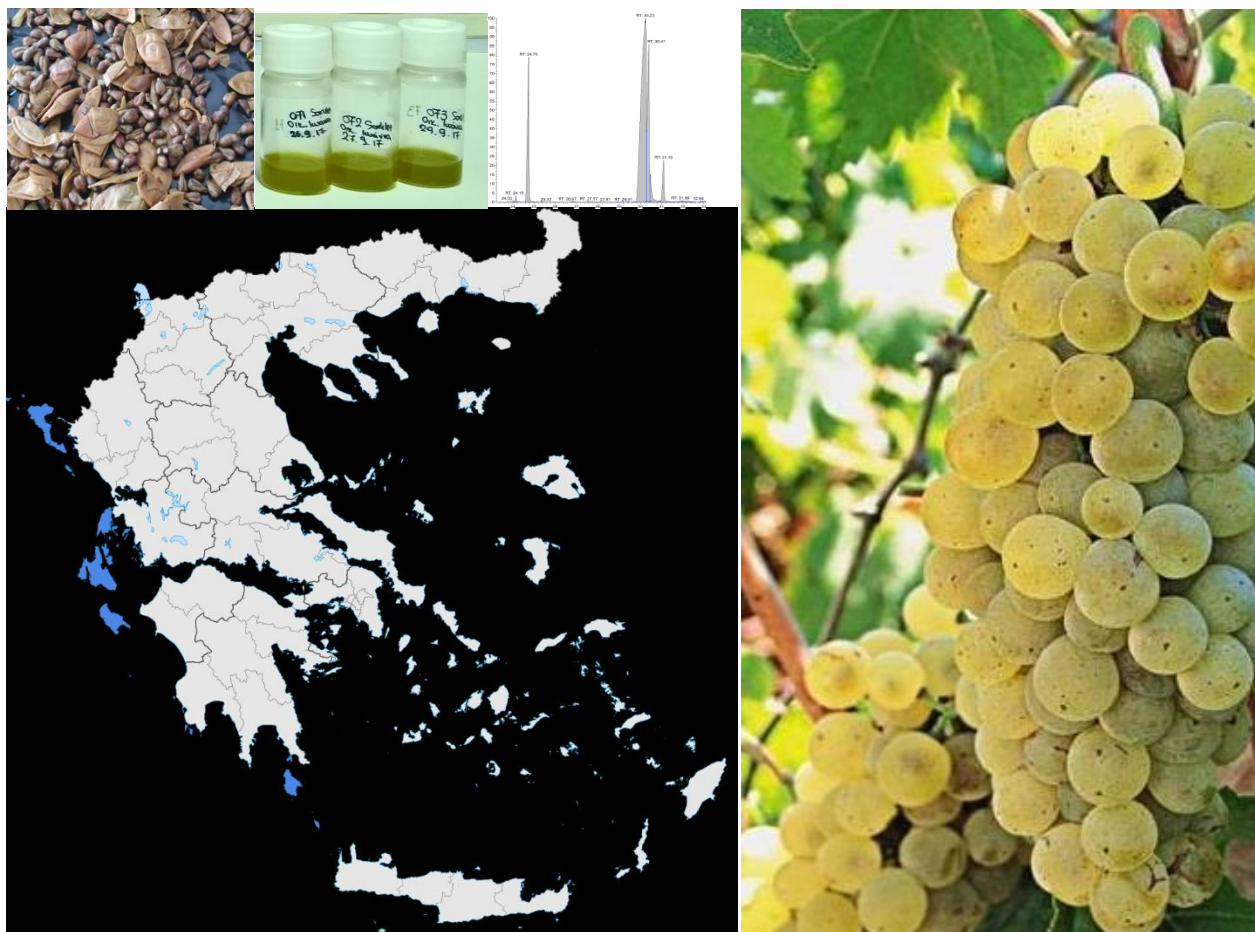




## ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

«Μελέτη της χημικής σύστασης του γιγαρτελαίου, προερχόμενο από διαφορετικές ποικιλίες σταφυλιών των Ιονίων νησιών. Προσδιορισμός της αντιοξειδωτικής του δράσης.»



ΙΩΑΝΝΑ Σ. ΟΙΚΟΝΟΜΟΥ

ΑΘΗΝΑ 2018

ΕΠΙΒΛΕΠΩΝ: ΠΕΤΡΟΣ Α. ΤΑΡΑΝΤΙΛΗΣ, ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ ΓΠΑ

**ΓΕΩΠΟΝΙΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ**

ΣΧΟΛΗ ΤΡΟΦΙΜΩΝ, ΒΙΟΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΚΑΙ ΑΝΑΠΤΥΞΗΣ

Π.Μ.Σ. ΤΜΗΜΑΤΟΣ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ ΚΑΙ ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ ΤΟΥ ΑΝΘΡΩΠΟΥ

ΚΑΤΕΥΘΥΝΣΗ: ΜΕΛΕΤΗ ΚΑΙ ΑΞΙΟΠΟΙΗΣΗ ΦΥΣΙΚΩΝ ΠΡΟΙΟΝΤΩΝ

ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΓΕΝΙΚΗΣ ΧΗΜΕΙΑΣ

**ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ**

ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΧΗΜΙΚΗΣ ΣΥΣΤΑΣΗΣ ΤΟΥ ΓΙΓΑΡΤΕΛΑΙΟΥ, ΠΡΟΕΡΧΟΜΕΝΟ ΑΠΟ ΔΙΑΦΟΡΕΤΙΚΕΣ ΠΟΙΚΙΛΙΕΣ  
ΣΤΑΦΥΛΙΩΝ ΤΩΝ ΙΟΝΙΩΝ ΝΗΣΙΩΝ. ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΤΗΣ ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΗΣ ΤΟΥ ΔΡΑΣΗΣ.

**ΙΩΑΝΝΑ Σ. ΟΙΚΟΝΟΜΟΥ**

**ΑΘΗΝΑ 2018**

ΕΠΙΒΛΕΠΩΝ: ΠΕΤΡΟΣ Α. ΤΑΡΑΝΤΙΛΗΣ, ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ ΓΠΑ

**ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ**

ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΧΗΜΙΚΗΣ ΣΥΣΤΑΣΗΣ ΤΟΥ ΓΙΓΑΡΤΕΛΑΙΟΥ, ΠΡΟΕΡΧΟΜΕΝΟ ΑΠΟ ΔΙΑΦΟΡΕΤΙΚΕΣ ΠΟΙΚΙΛΙΕΣ  
ΣΤΑΦΥΛΙΩΝ ΤΩΝ ΙΟΝΙΩΝ ΝΗΣΙΩΝ. ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΤΗΣ ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΗΣ ΤΟΥ ΔΡΑΣΗΣ.

**ΙΩΑΝΝΑ Σ. ΟΙΚΟΝΟΜΟΥ**

**ΑΘΗΝΑ 2018**

ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ:

ΠΕΤΡΟΣ Α. ΤΑΡΑΝΤΙΛΗΣ, ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ ΓΠΑ (ΕΠΙΒΛΕΠΩΝ)

ΧΡΗΣΤΟΣ ΠΑΠΠΑΣ, ΑΝΑΠΛΗΡΩΤΗΣ ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ ΓΠΑ

ΑΘΑΝΑΣΙΟΣ ΜΑΛΛΟΥΧΟΣ, ΛΕΚΤΟΡΑΣ ΓΠΑ

*Αφιερώνεται Στην Οικογένεια και τους Φίλους μου*

## I. Ευχαριστίες

Έπειτα από μια παύση δύο ετών στην ακαδημαϊκή μου σταδιοδρομία βρέθηκα μετά από αναζήτηση και αποτυχίες στην εύρεση εργασίας στο παρόν μεταπτυχιακό πρόγραμμα σπουδών του ΓΠΑ, στην κατεύθυνση της Μελέτης και Αξιοποίησης των Φυσικών Προϊόντων. Τολμώ να παραδεχτώ ότι ήταν απρόσμενα ευχάριστο και αναπάντεχο το γεγονός ότι συμμετείχα σε ένα μεταπτυχιακό που μόνο καλά έχω να θυμάμαι από την αλληλεπίδρασή μου με τους καθηγητές και το προσωπικό του εργαστηρίου.

Παρότι το αντικείμενο δεν ήταν καινούργιο για εμένα αφού με είχαν προετοιμάσει κατάλληλα οι βασικές μου σπουδές στη Βιολογία, η τριβή με το αντικείμενο των Φυσικών Προϊόντων από τη σκοπιά της αγνής οργανικής χημείας με έκανε να κατανοήσω εις βάθος τη λειτουργία των μορίων αυτών, που παρά το μέγεθός τους φαίνεται να συμμετέχουν καθοριστικά σε πολλά βιολογικά μονοπάτια, καταστέλλοντας ή ανατροφοδοτώντας τα μονοπάτια αυτά και συμβάλλοντας καθοριστικά στην επιβίωση των φυτών και όσων ζώων τα καταναλώνουν.

Η ευκαιρία να βρεθώ στο εργαστήριο της Γενικής Χημείας του ΓΠΑ μου δόθηκε από τον υπεύθυνο καθηγητή της διατριβής αυτής, κ. Πέτρο Ταραντίλη και θα ήθελα να τον ευχαριστήσω θερμά για αυτό. Δεν είναι μόνο η εμπιστοσύνη που μου έδειξε προσφέροντάς μου τη θέση αυτή, αλλά και η συνεχής παρουσία του, σε συνδυασμό με τη πολυμήχανη σκέψη που τον χαρακτηρίζει, που συνέβαλαν στο να ολοκληρώσω την εργασία αυτή με επιτυχία. Στο σημείο αυτό οφείλω να ευχαριστήσω και τη κ. Ευσταθία Σκώττη, η οποία ως επιστημονική υπεύθυνη και συντονίστρια του προγράμματος, κομμάτι του οποίου ανέλαβα και θα παρουσιάσω στην εργασία αυτή, ήταν πάντα παρούσα και με περίσσιο ενδιαφέρον και καθοδήγηση κάλυπτε άμεσα τυχόν κενά ή ανησυχίες που δημιουργούνταν κατά τη διάρκεια της πειραματικής μου εργασίας.

Για την ολοκλήρωση της διατριβής αυτής οφείλω και ένα μεγάλο ευχαριστώ στους υπόλοιπους καθηγητές του προγράμματος, που προσέφεραν απλόχερα τις κεκτημένες γνώσεις και την εμπειρία χρόνων επάνω στο αντικείμενό τους. Μεταξύ αυτών θα ήθελα να ξεχωρίσω το κ. Χρήστο Παππά, που φρόντιζε πάντα να μας συμβουλεύει κατάλληλα και να μας προετοιμάζει για τυχόν προβλήματα που θα αντιμετωπίζαμε, καθώς και τους κυρίους Μόσχο Πολυσίου και Γιώργο Παπαδόπουλο που αποτελούν για διαφορετικό λόγο ο καθένας τους στολίδια του προγράμματος αυτού και γενικότερα του ΓΠΑ.

Κλείνοντας, οφείλω ένα μεγάλο ευχαριστώ στους ανθρώπους με τους οποίους η συνύπαρξη στο μικρό αυτόν χώρο του εργαστηρίου με δίδαξε πολλά. Τους ευχαριστώ για την άψογη συνεργασία

και την αβίαστη πληροφορία που απλόχερα προσέφεραν και εύχομαι να έκανα και εγώ το ίδιο προς εκείνους.

Επιγραμματικά, θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά την πλέον μεταπτυχιακή φοιτήτρια Τζίνα Μπαμπάτσικου, η οποία με καλωσόρισε ουσιαστικά στο χώρο του εργαστηρίου και με εισήγαγε στις τεχνικές εκχύλισης και ανάλυσης που θα ακολουθούσα και της οποίας η βοήθεια αποδείχτηκε πολύτιμη. Επίσης θα ήθελα να ευχαριστήσω τις υποψήφιες διδάκτορες, Νεφέλη Σωτηροπούλου, Ελένη Κακούρη και Λυδία Βαλάση οι οποίες στηρίζουν το εργαστήριο και τους ανθρώπους που είναι μέσα σε αυτό, διαθέτοντας πολύ συχνά προσωπικό τους χρόνο και κόπο για να αισθανόμαστε άνετα και να μπορούμε να αποδώσουμε.

Νιώθω ότι ένα ευχαριστώ δεν αρκεί για τη συνεχή παρουσία της κ. Δήμητρας Δαφερέρα και του κ. Χάρη Κανάκη που προσπαθούσαν με τα μέσα που διέθεταν να κάνουν τη ζωή μας απλούστερη και συνεχώς εμπλούτιζαν τις γνώσεις μας σε τεχνικά ή ερευνητικά θέματα που θέτονταν. Επίσης οφείλω ευγνωμοσύνη στο κ. Λάζαρο Κιωκάκη από το Υπουργείο Αγροτικής Ανάπτυξης για τη γνωστοποίηση σημαντικών στοιχείων για την παραγωγή του οίνου στα Ιόνια Νησιά και την προθυμία του να συμβάλει στην προσπάθεια έρευνας της ολοκληρωμένης διαχείρισης των προϊόντων των οινοποιείων.

## II. Περίληψη

Οι σπόροι των σταφυλιών, ή αλλιώς γίγαρτα, συμπεριλαμβάνονται στα απόβλητα των οινοποιείων και αναφέρονται συχνά ως σημαντικά γεωργικά και βιομηχανικά απόβλητα με την δυνατότητα χρήσης τους σε φαρμακευτικές και καλλυντικές εφαρμογές, αλλά και σε τρόφιμα. Στη μελέτη αυτή εξετάστηκε το έλαιο σταφυλιού, γνωστό ως γιγαρτέλαιο, δώδεκα δειγμάτων, προερχόμενα από έξι διαφορετικές παραδοσιακές ποικιλίες των Ιόνιων νησιών για τον προσδιορισμό της ποιότητας και των χαρακτηριστικών κάθε ποικιλίας. Η εκχύλιση του ελαίου από τα γίγαρτα έγινε με εκχυλιστήρα Soxhlet και το κανονικό εξάνιο χρησιμοποιήθηκε ως διαλύτης. Αναλύθηκαν αρχικά τα προφίλ μεθυλεστέρων των λιπαρών οξέων (FAMES) χρησιμοποιώντας αέρια χρωματογραφία- φασματομετρία μάζας (Gas Chromatography-Mass Spectrometry) μετά από την μετεστεροποίηση του ελαίου. Επίσης έγινε η ποσοτικοποίηση των FAMES με τη χρήση του μεθυλεστέρα του δεκανοϊκού οξέος ως εσωτερικού προτύπου. Άλλες ποιοτικές παράμετροι που προσδιορίστηκαν με τεχνικές φασματοσκοπίας, συμπεριλαμβανομένων των UV-Vis, Raman και IR-ATR ήταν αυτές της ακορεστότητας των γιγαρτελαίων, καθώς και τις χαρακτηριστικές ομάδες από τις οποίες αποτελείται. Επιπρόσθετα, μετρήθηκε η αντιοξειδωτική ικανότητα του ελαίου με τις δοκιμές 2,2'-azino-bis-3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid (ABTS) και 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) σε ισοδύναμα Trolox. Προσδιορίστηκε και το ολικό φαινολικό περιεχόμενο των ελαίων με τη χρήση του αντιδραστηρίου Folin-Ciocalteu και εκφράστηκε σε ισοδύναμα καφεϊκού οξέος. Οι συντελεστές απόσβεσης K και ΔK μετρήθηκαν στα 232, 268 και 270 nm, ως δείκτες ποιότητας του ελαίου. Τα αποτελέσματα δείχνουν ότι η συνολική περιεκτικότητα σε έλαιο σταφυλιών σε σταφύλια κυμαίνεται από 5,26 έως 8,77% κατά βάρος, όντας σε συμφωνία με τις αποδόσεις διαφορετικών ποικιλιών γιγαρτελαίου που μελετήθηκαν σε παρόμοιες μελέτες. Η σύνθεση του ελαίου των σπόρων σταφυλιών κυριαρχείται από τα λινελαϊκό (C18:2) και ελαϊκό (C18:1) λιπαρά οξέα με το πρώτο να κυμαίνεται από 53,68 έως 69,95%. Τα κυρίαρχα δύο λιπαρά οξέα συνιστούν το 79-83% FAMES, το οποίο είναι ανάλογο με τη σύνθεση λιπαρών οξέων του καρθαμέλαιου και του ηλιέλαιου. Το λινελαϊκό οξύ (C18:2), είναι ένα ω-6 λιπαρό οξύ που είναι απαραίτητο για τον άνθρωπο. Εκτός των δύο κυρίαρχων λιπαρών οξέων τα δείγματα περιείχαν σε μεγάλα ποσοστά το παλμιτικό (C16:0) και το στεατικό (C18:0) λιπαρό οξύ. Οι αντιοξειδωτικές δοκιμές ABTS και DPPH έδειξαν ισχυρή παρεμπόδιση των αντίστοιχων ριζών από το γιγαρτέλαιο, αναδεικνύοντας την προοπτική των γιγαρτελαίων για χρήση πέραν της καλλυντικής ή μαγειρικής, στη

φαρμακευτική βιομηχανία. Το περιεχόμενο των ελαίων σε ολικά φαινολικά ήταν φτωχό, γεγονός που δε προκαλεί εντύπωση λόγω της διαφοράς της πολικότητας των λιπαρών και των φαινολικών ουσιών. Τέλος, η αποκατάσταση των γιγάρτων από τα απόβλητα των οινοποιείων είναι σύμφωνη με το στρατηγικό πλαίσιο της βιοοικονομίας και συμβάλλει σημαντικά στην προστασία του περιβάλλοντος.

**Λέξεις κλειδιά: γιγαρτέλαιο, Ιόνια Νησιά, GC-MS, FAMES, φασματοσκοπικές τεχνικές, αντιοξειδωτικά**



**STUDY OF GRAPE SEED OILS' CHEMICAL COMPOSITION ORIGINATED FROM  
GRAPE VARIETIES TRADITIONALLY CULTIVATED IN THE IONIAN ISLANDS.  
DETERMINATION OF ITS ANTIOXIDANT ACTIVITY**

**Abstract**

Grape seeds are waste products of wineries and often referred to as an important agricultural and industrial waste product with potential to be used in pharmaceutical, food and cosmetic applications. In this study, grape seed oil from traditional Ionian varieties was examined for the determination of the quality and the characteristics of each variety. Grape seed oil was extracted by Soxhlet apparatus and n-hexane. Initially, the fatty acid methyl ester (FAME) profiles were analyzed using Gas Chromatography-Mass Spectrometry, after trans-esterification. At the same time the quantification of FAMES by using decanoic acid methyl ester as an internal standard took place. Furthermore, other quality parameters of the grape seed oils which determined by spectroscopy techniques, UV-Vis, Raman and IR-ATR included, were related to the unsaturation of the oils and the characteristic groups that are contained in the grape seed oil as well. Moreover, the antioxidant capacity of the oil was measured by 2,2'-azino-bis-3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid (ABTS) and 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) assays and their antioxidant capacity expressed in Trolox equivalents. K and  $\Delta K$  indices were measured in 232, 268, 270 nm, as an oil quality index. Total phenolic content was also determined by Folin- Ciocalteu reagent and the results expressed in caffeic acid equivalents. The results indicate that the air-dried grape seed total oil content ranged from 5.26 to 8.77 % w/w, which is in accordance to other grape seed varieties tested in similar studies. The composition of grape seed oil is predominated with linoleic and oleic fatty acids, with linoleic fatty acid ranging from 53.68 to 69.95 % and both linoleic and oleic fatty acids are totaling 79-83 % of FAMES, which is analogous to the fatty acid composition of safflower oil and sunflower oil. Linoleic acid (C18: 2) is an omega-6 fatty acid that is essential for human's diet. In addition to the two predominant fatty acids, the samples contained large amounts of palmitic (C16: 1) and stearic (C18: 0) fatty acids. The antioxidant assays ABTS and DPPH scored high, exhibiting that the oils have prospects that can go further than cosmetic or culinary use, into the pharmaceuticals industry. Grape seed oils' total phenolic content was low, not surprisingly since the polarity of the fats opposes that of the phenolic compounds. Finally, the reclamation of grape seeds from wineries waste stream is in accordance with bio-economy strategic framework and contributes to the environmental protection.

**Key Words:** grape seed oil, Ionian Islands, GC-MS, FAMES, spectroscopic techniques, antioxidants

## Πίνακας Περιεχομένων

I. Ευχαριστίες

II. Περίληψη

III. Θεωρητικό Μέρος

1. Εισαγωγή.....	1
1.1. Τα Ιόνια Νησιά.....	2
1.2. Η κατάσταση σήμερα.....	4
1.3. Χρήσεις των παραπροϊόντων της διαδικασίας οινοποίησης.....	5
1.4. Τα γίγαρτα.....	6
1.5. Μέθοδοι εκχύλισης των γιγάρτων προς παραγωγή γιγαρτελαίου.....	8
1.6. Σκοπός της μελέτης.....	9

IV. Πειραματικό Μέρος

2. Υλικά και Μέθοδοι.....	10
2.1. Αντιδραστήρια.....	10
2.2. Φυτικό Υλικό.....	10
2.3. Μέθοδοι.....	11
2.3.1. Εκχύλιση του ελαίου από τα γίγαρτα.....	11
2.3.2. Προσδιορισμός των μεθυλεστέρων των λιπαρών οξέων.....	12
2.3.3. Προσδιορισμός της αντιοξειδωτικής ικανότητας.....	13
2.3.4. Προσδιορισμός ολικών φαινολικών συστατικών .....	15
2.3.5. Φασματοσκοπικές τεχνικές ανάλυσης.....	16
3. Αποτελέσματα- Συζήτηση.....	19
4. Συμπεράσματα.....	30

V. Παράρτημα

Παράρτημα 1. Χρωματογραφήματα- % Ανάλυση FAMES.....	32
Παράρτημα 2. Πίνακες.....	44
Παράρτημα 3. Γραφήματα.....	47
Κατάλογος Συντμήσεων.....	54
VI. Βιβλιογραφία.....	56

### **III. ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ**

## 1. Εισαγωγή

Η παρούσα μεταπτυχιακή διατριβή διεξήχθη στο πλαίσιο του μεταπτυχιακού προγράμματος για την Μελέτη και Αξιοποίηση Φυσικών Προϊόντων, του τμήματος Τροφίμων και Διατροφής του Ανθρώπου και εκπονήθηκε στο εργαστήριο Γενικής Χημείας του Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών, μέσα στα πλαίσια προγράμματος της Περιφέρειας των Ιονίων νησιών για την αξιοποίηση των παραπροϊόντων των οινοποιείων, με τίτλο έργου "Αξιοποίηση υπολειμμάτων οινοποίησης για την παραγωγή πρώτων υλών υψηλής προστιθέμενης αξίας για τη βιομηχανία τροφίμων, καλλυντικών και παραφαρμακευτικών ειδών" "ΙΟΝΙΑ ΝΗΣΙΑ 2014-2020 ", συγχρηματοδοτούμενη από την Ευρωπαϊκή Ένωση και την Περιφέρεια Ιονίων Νήσων.

Το φυτό που απασχόλησε την εργασία αυτή είναι το *Vitis vinifera*, κοινώς γνωστό ως αμπέλι, και συγκεκριμένα το αναπαραγωγικό όργανο του φυτού και μέρος της σταφυλής, τα γιγάρτα. Το αμπέλι είναι αγγειόσπερμο φυτό, της τάξεως των Ραμνωδών και συγκαταλέγεται στην οικογένεια των Αμπελοειδών με πολλές ποικιλίες που καλλιεργούνται στις εύκρατες περιοχές του πλανήτη. Το συγκεκριμένο φυτό είναι γνωστό με αναφορές από την αρχαιότητα έως και σήμερα, κυρίως για τη παραγωγή του οίνου. Η χρήση του όμως δε περιορίζεται ως εκεί, αφού έχει επίσης χρησιμοποιηθεί για τη παραγωγή αποσταγμάτων, ηδύποτων και αλκοολών. Επίσης καταναλώνεται ως φρέσκος καρπός, αλλά και ως αποξηραμένος.

Όσο αφορά στα προϊόντα που συνοδεύουν τη παραγωγή του κρασιού, συμπεριλαμβανομένων των γιγάρτων, δεν έχουν απασχολήσει την ελληνική βιομηχανία ως ένα κομμάτι που θα μπορούσε να της αποφέρει κέρδος. Με αυτό το μερίδιο των υπολειμμάτων ασχολήθηκε η μελέτη αυτή, με στόχο τον προσδιορισμό της χημικής σύστασης του ελαίου των γιγάρτων, γνωστό ως γιγαρτέλαιο, καθώς και το προσδιορισμό της αντιοξειδωτικής του δράσης.

Από τα Ιόνια νησιά προέρχονται όλα τα δείγματα που μελετήθηκαν για τους σκοπούς αυτής της διατριβής. Η επιλογή των δειγμάτων έγινε με γνώμονα την μοναδικότητα της γεωμορφολογίας των Ιόνιων νησιών, η οποία σε συνδυασμό με παράγοντες όπως το έδαφος και το κλίμα του Ιονίου συνθέτουν συνθήκες κατάλληλες για την ανάδειξη των τοπικών ποικιλιών. Τα δώδεκα δείγματα που απασχόλησαν τη παρούσα διατριβή προέρχονται από διάφορες ποικιλίες σταφυλιών των Ιονίων νησιών και όσα ανήκουν στην ίδια ποικιλία διαφέρουν ως προς το τόπο παραγωγής τους.

Πιο συγκεκριμένα προσφέρθηκαν από τοπικά οινοποιεία των Ιονίων επτά δείγματα Ρομπόλας ΠΟΠ (Κεφαλονιάς) και ένα δείγμα Ρομπόλας από τη Ζάκυνθο. Τα υπόλοιπα τέσσερα δείγματα ήταν των

ποικιλιών, Τσαούσι και Sauvignon Blanc από την Κεφαλονιά, Γουστολίδι από τη Ζάκυνθο και τέλος Cabernet Sauvignon από την Κέρκυρα.

### 1.1 Τα Ιόνια Νησιά

Η ιδιαίτερη γεωμορφολογία καθορίζεται από τη θέση των νησιών απέναντι από την δυτική ακτή της ηπειρωτικής Ελλάδας, στα ανατολικά των συνόρων με την Ιταλία. Αποτελούν ένα σύνολο επτά νησιών και μερικών ακόμα μικρών νησίδων. Στο βόρειο τμήμα τους συναντάμε την Κέρκυρα και κατεβαίνοντας προς τα νότια βρίσκουμε τους Παξούς και Αντιπαξούς, τη Λευκάδα, την Ιθάκη, τη Κεφαλονιά και στα νοτιότερα τη Ζάκυνθο.

Οι ποικιλίες αμπέλου των νησιών αυτών συνδέονται στενά με τη πρόσφατη ιστορία τους και με την ενετική κυριαρχία για τρεις αιώνες περίπου, από τον 15<sup>ο</sup> έως τα μέσα του 18<sup>ου</sup> αιώνα, να είναι καθοριστικής σημασίας για τις ποικιλίες που καλλιεργήθηκαν τελικά εκεί. Οι ανάγκες που κλήθηκαν να καλύψουν η παραγωγή του οίνου και τα προϊόντα της καθορίζονταν από τις ανάγκες των Ενετών. Το 1993 ο Miles Lambert-Gócs στο βιβλίο του με τίτλο «Τα ελληνικά κρασιά», ξεχωριστά και αναλυτικά, περιγράφει τη κάθε ποικιλία αμπέλου καθενός από τα νησιά του Ιονίου και εικάζει βάση της ονοματολογίας και της ποιότητας του κάθε κρασιού την προέλευση τους.

Με εκτενείς αναφορές στα νησιά της Ζακύνθου, της Κεφαλονιάς και της Κέρκυρας, σημειώνει χαρακτηριστικά ότι οι Βενετσιάνοι προώθησαν τη καλλιέργεια της σταφίδας στα Ιόνια νησιά, ιδιαίτερα στη Ζάκυνθο, πολλές φορές εις βάρος άλλων οινοποιητικών ποικιλιών. Επίσης αναφέρεται στο ότι η ανάπτυξη της καλλιέργειας της αμπέλου δεν απειλήθηκε από παράγοντες όπως αυτόν της φυλλοξήρας, που μάστιζε άλλες περιοχές. Αντίθετα όμως, μάστιγα ήταν η ισχύουσα επιβολή φόρων, που είχε ως επακόλουθο την πτώση του εμπορίου του κρασιού και λειτούργησε ως εμπόδιο από το να γίνουν ευρέως γνωστά τα κρασιά του Ιονίου.

Επίσης επισημαίνει ότι καθοριστικοί ήταν και οι σεισμοί του 1953 για τη καλλιέργεια της αμπέλου και όχι μόνο, καθώς μεγάλο κομμάτι του πληθυσμού που πλήγηκε εγκατέλειψε τη περιοχή του Ιονίου και συνεπώς τα εργατικά χέρια που κάλυπταν τις ανάγκες της γεωργίας μειώθηκαν δραματικά.

Ξετυλίγοντας το κουβάρι της ιστορίας φτάνει κανείς στο 1971, όπου τρεις επτανησιακές ποικιλίες, από τις τριάντα τρεις που έχει κατοχυρωμένες συνολικά η Ελλάδα, κατακτούν τη προστατευόμενη ονομασία προέλευσης, μετά ακριβώς από την εφαρμογή της σχετικής ελληνικής νομοθεσίας. Το εντυπωσιακό είναι ότι και οι τρεις ανήκουν στην Κεφαλονιά, που οφείλει το σκήπτρο αυτό στο φυσικό της περιβάλλον, με το στοιχείο του ασβεστολιθικού πετρώματος και το υψόμετρο να προσδίδουν στα κρασιά της τον μοναδικό τους χαρακτήρα.

Οι ποικιλίες με προστατευόμενη ονομασία προέλευσης (ΠΟΠ) είναι οι: Μαυροδάφνη Κεφαλονιάς, Μοσχάτο Κεφαλονιάς και τέλος η ευρέως γνωστή Ρομπόλα Κεφαλονιάς. Η τελευταία εκτός από τη παρουσία της στο νησί της Κεφαλονιάς, συναντάται συχνά και στη Ζάκυνθο, αλλά οι αποκλίσεις που εμφανίζονται στα δύο νησιά λόγω της περιβαλλοντικής ιδιομορφίας ευνοούν την Ρομπόλα που προέρχεται από την Κεφαλονιά έναντι εκείνης της Ζακύνθου, όσο αφορά στο χαρακτήρα του κρασιού και συνεπώς στην κατάκτηση της ονομασίας γεωγραφικής προελεύσεως για τη Ρομπόλα Κεφαλονιάς.

Ο χαρακτήρας της Ρομπόλας που προέρχεται από τη Κεφαλονιά οφείλει τη μοναδικότητά του στα άγονα ασβεστολιθικά υψίπεδα της Κεφαλονιάς που απλώνονται στα ανατολικά και βορειοανατολικά του Αργοστολίου, στο άγονο υψίπεδο των Ομαλών με κατεύθυνση προς τις κορυφές του όρους Αίνου. Οι αμπελώνες κλιμακώνονται σε υψόμετρο μεταξύ 250 έως 800 μέτρων και τα χωριά που ορίζουν τη ζώνη ονομασίας προέλευσης της Ρομπόλας Κεφαλονιάς είναι τα Δαύγατα, τα Δειλινάτα, τα Φραγκάτα, τα Βαλσαμάτα, τα Τρωινάτα, τα Μεταξάτα και το Επανωχώρι. Συνολικά 3.200 στρέμματα Ρομπόλας καλλιεργούνται στη ζώνη προελεύσεως, από ένα σύνολο 14.000 στρεμμάτων αμπελώνων που καλύπτουν το νησί (Lambert-Gócs Miles, «ΤΑ ΕΛΛΗΝΙΚΑ ΚΡΑΣΙΑ-Οδοιπορικό στη χώρα τού Διονύσου», *Τρίαινα Εκδοτική*, Αθήνα 1993).

Σύμφωνα με τα στοιχεία που ευγενικά παραχώρησε το υπουργείο γεωργίας για τα έτη 2015, 2016 και 2017<sup>1</sup> τα κιλά της Ρομπόλας που προερχόταν από τη Κεφαλονιά και παραδόθηκαν στο συνεταιριστικό οινοποιείο ή πωλήθηκαν σε οινοποιούς ήταν κατά μέσο όρο 350 μετρικοί τόνοι, σύμφωνα με το Γράφημα 1. Σε καμιά περίπτωση αυτό το νούμερο δε πλησιάζει τη παραγωγή των άλλων δύο ποικιλιών με προστατευόμενη ονομασία προέλευσης της Κεφαλονιάς. Η παραγωγή στη περίπτωση της Μαυροδάφνης είναι κατά μέσο όρο για τα τρία έτη κοντά στους 54 μετρικούς τόνους και το Μοσχάτο Άσπρο έχει μια σταθερή παραγωγή για τα έτη 2016 και 2017 στους 14 μετρικούς τόνους, ενώ η παραγωγή του για το έτος 2015 είναι σχεδόν απογοητευτική με παράδοση σοδειάς σε οινοποιούς που δε ξεπερνάει τους 6 μετρικούς τόνους, όπως διακρίνει κανείς και από το Γράφημα 1.

---

<sup>1</sup> Υπ. Γεωργίας και Αγροτικής Ανάπτυξης. Δηλώσεις παραγωγών σταφυλιού 2015, 2016, 2017. Ιόνια Νησιά. Διεύθυνση Συστημάτων Καλλιέργειας. Τμήμα Αμπέλου και Ελαιάς.



Γράφημα 1. Δηλώσεις παραγωγών Κεφαλονιάς για τα σταφύλια των ποικιλιών με Προστατευόμενη Ονομασία Προέλευση για τα έτη 2015-2017. Οι μπάρες αφορούν τη παραγωγή σε τόνους.

Συνολικά οι δηλώσεις των παραγωγών των Ιόνιων νησιών για τα τρία συναπτά έτη 2015-2017, που αφορούν στις ποικιλίες που παράγονται εκεί, πλησιάζουν ή και ξεπερνούν τους 1.200 μετρικούς τόνους κάθε χρόνο (Γράφημα 11, Παράρτημα), με ένα μεγάλο μέρος αυτής της παραγωγής να αποτελείται από σταφύλια της ποικιλίας Ρομπόλα. Μια εκτίμηση της παραγωγής του βάρους μόνο για τα γίγαρτα που παράγονται ως παραπροϊόντα της οινοποίησης μπορεί να φτάνει ή και να ξεπερνάει τους 60 τόνους (5% του βάρους της σταφυλής). Και αυτό για μια Περιφέρεια που έχει βέβαια παράδοση στη καλλιέργεια σταφυλιών αλλά συνολικά αποτελεί ένα μικρό κομμάτι της αντίστοιχης ελληνικής παραγωγής.

Αυτομάτως, η διεργασία παραγωγής του οίνου συμπορεύεται της ανάγκης για τη διαχείριση του παραγόμενου όγκου των παραπροϊόντων των οινοποιείων. Στην ανάγκη αυτή επικεντρώθηκε η παρούσα μελέτη, διερευνώντας τις δυνατότητες που προσφέρονται από τον διαχωρισμό και την κατάλληλη επεξεργασία των απορριμμάτων των οινοποιείων.

## 1.2 Η κατάσταση σήμερα

Ο Διεθνής Οργανισμός Αμπέλου και Οίνου<sup>2</sup> αναφέρει για το έτος 2014 πως η παγκόσμια καλλιέργεια για τη παραγωγή προϊόντων αμπέλου κάλυπτε 7,5 εκ. εκτάρια. Από αυτά, παραπάνω από τα μισά καλλιεργούνται στην Ευρώπη, κυρίως για την παραγωγή οίνου, κατατάσσοντας την ως τη κορυφαία σε παραγωγή προϊόντων αμπέλου παγκοσμίως.

Η ΝΔ Ευρώπη κατέχει τα ηνία στη παραγωγή οίνου, με κυρίαρχες χώρες την Γαλλία, την Ιταλία και την Ισπανία. Η παραγωγή της Ελλάδας στα προϊόντα οίνου είναι σαφώς μικρότερη συγκριτικά με τις παραγωγές των παραπάνω χωρών, παρόλα αυτά, τα προϊόντα αμπέλου αποτελούν το δεύτερο σε αξία

<sup>2</sup> OIV- International Organization of Vine and Wine



προϊόν στην Ελλάδα μετά το ελαιόλαδο, σύμφωνα με το Παγκόσμιο Οργανισμό Τροφίμων και Γεωργίας<sup>3</sup> για τα έτη 2015 και 2016.

Η επεξεργασία των παραπροϊόντων της οινοποιητικής βιομηχανίας αποτελεί άλυτο ζήτημα λόγω της έλλειψης μονάδων επεξεργασίας τους στην Ελλάδα. Τις περισσότερες φορές αυτές οι υπολειπόμενες μάζες της βιομηχανικής οινοποίησης αντιμετωπίζονται ως απόβλητα και αφήνονται σε αγρούς ή θάβονται για την αποφυγή προσέγκυσης μυγών και για λόγους αισθητικής. Λιγότερες φορές οι μάζες αυτές έχουν χρησιμοποιηθεί τότε με μεγαλύτερη και τότε με μικρότερη επιτυχία ως ζωοτροφή, λίπασμα ή άλευρα, παρότι μελέτες έχουν αναδείξει ότι από αυτά τα απόβλητα μπορούν να προκύψουν σημαντικά παραπροϊόντα προστιθέμενης αξίας (da Silva & Jorge, 2017; Teixeira et al., 2014).

Αντίθετα με την ισχύουσα κατάσταση σε Ελλάδα, φαίνεται πως σε κυρίαρχες οινοπαραγωγές χώρες, όπως η Ισπανία, η Γαλλία και η Ιταλία, το θέμα της διαχείρισης των αποβλήτων που προκύπτουν από τη διαδικασία παραγωγής του οίνου είναι μείζονος σημασίας για τους ιδιοκτήτες των μονάδων οινοποίησης αλλά και την ερευνητική κοινότητα. Όπως επισημαίνεται λάθος διαχείριση των απορριμμάτων μπορεί να οδηγήσει σε περιβαλλοντική ρύπανση και η επιβολή προστίμων ή καταδίκης να είναι το αντίμετρο αυτής της καταστροφής (Devesa-Rey et al., 2011), σύμφωνα με την αρχή της ΕΕ «ο ρυπαίνων πληρώνει», αποθαρρύνοντας έτσι τους εν δυνάμει ρυπαντές.

Όλα τα παραπάνω συνηγορούν στην ανάγκη μείωσης του τελικού όγκου των παραπροϊόντων. Αυτά που στις περισσότερες των περιπτώσεων αντιμετωπίζονται ως απορρίμματα και λιγότερο σαν προϊόντα με προστιθέμενη αξία, μπορούν να προσδώσουν αντιοξειδωτική δράση ή να λειτουργήσουν ως συμπλήρωμα διατροφής ή ακόμα ως πρώτη ύλη για τη παρασκευή εκλεκτών τροφίμων (Serra et al., 2008).

Η αξιοποίηση των παραπροϊόντων της οινοποίησης λειτουργεί διττά, συμβάλλοντας στην ολοκληρωμένη διαχείριση των παραγόμενων παραπροϊόντων και την προστασία του περιβάλλοντος, καθώς και παράγοντας καινοτόμα προϊόντα που καλύπτουν τις όλο και αυξανόμενες ανάγκες του πληθυσμού για τη πλούσια σε αντιοξειδωτικά διατροφή.

### 1.3 Χρήσεις των παραπροϊόντων της διαδικασίας οινοποίησης

Έχουν προταθεί διάφοροι τρόποι για την αξιοποίηση των παραπροϊόντων της οινοποίησης που αποτελεί όπως αναφέρθηκε τη δεύτερη οικονομικά ισχυρότερη αγροτική βιομηχανία. Κάποιοι βασικοί άξονες για την άμεση αξιοποίησή τους είναι: η καύση τους για την κάλυψη μέρους των ενεργειακών

---

<sup>3</sup> FAOSTAT- Food and Agriculture Organization of the United Nations

αναγκών των οινοποιείων και η χρήση αυτών για τη παραγωγή εδαφοβελτιωτικών (προηγείται επεξεργασία) ή ζωοτροφών (κατανάλωση ως φρέσκο) και υπόστρωμα για ανάπτυξη μανιταριών (A. Pardo, Perona, & Pardo, 2007).

Επιπλέον αναπτύσσονται τρόποι αξιοποίησης των επιμέρους συστατικών του εναπομείναντα πολτού οινοποίησης. Ο πολτός αυτός αποτελείται από μια άμορφη μάζα που περιέχει τα γίγαρτα, τους φλοιούς, καθώς και το κατάλοιπα του υλικού της διαδικασίας της ζύμωσης (σάκχαρα και μύκητες). Ο πολτός αυτός έχει όξινο pH και περιέχει υψηλές συγκεντρώσεις οργανικής ουσίας (669-920 g/kg) (Bustamante et al., 2008). Επομένως είναι αδύνατο να χρησιμοποιηθεί ως έχει και απαιτείται ο διαχωρισμός του, αφού προηγηθεί ξήρανση του. Τα στέμφυλα και τα γίγαρτα μπορούν να αξιοποιηθούν για τη παραγωγή πολυμερών κατεχίνης και ελαίου, ανθοκυανιδίων ή χρωστικών αντίστοιχα (Devesa-Rey et al., 2011). Επίσης μπορεί να αποτελέσουν πηγή για τη παραγωγή καυσίμων, όπως για παράδειγμα βιοαιθανόλη (Rodríguez et al., 2010).

Η παραγωγή τροφίμων και συμπληρωμάτων διατροφής από στέμφυλα ή γίγαρτα είναι μια ραγδαία αναπτυσσόμενη αγορά, καθώς φαίνεται να ανταποκρίνονται σε ευρύ φάσμα προβλημάτων. Από τη μία πλευρά η αντιμικροβιακή δράση των συστατικών του (Oliveira et al., 2013; Serra et al., 2008), από την άλλη πλευρά η εμπλοκή των συστατικών αυτών σε μονοπάτια καταπολέμησης φλεγμονών ή μονοπάτια ρύθμισης του κυτταρικού κύκλου (Garavaglia, Markoski, Oliveira, & Marcadenti, 2016), ανοίγουν δρόμο προς την ενδελεχή έρευνα των επιμέρους συστατικών αυτού του πολτού.

Αυτό γίνεται αντιληπτό από τα ήδη υπάρχοντα συμπληρώματα που προτείνονται για τη καλύτερη κυκλοφορία του αίματος και τη πρόληψη καρδιαγγειακών νοσημάτων ή καλλυντικών που βασίζουν την αποτελεσματικότητά τους στην έντονα αντιοξειδωτική δράση των παραπροϊόντων των οινοποιείων. Επίσης διαφαίνεται και στην ανάπτυξη προϊόντων που βασίζονται στην πολικότητα των κλασμάτων που ακολουθούν τη διαδικασία της οινοποίησης, όπως τον εγκλεισμό της ρεσβερατρόλης σε γιγαρτέλαιο από αυθόρμητη γαλακτωματοποίηση (Davidov-Pardo & McClements, 2015).

#### 1.4 Τα γίγαρτα

Το γιγαρτέλαιο είναι το κύριο θέμα που απασχόλησε τη παρούσα διατριβή. Είναι το προϊόν εκχύλισης θρυμματισμένων γιγάρτων με μη πολικό διαλύτη για την παραλαβή των λιπόφιλων συστατικών. Υπάρχουν και άλλοι τρόποι εκχύλισής του που αναφέρονται παρακάτω. Ως λιπόφιλα, ορίζονται τα δυσδιάλυτα στο νερό βιομόρια, που είναι συνεπώς διαλυτά σε μη πολικούς διαλύτες (Bruice, 2004). Ο παραπάνω ορισμός αποτελεί μια βολική σύμβαση, καθώς εμπεριέχει ένα μεγάλο αριθμό συστατικών που διαφορετικά θα ήταν δύσκολο να ταξινομηθούν. Όμως εμπερικλείει και

προβλήματα, ένα εξ αυτών ο τεράστιος αριθμός ουσιών υδροφοβικής φύσεως και ένα ακόμα ότι μερικά από τα κλασικά λιπίδια, πχ: τα λιπαρά οξέα, διαλύονται σημαντικά στο νερό.

Αν θέλαμε να περιορίσουμε το εύρος του παραπάνω ορισμού θα τοποθετούσαμε τα λιπαρά οξέα και τα παράγωγα αυτών σε μια διαφορετική κατηγορία. Κατά αυτό το τρόπο θα είχαμε τα λιπαρά οξέα ως καρβοξυλικά οξέα συνδεδεμένα με μακριές καρβοξυλικές αλυσίδες και τα παράγωγά τους που μπορεί να αποτελούνται από εστέρες γλυκερόλης, κηρούς, ή αλκοόλες, όπως οι στερόλες (Cseke et al., 2003).

Το γίγαρτα έχουν απασχολήσει τους ερευνητές καθώς περιέχουν έναν συνδυασμό λιπόφιλων και υδρόφιλων συστατικών. Από τη μία πλευρά, σημαντικές βιταμίνες λιπόφιλης φύσης, όπως τοκοφερόλες και τοκοτριενόλες (Beveridge, Girard, Kopp, & Drover, 2005; Fernandes, Casal, Cruz, Pereira, & Ramalhosa, 2013; Sabir, Unver, & Kara, 2012), όπως επίσης και απαραίτητα ακόρεστα λιπαρά οξέα, τριγλυκερίδια και φυτοστερόλες (Crews et al., 2006; Sabir et al., 2012). Οι τοκοτριενόλες είναι ακόρεστοι τύποι της βιταμίνης E και προηγούμενες μελέτες τις έχουν κατατάξει μεταξύ των παραγόντων που μειώνουν την κυτταρική διαφοροποίηση. Το γιγαρτέλαιο έχει αναδειχθεί ως σημαντική πηγή α- και γ- τοκοτριενόλης, με ελάχιστες εποχικές διακυμάνσεις στη συγκέντρωση αυτών (Zhao et al., 2015).

Από την άλλη πλευρά υδρόφιλα συστατικά, όπως ουσίες φαινολικής φύσης που είναι υπεύθυνες για τη γεύση και τα αρώματα των κόκκινων οίνων, συντελλόντας σημαντικό ρόλο στο χρόνο παλαίωσης τους (Maier, Schieber, Kammerer, & Carle, 2009; Nogales-Bueno et al., 2017). Τα παραπάνω συστατικά έχουν πολλές φορές αναδειχθεί για την αντιοξειδωτική τους δραστηριότητα και έχουν προταθεί ως φυσικά προϊόντα που θα μπορούσαν να αντικαταστήσουν συνθετικά αντιοξειδωτικά στα τρόφιμα και σε καλλυντικά (Jayarakasha, Singh, & Sakariah, 2001).

Τα γίγαρτα αποτελούν το 5% του βάρους της σταφυλής και το 38- 52% της συνολικής μάζας των υπολειμμάτων των οινοποιείων επί ξηρού (Ghafoor, Choi, Jeon, & Jo, 2009; Maier et al., 2009). Όσον αφορά τώρα τη σύσταση των γιγάρτων σε επιμέρους συστατικά, γίνεται αναφορά σε περιεχόμενό του σε φυτικές ίνες έως 40%, έλαιο έως 16 %, πρωτεΐνες έως 11 % και φαινολικά συστατικά, όπως τανίνες αλλά και σάκχαρα και μεταλλικά στοιχεία έως 7%, εκφρασμένα % κατά βάρος (de Campos, Leimann, Pedrosa, & Ferreira, 2008). Το περιεχόμενό τους σε λάδι όπως και η περιεκτικότητά τους σε φαινολικά συστατικά (γαλλικό οξύ, κατεχίνη, επικατεχίνη και εύρος προκυανιδίων), καθιστά τα γίγαρτα ως πλούσια πηγή σημαντικών παραγόντων ευζωίας (Maier et al., 2009). Τέλος, η περιεκτικότητά των γιγάρτων σε φλαβονόλες είναι καθοριστικός παράγοντας της ποιότητας και των οργανοληπτικών

χαρακτηριστικών των κόκκινων κρασιών, αφού συμμετέχουν ενεργά στην διαδικασία οινοποίησης (Nogales-Bueno et al., 2017).

### 1.5 Μέθοδοι εκχύλισης των γιγάρτων προς παραγωγή γιγαρτελαίου

Όπως προαναφέρθηκε, με την εκχύλιση των γιγάρτων παράγεται το γιγαρτέλαιο. Οι τρόποι παραγωγής του ποικίλουν ανάλογα με τη διαθέσιμη ποσότητα πρώτης ύλης και το λόγο παραγωγής του. Πιο συγκεκριμένα, κυρίαρχοι τρόποι παραγωγής του γιγαρτελαίου αποτελούν: η εκχύλιση με διαλύτη (εφαρμόζεται με την ίδια διαδικασία παραγωγής πυρηνελαίων), η ψυχρή έκθλιψη (η μηχανική άσκηση πίεσης για την εξαγωγή του ελαίου από τα γίγαρτα) και μια πιο σύγχρονη τεχνική, η εκχύλιση με υπερκρίσιμα υγρά.

Υπάρχουν επίσης τρόποι για να εμπλουτίσει κανείς τις παραπάνω μεθόδους σε αντιοξειδωτικά ή σε έλαιο παραλλάσσοντας τις ήδη γνωστές μεθόδους. Όπως για παράδειγμα, η υποβοηθούμενη εκχύλιση με ειδικευμένα ένζυμα, υπερήχους ή μικροκύματα που αποτελούν μεθόδους πιο φιλικές προς το περιβάλλον καθώς ελαχιστοποιείται η χρήση διαλυτών (Liu, Gasmalla, Li, & Yang, 2016; Luque de Castro & Priego-Carote, 2010; Passos, Yilmaz, Silva, & Coimbra, 2009) και συγχρόνως λαμβάνεται έλαιο πλουσιότερο σε αντιοξειδωτικά, με μικρότερες βέβαια αποδόσεις.

Καθώς όλες οι παραπάνω τεχνικές έχουν πλεονεκτήματα και μειονεκτήματα είναι σημαντικό κανείς να επιλέξει μια εκ των παραπάνω βάση του σκοπού για τον οποίο θέλει να χρησιμοποιήσει το έλαιο αυτό. Για παράδειγμα, η εκχύλιση με διαλύτη αποδίδει περισσότερο λάδι σε σχέση με την εκχύλιση με υπερκρίσιμα υγρά (Beveridge et al., 2005), ενώ η ψυχρή έκθλιψη απαιτεί μεγάλες ποσότητες πρώτης ύλης και θα ήταν δύσκολο να εφαρμοστεί σε εργαστηριακή κλίμακα. Επίσης οι τεχνικές εκχύλισης που ελαχιστοποιούν την χρήση διαλύτη θεωρούνται πιο φιλικές προς το περιβάλλον, αλλά με χαμηλότερη παραγωγή ελαίου συγκριτικά με τις κλασικές μεθόδους (Da Porto, Porretto, & Decorti, 2013; Siger, Nogala-Kalucka, & Lampart-Szczapa, 2008).

Σε βιομηχανική κλίμακα ο πιο συνηθισμένος τρόπος εξαγωγής του ελαίου από καρπούς είναι η εκχύλιση με διαλύτη, που εφαρμόζεται και για την εκχύλιση του πυρηνέλαιου, αλλά και πιο σύγχρονα μέσα που προαναφέραμε και είναι σε εφαρμογή (Lutterodt, Slavin, Whent, Turner, & Yu, 2011). Η μόνη διαφορά είναι ότι στη περίπτωση των γιγάρτων χρειάζεται η αποξήρανση με φυσικά μέσα (ηλιακή ενέργεια) ή με φούρνους (για την άμεση απομάκρυνση της υγρασίας που ενδέχεται να προκαλέσει προσβολή από μύκητες), καθώς και τη χρήση κοσκίνων για το διαχωρισμό των γιγάρτων από τα στέμφυλα. Καταλαβαίνει κανείς ότι η διαδικασία αυτή μπορεί να λάβει χώρα σε πυρηνελαιουργεία και να τα καταστήσει λειτουργικά και σε μη ελαιοκομικές περιόδους του χρόνου.

## 1.6 Σκοπός της Μελέτης

Η ενασχόληση με τη καλλιέργεια αμπελοοινικών προϊόντων και η οινοποίηση αυτών αποτελεί μια από τις μεγαλύτερες βιομηχανίες στην Ευρώπη και στην Ελλάδα. Κατά τη διαδικασία της οινοποίησης δημιουργούνται υποπροϊόντα ή στερεά απόβλητα, που η διαχείρισή τους είναι τις περισσότερες φορές αγκάθι για τους οινοποιούς. Μέρος αυτών χρησιμοποιείται για την παραγωγή αποσταγμάτων, η οποία όμως για την Περιφέρεια Ιονίων Νήσων, στην οποία επικεντρώθηκε η παρούσα εργασία, αποτελεί ένα μικρό μόνο ποσοστό. Ένα δεύτερο μικρότερο ακόμη μέρος οδηγείται στην παραγωγή ζωοτροφών και ένα πολύ μικρό μέρος για χουμποποίηση (composting).

Το μεγαλύτερο μέρος των υπολειμμάτων συνήθως απορρίπτεται, επιβαρύνοντας το περιβάλλον, αλλά και δημιουργώντας προβλήματα στους ίδιους τους οινοποιούς, που πολλές φορές τα προσφέρουν δίχως αμοιβή προκειμένου να αποφορτίσουν τις εγκαταστάσεις οινοποίησης τους. Συμπερασματικά φαίνεται ότι τα υποπροϊόντα οινοποίησης παραμένουν σε μεγάλο βαθμό αναξιοποίητα, ενώ η όποια αξιοποίησή τους οδηγεί σε προϊόντα όχι ιδιαίτερα μεγάλης προστιθέμενης αξίας.

Σκοπός της παρούσας εργασίας είναι η μελέτη και η αξιολόγηση των υπολειμμάτων οινοποίησης γηγενών ποικιλιών του Ιονίου και ιδιαίτερα των γιγάρτων, για την αξιοποίησή τους ως προς τη παραγωγή προϊόντων υψηλής προστιθέμενης αξίας και πιο συγκεκριμένα γιγαρτέλαιου. Για την επίτευξή του έγινε η μελέτη της χημικής σύστασης του γιγαρτέλαιου από παραδοσιακά καλλιεργούμενες ποικιλίες των νησιών του Ιονίου. Επίσης προσδιορίστηκε η αντιοξειδωτική του δράση και η περιεκτικότητά του σε φαινολικές ουσίες.

## IV. ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

### 2. Υλικά και Μέθοδοι

#### 2.1 Αντιδραστήρια

Όλοι οι διαλύτες που χρησιμοποιήθηκαν ήταν καθαρότητας  $\geq 99,5\%$ , συμπεριλαμβανομένων των εξανίου, κυκλοεξανίου, μεθανόλης και οξικού αιθυλεστέρα. Για την εκχύλιση του ελαίου έγινε χρήση εξανίου 95 ή 98 %. Επιπλέον, για τον προσδιορισμό της αντιοξειδωτικής ικανότητας των ελαίων χρησιμοποιήθηκαν: α) η ελεύθερη ρίζα DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) και β) η ελεύθερη ρίζα ABTS<sup>•+</sup>, που δημιουργήθηκε με τη χρήση των 2,2'-azino-bis- (3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid) και υπερθειϊκού καλίου (potassium persulphate). Τα αποτελέσματα εκφράστηκαν σε ισοδύναμα Trolox. Για το προσδιορισμό των ολικών φαινολικών έγινε χρήση του αντιδραστηρίου Folin- Ciocalteu και τα αποτελέσματα εκφράστηκαν σε ισοδύναμα καφεϊκού οξέος. Για την παρασκευή των μεθυλεστέρων των λιπαρών οξέων του γιγαρτελαίου έγινε χρήση μεθανόλης και υδροξειδίου του καλίου και χρησιμοποιήθηκε ο μεθυλεστέρας του δεκανοϊκού οξέος για την ποσοτικοποίηση τους.

#### 2.2 Φυτικό Υλικό

Ο πολτός οινοποίησης χορηγήθηκε από τα οινοποιία των Gentilini, τον Συνεταιρισμό Ρομπόλας Κεφαλονιάς, το Κτήμα Γραμψά και τέλος το Κτήμα Θεοτόκης, μετά το πέρας της οινοποιητικής διεργασίας. Από εκεί προήλθε η πρώτη ύλη, τα γίγαρτα και τα στέμφυλα. Επτά από τα δείγματα ήταν της ποικιλίας Ρομπόλα, έξι από τα οποία προέρχονταν από την προστατευόμενη ονομασία προέλευσης (ΠΟΠ) της Ρομπόλα στην Κεφαλονιά και μία εκ των οποίων προέρχεται από τη Ζάκυνθο. Οι υπόλοιπες ήταν οι ποικιλίες Τσαούσι από την Κεφαλονιά, Γουστολίδι από τη Ζάκυνθο, Sauvignon Blanc από την Κεφαλονιά και Cabernet Sauvignon από την Κέρκυρα. Όλες οι πειραματικές πορείες εκτελέστηκαν τρεις φορές σε κάθε δείγμα.

## 2.3 Μέθοδοι

### 2.3.1 Εκχύλιση του ελαίου από τα γιγάρτα

#### Ξήρανση και Διαχωρισμός.

Τα δείγματα παραλήφθηκαν αμέσως μετά το τέλος της οινοποίησης και ξηράθηκαν με ρεύμα αέρα σε θερμοκρασία δωματίου. Το ποσοστό υγρασίας προσδιορίστηκε αφού ο πολτός έφτασε σε σταθερό βάρος και στη συνέχεια επετεύχθη διαχωρισμός γιγάρτων από στέμφυλα με τη χρήση κοσκίνων ειδικά διαμορφωμένων για να προσαρμόζονται στο μέγεθος των γιγάρτων της εκάστοτε ποικιλίας. Με το πέρας της αποξήρανσης έγινε και ο προσδιορισμός της αναλογίας γιγάρτα προς στέμφυλα. Έπειτα, τα υπό μελέτη μέρη σφραγίζονταν σε σακούλες πολυπροπυλενίου κατάλληλες για τρόφιμα και φυλάσσονταν μέχρι να γίνει χρήση τους στους  $-20^{\circ}\text{C}$ .

#### Εκχύλιση με συσκευή Soxhlet.

Μετά την απόψυξη, τα γιγάρτα αφήνονταν σε θερμοκρασία δωματίου για δύο μέρες. Τα αποψυγμένα γιγάρτα αλέθονται με τη χρήση οικιακού μίξερ Philips HR 2074, στη κλίμακα 2, και αφού σημειωθεί το βάρος τους, τοποθετούνται στο φουσίγγιο εκχύλισης (-ή καρτούσα). Αυτή με τη σειρά της παίρνει τη θέση της στη συσκευή Soxhlet, όπως φαίνεται στην Εικόνα 1, και με τη χρήση κανονικού εξανίου (καθαρότητας 95%) γίνεται η εξαγωγή του ελαίου που περιέχεται στα γιγάρτα στους  $70^{\circ}\text{C}$ . Η εκχύλιση διαρκεί έξι ώρες και η αναλογία υλικού προς διαλύτη που ακολουθείται είναι 1 προς 10. Για το κάθε δείγμα γίνονται τρεις επαναλήψεις.

#### Περιεκτικότητα σε έλαιο.

Το περιεχόμενο των γιγάρτων σε έλαιο εκφράστηκε κατά βάρος επί ξηρού στα γιγάρτα και στον πολτό. Επίσης προσδιορίστηκε η % περιεκτικότητα των γιγάρτων που βρίσκεται στο πολτό επί ξηρού. Για κάθε δείγμα έγιναν τρεις επαναλήψεις.

#### Εξάτμιση του διαλύτη.



Η εξάτμιση του διαλύτη γίνεται σε δύο στάδια. Αρχικά γίνεται χρήση περιστροφικού συμπυκνωτή υπό κενό, Heidolph Laborata 4000, σε υδατόλουτρο στους 40° C, όπως φαίνεται στην Εικόνα 2. Τελικά ακολουθεί η πλήρης εξάτμιση του διαλύτη με ρεύμα αζώτου εωσότου να σταθεροποιηθεί το βάρος του ελαίου σε ζυγό ακριβείας.



Εικόνα 3: περιστροφικός συμπυκνωτήρας υπό κενό



Εικόνα 2: Trace Ultra- DSQII Gas Chromatographer, Thermo Scientific

### 2.3.2 Προσδιορισμός των μεθυλεστέρων των λιπαρών οξέων

Οι χρωματογραφικές μέθοδοι ανάλυσης συνηθίζονται για το προσδιορισμό της σύστασης των λιπαρών οξέων, παρόλο που τα λίπη και τα έλαια είναι μη πτητικά. Αυτός είναι και ο λόγος που χρειάζεται να υποβληθούν σε μετεστεροποίηση για τη μετατροπή τους στους αντίστοιχους μεθυλεστέρες των λιπαρών οξέων.

#### Μετεστεροποίηση

Της διαδικασίας ανάλυσης του ελαίου με GC-MS προηγήθηκε η μετεστεροποίηση του ελαίου με τη χρήση μεθανόλης ( $\text{CH}_3\text{OH}$ ), παρουσία υδροξειδίου του καλίου ( $\text{KOH}$ ). Αναλυτικά, σε 1 mL εξανίου 99 % διαλύθηκε 0,1 mL ελαίου. Εκεί προστέθηκε ακολούθως 0,2 mL διαλύματος  $\text{KOH}/\text{CH}_3\text{OH}$  [σε 10 mL  $\text{CH}_3\text{OH}$  διαλύθηκαν 1,12 g  $\text{KOH}$  ( $M_r: 56,11 \text{ g/mol}$ )]. Μετά την ανακίνηση του διαλύματος σε Vortex και την δίλεπτη παραμονή του προς ηρεμία, λαμβάνεται η υπερκείμενη φάση. Από την υπερκείμενη αυτή φάση λαμβάνονται 0,2 mL τα οποία αραιώνονται με 0,775 mL εξανίου 99 % και στο σημείο αυτό προστίθενται και ο μεθυλεστέρας του δεκανοϊκού οξέος προς συμπλήρωση τελικού όγκου 1 mL. Τα 26  $\mu\text{L}$  μεθυλεστέρας του δεκανοϊκού οξέος που εισάγονται έχουν τελική συγκέντρωση στο διάλυμα 150  $\mu\text{g/mL}$ .



Κατά αυτό το τρόπο αναλύθηκαν τελικά οι μεθυλεστέρες των λιπαρών οξέων του γιγαρτελαίου. Για την ανάλυση των μεθυλεστέρων χρησιμοποιήθηκε ο αέριος χρωματογράφος TRACE ULTRA με συζευγμένο ανιχνευτή φασματόμετρου μάζας DSQ II της εταιρίας Thermo Scientific, όπως φαίνεται στην Εικόνα 3. Κάθε δείγμα αναλύθηκε εις τριπλούν.

#### Μέθοδος ανάλυσης δείγματος

Η στήλη του χρωματογράφου που χρησιμοποιήθηκε ήταν η TR 5MS (30m\*0.25mm ID, πάχος φιλμ 0.25μm). Το φέρον αέριο ήταν το ήλιο (He), με ροή 1 mL/min. Η ανάλυση διαρκούσε 57.5 min, και χρησιμοποιήθηκε πρόγραμμα μεταβαλλόμενης θερμοκρασίας ως εξής: αρχικά η θερμοκρασία αυξάνεται από τους 110° C στους 205° C ανά 4° C/min, έπειτα από τους 205° C στους 215° C ανά 1° C/min και τέλος από τους 215° C στους 250°C ανά 4° C/min, όπου και παραμένει σταθερή για χρόνο 15 λεπτά. Ο όγκος εισαγωγής του δείγματος ήταν 1 μL σε λειτουργία splitless και η έγχυση του δείγματος γινόταν χειροκίνητα. Η θερμοκρασία του εισαγωγέα ήταν ρυθμισμένη στους 220° C και η θερμοκρασία του ανιχνευτή στους 240° C.

Για την ταυτοποίηση των μεθυλεστέρων των λιπαρών οξέων χρησιμοποιήθηκαν: ο χρόνος συγκράτησης (Retention Time- RT), σε συνδυασμό με τις διαθέσιμες βάσεις δεδομένων, Adams 0.7 HP, Nist και Xcalibur. Παράλληλα οι λήψεις των φασμάτων μάζας και η πολικότητα της στήλης παρέχουν επιπλέον πληροφορίες για τις ουσίες και το πώς αποτυπώνονται στα χρωματογραφήματα.

#### Ποσοτικοποίηση των μεθυλεστέρων

Για την ποσοτικοποίηση των μεθυλεστέρων αυτών έγινε εισαγωγή μεθυλεστέρα του δεκανοϊκού οξέος γνωστής συγκέντρωσης, όπως περιεγράφηκε παραπάνω. Στη περίπτωση της χρήσης εσωτερικού προτύπου είναι σημαντικό η κορυφή της εισαγμένης ουσίας να μην επικαλύπτει τις υπάρχουσες κορυφές στο χρωματογράφημα. Στη περίπτωση αυτή ο μεθυλεστέρας του δεκανοϊκού οξέος ήταν ιδανικός για τη παρούσα δοκιμασία καθώς εμφανιζόταν αρκετά νωρίτερα από τις υπόλοιπες κορυφές όσο αναφορά στο χρόνο συγκράτησής του (RT), όπως διακρίνεται και από την Εικόνα 10.

### 2.3.3 Προσδιορισμός Αντιοξειδωτικής Ικανότητας.

#### Δοκιμή DPPH

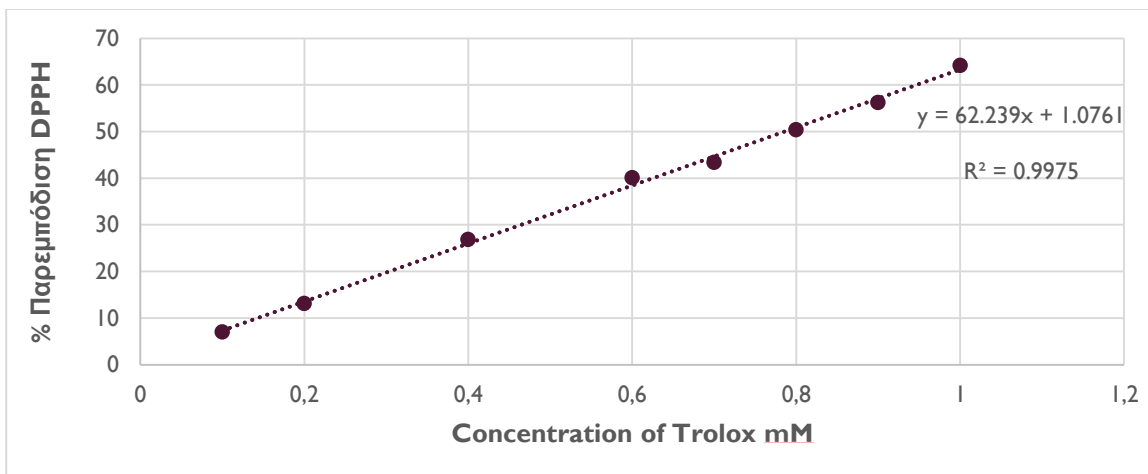
Η δοκιμή DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) χρησιμοποιήθηκε για το προσδιορισμό της αντιοξειδωτικής ικανότητας των γιγαρτελαίων. Η παρασκευή έγινε ως εξής: 0,1 mL ελαίου διαλύθηκε σε 0,9 mL οξικού αιθυλεστέρα και στο διάλυμα αυτό προστέθηκαν 4 mL διαλύματος DPPH (0.08 mM). Για τη παρασκευή του μάρτυρα χρησιμοποιήθηκε οξικός αιθυλεστέρας (ethyl acetate) αντί για έλαιο. Ακολούθησε η παραμονή των δειγμάτων στο σκοτάδι για 30 λεπτά και η μέτρηση της απορρόφησης στα 515 nm. Η ικανότητα του ελαίου να παρεμποδίζει τις ρίζες DPPH προσδιορίστηκε από την ακόλουθη εξίσωση (1):

$$DPPH_{scavenging\ effect} (\%) = \frac{A_{DPPH} - A_{SAMPLE}}{A_{DPPH}} \times 100 \quad (1)$$

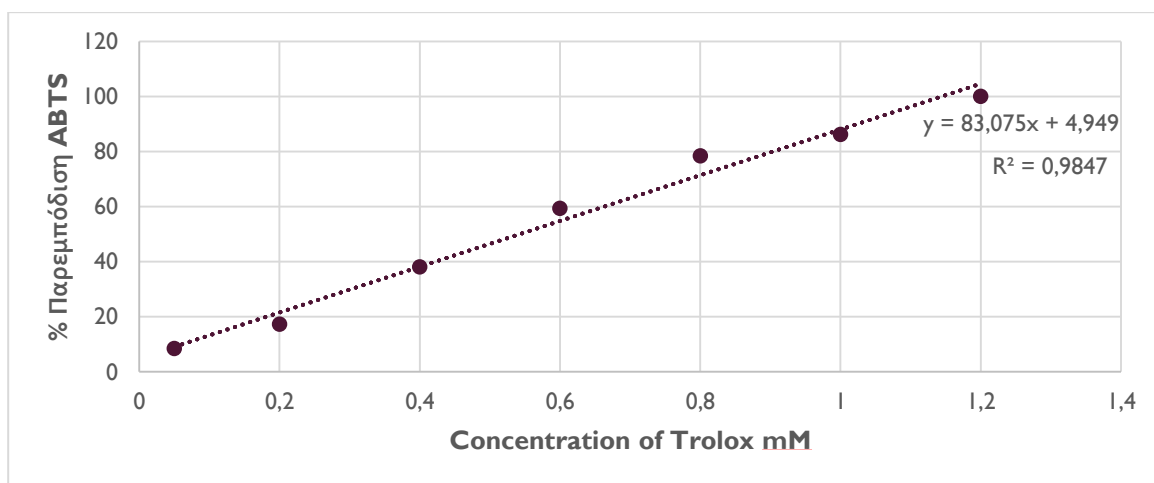
Η εκτίμηση της αντιοξειδωτικής ικανότητας των γιγαρτελαίων έγινε με τη κατασκευή πρότυπης καμπύλης Trolox, που αποτελεί ένα αντιοξειδωτικό ανάλογο του ασκορβικού οξέος (βιταμίνη C). Τα αποτελέσματα της αντιοξειδωτικής ικανότητας των γιγαρτελαίων εκφράστηκαν σε ισοδύναμα Trolox (Trolox Equivalents-TE) σε  $\mu\text{g}$  Trolox στο 1 mL λαδιού, βάση της εξίσωσης του γραφήματος 2, που αποτελεί ένα γραμμικό μοντέλο πρόβλεψης των συγκεντρώσεων Trolox ανάλογα με το ποσοστό παρεμπόδισης των ριζών DPPH.

#### Δοκιμή ABTS

Η δοκιμή ABTS (2,2'-azino-bis- (3- ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid)) χρησιμοποιήθηκε συμπληρωματικά της δοκιμής DPPH ως μέτρο έκφρασης της αντιοξειδωτικής ικανότητας των ελαίων που προέρχονται από τα γίγαρτα. Η δοκιμή αυτή βασίζεται στην ικανότητα των γιγαρτελαίων να παρεμποδίζουν τις ρίζες ABTS•+. Οι ρίζες του ABTS (ABTS•+) δημιουργήθηκαν από την αντίδραση 25 mL διαλύματος ABTS (7 mM) με 440  $\mu\text{l}$  υπερθειϊκού καλίου (140 mM). Το διάλυμα αφέθηκε στο σκοτάδι σε θερμοκρασία δωματίου για 16 με 18 ώρες. Μετά το πέρας αυτών των ωρών το διάλυμα αραιώθηκε με αιθανόλη για την δημιουργία διαλύματος εργασίας με απορρόφηση 0.7 ( $\pm$  0.2) στα 734 nm. Στη συνέχεια, 100  $\mu\text{l}$  γιγαρτελαίου αναμείχθηκαν με 2 mL διαλύματος εργασίας ABTS και μετά από επώαση 6 λεπτών στο σκοτάδι έγινε μέτρηση της απορρόφησης στα 734 nm.



Γράφημα 2: Γραμμικό μοντέλο πρόβλεψης συγκέντρωσης αντιοξειδωτικών που ισοδυναμούν με συγκεντρώσεις Trolox 0.1-1.2  $\mu\text{g}/\text{mL}$ . Δίνεται και το  $R^2$  ως εκτίμηση της καλής προσαρμογής του μοντέλου στις πραγματικές τιμές.



Γράφημα 3: Γραμμικό μοντέλο πρόβλεψης συγκέντρωσης αντιοξειδωτικών που ισοδυναμούν με συγκεντρώσεις Trolox 0.05-1.2  $\mu\text{g}/\text{mL}$ . Δίνεται και το  $R^2$  ως εκτίμηση της καλής προσαρμογής του μοντέλου στις πραγματικές τιμές.

Τα αποτελέσματα της αντιοξειδωτικής ικανότητας των γιγαρτελαίων εκφράστηκαν και σε αυτή τη αντιοξειδωτική δοκιμή σε ισοδύναμα Trolox-TE, ως  $\mu\text{g}$  Trolox στο 1 mL λαδιού, βάση της εξίσωσης του γραφήματος 3, που αποτελεί ένα γραμμικό μοντέλο πρόβλεψης των συγκεντρώσεων Trolox ανάλογα με το ποσοστό παρεμπόδισης των ριζών ABTS•+.

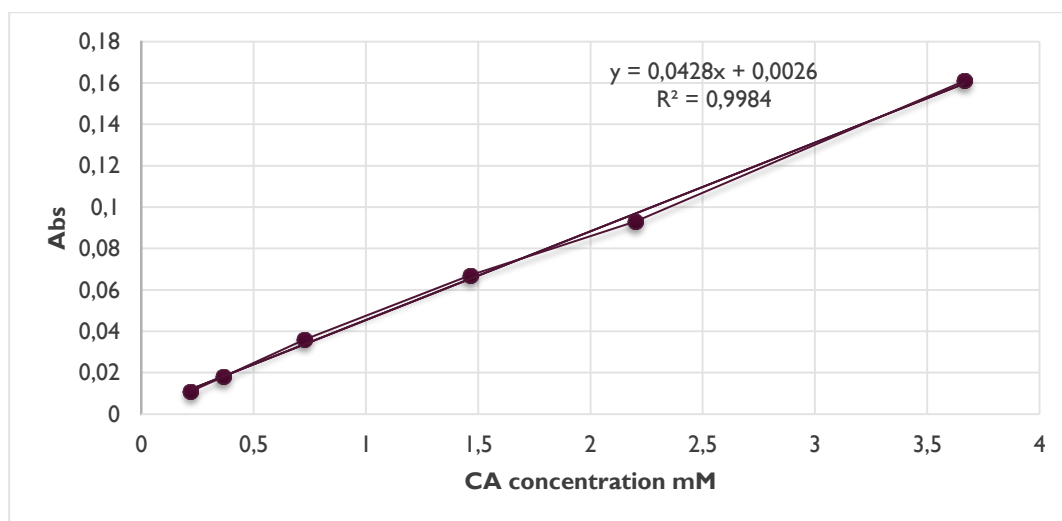
### 2.3.4 Προσδιορισμός ολικών φαινολικών συστατικών

#### Αντιδραστήριο Folin- Ciocalteu

Η συγκέντρωση των ολικών φαινολικών που περιέχονταν στα μεθανολικά εκχυλίσματα γιγαρτελαίων προσδιορίστηκε από το αντιδραστήριο Folin- Ciocalteu (FC). Η διαδικασία εξής που

ακολουθήθηκε ήταν η εξής: διάλυση 0,1 mL του συμπυκνωμένου εκχυλίσματος προστέθηκαν σε 5 mL νερού σε ογκομετρική φιάλη των 10 mL. Εκεί προστέθηκε 0,5 mL πυκνού αντιδραστηρίου FC. Τρία λεπτά αργότερα 1 mL διαλύματος ανθρακικού νατρίου ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$  20% w/v) προστέθηκε στην ογκομετρική φιάλη και το περιεχόμενο της συμπληρώθηκε μέχρι τη χαραγή με νερό. Το διάλυμα αναμείχθηκε και έπειτα από επώαση δύο ωρών μετρήθηκε η απορρόφηση στα 725 nm (Gutfinger, 1981). Ο προσδιορισμός της συγκέντρωσης σε φαινολικές ουσίες έγινε με τη κατασκευή πρότυπης καμπύλης καφεϊκού οξέος συγκέντρωσης 0,2-3,6 mM, όπως φαίνεται στο Γράφημα 4. Η συγκέντρωση σε ολικά φαινολικά στα δείγματα εκφράστηκε σε ισοδύναμα καφεϊκού οξέος (caffeic acid equivalents-CAE) ως  $\mu\text{g}$  στο 1 mL λαδιού.

Για την παρασκευή των μεθανολικών εκχυλισμάτων των ελαίων: 1 mL λαδιού προστέθηκε σε 5 mL εξανίου και σε αυτό το σημείο μπορεί να προσδιοριστεί και η πυκνότητά του με ζυγό ακριβείας. Ακολουθούν τρεις διαδοχικές εκχυλίσεις σε διαχωριστική χοάνη με 2 mL μεθανόλης/νερού 80% την φορά. Έπειτα από δύο λεπτών ανακίνηση λαμβάνουμε το μεθανολικό κλάσμα και τέλος αφυδατώνεται σε περιστροφικό εξατμιστήρα έως ότου εξατμιστεί όλη η μεθανόλη. Καθώς η εξάτμιση σε περιστροφικό εξατμιστήρα αδυνατεί να εξατμίσει το περιεχόμενο του διαλύματος σε νερό, παραλαμβάνουμε τελικά τα ολικά φαινολικά συστατικά διαλυμένα σε νερό και τα αραιώνουμε με μεθανόλη σε αναλογία 1:1, συγκεκριμένα 0,2 mL συμπυκνωμένου εκχυλίσματος σε 0,2 mL μεθανόλης. Από αυτό τελικά το διάλυμα 0,1 mL χρησιμοποιείται για ανάλυση σε ολικά φαινολικά συστατικά.



Γράφημα 4: Γραμμικό μοντέλο πρότυπης καμπύλης συγκέντρωσης καφεϊκού οξέος συγκέντρωσης 0.2-3.6  $\mu\text{g}/\text{mL}$

### 2.3.5 Φασματοσκοπικές Τεχνικές Ανάλυσης

#### Φασματοσκοπία UV-Vis

Ειδικοί συντελεστές απόσβεσης (extinction coefficients):  $K_{232}$ ,  $K_{268}$ ,  $K_{270}$ ,  $\Delta K$

Οι ειδικοί συντελεστές απόσβεσης  $K_{232}$ ,  $K_{268}$  και  $K_{270}$  μετρήθηκαν από την απορρόφηση των δειγμάτων στις περιοχές του υπεριώδους στα 232, 268 και 270 nm αντιστοίχως, με το φασματοφωτόμετρο Cary 60 UV-Vis της Agilent (Εικόνα 4). Για τη παρασκευή των δειγμάτων τηρήθηκε το ISO 3656:2011, τηρήθηκε η αναλογία διάλυσης, 1 μέρη δείγματος (ελαίου) διαλύθηκαν σε 100 μέρη κυκλοεξανίου και η απορρόφηση μετρήθηκε με κυψελίδα μήκους 10 mm.



Εικόνα 4: Φασματοφωτόμετρο UV-Vis της Agilent

Το  $\Delta K$  υπολογίστηκε από την εξίσωση (2):

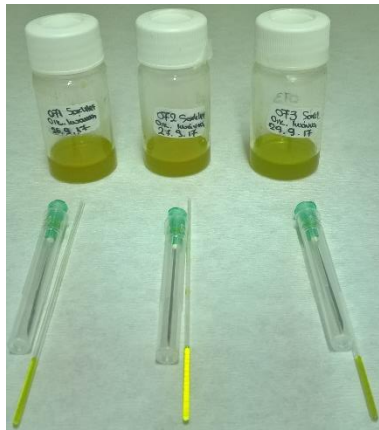
$$\Delta K = K_{270} - \frac{K_{266} + K_{274}}{2} \quad (2)$$

#### Φασματοσκοπία RAMAN

Η φασματοσκοπία Raman στηρίζεται στο φαινόμενο σκέδασης μιας ακτίνας φωτός που πέφτει πάνω σε ένα μόριο διεγείροντας τις δονήσεις χαρακτηριστικών ομάδων. Είναι φασματοσκοπία εκπομπής που βασίζεται στη κβαντική θεωρία. Οι θεμελιώδεις φυσικές αρχές που διέπουν το φαινόμενο συνοψίζονται στο ότι η προσπίπτουσα ακτινοβολία πολώνει τα μόρια του δείγματος και τους προκαλεί αλλαγές στη πολωσιμότητά τους.

Ποσότητα ελαίου ικανή να ξεπεράσει τη δέσμη μονοχρωματικής ακτινοβολίας του οργάνου εισήλθε ενέσιμα με χρήση βελόνας ινσουλίνης σε υάλινο τριχοειδή σωληνίσκο διαμέτρου 1,5 – 1,8 \* 90 mm (Εικόνα 5), ο οποίος τοποθετείται σε ειδική θήκη του οργάνου και παίρνει τη θέση της στην υποδοχή για ακτινοβολήση (Εικόνα 6). Τρία φάσματα καταγράφονται κάθε φορά για το ίδιο δείγμα με το φασματοφωτόμετρο DeltaNu Raman. Η ακτινοβολήση έγινε με μονοχρωματική δέσμη στα 768 nm, με τις εξής ρυθμίσεις, integration time: 10 sec, No of

spectra:10, baseline:160. Χρησιμοποιήθηκε το λογισμικό NuSpec για την οπτικοποίηση και επεξεργασία των φασματογραφικών δεδομένων.



Εικόνα 5: Τριχοειδής σωλήνες εισαγωγής δείγματος



Εικόνα 6: Φασματοφωτόμετρο Raman της DeltaNu

## Φασματοσκοπία IR-ATR

### Εξασθενημένης Ολικής Ανάκλασης (Attenuated Total Reflectance):

Όταν η μοριακή δόνηση ή η περιστροφή ενός μορίου προκαλέσει μεταβολές στη πολωσιμότητά τους παράγεται το φάσμα Raman, ενώ προκαλούνται αλλαγές του ηλεκτρικού διπόλου (από μεταβολή της διπολικής ροπής) στα φάσματα IR. Αλλαγές τέτοιου είδους είναι αξιοποιήσιμες στα φάσματα απορρόφησης IR καθώς προσφέρουν πληροφορίες για τις χαρακτηριστικές ομάδες ενός μείγματος.

Η τεχνική ATR (εξασθενημένης ολικής ανάκλασης) είναι η πλέον κατάλληλη για τα υγρά δείγματα και δη τα λάδια. Χρησιμοποιείται ένα εξάρτημα που ονομάζεται ATR. Η υπέρυθη ακτινοβολία, προερχόμενη από το συμβολόμετρο, ανακλάται μέσω ενός κατόπτρου εσωτερικά στο κρύσταλλο από ZnSe με μια γωνία  $45^\circ$ . Το δείγμα που είναι τοποθετημένο στο κρύσταλλο απορροφά ακτινοβολία και η εναπομένουσα ακτινοβολία είναι αυτή που καταγράφεται από τον ανιχνευτή μέσω ενός δεύτερου κατόπτρου. Η τεχνική ATR είναι μέθοδος εξέτασης της επιφάνειας του δείγματος, που ίσως να διαφοροποιείται από τη σύσταση στο εσωτερικού του.

Πριν και μετά τη λήψη του φάσματος πρέπει να γίνεται ο επιμελής καθαρισμός της κρυσταλλικής επιφάνειας (Εικόνα 8) με εξάνιο και καθαρή ακετόνη. Επίσης χρειάζεται να γίνει και η λήψη του «background» (φάσμα κενού κρυστάλλου ZnSe) για να μηδενίσει το λογισμικό του οργάνου τυχών κορυφές που εμφανιστούν από αλλαγή στις επικρατούσες συνθήκες CO<sub>2</sub>. Είναι σημαντικό οι επικρατούσες συνθήκες CO<sub>2</sub> να είναι σταθερές, καθώς δύναται να επηρεάσει και τα φάσματα λήψης του ATR.



Ποσότητα



Εικόνα 8: Κρύσταλλος ZnSe Εικόνα 7: Φασματογράφος IR

ελαίου ίση με 200 μl

απλώνεται, εωσότου να καλυφτούν τυχόν κενά, με τη χρήση μηχανικής πιπέτας ή πιπέτας Pasteur, στην επιφάνεια κρυστάλλου ZnSe (Εικόνα 8), με προσοχή ώστε να μην χαραχτεί ο κρύσταλλος. Η διαδικασία επαναλαμβάνεται για την κάθε επανάληψη τρεις φορές σε θερμοκρασία δωματίου. Ο κρύσταλλος τοποθετείται στην υποδοχή του φασματογράφου IR της Εικόνας 7 και λαμβάνονται τα φάσματα IR-ATR.

Χρησιμοποιήθηκε το λογισμικό Omnic για την οπτικοποίηση και επεξεργασία των φασματογραφικών δεδομένων. Με τη χρήση του λογισμικού έγινε εξομάλυνση του σήματος (automatic smooth), για τη μείωση του θορύβου, χωρίς όμως να παραποιείται το φάσμα που λαμβάνεται από τον ανιχνευτή. Ακολούθως έγινε διόρθωση της βασικής γραμμής (automatic baseline correct), που είναι αναγκαία για την σύγκριση δύο φασμάτων ή για την ποσοτική ανάλυση τους. Τέλος, αφού πάρθηκε ο μέσος όρος των τριών επαναλήψεων επιλέχθηκε η εμπειρική εξίσωση των «Kubelka-Munk» για την συσχέτιση της έντασης της ανακλώμενης ακτινοβολίας με την συγκέντρωση των συστατικών του δείγματος. Η ευαισθησία ορίστηκε στο 70 % και σημειώθηκαν οι κυριότερες κορυφές στα φάσματα.

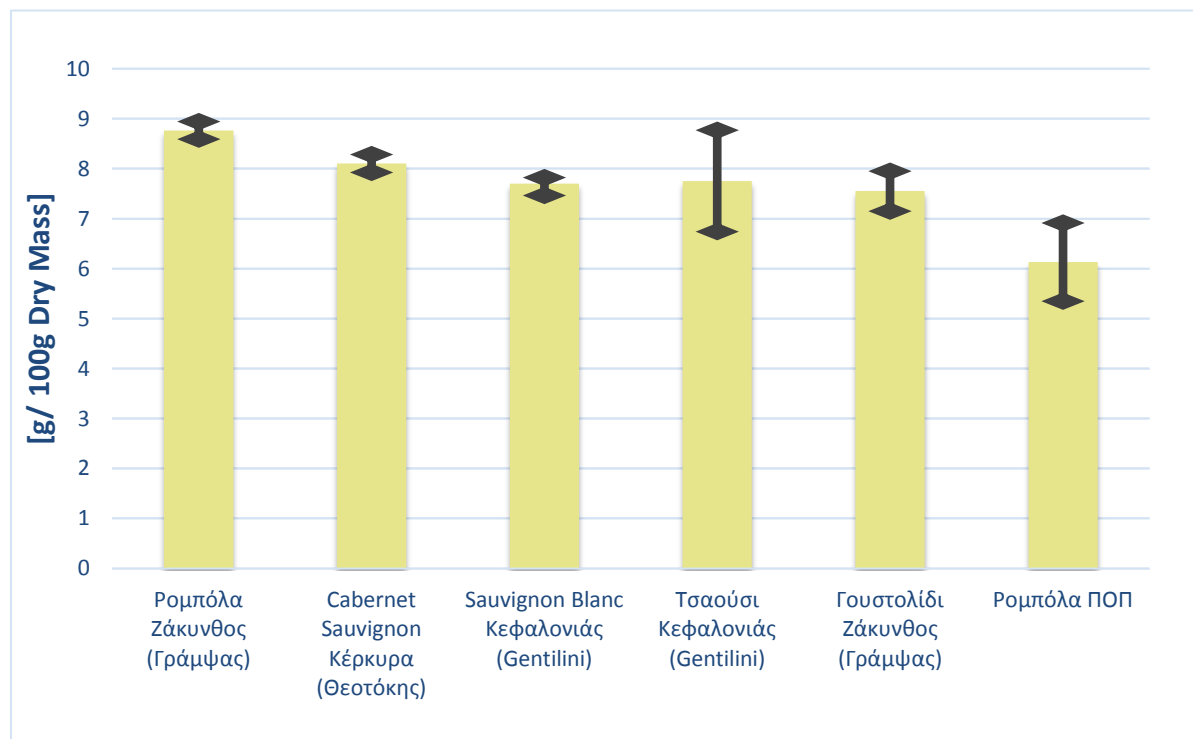
### 3. Αποτελέσματα- Συζήτηση

Οι αναφορές για τη σύσταση των γιγάρτων σε πολικά και μη πολικά συστατικά που τους προσδίδουν πλούσια αντιοξειδωτική δράση είναι πολλές. Η παρούσα εργασία ασχολήθηκε με την εξαγωγή του γιγαρτελαίου που προέρχεται από ποικιλίες γηγενείς ή παραδοσιακά καλλιεργούμενες στα Ιόνια Νησιά, τη μελέτη της αντιοξειδωτικής του δράσης και το προσδιορισμό της σύστασης του ελαίου σε λιπαρά οξέα και τη ποσοτικοποίηση αυτών. Αποτελεί μέρος ενός μεγαλύτερου προγράμματος που θα εξετάσει παράλληλα και τα στέμφυλα των αντίστοιχων

ποικιλιών ως προς τη σύστασή τους σε φαινολικές ουσίες, και επίσης θα είναι εμπλουτισμένο με ακόμα παραπάνω τοπικές ποικιλίες.

Σημαντικό στοιχείο για την αξιολόγηση ενός γιγαρτελαίου είναι εκτός από τη σύστασή του και η απόδοσή του. Όσο αναφορά την απόδοση του ελαίου των υπό μελέτη γιγάρτων διέφερε από ποικιλία σε ποικιλία. Η λιποπεριεκτικότητα προσδιορίστηκε σε g λαδιού στα 100 g αποξηραμένων γιγάρτων (% w/w).

Στο Γράφημα 5 διακρίνεται ότι υψηλότερη απόδοση εμφάνισε το γιγαρτέλαιο της ποικιλίας Ρομπόλα που προήλθε από τη Ζάκυνθο, με τιμή  $8.77 \pm 0.18$  w/w και ακολούθησε η ποικιλία Cabernet Sauvignon από τη Κέρκυρα με απόδοση  $8.11 \pm 0.18$  w/w. Χαμηλότερες αποδόσεις βρέθηκαν στα δείγματα που προέρχονται από τη περιοχή της ΠΟΠ Ρομπόλα (Κεφαλονιά), με την απόδοσή των ελαίων να κινείται σε ένα εύρος τιμών από 5.26 έως 7.01, με μέσο όρο  $6.13 \pm 0.78$  w/w. Τα παραπάνω αποτελέσματα είναι σε συμφωνία με άλλες μελέτες (Fernandes et al., 2013; Lachman et al., 2015). Σημαντικό ρόλο στην απόδοση του ελαίου έχει επίσης εκτός από την ποικιλία στην οποία ανήκει κάθε γιγαρτέλαιο και η μέθοδος εκχύλισης του, καθώς φαίνεται ότι η εκχύλιση με διαλύτη συντελεί στην σοδειά μεγαλύτερων αποδόσεων (Beveridge et al., 2005).



Γράφημα 5: Λιποπεριεκτικότητα γιγάρτων έξι διαφορετικών ποικιλιών. Η απόδοση γιγαρτελαίου Ρομπόλας ΠΟΠ Κεφαλονιάς έγινε από τη μέτρηση 7 διαφορετικών περιοχών, με τρεις επαναλήψεις για τη καθεμία. Οι υπόλοιπες μετρήσεις προήλθαν από τα ίδια δείγματα με τρεις επαναλήψεις. Τα αποτελέσματα εκφράστηκαν σε μέση τιμή g ελαίου στα 100 g γιγάρτων ± τυπική απόκλιση.



Άλλοι ερευνητές έχουν μελετήσει και άλλες συνθήκες για τη βελτιστοποίηση των αποδόσεων του γιγαρτελαίου. Σημειώνουν, ότι σημαντικό ρόλο συντελεί η μέθοδος της εκχύλισης, καθώς και η ποικιλία από την οποία προέρχονται τα γίγαρτα. Επίσης, η αποξήρανση αυτών σε φούρνους (εφαρμογή θερμοκρασιών 90 και 120° C) πριν την εκχύλιση (Rombaut et al., 2015), δίνει σημαντικά βελτιωμένες αποδόσεις. Γενικά αναφέρονται ενδεικτικά ότι τα ποσοστά της απόδοσης του γιγαρτελαίου μπορεί να είναι από 6 έως 20 % w/w (Crews et al., 2006).

Από τα δεδομένα που συλλέχθηκαν προσδιορίστηκε επίσης και το ποσοστό των γιγάρτων στο πολτό οινοποίησης επί ξηρού. Το ποσοστό αυτό ήταν  $24.73 \pm 7.75$  % w/w επί ξηρού. Αυτό πρακτικά σημαίνει ότι σε μια άμορφη μάζα πολτού που έχει υποστεί οινοποίηση το ένα τέταρτο του αποξηραμένου βάρους της αποτελείται από γίγαρτα.

Η σύσταση των μεθυλεστέρων των λιπαρών οξέων των γιγαρτελαίων (Fatty Acid Methyl Esters- FAMES) που προσδιορίστηκε με αέρια χρωματογραφία-φασματομετρία μάζας αποκάλυψε ένα προφίλ των λαδιών πλούσιο σε ακόρεστα λιπαρά οξέα. Παρόλο που η εκατοστιαία αναλογία των λιπαρών οξέων διέφερε μεταξύ των δειγμάτων, υπήρχε ένα κοινό χαρακτηριστικό ανάμεσα σε όλα τα λάδια που εξετάστηκαν.

Η εκατοστιαία αναλογία των ακόρεστων λιπαρών οξέων από τα οποία συνίστανται κυμάνθηκε μεταξύ 79 και 83 %. Αυτά αποτελούνταν από μονοακόρεστα (MUFAs) και πολυακόρεστα (PUFAs) λιπαρά οξέα, με ένα και δύο διπλούς δεσμούς αντίστοιχα.

*Πίνακας 1: Εκατοστιαία αναλογία των μεθυλεστέρων των λιπαρών οξέων που περιέχονται σε κάθε δείγμα εκπεφρασμένα ως ο μέσος όρος των τριών επαναλήψεων. Όπου SFAs: κορεσμένα λιπαρά οξέα, MUFAs: μονοακόρεστα λιπαρά οξέα και PUFAs: πολυακόρεστα λιπαρά οξέα.*

Η αναλογία αυτή θυμίζει τη σύσταση των λιπαρών οξέων αυθεντικών γενοτύπων του καρθαμέλαιου που προέρχεται από εκχύλιση των σπόρων του φυτού *Carthamus tinctorius*

FATTY ACIDS	Προστατευόμενη Ονομασία Προέλευσης Ρομπόλας Κεφαλονιάς							Ρομπόλα Ζάκυνθος-Γράμψα	Γουστολίδι (Ζάκυνθος-Γράμψα)	Sauv. Blanc (Κεφ.-Gentilini)	Τσαουσί (Κεφ.-Gentilini)	Cabernet Sauvignon (Κέρκυρα-Θεοτόκη)
	Φαγιάς-Gentilini	Κοκκινόπιλια-Gentilini	Αγ. Νικόλαος-Gentilini	Βαλαμάτα-Gentilini	Λιανός-Gentilini	Συνεταιρισμό Παρ/γών Ρομπόλας	Συνεταιρισμό Παρ/γών Ρομπόλας					
C12:0	0.05	0.04	0.04	0.04	0.05	0.04	0.05	0.03	0.04	0.03	0.03	0.03
C14:0	0.27	0.23	0.24	0.24	0.27	0.27	0.22	0.17	0.25	0.16	0.18	0.25
C15:0	0.05	0.05	0.05	0.04	0.05	0.05	0.04	0.03	0.05	0.03	0.05	0.03
C16:0	15.16	14.40	14.97	14.44	14.55	15.03	14.13	13.40	15.34	12.47	12.86	14.23
C17:0	0.08	0.09	0.09	0.09	0.09	0.09	0.09	0.09	0.08	0.12	0.08	0.09
C18:0	4.32	5.06	4.81	4.46	4.32	4.49	4.78	4.78	4.21	7.70	4.23	6.39
C20:0	0.09	0.10	0.09	0.09	0.09	0.09	0.09	0.09	0.07	0.16	0.10	0.13
C14:1	0.04	0.03	0.03	0.03	0.05	0.03	0.02	0.01	0.03	0.02	0.03	0.01
C15:1	0.06	0.04	0.05	0.05	0.05	0.05	0.06	0.04	0.05	0.05	0.05	0.04
C16:1	0.69	0.58	0.58	0.56	0.74	0.66	0.65	0.61	0.65	0.26	0.46	0.40
C17:1	0.09	0.10	0.09	0.09	0.10	0.10	0.10	0.08	0.09	0.09	0.08	0.08
C18:1	24.29	22.87	22.45	25.44	22.41	25.27	22.52	24.29	21.74	17.55	20.44	18.42
C20:1	0.16	0.15	0.13	0.13	0.14	0.12	0.14	0.15	0.12	0.18	0.17	0.15
C16:2	0.02	0.00	0.02	0.00	0.02	0.02	0.02	0.01	0.02	0.03	0.02	0.02
C18:2	54.60	56.19	56.35	54.25	56.85	53.68	57.05	59.26	57.26	60.82	60.95	59.66
SFAs	20.02	19.97	20.29	19.4	19.42	20.06	19.4	18.59	20.04	20.67	17.53	21.15
MUFAs	25.33	23.77	23.33	26.30	23.49	26.23	23.49	25.18	22.68	18.15	21.23	19.10
PUFAs	54.62	56.19	56.37	54.25	56.87	53.70	57.07	59.27	57.28	60.85	60.97	59.68

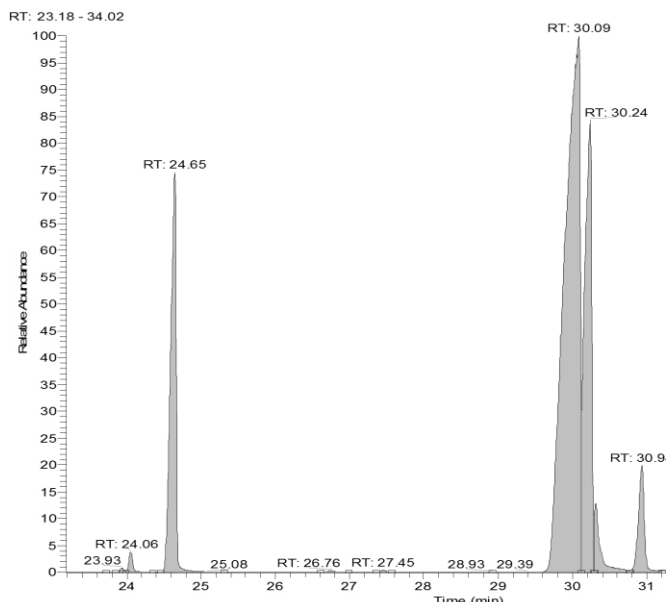
(Fernandez-Martinez', Del Rio', & De Haro', 1993; Yang et al., 2018) αλλά και λάδια που προέρχονται από τα φυτά *Cucurbita sp.* και *Cannabis sativa* (Carvalho, Miranda, & Pereira, 2006; Stevenson et al., 2007; Orsavona et al., 2015).

Σύμφωνα με το *Codex Alimentarius* για τα ποιοτικά χαρακτηριστικά γνωστών ελαίων που προορίζονται για κατανάλωση από τον άνθρωπο, η % σύσταση των λιπαρών οξέων του γιγαρτελαίου ομοιάζει με τη σύσταση του γενοτύπων του καρθαμέλαιου και του ηλιέλαιου που είναι πλούσιοι σε ποσοστά λινελαϊκού οξέος<sup>4</sup>.

Από το Πίνακα 1 αντιλαμβάνεται κανείς ότι κοινό στοιχείο ανάμεσα σε όλα τα γιγαρτέλαια που μελετήθηκαν αποτελούν τα κυρίαρχα λιπαρά οξέα ( αφθονία >0.1%) από τα οποία συνιστάται και είναι τέσσερα. Αυτά αναφέρονται βάση της αφθονίας τους ως, το λινελαϊκό οξύ (C18:2), που είναι κυρίαρχο στα δείγματα, ακολουθούμενο από το ελαϊκό οξύ (C18:1), που είναι το δεύτερο σε αφθονία. Ακολουθούν δύο κορεσμένα λιπαρά οξέα, το παλμιτικό (C16:0) και το στεατικό (C18:0) οξύ. Μεταξύ άλλων λιπαρών οξέων, βρέθηκαν στα δείγματα σε μικρότερες εκατοστιαίες αναλογίες, που ξεπερνούσαν όμως το 0.1 %, το μυριστικό (C14:0) και το παλμιτελαϊκό (C16:1) οξύ.

<sup>4</sup> *Codex Alimentarius*. International Food Standards for Named Vegetable Oils. Codex Stan 210-1999.

Άξιο αναφοράς είναι το γεγονός ότι στο γιγαρτέλαιο περιέχονται απαραίτητα λιπαρά οξέα για τους ανθρώπους, όπως είναι το λινελαϊκό οξύ (C18:2), ένα ω-6 λιπαρό οξύ. Διακρίνεται ως η μεγαλύτερη κορυφή στο χρωματογράφημα της Εικόνας 9. Όντας απαραίτητο δε μπορεί να συντεθεί από τον ανθρώπινο οργανισμό, ενώ λαμβάνει μέρος σε σημαντικές βιολογικές διεργασίες (Abedi et al., 2014). Θεωρείται λοιπόν αναγκαίο να λαμβάνεται από κάποια εξωτερική πηγή που κυρίως αποτελούν οι σπόροι και οι καρποί (Orsavona et al., 2015; Garavaglia et al., 2016).



Εικόνα 9: GC-Chromatograph of Robola grape seed oil. Linoleic fatty acid (C18:2) is the major peak at RT 30.09, followed by oleic fatty acid (C18:1) at RT 30.24, palmitic fatty acid (C16:0) at RT 24.65 and stearic fatty acid (C18:0) at RT 30.9

Το κυρίαρχο λινελαϊκό λιπαρό οξύ (C18:2) κυμάνθηκε μεταξύ του  $53.28 \pm 1.24$  έως  $57.05 \pm 1.40$  % στα γιγαρτέλαια που προέρχονταν από τη ΠΟΠ της Ρομπόλας Κεφαλονιάς και είναι η κορυφή που διακρίνεται στο χρόνο συγκράτησης 30.09 της Εικόνας 9. Στις υπόλοιπες ποικιλίες το ποσοστό του ήταν υψηλότερο. Πιο συγκεκριμένα, στις ποικιλίες Τσαούσι και Sauvignon blanc από την Κεφαλονιά, στο Cabernet sauvignon από την Κέρκυρα και στη Ρομπόλα από τη Ζάκυνθο τα ποσοστά του λινελαϊκού οξέος ήταν  $60.95 \pm 1.65$ ,  $60.82 \pm 2.45$ ,  $59.66 \pm 0.84$  και  $59.26 \pm 0.91$  % αντίστοιχα.

Αντιθέτως, η εκατοστιαία αναλογία του ελαϊκού οξέος, που είναι το δεύτερο σε αφθονία στα γιγαρτέλαια συστατικό, εμφάνισε υψηλότερες τιμές στα γιγαρτέλαια με καταγωγή από τη περιοχή ΠΟΠ της Ρομπόλας Κεφαλονιάς. Η κορυφή του ελαϊκού διακρίνεται στην Εικόνα 9 ως η δεύτερη μεγαλύτερη με χρόνο συγκράτησης RT 30.24. Το εύρος των τιμών του ελαϊκού ξεκινούσε από  $22.41 \pm 0.76$  και άγγιζε το  $25.44 \pm 1.36$  % στα δείγματα του γιγαρτελαίου της ΠΟΠ Ρομπόλας. Σε παρόμοια μελέτη έχει αναφερθεί ότι είναι σύνηθες υψηλά ποσοστά λινελαϊκού να συνδέονται με χαμηλά ποσοστά ελαϊκού οξέος και το αντίθετο (J. E. Pardo, Fernández, Rubio, Alvarruiz, & Alonso, 2009), ενώ άλλοι ερευνητές έχουν βρει αρνητική τιμή συσχέτισης των δύο αυτών κυρίαρχων συστατικών (Sabir et al., 2012).

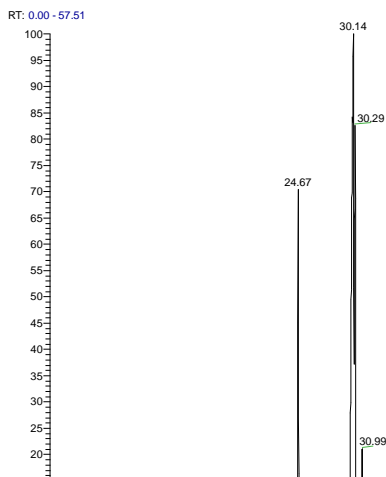
Για τις υπόλοιπες ποικιλίες βρέθηκε ότι η εκατοστιαία περιεκτικότητα του ελαϊκού οξέος ήταν μεταξύ των τιμών  $17.55 \pm 2.37$  για την ποικιλία του Sauvignon blanc από την Κεφαλονιά έως

21.74 ± 0.28 για τη ποικιλία Γουστολίδι από τη Ζάκυνθο. Οι τιμές αυτές συμβαδίζουν με άλλες μελέτες που έχουν γίνει για το γιγαρτέλαιο που προέρχεται από διαφορετικές ποικιλίες (Crews et al., 2006; Fernandes et al., 2013).

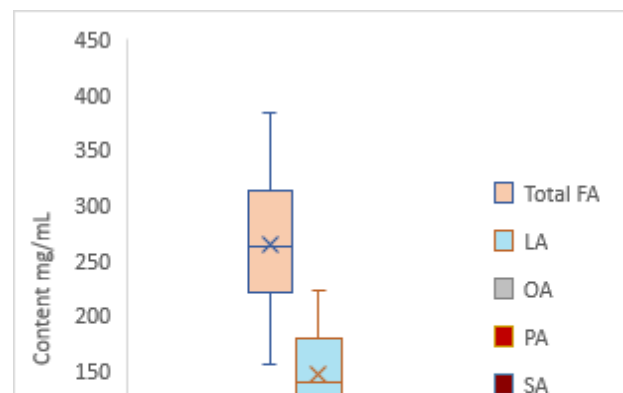
Στο σημείο αυτό αξίζει να σημειωθεί ότι ένα από τα συστατικά που αναφέρεται συχνά σε μελέτες που αφορούν τη σύσταση του γιγαρτελαίου είναι το λινελαϊκό λιπαρό οξύ (C18:3) που εμφανίζεται μεταξύ των συστατικών με μικρή εκατοστιαία αναλογία στο γιγαρτέλαιο (0.3-1.8%) (Crews et al., 2006). Το συγκεκριμένο πολυακόρεστο λιπαρό οξύ, παρότι απαραίτητο για τον ανθρώπινο οργανισμό, έχει φανεί να συμβάλει στην αυτοοξειδωση (οξειδωση που προκαλείται στο δείγμα απουσία οξυγόνου) των ελαίων στα οποία περιέχεται με αποτέλεσμα να μειώνεται ο χρόνος ζωής τους (Zhang & Chen, 1997). Στα δείγματα που εξετάστηκαν στη παρούσα μελέτη δεν εντοπίστηκε το λινελαϊκό οξύ.

Εκτός της εκατοστιαίας αναλογίας των μεθυλεστέρων των λιπαρών οξέων, προσδιορίστηκε και η περιεκτικότητά αυτών στο γιγαρτέλαιο, με τη χρήση του μεθυλεστέρα του δεκανοϊκού οξέος ως εσωτερικού προτύπου. Η επιλογή αυτή λειτούργησε ιδανικά καθώς δεν επικαλύπτεται η κορυφή του εσωτερικού προτύπου με αυτές των ουσιών που περιέχονται στο γιγαρτέλαιο στο χρωματογράφημα. Μπορεί κανείς να το ξεχωρίσει στην Εικόνα 10, ως τη πρώτη κορυφή που εμφανίζεται στο χρωματογράφημα. Συνολικά οι μεθυλεστέρες των λιπαρών οξέων βρέθηκαν να περιέχονται στα δείγματα με ένα εύρος τιμών μεταξύ 156 έως 383 mg/ mL. Τα μισά από τα δείγματα που εξετάστηκαν βρέθηκαν να περιέχουν μεθυλεστέρες των λιπαρών οξέων μεταξύ 221 έως 313 mg/ mL. Ο μέσος όρος της περιεκτικότητας των γιγαρτελαίων σε μεθυλεστέρες των λιπαρών οξέων ήταν 264 ± 62 mg/ mL (Γράφημα 6).

Τα επιμέρους λιπαρά οξέα σε πληθώρα ήταν κατά σειρά αφθονίας ο μεθυλεστέρας του λινελαϊκού οξέος, ακολουθούμενος από τους μεθυλεστέρες του ελαϊκού, του παλμιτικού και του στεατικού λιπαρού οξέος. Τα αποτελέσματα δίνονται ως μέση τιμή ± τυπική απόκλιση και ήταν αντίστοιχα για το λινελαϊκό 147.49 ± 37.69, το



Εικόνα 10: Χρήση του μεθυλεστέρα του δεκανοϊκού οξέος ως εσωτερικό πρότυπο για τη ποσοτικοποίηση των FAMES. Εμφανίζεται πρώτος σαν κορυφή στο χρωματογράφημα με RT 8.94



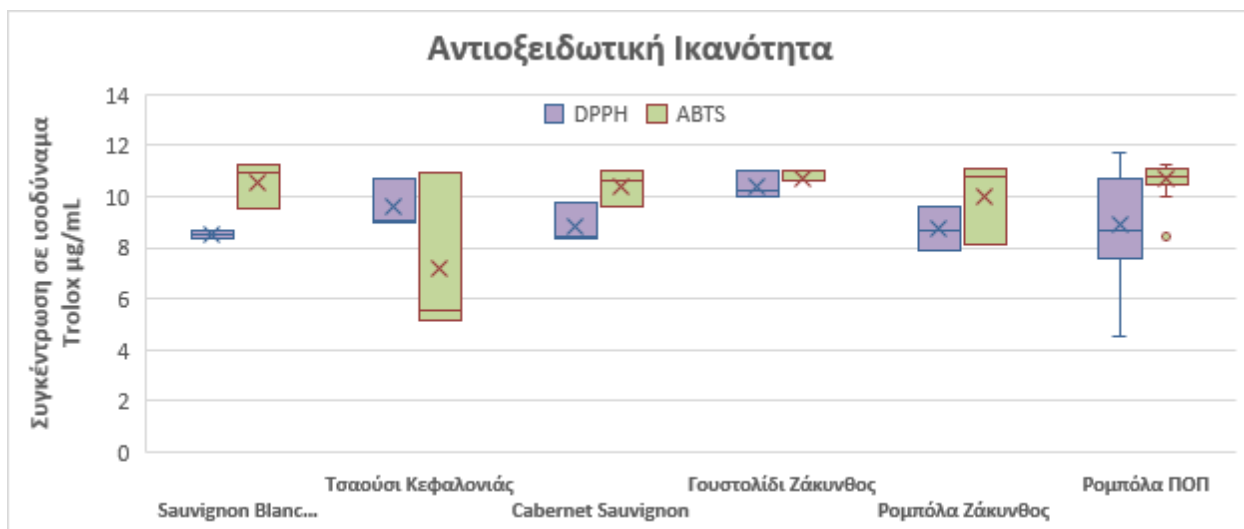
Γράφημα 6: Box Plot της ποσοτικοποίησης των FAMES που περιέχονται σε 12 δείγματα γιγαρτελαίου. Η περιεκτικότητα εκφράστηκε ως mg ουσίας στο 1 mL λαδιού. Όπου LA: λινελαϊκό οξύ, OA: ελαϊκό οξύ, PA: παλμιτικό οξύ, SA: στεατικό οξύ και Total FA: ολικό περιεχόμενο σε λιπαρά οξέα

ελαϊκό  $55.55 \pm 9.68$ , το παλμιτικό  $36.13 \pm 6.76$  και το στεατικό  $12.93 \pm 4.84$  mg/ mL. Η σύγκριση με άλλα λάδια όσο αναφορά τη περιεκτικότητα σε λιπαρά οξέα δεν ήταν εφικτή καθώς οι περισσότεροι ερευνητές ταυτίζουν την περιεκτικότητα με την εκατοστιαία αναλογία.

Είναι αξιοσημείωτο ότι η χρήση εσωτερικών προτύπων για την ποσοτικοποίηση μεθυλεστέρων των λιπαρών οξέων είναι αποτελεσματική όσο αφορά ουσίες που βρίσκονται σε μικρή συγκέντρωση μέσα στο δείγμα (Li et al., 2015). Ιδανικό για το προσδιορισμό της περιεκτικότητας ουσιών με υψηλές συγκεντρώσεις θα ήταν η κατασκευή πρότυπων καμπυλών για τα κυρίαρχα συστατικά, στη περίπτωση μας τους λινελαϊκό, ελαϊκό, παλμιτικό και στεατικό μεθυλεστέρες των λιπαρών οξέων.

Δεν είναι παράλογο να έχουμε υποπέσει σε σφάλμα υποεκτίμησης της περιεκτικότητας των παραπάνω καθώς το μοριακό βάρος του μεθυλεστέρα του δεκανοϊκού απέχει από τα μοριακά βάρη των ουσιών που εξετάζει η παρούσα εργασία. Παρόλα αυτά όμως δε παύει να είναι μια καλή σύγκριση ανάμεσα στα δώδεκα δείγματα τα οποία συμπεριλαμβάνονται στη παρούσα μελέτη και είναι άξιο αναφοράς ως εκτίμηση της πραγματικότητας.

Τα υπό μελέτη γιγαρτέλαια εξετάστηκαν εκτός των άλλων για την αντιοξειδωτική τους ικανότητα. Η ικανότητα τους να παρεμποδίζουν τις ελεύθερες ρίζες εκτιμήθηκε από δύο δοκιμές, αυτές του ABTS και του DPPH. Αυτές οι δοκιμές αποκάλυψαν υψηλές τιμές αντιοξειδωτικής ικανότητας για τα δείγματα που εξετάστηκαν. Η ικανότητά τους να δεσμεύουν τις ελεύθερες ρίζες εκφράστηκε σε ισοδύναμα Trolox, με τη κατασκευή καμπυλών πρότυπης συγκέντρωσης 0.1-1  $\mu\text{g/mL}$  Trolox για τη δοκιμή του DPPH ( $R^2=0.99$ ) και 0.05-1.2  $\mu\text{g/mL}$  Trolox για τη δοκιμή του ABTS ( $R^2=0.98$ ).



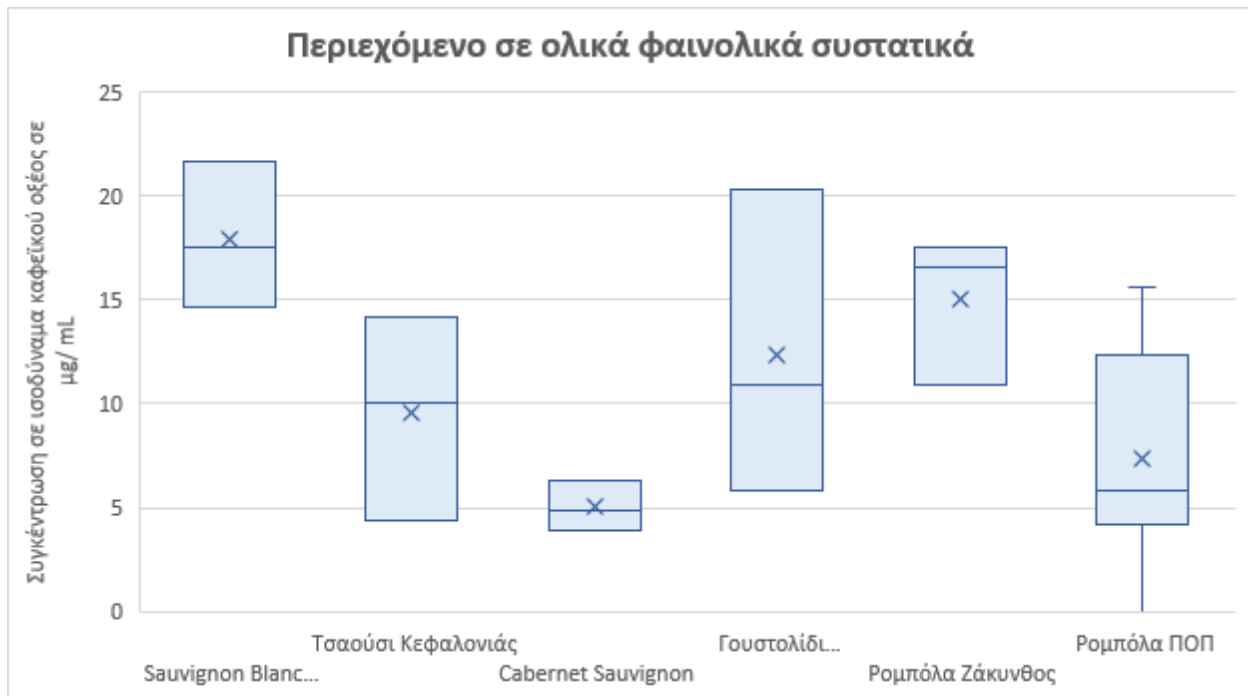
Γράφημα 7: Αντιοξειδωτική ικανότητα 1 mL γιγαρτελαίου εκφρασμένη σε ισοδύναμα Trolox από 12 δείγματα, 7 εκ των οποίων ανήκαν σε Ρομπόλα της περιοχής ΠΟΠ Κεφαλονιάς

Τα περισσότερα γιγαρτέλαια κατάφεραν να εξουδετερώσουν πιο αποτελεσματικά τις ρίζες του ABTS•+ με υψηλά ποσοστά παρεμπόδισης της ρίζας. Τα κατάφεραν λιγότερο αποτελεσματικά όσο αφορά στη δοκιμή του DPPH, εκτός από τη περίπτωση ενός δείγματος (Τσαούσι από τη Κεφαλονιά), όπως φαίνεται στο Γράφημα 7, και αυτό επιβεβαιώνει ότι χρειάζονται παραπάνω από ένα αντιοξειδωτικό τεστ για να εκτιμηθεί η αντιοξειδωτική ικανότητα των δειγμάτων που εξετάζονται κάθε φορά (Antolovich, Prenzler, Patsalides, McDonald, & Robards, 2002).

Η υψηλή αντιοξειδωτική ικανότητα που εμφανίζουν τα γιγαρτέλαια έχει αναφερθεί και από άλλους ερευνητές που επισημαίνουν ότι τα αποτελέσματα αυτά μπορεί να οδηγήσουν στην αξιοποίηση αυτών των ουσιών στα τρόφιμα αλλά και στα καλλυντικά προϊόντα έναντι συνθετικών αντιοξειδωτικών (Serra et al., 2008; Teixeira et al., 2014).

Συμπληρωματικά με τα αντιοξειδωτικά τεστ έγινε ακόμα ένα τεστ για να προσδιοριστούν τα ολικά φαινολικά συστατικά στα υπό μελέτη γιγαρτέλαια. Αυτό έγινε με τη χρήση του αντιδραστηρίου Folin- Ciocalteu. Για τον προσδιορισμό της συγκέντρωσης των ολικών φαινολικών έγινε η κατασκευή πρότυπης καμπύλης με εύρος συγκέντρωσης καφεϊκού οξέος 0.2-3.7 μg/mL ( $R^2=0.99$ ). Η συγκέντρωση ολικών φαινολικών που περιέχονται σε 1 mL γιγαρτελαίου ήταν ισοδύναμες με  $4.7 \pm 2.7$  μg/mL καφεϊκού οξέος.

Μεγαλύτερες συγκεντρώσεις εμφάνισαν οι ποικιλίες Sauvignon blanc από Κεφαλονιά και Ρομπόλα Ζακύνθου, με συγκεντρώσεις  $17.5 \pm 3.5$  και  $15 \pm 3.5$  μg/mL αντίστοιχα, όπως



Τα αποτελέσματα είναι σε συμφωνία με άλλες μελέτες που έχουν καταδείξει ότι παρά τη πλούσια φύση των γιγάρτων σε φαινολικά συστατικά λίγα από αυτά είναι διαλυμένα ή μπορούν να εκχυλιστούν στο γιγαρτέλαιο (Maier et al., 2009), κυρίως λόγω της αντίθετης πολικότητας των εν λόγω συστατικών. Αυτό επιβεβαιώνεται και από το γεγονός ότι το ολικό φαινολικό περιεχόμενο στα άλευρα είναι 100 φορές μεγαλύτερο σε σχέση με τα αντίστοιχα γιγαρτέλαια (Lutterodt et al., 2011).

Άξιο προσοχής είναι και το γεγονός ότι η μοναδική κόκκινη ποικιλία Sauvignon blanc που μελετήθηκε παρουσιάζει τις χαμηλότερες τιμές σε ολικό φαινολικό περιεχόμενο σύμφωνα με το Γράφημα 8. Η μειωμένη περιεκτικότητα της σε ολικό φαινολικό περιεχόμενο θα μπορούσε να αιτιολογηθεί αφού έχει υποστεί ερυθρή οينوποίηση. Τοιουτοτρόπως οι φαινολικές ουσίες από τα γίγαρτα έχουν εκχυλιστεί στη σταφυλόμαζα (που είναι και το ζητούμενο).

Ένα ακόμα χαρακτηριστικό για την αξιολόγηση της ποιότητας των ελαίων είναι οι ειδικοί συντελεστές απόσβεσης K. Αποτελούν ένα μέσο προσδιορισμού της υπεριώδους απορρόφησης ζωικών και φυτικών λιπών και ελαίων που έχουν θεσπιστεί από τον Διεθνή Οργανισμό Τυποποίησης (ISO)<sup>5</sup>. Τα εξεταζόμενα λάδια αξιολογούνται με τους δείκτες K για το εάν έχουν

<sup>5</sup>[www.iso.org](http://www.iso.org) [ISO 3656:2011]

υποστεί οξειδωτική αλλοίωση και αποτελούν επίσης κριτήριο για την γνησιότητά τους. Οι δείκτες αυτοί έχουν θεσπιστεί κυρίως για τον έλεγχο της ποιότητας των παρθένων ελαιολάδων από μίγματα με άλλα λάδια.

Οι δείκτες  $K_{232}$ ,  $K_{268}$  και  $K_{270}$  μετριοούνται στη περιοχή του υπεριώδους (UV), στα 232, 268 και 270 nm αντίστοιχα. Πιο συγκεκριμένα, η τιμή απορρόφησης του συντελεστή  $K_{232}$  αυξάνεται όταν ο καρπός της ελιάς αποθηκεύεται για πολλές ημέρες μέχρι να φτάσει στο ελαιοτριβείο και υπονοεί την οξείδωση των καρπών. Επίσης, ο συγκεκριμένος δείκτης δείχνει ότι το ελαιόλαδο έχει αποθηκευτεί σε ακατάλληλες συνθήκες που επιφέρουν οξειδωτικές αλλοιώσεις, όπως το φως και η υψηλή θερμοκρασία.

Η τιμή απορρόφησης του δείκτη  $K_{270}$  εξαρτάται από αν το ελαιόλαδο έχει υποστεί νοθεία με σπορέλαια ή πυρηνέλαια. Σημειώνεται ότι τα ελαιόλαδα ετών ή τα ελαιόλαδα που περιέχουν μείγματα από άλλα λάδια παρουσιάζουν αυξημένες τιμές του  $K_{270}$ . Επισημαίνεται ότι η έκθεση στο ηλιακό φως και σε υψηλές θερμοκρασίες επηρεάζουν ανοδικά εκτός από τις τιμές του  $K_{232}$  και τις τιμές του  $K_{270}$ .

Στη συγκεκριμένη εργασία ο δείκτης  $K_{232}$  ήταν πάνω από 2.5 σε τρία δείγματα, συμπεριλαμβανομένων δύο Ρομπόλα από τη περιοχή ΠΟΠ της Ρομπόλας Κεφαλονιάς και στο Τσαούσι που προερχόταν επίσης από την Κεφαλονιά. Σε όλα τα υπόλοιπα δείγματα ο δείκτης  $K_{232}$  ήταν μικρότερος ή ίσος με 2.5. Επιπλέον το ΔΚ έξι δειγμάτων ήταν πάνω από 0.1, ενώ για τα υπόλοιπα ήταν κάτω από 0.2, όπως φαίνεται στο Γράφημα 9. Σύμφωνα με το κανονισμό της ευρωπαϊκής νομοθεσίας (No 2568/91)<sup>6</sup>, λάδια με  $\Delta K > 0.1$  δεν υπόκεινται στη κατηγορία

	Sauvignon Blanc	Τσαούσι	Cabernet sauvignon	Ρομπόλα Ζάκυνθος	Γουστολίδι	Ρομπόλα ΠΟΠ-Κοκκινοπίλια	Ρομπόλα ΠΟΠ- Αγ. Νικόλαος	Ρομπόλα ΠΟΠ- Βαλσαμάτα	Ρομπόλα ΠΟΠ- Συνεταιρισμός	Ρομπόλα ΠΟΠ- Lianos	Ρομπόλα ΠΟΠ- Συνεταιρισμός	Ρομπόλα ΠΟΠ- Φαγιάς
$K_{232}$	2.41 ± 0.24	2.78 ± 0.11	2.22 ± 0.05	2.18 ± 0.15	2.24 ± 0.14	2.45 ± 0.32	2.62 ± 0.17	2.38 ± 0.23	2.30 ± 0.22	2.52 ± 0.20	2.23 ± 0.03	2.92 ± 0.07
$K_{270}$	0.45 ± 0.01	0.41 ± 0.02	0.46 ± 0.01	0.36 ± 0.02	0.29 ± 0.02	0.41 ± 0.22	0.48 ± 0.17	0.51 ± 0.05	0.59 ± 0.05	0.52 ± 0.03	0.42 ± 0.03	0.49 ± 0.08
ΔΚ	0.02	0.01	0.02	0.01	0.01	0.01	0.02	0.02	0.02	0.02	0.01	0.01

Πίνακας 2: Δείκτες απόσβεσης εκπεφρασμένοι ως average ± SD για τρεις επαναλήψεις από κάθε δείγμα.

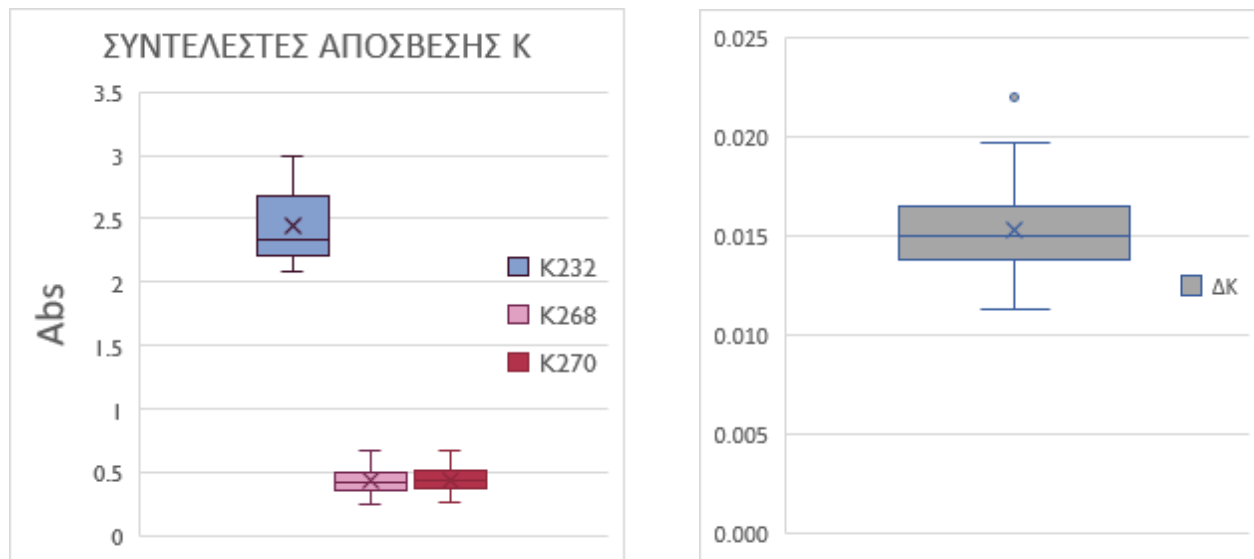
«εξαιρετικά παρθένο» και «παρθένο» ελαιόλαδο. Επίσης στον ίδιο κανονισμό αναφέρεται πως ελαιόλαδα με  $K_{270}$  μεγαλύτερο από 0.22 και μικρότερο ή ίσο του 1.15 υπόκεινται στη κατηγορία ελαιόλαδου που αποτελεί μείγμα εξευγενισμένου και παρθένου ελαιολάδου.

Στα Γραφήματα 9 και 10 μπορεί κάποιος να δει το που κινείται το 50% των τιμών (Box Plot) και ο μέσος όρος (σημειωμένος με το σύμβολο x) των συντελεστών απόσβεσης UV για τα

<sup>6</sup> European Union Commission: Characteristics of olive oil and olive pomace oils and their analytical methods. Regulation EC/1989/2003. *Off J Eur Comm.* 2003, L295, 57-66



γιγαρτέλαια που μελετήθηκαν, ενώ αναλυτικά οι τιμές των συντελεστών απόσβεσης καταγράφονται στον Πίνακα 2.



Γίνεται κατανοητό ότι στη περίπτωση που εξετάζονται γιγαρτέλαια οι συντελεστές απόσβεσης

μπορεί να είναι παραπλανητικοί αν αποτελούν το μόνο κριτήριο αξιολόγησής τους. Αναγκαίο είναι να συνδυαστούν και με άλλες παραμέτρους ποιότητας. Αναλυτικά τις τιμές των συντελεστών απόσβεσης για τις τρεις μετρήσεις που αφορούν τη κάθε ποικιλία μπορεί κανείς να βρει στο Πίνακα 2.

Για τη καλύτερη αξιολόγηση των γιγαρτελαίων χρησιμοποιήθηκαν οι πλέον διαδεδομένες τεχνικές φασματοσκοπίας για την εξέταση των λαδιών, IR-ATR και Raman. Οι δύο αυτές τεχνικές ενώ η μεν βασίζεται στα φάσματα απορρόφησης και η δε στα φάσματα εκπομπής λειτουργούν συμπληρωματικά. Θεωρούνται και οι δύο γρήγορες, μη επεμβατικές τεχνικές που δεν αλλοιώνουν το δείγμα και μπορούν να εφαρμοστούν χωρίς προηγούμενη κατεργασία του. Τα φάσματα IR και Raman είναι συμπληρωματικά όπως αναφέρθηκε. Τα φάσματα IR παρέχουν πληροφορίες για τις ομάδες του καρβονυλίου C=O ( $1650-1700\text{ cm}^{-1}$ ) και C-O ( $1230-1100\text{ cm}^{-1}$ ). Τα φάσματα Raman δίνουν περισσότερες πληροφορίες για τους διπλούς δεσμούς C=C και τους απλούς δεσμούς<sup>7</sup>.

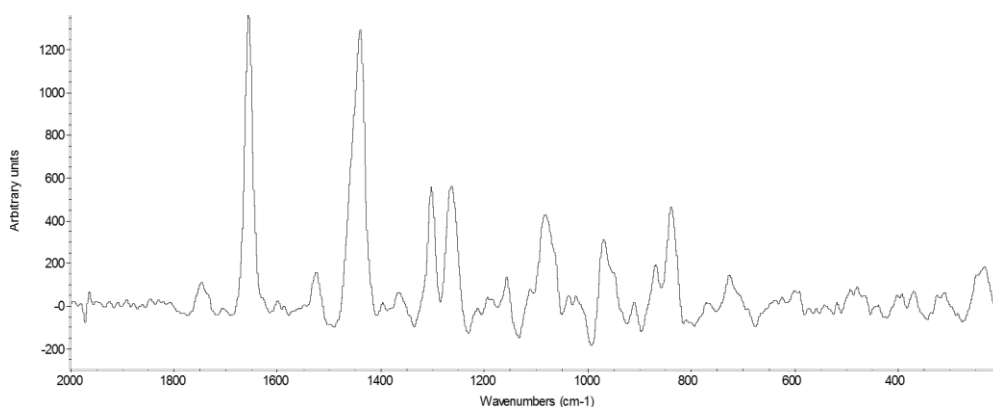
Η φασματοσκοπία Raman εφαρμόζεται σε κάθε είδους λιπαρά δείγματα (έλαια, μαργαρίνες, λίπη) και είναι ευρέως διαδεδομένη για μείγματα πλούσια σε λιπίδια. Στη παρούσα εργασία τα φάσματα Raman που καταγράφηκαν ήταν στο φάσμα μεταξύ  $200-2000\text{ cm}^{-1}$ . Η

<sup>7</sup> ΓΠΑ. Ενόργανη Χημική Ανάλυση. Εργαστήριο Χημείας 2015. Πανεπιστημιακές Σημειώσεις Π. Α. Ταραντίλη και Χ. Σ. Παππά. Φασματοσκοπικές Τεχνικές Ανάλυσης σ. 87-95

φασματοσκοπία Raman αποτελεί μια μέθοδο γρήγορης αξιολόγησης του βαθμού ακορεστότητας των ελαίων.

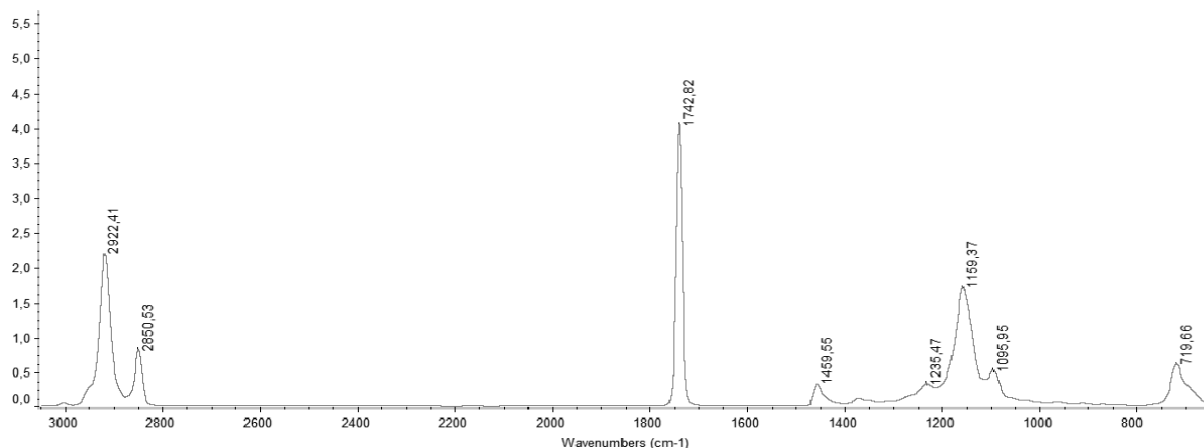
Τα γιγαρτέλαια που μελετήθηκαν έδωσαν δύο μεγάλες κορυφές. Η μία ήταν στα  $1655\text{ cm}^{-1}$  και η δεύτερη στα  $1444\text{ cm}^{-1}$ . Η κορυφή στα  $1655\text{ cm}^{-1}$  αποδίδεται σε ένα πλούσιο μείγμα ακόρεστων διπλών *cis*- διπλών δεσμών  $\nu(\text{C}=\text{C})$ . Όσο αναφορά στη άλλη μεγάλη κορυφή στα  $1444\text{ cm}^{-1}$  αποδίδεται στις τάσεις ψαλιδισμού (*scissoring*) και κάμψης (*twist*) του μεθυλενίου  $\delta\text{CH}_2$  (Ali, Nawaz, Saleem, Nurjis, & Ahmed, 2016).

Επιπλέον η κορυφή στα  $1444\text{ cm}^{-1}$  τείνει να είναι μεγαλύτερη καθώς αυξάνεται το μήκος της αλειφατικής αλυσίδας των λιπαρών οξέων (Czamara et al., 2015). Στα φάσματα Raman του γιγαρτελαίου συναντώνται επίσης μικρότερες κορυφές μεταξύ  $1400$  και  $800\text{ cm}^{-1}$  οι οποίες συνδέονται κυρίως με τη κάμψη των αλειφατικών αλυσίδων (Beattie, Bell, Borgaard, Fearon, & Moss, 2006).



Εικόνα 11: Φάσμα Raman της ποικιλίας Ρομπόλα ΠΟΠ από  $200\text{-}2000\text{ cm}^{-1}$ . Οι κύριες κορυφές στα  $1655$  και  $1444\text{ cm}^{-1}$  αντιπροσωπεύουν τους διπλούς *-cis* δεσμούς και τις ομάδες  $-\text{CH}_2$  αντίστοιχα.

Όσο αφορά στα αντίστοιχα IR-ATR φάσματα γιγαρτελαίου που καταγράφηκαν, ξεχωρίζουν τρεις μεγάλες κορυφές, στα  $2920$ , στα  $1743$  και στα  $1160\text{ cm}^{-1}$ . Υπάρχουν και κάποιες μικρότερες στα  $2853$ ,  $1460$ ,  $1098$  και  $722\text{ cm}^{-1}$ . Η περιοχή μεταξύ  $700\text{-}1500\text{ cm}^{-1}$  είναι η περιοχή του «αποτυπώματος» (*fingerprint area*). Η περιοχή αυτή παρέχει άμεση πληροφορία για την αναλογία μεταξύ ομάδων κορεσμένων και *cis*- μονοακόρεστων λιπαρών. Οι δύο κορυφές στα  $2853$  και  $2920\text{ cm}^{-1}$  αποδίδονται στις δονήσεις τάσεως των δεσμών C-H που εντοπίζονται στη περιοχή  $2850\text{-}3000\text{ cm}^{-1}$ . Η μεγάλη οξεία κορυφή στα  $1743\text{ cm}^{-1}$  αποδίδεται στην απορρόφηση του καρβονυλίου C=O της ομάδας των τριγλυκεριδίων (Schulz & Baranska, 2007).



Εικόνα 12: IR-ATR φάσμα απορρόφησης του γιγαρτελαίου της ποικιλίας Ρομπόλα ΠΟΠ. Οι κορυφές μεταξύ  $700-1500\text{ cm}^{-1}$  αναφέρονται ως δακτυλικό αποτύπωμα των λαδιών, ενώ οι κύριες κορυφές στα  $1743\text{ cm}^{-1}$  απεικονίζουν την απορρόφηση της ομάδας C=O των τριγλυκεριδίων και η περιοχή μεταξύ  $2850-3000\text{ cm}^{-1}$  την απορρόφηση των δονήσεων των δεσμών C-H. Ο κάθετος άξονας αναφέρεται στην ένταση της απορρόφησης των χαρακτηριστικών ομάδων.

#### 4. Συμπεράσματα

Μεγάλο ποσοστό του όγκου των απορριμμάτων των οινοποιείων καταλαμβάνουν τα γίγαρτα (περίπου 25% του βάρους επί ξηρού), με αποτέλεσμα η χρήση τους για τη παραγωγή γιγαρτελαίου να συντελεί στη μείωση της συσσώρευσης των απορριμμάτων, προς χάρη του περιβάλλοντος.

Τα γίγαρτα από γηγενείς ποικιλίες των νησιών τους Ιονίου είχαν σχετικά χαμηλή λιποπεριεκτικότητα, που είναι σε συμφωνία με άλλες αναφορές της βιβλιογραφίας. Αν συνυπολογίσουμε το ότι δεν είχαν υποστεί καμία κατεργασία παρά μόνο του διαχωρισμού και της ξήρανσης με ρεύμα αέρα, γίνεται κατανοητό ότι υπάρχει δυνατότητα βελτιστοποίησης της απόδοσης των γιγαρτελαίων.

Μετά την εκχύλιση των γιγάρτων προς παραγωγή του γιγαρτελαίου η μάζα που απομένει μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την περαιτέρω εκχύλιση των φαινολικών ουσιών καθώς και για χουμποποίηση ή ζωοτροφή.

Η αέρια χρωματογραφία επιβεβαίωσε για ακόμα μια φορά την υπάρχουσα βιβλιογραφία, που αφορά στη χημική σύσταση του γιγαρτελαίου, καθώς χαρακτηρίζεται από ένα πλούσιο προφίλ ακόρεστων λιπαρών οξέων. Η ποσοτικοποίησή τους με τη χρήση εσωτερικού προτύπου ανέδειξε ότι η περιεκτικότητα των λιπαρών οξέων στα υπό μελέτη γιγαρτέλαια έφτανε τα  $383\text{ mg/mL}$ , με κυρίαρχο το λινελαϊκό και ακολούθως το ελαϊκό λιπαρό οξύ.

Η χρήση φασματοσκοπικών τεχνικών για την εκτίμηση της ποιότητας των ελαίων αποτέλεσε ένα γρήγορο μέσο για την αποτελεσματική αξιολόγησή της ακορεστότητας και των κυρίαρχων συστατικών του ελαίου.

Οι συντελεστές απόσβεσης  $K$  που έχουν θεσπιστεί κυρίως για τον εντοπισμό της οξείδωσης και των προσμίξεων του εξαιρετικά παρθένου ελαιόλαδου κατατάσσουν τα γιγαρτέλαια που μελετήθηκαν στην κατηγορία «ελαιόλαδο αποτελούμενο από εξευγενισμένα και παρθένα ελαιόλαδα», και συγκλίνουν με βιβλιογραφικές αναφορές που αφορούν στο γιγαρτέλαιο.

Συμπερασματικά όλα συνηγορούν στο ότι τα γίγαρτα θα μπορούσαν να αξιοποιηθούν για τη παραγωγή γιγαρτελαίου με μέσα ήδη υπάρχοντα στα πυρηνελαιουργία, μειώνοντας το τελικό όγκο των παραπροϊόντων της οινοποίησης και συμβάλλοντας στη προστασία του περιβάλλοντος. Επιπλέον το γιγαρτέλαιο ως λάδι με πλούσια αντιοξειδωτική δράση μπορεί να συμμετέχει ως προϊόν βάση ή αυτούσιο για φαρμακευτική και καλλυντική χρήση ή ακόμα και ως βρώσιμο για χρήση του στην μαγειρική.

## V. Παράρτημα

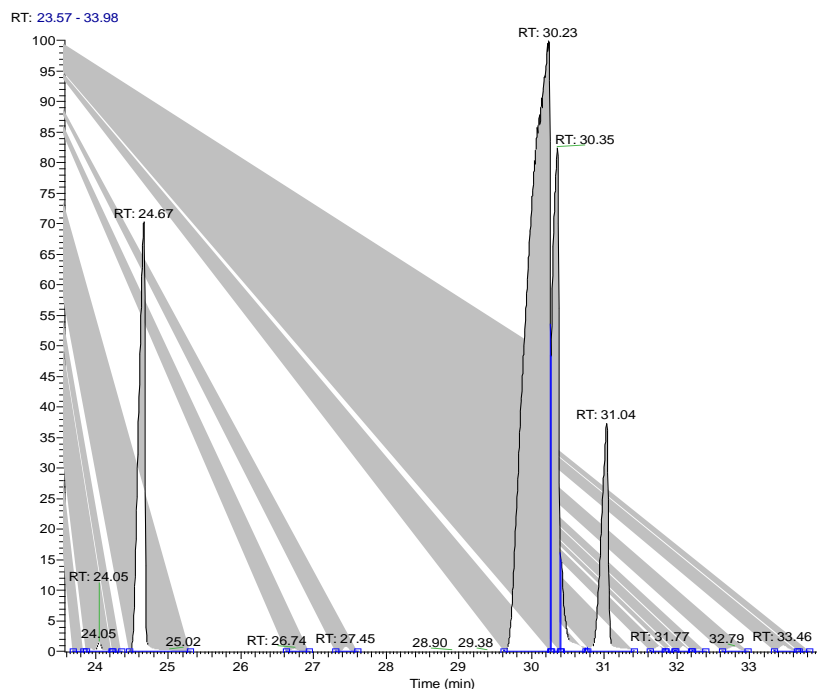
### Παράρτημα 1

Χρωματογραφήματα- % Ανάλυση FAMES

Ανάλυση Μεθυλεστέρων γιγαρτελαίου (FAMES) με GC-MS

[No Δείγματος: Ποικιλία, Προέλευση, Οινοποιείο, απόδοση % στο λάδι και στο πολτό οινοποίησης]

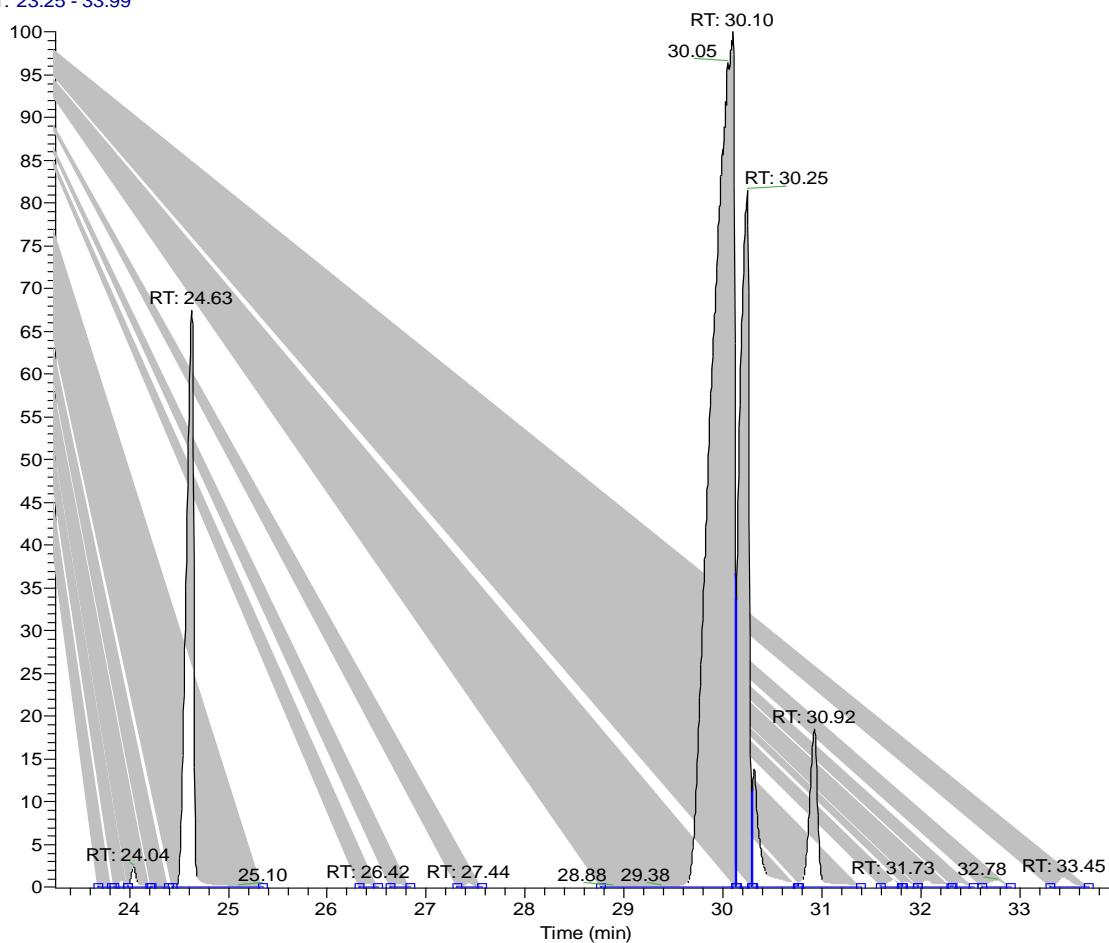
01: : *Sauvignon Blanc*, Κεφαλονιάς, Gentilini, απόδοση: 7.7 w/w , 1.51 w/w



Apex RT	Start RT	End RT	Area	%Area	Height	%Height	ουσία κατά Xcal
24.05	23.87	24.22	1.6E+08	0.26	27964596	0.48	C16:1
24.3	24.24	24.35	6305566	0.01	1177796	0.02	C16:1
24.67	24.46	25.3	7.64E+09	12.37	1.29E+09	22.23	C16:0
26.74	26.62	26.93	51019715	0.08	7505345	0.13	C17:1
27.45	27.3	27.6	74493101	0.12	13987209	0.24	C17:0
30.23	29.62	30.26	3.76E+10	60.91	1.83E+09	31.58	C18:2
30.35	30.26	30.39	9.08E+09	14.7	1.51E+09	26.02	C18:1
30.4	30.4	30.74	1.25E+09	2.02	2.75E+08	4.74	C18:1
31.04	30.76	31.4	4.79E+09	7.75	6.83E+08	11.78	C18:0
31.77	31.63	31.83	1.26E+08	0.2	16660133	0.29	C18:2
31.89	31.84	31.97	71042718	0.11	12270906	0.21	C18:2
32.09	31.98	32.19	1.11E+08	0.18	15455322	0.27	C18:2
32.3	32.21	32.39	46718866	0.08	5477774	0.09	C18:2
32.79	32.62	32.97	1.4E+08	0.23	12885592	0.22	C18:2
33.46	33.34	33.65	1.58E+08	0.26	17103144	0.29	C18:2

02: Τσαούσι, Κεφαλονιάς, Gentilini, απόδοση: 7.75 w/w, 2.26 w/w

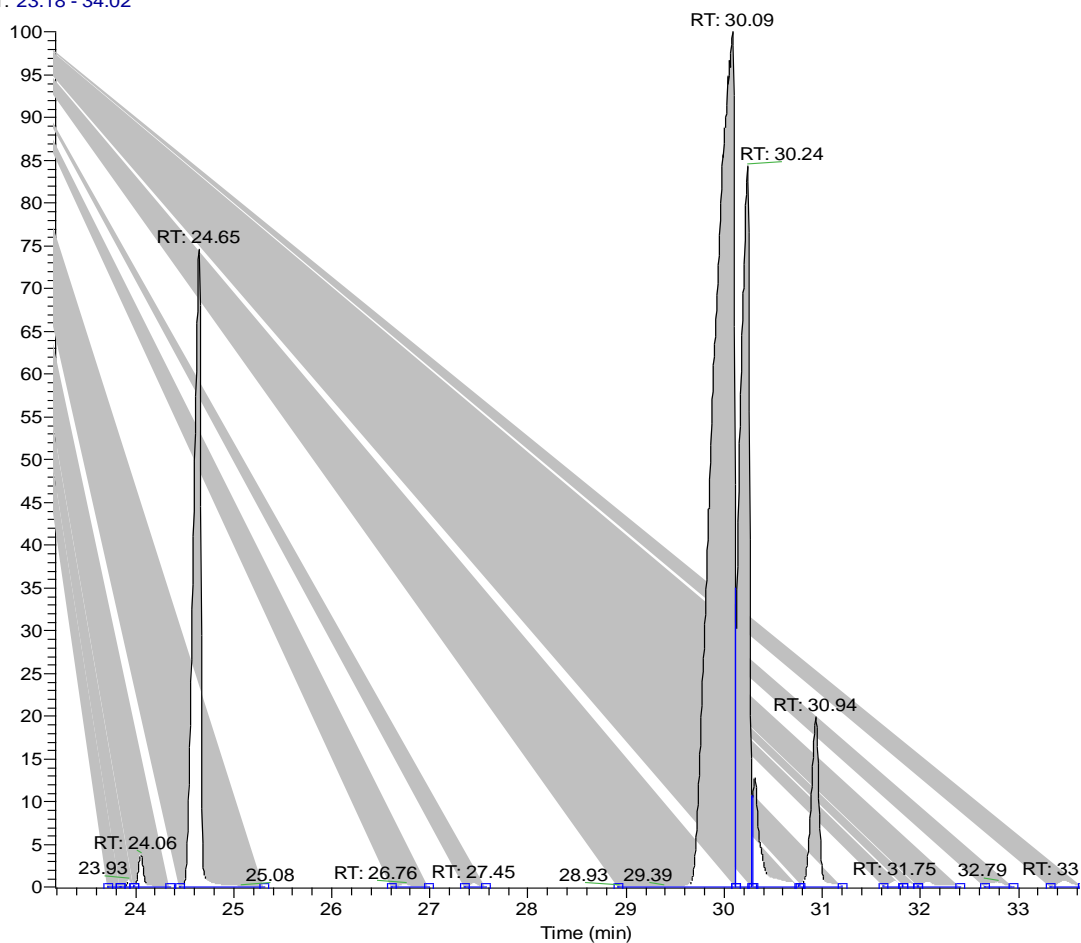
RT: 23.25 - 33.99



Apex RT	Start RT	End RT	Area	%Area	Height	%Height	Ουσία κατά Xcal
24.04	23.98	24.2	1.56E+08	0.34	39273564	0.81	C16:1
24.29	24.22	24.4	9275338	0.02	1447601	0.03	C16:1
24.63	24.44	25.35	5.71E+09	12.57	1.1E+09	22.65	C16:0
26.42	26.32	26.51	31139674	0.07	6395868	0.13	C16:0
26.73	26.63	26.83	31637757	0.07	5365403	0.11	C17:1
27.44	27.31	27.55	35697224	0.08	6737357	0.14	C17:0
30.1	28.76	30.13	2.54E+10	55.99	1.63E+09	33.58	C18:2
30.25	30.13	30.29	8.59E+09	18.94	1.33E+09	27.37	C18:1
30.31	30.29	30.75	1.23E+09	2.71	2.24E+08	4.63	C18:1
30.92	30.76	31.39	1.82E+09	4.01	3E+08	6.19	C18:0
31.73	31.59	31.8	1.09E+08	0.24	14077118	0.29	C18:2
31.86	31.81	31.96	66033194	0.15	10451799	0.22	C18:2
32.06	31.96	32.29	1.33E+08	0.29	12891267	0.27	C18:2
32.41	32.32	32.52	59016139	0.13	7616251	0.16	C18:2
32.78	32.61	32.9	1.19E+08	0.26	11299429	0.23	C18:2
33.45	33.3	33.68	1.67E+08	0.37	18029857	0.37	C18:2

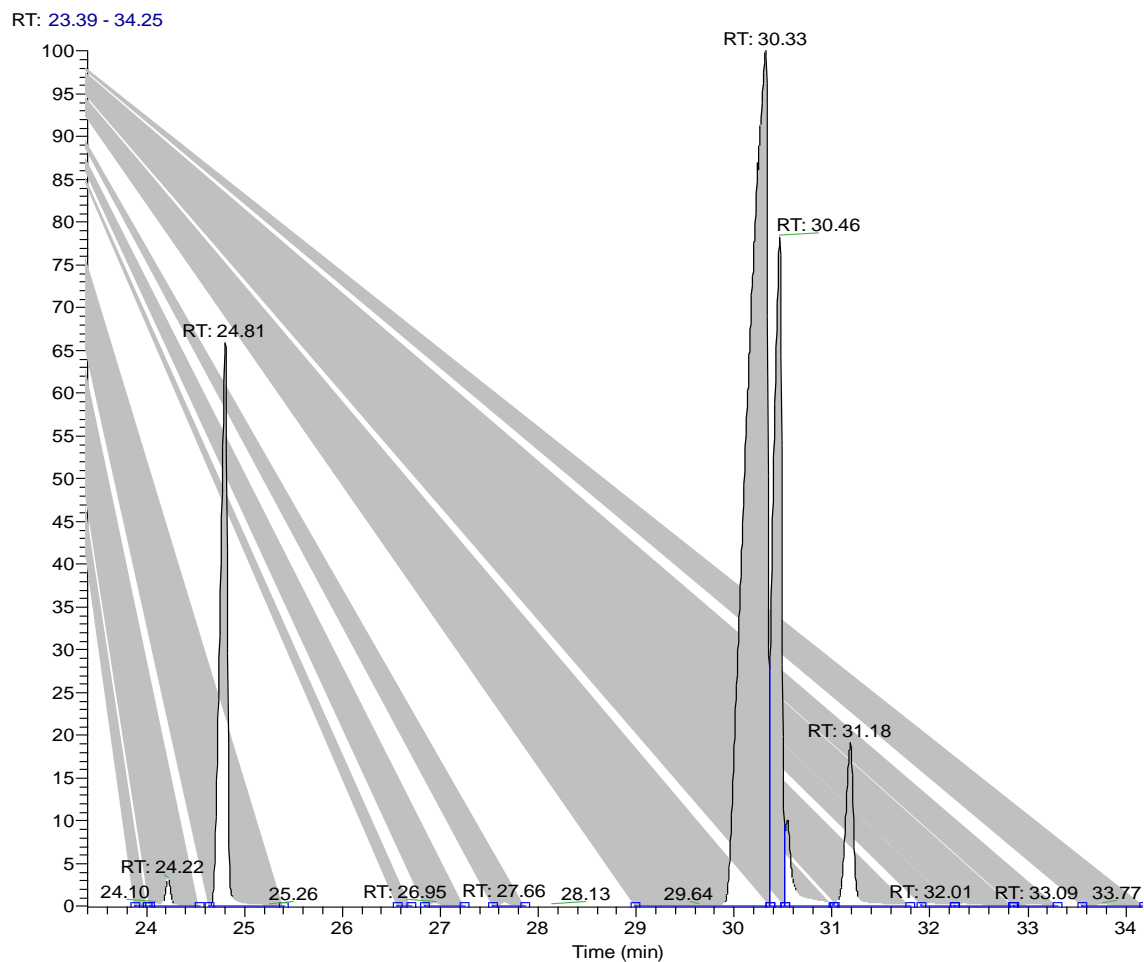
03: Ρομπόλα, Κεφαλονιάς, Gentilini/ Φαγιάς, απόδοση: 6.45 w/w, 1.81 w/w

RT: 23.18 - 34.02



Apex RT	Start RT	End RT	Area	%Area	Height	%Height	Ουσία κατά Xcal
23.93	23.85	23.98	45767495	0.11	12378608	0.26	C16:1
24.06	23.98	24.34	2.46E+08	0.58	61398875	1.28	C16:1
24.65	24.45	25.31	6.33E+09	15.03	1.18E+09	24.53	C16:0
26.76	26.6	26.98	43940448	0.1	5939236	0.12	C17:1
27.45	27.36	27.57	37455799	0.09	7411039	0.15	C17:0
30.09	28.91	30.11	2.28E+10	54.15	1.58E+09	32.89	C18:2
30.24	30.12	30.28	8.97E+09	21.27	1.34E+09	27.73	C18:1
30.31	30.29	30.76	1.12E+09	2.67	2.02E+08	4.2	C18:1
30.94	30.77	31.2	1.78E+09	4.23	3.16E+08	6.57	C18:0
31.75	31.62	31.82	84280168	0.2	10631938	0.22	C18:2
31.88	31.83	31.97	51738451	0.12	8149628	0.17	C18:2
32.09	31.97	32.4	1.1E+08	0.26	9929779	0.21	C18:2
32.79	32.65	32.95	88230826	0.21	8668933	0.18	C18:2
33.47	33.32	33.65	1.11E+08	0.26	11395106	0.24	C18:2

04: Ρομπόλα, Ζάκυνθος, Γράμψας, απόδοση: 8.77 w/w, 2.19 w/w

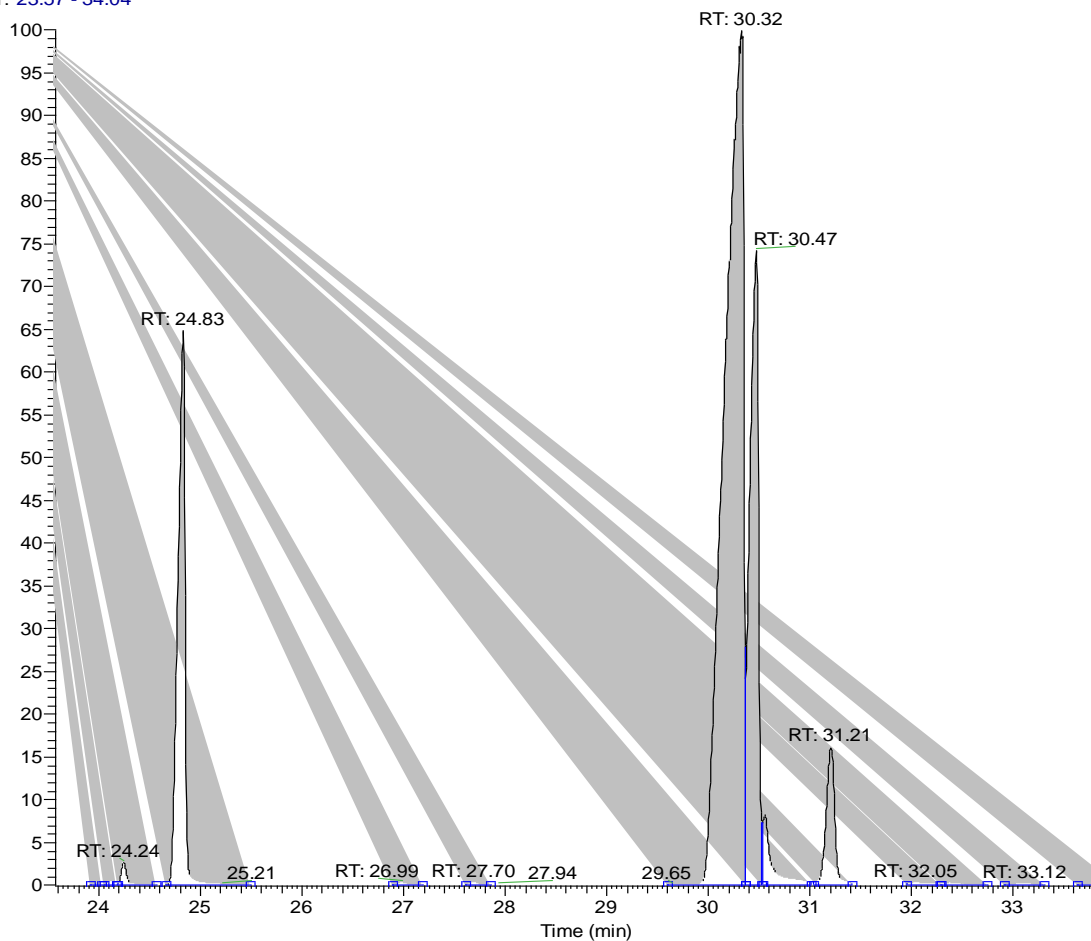


Apex RT	Start RT	End RT	Area	%Area	Height	%Height	ουσία κατά Xcali
24.22	24.03	24.54	2.52E+08	0.59	56014738	1.16	C16:1
24.81	24.63	25.4	5.75E+09	13.54	1.14E+09	23.49	C16:0
26.63	26.55	26.7	6589369	0.02	1084584	0.02	C16:0
26.95	26.84	27.24	43208995	0.1	5457100	0.11	C17:1
27.66	27.53	27.86	40905285	0.1	7055972	0.15	C17:0
30.33	28.99	30.36	2.49E+10	58.5	1.73E+09	35.62	C18:2
30.46	30.37	30.51	7.97E+09	18.74	1.35E+09	27.87	C18:1
30.54	30.51	31.01	1.06E+09	2.5	1.75E+08	3.61	C18:1
31.18	31.01	31.79	2.02E+09	4.74	3.3E+08	6.82	C18:0
32.01	31.9	32.24	78840396	0.19	5656268	0.12	C18:2
32.35	32.25	32.85	90098230	0.21	5004831	0.1	C18:2
33.09	32.85	33.3	51747592	0.12	3334343	0.07	C18:2
33.77	33.55	34.19	60209660	0.14	3152480	0.07	C18:2

05: Γουστολίδι, Ζάκυνθος, Γράμψας, απόδοση: 7.55 w/w, 1.1 w/w



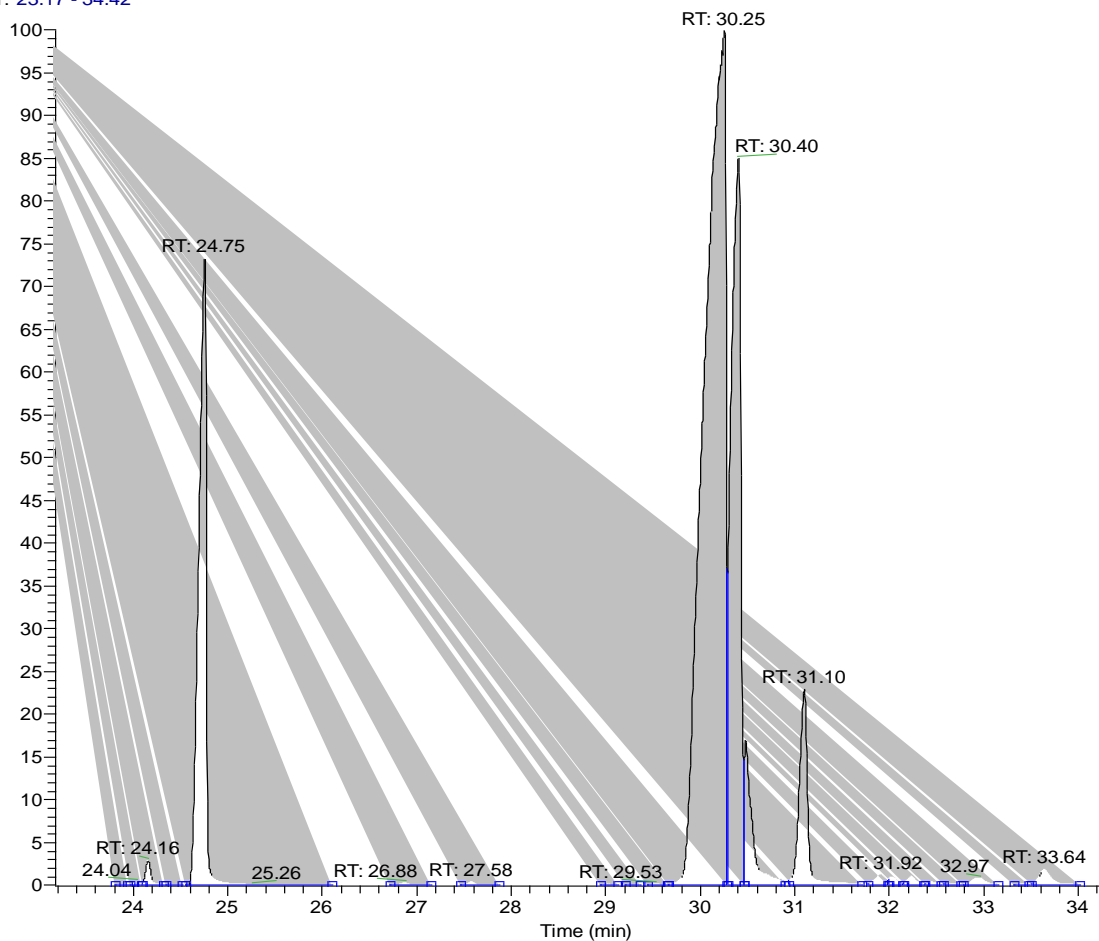
RT: 23.57 - 34.04



Apex RT	Start RT	End RT	Area	%Area	Height	%Height	ουσία κατά Xcali
24.24	24.18	24.56	1.88E+08	0.5	45051521	0.99	C16:1
24.83	24.65	25.49	5.48E+09	14.42	1.09E+09	23.96	C16:0
26.99	26.89	27.18	33521951	0.09	4753418	0.1	C17:1
27.7	27.61	27.85	32213303	0.08	5736461	0.13	C17:0
30.32	29.6	30.36	2.19E+10	57.55	1.68E+09	36.93	C18:2
30.47	30.37	30.53	7.42E+09	19.54	1.25E+09	27.4	C18:1
30.56	30.53	31.01	8.69E+08	2.29	1.38E+08	3.04	C18:1
31.21	31.04	31.42	1.62E+09	4.25	2.73E+08	5.99	C18:0
32.05	31.95	32.28	70579392	0.19	5017543	0.11	C18:2
32.38	32.29	32.74	66648722	0.18	4440215	0.1	C18:2
33.12	32.91	33.3	44108486	0.12	3003720	0.07	C18:2
33.81	33.63	34.02	39460810	0.1	2594772	0.06	C18:2

06: Ρομπόλα, Κεφαλονιάς, Gentilini/Κοκκινοπίλια, απόδοση: 7.01 w/w, 2.23 w/w

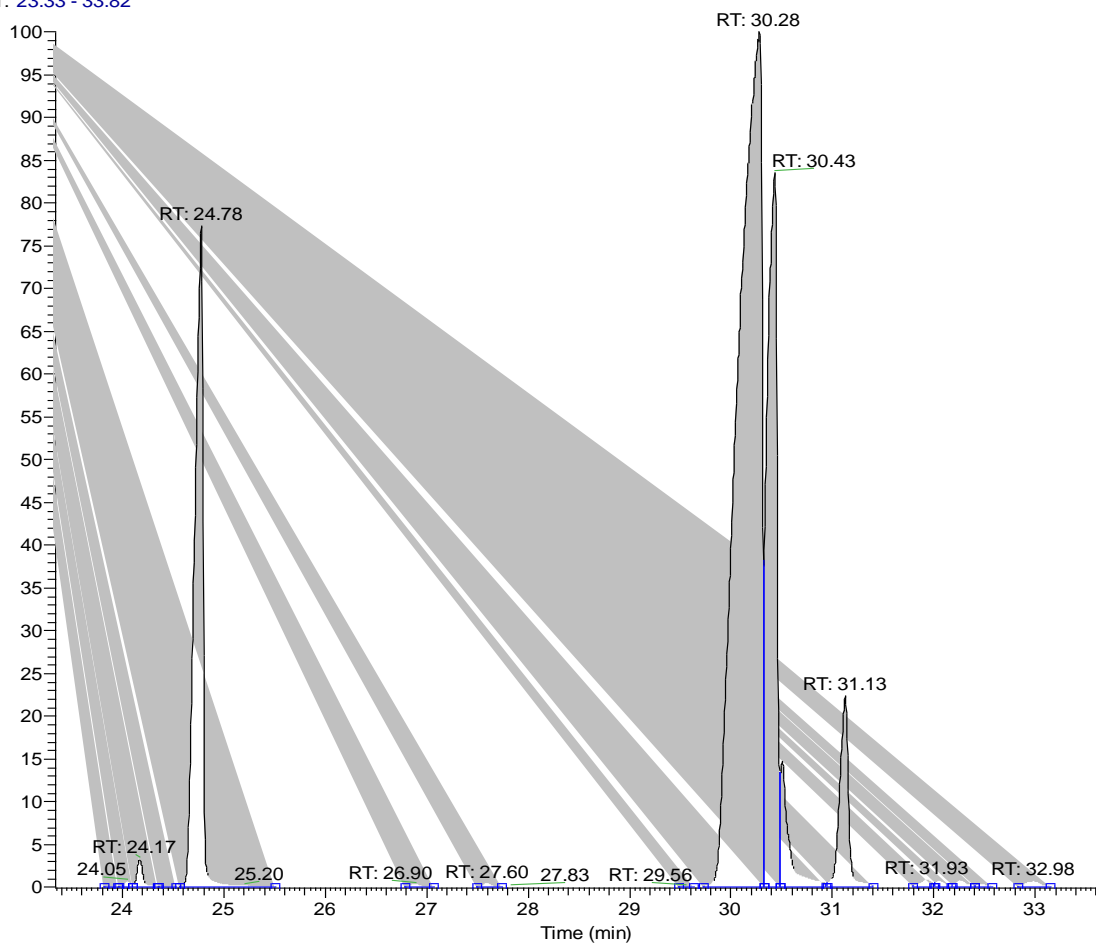
RT: 23.17 - 34.42



Apex RT	Start RT	End RT	Area	%Area	Height	%Height	ουσία κατά Xcali
24.04	23.96	24.08	39567248	0.07	9865316	0.16	C16:1
24.16	24.09	24.31	2.41E+08	0.43	56716626	0.94	C16:1
24.41	24.35	24.51	12528967	0.02	2115077	0.04	C16:1
24.75	24.55	26.1	7.99E+09	14.13	1.41E+09	23.42	C16:0
26.88	26.71	27.15	56404837	0.1	6322066	0.1	C17:1
27.58	27.46	27.87	56463091	0.1	8598813	0.14	C17:0
29.05	28.94	29.12	17576047	0.03	2668658	0.04	C18:2
29.27	29.2	29.36	11599148	0.02	1583193	0.03	C18:2
29.53	29.44	29.64	29553000	0.05	3453495	0.06	C18:2
30.25	29.67	30.28	3.02E+10	53.45	1.92E+09	31.93	C18:2
30.4	30.29	30.46	1.16E+10	20.55	1.64E+09	27.16	C18:1
30.48	30.46	30.9	1.98E+09	3.5	3.27E+08	5.43	C18:1
31.1	30.93	31.71	2.75E+09	4.87	4.42E+08	7.34	C18:0
31.92	31.77	31.98	1.88E+08	0.33	23656041	0.39	C18:2
32.03	31.99	32.14	1.2E+08	0.21	19576995	0.32	C18:2
32.24	32.15	32.36	1.53E+08	0.27	20774084	0.34	C18:2
32.45	32.37	32.54	61637637	0.11	8101481	0.13	C18:2
32.67	32.56	32.76	35916052	0.06	3540983	0.06	C18:2
32.97	32.79	33.15	1.94E+08	0.34	17060033	0.28	C18:2
33.43	33.32	33.48	26076199	0.05	3538698	0.06	C18:2
33.64	33.5	34.01	3.72E+08	0.66	35697124	0.59	C18:2

07: Ρομπόλα, Κεφαλονιάς, Gentilini/Αγ. Νικόλαος, απόδοση: 6.85 w/w, 1.84 w/w

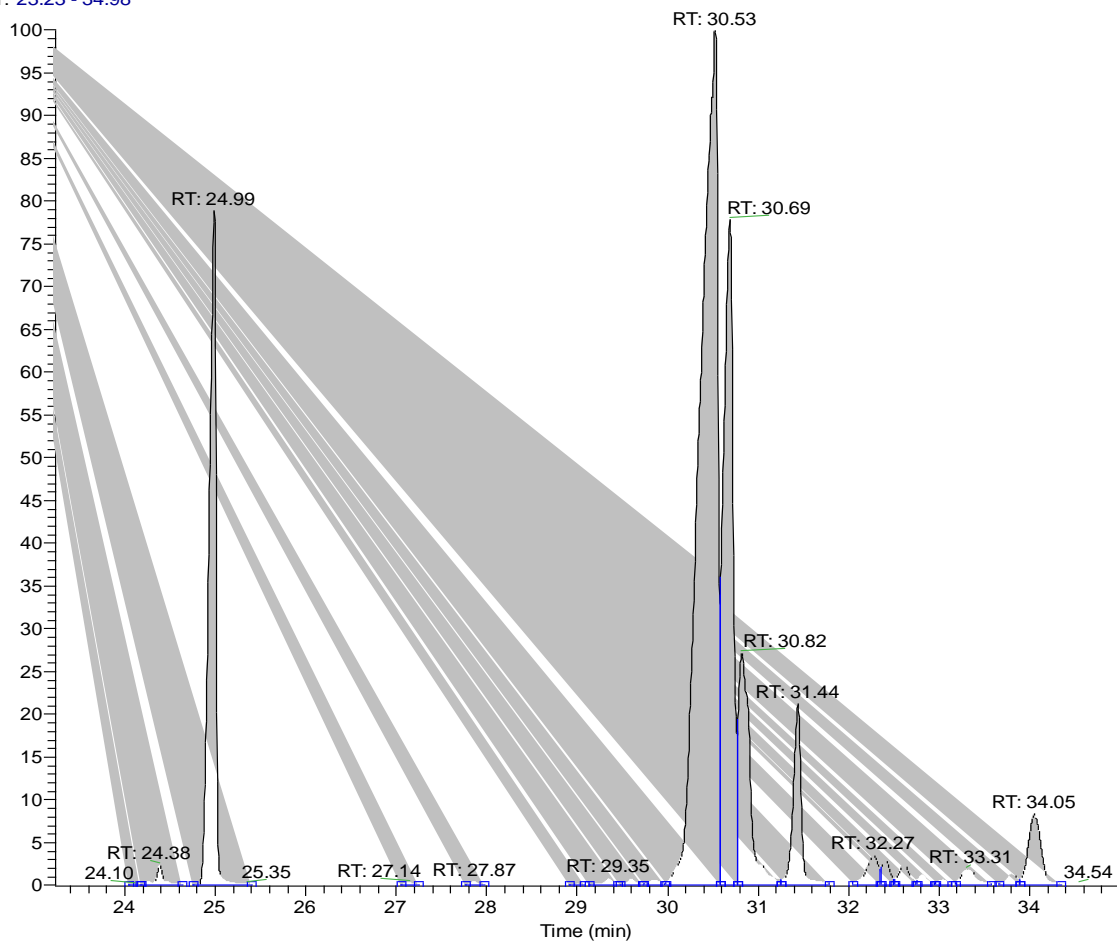
RT: 23.33 - 33.82



Apex RT	Start RT	End RT	Area	%Area	Height	%Height	ουσία κατά Xcali
24.05	23.97	24.1	50415926	0.09	13036776	0.21	C16:1
24.17	24.1	24.34	2.74E+08	0.48	66043163	1.08	C16:1
24.42	24.36	24.52	13733734	0.02	2289056	0.04	C16:1
24.78	24.56	25.5	8.68E+09	15.09	1.52E+09	24.94	C16:0
26.9	26.78	27.06	51435806	0.09	7130886	0.12	C17:1
27.6	27.49	27.74	51345083	0.09	9054668	0.15	C17:0
29.56	29.48	29.63	16200700	0.03	2364782	0.04	C18:2
30.28	29.72	30.32	3.19E+10	55.41	1.97E+09	32.23	C18:2
30.43	30.32	30.48	1.12E+10	19.43	1.65E+09	26.96	C18:1
30.5	30.49	30.93	1.7E+09	2.95	2.91E+08	4.77	C18:1
31.13	30.94	31.4	2.69E+09	4.67	4.41E+08	7.22	C18:0
31.93	31.78	32	1.4E+08	0.24	17427733	0.29	C18:2
32.06	32.01	32.17	98805504	0.17	13915415	0.23	C18:2
32.27	32.18	32.39	1.21E+08	0.21	15517310	0.25	C18:2
32.48	32.4	32.57	49532487	0.09	6052194	0.1	C18:2
32.98	32.83	33.15	1.45E+08	0.25	13074349	0.21	C18:2

09: Ρομπόλα, Κεφαλονιάς, Gentilini/ Βαλαμάτα, απόδοση: 6.14 w/w, 1.56 w/w

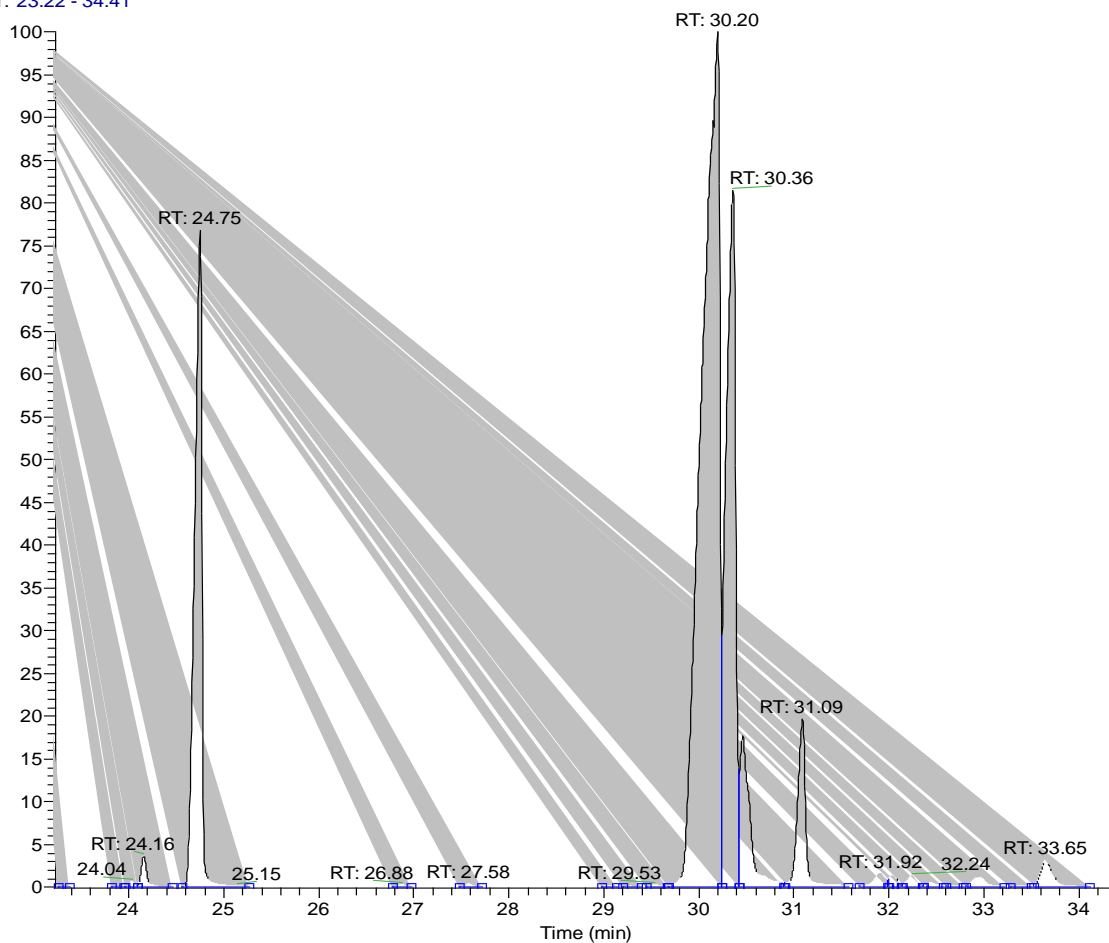
RT: 23.23 - 34.98



Apex RT	Start RT	End RT	Area	%Area	Height	%Height	ουσία κατά Xcal
24.1	24.04	24.17	6441463	0.01	1233134	0.02	C17:2
24.38	24.18	24.63	2.54E+08	0.48	42394130	0.71	C17:1
24.99	24.75	25.4	7.45E+09	14.1	1.4E+09	23.45	C17:1
27.14	27.05	27.25	42983271	0.08	6042723	0.1	C17:1
27.87	27.76	27.96	48582334	0.09	8070176	0.14	C17:0
29.01	28.92	29.08	16391408	0.03	2328910	0.04	C18:2
29.35	29.13	29.45	1.05E+08	0.2	13905420	0.23	C18:2
29.61	29.48	29.72	93351481	0.18	13146110	0.22	C18:2
29.86	29.73	29.96	1.03E+08	0.19	11484211	0.19	C18:2
30.53	29.97	30.58	2.42E+10	45.74	1.77E+09	29.75	C18:2
30.69	30.59	30.77	1.01E+10	19.17	1.38E+09	23.16	C18:1
30.82	30.78	31.25	4.13E+09	7.8	4.81E+08	8.08	C18:1
31.44	31.26	31.79	2.37E+09	4.49	3.76E+08	6.31	C18:0
32.27	32.04	32.35	5.89E+08	1.11	62285242	1.05	C18:2
32.41	32.36	32.5	3.09E+08	0.58	52885000	0.89	C18:2
32.61	32.51	32.74	3.61E+08	0.68	42392593	0.71	C18:2
32.82	32.75	32.94	1.63E+08	0.31	21956476	0.37	C18:2
33.05	32.96	33.14	98104590	0.19	11724046	0.2	C18:2
33.31	33.17	33.58	3.96E+08	0.75	32156826	0.54	C18:2
33.81	33.66	33.89	1.84E+08	0.35	23923265	0.4	C18:2
34.05	33.9	34.34	1.48E+09	2.79	1.49E+08	2.5	C18:2

10: Ρομπόλα, Κεφαλονιάς, Συνεταιρισμός, απόδοση: 5.45 w/w, 1.47 w/w

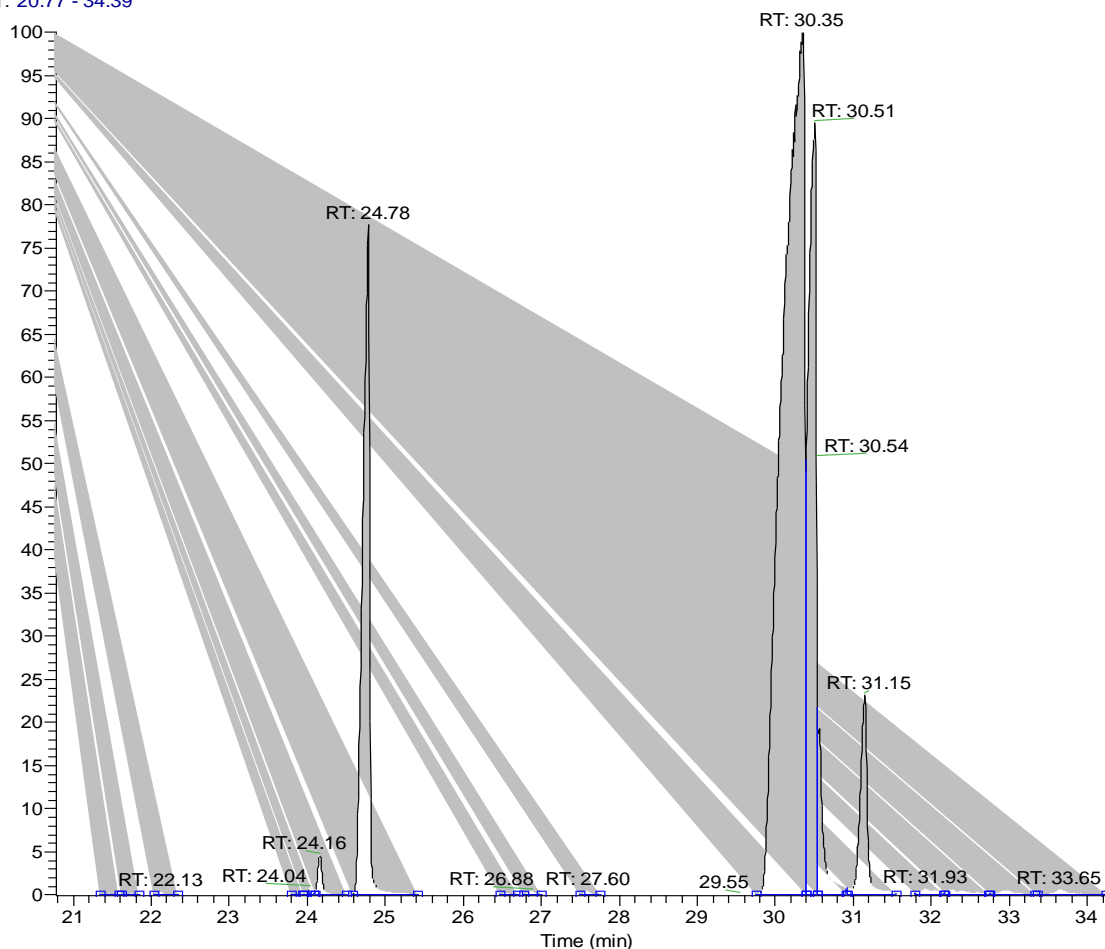
RT: 23.22 - 34.41



Apex RT	Start RT	End RT	Area	%Area	Height	%Height	ουσία κατά Xcali
24.04	23.95	24.09	49593917	0.11	13027872	0.24	C16:1
24.16	24.09	24.45	2.89E+08	0.62	63983741	1.18	C16:1
24.75	24.56	25.26	7.02E+09	15.1	1.33E+09	24.4	C16:0
26.88	26.77	26.96	36712435	0.08	5831106	0.11	C17:1
27.58	27.48	27.71	42674430	0.09	7324357	0.13	C17:1
29.05	28.97	29.13	23569435	0.05	3949031	0.07	C18:2
29.29	29.2	29.4	18786836	0.04	2371973	0.04	C18:2
29.53	29.44	29.66	43363227	0.09	5377924	0.1	C18:2
30.2	29.67	30.24	2.27E+10	48.92	1.73E+09	31.75	C18:2
30.36	30.24	30.42	1E+10	21.56	1.41E+09	25.87	C18:1
30.46	30.42	30.89	2.28E+09	4.89	3.06E+08	5.63	C18:1
31.09	30.9	31.56	2.09E+09	4.49	3.39E+08	6.23	C18:0
31.92	31.68	31.98	2.45E+08	0.53	29139445	0.54	C18:2
32.04	31.99	32.13	1.44E+08	0.31	24116100	0.44	C18:2
32.24	32.15	32.36	1.73E+08	0.37	23608438	0.43	C18:2
32.44	32.37	32.57	81158488	0.17	9984155	0.18	C18:2
32.68	32.59	32.77	36607203	0.08	4154048	0.08	C18:2
32.97	32.8	33.2	2.32E+08	0.5	20324016	0.37	C18:2
33.42	33.28	33.5	41149346	0.09	4477907	0.08	C18:2
33.65	33.52	34.1	5.29E+08	1.14	54861300	1.01	C18:2

12: Ρομπόλα, Κεφαλονιάς, Gentilini/ Lianos, απόδοση: 5.26 w/w, 1.01 w/w

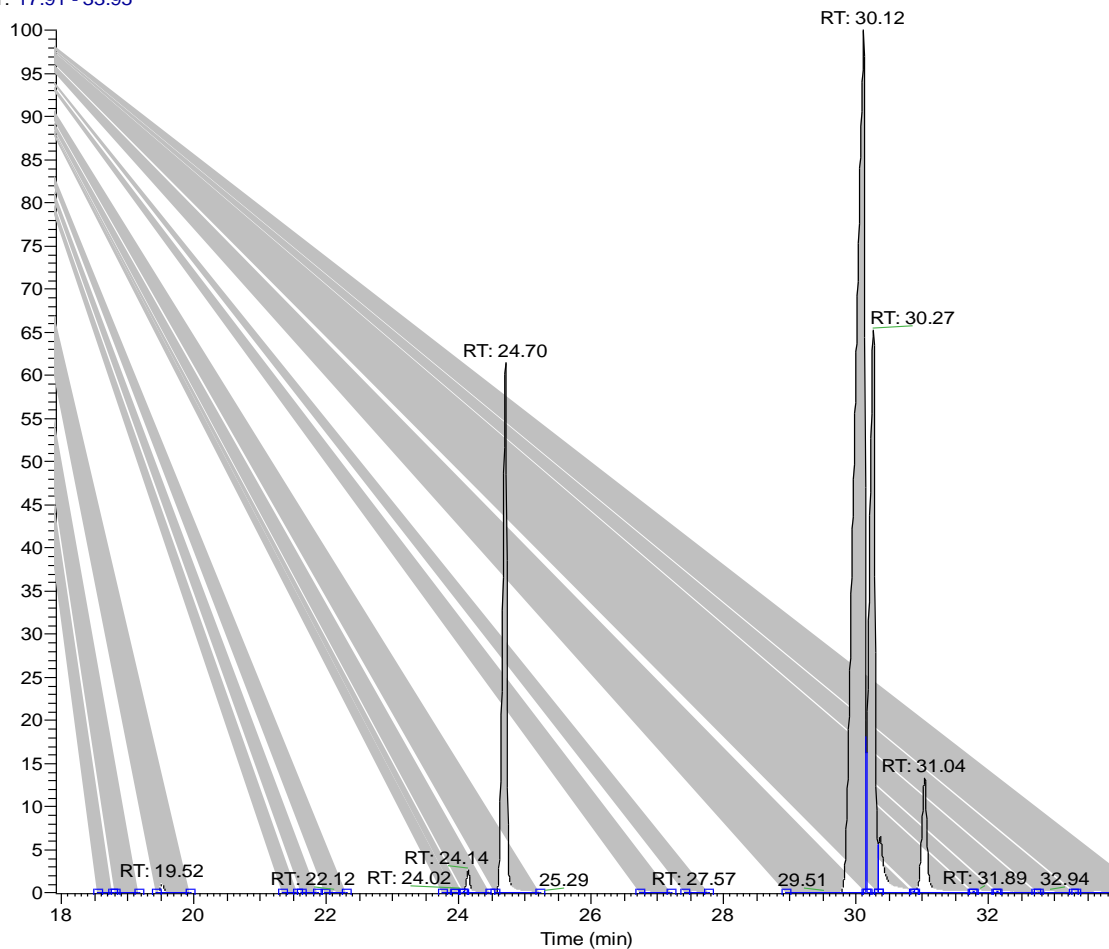
RT: 20.77 - 34.39



Apex RT	Start RT	End RT	Area	%Area	Height	%Height	ουσία κατά Xcali
22.13	22.03	22.34	23654465	0.04	5211435	0.1	C15:0
23.88	23.79	23.94	7114903	0.01	1671375	0.03	C16:2
24.04	23.96	24.09	52361582	0.1	13262849	0.26	C16:1
24.16	24.09	24.49	3.21E+08	0.6	73302012	1.44	C16:1
24.78	24.58	25.4	7.47E+09	13.95	1.23E+09	24.08	C16:0
26.55	26.46	26.69	22543003	0.04	3235986	0.06	C16:0
26.88	26.78	27	45444968	0.08	6786161	0.13	C17:1
27.6	27.49	27.74	44263220	0.08	7270525	0.14	C17:0
30.35	29.75	30.39	3.08E+10	57.49	1.58E+09	30.98	C18:2
30.51	30.39	30.54	9.97E+09	18.61	1.41E+09	27.74	C18:1
30.54	30.54	30.9	1.48E+09	2.77	3.06E+08	6	C18:1
31.15	30.92	31.55	2.4E+09	4.48	3.67E+08	7.2	C18:0
31.93	31.78	32.15	1.54E+08	0.29	10505809	0.21	C18:2
32.27	32.17	32.73	1.77E+08	0.33	9383024	0.18	C18:2
32.97	32.74	33.32	1.23E+08	0.23	7646210	0.15	C18:2
33.65	33.35	34.23	1.58E+08	0.29	9451851	0.19	C18:2

13: Ρομπόλα, Κεφαλονιάς, Συνεταιρισμός, απόδοση: 5.76 w/w, 2.08 w/w

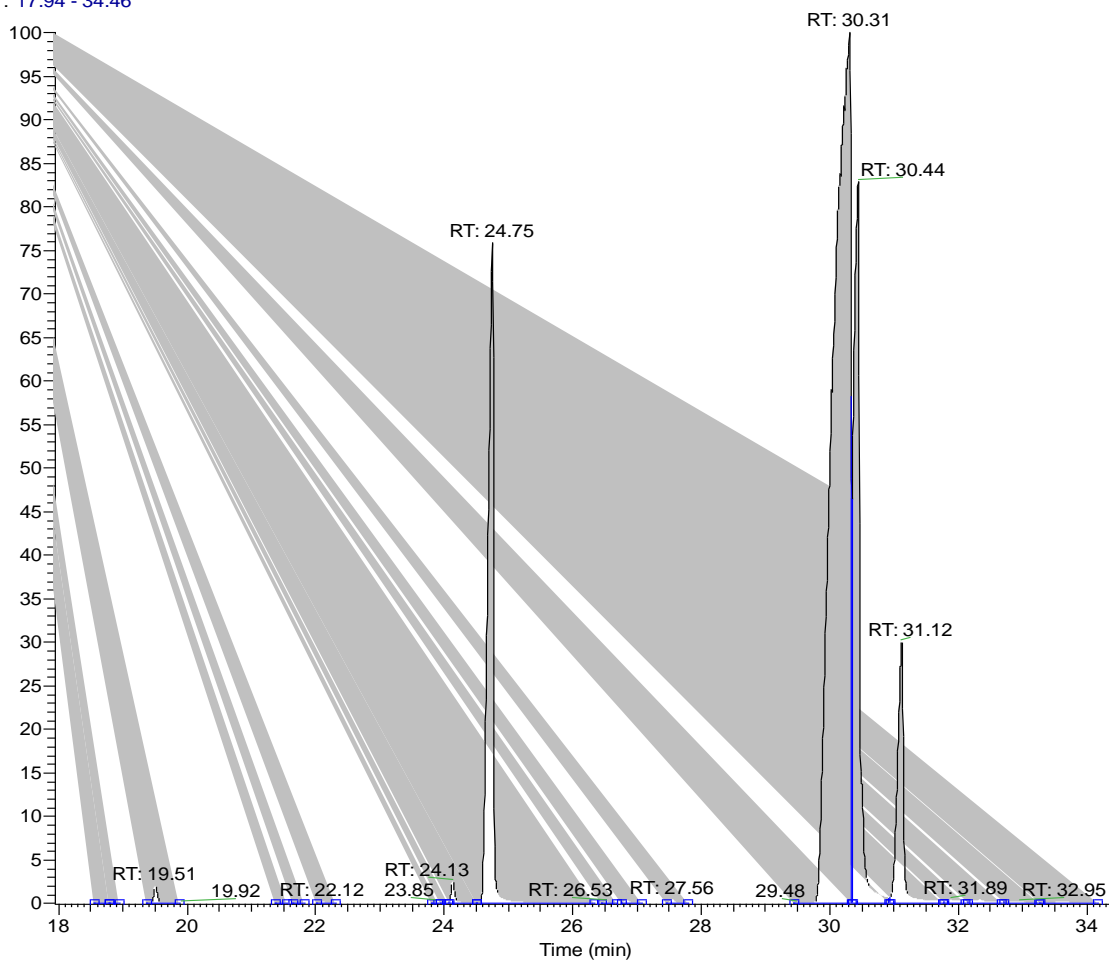
RT: 17.91 - 33.95



Apex RT	Start RT	End RT	Area	%Area	Height	%Height	Ουσία κατά Xcal
19.52	19.43	19.94	53451560	0.26	11847682	0.42	C14:0
21.47	21.33	21.57	5738421	0.03	1185498	0.04	C15:1
21.74	21.61	21.86	6251897	0.03	1142018	0.04	C15:1
22.12	21.98	22.29	9994286	0.05	1924211	0.07	C15:0
23.86	23.75	23.94	4093447	0.02	796380	0.03	C16:2
24.02	23.95	24.06	14793276	0.07	3925120	0.14	C16:1
24.14	24.06	24.46	1.28E+08	0.62	30104301	1.07	C16:1
24.7	24.54	25.22	3.13E+09	15.21	6.82E+08	24.31	C16:0
26.86	26.73	27.21	20709717	0.1	2285551	0.08	C17:1
27.57	27.42	27.77	17079464	0.08	2629651	0.09	C17:0
30.12	28.94	30.15	1.12E+10	54.55	1.11E+09	39.49	C18:2
30.27	30.16	30.33	4.26E+09	20.71	7.24E+08	25.8	C18:1
30.37	30.34	30.87	5.33E+08	2.59	73331969	2.61	C18:1
31.04	30.89	31.74	9.23E+08	4.48	1.47E+08	5.23	C18:0
31.89	31.77	32.11	46055517	0.22	3028672	0.11	C18:2
32.23	32.13	32.72	49866315	0.24	2748443	0.1	C18:2
32.94	32.76	33.28	34574497	0.17	1951757	0.07	C18:2
33.65	33.31	34.39	52391562	0.25	1877989	0.07	C18:2

19: Cabernet Sauvignon, Κέρκυρα, Θεοτόκης, απόδοση: 8.11 w/w, 1.24 w/w

RT: 17.94 - 34.46



Apex RT	Start RT	End RT	Area	%Area	Height	%Height	Ουσία κατά Xcal
19.51	19.36	19.88	1.28E+08	0.27	29457717	0.67	C14:0
21.45	21.38	21.54	9041925	0.02	2049327	0.05	C15:1
21.73	21.64	21.82	8071913	0.02	1731190	0.04	C15:1
22.12	22.02	22.31	16075385	0.03	3154718	0.07	C15:0
23.85	23.8	23.91	8836961	0.02	2346292	0.05	C16:2
24.01	23.93	24.06	26967067	0.06	6720274	0.15	C16:1
24.13	24.07	24.5	1.68E+08	0.35	37286410	0.85	C16:1
24.75	24.51	26.32	6.9E+09	14.53	1.12E+09	25.45	C16:0
26.53	26.44	26.69	19093837	0.04	2825059	0.06	C16:0
26.85	26.75	27.07	38526815	0.08	5031915	0.11	C17:1
27.56	27.46	27.8	44369944	0.09	7345128	0.17	C17:0
30.31	29.43	30.34	2.79E+10	58.78	1.47E+09	33.55	C18:2
30.44	30.34	30.92	8.69E+09	18.31	1.22E+09	27.81	C18:1
31.12	30.93	31.75	2.98E+09	6.29	4.43E+08	10.1	C18:0
31.89	31.77	32.11	89955451	0.19	6093953	0.14	C18:2
32.35	32.15	32.67	1.18E+08	0.25	5974962	0.14	C18:2
32.95	32.7	33.24	68552566	0.14	3237454	0.07	C18:2

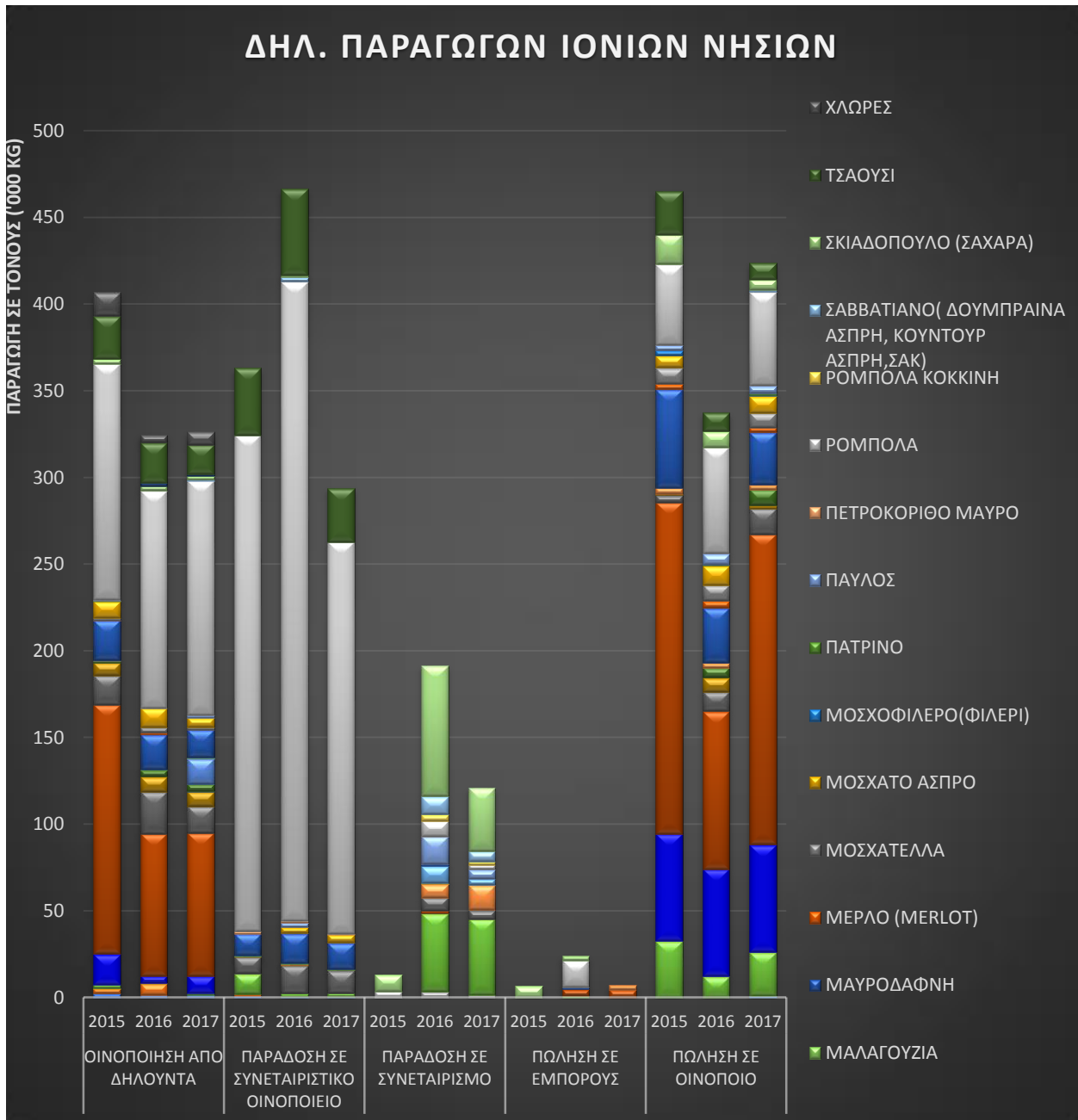
## Παράρτημα 2



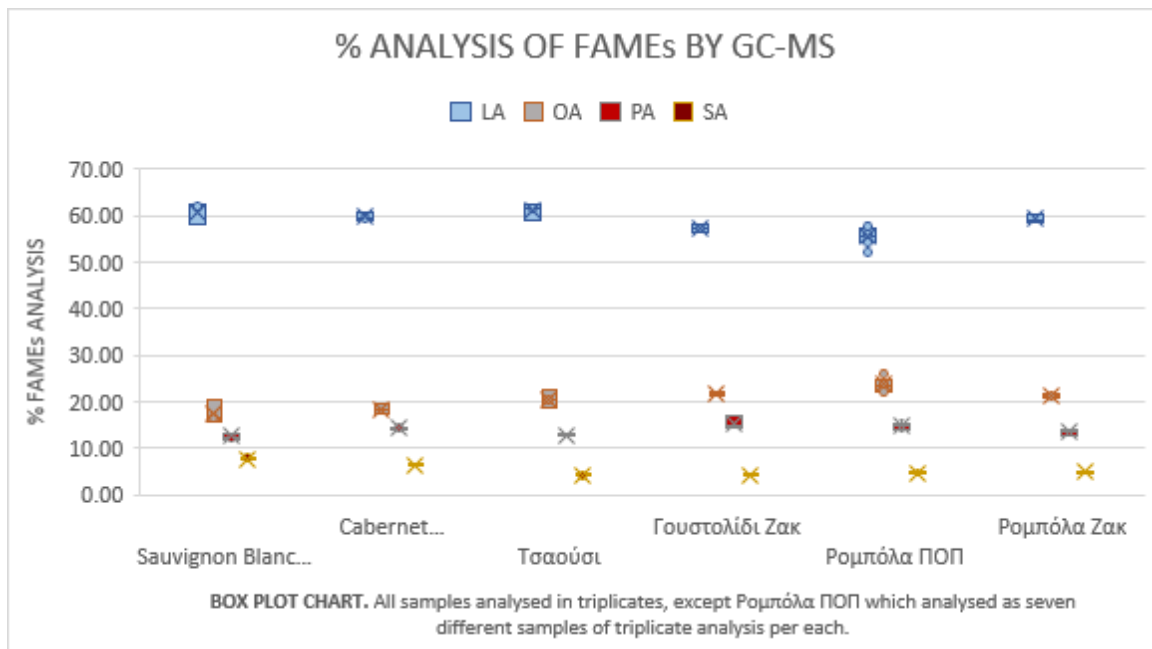
Πίνακας 3: Ποσοτικοποίηση μεθυλεστέρων των λιπαρών οξέων. Τα αποτελέσματα είναι εκπεφρασμένα σε mg ουσίας σε 1 mL ελαίου και απεικονίζονται ως average  $\pm$  SD

Fatty Acids	Sauvignon Blanc Κεφαλονιάς (Gentilini)	Τσαούσι Κεφαλονιάς (Gentilini)	Γουστολίδι Ζάκυνθος (Γράμψας)	Cabernet Sauvignon Κέρκυρα (Θεοτόκης)	Ρομπόλα Ζάκυνθος (Γράμψας)	Ρομπόλα ΠΟΠ
<b>C16:0</b>	35.35 $\pm$ 9.04	38.78 $\pm$ 7.66	32.55 $\pm$ 5.96	45.27 $\pm$ 5.07	33.28 $\pm$ 4.84	35.48 $\pm$ 6.34
<b>C18:0</b>	22.12 $\pm$ 6.82	12.81 $\pm$ 2.79	9.13 $\pm$ 2.67	20.36 $\pm$ 2.89	12.00 $\pm$ 2.81	11.25 $\pm$ 2.64
<b>C18:1</b>	48.88 $\pm$ 8.88	60.94 $\pm$ 6.95	46.83 $\pm$ 11.96	58.39 $\pm$ 4.00	52.81 $\pm$ 8.81	56.96 $\pm$ 10.03
<b>C18:2</b>	175.32 $\pm$ 57.20	184.23 $\pm$ 39.96	123.34 $\pm$ 31.43	189.99 $\pm$ 24.12	148.27 $\pm$ 30.72	135.53 $\pm$ 30.34

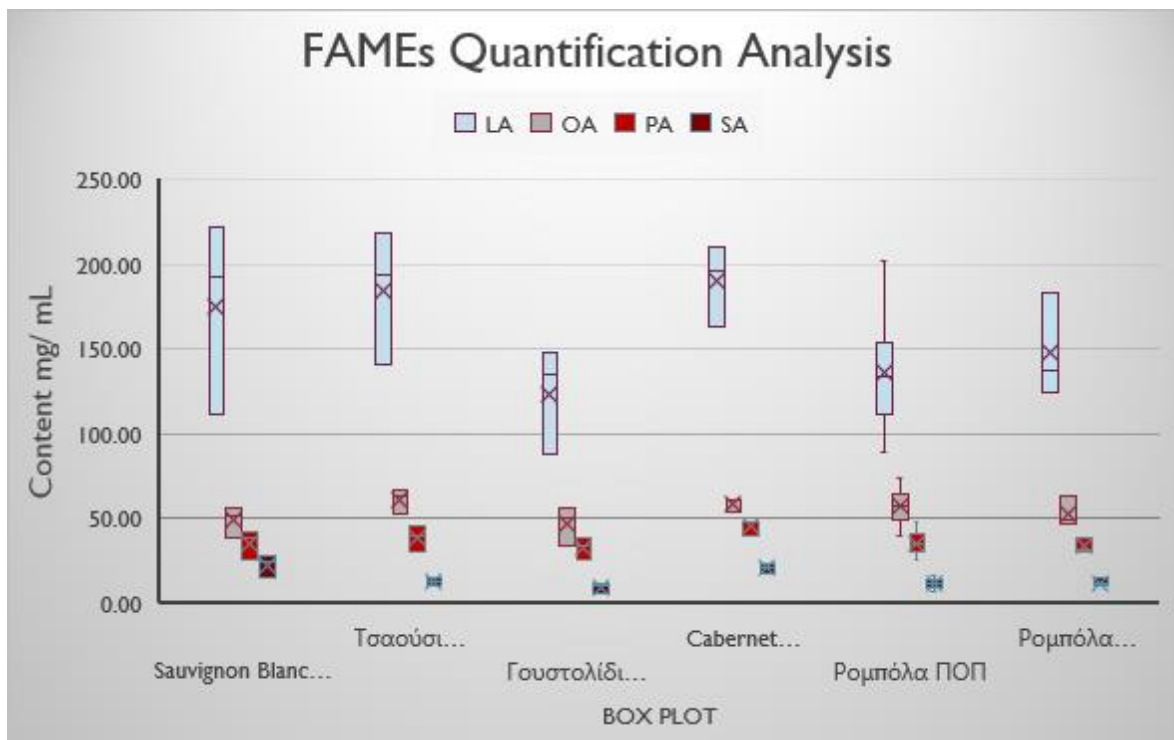
### Παράρτημα 3



Γράφημα 11: Συνολική παραγωγή σταφυλιών για οινοποίηση σε τόνους. Περιφέρεια Ιονίων Νήσων 2015-2017. Τα στοιχεία παραχωρήθηκαν από το Υπουργείο Αγροτικής Ανάπτυξης.



Γράφημα 12: Εκατοστιαία αναλογία των μεθυλεστέρων των λιπαρών οξέων (FAMES) του γιγαρτελαίου έξι ποικιλιών



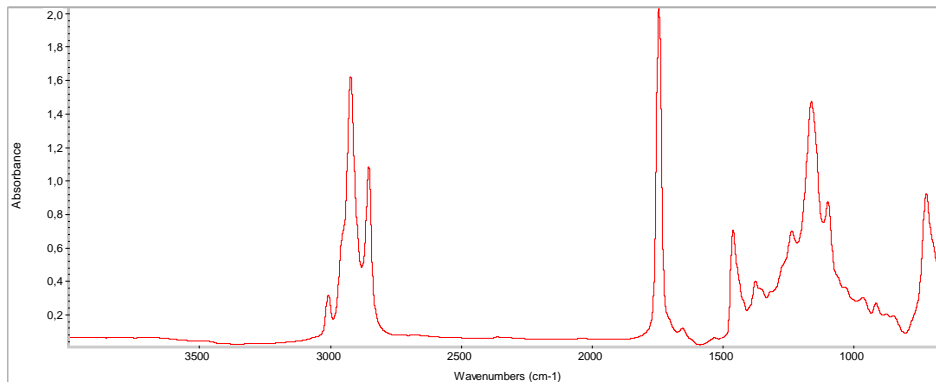
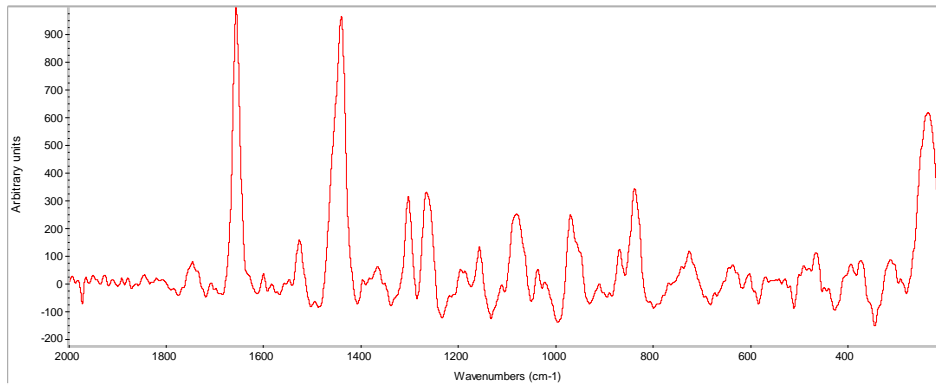
Γράφημα 13: Σύσταση των γιγαρτελαίων έξι ποικιλιών στα επιμέρους λιπαρά οξέα, λινελαϊκό (LA), ελαϊκό (OA), παλμιτικό (PA) & στεατικό (SA) λιπαρό οξύ

## Παράρτημα 4

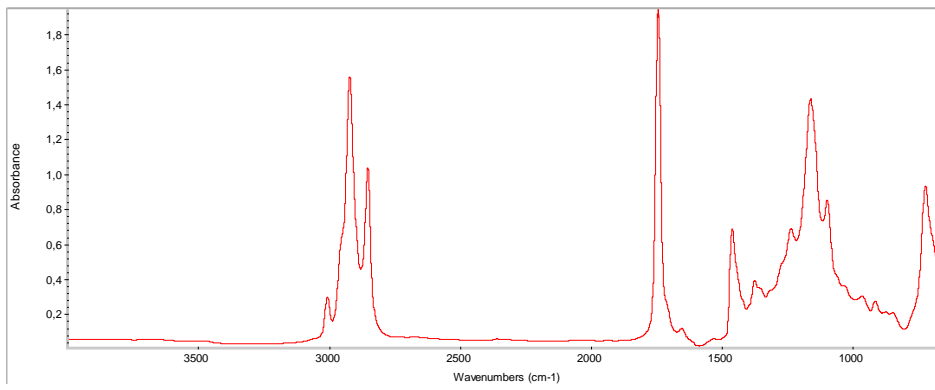
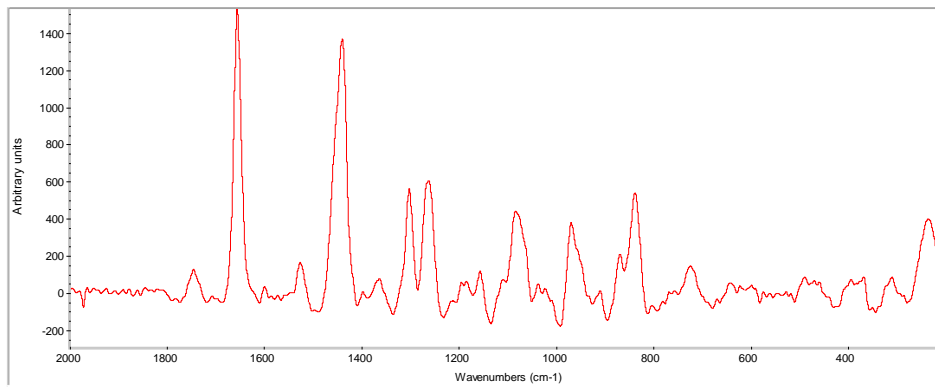
### ΦΑΣΜΑΤΑ Raman & IR- ATR

Νο δείγματος: Ποικιλία, Τοποθεσία, Οινοποιείο, Συντελεστές Απόσβεσης Κ

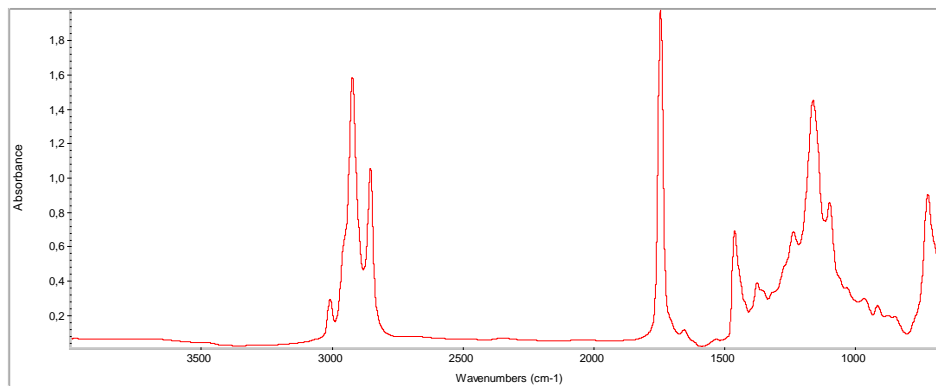
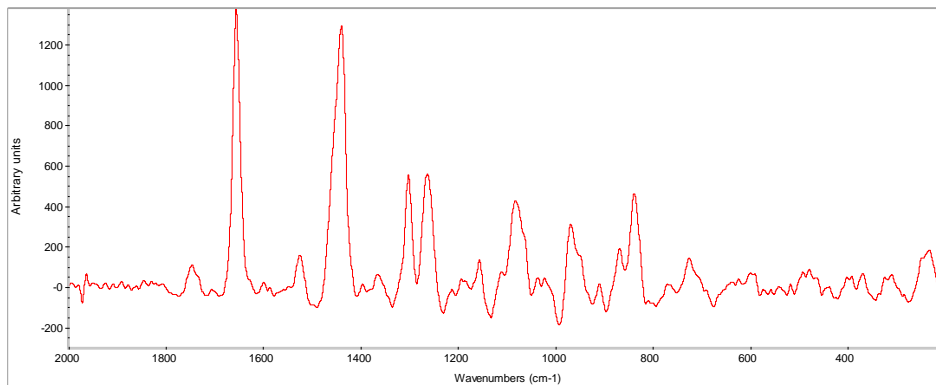
01: *Sauvignon Blanc*, Κεφαλονιάς, Gentilini,  $K_{232}$ : 2.41,  $\Delta K$ : 0.02



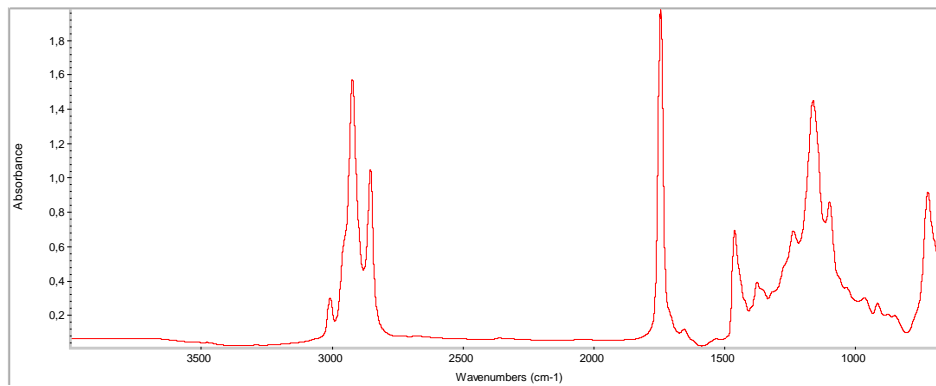
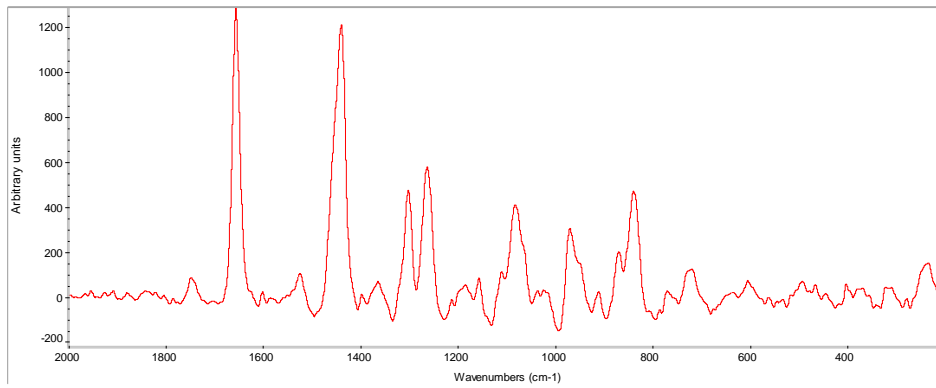
02: Τσαούσι, Κεφαλονιάς, Gentilini, K232: 2.78, ΔK: 0.01



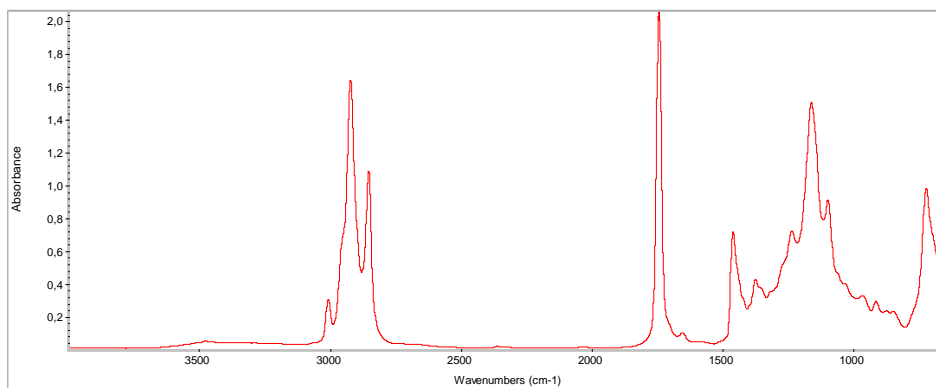
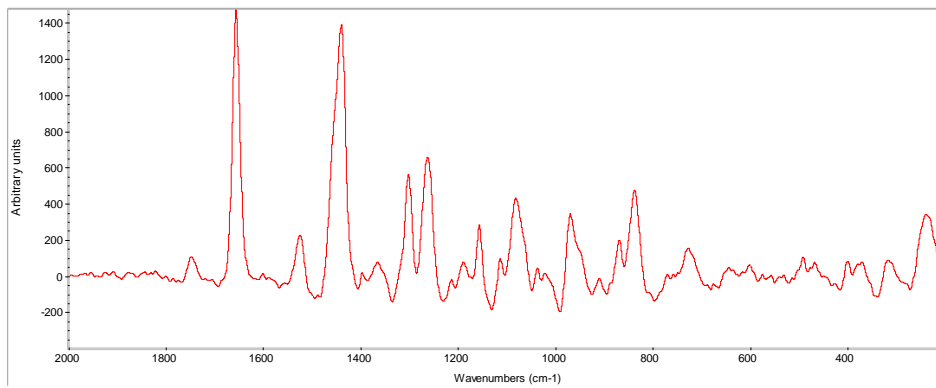
03: Ρομπόλα, Κεφαλονιάς, Gentilini/ Φαγιάς, K232: 2.92, ΔK: 0.01



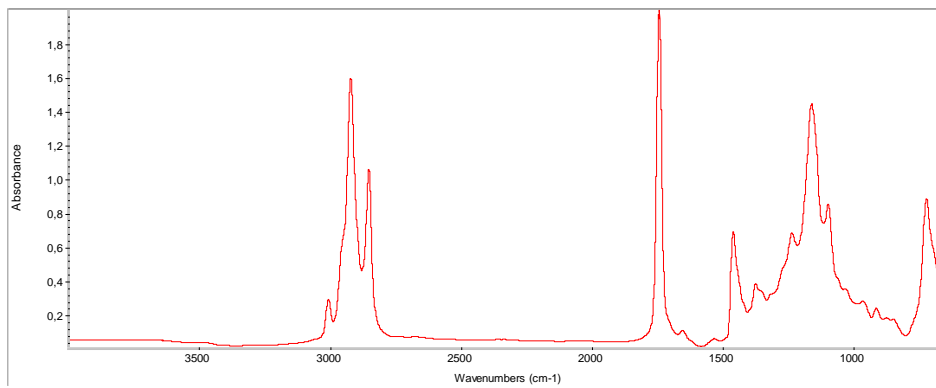
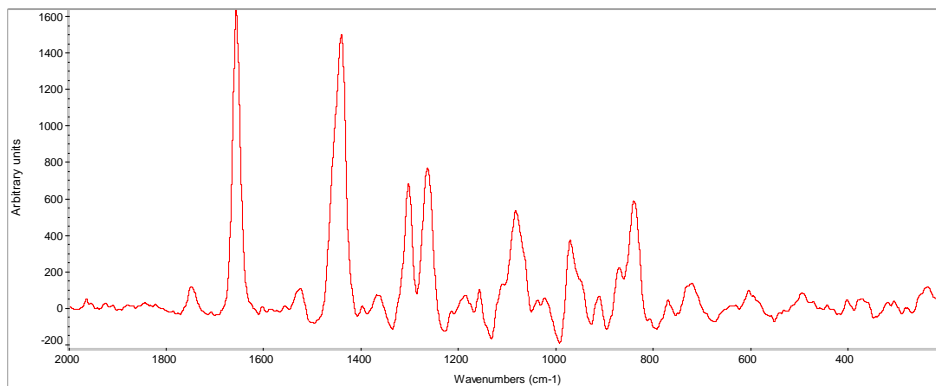
04: Ρομπόλα, Ζάκυνθος, Γράμψας, K232: 2.18, ΔΚ: 0.01



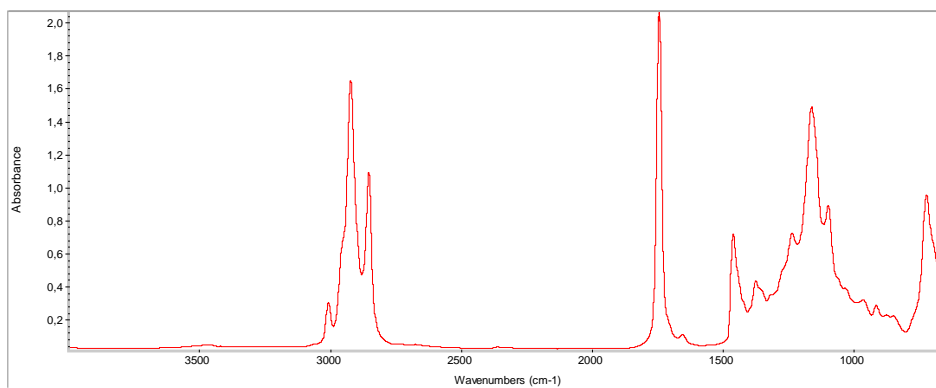
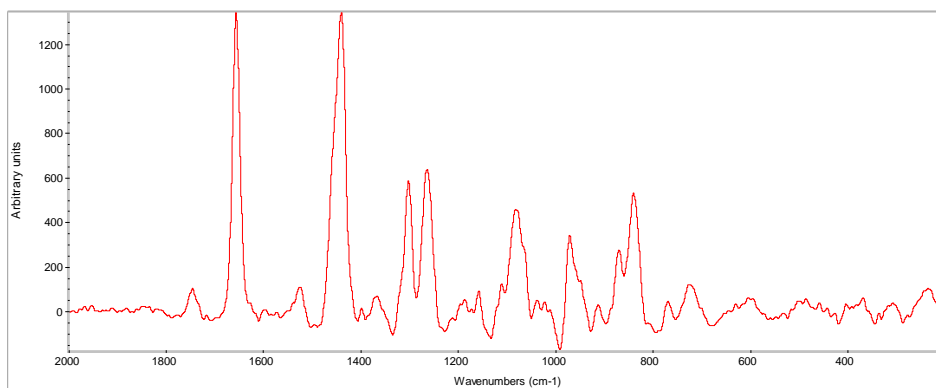
05: Γουστολίδι, Ζάκυνθος, Γράμψας, K232: 2.24, ΔΚ: 0.01



06: Ρομπόλα, Κεφαλονιάς, Gentilini/ Κοκκινοπίλια, K232: 2.45, ΔΚ: 0.01

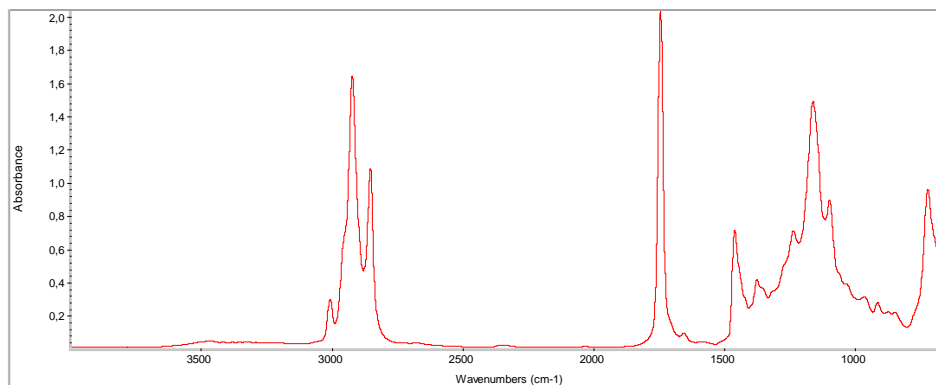
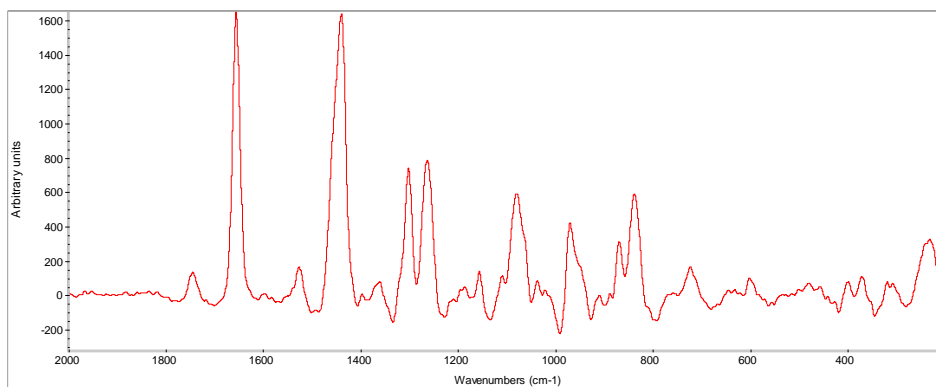


07: Ρομπόλα, Κεφαλονιάς, Gentilini/Αγ. Νικόλαος, K232: 2.62, ΔΚ: 0.02

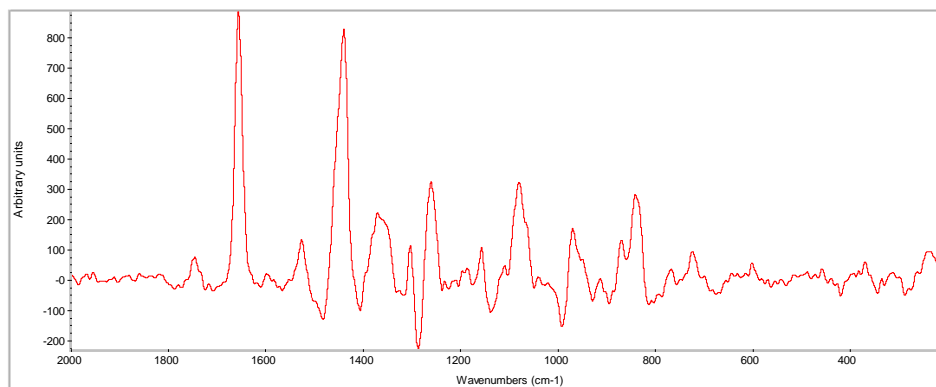




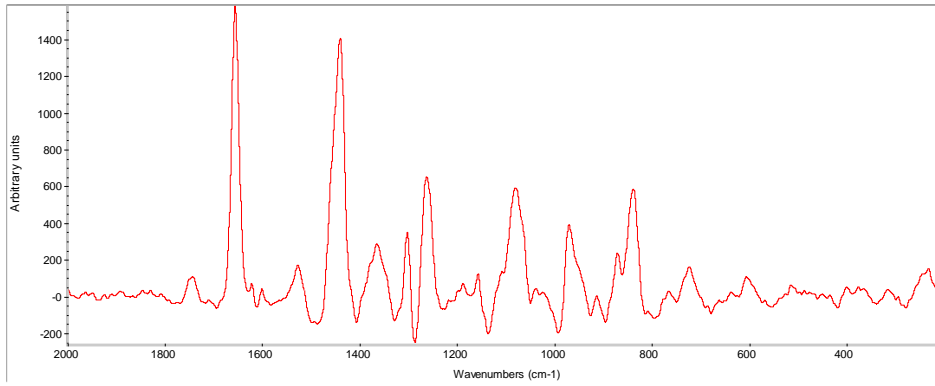
09: Ρομπόλα, Κεφαλονιάς, Gentilini/ Βαλαμάτα, K232: 2.38, ΔΚ: 0.02



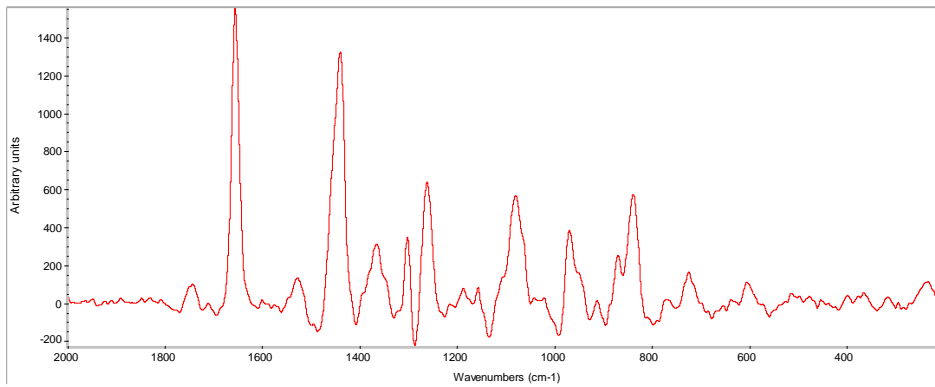
10: Ρομπόλα, Κεφαλονιάς, Συνεταιρισμός, K232: 2.30, ΔΚ: 0.02



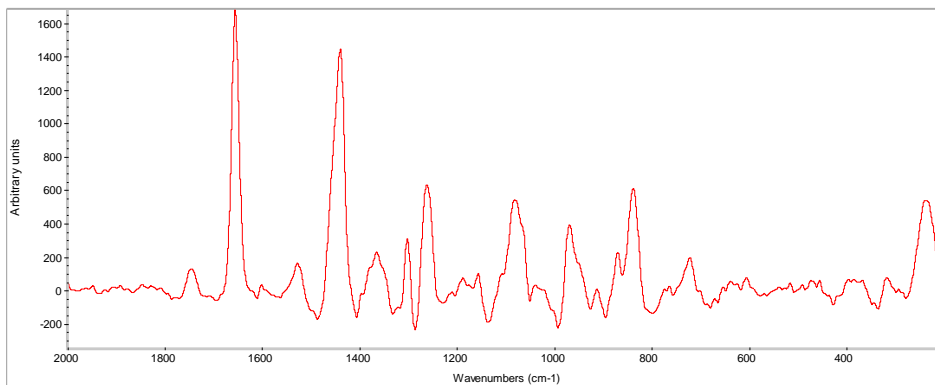
12: Ρομπόλα, Κεφαλονιάς, Gentilini/ Lianos, K232: 2.52, ΔΚ: 0.02



13: Ρομπόλα, Κεφαλονιάς, Συνεταιρισμός, K232: 2.23, ΔΚ: 0.01



19: Cabernet sauvignon, Κέρκυρα, Θεοτόκης, K232: 2.25, ΔΚ: 0.02



## Κατάλογος Συντμήσεων

**FAMES:** Fatty Acid Methyl Esters/ Μεθυλεστέρες των λιπαρών οξέων

**GC-MS:** Gas Chromatography-Mass Spectrometry/Αέρια Χρωματογραφία- Φασματομετρία μάζας

**UV-Vis:** Ultraviolet –Visible/ Υπεριώδες- Ορατό

**IR-ATR:** Infrared-Attenuated Total Reflectance/ Υπέρυθρη Φασματοσκοπία Εξασθενημένης Ολικής Ανάκλασης

**ABTS:** 2,2'-azino-bis-3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid

**DPPH:** 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl

**FC:** Folin Ciocalteau Reagent/ Αντιδραστήριο Φολίν

**ΠΟΠ:** Προστατευόμενη Ονομασία Προέλευσης

**OIV-** International Organization of Vine and Wine/ Διεθνής Οργανισμός Αμπέλου και Οίνου

**FAO/STAT-** Food and Agriculture Organization of the United Nations/ Παγκόσμιος Οργανισμός Τροφίμων και Γεωργίας

**ΕΕ:** Ευρωπαϊκή Ένωση

**RT:** Retention Time/ Χρόνος συγκράτησης

**TE:** Trolox Equivalents/ Ισοδύναμα Τρόλοξ

**CAE:** Caffeic Acid Equivalents/ Ισοδύναμα Καφεϊκού Οξέος

**MUFAs:** Monosaturated Fatty Acids/ Μονοακόρεστα Λιπαρά Οξέα

**PUFAs:** Polysaturated Fatty Acids/ Πολυακόρεστα Λιπαρά Οξέα

**SFAs:** Saturated Fatty Acids/ Κορεσμένα Λιπαρά Οξέα

**LA:** λινελαϊκό οξύ

**OA:** ελαϊκό οξύ

**SA:** στεατικό οξύ

**PA:** παλμιτικό οξύ

**ISO:** International Standards Organization/ Διεθνής Οργανισμός Τυποποίησης

## VI. Βιβλιογραφία

- OIV- International Organization of Vine and Wine. Available online: <http://www.oiv.int/en/oiv-life/2015-oiv-report-on-the-world-vitivinicultural-situations> (accessed on 2 September 2018).
- FAOSTAT- Food and Agriculture Organization of the United Nations. Available online: [http://www.fao.org/faostat/en/#rankings/commodities\\_by\\_country](http://www.fao.org/faostat/en/#rankings/commodities_by_country) (accessed on 10 September 2018).
- Ali, H., Nawaz, H., Saleem, M., Nurjis, F., & Ahmed, M. (2016). Qualitative analysis of desi ghee, edible oils, and spreads using Raman spectroscopy. *Journal of Raman Spectroscopy*. <https://doi.org/10.1002/jrs.4891>
- Antolovich, M., Prenzler, P. D., Patsalides, E., McDonald, S., & Robards, K. (2002). Methods for testing antioxidant activity. *Analyst*. <https://doi.org/10.1039/b009171p>
- Abedi, E., & Sahari, M. A. (2014). Long-chain polyunsaturated fatty acid sources and evaluation of their nutritional and functional properties. *Food science & nutrition*, 2(5), 443-463.
- Beattie, J. R., Bell, S. E. J., Borgaard, C., Fearon, A., & Moss, B. W. (2006). Prediction of adipose tissue composition using Raman spectroscopy: Average properties and individual fatty acids. *Lipids*. <https://doi.org/10.1007/s11745-006-5099-1>
- Beveridge, T. H. J., Girard, B., Kopp, T., & Drover, J. C. G. (2005). Yield and composition of grape seed oils extracted by supercritical carbon dioxide and petroleum ether: Varietal effects. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. <https://doi.org/10.1021/jf040295q>
- Bustamante, M. A., Moral, R., Paredes, C., Pérez-Espinosa, A., Moreno-Caselles, J., & Pérez-Murcia, M. D. (2008). Agrochemical characterisation of the solid by-products and residues from the winery and distillery industry. *Waste Management*. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2007.01.013>
- Carvalho, I. S., Miranda, I., & Pereira, H. (2006). Evaluation of oil composition of some crops suitable for human nutrition. *Industrial Crops and Products*, 24(1), 75–78. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2006.03.005>
- Crews, C., Hough, P., Godward, J., Brereton, P., Lees, M., Guiet, S., & Winkelmann, W. (2006). Quantitation of the main constituents of some authentic grape-seed oils of different origin. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. <https://doi.org/10.1021/jf060338y>
- Czamura, K., Majzner, K., Pacia, M. Z., Kochan, K., Kaczor, A., & Baranska, M. (2015). Raman spectroscopy of lipids: A review. *Journal of Raman Spectroscopy*. <https://doi.org/10.1002/jrs.4607>
- Da Porto, C., Porretto, E., & Decorti, D. (2013). Comparison of ultrasound-assisted extraction with conventional extraction methods of oil and polyphenols from grape (*Vitis vinifera* L.) seeds. *Ultrasonics Sonochemistry*. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2012.12.002>
- da Silva, A. C., & Jorge, N. (2017). Bioactive compounds of oils extracted from fruits seeds obtained from agroindustrial waste. *European Journal of Lipid Science and Technology*. <https://doi.org/10.1002/ejlt.201600024>
- Davidov-Pardo, G., & McClements, D. J. (2015). Nutraceutical delivery systems: Resveratrol encapsulation in grape seed oil nanoemulsions formed by spontaneous emulsification. *Food Chemistry*. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.06.082>
- de Campos, L. M. A. S., Leimann, F. V., Pedrosa, R. C., & Ferreira, S. R. S. (2008). Free radical scavenging of grape pomace extracts from Cabernet sauvignon (*Vitis vinifera*). *Bioresource Technology*, 99(17), 8413–8420. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2008.02.058>
- Devesa-Rey, R., Vecino, X., Varela-Alende, J. L., Barral, M. T., Cruz, J. M., & Moldes, A. B. (2011). Valorization of winery waste vs. the costs of not recycling. *Waste Management*, 31(11), 2327–2335. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2011.06.001>
- Fernandes, L., Casal, S., Cruz, R., Pereira, J. A., & Ramalhosa, E. (2013). Seed oils of ten traditional Portuguese grape varieties with interesting chemical and antioxidant properties. *Food Research International*. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2012.09.039>
- Fernandez-Martinez, J., Del Rio, M., & De Haro, A. (1993). *Survey of safflower (Carthamus tinctorius L.) germplasm for variants in fatty acid composition and other seed characters*. *Euphytica* (Vol. 69).
- Garavaglia, J., Markoski, M. M., Oliveira, A., & Marcadenti, A. (2016). Grape seed oil compounds: Biological and chemical actions for health. *Nutrition and Metabolic Insights*. <https://doi.org/10.4137/NMI.S32910>
- Ghafoor, K., Choi, Y. H., Jeon, J. Y., & Jo, I. H. (2009). Optimization of ultrasound-assisted extraction of phenolic compounds, antioxidants, and anthocyanins from grape (*Vitis vinifera*) seeds. *Journal of Agricultural and*

- Food Chemistry*, 57(11), 4988–4994. <https://doi.org/10.1021/jf9001439>
- Gutfinger, T. (1981). Polyphenols in olive oils. *Journal of the American Oil Chemists Society*. <https://doi.org/10.1007/BF02659771>
- Jayaprakasha, G. K., Singh, R. P., & Sakariah, K. K. (2001). Antioxidant activity of grape seed (*Vitis vinifera*) extracts on peroxidation models in vitro. *Food Chemistry*, 73(3), 285–290. [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(00\)00298-3](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(00)00298-3)
- Lachman, J., Hejtmánková, A., Táborský, J., Kotíková, Z., Pivec, V., Střalková, R., ... Dědina, M. (2015). Evaluation of oil content and fatty acid composition in the seed of grapevine varieties. *LWT - Food Science and Technology*. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2015.03.044>
- Li, S. S., Yuan, R. Y., Chen, L. G., Wang, L. S., Hao, X. H., Wang, L. J., ... Du, H. (2015). Systematic qualitative and quantitative assessment of fatty acids in the seeds of 60 tree peony (*Paeonia* section Moutan DC.) cultivars by GC-MS. *Food Chemistry*. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.10.017>
- Liu, J. J., Gasmalla, M. A. A., Li, P., & Yang, R. (2016). Enzyme-assisted extraction processing from oilseeds: Principle, processing and application. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 35, 184–193. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2016.05.002>
- Luque de Castro, M. D., & Priego-Capote, F. (2010). Soxhlet extraction: Past and present panacea. *Journal of Chromatography A*. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2009.11.027>
- Lutterodt, H., Slavin, M., Whent, M., Turner, E., & Yu, L. (2011). Fatty acid composition, oxidative stability, antioxidant and antiproliferative properties of selected cold-pressed grape seed oils and flours. *Food Chemistry*. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.03.040>
- Maier, T., Schieber, A., Kammerer, D. R., & Carle, R. (2009). Residues of grape (*Vitis vinifera* L.) seed oil production as a valuable source of phenolic antioxidants. *Food Chemistry*. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.06.005>
- Nogales-Bueno, J., Baca-Bocanegra, B., Rooney, A., Hernández-Hierro, J. M., Byrne, H. J., & Heredia, F. J. (2017). Study of phenolic extractability in grape seeds by means of ATR-FTIR and Raman spectroscopy. *Food Chemistry*. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.04.049>
- Oliveira, D. A., Salvador, A. A., Smânia, A., Smânia, E. F. A., Maraschin, M., & Ferreira, S. R. S. (2013). Antimicrobial activity and composition profile of grape (*Vitis vinifera*) pomace extracts obtained by supercritical fluids. *Journal of Biotechnology*. <https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2012.09.014>
- Orsavova, J., Misurcova, L., Ambrozova, J. V., Vicha, R., & Mlcek, J. (2015). Fatty acids composition of vegetable oils and its contribution to dietary energy intake and dependence of cardiovascular mortality on dietary intake of fatty acids. *International journal of molecular sciences*, 16(6), 12871-12890.
- Pardo, A., Perona, M. A., & Pardo, J. (2007). Indoor composting of vine by-products to produce substrates for mushroom cultivation. *Spanish Journal of Agricultural Research*. <https://doi.org/10.5424/sjar/2007053-260>
- Pardo, J. E., Fernández, E., Rubio, M., Alvarruiz, A., & Alonso, G. L. (2009). Characterization of grape seed oil from different grape varieties (*Vitis vinifera*). *European Journal of Lipid Science and Technology*. <https://doi.org/10.1002/ejlt.200800052>
- Passos, C. P., Yilmaz, S., Silva, C. M., & Coimbra, M. A. (2009). Enhancement of grape seed oil extraction using a cell wall degrading enzyme cocktail. *Food Chemistry*. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.11.064>
- Rodríguez, L. A., Toro, M. E., Vazquez, F., Correa-Daneri, M. L., Gouiric, S. C., & Vallejo, M. D. (2010). Bioethanol production from grape and sugar beet pomaces by solid-state fermentation. *International Journal of Hydrogen Energy*. <https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2009.12.112>
- Rombaut, N., Savoie, R., Thomasset, B., Castello, J., Van Hecke, E., & Lanoisellé, J. L. (2015). Optimization of oil yield and oil total phenolic content during grape seed cold screw pressing. *Industrial Crops and Products*. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2014.10.001>
- Sabir, A., Unver, A., & Kara, Z. (2012). The fatty acid and tocopherol constituents of the seed oil extracted from 21 grape varieties (*Vitis* spp.). *Journal of the Science of Food and Agriculture*. <https://doi.org/10.1002/jsfa.5571>
- Schulz, H., & Baranska, M. (2007). Identification and quantification of valuable plant substances by IR and Raman spectroscopy. *Vibrational Spectroscopy*. <https://doi.org/10.1016/j.vibspec.2006.06.001>
- Serra, A. T., Matias, A. A., Nunes, A. V. M., Leitão, M. C., Brito, D., Bronze, R., ... Duarte, C. M. (2008). In vitro evaluation of olive- and grape-based natural extracts as potential preservatives for food. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2007.07.011>
- Siger, A., Nogala-Kalucka, M., & Lampart-Szczapa, E. (2008). THE CONTENT AND ANTIOXIDANT ACTIVITY OF

#### PHENOLIC COMPOUNDS IN COLD-PRESSED PLANT OILS.

- Stevenson, D. G., Eller, F. J., Wang, L., Jane, J. L., Wang, T., & Inglett, G. E. (2007). Oil and tocopherol content and composition of pumpkin seed oil in 12 cultivars. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55(10), 4005–4013. <https://doi.org/10.1021/jf0706979>
- Teixeira, A., Baenas, N., Dominguez-Perles, R., Barros, A., Rosa, E., Moreno, D. A., & Garcia-Viguera, C. (2014). Natural bioactive compounds from winery by-products as health promoters: A review. *International Journal of Molecular Sciences*. <https://doi.org/10.3390/ijms150915638>
- Yang, R., Zhang, L., Li, P., Yu, L., Mao, J., Wang, X., & Zhang, Q. (2018). A review of chemical composition and nutritional properties of minor vegetable oils in China. *Trends in Food Science and Technology*. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2018.01.013>
- Zhang, A., & Chen, Z. Y. (1997). Oxidative stability of conjugated linoleic acids relative to other polyunsaturated fatty acids. *JAOCS, Journal of the American Oil Chemists' Society*, 74(12), 1611–1613. <https://doi.org/10.1007/s11746-997-0086-0>
- Zhao, L., Yagiz, Y., Xu, C., Lu, J., Chung, S., & Marshall, M. R. (2015). Muscadine grape seed oil as a novel source of tocotrienols to reduce adipogenesis and adipocyte inflammation. *Food and Function*. <https://doi.org/10.1039/c5fo00261c>