου συγκέντρωσης 1000 µg/mL.
- Ακολουθείται η ίδια πειραματική πορεία της εκχύλισης SPE και επαναλαμβάνεται έξι φορές.

4.2. Προσδιορισμός Τοκοφερολών

4.2.1. Σκοπός

Ο προσδιορισμός της περιεκτικότητας σε α-, β-, γ-, δ-τοκοφερόλες και τοκοτριενόλες σε δείγματα μονοποικιλιακών έξτρα παρθένων ελαιολάδων με τη βοήθεια της υγρής χρωματογραφίας υψηλής απόδοσης (ISO 9936:2012).

4.2.2. Αρχή Μεθόδου

Ένα δείγμα δοκιμής διαλύεται σε n-επτάνιο και οι μεμονωμένες τοκοφερόλες διαχωρίζονται με υγρή χρωματογραφία υψηλής απόδοσης. Το περιεχόμενο κάθε τοκοφερόλης υπολογίζεται χρησιμοποιώντας συντελεστές βαθμονόμησης που προσδιορίζονται από διαλύματα βαθμονόμησης.

4.2.3. Υλικά και Αντιδραστήρια

Χρησιμοποιούνται μόνο αντιδραστήρια με καθαρότητα HPLC.

- Πρότυπα α-,β-,γ-,δ-τοκοφερολών και τοκοτριενολών

Εάν τα πρότυπα τοκοφερόλης δεν είναι διαθέσιμα, μπορεί να χρησιμοποιηθεί ένα μείγμα από φύτρο σίτου και σογιέλαιο για την ταυτοποίηση α-, β-, γ- και δ-τοκοφερολών.

Εάν δεν υπάρχουν πρότυπα τοκοτριενόλης, το φοινικέλαιο μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την ταυτοποίηση α- και γ-τοκοτριενολών. Τα χρωματογραφήματα που λαμβάνονται μπορούν να χρησιμοποιηθούν για να βοηθήσουν στην αναγνώριση της κορυφής στα χρωματογραφήματα των δοκιμαστικών δειγμάτων, στα οποία πρέπει να χρησιμοποιούνται οι συντελεστές βαθμονόμησης για τις αντίστοιχες τοκοφερόλες.

- 1,4-Διοξάνιο, διηθημένο μέσω φίλτρου νάιλον για HPLC (0,45 μm)
- n-Εξάνιο, διηθημένο μέσω φίλτρου νάιλον για HPLC (0,45 μm)
- Μεθανόλη

Κινητή φάση: n-Εξάνιο/1,4-διοξάνιο, 96:4 v/v με ροή 1 mL/min

4.2.4. Όργανα και Εξοπλισμός

- Σύστημα HPLC της εταιρείας JASCO (που αποτελείται από αντλία υψηλής πίεσης, αυτόματο δειγματολήπτη, θερμοστάτη στήλης προσαρμοσμένη στους 25°C (προαιρετικά), ανιχνευτή φθορισμού με μήκος κύματος διέγερσης ρυθμισμένο στα 295 nm και μήκος κύματος εκπομπής στα 330 nm και λογισμικό καταγραφής)

- Αναλυτική στήλη για HPLC (250 mm x 4,6 mm, συσκευασμένη με μικροσωματιδιακό διοξείδιο του πυριτίου με μέσο μέγεθος σωματιδίων περίπου στα 5 μm)
- Φασματοφωτόμετρο UV/Vis της εταιρεία JASCO
- Περιστροφικός εξατμιστήρας κενού
- Σιφόνια πλήρωσεως, χωρητικότητας 5 mL, 10 mL και 20 mL
- Ογκομετρικές φιάλες χωρητικότητας 50 mL και 25 mL
- Λουτρό υπερήχων

4.2.5. Παρασκευή Πρότυπων Διαλυμάτων Αναφοράς

Γενικά, η οξείδωση των τοκοφερολών κατά την ανάλυση μπορεί να οδηγήσει σε χαμηλά αποτελέσματα. Ο ρυθμός της οξείδωσης αυξάνεται παρουσία αλκαλίων ή υπό την επίδραση θερμότητας ή φωτός και πρέπει να ληφθούν μέτρα προστασίας.

4.2.5.1. Μητρικό διάλυμα α-τοκοφερόλης

1. Προετοιμάζεται ένα μητρικό διάλυμα α-τοκοφερόλης ζυγίζοντας 10 mg \pm 1 mg της πρότυπης ουσίας σε ογκομετρική φιάλη των 50 mL και αραιώνεται μέχρι την χαραγή με n-επτάνιο.
2. Μεταφέρεται με σιφόνιο 5 mL αυτού του διαλύματος σε σφαιρική φιάλη και απομακρύνεται όλο το n-επτάνιο σε έναν περιστροφικό εξατμιστήρα υπό κενό σε θερμοκρασία όχι μεγαλύτερη από 40°C. Επαναφέρεται η ατμοσφαιρική πίεση με άζωτο και αφαιρείται η φιάλη από τον εξατμιστήρα μόλις εξατμιστεί όλος ο διαλύτης.
3. Εισάγονται με σιφόνιο 10 mL μεθανόλη μέσα στη φιάλη και τοποθετείται στον εξατμιστήρα για να περιστραφεί και να διαλυθεί το υπόλειμμα.
4. Στη συνέχεια γίνεται μέτρηση της μέγιστης απορρόφησης αυτού του διαλύματος σε μήκος κύματος 292 nm (βλ. κατάλληλο μήκος κύματος ανάλογα με την τοκοφερόλη στον **Πίνακα 5**) χρησιμοποιώντας το φασματοφωτόμετρο και μια κυβελίδα οπτικής διαδρομής 10 mm. Η μετρούμενη απορρόφηση πρέπει να είναι μεταξύ 0,2 και 0,8.
5. Τέλος, υπολογίζεται η ακριβής συγκέντρωση (σε μg/mL) διαιρώντας την τιμή απορρόφησης με τον κατάλληλο συντελεστή που δίδεται στον **Πίνακα 5**.

Πίνακας 5: Συντελεστές διαίρεσης*

Μήκος Κύματος (nm)	Τοκοφερόλη	Συντελεστής Διαίρεσης
292	α-τοκοφερόλη	0,0076
296	β-τοκοφερόλη	0,0089
298	γ-τοκοφερόλη	0,0091
298	δ-τοκοφερόλη	0,0087

* Οι συντελεστές έχουν προκύψει από το συντελεστή απόσβεσης E (1%, 1cm) των τοκοφερολών.

4.2.5.2. Πρότυπο διάλυμα εργασίας

Πρέπει να παρασκευαστεί ένα κατάλληλο πρότυπο διάλυμα, ανάλογα με την ευαισθησία του χρησιμοποιούμενου ανιχνευτή φθορισμού. Η ακόλουθη παρασκευή διαλύματος εργασίας δίδεται ως παράδειγμα:

Εκτελείται κατάλληλη αραιώση με επτάνιο του μητρικού δ/τος ώστε να προκύψει δ/μα εργασίας με συγκέντρωση 1-5 $\mu\text{g/mL}$. Αυτό παρασκευάζεται εκ νέου κάθε ημέρα ανάλυσης δειγμάτων.

Όλα τα διαλύματα πρέπει να προστατεύονται από το φως και να φυλάσσονται μεταξύ 0°C και 4°C. Τα μητρικά δ/τα μπορούν να αποθηκευτούν ικανοποιητικά σε γυάλινα σκεύη για έως και 1 εβδομάδα σε περίπτωση ψύξης. Οι φιάλες μπορεί να είναι τυλιγμένες σε αλουμινόχαρτο.

4.2.6. Πειραματική Διαδικασία

4.2.1.6.1. Πειραματική Πορεία για HPLC-FP

1. Ζυγίζονται 0,25 g ($\pm 0,1$ mg) ελαιολάδου σε ογκομετρική φιάλη των 25 mL και προστίθεται n-επτάνιο μέχρι τη χαραγή. Το δ/μα διηθείται μέσω φίλτρου σύριγγας (Nylon, 0,45 μm).
2. Πριν την ανάλυση των δειγμάτων, εξισσοροπείται το σύστημα αντλώντας την κινητή φάση της στήλης με ροής 1 mL/min για τουλάχιστον 30 min.
3. Τοποθετούνται τα πρότυπα διαλύματα και τα δείγματα στον ειδικό δίσκο του αυτόματου δειγματολήπτη. Ο όγκος έκχυσης είναι 10 μL και η ανάλυση κάθε δείγματος και προτύπου εκτελείται εις διπλούν. Καταγράφονται τα χρωματογραφήματα και τα εμβαδά των κορυφών.
4. Μετά το τέλος της ανάλυσης όλων των δειγμάτων, η χρωματογραφική στήλη εκπλένεται με διάλυμα n-εξανίου για τουλάχιστον 15 min.

4.2.7. Υπολογισμοί

Η περιεκτικότητα σε τοκοφερόλη, εκφρασμένη ως mg α-τοκοφερόλη/kg ελαιολάδου, υπολογίζεται από την ακόλουθη σχέση:

$$w = \frac{\rho \times \bar{A}_t \times V}{\bar{A}_s \times m}$$

Όπου

ρ είναι η συγκέντρωση τοκοφαιρόλης στο πρότυπο διάλυμα, σε μικρογραμμάρια ανά χιλιοστόλιτρο

\bar{A}_s είναι η μέση τιμή των εμβαδών της κορυφής της τοκοφερόλης στο πρότυπο δ/μα

\bar{A}_t είναι η μέση τιμή των εμβαδών της κορυφής της τοκοφερόλης στο δείγμα δοκιμής

m είναι η μάζα του δείγματος δοκιμής σε γραμμάρια

V είναι ο όγκος του παρασκευασθέντος διαλύματος δοκιμής (= 25 ml)

4.3. Μεθοδολογία Προσδιορισμού Βιοφαινολών (HPLC-DAD)

4.3.1. Σκοπός

Η μέθοδος αυτή περιγράφει την διαδικασία για την εκχύλιση και τον ποσοτικό προσδιορισμό των βιοφαινολών (biophenolic minor polar compounds, BMP) σε ελαιόλαδα, όπως φυσικά και οξειδωμένα παράγωγα της ολευρωπαΐνης και του λιγκστροσιδίου, λιγνάνες, φλαβονοειδή και φαινολικά οξέα (IOOC, μερικώς τροποποιημένη μέθοδος COI/T.20/Doc No 29, 2009). Το εύρος μέτρησης είναι από 30 mg/kg έως 800 mg/kg.

4.3.2. Αρχή Μεθόδου

Η μέθοδος βασίζεται στην εκχύλιση των βιοφαινολών (πολικό φαινολικό κλάσμα) χρησιμοποιώντας υδατομεθανολικό δ/μα, καθώς οι βιοφαινόλες είναι πολικά συστατικά. Ακολουθεί ποσοτικός προσδιορισμός με HPLC με ανιχνευτή συστοιχίας διόδων (DAD) στα 280 nm. Ως εσωτερικό πρότυπο χρησιμοποιείται το συρινγγικό οξύ.

4.3.3. Υλικά και Αντιδραστήρια

- Ογκομετρικές φιάλες (10 και 100 mL)
- Ποτήρια ζέσεως
- Μηχανικά σιφόνια (1 και 0,1 mL)
- Σωλήνες Eppendorf με βιδωτό πώμα
- Πλαστικές σύριγγες (5 mL) με φίλτρα PVDF 0,45 μm
- Αντιδραστήρια (χρωματογραφικής καθαρότητας)
 - ✓ Ορθοφωσφορικό οξύ 85% (14 M)
 - ✓ Μεθανόλη
 - ✓ Ακετονιτρίλιο
 - ✓ Νερό
- Βαθμιδωτό σύστημα έκλουσης: υδατικό δ/μα 0,2% (v/v) H₃PO₄ (A), μεθανόλη (B), ακετονιτρίλιο (C). Οι διαλύτες φιλτράρονται και απαερώνονται πριν την ανάλυση.

Πίνακας 6: Σύστημα έκλουσης

Χρόνος (min)	Ροή κιν. φάσης (mL/min)	A%	B%	C%
0	0,8	96,0	2,0	2,0
16,00	0,8	50,0	25,0	25,0
18,00	0,8	40,0	30,0	30,0
24,00	0,8	0,0	50,0	50,0
28,00	0,8	0,0	50,0	50,0
29,00	0,8	96,0	2,0	2,0
39,00	0,8	96,0	2,0	2,0

- 2-(4 – υδροξυφαινυλο) αιθανόλη (τυροσόλη) $\geq 98\%$
- 3,5-διμεθοξυ-4-υδροξυβενζοϊκό οξύ (συρινγγικό οξύ) $\geq 97\%$
- Διάλυμα μεθανόλης/νερού (80/20) (v/v) για την εκχύλιση
- Διάλυμα που περιέχει μίγμα φαινολικών συστατικών, ώστε να επιτευχθεί ταυτοποίηση των κορυφών στα άγνωστα διαλύματα

4.3.4. Όργανα και Εξοπλισμός

- Αναλυτικός ζυγός
- Κυκλοαναδευτήρας (Vortex)
- Λουτρό υπερήχων
- Φυγόκεντρος
- Περιτροφικός εξατμιστήρας κενού
- Σύστημα HPLC (το ίδιο με αυτό που χρησιμοποιήθηκε στον προσδιορισμό του σκουαλενίου, (βλ. 4.1.4.):

Ανιχνευτής	Συστοιχίας Διόδων με εύρος σάρωσης 200-800 nm
Στήλη χρωματογραφίας (στατική φάση)	Αντίστροφης φάσης Kinetex (core shell) 2,6 μm C18 100 A ^o (100 x 4,6 mm) της εταιρίας Phenomenex
Σύστημα έκλουσης διαλυτών	Βαθμιδωτό
Όγκος Έγχυσης	10 μL
Μήκος κύματος προσδιορισμού	280 nm
Θερμοκρασία στήλης	30°C

4.3.5. Παρασκευή Πρότυπων Διαλυμάτων

A) Πρωτογενή Πρότυπα Διαλύματα (*stock solutions*)

A1) Τυροσόλη

Ζυγίζονται στον αναλυτικό ζυγό 0,030 g τυροσόλης και μεταφέρονται σε ογκομετρική φιάλη των 10 mL. Προστίθεται δ/μα μεθανόλης/νερού (80/20 v/v) μέχρι την χαραγή. Η συγκέντρωση του διαλύματος είναι: $C = 3 \text{ mg/mL}$

A2) Συριγγικό οξύ (εσωτερικό πρότυπο)

Ζυγίζονται στον αναλυτικό ζυγό 0,015 g συριγγικού οξέος και μεταφέρονται σε ογκομετρική φιάλη των 10 mL. Προστίθεται δ/μα μεθανόλης/νερού (80/20 v/v) μέχρι την χαραγή. Η συγκέντρωση του διαλύματος είναι: $C = 1,5 \text{ mg/mL}$

B) Διαλύματα εργασίας (βαθμονόμησης)

Μεταφέρονται με μηχανικό σιφόνιο 100 μL από τα δύο διαλύματα που παρασκευάστηκαν προηγουμένως (A1 και A2) σε ογκομετρική φιάλη των 10 mL. Συμπληρώνεται ο όγκος με το διάλυμα μεθανόλης/νερού (80/20 v/v). Η συγκέντρωση κάθε ουσίας είναι: $C_{\text{tyr}} = 0,030 \text{ mg/mL}$, $C_{\text{syf}} = 0,015 \text{ mg/mL}$.

Γ) Διάλυμα εσωτερικού προτύπου (συριγγικό οξύ)

Με χρήση μηχανικού σιφονίου, μεταφέρεται 1 mL του διαλύματος A2 (συριγγικό οξύ) σε ογκομετρική φιάλη των 100 mL. Προστίθεται δ/μα μεθανόλης/νερού (80/20 v/v) μέχρι την χαραγή. Η τελική συγκέντρωση του διαλύματος είναι: $C_{\text{is, syf}} = 0,015 \text{ mg/mL}$

Σημείωση: Τα διαλύματα είναι σταθερά αν διατηρηθούν στο ψυγείο (+4 °C) μέχρι 3 μήνες.

4.3.6. Πειραματική Διαδικασία

4.3.6.1. Πειραματική Πορεία (Εκχύλιση Βιοφαινολών)

1. Σε erpendorf σωλήνα 2 mL με βιδωτό πόμα, ζυγίζονται 0,4 g ελαιολάδου (με ακρίβεια 0,1 mg) και σημειώνεται η μάζα.
2. Μεταφέρονται 200 μL από το διάλυμα του εσωτερικού προτύπου Γ, στο δείγμα ελαιολάδου που ζυγίστηκε προηγουμένως. Πωματίζεται ο σωλήνας και αναδεύεται σε κυκλοαναδευτήρα για 30 s.
3. Προστίθενται 1 mL δ/τος μεθανόλης/νερού (80/20 v/v) με χρήση μηχανικού σιφονίου. Πωματίζεται ο σωλήνας και αναδεύεται σε κυκλοαναδευτήρα για 1 min.
4. Τοποθετούνται τα δείγματα στο λουτρό υπερήχων για 15 min, σε θερμοκρασία δωματίου.
5. Φυγοκεντρώνονται τα δείγματα για 25 min στις 5000 rpm.

6. Συλλέγεται η υδατο-μεθανολική φάση (υπερκείμενη) με πλαστική σύριγγα, προσέχοντας να μην παραληφθεί καθόλου η κατώτερη λιπαρή φάση και διηθείται μέσω φίλτρου PVDF 0,45 μm σε φιαλίδιο αυτόματου δειγματολήπτη 1.5 mL.
7. Τα δείγματα αποθηκεύονται στο ψυγείο (+4 °C), αν δεν πρόκειται να αναλυθούν την ίδια μέρα.

4.3.1.6.2. Πειραματική Πορεία (Υγροχρωματογραφική Ανάλυση HPLC)

1. Πριν ξεκινήσει η ανάλυση των δειγμάτων, πραγματοποιείται αρχικά απαέρωση των διαλυτών και έκλουσή τους με την αρχική αναλογία του βαθμιδωτού προγράμματος, ώστε να εξισορροπηθεί η στήλη, για τουλάχιστον 15 λεπτά.
2. Πραγματοποιείται ανάλυση λευκού δείγματος με έγχυση 10 μL δ/τος μεθανόλης/νερού (80/20, v/v). Με αυτόν τον τρόπο βεβαιώνεται η μη ύπαρξη παρεμποδιζουσών ουσιών.
3. Τοποθετούνται τα πρότυπα διαλύματα και τα δείγματα στον ειδικό δίσκο του αυτόματου δειγματολήπτη. Ο όγκος έγχυσης είναι 10 μL. Καταγράφονται τα χρωματογραφήματα στα 280 nm.
4. Μετά το τέλος της ανάλυσης όλων των δειγμάτων, η χρωματογραφική στήλη εκπλένεται με δ/μα μεθανόλης/ακετονιτριλίου (1:1 v/v) για τουλάχιστον 15 min.

4.3.1.7 Υπολογισμοί

Υπολογισμός των συντελεστών απόκρισης (RF)

$RF_{1\mu g}$ (συρινγγικό οξύ) = Εμβαδό συρινγγικού οξέος / μg συρινγγικού οξέος που εγχύθηκε

$RF_{1\mu g}$ (τυροσόλη) = Εμβαδό τυροσόλης / μg τυροσόλης που εγχύθηκε

Υπολογισμός του σχετικού συντελεστή απόκρισης (RRF):

$RRF_{\text{styr/tyr}} = RF_{1\mu g}(\text{συρινγγικό οξύ}) / RF_{1\mu g}(\text{τυροσόλη})$

Η τιμή του $RRF_{\text{styr/tyr}}$ θα πρέπει να είναι σταθερή και να βρίσκεται εντός του $5,1 \pm 0,4$. Επιτρέπει το τελικό αποτέλεσμα να εκφράζεται ως τυροσόλη, χρησιμοποιώντας το συρινγγικό οξύ ως εσωτερικό πρότυπο.

Υπολογισμός περιεκτικότητας βιοφαινολών σε παρθένο ελαιόλαδο

Η περιεκτικότητα σε βιοφαινόλες, εκφρασμένη σε mg/kg, υπολογίζεται σύμφωνα με τον ακόλουθο τύπο και το αποτέλεσμα εκφράζεται χωρίς δεκαδικό ψηφίο.

$$(\text{mg/kg}) = (\Sigma A) \times 1000 \times \text{RRF}_{\text{syr/tyr}} \times (\text{W}_{\text{syr}}) / (\text{A}_{\text{syr}}) \times (\text{W})$$

Όπου

(ΣΑ) είναι το άθροισμα των εμβαδών των κορυφών των βιοφαινολών που καταγράφηκε στα 280 nm

A_{syr} είναι το εμβαδό του εσωτερικού προτύπου του συρινγγικού οξέος που καταγράφεται στα 280 nm

1000 είναι ο συντελεστής που χρησιμοποιείται για την έκφραση του αποτελέσματος σε mg/kg

W είναι η μάζα του ελαιολάδου που χρησιμοποιήθηκε, σε γραμμάρια

RRF_{syr/tyr} είναι ο σχετικός συντελεστής απόκρισης για την έκφραση του αποτελέσματος ως τυροσόλη

W_{syr} είναι η μάζα (σε mg) του συρινγγικού οξέος που προστέθηκε στο δείγμα

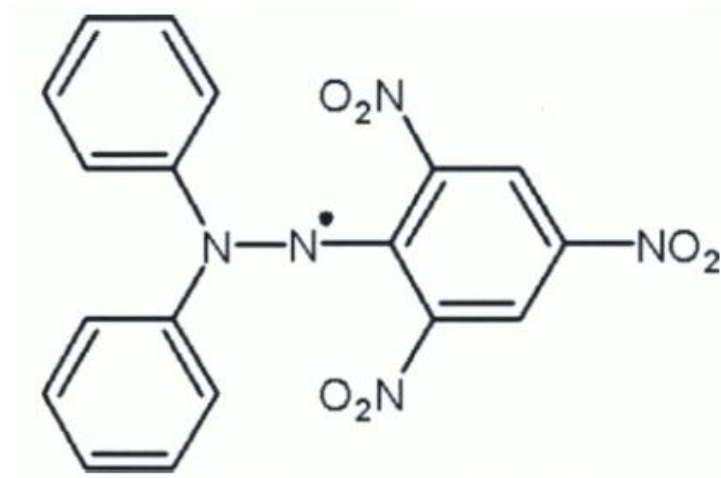
4.4. Προσδιορισμός Αντιοξειδωτικής Ικανότητας με την Μέθοδο DPPH

4.4.1. Σκοπός

Ο προσδιορισμός της αντιοξειδωτικής ικανότητας των εξεταζόμενων μονοποικιλιακών εξαιρετικών παρθένων ελαιολάδων.

4.4.2. Αρχή Μεθόδου

Η DPPH είναι μια φασματοφωτομετρική μέθοδος εκτίμησης της αντιοξειδωτικής ικανότητας και στηρίζεται στη χρήση της σταθερής ελεύθερης ρίζας DPPH• (2,2-διφαινυλο-1-πικρυλοϋδραζύλιο) (Σχήμα 8). Η ρίζα αυτή έχει μωβ χρώμα και όταν αντιδρά με ένα δότη υδρογόνου (αντιοξειδωτικό) αλλάζει μοριακή δομή η οποία συνοδεύεται με εξαφάνιση του μωβ χρώματος (μένει ένα ωχροκίτρινο χρώμα λόγω της παρουσίας των εναπομεινάντων πικρικών ομάδων). Όσο μεγαλύτερη η αντιοξειδωτική ικανότητα του δείγματος τόσο μικρότερη η απορρόφηση (μεγαλύτερη εξουδετέρωση ρίζας άρα και χρώματος). Η μέθοδος αυτή παρουσιάστηκε για πρώτη φορά το 1958 από τον Marsden Blois. Πρόκειται για μια απλή, οικονομική και γρήγορη διαδικασία που για να πραγματοποιηθεί χρειάζεται ουσιαστικά μόνο ένα φασματοφωτόμετρο, και αυτό ίσως να εξηγεί την τόσο διαδεδομένη χρήση της στον έλεγχο των αντιοξειδωτικών. Οι μετρήσεις πραγματοποιούνται περίπου μια ώρα μετά την παρασκευή του διαλύματος στα 520-700 nm. Μεγαλύτερη αντιοξειδωτική ικανότητα συνεπάγεται αυξημένη δέσμευση των ελευθέρων (κατά τα άλλα σταθερών) ριζών του DPPH, και κατά επέκταση μειωμένη τιμή απορρόφησης (Molyneux 2004; Prior et al. 2005; Sochor et al. 2010; Atanassova et al. 2011; Roginsky & Lissy, 2005).



Σχήμα 8: Η ελεύθερη ρίζα DPPH (Molyneux, 2004)

4.4.3. Υλικά και Αντιδραστήρια

- DPPH (2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl)
- Μεθανόλη
- Γαλλικό οξύ, 99+ %
- Νερό απιονισμένο

4.4.4. Όργανα και Εξοπλισμός

- Αναλυτικός ζυγός
- Λουτρό υπερήχων
- Μηχανικό σιφόνιο των 100 μL
- Ποτήρια ζέσεως
- Ογκομετρικές φιάλες των 25 mL και των 10 mL
- Πλαστική πιπέτα Pasteur
- Σιφόνι των 10 mL με πλαστικό πουάρ
- Γυάλινοι κωνικοί σωλήνες με πώμα
- Φασματοφωτόμετρο JASCO
- Πλαστικές κυψελίδες

4.4.5. Παρασκευή Πρότυπων Διαλυμάτων

4.4.5.1. Παρασκευή μητρικού διαλύματος DPPH

Ζυγίζονται περίπου 0,014 g (με ακρίβεια 0,1 mg) DPPH (M_r DPPH: 394,32 g/mol) σε ογκομετρική φιάλη των 25 mL και στη συνέχεια διαλύεται σε μεθανόλη συμπληρώνοντας μέχρι την χαραγή (τελική συγκέντρωση περίπου 1,4 mM). Πριν συμπληρωθεί μέχρι τη χαραγή με μεθανόλη όμως, όλη η ποσότητα του στερεού θα πρέπει να διαλυτοποιηθεί με αρκετά καλή ανάδευση, ενώ είναι τυλιγμένο με αλουμινόχαρτο. Τοποθετείται στο λουτρό υπερήχων για 10 λεπτά και έπειτα συμπληρώνεται μέχρι τη χαραγή με μεθανόλη.

4.4.5.2. Παρασκευή διαλύματος εργασίας DPPH

Λαμβάνονται 10 mL του μητρικού διαλύματος DPPH (που παρασκευάστηκε προηγουμένως) με σιφόνιο και μεταφέρονται σε ογκομετρική φιάλη των 25 mL και συμπληρώνεται με μεθανόλη μέχρι την χαραγή (τελική συγκέντρωση περίπου 140 μM).

4.4.5.3. Παρασκευή πρότυπου διαλύματος γαλλικού οξέος

Ποσότητα γαλλικού οξέος (Mr γαλλικού οξέος: 170,12 g/mol) 0,1 g ζυγίζεται σε ογκομετρική φιάλη των 25 mL και στη συνέχεια συμπληρώνεται με μεθανόλη/νερό 60:40 v/v μέχρι την χαραγή.

4.4.5.4. Παρασκευή διαλύματος εργασίας γαλλικού οξέος

Μεταφέρονται 100 μ L του μητρικού δ/τος γαλλικού οξέος σε ογκομετρική φιάλη των 10 mL και στη συνέχεια συμπληρώνεται με μεθανόλη/νερό 60:40 v/v μέχρι την χαραγή.

4.4.5.5. Παρασκευή διαλυμάτων βαθμονόμησης

Ποσότητα διαλύματος εργασίας γαλλικού οξέος (που παρασκευάστηκε προηγουμένως) μεταφέρεται σε ογκομετρικές φιάλες των 10 mL (Πίνακας 7) και στη συνέχεια αραιώνεται μέχρι τη χαραγή με μεθανόλη/νερό 60:40 v/v.

Πίνακας 7: Ποσότητες διαλυμάτων βαθμονόμησης

μ L Διαλύματος Εργασίας σε 10 mL	Συγκέντρωση μ M	Βαθμονόμηση Cal #
50	1	Cal1
100	2	Cal2
200	4	Cal3
400	8	Cal4
600	12	Cal5
800	16	Cal6

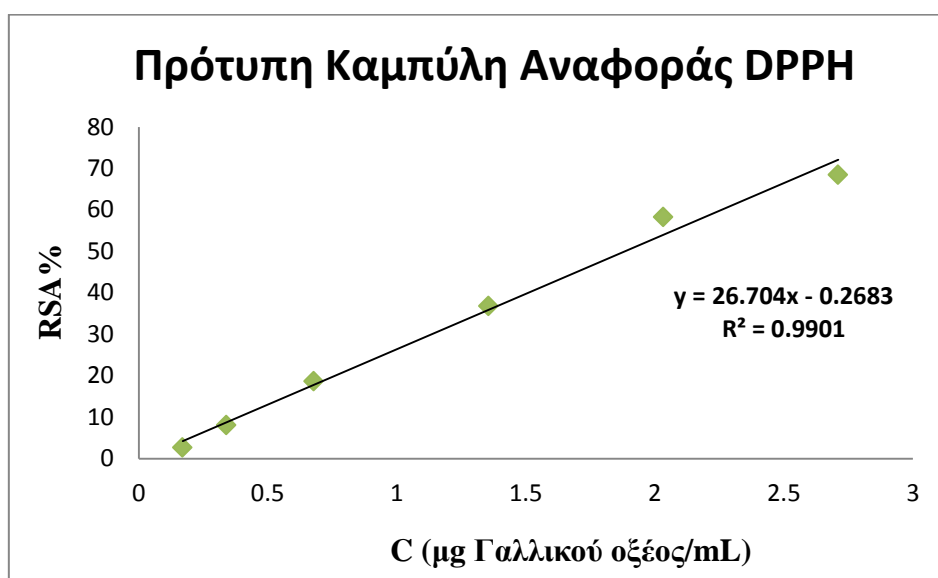
4.4.6. Πειραματική Πορεία

1. Δείγματα Ελαιολάδου: Σε γυάλινα σωληνάκια τοποθετείται 100 μ L μεθανολικό εκχύλισμα του κάθε δείγματος (το οποίο παραλήφθηκε σύμφωνα με τον προσδιορισμό των βιοφαινολών, βλ. 4.3. και 900 μ L μεθανόλη. Η διαδικασία επαναλαμβάνεται άλλη μια φορά για το κάθε δείγμα ξεχωριστά.
2. Στη συνέχεια γίνεται προσθήκη 1 mL από το διάλυμα εργασίας του DPPH (που έχει συγκέντρωση 140 μ M)
3. Πρότυπα Δείγματα: Σε γυάλινα σωληνάκια τοποθετείται 1 mL από κάθε διάλυμα βαθμονόμησης και 1 mL από το διάλυμα εργασίας του DPPH. Η διαδικασία επαναλαμβάνεται άλλη μια φορά για το κάθε πρότυπο ξεχωριστά.
4. Δείγμα Ελέγχου: Σε γυάλινο σωληνάκι τοποθετείται 100 μ L μεθανόλη/νερό 60:40 v/v, 900 μ L μεθανόλη και 1 mL από το διάλυμα εργασίας DPPH.
5. Όλα τα δείγματα τοποθετούνται σε σκοτεινό μέρος για διάστημα μίας ώρας και στη συνέχεια μετρείται η απορρόφηση στα 515 nm.
6. Για το μηδενισμό του οργάνου χρησιμοποιείται μεθανόλη.

Σημείωση: Η τελική συγκέντρωση του κάθε δείγματος ελαιολάδου στο σωληνάκι θα πρέπει να είναι περίπου 0,025 g/mL, ενώ η τελική συγκέντρωση του DPPH να είναι περίπου 70-85 μM.

4.4.7. Δημιουργία Πρότυπης Καμπύλης Αναφοράς

Για την κατασκευή πρότυπης καμπύλης αναφοράς γαλλικού οξέος παρασκευάζονται με διαδοχικές αραιώσεις από το διάλυμα εργασίας γαλλικού διαλύματα με εύρος συγκεντρώσεων 0,1-3,0 μg/mL. Η καμπύλη αναφοράς, μετά τις μετρήσεις των απορροφήσεων απεικονίζεται στο παρακάτω **Διάγραμμα 2**:



Διάγραμμα 2: Πρότυπη Καμπύλη Αναφοράς DPPH

4.4.8. Υπολογισμοί

Για τον υπολογισμό του RSA% (Radical Scavening Activity – Ικανότητα δέσμευσης ριζών) χρησιμοποιείται ο ακόλουθος τύπος:

$$\text{RSA \%} = 100\% \times (\text{A}_{\text{ελέγχου}} - \text{A}_{\text{δείγματος}}) / \text{A}_{\text{ελέγχου}}$$

Όπου

$\text{A}_{\text{ελέγχου}}$ και $\text{A}_{\text{δείγματος}}$ είναι οι απορροφήσεις του δείγματος ελέγχου (control) και του άγνωστου δείγματος (sample)

Από την καμπύλη βαθμονόμησης, το αποτέλεσμα εκφράστηκε ως μg ισοδυνάμων γαλλικού οξέος / g ελαιολάδου.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5: Αποτελέσματα και Συζήτηση

Είναι γεγονός ότι η Ελλάδα έχει αρκετές καλλιεργήσιμες ποικιλίες ελιάς ανά περιοχή από τις οποίες προκύπτει πληθώρα ελαιολάδων. Ωστόσο, η παρούσα ερευνητική εργασία εστίασε στη συλλογή και μελέτη των μονοποικιλιακών εξαιρετικών παρθένων ελαιολάδων που κυκλοφορούν εμφιαλωμένα στο εμπόριο. Ο χαρακτηρισμός του ελαιολάδου ως «μονοποικιλιακό» βασίστηκε αποκλειστικά στην ετικέτα του προϊόντος. Προς εκπλήρωση αυτού του στόχου, πραγματοποιήθηκε έρευνα αγοράς σε φυσικά και διαδικτυακά καταστήματα. Προς μεγάλη μας έκπληξη, τα προϊόντα με τον χαρακτηρισμό «μονοποικιλιακό» ήταν δυσεύρετα. Σημαντικό πρόβλημα αποτέλεσε και η μη λεπτομερής επισήμανση των προϊόντων από αρκετούς ελαιοπαραγωγούς. Συγκεκριμένα, η νομοθεσία επισήμανσης του ελαιολάδου (ΕΦΕΤ, 2012) δεν καθορίζει (ακόμη) ως υποχρεωτική ένδειξη «μονοποικιλιακό-είδος ποικιλίας», με αποτέλεσμα να δυσχεραίνεται η έρευνα στην αναζήτηση δειγμάτων. Παρακάτω διατίθεται ένας χάρτης με τον τόπο προέλευσης των δεκατεσσάρων ελαιολάδων που αναλύθηκαν στην παρούσα μελέτη. Όπως μπορεί να παρατηρήσει κανείς, τα περισσότερα δείγματα της αγοράς εντοπίστηκαν στις πιο βασικές περιοχές ελαιοκαλλιέργειας της νότιας Ελλάδας. Είναι γεγονός, ότι η πλειοψηφία των προϊόντων που κυκλοφορούν στο εμπόριο έχουν παραχθεί από την ποικιλία Κορωνέικη. Αξίζει να σημειωθεί, ότι σε αρκετά δείγματα η ετικέτα δεν έφερε την ημερομηνία παραγωγής ή/και ανάλωσης του προϊόντος.



Εικόνα 4: Χάρτης της Ελλάδας με τους νομούς και τα δείγματα ανά περιοχή που αναλύθηκαν

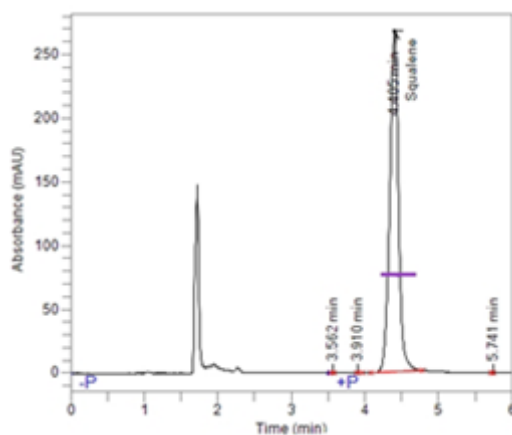
5.1. Αποτελέσματα Προσδιορισμού Σκουαλενίου

Το σκουαλένιο δεν παίζει πρωταρχικό ρόλο στη σταθερότητα του εξαιρετικού παρθένου ελαιολάδου (Ψωμάδου & Τσιμίδου 1999), ωστόσο έχει προταθεί ότι συμβάλλει στην αναγέννηση της α-τοκοφερόλης από την ελεύθερη ρίζα τοκοφεροξυλίου (Velasco & Dobarganes 2002; Manzi et al., 1998; Roberto Ambra et al., 2017).

Εξετάστηκαν τα δεκατέσσερα δείγματα μονοποικιλιακών εξαιρετικών παρθένων ελαιολάδων με την μέθοδο που περιγράφεται στο πειραματικό μέρος. Ωστόσο, πριν καταλήξουμε στην τελική μέθοδο ανάλυσης, πραγματοποιήθηκαν προκαταρκτικές δοκιμές, στηριζόμενοι στη βιβλιογραφία, προκειμένου να επιτευχθεί απομόνωση και προσδιορισμός του σκουαλενίου και των τοκοφερολών ταυτόχρονα. Πιο συγκεκριμένα, εφαρμόστηκε η μέθοδος που περιγράφεται από τους Sagratini et al., (2013), οι οποίοι αφού εκχύλισαν τον ελαιόκαρπο με εξάνιο, χρησιμοποίησαν φυσίγγιο πυριτίας (Silica gel) και ως διαλύτη έκλουσης μίγμα εξανίου/οξικού αιθυλεστέρα (9/1 v/v) για την απομόνωση του σκουαλενίου, τοκοφερολών και καροτενοειδών. Έπειτα, τα συστατικά αυτά διαχωρίστηκαν με HPLC (στήλη αντίστροφης φάσης) με ανιχνευτή υπεριώδους. Ωστόσο, τα αποτελέσματα των δοκιμών ανάκτησης δεν ήταν ικανοποιητικά. Στη συνέχεια, χρησιμοποιήθηκε μη εμπορικό φυσίγγιο SPE, το οποίο παρήχθη στο εργαστήριο, χωρίς ωστόσο να βελτιωθούν τα αποτελέσματα. Και στις δύο περιπτώσεις, το απομονωμένο κλάσμα σκουαλενίου-τοκοφερολών περιείχε μεγάλη ποσότητα τριακυλογλυκερολών, η οποία ήταν επιβλαβής για τη στήλη χρωματογραφίας. Αξίζει να σημειωθεί, ότι λόγω της μεγάλης διαφοράς μεταξύ της περιεκτικότητας του σκουαλενίου και των τοκοφερολών, η ανίχνευση των τελευταίων με PDA δεν ήταν επαρκής. Ως εκ τούτου, η ανωτέρω μέθοδος εγκαταλείφθηκε και αποφασίστηκε η εφαρμογή της μεθόδου που περιγράφεται στο πειραματικό μέρος, η οποία έχει μελετηθεί αρχικώς από τους Perez-Camino et al. (2002) ως μέθοδος καθαρισμού του κλάσματος των κηρών και μετέπειτα από τους Grigoriadou et al. (2007) για τη συλλογή δύο ξεχωριστών κλασμάτων σκουαλενίου και τοκοφερολών.

Έπειτα από τροποποίηση της σύστασης διαλυτών σε ακετονιτρίλιο/ακετόνη 70:30 (v/v) και της ροής της κινητής φάσης (1,5 mL/min), επιτεύχθηκε σαφής διαχωρισμός της κορυφής του σκουαλενίου από τα υπόλοιπα συστατικά (τα οποία ανευρίσκονταν σε πολύ μικρές ποσότητες, λόγω χρήσης SPE) σε μόλις έξι λεπτά. Ένα επιπλέον πλεονέκτημα της μεθόδου ως προς την ταχύτητα, αποτελεί το γεγονός ότι ο διαχωρισμός επιτυγχάνεται με ισοκρατικό σύστημα, οπότε δεν απαιτείται περαιτέρω χρόνος εξισορρόπησης της στήλης και το κλάσμα σκουαλενίου είναι ελεύθερο τριακυλογλυκερολών.

Παρακάτω παρατίθεται ενδεικτικά ένα χρωματογράφημα του δείγματος KOL-Les3 που προέκυψε από την χρωματογραφική ανάλυση:

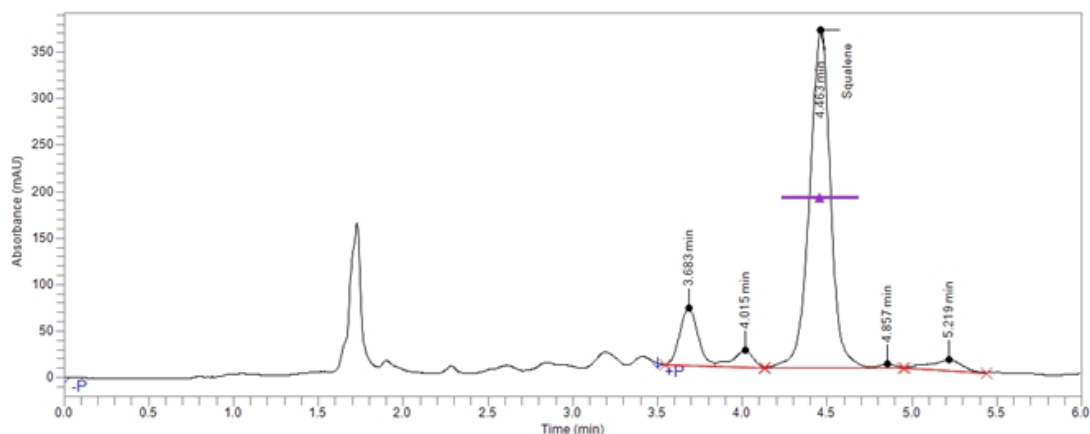


Σχήμα 9: Χρωματογράφημα δείγματος KOL-Les3 για το σκουαλένιο

Η επαναληψιμότητα της μεθόδου ελέγχθηκε στο δείγμα KOL-Les3 έξι φορές (n=6) και βρέθηκε ικανοποιητική (RSD% = 2,3). Παρόμοιες τιμές έχουν αναφερθεί από τους Grigoriadou et al. (2007) και τους Perez-Camino et al. (2002) για SPE-GC. Η ανάκτηση της μεθόδου ελέγχθηκε σε επίπεδο προσθήκης 700 mg/kg, στο ανωτέρω δείγμα, λόγω της μικρής του περιεκτικότητας σε σκουαλένιο (2497 mg/kg). Η ανάκτηση που υπολογίστηκε μετά από έξι επαναλήψεις βρέθηκε ίση με $(101 \pm 8)\%$, τιμή άκρως ικανοποιητική, συγκριτικά με την αντίστοιχη $(88 \pm 9\%)$ των Grigoriadou et al. (2007). Ενδεχομένως, η διαφορά αυτή να οφείλεται ότι χρησιμοποιήθηκαν φυσίγγια SPE διαφορετικής εταιρείας στην παρούσα μελέτη.

5.1.1. Κλασματική κρυστάλλωση ως συγκριτική μέθοδος

Ως εναλλακτική και συγκριτική μέθοδος, επιλέχθηκε η κλασματική κρυστάλλωση των δειγμάτων μικρότερης και μεγαλύτερης συγκέντρωσης σκουαλενίου, λόγω της απλότητάς της. Εφαρμόστηκε η πορεία που περιγράφεται από τους Nenadis and Tsimidou (2002). Το **σχήμα 10** παρουσιάζει ένα χαρακτηριστικό χρωματογράφημα από τις μετρήσεις που έγιναν.



Σχήμα 10: Χρωματογράφημα HPLC δείγματος KOL-Les3 έπειτα από κλασματική κρυστάλλωση

Από τα αποτελέσματα προέκυψε ότι το δείγμα KOL-Les3 εμφάνισε πολύ μικρότερη συγκέντρωση σε σύγκριση με την συγκέντρωση που βρέθηκε με τη μέθοδο SPE καθώς η τιμή του ήταν 1682 (\pm 39) mg/kg σε σχέση με την τιμή 2497 (\pm 57) mg/kg της μεθόδου SPE. Παράλληλα, την ίδια συμπεριφορά είχε και το δείγμα με τη μεγαλύτερη συγκέντρωση σκουαλενίου (KOR-Kal3) καθώς η περιεκτικότητα σκουαλενίου βρέθηκε ίση με 3002 (\pm 313) mg/kg στην κλασματική κρυστάλλωση σε σχέση με την τιμή 5376 mg/kg της μεθόδου SPE. Οι τιμές αυτές αποτελούν την μέση τιμή τριών επαναλήψεων. Η μεγάλη διαφορά που παρατηρήθηκε ($P < 0,05$) ενδεχομένως να οφείλεται σε λάθος εφαρμογή της μεθόδου, δεδομένου ότι οι [Nenadis et Tsimidou \(2002\)](#) αναφέρουν ανακτήσεις της τάξεως 80-90%.

Επίσης, παρατηρώντας τα χρωματογραφήματα που προέκυψαν με τη μέθοδο της κλασματικής κρυστάλλωσης, είναι εμφανές ότι περιέχουν και άλλες ουσίες σε σημαντικά ποσοστά, συγκριτικά με τα αντίστοιχα της μεθόδου SPE. Οπότε η μέθοδος SPE θεωρήθηκε ως η πιο κατάλληλη μέθοδος για την απομόνωση του σκουαλενίου. Γενικά, η εκχύλιση στερεάς φάσης (SPE) είναι μια βολική προσέγγιση για την προετοιμασία του δείγματος καθώς απαιτεί μικρή ποσότητα δείγματος, μικρούς όγκους οργανικών διαλυτών, ενώ η διαδικασία επιτυγχάνεται σε πολύ μικρότερη χρονική διάρκεια σε σχέση με άλλες τεχνικές ([Aluyor, et al., 2009](#)).

5.1.3. Περιεκτικότητα σκουαλενίου στα δείγματα ελαιολάδων

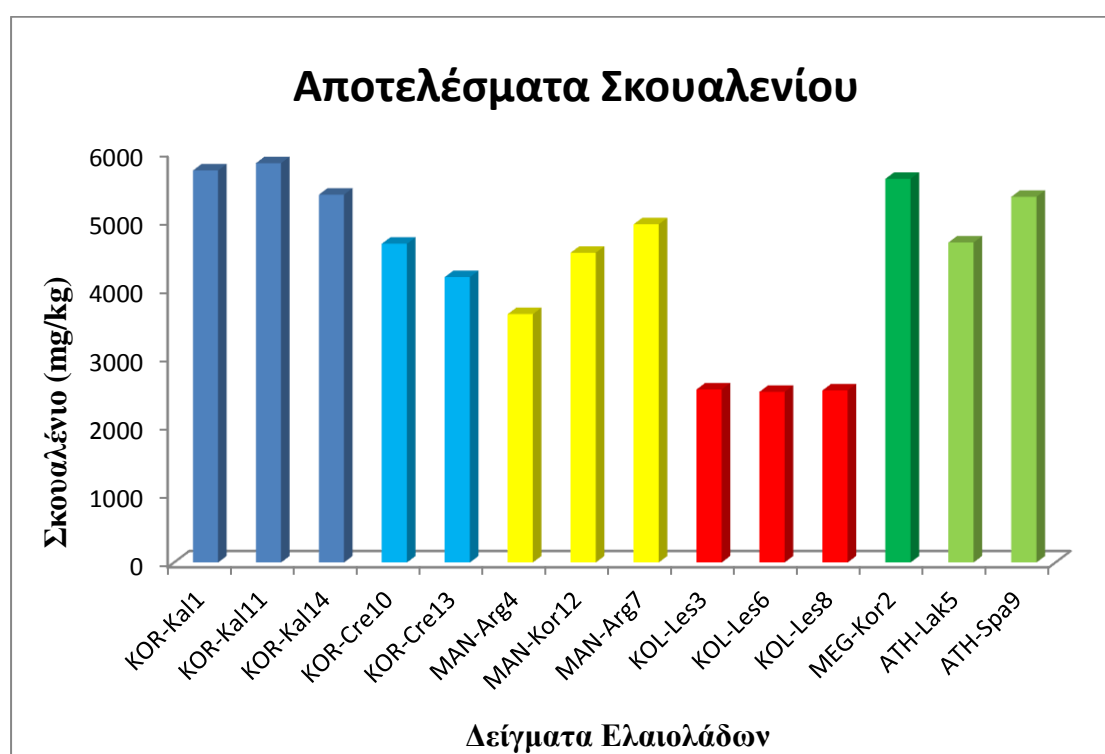
Τα τελικά αποτελέσματα που προέκυψαν από τα πειράματα προσδιορισμού περιεκτικότητας σκουαλενίου σε κάθε δείγμα ξεχωριστά εκφρασμένα σε mg/kg ελαιολάδου, συνοψίζονται στον **Πίνακα 8**.

Πίνακας 8: Περιεκτικότητα σκουαλενίου σε ελληνικά μονοποικιλιακά εξαιρετικά παρθένα ελαιολάδα

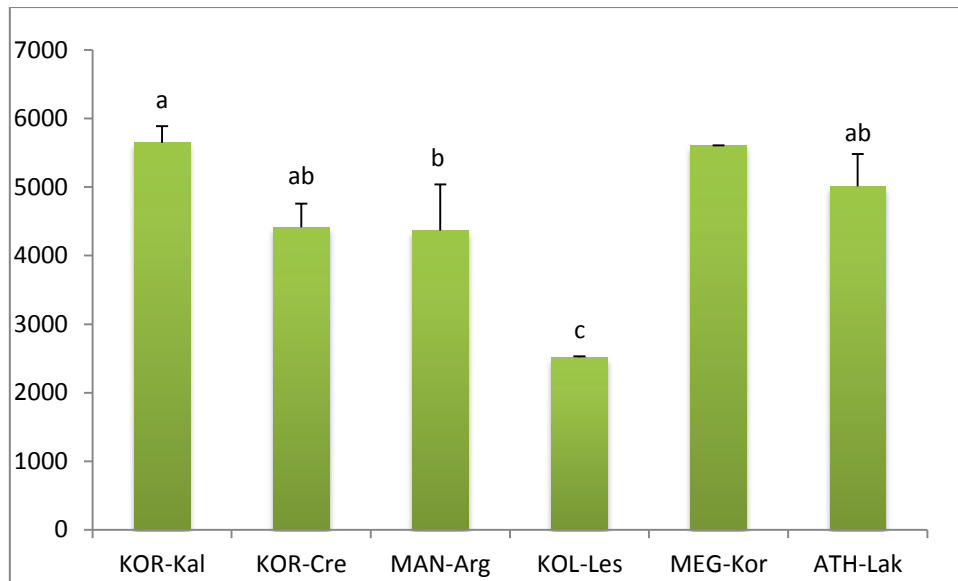
Δείγματα Μονοποικιλιακών ΕΠΕ	Συγκέντρωση Σκουαλενίου* (mg/kg)
KOR-Kal1	5729
KOR-Kal2	5836
KOR-Kal3	5376
KOR-Cre1	4659
KOR-Cre2	4172
MAN-Arg1	3631
MAN-Kor1	4528
MAN-Arg2	4943
KOL-Les1	2531
KOL-Les2	2496
KOL-Les3	2518
MEG-Kor1	5607
ATH-Lak1	4676
ATH-Spa2	5345

*Προκύπτει από την μέση τιμή δύο επαναληπτικών μετρήσεων

Στο **Διάγραμμα 3** αποτυπώνονται πιο παραστατικά τα ανωτέρω αποτελέσματα, ενώ στο **Διάγραμμα 4** παρουσιάζεται η μέση τιμή της περιεκτικότητας σκουαλενίου ανά ποικιλία-περιοχή. Τα αποτελέσματα υποβλήθηκαν σε μονόδρομη ανάλυση της διακύμανσης (One-Way ANOVA) και οι μέσες τιμές συγκρίθηκαν με τη δοκιμή Tukey (στάθμη εμπιστοσύνης 95%), χρησιμοποιώντας το πρόγραμμα Statgraphics Centurion 16.1.11. Προέκυψε στατιστικώς σημαντική διαφορά ($P < 0,05$) μεταξύ των ποικιλιών. Το ελαιόλαδο της ποικιλίας Κορωνέικη (Μεσσηνία) είχε την μεγαλύτερη περιεκτικότητα σε σκουαλένιο, ενώ το ελαιόλαδο της ποικιλίας Κολοβή (Λέσβος) την μικρότερη. Η τελευταία διαφέρει σημαντικά ($P < 0,05$) από όλες τις υπόλοιπες ποικιλίες. Τα υπόλοιπα δείγματα εμφάνισαν ενδιάμεσες τιμές, οι οποίες δεν διέφεραν σημαντικά ($P > 0,05$) μεταξύ τους και με την Κορωνέικη (Καλαμάτα), εκτός από την ποικιλία Μανάκι που είχε μικρότερη τιμή από την ποικιλία Κορωνέικη (Καλαμάτα). Το ελαιόλαδο της ποικιλίας Μεγαρίτικη (Κόρινθος) φαίνεται να έχει παραπλήσια τιμή με την ποικιλία Κορωνέικη (Καλαμάτα). Παρόλα αυτά δεν μπορεί να εξαχθεί στατιστικό συμπέρασμα λόγω του ενός δείγματος από τη συγκεκριμένη ποικιλία (δεν συμπεριλήφθηκε στην στατιστική ανάλυση).



Διάγραμμα 3: Περιεκτικότητα σκουαλενίου σε ελληνικά μονοποικιλιακά εξαιρετικά παρθένα ελαιόλαδα



Διάγραμμα 4: Μέση τιμή περιεκτικότητας σκουαλενίου (mg/kg \pm SD) σε ελληνικά μονοποικιλιακά εξαιρετικά παρθένα ελαιόλαδα (διαφορετικά γράμματα υποδηλώνουν στατιστικώς σημαντική διαφορά, $P < 0,05$)

Σύμφωνα με τη βιβλιογραφία, οι [Cert et al. \(2000\)](#) αλλά και σε μεταγενέστερη μελέτη οι [Murkovic et al. \(2004\)](#), αναφέρουν ότι η συγκεντρωση σκουαλενίου είναι μεταξύ 0,8 και 12 g/kg στο παρθένο ελαιόλαδο, κάτι που συμφωνεί με τα αποτελέσματα της παρούσας εργασίας, καθώς οι συγκεντρώσεις σκουαλενίου είναι μεταξύ 2,5-5,8 g/kg. Σε μια άλλη μελέτη ([Anniva and Tsimidou, 2009](#)) επίσης αναφέρεται ότι τα επίπεδα σκουαλενίου στο παρθένο ελαιόλαδο κυμαίνονται από περίπου 1 έως 12 g/kg. Συγκεκριμένα, τα ελληνικά παρθένα ελαιόλαδα καλής ποιότητας αναφέρεται ότι έχουν μέση περιεκτικότητα σκουαλενίου 3-7 g/kg. Τέλος ο C. Samaniego-Sanchez και οι συνεργάτες του βρήκαν ένα εύρος συγκεντρώσεων σκουαλενίου από 5,0 μέχρι 6,5 g/kg ([Samaniego-Sanchez et al., 2010](#)).

Συγκριτικά με την επίδραση της ποικιλίας στα επίπεδα σκουαλενίου, έχει διαπιστωθεί ότι οι συγκεντρώσεις σκουαλενίου επηρεάζονται σε σημαντικό βαθμό ([Manzi, et al., 1998](#); [Fernández-Cuesta et al., 2013](#)). Ωστόσο, είναι ελάχιστες οι μελέτες που συσχέτισαν την ποικιλία και την περιεκτικότητα σε σκουαλενίου σε μονοποικιλιακά εξαιρετικά παρθένα ελαιόλαδα. Μία από αυτές ήταν η μελέτη του [Laroussi-Mezghani και των συνεργατών του \(2015\)](#) όπου έγινε σύγκριση μεταξύ τυνισιακών ποικιλιών (Chemchali, Oueslati, Chetoui, Zarrazi, Chemlali Sfax, και Zalmati) και του ποσοστού των συνολικών λιπαρών οξέων και σκουαλενίου. Τα αποτελέσματα της έρευνας έδειξαν ότι η περιεκτικότητα σκουαλενίου όχι μόνο εξαρτάται από την ποικιλία αλλά και την γεωγραφική προέλευση. Αναλυτικότερα, τα υψηλότερα επίπεδα σκουαλενίου παρατηρήθηκαν στην ποικιλία Chemchali (0,68%) και στην Oueslati (0,52%). Τα ελαιόλαδα Chetoui και Zarrazi έχουν συγκρίσιμες τιμές σκουαλενίου (0,46%) ενώ οι ποικιλίες Chemlali Sfax και Zalmati έδειξαν το χαμηλότερο ποσοστό σκουαλενίου (0,28%). Τα αποτελέσματα αυτά δεν είναι συγκρίσιμα με τα αντίστοιχα της παρούσας μελέτης καθώς η γεωγραφική προέλευση και οι ποικιλίες διαφέρουν.

Την ίδια άποψη είχε και ο Roberto Ambra με τους συνεργάτες του, (2017) που εξέτασαν ιταλικά μονοποικιλιακά ελαιόλαδα ως προς το περιεχόμενό τους σε σκουαλενίου και άλλα βιοδραστικά συστατικά. Οι τιμές του σκουαλενίου συγκεκριμένα ήταν μεταξύ 484 ± 128 mg/100 g και 825 ± 75 mg/100 g. Από την άλλη, δεν βρέθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές σε σχέση με τον τύπο του διαχωριστήρα που χρησιμοποιήθηκε, ενδεχομένως λόγω του λιπόφιλου χαρακτήρα του σκουαλενίου.

Το σκουαλενίου έχει αναφερθεί ότι μπορεί να χρησιμοποιηθεί και ως δείκτης προέλευσης σε Λιβανέζικα ελαιόλαδα σε υποπεριφερειακό επίπεδο (Merchak et al., 2017). Παράλληλα, άλλες μελέτες έγιναν για τη συσχέτιση της συγκέντρωσης σκουαλενίου σε δείγματα κορωνέικης ποικιλίας με το επίπεδο ωρίμανσης και τις μεθόδους καλλιέργειας (οργανική ή συμβατική). Τα αποτελέσματα των μελετών έδειξαν ότι οι συγκεντρώσεις σκουαλενίου μεταβάλλονται ανάλογα με τη φάση ωρίμανσης αλλά δεν επηρεάζονται από την χρονιά παραγωγής ούτε από την καλλιεργητική μέθοδο (Anastasopoulos et al., 2011).

Μια άλλη μελέτη ισχυροποιεί την άποψη αυτή καθώς έχει βρεθεί ότι η περιεκτικότητα σκουαλενίου στη σάρκα του καρπού σε ισπανικές ποικιλίες «Arbequina» και «Picual» από το μήνα Σεπτέμβριο έως Δεκέμβριο αυξάνεται ανάλογα με τη φάση ωρίμανσης. Ωστόσο μπορεί η περιεκτικότητα σκουαλενίου να μειωθεί στο παραγόμενο ελαιόλαδο (σε σχέση με τον καρπό) καθώς ενδέχεται να χρησιμοποιηθεί για τη βιοσύνθεση στερολών και τριτερπενίων. Είναι σημαντικό να ληφθεί υπόψη ότι η συγκέντρωση του σκουαλενίου στο έλαιο όχι μόνο εξαρτάται από την περιεκτικότητα της ελιάς σε σκουαλενίου, αλλά και από την περιεκτικότητα σε έλαιο μέσα στον καρπό (Fernández-Cuesta et al., 2013).

Σε αντιπαράθεση με τα παραπάνω ευρήματα είναι τα αποτελέσματα του κ. Baccouri με τους συνεργάτες του (2008), όπου εξετάζοντας μονοποικιλιακά τυνισιακά δείγματα ελαιολάδου, τα δείγματα ποικιλίας Chemlali παρουσιάζουν την υψηλότερη περιεκτικότητα σκουαλενίου φθάνοντας στα $10,5$ g/kg ελαιόλαδου. Κατά τη διάρκεια της διαδικασίας ωρίμανσης όμως, αυτό το επίπεδο, μειώθηκε αξιοσημείωτα κάτω από 2 g/kg ελαιόλαδου. Η ίδια συμπεριφορά παρατηρήθηκε στα ελαιόλαδα ποικιλίας Che'toui όπου η περιεκτικότητα σκουαλενίου υποχώρησε σταδιακά από $5,99$ σε $3,58$ g/kg, καθώς η ωρίμανση προχωρούσε. Ωστόσο, στα ελαιόλαδα Che'toui που ελήφθησαν υπό συνθήκες βροχής, η εν λόγω περιεκτικότητα αυξήθηκε μέχρι να φθάσει το μέγιστο των $8,3$ g/kg κατά το τέταρτο στάδιο της ωρίμανσης της ελιάς, κατόπιν μειώθηκε. Αυτά τα αποτελέσματα δεν μπόρεσαν να επιβεβαιωθούν στη βιβλιογραφία, επειδή δεν υπήρξε άλλη μελέτη σχετικά με το θέμα.

Συμπερασματικά, τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης υποδεικνύουν την επίδραση της ποικιλίας ελιάς στο περιεχόμενο του σκουαλενίου αλλά προκειμένου να ισχυροποιηθεί αυτό το εύρημα, απαιτείται η ανάλυση μεγαλύτερου αριθμού δειγμάτων. Τέλος, φαίνεται ότι η ποικιλία Κολοβή διαφοροποιείται σημαντικά από τις υπόλοιπες ποικιλίες που εξετάστηκαν, παρουσιάζοντας το μικρότερο περιεχόμενο σε σκουαλενίου.

5.2. Αποτελέσματα προσδιορισμού α -Τοκοφερόλης

Η α -τοκοφερόλη είναι η πιο σημαντική λιπόφιλη ένωση στο εξαιρετικό παρθένο ελαιόλαδο καθώς δρα, μαζί με τα φαινολικά, ως παράγοντας δέσμευσης ελευθέρων ριζών, αναστέλλοντας τη φωτοξείδωση που προκαλείται από το οξυγόνο απλής κατάστασης, αυξάνοντας έτσι την σταθερότητα του ελαιολάδου υπό την παρουσία φωτός (Kamal-Elding & Appelqvist, 1996; Ambra et al., 2017). Έχει αναφερθεί επίσης ότι η α -τοκοφερόλη έχει τη μεγαλύτερη δραστικότητα βιταμίνης E ενώ η δ -τοκοφερόλη εμφανίζεται να διαθέτει τη μεγαλύτερη αντιοξειδωτική ικανότητα (Fujisawa, Dunlap & Yamamoto, 2010;). Σ' αυτό το σημείο θα πρέπει να σημειωθεί ότι η α -τοκοφερόλη αντιπροσωπεύει το 90-95% των συνολικών τοκοφερολών σε ένα δείγμα ελαιολάδου (Xiang et al., 2017).

Εξετάστηκαν τα δεκατέσσερα δείγματα μονοποικιλιακών εξαιρετικών παρθένων ελαιολάδων ως προς το περιεχόμενό τους σε α -τοκοφερόλη. Η τελική μέθοδος που εφαρμόστηκε στο εργαστήριο βασίστηκε στο πρότυπο **ES ISO 9936:2012** και πραγματοποιήθηκε χωρίς να γίνει κάποια τροποποίηση στην τυπική πειραματική διαδικασία. Όλα τα δείγματα αναλύθηκαν εις διπλούν και τα παρουσιάζονται στον **Πίνακα 9**.

Πίνακας 9: Περιεκτικότητα τοκοφερολών σε ελληνικά μονοποικιλιακά εξαιρετικά παρθένα ελαιόλαδα

Δείγματα Μονοποικιλιακών ΕΠΕ	Συγκέντρωση α -τοκοφερόλης* (mg/kg)
KOR-Kal1	402
KOR-Kal2	221
KOR-Kal3	242
KOR-Cre1	286
KOR-Cre2	208
MAN-Arg1	217
MAN-Kor1	241
MAN-Arg2	269
KOL-Les1	516
KOL-Les2	317
KOL-Les3	292
MEG-Kor1	403
ATH-Lak1	483
ATH-Spa2	239

*Μέση τιμή δύο επαναληπτικών μετρήσεων του αθροίσματος α -, β - και γ -τοκοφερόλης

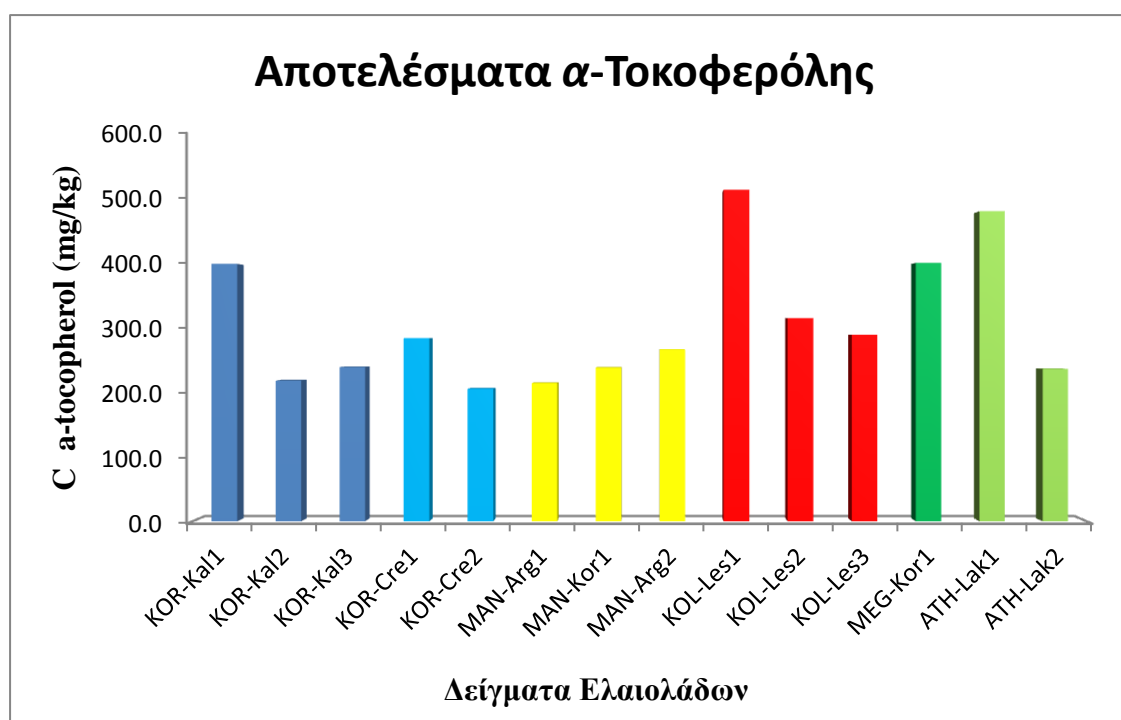
Στο **Διάγραμμα 5** αποτυπώνονται πιο παραστατικά τα ανωτέρω αποτελέσματα, ενώ στο **Διάγραμμα 6** παρουσιάζεται η μέση τιμή της περιεκτικότητας α -τοκοφερόλης ανά ποικιλία-περιοχή. Τα αποτελέσματα υποβλήθηκαν σε μονόδρομη ανάλυση της διακύμανσης (One-Way ANOVA) και οι μέσες τιμές συγκρίθηκαν με τη δοκιμή Tukey (στάθμη εμπιστοσύνης 95%), χρησιμοποιώντας το πρόγραμμα Statgraphics

Centurion 16.1.11. Δεν προέκυψε στατιστικώς σημαντική διαφορά ($P>0,05$) μεταξύ των ποικιλιών. Αυτό οφείλεται στη μεγάλη διασπορά των τιμών μεταξύ της ίδιας ποικιλίας. Αυτό μπορεί να οφείλεται στη διαφορετική ηλικία των ελαιολάδων καθώς και στον τρόπο αποθήκευσης, λαμβάνοντας υπόψη ότι τα δείγματα ήταν εμπορικά και επομένως είναι άγνωστες οι συνθήκες συντήρησής τους.

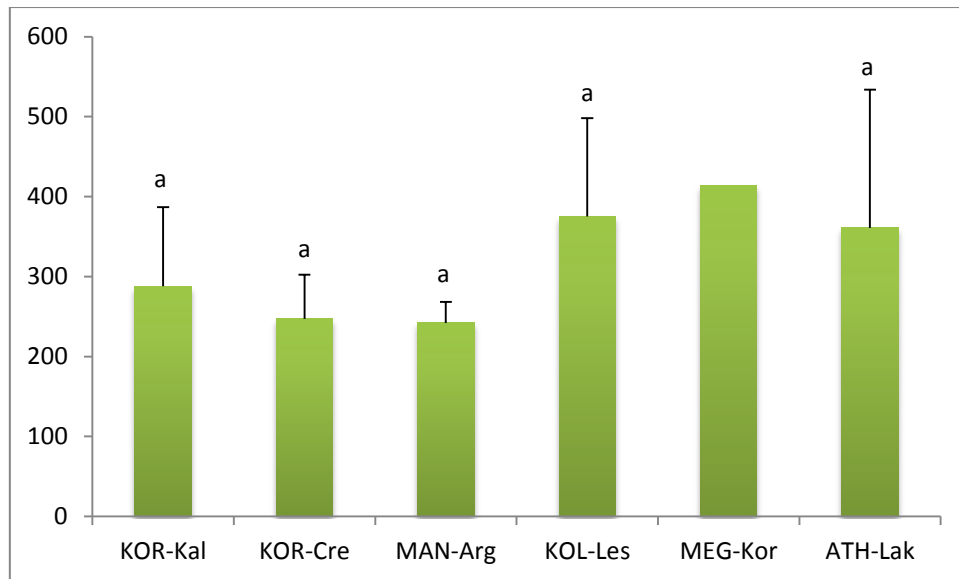
Η μεγαλύτερη συγκέντρωση α -τοκοφερόλης βρέθηκε στα δείγματα KOL-Les1 και ATH-Lak1 ενώ τις μικρότερες τιμές εμφάνισαν τα δείγματα KOR-Cre2 και MAN-Arg1 (Διάγραμμα 5).

Σύμφωνα με το **Διάγραμμα 6**, το ελαιόλαδο της ποικιλίας Κολοβή (Λέσβος) είχε την μεγαλύτερη περιεκτικότητα σε τοκοφερόλη, ενώ το ελαιόλαδο της ποικιλίας Μανάκι την μικρότερη. Το ελαιόλαδο της ποικιλίας Μεγαρίτικη δεν υποβλήθηκε σε στατιστική ανάλυση, ωστόσο φαίνεται να έχει μεγάλη περιεκτικότητα σε τοκοφερόλη.

Συμπερασματικά, η ποικιλία της ελιάς δεν φαίνεται να αποτελεί καθοριστικό παράγοντα στα τελικά επίπεδα τοκοφερολών στο ελαιόλαδο.



Διάγραμμα 5: Αποτελέσματα Προσδιορισμού α -Τοκοφερόλης



Διάγραμμα 6: Μέση τιμή περιεκτικότητας βιοφαινολών (mg/kg ± SD) σε ελληνικά μονοποικιλιακά εξαιρετικά παρθένα ελαιόλαδα (διαφορετικά γράμματα υποδηλώνουν στατιστικώς σημαντική διαφορά, $P < 0,05$)

Σύμφωνα με την βιβλιογραφία, οι συνήθεις τιμές α-τοκοφερόλης που αναφέρονται για καλής ποιότητας ελαιόλαδο, κυμαίνονται από 100 έως 300 mg/kg (Boucheffa et al., 2014). Σε μια εργασία εξετάστηκαν τέσσερις ποικιλίες-δείγματα ελαιολάδου από διαφορετικές χώρες (Barnea-Ισραήλ, Coratina-Ιταλία, Koroneiki-Ελλάδα και Manzaniilla-Ισπανία) και βρέθηκε ότι η περιεκτικότητα σε α-τοκοφερόλη κυμαίνεται από 87 έως 147 mg/kg. Συγκεκριμένα για την Κορωνέικη, η τιμή της α-τοκοφερόλης ήταν 147 ± 6 mg/kg (Xiang et al., 2017). Συγκρίνοντάς την με τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης διαπιστώνεται ότι οι τιμές των εξεταζόμενων δειγμάτων της ποικιλίας Κορωνέικη από την Κρήτη και την Καλαμάτα είναι αρκετά υψηλότερες (208-402 mg/kg). Αυτό μπορεί να οφείλεται σε άλλους παράγοντες εκτός της ποικιλίας (όπως βαθμός ωρίμανσης, τρόποι αποθήκευσης κτλ.) καθώς έχει διαπιστωθεί ότι η ποικιλία δεν επηρεάζει τη συγκέντρωση της α-τοκοφερόλης σε μεγάλο βαθμό.

Σε αντιπαράθεση με τα ευρήματα της παρούσας μελέτης έρχεται μια άλλη έρευνα από τον Lincer και τους συνεργάτες του (2016), που αναφέρει ότι η ποσότητα α-τοκοφερόλης παρουσίασε σημαντικές διαφορές μεταξύ των ποικιλιών που εξετάστηκαν ($P < 0,05$), με τιμές να κυμαίνονται από 205 έως 573 mg/kg. Την άποψη αυτή υποστηρίζουν και άλλοι ερευνητές και αναφέρουν χαρακτηριστικά ότι η ποικιλία του ελαιολάδου επηρεάζει την συγκέντρωση τοκοφερολών στο ελαιόλαδο (Deiana et al., 2002; Manai-Djebali et al., 2012; Dağdelen, et al., 2012).

Δύο άλλες μελέτες αναφέρουν ότι οι τιμές στις συγκεντρώσεις α-τοκοφερόλης για τηνησιακή ποικιλία «Oueslati» κυμαίνονταν από 156 έως 252 mg/kg σε σύγκριση με εκείνες από την ποικιλία «Chemlali» με τιμές από 100 έως 188 mg/kg και 160 με 298 mg/kg για αλγερινές ποικιλίες αγριελιάς (Fares et al., 2016; Boucheffa et al., 2014).

Επίσης, τιμές από 98 - 201 mg/kg α-τοκοφερόλης αναφέρονται και σε μια άλλη έρευνα που εξέτασε τυνησιακά μονοποικιλιακά ελαιόλαδα με την ποικιλία «Chemlali Choumekh» να καταγράφει τη μεγαλύτερη τιμή (201 mg/kg) και την ποικιλία «Zarrazi Zarzis» την χαμηλότερη (98 mg/kg) (Issaoui et al., 2008).

Παράλληλα, από μελέτες που έχουν γίνει σε ισπανικές ποικιλίες έχει προκύψει ότι οι συμβατικές καλλιέργειες για την ποικιλία «Hojiblanca» είχαν συγκεντρώσεις α-τοκοφερόλης μεταξύ 179-308 mg/kg και για βιολογικές καλλιέργειες μεταξύ 209-301 mg/kg. Ενώ για την ποικιλία «Picual» οι τιμές ήταν μεταξύ 168-203 mg/kg για την συμβατική καλλιέργεια και μεταξύ 193-231 mg/kg για την βιολογική καλλιέργεια (Jimenez et al., 2014).

Σαφώς αυτά τα αποτελέσματα δεν μπορούν να συγκριθούν με τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης (καθώς οι ποικιλίες είναι διαφορετικές) ωστόσο αξίζει να σχολιαστούν γενικότερα. Με βάση λοιπόν τις αναφορές αυτές, διαπιστώνεται ότι οι ελληνικές ποικιλίες είναι αρκετά πλουσιότερες σε α-τοκοφερόλη σε σχέση με ποικιλίες της Τυνησίας και Αλγερίας. Ανάλογα αποτελέσματα με τα ευρήματα της παρούσας μελέτης βρέθηκαν και σε επτά ισπανικές ποικιλίες (Arbequina, Carrasqueña, Corniche, Manzanilla Cacereña, Manzanilla Sevillana, Picual, and Verdial de Badajoz) (Nieves Franco et al., 2014).

Εν κατακλείδι, για να εξαχθούν ασφαλή και συγκρίσιμα συμπεράσματα σχετικά με το δυναμικό των ελληνικών ποικιλιών σε τοκοφερόλες, είναι απαραίτητο τα ελαιόλαδα να έχουν παραχθεί την ίδια περίοδο, να έχουν συντηρηθεί κατάλληλα (απουσία φωτός, οξυγόνου, υψηλής θερμοκρασίας) και να αναλυθούν όσο το δυνατό συντομότερα, δεδομένου ότι η βιταμίνη E είναι ευοξειδωτή. Αυτό πρακτικά σημαίνει ότι τα δείγματα πρέπει να παραληφθούν απευθείας από τους παραγωγούς και όχι από το εμπόριο.

5.3. Αποτελέσματα Προσδιορισμού Βιοφαινολών

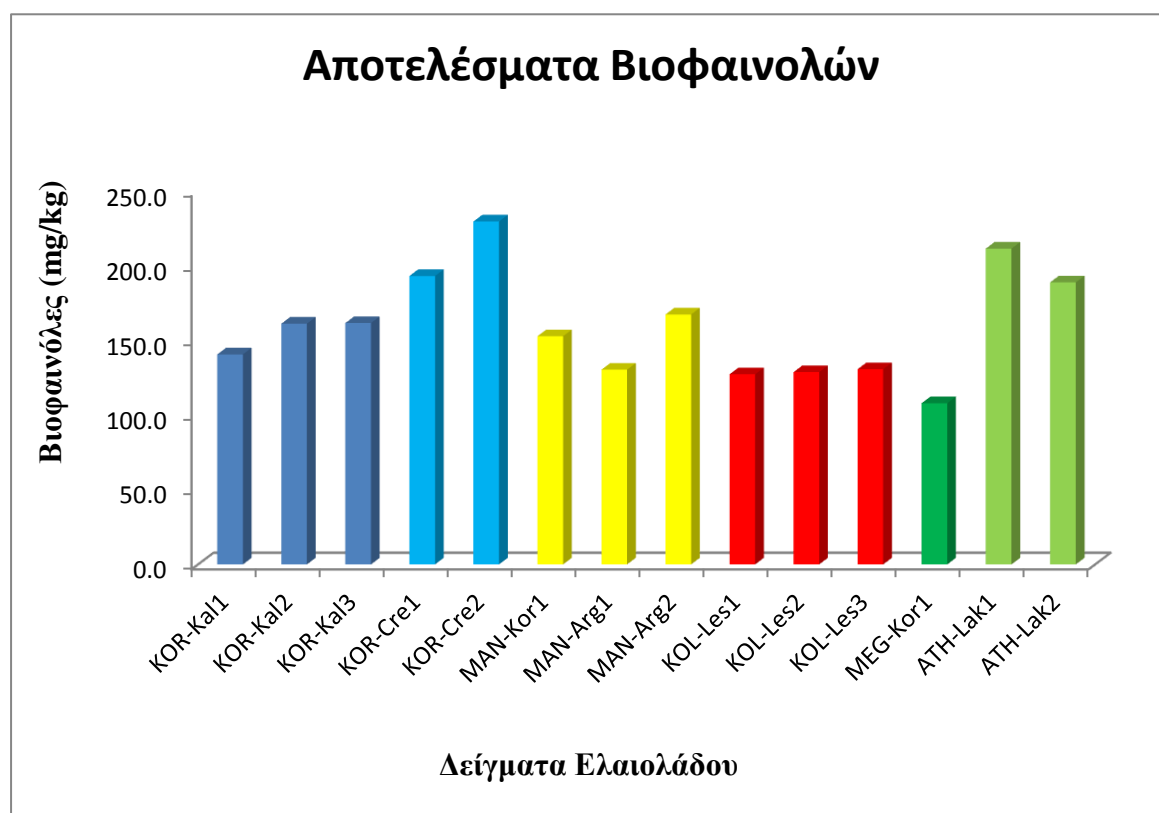
Οι βιοφαινόλες είναι υπεύθυνες για τη διάρκεια ζωής του ελαιολάδου, επειδή παρεμποδίζουν την οξείδωση των λιπιδίων μέσω ποικίλων μηχανισμών που βασίζονται σε δέσμευση ελευθέρων ριζών, μεταφοράς ατόμων υδρογόνου και χηλίωσης μετάλλων (Presti et al., 2017; El Riachy et al., 2011). Οι βιοφαινόλες επίσης είναι υπεύθυνες για την χαρακτηριστική γεύση του ελαιολάδου και ειδικότερα τις θετικές οργανοληπτικές ιδιότητες του πικρού και του πικάντικου (Baccouri et al., 2008; Servili et al., 2004; Xiang et al., 2017). Επιπρόσθετα, επιδρούν θετικά στην ανθρώπινη υγεία, λόγω των ιδιοτήτων τους (αντιφλεγμονώδεις, αντιοξειδωτικές, νευροπροστατευτικές και καρδιοπροστατευτικές). Σύμφωνα με τον Ευρωπαϊκό Κανονισμό 432/2012 της Ευρωπαϊκής Αρχής Ασφάλειας Τροφίμων (EFSA), το ελαιόλαδο μπορεί να φέρει Ισχυρισμό Υγείας (Health Claim) μόνο όταν περιέχει τουλάχιστον 5 mg υδροξυτυροσόλης και παραγώγων της (π.χ. σύμπλεγμα ελευρωπαΐνης και τυροσόλης) για κάθε 20 g ελαιολάδου. Η συγκεκριμένη οδηγία επιτρέπει στα ελαιόλαδα που πληρούν την παραπάνω προϋπόθεση, να φέρουν στη συσκευασία τους ετικέτα με τον ακόλουθο ισχυρισμό υγείας: «Οι πολυφαινόλες ελαιολάδου συμβάλλουν στην προστασία των λιπιδίων του αίματος από το οξειδωτικό στρες».

Η απομόνωση και προσδιορισμός των βιοφαινολών που εφαρμόστηκε στο εργαστήριο βασίστηκε στην πρότυπη μέθοδο του Διεθνούς Συμβουλίου Ελαιολάδου (COI/T.20/Doc No 29, IOOC). Οι τροποποιήσεις που έγιναν έγκεινται στην αναλογική μείωση των όγκων διαλυτών και μάζας δείγματος, καθώς και στη χρησιμοποίηση χρωματογραφικής στήλης τύπου Core-shell για μείωση του χρόνου ανάλυσης. Ως εκ τούτου, τροποποιήθηκε ανάλογως και το πρόγραμμα έκλουσης της κινητής φάσης. Επιτεύχθηκε παρόμοιος χρωματογραφικός διαχωρισμός στο μισό χρόνο ανάλυσης. Τα αποτελέσματα του προσδιορισμού των βιοφαινολών σε κάθε δείγμα ελαιολάδου παρουσιάζονται στον **Πίνακα 10**. Παράλληλα δίνονται ξεχωριστά οι συγκεντρώσεις της τυροσόλης και υδροξυτυροσόλης. Όλες οι τιμές είναι εκφρασμένες ως mg ισοδυνάμων τυροσόλης /kg ελαιολάδου. Είναι εμφανές ότι κανένα ελαιόλαδο από αυτά που εξετάστηκαν δεν μπορεί να φέρει τον ισχυρισμό υγείας της EFSA. Στο **Διάγραμμα 7** αποτυπώνονται πιο παραστατικά τα ανωτέρω αποτελέσματα, ενώ στο **Διάγραμμα 8** παρουσιάζεται η μέση τιμή της περιεκτικότητας βιοφαινολών ανά ποικιλία-περιοχή.

Παρατηρώντας το **Διάγραμμα 7** και τον **Πίνακα 10**, οι διακυμάνσεις μεταξύ των διαφόρων ποικιλιών καθώς και μεταξύ των δειγμάτων ίδιας ποικιλίας ελιάς είναι εμφανείς. Οι μεγαλύτερες συγκεντρώσεις βιοφαινολών παρατηρήθηκαν στα δείγματα KOR-Cre 1 & 2 ακολουθούμενα από τα ATH-Lak 1 & 2 ενώ τις μικρότερες τιμές εμφάνισε το δείγμα μεγαρίτικης ποικιλίας ακολουθούμενο από τα δείγματα KOL-Les 1,2,3.

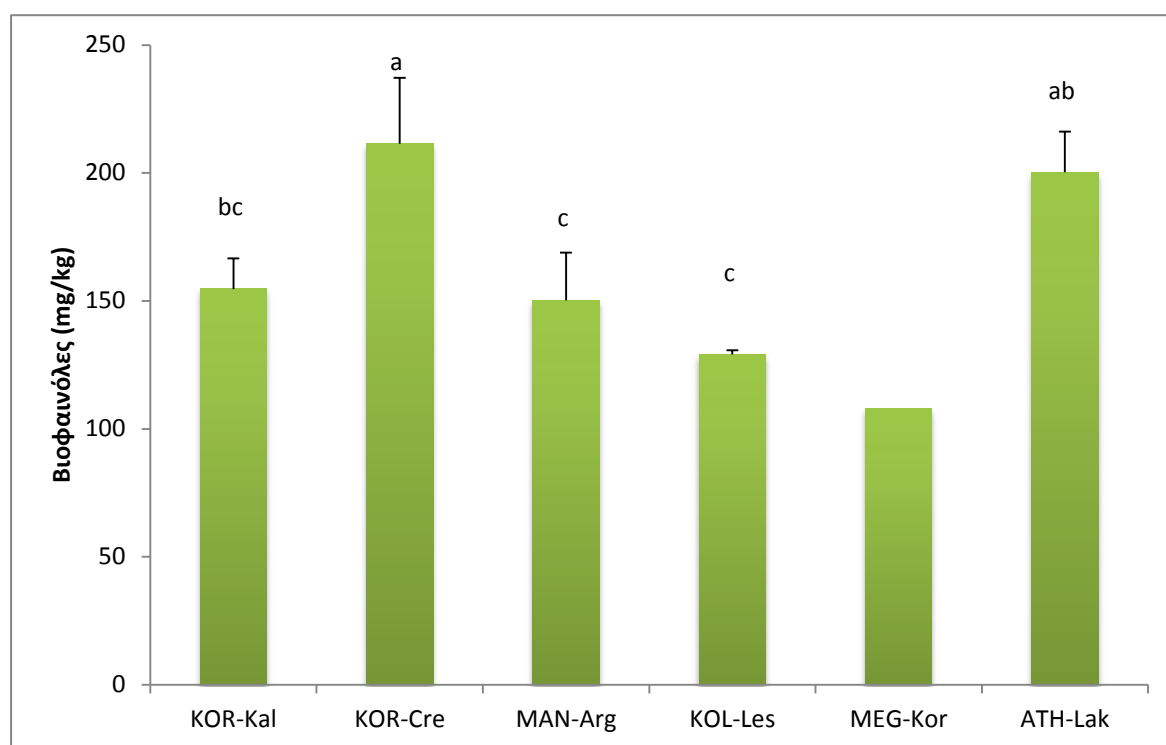
Πίνακας 10: Αποτελέσματα Προσδιορισμού Βιοφαινολών

Δείγματα Μονοποικιλιακών ΕΠΕ	Ολικές Βιοφαινόλες (mg/kg)	Υδροξυτυροσόλη (mg/kg)	Τυροσόλη (mg/kg)
KOR-Kal1	141	9	10
KOR-Kal2	161	18	30
KOR-Kal3	162	12	18
KOR-Cre1	193	8	12
KOR-Cre2	230	17	16
MAN-Arg1	153	9	14
MAN-Kor1	131	19	13
MAN-Arg2	168	8	11
KOL-Les1	127	2	11
KOL-Les2	129	3	13
KOL-Les3	131	5	21
MEG-Kor1	108	3	8
ATH-Lak1	212	5	11
ATH-Spa2	189	11	12



Διάγραμμα 7: Περιεκτικότητα βιοφαινολών σε ελληνικά μονοποικιλιακά εξαιρετικά παρθένα ελαιόλαδα

Τα αποτελέσματα υποβλήθηκαν σε μονόδρομη ανάλυση της διακύμανσης (One-Way ANOVA) και οι μέσες τιμές συγκρίθηκαν με τη δοκιμή Tukey (στάθμη εμπιστοσύνης 95%), χρησιμοποιώντας το πρόγραμμα Statgraphics Centurion 16.1.11. Προέκυψε στατιστικώς σημαντική διαφορά ($P < 0,05$) μεταξύ των ποικιλιών. Το ελαιόλαδο της ποικιλίας Κορωνέικη (Κρήτη) είχε την μεγαλύτερη περιεκτικότητα σε βιοφαινόλες, ενώ το ελαιόλαδο της ποικιλίας Μεγαρίτικη (Κορινθία) την μικρότερη, αν και το τελευταίο δεν συμπεριλήφθηκε στην στατιστική ανάλυση (ένα δείγμα). Επομένως, την μικρότερη στατιστικώς συγκέντρωση την παρουσίασε η ποικιλία Κολοβή (Λέσβος). Η ποικιλία Αθηνολιά (Λακωνία) δεν διέφερε σημαντικά από την Κορωνέικη (Κρήτη), ενώ αξίζει να σημειωθεί ότι η τελευταία διέφερε σημαντικά από την Κορωνέικη (Καλαμάτα). Δηλαδή, παρατηρήθηκε διαφορά μεταξύ δειγμάτων της ίδιας ποικιλίας αλλά από διαφορετική γεωγραφική περιοχή. Συμπερασματικά, φαίνεται ότι η ποικιλία επηρεάζει την περιεκτικότητα των βιοφαινόλων, αλλά ωστόσο δεν είναι ο μοναδικός παράγοντας.

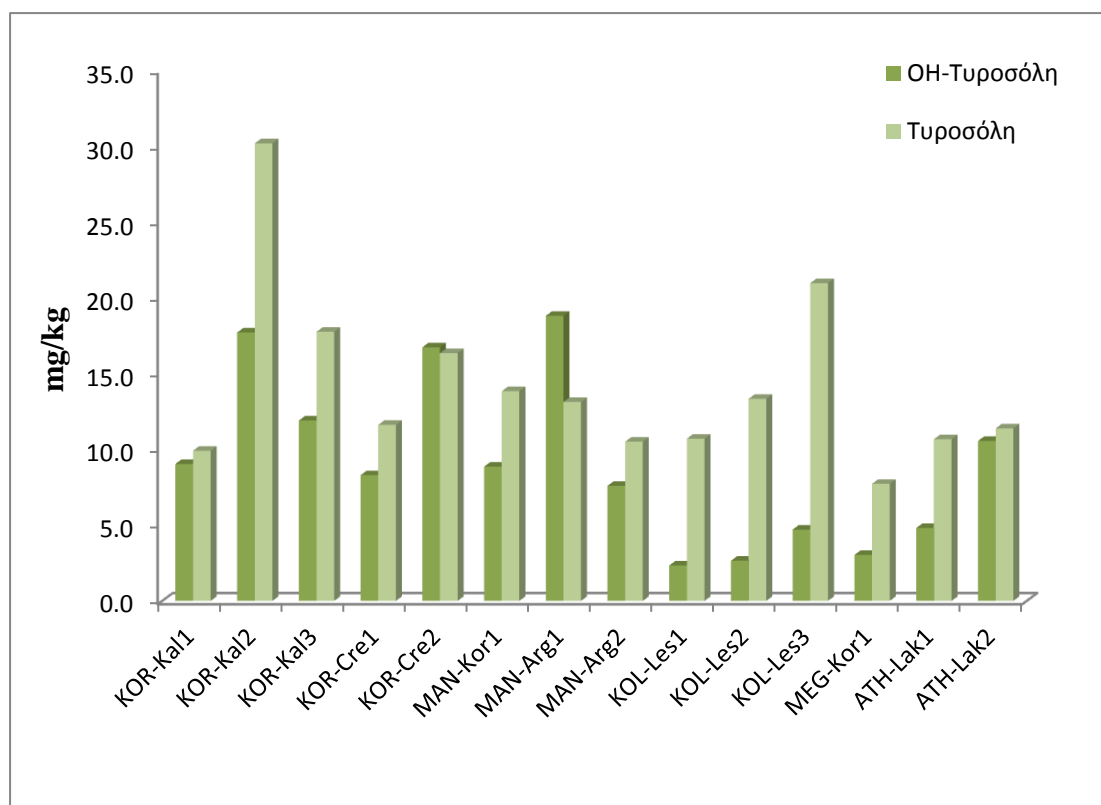


Διάγραμμα 8: Μέση τιμή περιεκτικότητας βιοφαινόλων (mg/kg \pm SD) σε ελληνικά μονοποικιλιακά εξαιρετικά παρθένα ελαιόλαδα (διαφορετικά γράμματα υποδηλώνουν στατιστικώς σημαντική διαφορά, $P < 0,05$)

Παρατηρώντας το **Διάγραμμα 9**, διαπιστώνεται αρχικά ότι τα επίπεδα της τυροσόλης είναι υψηλότερα από εκείνα της υδροξυτυροσόλης σχεδόν σε όλα τα δείγματα ελαιολάδου. Σε ορισμένες περιπτώσεις μάλιστα, η διαφορά είναι αρκετά μεγάλη (Κολοβή). Παρόλα αυτά, στα δείγματα KOR-Cre2 και MAN-Arg1, παρατηρήθηκε το αντίθετο. Λαμβάνοντας υπόψη ότι η υδροξυτυροσόλη (και τα παράγωγά της, δηλ. οι

ο-διφαινόλες) οξειδώνονται πρώτα συγκριτικά με την τυροσόλη (και τα παράγωγά της) (Daskalaki et al., 2009; Aparacio et al., 1999; Nissiotis et Tasioula-Margari, 2002; Morello et al., 2004), συμπεραίνεται ότι τα δύο ανωτέρω δείγματα ήταν αρκετά φρέσκα. Αυτό επιβεβαιώνεται και από την ημερομηνία παραγωγής τους που αναγράφεται στη φιάλη.

Διάγραμμα 9: Περιεκτικότητα (mg/kg) Υδροξυτυροσόλης & Τυροσόλης σε ελληνικά μονοποικιλιακά εξαιρετικά παρθένα ελαιόλαδα



Το κλάσμα βιοφαινολών του ελαιολάδου συντίθεται χημικά από φαινολικά οξέα, φαινολικές αλκοόλες, φλαβονοειδή, λιγνάνες και σεκοϊριδοειδή. Οι τελευταίες είναι οι πιο άφθονες φαινολικές ενώσεις στους ελαιοπυρήνες (Tasioula-Margari and Tsabolatidou, 2015). Ανατρέχοντας στη διεθνή βιβλιογραφία, η περιεκτικότητα των βιοφαινολών κυμαίνεται από 50 έως 800 mg/kg, με μέση τιμή τα 180 mg/kg (Fabiani, 2016) κάτι που υποδηλώνει ότι οι μετρήσεις της παρούσας μελέτης είναι εντός ορίων. Όσον αφορά την τυροσόλη και υδροξυτυροσόλη, οι Owen et al. (2000) αναφέρουν τις τιμές 27 ± 4 mg/kg και 14 ± 3 mg/kg, αντιστοίχως, σε εξαιρετικά παρθένα ελαιόλαδα γενικά.

Σε ισπανική ποικιλία συμβατικής και βιολογικής καλλιέργειας (Hojiblanca) αναφέρονται τιμές υδροξυτυροσόλης 3-5 mg/kg και 2-5 mg/kg αντίστοιχα. Στην ίδια ποικιλία, οι συγκεντρώσεις τυροσόλης ήταν μεταξύ 7-11 mg/kg για την συμβατική καλλιέργεια και μεταξύ 6-7 mg/kg για την βιολογική καλλιέργεια. Ομοίως, μελετήθηκε και η ισπανική ποικιλία «Picual», όπου οι συγκεντρώσεις υδροξυτυροσόλης κυμάνθηκαν μεταξύ 5-17 mg/kg και 5-8 mg/kg, αντιστοίχως για τη

συμβατική και βιολογική καλλιέργεια. Ενώ οι συγκεντρώσεις της τυροσόλης κυμάνθηκαν μεταξύ 4-7 mg/kg και 5-6 mg/kg, αντιστοίχως για τη συμβατική και βιολογική καλλιέργεια (Jimenez et al., 2014). Όπως παρατηρείται, οι τιμές των βιοφαινολών δεν εξαρτώνται μόνο από την ποικιλία αλλά και τον τύπο καλλιέργειας. Οι παραπάνω τιμές βρίσκονται στο ίδιο εύρος με τις τιμές της παρούσας μελέτης.

Σε μια άλλη μελέτη εξετάστηκαν δύο ποικιλίες από τη Χιλή (η Limari Valley και η Molina) όσον αφορά το ολικό περιεχόμενό τους σε βιοφαινόλες. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι ανά χρονιά είχαν διαφορετικές τιμές, με την Limari Valley να έχει ολικές βιοφαινόλες μεταξύ 473 – 493 mg/kg για τις χρονιές 2011-2013 και η Molina 326 – 209 mg/kg για τις ίδιες χρονιές. Οι τιμές αυτές είναι πολύ μεγαλύτερες από τις τιμές της παρούσας μελέτης, πράγμα που μας οδηγεί στο συμπέρασμα ότι συγκεκριμένα μονοποικιλιακά είδη ελαιολάδου της Χιλής έχουν αξιοσημείωτες τιμές βιοφαινολών (Romero et al., 2016).

Συγκρίνοντας ως προς την χώρα προέλευσης, τα ιταλικά ελαιόλαδα φαίνεται να έχουν σχεδόν τις ίδιες συγκεντρώσεις ολικών βιοφαινολών με διακυμάνσεις στα επιμέρους συστατικά, αλλά τα ισπανικά φέρουν αρκετά μεγαλύτερες τιμές απ'οτι τα ελληνικά ελαιόλαδα (Presti et. Al., 2017).

5.4. Αποτελέσματα Προσδιορισμού Ικανότητας Εξουδετέρωσης Ελευθέρων Ριζών (DPPH)

Η δοκιμή DPPH χρησιμοποιείται ευρέως για την αξιολόγηση της αντιοξειδωτικής ικανότητας των φυσικών προϊόντων. Η αντιοξειδωτική ικανότητα σχετίζεται με τη χημική δομή των βιοφαινολών, και κατά συνέπεια, με την ικανότητα δέσμησης ελευθέρων ριζών και τις ιδιότητες χηλώσεως μετάλλων (Bouaziz, et al., 2004). Ως εκ τούτου, ο αριθμός των υδροξυλομάδων και της θέσης τους είναι σημαντικές για την αντιοξειδωτική ικανότητα των φαινολικών ενώσεων, οι οποίες συνδέονται με το σχηματισμό σταθερών ριζών φαινοξυλίου. Στην πραγματικότητα, ειδικά οι υδρόφιλες φαινόλες, όπως τα φαινολικά οξέα, οι φαινολικές αλκοόλες, τα φλαβονοειδή και τα σεκοϊριδοειδή, είναι υπεύθυνες για την υψηλή αντιοξειδωτική δράση του ελαιολάδου. Τέλος, έχει αναφερθεί ότι η αγλυκόνη της ολευρωπεΐνης και η υδροξυτυροσόλη είναι τα πιο σημαντικά αντιοξειδωτικά στο ελαιόλαδο (Bulotta et al., 2014). Η μείωση της συγκέντρωσης σε αυτές τις δύο ενώσεις κατά την περίοδο ωρίμανσης θα μπορούσε να οδηγήσει σε μείωση της αντιοξειδωτικής δράσης (Ben Brahim et al., 2017).

Τα δεκατέσσερα δείγματα μονοποικιλιακών εξαιρετικών παρθένων ελαιολάδων εξετάστηκαν όπως περιγράφεται στο πειραματικό μέρος και τα αποτελέσματα παρουσιάζονται στον **Πίνακα 11**, εκφρασμένα ως μg ισοδυνάμων γαλλικού οξέος ανά g ελαιολάδου.

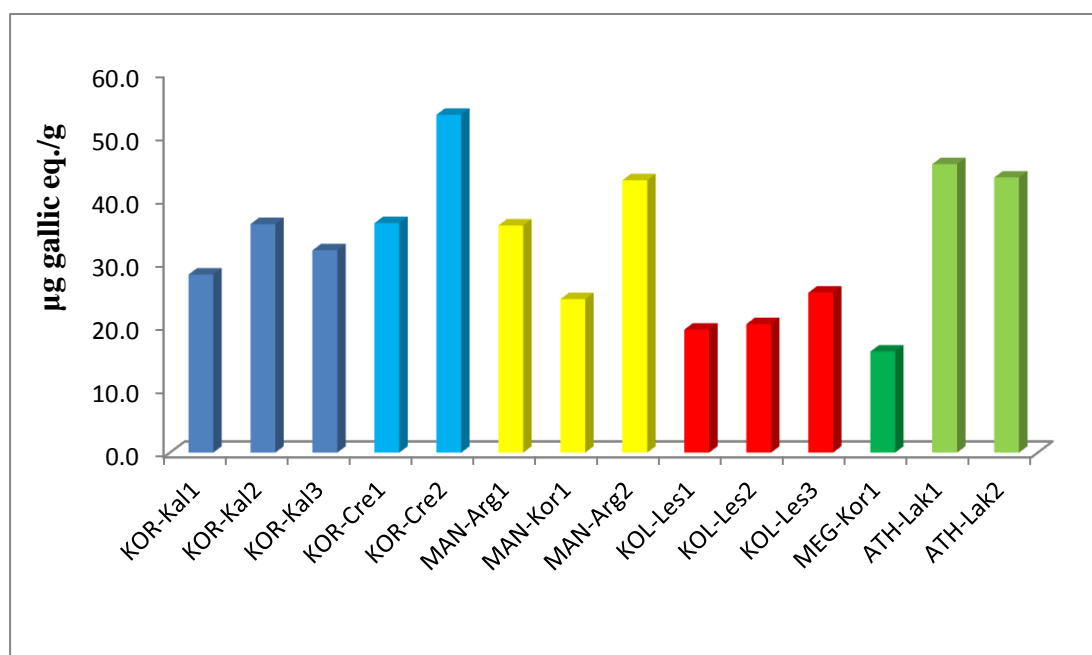
Πίνακας 11: Αντιοξειδωτική ικανότητα ελληνικών μονοποικιλιακών εξαιρετικά παρθένων ελαιολάδων

Δείγματα Μονοποικιλιακών ΕΠΕ	$\mu\text{g GA eq. /g}$ Ελαιολάδου
KOR-Kal1	28
KOR-Kal2	36
KOR-Kal3	32
KOR-Cre1	36
KOR-Cre2	53
MAN-Arg1	36
MAN-Kor1	24
MAN-Arg2	43
KOL-Les1	20
KOL-Les2	20
KOL-Les3	25
MEG-Kor1	16
ATH-Lak1	46
ATH-Spa2	44

*Αποτελούν τη μέση τιμή δύο επαναληπτικών μετρήσεων

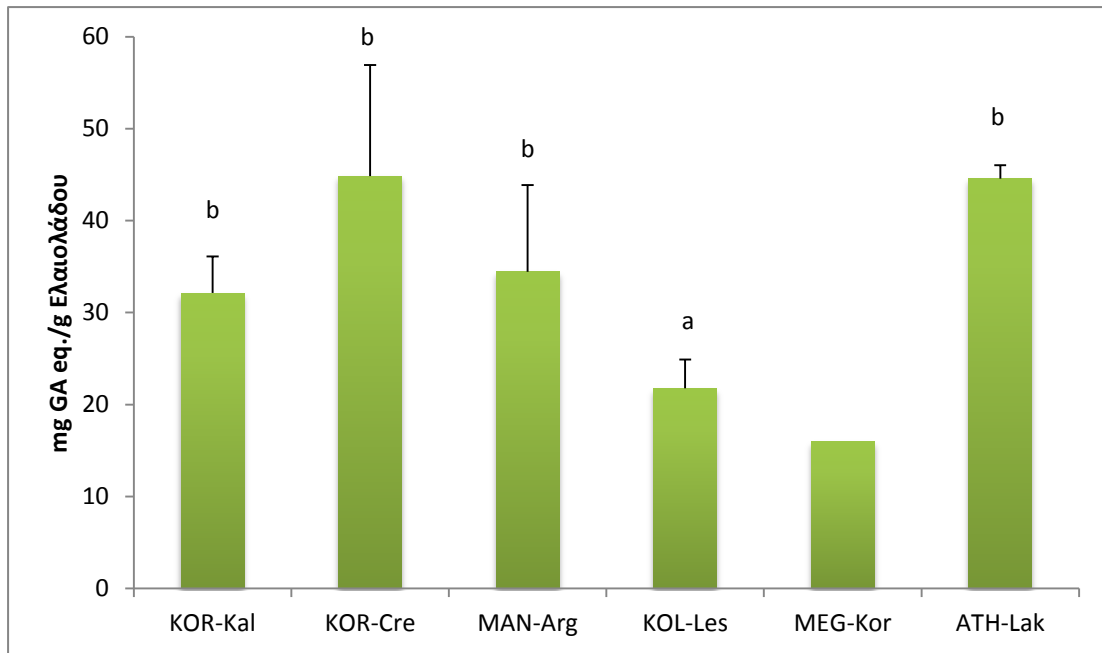
Στο **Διάγραμμα 10** παρουσιάζονται τα ανωτέρω αποτελέσματα πιο παραστατικά, όπου είναι εμφανείς οι διακυμάνσεις της αντιοξειδωτικής ικανότητας μεταξύ των διαφόρων ποικιλιών καθώς και μεταξύ των δειγμάτων ίδιας ποικιλίας ελιάς. Η μεγαλύτερη αντιοξειδωτική ικανότητα παρατηρήθηκε στα δείγματα KOR-Cre2 και

ATH-Lak1&2, ενώ η μικρότερη τιμή σημειώθηκε στο δείγμα MEG-Kor1 ακολουθούμενο από τα KOL-Les1,2,3.

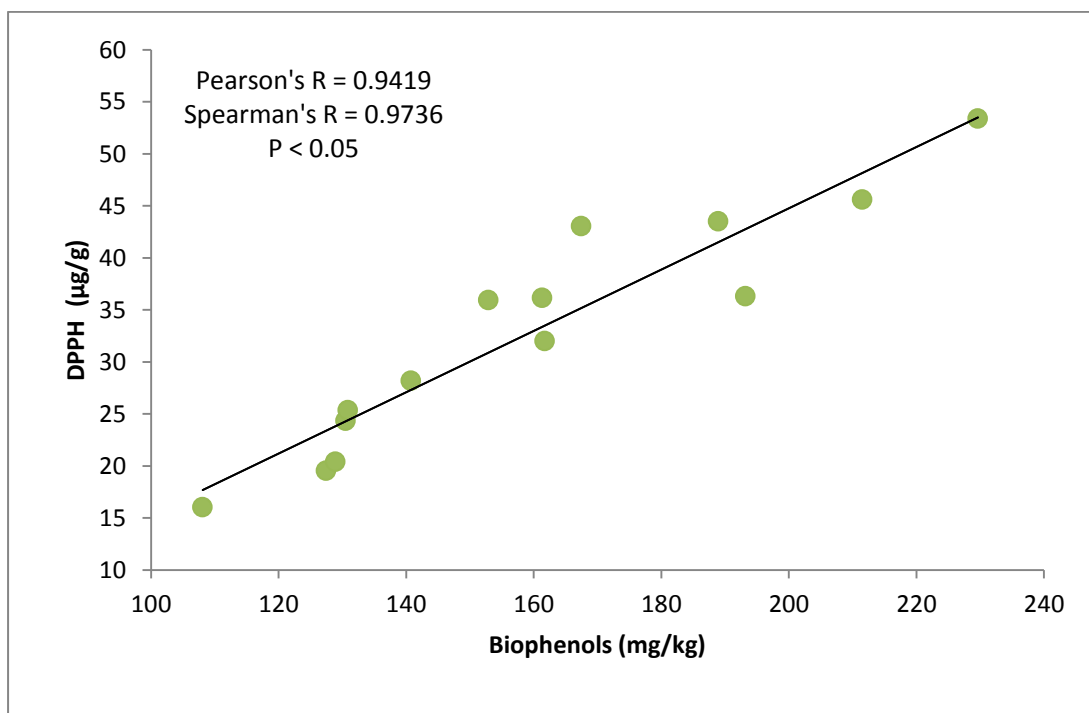


Διάγραμμα 10: Αντιοξειδωτική ικανότητα ελληνικών μονοποικιλιακών εξαιρετικά παρθένων ελαιολάδων

Τα αποτελέσματα υποβλήθηκαν σε μονόδρομη ανάλυση της διακύμανσης (One-Way ANOVA) και οι μέσες τιμές συγκρίθηκαν με τη δοκιμή Tukey (στάθμη εμπιστοσύνης 95%), χρησιμοποιώντας το πρόγραμμα Statgraphics Centurion 16.1.11. Προέκυψε στατιστικώς σημαντική διαφορά ($P < 0,05$) μεταξύ των ποικιλιών. Σύμφωνα με το **Διάγραμμα 11**, η ποικιλία Κορωνέικη (Κρήτη) παρουσίασε την μεγαλύτερη αντιοξειδωτική ικανότητα, ενώ το ελαιόλαδο της ποικιλίας Μεγαρίτικη (Κορινθία) την μικρότερη, αν και το τελευταίο δεν συμπεριλήφθηκε στην στατιστική ανάλυση (ένα δείγμα). Αξίζει να σημειωθεί ότι μόνο η ποικιλία Κολοβή διέφερε σημαντικά από τις υπόλοιπες ποικιλίες, οι οποίες ωστόσο δεν διέφεραν μεταξύ τους ($P > 0,05$), λόγω της μεγάλης μεταβλητότητας μεταξύ των δειγμάτων της ίδιας ποικιλίας. Συμπερασματικά, παρόλο που φαίνεται ότι η ποικιλία επηρεάζει την αντιοξειδωτική ικανότητα των ελαιολάδων, ωστόσο δεν αποτελεί τον μοναδικό παράγοντα.



Διάγραμμα 11: Μέση τιμή αντιοξειδωτικής ικανότητας ($\mu\text{g GA eq.} / \text{g} \pm \text{SD}$) σε ελληνικά μονοποικιλιακά εξαιρετικά παρθένα ελαιόλαδα (διαφορετικά γράμματα υποδηλώνουν στατιστικώς σημαντική διαφορά, $P < 0,05$)



Διάγραμμα 12: Συσχέτιση αντιοξειδωτικής ικανότητας με την περιεκτικότητα βιοφαινολών

Όπως παρατηρείται στο **Διάγραμμα 12**, η αντιοξειδωτική ικανότητα των ελαιολάδων που μελετήθηκαν συσχετίζεται γραμμικά με την περιεκτικότητα βιοφαινολών.

Άρα μπορούμε να συμπεράνουμε από τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης ότι η αντιοξειδωτική ικανότητα που παρουσιάζει το ελαιόλαδο οφείλεται κατά κύριο λόγο στις συγκεντρώσεις των διάφορων βιοφαινολών και συνεπώς επηρεάζεται έμμεσα και από την ποικιλία. Παρόμοια συσχέτιση μεταξύ του φαινολικού περιεχομένου (από φασματοφωτομετρική μέθοδο) και της αντιοξειδωτικής ικανότητας (δοκιμή ORAC) έχει ήδη αναφερθεί από άλλους ερευνητές (Papadopoulos and Boskou, 1991).

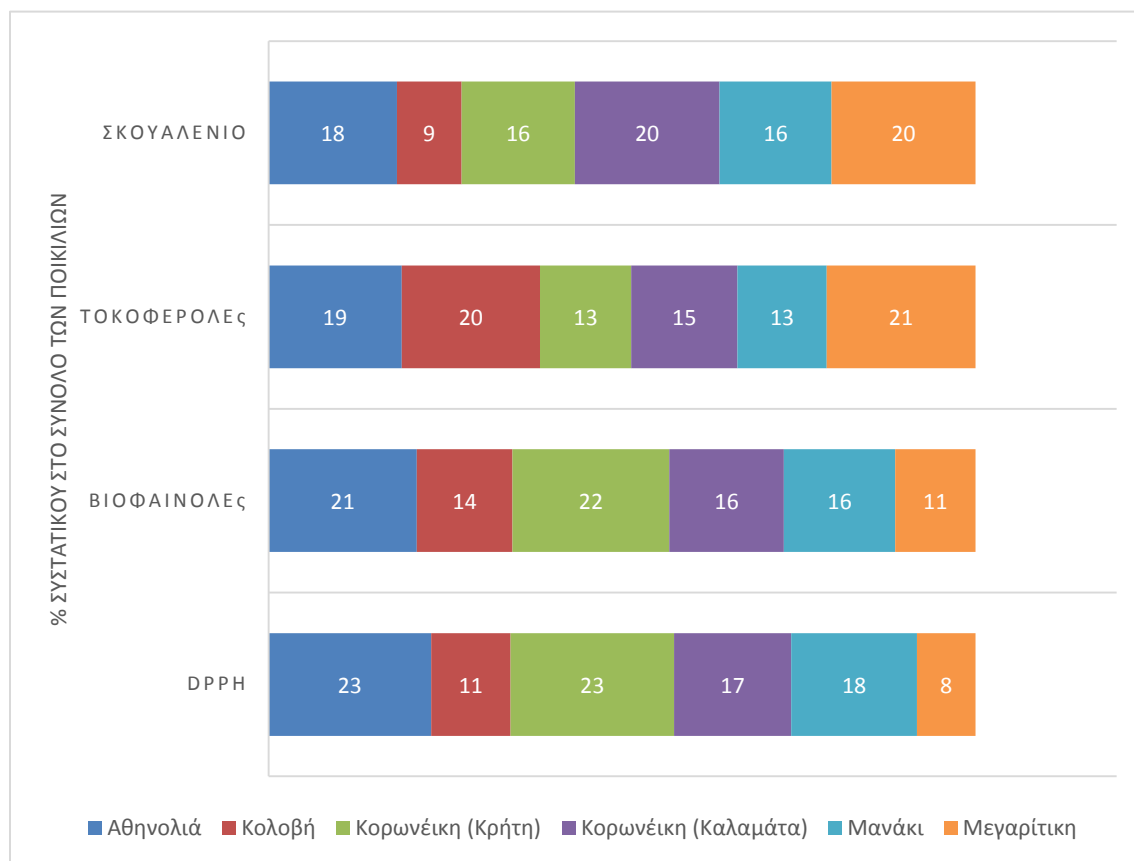
Επίσης, σε μια μελέτη που έγινε σε τέσσερα δείγματα ελαιολάδου από ξεχωριστές περιοχές, βρέθηκε ότι ανάλογα με την ποικιλία επηρεάζεται σημαντικά η αντιοξειδωτική ικανότητα του ελαιολάδου. Συγκεκριμένα η ποικιλία Barnea από το Ισραήλ εμφάνισε 50 ± 5 $\mu\text{g/mL}$, η Coratina της Ιταλίας 21 ± 4 $\mu\text{g/mL}$, η Κορωνέικη της Ελλάδας 20 ± 5 $\mu\text{g/mL}$ και η Manzanilla της Ισπανίας 25 ± 2 $\mu\text{g/mL}$ (Xiang et al., 2017).

Γενικότερα θεωρείται ότι η ποικιλία είναι ένας παράγοντας που επηρεάζει και την αντιοξειδωτική ικανότητα του ελαιολάδου. Αρκετές μελέτες συμφωνούν με αυτή την άποψη θέτοντας βέβαια και την επίδραση άλλων παραγόντων όπως οι αγρονομικοί, και οι τεχνολογικοί παράγοντες, (Tuna et al., 2007) ο βαθμός ωρίμανσης, οι αρχικές συγκεντρώσεις των φαινολικών γλυκοζιτών και οι ποικίλες ενζυματικές αντιδράσεις που επιδρούν σε αυτούς τους γλυκοζίτες. Η εργασία των Baccouri και των συνεργατών του (2008) πάνω στο ελαιόλαδο από επιλεγμένες άγριες ελιές κατέληξε στο συμπέρασμα ότι οι γενετικοί παράγοντες (ποικιλία) επηρεάζουν την ποιότητα του ελαιολάδου και κυρίως την περιεκτικότητα βιοφαινολών (Baccouri et al., 2008; Bouarroudj et al., 2016).

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 6: Συμπεράσματα

Στην διεθνή βιβλιογραφία, οι μελέτες που επικεντρώνονται στην επίδραση της ποικιλίας ελιάς στα βιοδραστικά συστατικά των παραγόμενων μονοποικιλιακών ελαιολάδων είναι περιορισμένες και ακόμα λιγότερες αυτές που πραγματεύονται ελληνικές ποικιλίες ελιάς. Για το λόγο αυτό αλλά και επειδή το ελαιόλαδο είναι ένα από τα κυριότερα προϊόντα της ελληνικής επικράτειας, κρίθηκε σκόπιμη η διεξαγωγή της παρούσας μελέτης.

Συγκεντρωτικά, στο Διάγραμμα 13 παρουσιάζεται το % ποσοστό κάθε συστατικού στο σύνολο των ποικιλιών που εξετάστηκαν. Διαπιστώνεται ότι η ποικιλία Αθηνολιά και Κορωνέικη Κρήτης εμφανίζουν την μεγαλύτερη περιεκτικότητα σε βιοφαινόλες και ως εκ τούτου και τη υψηλότερη αντιοξειδωτική ικανότητα. Η ποικιλία Μεγαρίτικη, Κολοβή και Αθηνολιά εμφανίζουν υψηλό ποσοστό τοκοφερολών, ενώ η Κορωνέικη Καλαμάτας και η Μεγαρίτικη ξεχωρίζουν για το υψηλό ποσοστό σκουαλενίου. Ωστόσο, αξίζει να σημειωθεί η ανάλυση ενός μόνο δείγματος από την τελευταία ποικιλία.



Διάγραμμα 13: % Ποσοστό συστατικού στο σύνολο των ποικιλιών

Συνοψίζοντας τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης, η επίδραση της ποικιλίας ελιάς βρέθηκε να επηρεάζει σημαντικά το περιεχόμενο του σκουαλενίου, των βιοφαινολών και της αντιοξειδωτικής ικανότητας (DPPH). Αντιθέτως, η ποικιλία της ελιάς δεν φαίνεται να αποτελεί καθοριστικό παράγοντα στα τελικά επίπεδα τοκοφερολών στο ελαιόλαδο. Ωστόσο, αυτό μπορεί να οφείλεται στη μεγάλη διακύμανση των τιμών μεταξύ των δειγμάτων της ίδιας ποικιλίας, το οποίο μάλλον υποδηλώνει τις διαφορετικές συνθήκες συντήρησης των δειγμάτων.

Τέλος, για να εξαχθούν αξιόπιστα συμπεράσματα σχετικά με την επίδραση της ποικιλίας ελιάς στο περιεχόμενο των βιοδραστικών συστατικών των μονοποικιλιακών ελαιολάδων, κρίνεται σκόπιμο να συλλεχθεί ένας ικανός αριθμός δειγμάτων, τα οποία να έχουν παραχθεί σε διαφορετικές χρονιές και περιοχές προέλευσης, αλλά η ελαιοπαραγωγή να έχει συντελεστεί υπό τις ίδιες συνθήκες, προκειμένου να αποκλειστεί η επίδραση των τεχνολογικών παραγόντων.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

Ξένη Βιβλιογραφία

- Aguilera, Y., Dorado, M. E., Prada, F. A., Martinez, J. J., Quesada, A., & Ruiz-Gutierrez, V., (2005), The protective role of squalene in alcohol damage in the chick embryo retina, *Experimental Eye Research*, 80, p. 535–543
- Al-Darmaki N., Lu T., Al-Duri B., Harris J.B., Favre T.L.F, Bhaggan K., Santos R.C.D., (2012), Isothermal and temperature gradient supercritical fluid extraction and fractionation of squalene from palm fatty acid distillate using compressed carbon dioxide, *The Journal of Supercritical Fluids*, 61, p.108-114
- Aluyor, E. O., Ozigagu, C. E., Oboh, O. I. and Aluyor, P, (2009), Chromatographic analysis of vegetable oils: A review, *Scientific Research and Essay* Vol. 4 (4) pp. 191-197
- Amarowicz R., (2009), Squalene: A natural antioxidant? *European Journal of Lipid Science and Technology*, 111, p. 411–412
- Ambra R., Natella F., Lucchetti S., Forte V. & Pastore G., (2017), α -Tocopherol, β -carotene, lutein, squalene and secoiridoids in seven monocultivar Italian extra virgin olive oils, *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 68:5, p. 538-545
- Anastasopoulos E., Kalogeropoulos N., Kaliora A. C., Kountouri A. & Andrikopoulos N. K., (2011), The influence of ripening and crop year on quality indices, polyphenols, terpenic acids, squalene, fatty acid profile, and sterols in virgin olive oil (Koroneiki cv.) produced by organic versus non-organic cultivation method, *International Journal of Food Science and Technology*, 46, p. 170–178
- Angelis A., Hamzaoui M., Aligiannis N., Nikou Th., Michailidis D., Gerolimatos P., Termentzi Ai., Hubert J., Halabalaki M., Renault J.-H., Skaltsounis A.-L, (2017), An integrated process for the recovery compounds of high added-value from olive oil using solid extraction support free liquid-liquid and chromatography techniques, *Journal of Chromatography A*, 1491, p. 126–136
- Anniva, C., Tsimidou, M.Z., (2009), On the quality control of ‘olive paste’, a speciality based on olives and olive oil, *European Journal of Lipid Science and Technology* 111, 328–336
- Aparicio R., Harwood J. (Eds.), (1999), *Handbook of Olive Oil: Analysis and Properties*, Springer, Berlin, Germany
- Aparicio R. and Luna G., (2002), Characterisation of monovarietal virgin olive oils, *European Journal of Lipid Science and Technology* 104, p. 614–627

- Aparicio R., Morales M.T., Aparicio-Ruiz R., Tena N., García-Gonzalez D.L., (2013) Authenticity of olive oil: mapping and comparing official methods and promising alternatives, *Food Research International* 54, p. 2025-2038
- Aparicio R., Roda L., Albi M. A., Gutierrez F., (1999), Effect of various compounds on virgin olive oil stability measured by rancimat, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47, p. 4150–4155
- Atanassova M., Georgieva S., Ivancheva K., (2011), Total Phenolic and Total Flavonoid Contents, Antioxidant Capacity and Biological Contaminants in Medicinal Herbs, *Journal of UCTM*, 46(1): p. 81–88
- Azaizeh H., Halahlh F., Najami N., Brunner D., Faulstich M., Tafesh A., (2012), Antioxidant activity of phenolic fractions in olive mill wastewater, *Food Chemistry*, 134 (4), p. 2226-2234
- Bacchetti T., Masciangelo S., Bicchiega V., Bertoli E., & Ferretti G., (2011), Phytosterols, phytostanols and their esters: From natural to functional foods, *Mediterranean Journal of Nutrition and Metabolism*, 4, p. 165–172
- Baccouri B., Zarrouk W., Baccouri O., Guerfel M., Nouairi I., Krichene D., et al., (2008), Composition, quality and oxidative stability of virgin olive oils from some selected wild olives (*Olea europaea* L. subsp. *Oleaster*), *Grasas y Aceites* 59, p. 346-351
- Baccouri O., Guerfel M., Baccouri B., Cerretani L., Bendini A., Lercker G., Zarrouk M., Daoud Ben Miled D., (2008), Chemical composition and oxidative stability of Tunisian monovarietal virgin olive oils with regard to fruit ripening, *Food Chemistry* 109, 743–754
- Bajoub A., Bendini A., Fernández-gutiérrez A. & Carrasco-Pancorbo A., (2016), Olive Oil Authentication: A Comparative Analysis of Regulatory Frameworks with Especial Emphasis on Quality and Authenticity Indices, and Recent Analytical Techniques Developed for Their Assessment. A Review, *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*
- Benveniste, P., (2004), Biosynthesis and accumulation of sterols, *Annual Review of Plant Biology*, 55, p. 429–457
- Bertolini G., Prevost G., Messeri C., Carignani G., Menini V. G., (1998), Olive germplasm: cultivars and world-wide collections, FAO, Rome
- Bogani P., Cavalien D., Petrucci R., Polsinelli L. and Roselli G., (1994), Identification of olive tree cultivars by using random amplified polymorphic DNA, *Acta Horticulturae* 356, p. 98-101
- Boskou D., Blekas G., & Tsimidou M., (2006), Olive oil composition, In Boskou D. (Ed.), *Olive oil, Chemistry and technology* (p. 41–72), Champaign, IL: AOCS Press
- Boskou D., (2009), Other important minor constituents, In D. Boskou (Ed.), *Olive oil, Minor constituents and health* (p. 45–54). Boca Raton, FL: CRC Press
- Boskou D., (2011), Olive oil, In: *Vegetable Oils in Food Technology Composition, Properties and Uses*, p. 243–271. Gunstone, F.D., Ed, Wiley-Blackwell, Oxford, UK

- Bouarroudj K., Tamendjari A., Larbat R. , (2016), Quality, composition and antioxidant activity of Algerian wild olive (*Olea europaea* L.subsp. *Oleaster*) oil, *Industrial Crops and Products*, 83, p. 484-491
- Bouaziz M., Chamkha M., & Sayadi S. (2004), Comparative study on phenolic content and antioxidant activity during maturation of the olive cultivar Chemlali from Tunisia, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(17), p. 5476–5481
- Boucheffa S., Tamendjari A., Rovellini P., Venturini S., (2014), Composition and antioxidant activity of some algerian wild extra virgin olive oils, *Rivista Italiana Delle Sostanze Grasse*
- Brahim S. B., Kelebek H., Ammar S., Abichou M., Bouaziz M., (2017), LC–MS phenolic profiling combined with multivariate analysis as an approach for the characterization of extra virgin olive oils of four rare Tunisian cultivars during ripening, *Food Chemistry* 229, p. 9-19
- Bulotta S., Celano M., Lepore S. M., Montalcini T., Pujia A., & Russo D. (2014), Beneficial effects of the olive oil phenolic components oleuropein and hydroxytyrosol: Focus on protection against cardiovascular and metabolic diseases, *Journal of Translational Medicine*, 12, 219
- Camin F. and Morchio G., Bontempo L., Ziller L., Piangiolino C., (2010), Stable isotope ratios of carbon and hydrogen to distinguish olive oil from shark squalene-squalane, *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, 24, p. 1810–1816
- Caramia G., Gori A., Valli E., Cerretani L., (2012) Virgin olive oil in preventive medicine: from legend to epigenetics, *European Journal of Lipid Science and Technology* 114, p. 375-388
- Cert A., Moreda W., Pe´rez-Camino MC., (2000), Chromatographic analysis of minor constituents in vegetable oils, *Journal of Chromatography A*, 881, p.131– 48
- Chan P., Tomlinson B., Lee C. B., & Lee Y. S., (1996), Effectiveness and safety of low dose pravastatin and squalene, alone and in combination, in elderly patients with hypercholesterolemia, *Journal of Clinical Pharmacology* 36, p. 422–427
- Chun H. J., Weiss T. L., Devarenne T. P., Laane J., (2013), Vibrational spectra and DFT calculations of squalene, *Journal of Molecular Structure* 1032, p. 203–206
- Clodoveo M. L., Camposeo S., De Gennaro B., Pascuzzi S., Roselliria L., Clodoveo L., (2014), In the ancient world, virgin olive oil was called “liquid gold” by Homer and “the great healer” by Hippocrates, Why has this mythic image been forgotten?, *Food Research International*, 62: p.1062-1068
- Daskalaki D., Kefi G., Kotsiou K., Tasioula-Margari M., (2009), Evaluation of phenolic compounds degradation in virgin olive oil during storage and heating, *Journal of Food and Nutrition Research*, 48 (1), pp. 31–41
- Dağdelen A., Tümen G., Ozcan M. M., & Dündar E, (2012), Determination of tocopherol contents of some olive varieties harvested at different ripening periods, *Natural Product Research*, 26(15), p. 1454–1457

- Di Vita G., D'Amico M., La Via G., and Caniglia E., (2013), Quality perception of PDO extra-virgin olive oil: Which attributes most influence Italian consumers?, *Agricultural Economics Review* 14, p.46–58
- Deiana M., Rosa A., Cao C. F., Pirisi F. M., Bandino G., & Dessi M. A., (2002), Novel approach to study oxidative stability of extra virgin olive oils: Importance of alphanatocopherol concentration, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(15), p. 4342–4346
- Dessi M. A., Deiana M., Day B. W., Rosa A., Banni S., Corongiu F. P., (2002), Oxidative stability of polyunsaturated fatty acids: effect of squalene, *European Journal of Lipid Science and Technology* 104, p. 506–512
- Dias L.G., Fernandes A., Veloso A.C.A., Machado A.A.S.C., Pereira J.A., and Peres A.M. (2014), Single-cultivar extra virgin olive oil classification using a potentiometric electronic tongue, *Food Chemistry*, 160, p. 321–329
- El Riachy M., Priego-Capote F., Leon L., Rallo L., Luque de Castro M.D., (2011), Hydrophilic antioxidants of virgin olive oil. Part 1: hydrophilic phenols: a key factor for virgin olive oil quality, *European Journal of Lipid Science and Technology*, 113 p. 678–691
- ES ISO 9936 :2012 Animal and vegetable fats and oils-Determination of tocopherol and tocotrienol contents by high performance liquid chromatography
- European Commission (2002), Commission Regulation (EC) No 796/2002. Official Journal of the European Communities, L128, p. 8–22
- Fabiani R., (2016), Anti-cancer properties of olive oil secoridoid phenols: a systematic, review on in vivo studies, *Food and Function* 7, p. 4145–4159
- Fares N., Karoui Jabri I., Sifi S., Abderrabba M., (2016), Physical chemical and sensory characterization of olive oil of the region of Kairouan, *Journal of Materials and Environmental Science*, 7 (6) p. 2148-2154
- Fedeli E., (1977), Lipids of Olives, In *Progressive Chemistry, Fats and other Lipids*, 15:57
- Fernández-Cuesta A., León L., Velasco L., DelaRosa R., (2013), Changes in squalene and sterols associated with olive maturation, *Food Research International* 54, p. 1885–1889
- Fogliano V. and Sacchi R., (2006), Oleocanthal in olive oil: Between myth and reality, *Molecular Nutrition & Food Research*, 50(1), p. 5–6
- Fox C. B., (2009), Squalene emulsions for parenteral vaccine and drug delivery, *Molecules*, 14, p. 3286–3312
- Fujisawa A., Dunlap W. C., & Yamamoto Y, (2010), Vitamin E protection in the biochemical adaptation of marine organisms to cold-water environments, *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology*, 157, p.145–158

- García R., Martins N. and Cabrita M.J., (2013), Putative markers of adulteration of extra virgin olive oil with refined olive oil: Prospects and limitations, *Food Research International*, 54, p. 2039–2044
- Gershbein L. L. & Sing E. J., (1969), Hydrocarbons of dogfish and cod livers and herring oil, *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 46, p. 554–557
- Gomez-Caravaca A. M., Maggio R. M., Cerretani L., (2016), Chemometric applications to assess quality and critical parameters of virgin and extra-virgin olive oil. A review, *Analytica Chimica Acta* 913, p. 1-21
- Grigoriadou D., Androulaki A., Psomiadou E., Tsimidou M.Z., (2007), Solid phase extraction in the analysis of squalene and tocopherols in olive oil, *Food Chemistry* 105, p. 675–680
- Hassan K. Obied, Paul D. Preznler, Kevin Robards, (2008), Potent antioxidant biophenols from olive mill waste, *Food Chemistry* 111, p. 171–178
- Herná'ndez E. J., Sen'ora'ns F. J., Reglero G. and Fornari T., (2010), High-Pressure Phase Equilibria of Squalene + Carbon Dioxide: New Data and Thermodynamic Modeling, *Journal of Chemical & Engineering Data*, 55, p. 3606–3611
- He H.-P., Cai Y., Sun M. and Corke H., (2002), Extraction and Purification of Squalene from Amaranthus Grain, *Journal of Agriculture ans Food Chemistry*, 50, p. 368-372
- Huang C.L., Sumpio B. E., (2008), Olive Oil, the Mediterranean Diet, and Cardiovascular Health, *Journal of the American College of Surgeons*, 207 (3), p. 407–416
- Huang Z. R., Lin Y. K., & Fang J. Y., (2009), Biological and pharmacological activities of squalene and related compounds: Potential uses in cosmetic dermatology, *Molecules*, 14, p. 540–554
- International Olive Oil Council (IOOC), November (2009), Determination of biophenols in olive oils by HPLC, COI/T.20/Doc No 29
- International Olive Oil Council (IOOC), (2018), Market Newsletter No 126
- Issaoui M., Mechri B., Echbili A., Dabbou S., Yangui A., Belguith H., Trigui A. and Hammami M., (2008), Chemometric characterization of five tunisian varietals of *olea europaea* L. olive fruit according to different maturation indices, *Journal of Food Lipids* 15, p. 277–296
- Jahaniaval F.; Kakuda Y.; Marcone M. F. (2000), Fatty acid and triacylglycerol compositions of seed oils of five Amaranthus accessions and their comparison to other oils, *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 77, p. 847-852
- Jimenez B., Sánchez-Ortiz A, Lorenzo M. L. and Rivas A., (2014), Effect of organic cultivation of Picual and Hojiblanca olive varieties on the quality of virgin olive oil at four ripening stages, *European Journal of Lipid Science and Technology* 116, p. 1634–1646
- Kamal-Elding A, Appelqvist L, (1996), The chemistry and antioxidant properties of tocopherols and tocotrienols, *Lipids*, 31: p. 671–701

- Kelly G.S., (1999), Squalene and its potential clinical uses, Squalene and its potential clinical uses, *Alternative Medicine Reviewer*, 4, p. 29–36
- Khor, H.T. & Chieng, M.Sc., (1997), Effect of squalene, tocotrienols and a-tocopherol supplementations in the diet on serum and liver lipids in the hamster, *Nutrition Research*, 17, p. 475–483
- Lancer F., Iaccarino N., Amato J., Pagano B., Pagano A., Teno G., Tamendjari A., Mannina L., Rovellini P., Venturini S., Bellan G., Ritieni A., Novellino E., Randazzo A., (2016), Characterization of monovarietal extra virgin olive oils from the province of Béjaïa (Algeria), *Food Research International* 89, p. 1123–1133
- Lanzón A., Albi T., Cert A., & Gracián J., (1994), The hydrocarbon fraction of virgin olive oil and changes resulting from refining, *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 71, p. 285–291
- Laroussi-Mezghani S., Vanloot P., Molinet J., Dupuy N., Hammami M., Grati-Kamoun N., Artaud J., (2015), Authentication of Tunisian virgin olive oils by chemometric analysis of fatty acid compositions and NIR spectra, Comparison with Maghrebian and French virgin olive oils, *Food Chemistry* 173, p. 122–132
- Lopez-Miranda J., Delgado-Lista J., Perez-Martinez P., JimenezGmez Y., Fuentes F., Ruano J. and Marin C., (2007), Olive oil and the haemostatic system, *Molecular Nutrition & Food Research*, 51(10), p 1249–1259
- Lo´pez-Miranda J., Pe´ rez-Jime´ nez F., Ros E., De Caterina R., Badimo´n L., Covas M.I., Escrich E., Ordova´s J.M., Soriguer F., Abia´ R., Alarco´ n de la Lastra C., Battino M., Corella D., Chamorro-Quiro´s J., Delgado-Lista J., Giugliano D., Esposito K., Estruch R., Fernandez-Real J.M., Gaforio J.J., La Vecchia C., Lairon D., Lo´pezSegura F., Mata P., Mene´ndez J.A., Muriana F.J., Osada J., Panagiotakos D.B., Paniagua J.A., Pe´ rez-Martinez P., Perona J., Peinado M.A., Pineda-Priego M., Poulsen H.E., Quiles J.L., Rami´rez-Tortosa M.C., Ruano J., Serra-Majem L., Sola´ R., Solanas M., Solfrizzi V., de la Torre-Fornell R., Trichopoulou A., Uceda M., Villalba-Montoro J.M., Villar-Ortiz J.R., Visioli F., Yiannakouris N., (2010), Olive oil and health: Summary of the II international conference on olive oil and health consensus report, Jae´ n and Co´ rdoba (Spain) 2008, *Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases* 20, p. 284–294
- Loukas, M. and Pontikis C., (1981), Is the phenotypic variation observed within cultivars of *Olea europea* L. reflected to isozyme banding patterns? *Journal of Horticulture and Science*, 56 (4), p. 377-379
- V´azquez L., Torres C. F., Fornari T., Se´nor´ans F. J., Reglero G., (2007), Recovery of squalene from vegetable oil sources using countercurrent supercritical carbon dioxide extraction, *Journal of Supercritical Fluids* 40, p. 59–66
- Manai-Djebali H., Krichene D., Ouni Y., Gallardo L., Sanchez J., Osorio E., Zarrouk M., (2012), Chemical profiles of five minor olive oil varieties grown in central Tunisia, *Journal of Food Composition and Analysis*, 27(2), p. 109–119

- Manzi P., Panfili G., Esti M., Pizzoferrato L., (1998), Natural antioxidants in the unsaponifiable fraction of virgin Olive oils from different cultivars, *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 77: p. 115–120
- Covas M.-I., (2007), Olive oil and the cardiovascular system, *Pharmacological Research*, 55(3), p. 175–186
- Matyas G. R., Rao M., Pittman P. R., Burge R., Robbins I. E., Wassef N. M., et al. (2004), Detection of antibodies to squalene: III. Naturally occurring antibodies to squalene in humans and mice, *Journal of Immunological Methods*, 286, p.47–67
- Merchak N., El Bacha E., Bou Khouzam R., Rizk T., Akoka S., Bejjani J., (2017), Geoclimatic, morphological, and temporal effects on Lebanese olive oils composition and classification: A H NMR metabolomic study, *Food Chemistry* 217, p. 379–388
- Michel T., Allouche N., Khlif I., Kanakis P., Termentzi Ai., Halabalaki M., Skaltsounis A.-L., (2015), UHPLC-DAD-FLD and UHPLC-HRMS/MS based metabolic profiling and characterization of different *Olea europaea* organs of Koroneiki and Chetoui varieties, *Phytochemistry Letters* ,11, p. 424-439
- Miettinen T. A., Vanhanen H., (1994), Serum concentration and metabolism of cholesterol during rapeseed oil and squalene feeding, *The American Journal of Clinical Nutrition*, 59, p. 356-363
- Molyneux P. , (2004), “The Use of the Stable Free Radical Diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for Estimating Antioxidant Activity, *Songklanakarinn Journal of Science and Technology*, 26(2), p. 212
- Monteleone E. and Langstaff S., (2014), Olive Oil Sensory Science, Chapter 11 :Olive Oils from Greece, published by John Wiley & Sons, USA
- Moreda W., Perez-Camino M.C., Cert A., (2001), Gas and liquid chromatography of hydrocarbons in edible vegetable oils, Review, *Journal of Chromatography A*, 936, p. 159–171
- Morello J. R., Motilva M.J., Tovar M.J., Romero M.P., (2004), Changes in commercial virgin olive oil (cultivar Arbequina) during storage, with special emphasis on the phenolic fraction, *Food Chemistry*, 85, p. 357–364.
- Murkovic M., Lechner S., Bratacos M., Pietzka A., Katzogiannos E., (2004), Analysis of minor components in olive oil, *Journal of Biochemical and Biophysical Methods* 61, p. 155 – 160
- Nenadis N. & Tsimidou M., (2002), Determination of Squalene in Olive Oil Using Fractional Crystallization for Sample Preparation, *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 79(3)
- Nieves Franco M., Galeano-Díaz T., Sánchez J., De Miguel C., Martín-Vertedor D., (2014), Total Phenolic Compounds and Tocopherols Profiles of Seven Olive Oil Varieties Grown in the South-West of Spain, *Journal of Oleo Science*, 63, (2) 000-000
- Nissiotis M., Tasioula-Margari M., (2002), Changes in antioxidant concentration of virgin olive oil during thermal oxidation, *Food Chemistry*, 77, p. 371–376.

- Owen R. W., Mier W., Giacosa A., Hull W. E., Spiegelhalder B. and Bartsch H., (2000), Phenolic compounds and squalene in olive oils: the concentration and antioxidant potential of total phenols, simple phenols, secoiridoids, lignans and squalene, *Food and Chemical Toxicology* 38, p. 647-659
- Papadopoulos G. , and Boskou D. , (1991), Antioxidant effect of natural phenols on olive oil, *Journal of the American Oil Chemists' Society* 68, p. 669–71
- Pe´rez-Camino M. C., Moreda W., Mateos R., & Cert A., (2002), Determination of esters of fatty acids with low molecular weight alcohols in olive oils, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50, p. 4721–4725
- Piironen V., Lindsay D.G., Miettinen T. A., Toivo J., & Lampi A.M., (2000), Plant sterols: Biosynthesis, biological function and their importance to human nutrition, *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 80, p. 939–966
- Plat J., & Mensink R.P., (2005), Plant stanol and sterol esters in the control of blood cholesterol levels: Mechanism and safety aspects, *The American Journal of Cardiology*, 96, p.15–22
- Pontikis C., Loukas M. and Kousounis G., (1980), The use of biochemical markers to distinguish olive cultivars, *Journal of Horticulture and Science* 55, p. 333-343
- Presti G., Guarrasi V., Gulotta E., Provenzano F., Provenzano A., Giuliano S., Monfreda M., Mangione M.R., Passantino R., San Biagio P.L., Costa M.A., Giacomazza D., (2017), Bioactive compounds from extra virgin olive oils: Correlation between phenolic content and oxidative stress cell protection, *Biophysical Chemistry* 230, p. 109–116
- Psomiadou E., Tsimidou M., (1999), On the role of squalene in olive oil stability, *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 47, p. 4025–4032
- Rao C. V., Newmark H. L., (1998), Chemopreventive effect of squalene on colon cancer, *Carcinogenesis*, 19, p. 287-290
- Reddy L. H. and Couvreur P., (2009), Squalene: A natural triterpene for use in disease management and therapy, *Advanced Drug Delivery Reviews* 61, p. 1412–1426
- Roginsky V. , and Lissi E. A. , (2005), Review of methods todetermine chain breaking antioxidant activity in food, *Food Chemistry*, 92, p. 235-254
- Romero C., Ruiz-Méndez M. V., Brenes M. (2016), Bioactive Compounds in Virgin Olive Oil of the PDO Montoro-Adamuz, *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 93:665–672
- Romero N., Saavedra J., Tapia F., Sepúlveda B. and Aparicio R., (2016), Influence of agroclimatic parameters on phenolic and volatile compounds of Chilean virgin olive oils and characterization based on geographical origin, cultivar and ripening stage, *Journal of Science and Food Agriculture* 96: p. 583–592
- Russo A., Muzzalupo I., Perri E., Sindona G., (2010), A new method for detection of squalene in olive oils by mass spectrometry, Special Abstracts, *Journal of Biotechnology* 150S, p. S1–S576

- Sagratini G., Allegrini M., Caprioli G., Cristalli G., Giardina D., Maggi F., Ricciutelli M., Sirocchi V., Vittori S., (2013), Simultaneous Determination of Squalene, α -Tocopherol and β -Carotene in Table Olives by Solid Phase Extraction and High-Performance Liquid Chromatography with Diode Array Detection, *Food Analysis Methods*, 6, p. 54–60
- Saitta M., Giuffrida D., La Torre G. L., Potortì A. G., & Dugo G., (2009), Characterisation of alkylphenols in pistachio (*Pistacia vera* L.) kernels, *Food Chemistry*, 117, p. 451–455
- Sakouhi F., Herchi W., Sbei K., Absalon C. & Boukhchina S., (2011), Characterisation and accumulation of squalene and n-alkanes in developing Tunisian *Olea europaea* L. fruits, *International Journal of Food Science and Technology*, 46, p. 2281–2286
- Salvo A., La Torre G. L., Mangano V., Di Stefano V., Capocchiano V., Saija E., Pellizzeri V., Casale K. E., Dugo G., (2017), Fast UPLC/PDA determination of squalene in Sicilian P.D.O. pistachio from Bronte: Optimization of oil extraction method and analytical characterization, *Food Chemistry* 221, p. 1631–1636
- Samaniego-Sanchez C., Quesada-Granados J.J., Lopez-Garcia de la Serrana H., Lopez-Martinez M.C., (2010), b-Carotene, squalene and waxes determined by chromatographic method in picual extra virgin olive oil obtained by a new cold extraction system, *Journal of Food Composition and Analysis* 23, p. 671-676
- Schnetzler K. A.; Breene W. M. , (1994), Food uses and amaranth product research: a comprehensive review, In *Amaranth: Biology, Chemistry, and Technology*; Paredes-Lopez, O., Ed.; CRC Press: Boca Raton, FL,; pp 155-184
- Servili M., Selvaggini R., Esposto S., Taticchi A., Montedoro G. & Morozzi G., (2004), Health and sensory properties of virgin olive oil hydrophilic phenols: Agronomic and technological aspects of production that affect their occurrence in the oil, *Journal of Chromatography A*, 1054, p. 113-127
- Smith T. J. , (2000), Squalene: potential chemopreventive agent, *Expert Opinion on Investigational Drugs*, 9, p. 1841-1848
- Sochor J., Horna A., Zitka O., Skutkova H., Pavlik D., Babula P., Krska B., Adam V., Provaznik I. and. Kizek R, (2010), Content of Phenolic Compounds and Antioxidant Capacity in Fruits of Apricot Genotypes, *Molecules*, 15, p. 6285-6305
- Spanova M. and Daum G., (2011), Squalene – biochemistry, molecular biology, process biotechnology, and applications, (Review Article), *European Journal of Lipid Science Technology*, 113, p. 1299–1320
- Storm H. M., Oh S. Y., Kimler B. F. & Norton S. , (1993), Norton Radio protection of Nice Dietary Squalene, *Lipids*, 28, p. 555–559
- Tasioula-Margari M., Tsabolatidou E., (2015), Extraction, separation and identification of phenolic compounds in virgin olive oil by HPLC-DAD and HPLC-MS, *Antioxidants* p. 548–562
- Therios I., (2009), Olives, *Crop production science in horticulture* 18, Chapter 23: Olive Varieties, published by Biddles, UK

- Trichopoulos D., Trichopoulou A., (2009), Traditional Mediterranean Diet and Health, In : Olive Oil, Minor Constituents and Health, Editor Dimitrios Boskou, CRC Press
- Tsimidou M., Blekas G. and Boskou D., (2003), Olive oil, Encyclopedia of Food Sciences and Nutrition, Second Edition, p. 4252-4260
- Tuck K. L., Hayball P. J., (2002), Major phenolic compounds in olive oil: metabolism and health effects, *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 13(11), p. 636–644
- Tura D., Gigliotti C., Pedo S., Failla O., Bassi D., Serraiocco A., (2007), Influence of cultivar and site of cultivation on levels of lipophilic and hydrophilic antioxidants in virgin olive oils (*Olea europea* L.) and correlations with oxidative stability, *Science of Horticulture*, 112, p. 108–119
- Velasco J., Dobarganes C., (2002), Oxidative stability of virgin olive oil, *European Journal of Lipid Science and Technology*, 104, p. 661–676
- Wania T. A., Masoodia F.A., Gania A., Nabi Babaa W. , Rahmanian N. , Akhtera R. , Wania I. A., Ahmada M. , (2018), Olive oil and its principal bioactive compound: Hydroxytyrosol – A review of the recent literature, *Trends in Food Science & Technology*, 77, p. 77–90
- Wang H., Wang H., Yang L., Zu Y., Liu F., Liu T., (2011), Comparative effect of carnosic acid, BHT and α -tocopherol on the stability of squalene under heating and UV irradiation, *Food Research International* 44, p.2730–2734
- Wiesman Z., (2009), Desert olive oil cultivation: Advanced biotechnologies, Burlington, MA: Academic Press
- Xiang C., Xu Z., Liu J., Li T., Yang Z., Ding C., (2017), Quality, composition, and antioxidant activity of virgin olive oil from introduced varieties at Liangshan, *LWT - Food Science and Technology* 78, p. 226-234
- Xiao H., Yao Z., Peng Q., Ni F., Sun Y., Zhang C.X., Zhong Z.X., (2016), Extraction of squalene from camellia oil by silver ion complexation, *Separation and Purification Technology*, 169, p. 196–201

Ελληνική Βιβλιογραφία

- Αναγνωστόπουλος Π., (1940), Η Ελληνική Δεντροκομία, Τόμος Α, Γενική Δεντροκομία, Τύποις Α.Θ. Λαμπροπούλου, Σωκράτους 62, Αθήνα
- Κανονισμός (ΕΕ) αριθ. 432/2012, σχετικά με τη θέσπιση καταλόγου επιτρεπόμενων ισχυρισμών υγείας που διατυπώνονται για τα τρόφιμα, εξαιρουμένων όσων αφορούν τη μείωση του κινδύνου εκδήλωσης ασθένειας και την ανάπτυξη και υγεία των παιδιών
- Κανονισμός (ΕΟΚ) αριθ. 2568/1991 σχετικά με τον προσδιορισμό των χαρακτηριστικών των ελαιολάδων και των πυρηνελαίων καθώς και με τις μεθόδους προσδιορισμού
- Κανονισμός (ΕΕ) αριθ. 1308/2013, για τη θέσπιση κοινής οργάνωσης των αγορών γεωργικών προϊόντων
- Κανονισμός (ΕΚ) αριθ. 1989/2003, σχετικά άμε τον προσδιορισμό των χαρακτηριστικών των ελαιολάδων και των πυρηνελαίων καθώς και με τις μεθόδους προσδιορισμού
- Κυριτσάκης Α.Κ., (2007), Κεφάλαιο 2ο Βοτανικά Χαρακτηριστικά της ελιάς-Σύσταση ελαιοκάρπου-σηματισμός ελαιολάδου, In: Ελαιολάδο Συμβατικό & Βιολογικό-Βρώσιμη Ελιά-Πάστα Ελιάς, 4^η Έκδοση, Θεσσαλονίκη
- Κωνσταντίνος Πετρωτός, (2015), Εργαστήριο Μαθήματος: Μεταποίηση αγροτικών προϊόντων, θέμα: Τεχνολογία παραγωγής ελαιολάδου & σπορελαίων, ΤΕΙ Λάρισας
- Λύχνος Ν., (1948), Το δέντρο της ελαιάς, Τόμοι Ι και ΙΙ, Τύποις «Πυρσού», Αθήνα
- Μπαλατσούρας Γ.Δ., (2004), Σύγχρονη Ελαιοκομία Τόμος ΙΙ η επιτραπέζια ελιά, Κεφάλαιο 2: Ελαιόδεντρο-Καταγωγή και Διάδοση, Κεφάλαιο 5: Ελαιοκαρπος
- Μπαλατσούρας Γ.Δ., (1994), Σύγχρονη Ελαιοκομία Τόμος Ι, Το Ελαιόδεντρο, Εκδόσεις Πελεκάνος, Σόλωνος 116-106, Αθήνα
- Παπαναστασίου Δ., (1966), Λ.Π. Σύγχρονη Ελαιουργία, Η τεχνολογία των Ελαίων, Εκδοτικός Οίκος Σπύρος-Σπύρου και Υιός, Αθήνα
- Ποντίκης Κ., (2000), Ειδική Δεντροκομία Ελαιοκομία Τόμος Τρίτος, Εκδόσεις Α. Σταμούλης, Αβέρωφ 2, Αθήνα

Ιστοσελίδες

- <https://sites.google.com/site/5epalellada/> Χάρτης της Ελλάδας, Πρόσβαση 15/05/2018
- <https://www.scribd.com/document/366660671/%CE%95%CE%A6%CE%95%CE%A4-%CE%9F%CE%94%CE%97%CE%93%CE%9F%CE%A3%CE%93%CE%99%CE%91%CE%A4%CE%9F%CE%95%CE%9B%CE%91%CE%99%CE%9F%CE%9B%CE%91%CE%94%CE%9F-pdf> ΕΦΕΤ, (2015), Κανόνες Εμπορίας και Επισήμανσης Ελαιολάδου, Πρόσβαση 17/05/2018

- <http://www.oliveoilaustralia.com/tree-to-table/olive-oil-production/> Πρόσβαση 31/05/2018
- https://www.researchgate.net/figure/The-chemical-structures-of-vitamin-E-a-tocopherol-gallic-acid-GA-and-dodecyl_fig1_259802884 Χημική Δομή α-τοκοφερόλης-Βιταμίνης E, Πρόσβαση 31/05/2018
- <https://ndb.nal.usda.gov/ndb/foods/show/333379?manu=&fgcd=&ds=&q=MEDITERRANEAN%20EXTRA%20VIRGIN%20OLIVE%20OIL,%20UPC:%20613881100037> USDA, (2018), Θρεπτικά συστατικά έξτρα παρθένου ελαιολάδου Μεσογείου, Πρόσβαση 30/05/2018