



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

**ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ
ΤΡΟΦΙΜΑ, ΔΙΑΤΡΟΦΗ & ΥΓΕΙΑ**

Μεταπτυχιακή Διπλωματική Εργασία

Επίδραση της προσθήκης άλατος και νερού κατά τη μάλαξη
στη συγκέντρωση των τοκοφερολών του ελαιόλαδου

Αγγελική Η. Ζούτη

Επιβλέπουσα καθηγήτρια:

Χρυσαιγή Γαρδέλη, Επίκουρη Καθηγήτρια ΓΠΑ

**ΑΘΗΝΑ
2024**

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

Μεταπτυχιακή Διπλωματική Εργασία

Επίδραση της προσθήκης άλατος και νερού κατά τη μάλαξη
στη συγκέντρωση των τοκοφερολών του ελαιόλαδου

“Effect of the addition of salt and water during malaxation
on the tocopherols content of olive oil”

Αγγελική Η. Ζούτη

Εξεταστική Επιτροπή:

Γαρδέλη Χρυσαιγή, Επίκουρη Καθηγήτρια ΓΠΑ (επιβλέπουσα)

Μαλλούχος Αθανάσιος, Επίκουρος Καθηγητής ΓΠΑ

Πανάγου Ευστάθιος, Καθηγητής ΓΠΑ

Επίδραση της προσθήκης άλατος και νερού κατά τη μάλαξη στη συγκέντρωση των τοκοφερολών του ελαιόλαδου

ΠΜΣ: Τρόφιμα, Διατροφή & Υγεία
Τμήμα Επιστήμης Τροφίμων & Διατροφής του Ανθρώπου
Εργαστήριο Χημείας & Ανάλυσης Τροφίμων

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η παρούσα ερευνητική εργασία είχε σκοπό την μελέτη της επίδρασης τεχνολογικών βοηθημάτων στο στάδιο της ελαιοποίησης στην περιεκτικότητα του ελαιόλαδου σε α-τοκοφερόλη. Η ποικιλία ελιάς που αποτέλεσε το δειγματικό πληθυσμό ήταν η Κορωνέικη και τα τεχνολογικά βοηθήματα που χρησιμοποιήθηκαν ήταν το αλάτι και το ταλκ. Η περιεκτικότητα του ελαιόλαδου σε τοκοφερόλη προσδιορίστηκε με υγρή χρωματογραφία υψηλής επίδοσης (HPLC). Τα αποτελέσματα επεξεργάστηκαν με το λογισμικό Design Expert 11, από όπου προέκυψε ότι προσθήκη 200mL νερού και 10% άλατος όταν έχει χρησιμοποιηθεί 1% ταλκ κατά τη μάλαξη της ελαιόπαστας μεγιστοποιεί τη συγκέντρωση της α-τοκοφερόλης στο ελαιόλαδο.

Επιστημονική περιοχή: Χημεία Τροφίμων

Λέξεις κλειδιά: ελαιόλαδο, αλάτι, ταλκ, τοκοφερόλη, HPLC

Effect of the addition of salt and water during malaxation on the tocopherols content of olive oil

*MSc Food Science & Technology
Department of Food Science & Human Nutrition
Laboratory of Chemistry & Food Analysis*

ABSTRACT

The purpose of this research work was to study the effect of technological aids in the olive oiling stage on the α -tocopherol content of the olive oil. The olive variety that made up the sample population was Koroneiki and the technological aids used were salt and talc. The tocopherol content of olive oil was determined by high performance liquid chromatography (HPLC). The results were processed with the software Design Expert 11, from which it was found that adding 200 mL of water and 10% salt when 1% talc has been used during the kneading of the olive paste maximizes the concentration of α -tocopherol in the olive oil.

Scientific area: Food Chemistry

Keywords: Olive oil, salt, talc, tocopherol, HPLC

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Η παρούσα εργασία δε θα ήταν εφικτό να ολοκληρωθεί χωρίς την πολύτιμη βοήθεια και ψυχολογική υποστήριξη της οικογένειάς μου που μου στάθηκε καθ' όλη τη διάρκεια των σπουδών μου τόσο σε προπτυχιακό όσο και σε μεταπτυχιακό επίπεδο. Η υποστήριξή τους μου έδωσε δύναμη και κουράγιο να συνεχίσω και να μπορέσω να σταθώ στο ύψος των περιστάσεων και τους ευχαριστώ πολύ για αυτό.

Επίσης θα ήθελα να ευχαριστήσω την υπεύθυνη καθηγήτρια που με υπομονή και διάθεση, στάθηκε δίπλα μου σε όλο αυτό το ταξίδι της μεταπτυχιακής διατριβής. Αντιλαμβανόμενη τη δυσκολία μου με το συγκεκριμένο αντικείμενο, με βοήθησε να μην εγκαταλείψω τις προσπάθειες και ήταν πάντα εκεί για μένα να με καθοδηγήσει και να μοιραστεί τις γνώσεις και τις επαγγελματικές της εμπειρίες, γεγονός που την καθιστά στα μάτια μου πρότυπο καθηγήτριας.

Τέλος, θα ήθελα να αφιερώσω την εργασία μου στον αγαπημένο μου νονό Απόστολο Τσιροπούλα, ο οποίος είμαι σίγουρη ότι θα ήταν πολύ περήφανος για μένα και θα με καμάρωνε. Οι αρχές και τα διδάγματα του, με διαμόρφωσαν σαν άνθρωπο και με καθοδήγησαν σε όλη την πορεία μου μέχρι στιγμής με στόχο να παλεύω για ένα καλύτερο μέλλον.

Με την άδειά μου, η παρούσα εργασία ελέγχθηκε από την Εξεταστική Επιτροπή μέσα από λογισμικό ανίχνευσης λογοκλοπής που διαθέτει το ΓΠΑ και διασταυρώθηκε η εγκυρότητα και η πρωτοτυπία της.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΠΕΡΙΛΗΨΗ	3
ABSTRACT	4
ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ	5
ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ	6
ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΕΙΚΟΝΩΝ	8
ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΓΡΑΦΗΜΑΤΩΝ	9
ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΠΙΝΑΚΩΝ	9
ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	10
1. Εισαγωγή.....	10
2. Καλλιέργεια και τεχνολογία παραγωγής ελαιόλαδου.....	11
2.1 Καλλιέργεια και ελληνικές ποικιλίες ελιάς με οικονομική σημασία	11
2.2 Στάδια ελαιοποίησης.....	12
2.3 Τεχνολογικά βοηθήματα στην ελαιοποίηση	14
2.3.1. Ταλκ.....	15
2.3.1.1 Αξιοποίηση του Ταλκ στην Παραγωγή Ελαιόλαδου - Επισκόπηση Εφαρμογών του	16
2.3.1.2 Ταλκ & ένζυμα	18
2.3.2 Χρήση του άλατος.....	18
2.4 Παραγωγή και κατανάλωση ελαιολάδου.....	20
3. Χημική Σύσταση Ελαιολάδου	23
3.1. Τριακυλογλυκερόλες (TAG)	23
3.2. Λιπαρά οξέα.....	24
3.3 Φωσφολιπίδια.....	26
3.4 Στερόλες.....	28
3.5 Τοκοφερόλες.....	29
3.6 Φαινολικές Ενώσεις	32
3.7 Καροτενοειδή	33
3.8 Σκουαλένιο	34
3.9 Αλειφατικές αλκοόλες	35
4. Γενικές Αρχές της υγρής χρωματογραφίας υψηλής επίδοσης	37

5. Πειραματικός Σχεδιασμός-Μεθοδολογία Επιφανειακής απόκρισης (Design Expert)..	39
ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	45
6.1 Σκοπός.....	45
6.2 Δείγματα μελέτης	45
6.2.1 Προσδιορισμός βαθμού ωριμότητας.....	45
6.3 Παράμετροι ελαιοποίησης.....	46
6.4 Προσδιορισμός Τοκοφερολών με υγρή χρωματογραφία	48
6.4.1 Πειραματική πορεία για την υγρή χρωματογραφία υψηλής επίδοσης	49
6.4.2 Υπολογισμοί.....	50
6.5 Στατιστικές μέθοδοι βελτιστοποίησης	51
7. Αποτελέσματα και Συζήτηση	52
7.1 Αποτελέσματα Προσδιορισμού α-τοκοφερόλης.....	52
7.2 Παράγοντες που επηρεάζουν την απόδοση σε ελαιόλαδο και την περιεκτικότητα σε α-τοκοφερόλη.....	55
7.4 Μεθοδολογία επιφανειακής απόκρισης -D optimal design	59
ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ	64
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	65

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΕΙΚΟΝΩΝ

- Εικόνα 2.1: Οι ποικιλίες της ελιάς στην Ελλάδα. Πηγή: (<https://myoliveplant.gr/>).....11
- Εικόνα 2.2: Micronized natural talc-CAS no. 14807-96-6. (Μοριακός τύπος: $3\text{MgO}\cdot 4\text{O}_2\text{Si}\cdot \text{H}_2\text{O}$) (Πηγή:https://www.chemicalbook.com/ProductChemicalPropertiesCB5853119_EN.htm).....16
- Εικόνα 2.3: Αριστερά: παραγωγή ελαιολάδου με χρήση ταλκ. Δεξιά: παραγωγή ελαιολάδου χωρίς τάλκ (Πηγή <https://theolivecentre.com/>).....20
- Εικόνα 3.1: Εικόνα 3.1: Μοριακή δομή τριακυλογλυκερολών, όπου παρουσιάζεται ο σκελετός της γλυκερόλης εστεροποιημένος με λιπαρά οξέα: στεατικό, ελαϊκό και λινελαϊκό. Πηγή: (McKenzie & Koch, 2004).....24
- Εικόνα 3.2: Δομικές απεικονίσεις των κύριων λιπαρών οξέων του ελαιολάδου - του ελαϊκού, του παλμιτικού, του στεατικού και του λινολεϊκού οξέος - και μια σχηματική απεικόνιση της σύνθεσης της τριακυλογλυκερόλης του ελαιολάδου. Πηγή: (Rotondo et al., 2020). Πηγή: (Rotondo et al., 2020)26
- Εικόνα 3.3: Η μοριακή δομή ενός γλυκεροφωσfolιπιδίου. όπου επισημαίνεται η υδρόφιλη κεφαλή με τα φωσφορικά άλατα και οι υδρόφοβες ουρές που αποτελούνται από λιπαρά οξέα. Πηγή: (Zahrabi et al., 2016).....28
- Εικόνα 3.4: Δομική απεικόνιση στερολών στο ελαιολάδο με έμφαση στη β-σιτοστερόλη και τα δομικά της ανάλογα, καταδεικνύοντας την ποικιλομορφία των μορίων στερολών. Πηγή: (Bajoub et al., 2014)29
- Εικόνα 3.5: Χημικές δομές των τοκοφερόλων και των τοκοτριενόλων (βιταμίνη E) Πηγή: (Ricciarelli et al., 2002)..... 30
- Εικόνα 3.6: Μοριακές δομές της ελαιοευρωπαϊνης, της υδροξυτυροσόλης και της τυροσόλης, βασικών φαινολικών ενώσεων που συμβάλλουν στο αντιοξειδωτικό προφίλ του ελαιολάδου. Πηγή: (Kritikou et al., 2020).....33
- Εικόνα 3.7: Χημικές δομές των καροτενοειδών που περιέχονται στο ελαιολάδο, συμπεριλαμβανομένου του λυκοπενίου, του β-καροτενίου, της β-κρυπτοξανθίνης, της λουτεΐνης και της ζεαξανθίνης Πηγή: (Mozos et al., 2018).....34
- Εικόνα 3.8: Μοριακή δομή του σκουαλένιου. Πηγή: https://www.researchgate.net/figure/Chemical-structure-of-squalene-SQ_fig1_327977928).....35
- Εικόνα 3.9: Δομές αλειφατικών αλκοολών στο ελαιολάδο, a) τετρακοζανόλη, b) εξακοζανόλη, c) οκτακοζανόλη, d) τριακοντανόλη. Πηγή: (Journal of Neuroimmune Pharmacology, 2023).....36
- Εικόνα 6.1: Δείγματα ελιών για προσδιορισμό βαθμού ωριμότητας. (Πηγή: Προσωπικό αρχείο).....46
- Εικόνα 6.2: Διήθηση κινητής φάσης στη συσκευή διήθησης κενού, Millipore (Πηγή: Προσωπικό αρχείο).....50

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΓΡΑΦΗΜΑΤΩΝ

Γράφημα 7.1: Διάγραμμα κανονικών πιθανοτήτων Residuals στη συγκέντρωση α-τοκοφερόλης.....	61
Γράφημα 7.2: Επίδραση της ποσότητας άλατος και νερού στη συγκέντρωση της α-τοκοφερόλης.....	62
Γράφημα 7.3: Διάγραμμα των τιμών επιθυμητότητας για την εκχύλιση της α-τοκοφερόλης από την ελαιόπαστα.....	63

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΣΧΗΜΑΤΩΝ

Σχήμα 7.1: Επιλογή Μοντέλου	60
-----------------------------------	----

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΠΙΝΑΚΩΝ

Πίνακας 2.1: Παγκόσμια παραγωγή ελαιολάδου από το 2018- 2022/23 (Πηγή: IOC).....	20
Πίνακας 2.2: Παγκόσμια κατανάλωση ελαιολάδου από το 2018-2022/23 (Πηγή: IOC)....	21
Πίνακας 6.1: Δείκτης ωριμότητας των ελιών (Πηγή: IOC)	45
Πίνακας 6.2: Πίνακας δειγμάτων	47
Πίνακας 6.3: Συνθήκες ανάλυσης με υγρή χρωματογραφία.....	49
Πίνακας 7.1: Συγκέντρωση α-τοκοφερόλης (mg/Kg ελαιολάδου) στα δείγματα ελαιολάδου	52
Πίνακας 7.2: D-optimal design δύο μεταβλητών και η τιμή της απόκρισης: συγκέντρωση της α-τοκοφερόλης σε mg/Kg ελαιολάδου.....	60
Πίνακας 7.3: Εκτίμηση της σημαντικότητας των παραμέτρων με ανάλυση ANOVA για την συγκέντρωση της α-τοκοφερόλης στο ελαιόλαδο.....	61
Πίνακας 7.4: Επιλογή των βελτιστοποιημένων παραγόντων	62
Πίνακας 7.5: Επιβεβαίωση του μοντέλου.....	63

ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

1. Εισαγωγή

Η *Olea europaea*, κοινώς γνωστή ως ελιά, είναι ένα δέντρο ευρέως διαδεδομένο στις μεσογειακές χώρες. Το ελαιόλαδο γίνεται όλο και πιο δημοφιλές λόγω των ιδιοτήτων του και των ευεργετικών επιδράσεων στην υγεία. Η προέλευσή του συνδέεται με τους πολιτισμούς και τις περιοχές της Μεσογείου που χαρακτηρίζονται από ήπιους, βροχερούς χειμώνες και ζεστά, ξηρά καλοκαίρια. Αν και χρησιμοποιούνται τεράστιες εκτάσεις γης για την καλλιέργειά της, καλλιεργείται πλέον σε όλες τις ηπείρους με εξαίρεση την Ανταρκτική. Ωστόσο, οι μεσογειακές χώρες, με επικεφαλής την Ισπανία, την Ιταλία και την Ελλάδα, παραμένουν οι κύριοι παραγωγοί ελαιολάδου. Ως αποτέλεσμα, στην Ευρωπαϊκή Ένωση παράγεται το 70% της παγκόσμιας παραγωγής ελιάς και η καλλιέργεια συνεισφέρει στην ανάπτυξη του αγροτοβιομηχανικού τομέα.

"Το τέλος της Μεσογείου είναι εκεί που η ελιά εγκαταλείπει. Το δέντρο του φωτός είναι η φύση και ο πολιτισμός της Μεσογείου".

Georges Duhamel

Το ελαιόλαδο αποτελεί σημαντικό μέρος της διατροφής που συνήθως αναφέρεται ως μεσογειακή διατροφή (MED). Η δίαιτα αυτή αποτελείται από έναν ισορροπημένο συνδυασμό χαμηλής πρόσληψης ζωικών πρωτεϊνών, υψηλής πρόσληψης φρούτων, λαχανικών, δημητριακών και ελαιολάδου ως κύρια πηγή λίπους σε πολλά τρόφιμα. Η μεσογειακή διατροφή συνδέεται γενικά με χαμηλότερα ποσοστά καρδιαγγειακών νοσημάτων (CVD) στις νότιες περιοχές της ΕΕ και με μεγαλύτερο προσδόκιμο ζωής από ότι στις βόρειες χώρες της ΕΕ και στις Ηνωμένες Πολιτείες της Αμερικής (ΗΠΑ). Μελέτες έχουν δείξει ότι οι ευεργετικές επιδράσεις της μεσογειακής διατροφής στην υγεία αποδίδονται κυρίως στο ελαιόλαδο (Cecilia Jiménez-López et al., 2020).

2. Καλλιέργεια και τεχνολογία παραγωγής ελαιόλαδου

2.1 Καλλιέργεια και ελληνικές ποικιλίες ελιάς με οικονομική σημασία

Η Ελλάδα αναγνωρίζεται ευρέως ως μια από τις χώρες με την υψηλότερη παραγωγή ελαιόλαδου παγκοσμίως. Διαθέτει ένα μεγάλο αριθμό από ποικιλίες ελιάς, μερικές από τις οποίες έχουν αποκτήσει σημαντική οικονομική σημασία και φημίζονται για την εξαιρετική τους ποιότητα. Αξιοσημείωτες ποικιλίες ελιάς όσον αφορά τις ετήσιες αποδόσεις περιλαμβάνουν την Κορωνέικη, την Καλαμών και την κονσερβόλια.

Με βάση στοιχεία του Υπουργείου Αγροτικής Ανάπτυξης, διαπιστώθηκε ότι η συνολική ποσότητα ελαιόκαρπων που καταγράφηκε για το έτος 2021 ανήλθε σε 1.163.062 τόνους. Μέσα σε αυτό το ποσό, οι 912.974 τόνοι προορίζονταν για ελαιοποίηση, ενώ οι υπόλοιποι 250.088 τόνοι για κατανάλωση ως βρώσιμες ελιές. (Υπουργείο αγροτικής ανάπτυξης, Στατιστικά Στοιχεία εκτάσεων και παραγωγής φυτικών προϊόντων, Πίνακες Δεδομένων από 2019 έως 2021)



Εικόνα 2.1.: Οι ποικιλίες της ελιάς στην Ελλάδα Πηγή: (<https://myoliveplant.gr/>)

Η κονσερβολιά ή αλλιώς Αμφίσσης, είναι μια ποικιλία ελιών που καλλιεργείται κυρίως στις περιοχές της Ηπείρου και της Θεσσαλίας. (myoliveplant: ημερομηνία ανάκτησης: 11/09/2023) Η συνολική παραγωγή για το έτος 2021 φτάνει τους 58.991 τόνους. (Υπουργείο αγροτικής ανάπτυξης, Στατιστικά Στοιχεία εκτάσεων και παραγωγής φυτικών προϊόντων, Πίνακες Δεδομένων από 2019 έως 2021). Για το έτος 2022, η παραγωγή

κυμάνθηκε από 90.000-110.000 τόνους, γεγονός που προκάλεσε αίσθηση για τη ραγδαία αύξησή της.

Οι ποικιλίες καλαμών και κορωνέικη, αποτελούν ίσως τις πιο σημαντικές αλλά και από τις πιο διαδεδομένες ποικιλίες ελληνικής καλλιέργειας όχι μόνο στον ελλαδικό χώρο αλλά και παγκοσμίως. Οι εκτάσεις τους τοποθετούνται κυρίως στην Πελοπόννησο και στην Κρήτη. (myoliveplant: ημερομηνία ανάκτησης: 11/09/2023) Η παραγωγή που καταγράφηκε για το έτος 2021 σε αυτές τις περιοχές ήταν στους 510.192 τόνους, γεγονός που τις τοποθετεί στην πρώτη θέση με την μεγαλύτερη οικονομική σημασία. (Υπουργείο αγροτικής ανάπτυξης, Στατιστικά Στοιχεία εκτάσεων και παραγωγής φυτικών προϊόντων, Πίνακες Δεδομένων από 2019 έως 2021) Για το έτος 2022, μόνο οι ελιές καλαμών είχαν φτάσει σε παραγωγή τις 160.000 τόνους.

Οι ελληνικές ποικιλίες ελιάς πέρα από την οικονομική τους σημασία, έχουν αναγνωρισθεί και βραβευθεί για τα ποιοτικά τους χαρακτηριστικά. Ο EVOO World Ranking αποτελεί έναν μη κερδοσκοπικό οργανισμό, ο οποίος δημιουργήθηκε με σκοπό να προωθήσει τα καλύτερα ποιοτικά εξαιρετικά παρθένα ελαιόλαδα σε παγκόσμια κλίμακα. Το 2021, ο οργανισμός αυτός αναγνώρισε 95 ελληνικά εξαιρετικά παρθένα ελαιόλαδα ως EVOOs Of The Year, με ένα από αυτά (κορωνέικης ποικιλίας) να λαμβάνει τη δεύτερη θέση στον πίνακα αξιολόγησης.(enooworldranking, ημερομηνία ανάκτησης:11/09/2023).

2.2 Στάδια ελαιοποίησης

Το ταξίδι του ελαιολάδου ξεκινά με την καλλιέργεια και τη συγκομιδή των ελιών. Η ποιότητα του ελαιολάδου επηρεάζεται σε μεγάλο βαθμό από τις περιβαλλοντικές συνθήκες, συμπεριλαμβανομένων του κλίματος, του εδάφους και της γεωγραφικής θέσης της καλλιέργειας. Η συγκομιδή είναι ένα κρίσιμο βήμα στη διαδικασία παραγωγής ελαιολάδου. Ο χρόνος συγκομιδής είναι κρίσιμος- συνήθως γίνεται όταν οι ελιές αρχίζουν να αλλάζουν χρώμα αλλά δεν είναι πλήρως ώριμες. Έτσι εξασφαλίζεται η τέλεια ισορροπία μεταξύ της ποσότητας του παραγόμενου ελαιολάδου και των οργανοληπτικών ιδιοτήτων του. Οι παραδοσιακές μέθοδοι περιλαμβάνουν συλλογή με το χέρι ή απαλό τσίναγμα των δέντρων για τη συλλογή των καρπών, ενώ οι σύγχρονες τεχνικές μπορεί να χρησιμοποιούν μηχανικά μέσα. Είναι σημαντικό οι καρποί να συλλέγονται με προσοχή για

να αποφεύγονται οι μώλωπες, οι οποίοι μπορούν να οδηγήσουν σε οξείδωση και υποβάθμιση της ποιότητας του ελαιολάδου (Papa & Ciano, 2022).

Μετά τη συγκομιδή, οι καρποί μεταφέρονται στο ελαιοτριβείο για επεξεργασία, ιδανικά εντός 24 ωρών. Η γρήγορη μεταφορά του καρπού είναι σημαντική για την αποφυγή της μικροβιακής αλλοίωσης και τη διατήρηση των εγγενών αρωμάτων των καρπών. Στο ελαιοτριβείο, οι ελιές υποβάλλονται σε καθαρισμό για την απομάκρυνση φύλλων, κλαδιών και άλλων υπολειμμάτων. Ο καθαρισμός εξασφαλίζει ότι επεξεργάζονται μόνο οι ελιές καλύτερης ποιότητας, συμβάλλοντας στην υψηλή ποιότητα του παραγόμενου λαδιού (Vossen, 2005)

Η παραγωγή ελαιολάδου αρχίζει με το άλεσμα ή τη σύνθλιψη των καρπών. Το στάδιο αυτό είναι ζωτικής σημασίας, καθώς δημιουργεί τις προϋποθέσεις για την εξαγωγή του λαδιού. Για το σκοπό αυτό χρησιμοποιούνται παραδοσιακοί πέτρινοι μύλοι ή σύγχρονοι μηχανικοί σπαστήρες. Ο στόχος είναι να διασπαστούν τα ελαιοκύτταρα του μεσοκαρπίου ώστε να απελευθερωθούν τα σταγονίδια λαδιού, δημιουργώντας μια πάστα. Η θερμοκρασία και η διάρκεια αυτής της διαδικασίας ελέγχονται προσεκτικά για να αποφευχθεί η υποβάθμιση της ποιότητας του ελαιολάδου από τη θερμότητα.

Η ψυχρή έκθλιψη, μια μέθοδος κατά την οποία η θερμοκρασία διατηρείται κάτω από ένα ορισμένο όριο, συχνά διαφημίζεται για την παραγωγή ελαιολάδου υψηλότερης ποιότητας (Espadas-Aldana et al., 2019).

Μετά την άλεση, η πάστα της ελιάς υποβάλλεται σε μάλαξη. Το στάδιο αυτό είναι απαραίτητο για να μπορέσουν τα μικροσκοπικά σταγονίδια ελαιολάδου να συνενωθούν σε μεγαλύτερα, καθιστώντας τη διαδικασία εκχύλισης πιο αποτελεσματική. Η υπερβολική ανάμιξη μπορεί να οδηγήσει σε οξείδωση και απώλεια ορισμένων αρωματικών ενώσεων (Espadas-Aldana et al., 2019).

Η επόμενη φάση περιλαμβάνει το διαχωρισμό του ελαίου από τον ελαιοπυρήνα και τα υγρά απόβλητα. Αυτό μπορεί να γίνει με την εφαρμογή πίεσης ή με φυγοκέντρηση. Κατά το διαχωρισμό με πίεση, η πάστα ελιάς απλώνεται σε ελαιοδιαφράγματα, τα οποία στοιβάζονται πάνω σε κινητή λεκάνη φόρτωσης που φέρει στο μέσο ένα διάτρητο κύλινδρο ο οποίος αποτελεί οδηγό για την ομοιόμορφη τοποθέτηση των διαφραγμάτων. Η κινητή λεκάνη με το φορτίο μεταφέρεται και τοποθετείται στο πιεστήριο όπου με την εφαρμογή υδραυλικής πίεσης πραγματοποιείται ο διαχωρισμός του ελαιολάδου. Ο διαχωρισμός με φυγοκέντρηση, πραγματοποιείται σε οριζόντιο κυλινδρικό τύμπανο

εξοπλισμένο με ατέρμονα κοχλία μεταφοράς της ελαιόπαστας (decanter), όπου χρησιμοποιείται η φυγόκεντρος δύναμη για να διαχωριστεί το ελαιόλαδο από τον ελαιοπυρήνα (στερεή φάση) και τα υγρά απόβλητα. Η επιλογή της μεθόδου επηρεάζει τα χαρακτηριστικά του ελαιολάδου, συμπεριλαμβανομένης της γεύσης και της υφής του (Termentzi et al., 2015).

Μετά το διαχωρισμό, το ελαιόλαδο τοποθετείται συνήθως σε δεξαμενές αποθήκευσης για περίπου 2 μήνες πριν από την εμφιάλωση ώστε να απαλλαγεί με καθίζηση από τις ξένες ύλες. Ορισμένοι παραγωγοί επιλέγουν το φιλτράρισμα για να επιτύχουν ένα καθαρότερο προϊόν, αν και το αφιλτράριστο λάδι, το οποίο διατηρεί περισσότερο τη φυσική του γεύση, είναι επίσης δημοφιλές (Termentzi et al., 2015).

Το ελαιόλαδο είναι ευαίσθητο στο φως, τη θερμότητα και το οξυγόνο, τα οποία μπορούν να επηρεάσουν την ποιότητά του. Ως εκ τούτου, αποθηκεύεται σε ανοξείδωτες δεξαμενές ή εμφιαλώνεται σε σκουρόχρωμες φιάλες υπό ελεγχόμενες συνθήκες. Η προσεκτική εμφιάλωση είναι απαραίτητη για τη διατήρηση της ποιότητας του μέχρι να φτάσει στον καταναλωτή (Termentzi et al., 2015).

2.3 Τεχνολογικά βοηθήματα στην ελαιοποίηση

Κατά τη διάρκεια της άλεσης ή/και της μάλαξης της ελαιόπαστας, ένα σημαντικό μέρος του ελαιολάδου μπορεί να δημιουργήσει γαλακτώματα με τα στερεά απόβλητα. Σε αυτή την περίπτωση, δεν μπορεί να διαχωριστεί με τη φυγοκέντρωση, μειώνοντας έτσι την απόδοση σε ελαιόλαδο. Για να σπάσει αυτό το γαλάκτωμα, έχουν αναπτυχθεί επιτυχώς στρατηγικές χρησιμοποιώντας έναν συνδυασμό ενζύμων που αποικοδομούν την πηκτίνη, την κυτταρίνη και την ημικυτταρίνη ή αποικοδομούν τα κολλοειδή (πηκτίνες, ημικυτταρίνες κλπ) και βελτιώνουν την απόδοση σε ελαιόλαδο.

Ωστόσο, το ελαιόλαδο που λαμβάνεται με τη χρήση βοηθημάτων με χημική ή βιοχημική δράση στην πάστα ελιάς δεν μπορούσε να ταξινομηθεί στην κατηγορία του παρθένου ελαιολάδου, σύμφωνα με το κανονισμό της ΕΕ (2568/91)(Sergio Cruz et al. 2006). Πρόσφατα καταργήθηκε ο Κανονισμός 2568/91 και αντικαταστάθηκε από τον Κατ' εξουσιοδότηση Κανονισμό (ΕΕ) 2022/2104 και από τον Εκτελεστικό Κανονισμό (ΕΕ) 2022/2105, στους οποίους περιγράφεται η συμμόρφωση των προτύπων εμπορίας και των μεθόδων ανάλυσης των χαρακτηριστικών των ελαιολάδων με αυτά που προτείνει το Διεθνές Συμβούλιο Ελαιοκομίας (ΔΣΕ) (COI/OH/Doc. No 1).

Σύμφωνα με το ΔΣΕ για την μείωση ή την αποφυγή σχηματισμού γαλακτώματος χωρίς να επηρεάζονται τα χαρακτηριστικά του ελαιολάδου χρησιμοποιείται μικροταλκ ως βοήθημα επεξεργασίας κατά την έναρξη της μάλαξης σύμφωνα με τους ισχύοντες νόμους και κανονισμούς της κάθε χώρας. Συνήθως η δόση προσαρμόζεται από 0,5 έως 3,0% ανάλογα με την περιεκτικότητα σε υγρασία και τα χαρακτηριστικά των καρπών. Τα μέχρι στιγμής αποτελέσματα καταδεικνύουν ότι η χρήση ταλκ εξυπηρετεί την παραγωγική διαδικασία, βοηθά σε μεγάλο βαθμό στη διόρθωση των προβλημάτων επεξεργασίας ιδιαίτερα των πολύ ώριμων καρπών, στην αύξηση της απόδοσης σε ελαιόλαδο και στον έλεγχο παραγωγής ελαιοπυρήνα και υγρών αποβλήτων.

Επιπλέον στη βιβλιογραφία αναφέρεται και η χρήση άλατος (NaCl) για τη βελτίωση της εκχύλισης ελαιολάδου από την πάστα της ελιάς (Sergio Cruz et al. 2006).

2.3.1. Ταλκ

Η χρήση ταλκ έχει εγκριθεί από τον Ευρωπαϊκό Κανονισμό από το 1986, αποκλειστικά για σκοπούς διατροφής, υπό την προϋπόθεση ότι δεν παρατηρούνται αλλαγές στις φυσικές και οργανοληπτικές ιδιότητες του ελαιολάδου, έχει εγκριθεί και ρυθμίζεται από το Ισπανικό Υπουργείο Υγείας. Ο τρέχων κανονισμός της Ευρωπαϊκής Ένωσης επιτρέπει μέγιστη συγκέντρωση 6% κατά βάρος φυσικού μικροταλκ. (Sebastián Sánchez et al. 2022)

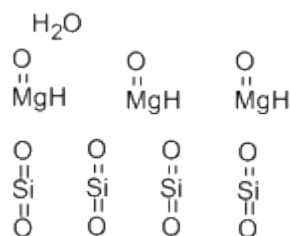
Ο ρόλος του ταλκ συνδέεται με την αύξηση της απόδοσης σε λάδι, ιδίως όταν η διαδικασία εκχύλισης πραγματοποιείται σε "δύσκολες ελαιόπαστες", που προκύπτουν συνήθως από υπεραρδευόμενους ή/και υπερώριμους καρπούς. Το ταλκ μπορεί να επηρεάσει την υγρασία της πάστας ελιάς κατά τη διάρκεια της εκχύλισης και να προωθήσει τη διάσπαση γαλακτωμάτων τύπου λάδι - σε - νερό. Η ποσότητα μικροταλκ στην πάστα ελιάς κατά τη διαδικασία της μάλαξης σε ποσοστό περίπου 1% αποβάλλεται κατά τη διάρκεια φυγοκέντρησης μαζί με τα στερεά απόβλητα. Με αυτήν την επέμβαση επιτυγχάνεται η αποφυγή δημιουργίας γαλακτώματος με αποτέλεσμα την υψηλότερη απόδοση ελαιολάδου, η οποία κατά μέσο όρο φτάνει το 3% και την χαμηλότερη περιεκτικότητα σε νερό και αιωρούμενα στερεά (Antonia Tamborrino et al. 2023).

Η προσθήκη μικροταλκ ευνοεί τη διάσπαση γαλακτωμάτων λάδι-σε-νερό, διευκολύνοντας την εκχύλιση των σταγονιδίων ελαίου από το μεσοκάρπιο με

αποτέλεσμα να μειώνονται οι απώλειες στα στερεά απόβλητα και να αυξάνεται η απόδοση σε ελαιόλαδο. Η επίδραση του μικροταλκ στο στάδιο της μάλαξης εξηγείται καθώς η παρουσία του μειώνει τη δράση των πηκτινών και των πρωτεϊνών που είναι υπεύθυνες για τον σχηματισμό γαλακτωμάτων λάδι-σε-νερό σε αυτό το στάδιο. Υπερβολική προσθήκη μικροταλκ έχει αρνητικά αποτελέσματα κυρίως στην απώλεια γευστικών χαρακτηριστικών (Sebastián Sánchez et al. 2022).

2.3.1.1 Αξιοποίηση του Ταλκ στην Παραγωγή Ελαιόλαδου - Επισκόπηση Εφαρμογών του

Στον τομέα της παραγωγής ελαιολάδου, η προσθήκη ταλκ, ενός ορυκτού που απαντάται στη φύση, έχει συγκεντρώσει σημαντική προσοχή λόγω της δυνατότητάς του να βελτιώσει την αποτελεσματικότητα και την ποιότητα της εκχύλισης του ελαιόλαδου. Ο όρος ταλκ, χρησιμοποιείται για να περιγράψει το ένυδρο πυριτικό μαγνήσιο, παρουσιάζει αξιοσημείωτες ιδιότητες που το καθιστούν πολύτιμο σε διάφορες βιομηχανικές και καλλυντικές εφαρμογές. Το παρόν δοκίμιο εμβαθύνει στους δύο κύριους τύπους ταλκ - βιομηχανικό και καλλυντικό - και διευκρινίζει τα διακριτά χαρακτηριστικά και τους ρόλους τους στην έρευνα και την παραγωγή ελαιολάδου.



Εικόνα 2.2: Micronized natural talc -CAS no. 14807-96-6. (Μοριακός τύπος: 3MgO.4O₂Si.H₂O) (Πηγή: https://www.chemicalbook.com/ProductChemicalPropertiesCB5853119_EN.htm)

Το βιομηχανικό ταλκ διακρίνεται για τις ισχυρές φυσικές του ιδιότητες, συμπεριλαμβανομένης της αντοχής του στη θερμότητα, τον ηλεκτρισμό και τα οξέα. Οι ιδιότητες αυτές το καθιστούν απαραίτητο συστατικό για την κατασκευή ποικίλων προϊόντων, από κεραμικά και χρώματα έως πλαστικά και καουτσούκ (Claverie et al., 2018). Η σύνθεση του βιομηχανικού ταλκ, που συχνά διαθέτει προσμίξεις όπως πυριτικά άλατα σιδήρου, ασβεστίου και αργιλίου, δεν μειώνει σημαντικά τη λειτουργική του χρησιμότητα στις εν λόγω εφαρμογές.

Αντίθετα, το ταλκ καλλυντικού βαθμού υποβάλλεται σε διαδικασίες εξευγενισμού και καθαρισμού. Η διαδικασία καθαρισμού εξαλείφει αποτελεσματικά τις ακαθαρσίες, συμπεριλαμβανομένου του αμιάντου, ενός γνωστού κινδύνου για την υγεία. Η παραγωγή ταλκ καλλυντικού βαθμού θέτει ως προτεραιότητα τη διατήρηση υψηλού επιπέδου καθαρότητας και την επίτευξη λεπτού, ομοιόμορφου μεγέθους σωματιδίων, το οποίο προσδίδει ομαλή υφή και ημιδιαφανή εμφάνιση στα καλλυντικά προϊόντα. Επιπλέον, αυτή η κατηγορία ταλκ υπόκειται σε αυστηρά μέτρα ποιοτικού ελέγχου και ρυθμιστικά πρότυπα για να εγγυηθεί την ασφάλειά του για ανθρώπινη χρήση (Liu et al., 2014).

Στο πλαίσιο της παραγωγής ελαιολάδου, η χρήση ταλκ, ιδίως βιομηχανικού βαθμού, βελτιώνει τη διαδικασία εκχύλισης ελαιολάδου. Οι φυσικές ιδιότητες που διαθέτει, όπως η ικανότητα απορρόφησης της υγρασίας και η χημική αδράνειά του, το καθιστούν ιδανικό για τη βελτίωση της αποτελεσματικότητας της εκχύλισης ελαιολάδου (Caronío et al., 2016). Μελέτες έχουν δείξει ότι η προσθήκη ταλκ σε πάστα ελιάς κατά τη διαδικασία της μάλαξης μπορεί να διευκολύνει την απελευθέρωση του ελαίου από τα κύτταρα του καρπού, αυξάνοντας έτσι την απόδοση. Η δράση αυτή αποδίδεται στην ικανότητα του ταλκ να απορροφά υγρασία και να μειώνει το ιξώδες της πάστας ελιάς, διευκολύνοντας τη συνένωση και το διαχωρισμό των σταγονιδίων ελαίου από τα στερεά και υδαρή συστατικά (Martinez et al., 2020).

Στην πρόσφατη βιβλιογραφία αναφέρεται ότι η προσθήκη τάλκ έχει ως αποτέλεσμα την αύξηση της βιομηχανικής απόδοσης (σχήμα 2.3.1.2) και της συγκέντρωσης σε φαινολικά συστατικά με συνέπεια τη βελτιωμένη σταθερότητα των παραγόμενων ελαιολάδων. Σε κάποιες περιπτώσεις διαπιστώθηκε μείωση του αριθμού υπεροξειδίων και του συντελεστή απόσβεσης K270 (Carrariso 2013), ενώ καμία επίδραση δεν διαπιστώθηκε στο πτητικό κλάσμα και στη γενετική ομοιογένεια των ελαιολάδων (χρήσιμο για τα PDO) (Caronío et al., 2016) . Η χρήση ταλκ, επομένως, όχι μόνο ενισχύει την ποσότητα του εκχυλισμένου ελαιολάδου, αλλά συμβάλλει επίσης στη διατήρηση των θρεπτικών και οργανοληπτικών ιδιοτήτων του (Garcia et al., 2019).

Παρά τα πλεονεκτήματα, η εφαρμογή του ταλκ στην παραγωγή ελαιολάδου απαιτεί προσεκτική εξέταση της πηγής προέλευσής του και της καθαρότητάς του. Η επιλογή ταλκ με τις κατάλληλες φυσικές και χημικές ιδιότητες είναι ζωτικής σημασίας για τη διασφάλιση της αποτελεσματικότητας και της ασφάλειάς του στη διαδικασία εκχύλισης ελαιολάδου.

Εν κατακλείδι, η διερεύνηση της χρησιμότητας του ταλκ στην παραγωγή ελαιολάδου αποτελεί μια πολλά υποσχόμενη οδό για τη βελτίωση τόσο της αποτελεσματικότητας όσο και της ποιότητας της εκχύλισης του ελαιολάδου. Η διάκριση μεταξύ βιομηχανικού και καλλυντικού ταλκ είναι υψίστης σημασίας, με το βιομηχανικό ταλκ να παρουσιάζει μεγαλύτερη σημασία και δυνατότητα εφαρμογής στον τομέα αυτό. Η συνέχιση της έρευνας στον τομέα αυτό είναι απαραίτητη για την πλήρη αξιοποίηση των δυνατοτήτων του ταλκ και τη βελτιστοποίηση της χρήσης του στην παραγωγή ελαιολάδου, συμβάλλοντας έτσι στην πρόοδο των τεχνολογιών επεξεργασίας γεωργικών προϊόντων και τροφίμων.

2.3.1.2 Ταλκ & ένζυμα

Η χρήση τεχνολογικών βοηθημάτων σε συνδυασμό με ένζυμα στην αρχή της μάλαξης έδειξε σημαντική επίδραση όχι μόνο στην αύξηση της απόδοσης ελαίου αλλά και στη συγκέντρωση των φαινολικών συστατικών στο τελικό προϊόν. Η συνδυασμένη χρήση ενζύμων (πηκτινάση, πηκτινομεθυλεστεράση και πολυγαλακτουρονάση) και ταλκ, εκτός από την αύξηση στην απόδοση, επέφερε υψηλότερη περιεκτικότητα σε σεκοϊριδοειδή - παράγωγα που χαρακτηρίζονται από υψηλή αντιοξειδωτική δράση. Το αποτέλεσμα αυτό οφείλεται στην ταυτόχρονη δράση διεργασιών υδρόλυσης που διευκόλυναν την αποικοδόμηση του κυτταρικού τοιχώματος, προώθησαν τη διαλυτοποίηση των φαινολικών συστατικών στη φάση του ελαίου, ενίσχυσαν τη διάλυση των γαλακτωμάτων τύπου λάδι - σε - νερό και βελτίωσαν το διαχωρισμό του ελαιολάδου [(Antonia Tamborrino et al. 2023),(Giacomo Squeo et al. 2020)]

2.3.2 Χρήση του άλατος

Το κοινό αλάτι (χλωριούχο νάτριο), είναι ένα φυσικό προϊόν, σπάει τα γαλακτώματα και γι' αυτό το λόγο έχει μελετηθεί η χρήση του ως τεχνολογικό βοήθημα στην παραλαβή ελαιολάδου. Η δράση του, βασίζεται στην άπωση μεταξύ του λαδιού και της υδρόφιλης φάσης λόγω του αυξημένου ιοντικού φορτίου και της πυκνότητάς του. Συνεπώς θα μπορούσε να φανεί πολύ χρήσιμο στην εξαγωγή του ελαιολάδου από τις «δύσκολες πάστες». Κατά το παρελθόν, οι ελιές αποθηκεύονταν χρησιμοποιώντας άλμη για την αποφυγή της ταχείας αλλοίωσης του καρπού, καθώς δεν μπορούσαν να οδηγηθούν για επεξεργασία αμέσως μετά τη συγκομιδή. Η ποιότητα του ελαιολάδου που λαμβάνεται

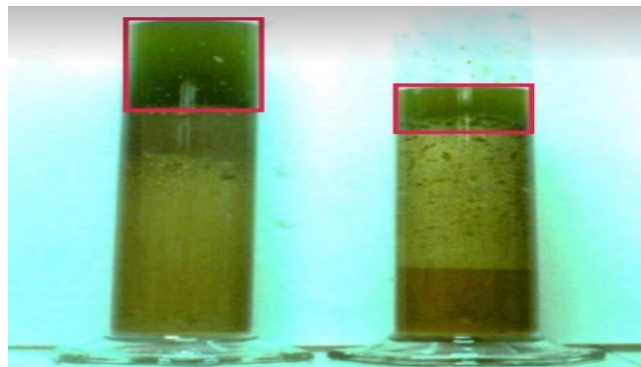
από καρπούς ελιάς που είχαν προηγουμένως αποθηκευτεί σε άλμη δεν αμφισβητήθηκε ποτέ. Το χλωριούχο νάτριο δεν αναπτύσσει καμία χημική ή βιοχημική δραστηριότητα στην πάστα ελιάς κατά το στάδιο της εξαγωγής ελαιολάδου. Στη συνέχεια, το αλάτι που χρησιμοποιείται αποβάλλεται στα στερεά απόβλητα όταν η ελαιοποίηση γίνεται σε διφασικό σύστημα ή στα υγρά απόβλητα όταν χρησιμοποιείται το τριφασικό σύστημα. Και στα δύο συστήματα το τελευταίο βήμα συνίσταται στην πλύση του ελαιολάδου με ζεστό νερό, το οποίο στη συνέχεια απομακρύνεται με μια δεύτερη φυγοκέντρηση. Κατά συνέπεια, το αλάτι που πιθανώς περιέχεται σε αυτό το στάδιο απομακρύνεται πλήρως με την υδατική φάση (Sergio Cruz et al. 2006).

Η χρήση κοινού αλατιού σε συγκέντρωση 2,5% σε συνδυασμό με τη χρήση ταλκ (1,2%) βελτίωσε σημαντικά την εξαγωγή λαδιού από ώριμες-πράσινες ελιές. Η αύξηση του ηλεκτροστατικού φορτίου και της πυκνότητας της υδρόφιλης φάσης της πάστας από την παρουσία NaCl βοήθησε συνεργιστικά τη δράση του ταλκ στη μείωση του γαλακτώματος. Γενικά, ενώ οι τιμές της ογκομετρούμενης οξύτητας δεν επηρεάστηκαν σημαντικά από τη χρήση NaCl, οι παράμετροι που μετρούν το επίπεδο οξείδωσης του ελαιολάδου (τιμή υπεροξειδίου και απορρόφηση υπεριώδους ακτινοβολίας) αυξήθηκαν σαφώς με την προσθήκη υψηλότερης συγκέντρωσης NaCl κατά τη μάλαξη της πάστας. Παρόλα αυτά, η οξειδωτική σταθερότητα (αντίσταση στην οξείδωση με τη μέθοδο Rancimat) ήταν σημαντικά υψηλότερη στα έλαια που ελήφθησαν με χρήση NaCl (Ana G. Perez et al. 2008).

Στην έρευνα των Ana G. Perez et al.,(2008) το ολικό φαινολικό περιεχόμενο και η συγκέντρωση των παράγωγων ο-διφαινολών και σεκοϊριδοειδών, αυξήθηκαν αναλογικά σε ελαιόλαδα ποικιλίας Piqual που ελήφθησαν μετά την προσθήκη NaCl. Οι ερευνητές διαπίστωσαν ότι η προσθήκη 2,5% NaCl κατά τη διάρκεια της μάλαξης οδήγησε σε αύξηση της συγκέντρωσης της αλδεϋδικής μορφή της αγλυκόνης της ελαιοευρωπαϊνης (AGO -Aldehydic form of oleuropein aglycone) στο διπλάσιο. Επιπλέον, η περιεκτικότητα των φλαβονών (απιγενίνη και λουτεολίνη) συσχετίστηκε θετικά με την παρουσία NaCl, παρουσιάζοντας μέγιστη τιμή, όταν η συγκέντρωση του άλατος ήταν 2,5%. Η σημαντική αύξηση της συγκέντρωσης των ο-διφαινολών παρουσία NaCl συσχετίστηκε θετικά με την αύξηση της οξειδωτικής σταθερότητας του ελαίου. Αντίθετα αύξηση της συγκέντρωσης αλατιού μείωσε πολύ τη διαλυτότητα των φαινολικών ενώσεων όπως

των: γαλλικό, πρωτοκατεχουικό, βανιλικό οξύ και βανιλίνη, στο νερό πιθανώς λόγω μεταβολής των συντελεστών κατανομής αυτών των ενώσεων μεταξύ της υδατικής και της ελαιώδους φάσης κατά τη μάλαξη.

Γενικά, η χρήση του άλατος αυξάνει την περιεκτικότητα του ελαιολάδου τόσο σε καροτένια (λουτεΐνη και β-καροτένιο) όσο και σε χλωροφύλλες (α και β). Η αύξηση της συγκέντρωσης χρωστικών στο ελαιόλαδο από την προσθήκη NaCl θα μπορούσε να εξηγηθεί από τα ακόλουθα. Υψηλή συγκέντρωση άλατος θα μπορούσε ενδεχομένως να ευνοεί την απελευθέρωση χρωστικών από τους χλωροπλάστες και/ή τον χρωμοπλάστη με ένα πιο αποτελεσματικό σπάσιμο των μεμβρανών τους, και δεύτερον, μια αύξηση στη συγκέντρωση NaCl θα μπορούσε να προκαλέσει την αναστολή ενζύμων, όπως η χλωροφυλλάση ή η λυποξυγενάση, η δράση των οποίων έχει συσχετιστεί με καταστροφή των χρωστικών κατά την επεξεργασία της ελιάς. Είναι σημαντικό να επισημανθεί ότι η παρατηρούμενη αύξηση της συγκέντρωσης των χρωστικών επηρεάζει όχι μόνο το χρώμα του ελαιολάδου αλλά και τις θρεπτικές του ιδιότητες, καθώς τα ελαιόλαδα που λαμβάνονται με NaCl ως τεχνολογικό βοήθημα έχουν διπλάσια ποσότητα λουτεΐνης και β-καροτενίου, γνωστά ως ενώσεις που προάγουν την υγεία. (Ana G. Perez et al. 2008).



Εικόνα 2.3: Αριστερά: παραγωγή ελαιολάδου με χρήση ταλκ. Δεξιά: παραγωγή ελαιόλαδου χωρίς τάλκ (Πηγή <https://theolivecentre.com/product/Talcoil-Micronised-Mineral-Talc#productDetailTab1>)

2.4 Παραγωγή και κατανάλωση ελαιολάδου

Στον ακόλουθο πίνακα του IOC, παρουσιάζονται χώρες με την υψηλότερη παραγωγή ελαιολάδου, με την Ελλάδα να βρίσκεται στη δεύτερη θέση μετά την Ισπανία και σε παγκόσμια θέση, να καταλαμβάνει την τρίτη θέση. Παρόλες τις διακυμάνσεις στις ετήσιες αποδόσεις της χώρας μας, ο μέσος όρος παραγωγής είναι 44.8% και σε παγκόσμιο επίπεδο το 12.8%

Πίνακας 2.1.: Παγκόσμια παραγωγή ελαιολάδου από το 2018- 2022/23 (Πηγή:ΙΟΚ)

Παραγωγή (×1000t)	2018/1 9	2019/2 0	2020/2 1	2021/2 2	Μέσος όρος	2022/2 3	%Μέσο ς όρος	%Παγκοσμί ως
Παγκόσμια	3304	3269	3020	3398	3248	2730	-15.9%	100.0 %
Ε.Ε.	2264	1920	2051	2272	2127	1505	-46.2%	91.6%
Ισπανία	1790	1125	1389	1491	1449	780	-46.2%	28.6%
Ελλάδα	185	275	275	232	242	350	44.8%	12.8%
Ιταλία	174	366	274	329	286	235	-17.7%	8.6%
Πορτογαλία	100	140	100	206	137	125	-8.6%	4.6%
Υπόλοιπο Ε.Ε.	15	13	14	13	14	15	9.5%	0.5%
Τουρκία	194	230	194	235	213	380	78.4%	13.9%
Μαρόκο	200	145	160	200	176	156	-11.5%	5.7%
Τυνησία	140	440	140	240	240	180	-25.0%	6.6%
Αλγερία	97	126	70	91	96	81	-15.7%	3.0%
Αίγυπτος	41	40	38	20	35	40	15.1%	1.5%
Αργεντινή	28	30	30	33	30	28	-7.4%	1.0%
Συρία	154	118	143	106	130	134	3.4%	4.9%
Χιλή	18	22	26	21	22	22	2.9%	0.8%
Αυστραλία	20	8	23	20	18	24	35.2%	0.9%
Η.Π.Α.	16	16	16	16	16	15	-5.5%	0.5%

Με βάση τα δεδομένα που λαμβάνουμε από τον πίνακα του ΙΟΚ αναφορικά με την παγκόσμια κατανάλωση ελαιολάδου, παρατηρούμε ότι παρόλο που η Ελλάδα είναι μια χώρα με μεγάλη παραγωγή ελαιολάδου, δεν συμβαίνει το ίδιο και με την κατανάλωση του. Σε παγκόσμια κλίμακα, η κατανάλωση φτάνει μόλις το 3.6%, γεγονός που μπορεί να προβληματίσει, αφού θα περιμέναμε μια χώρα που έχει ως πρότυπο τη Μεσογειακή διατροφή να έχει υψηλότερη κατανάλωση ελαιολάδου.

Πίνακας 2.2.: Παγκόσμια κατανάλωση ελαιόλαδου από το 2018-2022/23 (Πηγή:ΙΟΟ)

Κατανάλωση (×1000t)	2018/1 9	2019/2 0	2020/2 1	2021/2 2	Μέσος όρος	2022/23	%Μέσος όρος	%Παγκο σμίως
Παγκόσμια	3093	3269	3174	3240	3194	3055	-4.3%	100.0%
Ε.Ε.	1491	1520	1475	1551	1509	1412	-6.5%	46.2%
Ισπανία	526	519	541	587	543	425	-21.8%	13.9%
Ιταλία	417	408	419	482	431	486	12.8%	15.9%
Γαλλία	137	130	140	128	134	122	-8.8%	4.0%
Ελλάδα	120	114	110	106	113	110	-2.4%	3.6%
Γερμανία	63	76	83	68	72	88	21.6%	2.9%
Πορτογαλία	54	72	60	63	62	61	-2.0%	2.0%
Υπόλοιπο Ε.Ε.	174	203	122	116	154	119	-22.4%	3.9%
Τουρκία	163	170	150	170	163	179	9.6%	5.9%
Μαρόκο	150	140	140	150	145	145	0.0%	4.7%
Αλγερία	92	115	80	92	95	87	-8.2%	2.8%
Αίγυπτος	45	43	42	23	38	40	4.6%	1.3%
Τυνησία	40	38	30	30	34	30	-13.0%	1.0%
Ισραήλ	25	28	25	24	26	28	9.8%	0.9%
Ιορδανία	21	34	20	21	24	22	-7.9%	0.7%
Η.Π.Α.	351	402	389	395	384	381	-0.9%	12.5%
Συρία	136	104	124	90	114	110	-2.8%	3.6%
Βραζιλία	86	104	106	100	99	85	-14.4%	2.8%
Ιαπωνία	69	70	59	62	65	57	-12.3%	1.9%
Καναδάς	46	58	58	54	54	50	-7.2%	1.6%
Αυστραλία	50	42	56	50	50	52	5.8%	1.7%
Κίνα	52	58	53	58	55	51	-7.1%	1.7%
Σαουδική Αραβία	38	42	33	34	36	36	-2.4%	1.2%
Ρωσία	24	27	32	20	26	18	-30.1%	0.6%
Μεξικό	15	17	19	18	17	12	-28.1%	0.4%
Ελβετία	15	18	18	18	17	18	2.2%	0.6%
Χιλή	9	8	14	8	10	10	-3.8%	0.3%

3. Χημική Σύσταση Ελαιολάδου

Η χημική σύσταση του ελαιολάδου έχει μεγάλη σημασία, όχι μόνο για τους επιστήμονες τροφίμων και τους διατροφολόγους, αλλά και για τους καταναλωτές και τους παραγωγούς, λόγω των επιπτώσεών της στην υγεία, στην χρήση κατά το μαγείρεμα και στην οργανοληπτική εκτίμηση. Το ελαιόλαδο αποτελείται κυρίως από τριακυλογλυκερόλες, οι οποίες αντιπροσωπεύουν περίπου το 99% της σύνθεσής του. Πρόκειται για εστέρες της γλυκερόλης με τρία λιπαρά οξέα, οι οποίοι συμβάλλουν στη σταθερότητα και τις φυσικές ιδιότητες του ελαιολάδου (Boskou, 2006).

Το ελαιόλαδο επιπλέον περιέχει ελεύθερα λιπαρά οξέα και μονο- και διακυλογλυκερόλες. Οι ενώσεις αυτές είναι παρούσες σε μικρότερες ποσότητες, αλλά παίζουν σημαντικό ρόλο στη γεύση και την ποιότητα του λαδιού. Μπορούν να επηρεάσουν τη διάρκεια ζωής και παρέχουν επίσης ενδείξεις για τις διαδικασίες εκχύλισης και χειρισμού του ελαιολάδου (Paiva-Martins & Kiritsakis, 2017).

Στη χημική σύσταση του ελαιολάδου περιλαμβάνονται επίσης υδρογονάνθρακες όπως το σκουαλένιο, στερόλες, που χρησιμεύουν ως δείκτες γνησιότητας και επηρεάζουν τη σταθερότητα του λαδιού, αλειφατικές αλκοόλες, τοκοφερόλες, (βιταμίνη E) με αντιοξειδωτικές ιδιότητες, και χρωστικές ενώσεις όπως οι χλωροφύλλες και τα καροτενοειδή, που δίνουν στο λάδι το χαρακτηριστικό του χρώμα (Inglese et al., 2011).

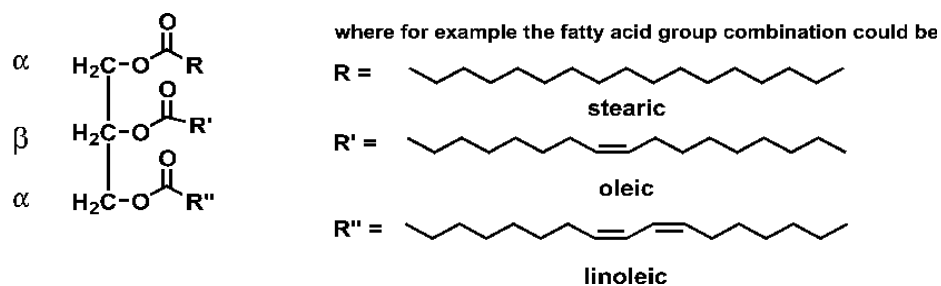
Η χημική σύνθεση του ελαιολάδου συμπληρώνεται από ένα σύνολο φαινολικών ενώσεων. Αυτές οι ενώσεις είναι ζωτικής σημασίας λόγω των αντιοξειδωτικών, αντιφλεγμονωδών και δυνητικών επιδράσεών τους στην υγεία. Συμβάλλουν επίσης στη γεύση του πικρού και του πικάντικου που αποτελούν θετικά οργανοληπτικά χαρακτηριστικά των εξαιρετικών παρθένων ελαιολάδων υψηλής ποιότητας (León et al., 2011).

3.1. Τριακυλογλυκερόλες (TAG)

Τα TAG είναι εστέρες που προέρχονται από τη γλυκερόλη και τρία λιπαρά οξέα. Όπως φαίνεται στην εικόνα 3.1, το μόριο της γλυκερόλης χρησιμεύει ως ραχοκοκαλιά, (πρόκειται για μια τριυδροξυαλκοόλη) όπου κάθε μία από τις τρεις ομάδες υδροξυλίου (-OH) είναι εστεροποιημένη με ένα λιπαρό οξύ. Η δομή απεικονίζει μια γενική μορφή όπου τα R, R' και R'' αντιπροσωπεύουν αλυσίδες λιπαρών οξέων που ποικίλλουν σε μήκος και

βαθμό ακορεστότητας. Οι θέσεις άλφα (α) και βήτα (β) στον κορμό της γλυκερόλης υποδεικνύουν τους συγκεκριμένους άνθρακες στους οποίους συνδέονται τα λιπαρά οξέα (McKenzie & Koch, 2004).

Η χημική σύνθεση του ελαιολάδου είναι πολύπλοκη, με τα TAG να αποτελούν το μεγαλύτερο μέρος της δομής του. Η φύση των λιπαρών οξέων που συνδέονται με τον σκελετό της γλυκερόλης -κορεσμένα, μονοακόρεστα και πολυακόρεστα- καθορίζει σε μεγάλο βαθμό τα χαρακτηριστικά και τη σταθερότητα του ελαιόλαδου. (Boskou, 2006).



Εικόνα 3.1: Μοριακή δομή τριακυλογλυκερολών, όπου παρουσιάζεται ο σκελετός της γλυκερόλης εστεροποιημένος με λιπαρά οξέα: στεατικό, ελαιικό και λινελαϊκό. Πηγή: (McKenzie & Koch, 2004).

3.2. Λιπαρά οξέα

Το ελαιικό οξύ (C18:1), το κυρίαρχο λιπαρό οξύ στο ελαιόλαδο. Είναι ένα μονοακόρεστο ωμέγα-9 λιπαρό οξύ που χαρακτηρίζεται από έναν μονό διπλό δεσμό που βρίσκεται στη θέση δέλτα-9, όπως υποδεικνύεται από την καμπύλη γραμμή μεταξύ των ανθράκων 9 και 10 στην υδρογονοανθρακική αλυσίδα (Εικόνα 3.2). Αυτή η *cis* διαμόρφωση εισάγει μια κάμψη που εμποδίζει τα μόρια του λιπαρού οξέος να συσσωρευτούν στενά μεταξύ τους, καθιστώντας κατά συνέπεια το ελαιόλαδο υγρό σε θερμοκρασία δωματίου (Ninni, 1999). Το παλμιτικό οξύ (C16:0), ένα κορεσμένο λιπαρό οξύ, που αποτελείται από 16 άτομα άνθρακα χωρίς διπλούς δεσμούς. Αυτή η δομική ιδιότητα επιτρέπει τη στενότερη μοριακή συναρμογή, αυξάνοντας έτσι το σημείο τήξης. Το παλμιτικό οξύ συμβάλει στην πήξη του ελαιόλαδου σε χαμηλότερες θερμοκρασίες και παίζει ρόλο στη υφή του (Rotondo et al., 2020).

Το στεατικό οξύ (C18:0), ένα άλλο κορεσμένο λιπαρό οξύ που υπάρχει στο ελαιόλαδο, παρουσιάζει παρόμοια δομική ακαμψία με το παλμιτικό οξύ λόγω της έλλειψης διπλών δεσμών. Η μακρύτερη αλυσίδα του, ωστόσο, συνεπάγεται υψηλότερο σημείο τήξης, το οποίο μπορεί να επηρεάσει τη θερμική συμπεριφορά και τη σταθερότητα του ελαιόλαδου σε διάφορες συνθήκες αποθήκευσης (Mailer, 2005).

Το λινελαϊκό οξύ (C18:2), ένα πολυακόρεστο ωμέγα-6 λιπαρό οξύ, περιέχει δύο διπλούς δεσμούς, εισάγοντας πρόσθετες κάμψεις στο μόριο, όπως απεικονίζεται από τις τεθλασμένες γραμμές μεταξύ των ανθράκων 9 και 12 (Frega et al., 1993).

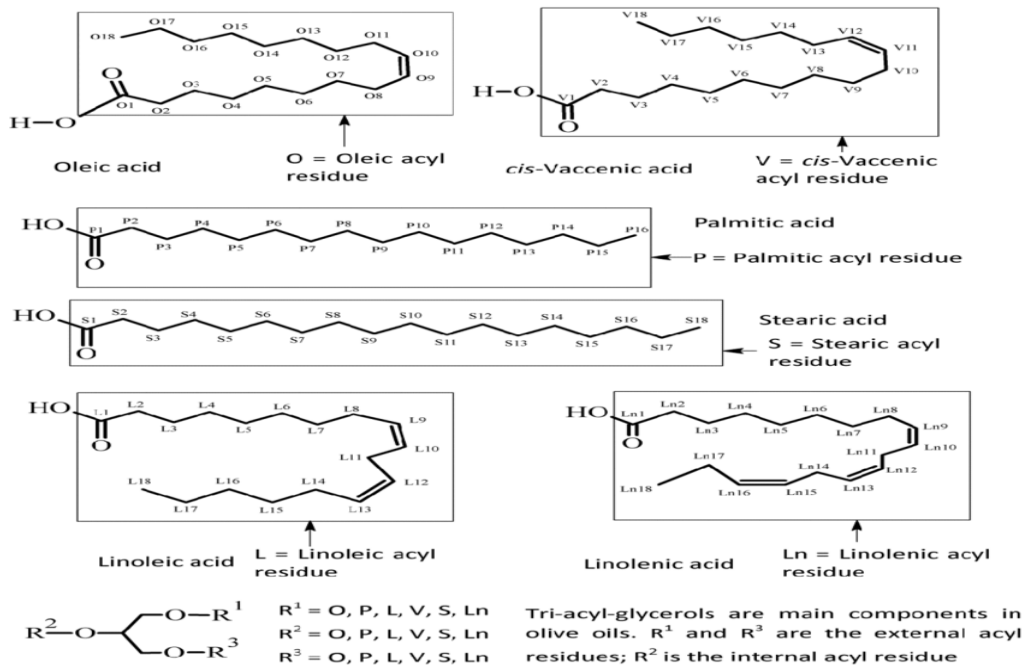
Το λινολενικό οξύ (C18:3), περιέχεται στο ελαιόλαδο σε μικρές ποσότητες, είναι ένα ωμέγα-3 πολυακόρεστο λιπαρό οξύ με τρεις διπλούς δεσμούς, το οποίο συμπληρώνει την πολυπλοκότητα του προφίλ λιπαρών οξέων του ελαιολάδου (Boskou, 1996).

Η διάταξη και αναλογία των λιπαρών οξέων στη δομή των TAG του ελαιολάδου είναι υπεύθυνη όχι μόνο για τις φυσικές του ιδιότητες, όπως το σημείο τήξης και το ιξώδες, αλλά και για τη σταθερότητά του έναντι της οξειδωσης (Santinelli et al., 1992). Οι διπλοί δεσμοί στα ακόρεστα λιπαρά οξέα όπως το ελαϊκό και το λινελαϊκό είναι περιοχές όπου μπορούν να λάβουν χώρα χημικές αντιδράσεις είτε με θετικά αποτελέσματα που οδηγούν στην απελευθέρωση αρωματικών ενώσεων κατά το μαγείρεμα, είτε με αρνητικά όπως οι αντιδράσεις οξειδωσης που μπορεί να οδηγήσουν σε τάγγισμα. Οι αντιοξειδωτικές ενώσεις που περιέχονται φυσικά στο ελαιόλαδο, όπως οι τοκοφερόλες και οι πολυφαινόλες (δεν εμφανίζονται στην Εικόνα 2), αλλά παίζουν καθοριστικό ρόλο στην προστασία αυτών των δεσμών από την οξειδωση (McKenzie & Koch, 2004).

Το κάτω τμήμα της Εικόνας 2 περιγράφεται η γενική δομή των τριακυλογλυκερολών. Τα λιπαρά οξέα τα οποία είναι εστεροποιημένα στο μόριο των TAG μπορεί να είναι του ίδιου ή διαφορετικού μοριακού τύπου, με αποτέλεσμα να υπάρχουν ποικίλα είδη τριακυλογλυκερολών στο ελαιόλαδο (Boskou, 2006). Ο συμβολισμός "R" αντιπροσωπεύει τα κατάλοιπα των λιπαρών οξέων: "R¹" και "R³" είναι τα εξωτερικά ακυλικά κατάλοιπα, ενώ "R²" είναι το εσωτερικό ακυλικό κατάλοιπο, απεικονίζοντας τη δυνατότητα δομικής ποικιλομορφίας εντός των TAG του ελαίου (Scano et al., 1999).

Η σύνθεση των TAG δεν καθορίζει μόνο τα φυσικά και χημικά χαρακτηριστικά του ελαιολάδου αλλά και τη σταθερότητά του έναντι της οξειδωτικής αποικοδόμησης. Ο βαθμός ακορεστότητας, ιδίως οι διπλοί δεσμοί στο ελαϊκό και το λινελαϊκό οξύ, δημιουργεί σημεία ευπάθειας όπου μπορεί να συμβεί οξειδωση, επηρεάζοντας τη διάρκεια ζωής και το γευστικό προφίλ του ελαιολάδου. Τα αντιοξειδωτικά συστατικά, όπως οι τοκοφερόλες και οι φαινολικές ενώσεις, διαδραματίζουν κρίσιμο ρόλο στην προστασία αυτών των ευαίσθητων σημείων από οξειδωτικές βλάβες (Rotondo et al., 2020).

Η χημική σύνθεση του ελαιολάδου, όπως περιγράφεται λεπτομερώς από τις δομές των λιπαρών οξέων που το αποτελούν στην εικόνα 3.2, εξηγεί την υγρή κατάσταση του ελαιολάδου σε θερμοκρασία δωματίου, τη διατροφική του αξία και τα οργανοληπτικά του χαρακτηριστικά.



Εικόνα 3.2: Δομικές απεικονίσεις των κύριων λιπαρών οξέων του ελαιολάδου - του ελαϊκού, του παλμιτικού, του στεατικού και του λινολεϊκού οξέος - και μια σχηματική απεικόνιση της σύνθεσης της τριακυλογλυκερόλης του ελαιολάδου. Πηγή: (Rotondo et al., 2020).

3.3 Φωσφολιπίδια

Τα φωσφολιπίδια αντιπροσωπεύουν μια κατηγορία λιπιδίων, συστατικά των κυτταρικών μεμβρανών, γνωστά για τις αμφιπαθείς ιδιότητές τους, λόγω των υδρόφιλων και των υδρόφοβων ομάδων που περιέχουν. Παρότι η συγκέντρωσή τους στο ελαιόλαδο είναι μικρή διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στη χημική σύνθεση και τις φυσικές ιδιότητές του. Στην εικόνα 3.3 απεικονίζεται η τυπική δομή ενός μορίου φωσφολιπιδίου (Zahrabi et al., 2016).

Η δομή τους αποτελείται από δύο τμήματα: την υδρόφιλη κεφαλή και τις υδρόφοβες ουρές. Η υδρόφιλη κεφαλή αποτελείται από μια φωσφορική ομάδα συνδεδεμένη στη ραχοκοκαλιά του μορίου της γλυκερόλης. Η φωσφορική ομάδα μπορεί να συνδέεται επιπλέον με διάφορες αλκοόλες, όπως υποδεικνύεται από τον υποκαταστάτη "R", οι οποίες αντιπροσωπεύουν μόρια όπως η χολίνη, η αιθανολαμίνη, η ινοσιτόλη ή η σερίνη. Η παρουσία της αρνητικά φορτισμένης φωσφορικής ομάδας και του πολικού σκελετού

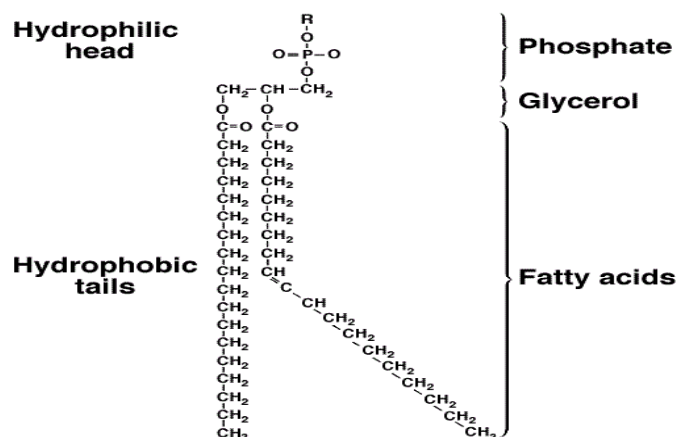
της γλυκερόλης συμβάλλουν στη συγγένεια της κεφαλής με το νερό (Hatzakis et al., 2008).

Οι υδρόφοβες ουρές αποτελούνται συνήθως από δύο αλυσίδες λιπαρών οξέων, οι οποίες στο ελαιόλαδο αντιπροσωπεύονται κυρίως από το ελαϊκό οξύ. Οι αλυσίδες των λιπαρών οξέων μπορούν να ποικίλουν σε μήκος και βαθμό κορεσμού, όπως υποδηλώνουν οι στροφές που οφείλονται στην παρουσία διπλού δεσμού (Εικόνα 3.3) (Zahrabi et al., 2016).

Η αμφίφιλη φύση των φωσφολιπιδίων τους επιτρέπει να σχηματίζουν αυθόρμητα διπλοστοιβάδες σε υδατικά περιβάλλοντα, με τις υδρόφοβες ουρές στραμμένες προς τα μέσα, προστατευμένες από το νερό, και τις υδρόφιλες κεφαλές στραμμένες προς τα έξω, αλληλεπιδρώντας με το υδατικό περιβάλλον. (Koprivnjak et al., 2010).

Στο ελαιόλαδο, τα φωσφολιπίδια συμβάλλουν στη σταθερότητα και την προστασία του από την οξειδωση. Σχηματίζουν προστατευτικά στρώματα γύρω από τα σταγονίδια του ελαίου, με αποτέλεσμα την αύξηση της διάρκειας ζωής και τη διατήρηση της γεύσης του. Επιπλέον, μπορούν να λειτουργήσουν ως φυσικοί γαλακτωματοποιητές, βοηθώντας στην ανάμειξη του ελαιολάδου με άλλα υδρόφιλα συστατικά, γεγονός χρήσιμο στην παρασκευή και επεξεργασία των τροφίμων (Koidis & Boskou, 2006).

Η δομή των λιπαρών οξέων στη μόριο των φωσφολιπιδίων επηρεάζει τις φυσικές ιδιότητες του ελαιολάδου. Συγκεκριμένα, η κυρίαρχη παρουσία ακόρεστων λιπαρών οξέων, όπως το ελαϊκό οξύ, ενισχύει τη ρευστότητα του ελαιολάδου. Αντίθετα, ένα αυξημένο ποσοστό κορεσμένων λιπαρών οξέων τείνει να αυξάνει το ιξώδες του ελαιολάδου, με αποτέλεσμα μια πιο παχιά σύσταση που επηρεάζει όχι μόνο την υφή αλλά και δυνητικά μεταβάλλει τη σταθερότητα και τη διάρκεια ζωής του ελαιολάδου (Zahrabi et al., 2016).



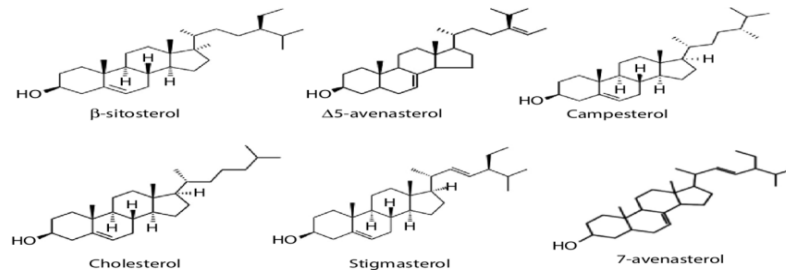
Εικόνα 3.3: Η μοριακή δομή ενός γλυκεροφωσfolιπιδίου, όπου επισημαίνεται η υδρόφιλη κεφαλή με τα φωσφορικά άλατα και οι υδρόφοβες ουρές που αποτελούνται από λιπαρά οξέα. Πηγή: (Zahrabi et al., 2016).

3.4 Στερόλες

Οι στερόλες, είναι μια υποομάδα στεροειδών που είναι σημαντικές για τον δομικό τους ρόλο στις κυτταρικές μεμβράνες των ευκαρυωτικών οργανισμών και ως πρόδρομες ουσίες βιοδραστικών ενώσεων. Στο ελαιόλαδο, οι στερόλες συμβάλλουν στη χημική πολυπλοκότητα και σταθερότητά του. Από τις στερόλες η β-σιτοστερόλη είναι η πιο άφθονη (Chanioti et al., 2021). Στην Εικόνα 3.4 παρουσιάζεται η δομή της β-σιτοστερόλης και άλλων στερολών που απαντώνται στο ελαιόλαδο (Bajoub et al., 2014). Διαθέτει ένα υδροξύλιο (-OH) στη θέση 3 του δακτυλίου A, το οποίο αποτελεί χαρακτηριστικό γνώρισμα των στερολών, συμβάλλοντας στην αμφίφιλη φύση τους (Boskou, 2006).

Η πλευρική αλυσίδα στο μόριο των στερολών, που συνδέεται στη θέση 17, διαφοροποιεί τα μόρια της κατηγορίας αυτής. Για παράδειγμα, η β-σιτοστερόλη έχει μια αιθυλική ομάδα στη θέση 24, η οποία την διακρίνει από τη χοληστερόλη. Η Δ⁵-αβεναστερόλη έχει έναν ακόρεστο δεσμό μεταξύ των ανθράκων 5 και 6, η καμπεστερόλη έχει μια μεθυλική ομάδα στον άνθρακα 24 ενώ η στιγμαστερόλη έχει έναν επιπλέον διπλό δεσμό στην πλευρική αλυσίδα. Τέλος, η 7-αβεναστερόλη διαθέτει έναν διπλό δεσμό μεταξύ των ανθράκων 7 και 8 (Bajoub et al., 2014).

Οι στερόλες όπως η β-σιτοστερόλη συμβάλλουν στη σταθερότητα του ελαιολάδου παρεμβαίνοντας στην κρυστάλλωση των τριγλυκεριδίων, διατηρώντας έτσι την υγρή του κατάσταση. Αν και οι διατροφικές επιπτώσεις των στερολών, ιδίως η επίδρασή τους στα επίπεδα χοληστερόλης στον άνθρωπο, είναι αναγνωρισμένες, από χημικής άποψης ενδιαφέρον παρουσιάζει ο δομικός τους ρόλος και η συμβολή τους στη χημική ακεραιότητα του ελαίου (Taticchi et al., 2013).



Εικόνα 3.4: Δομική απεικόνιση των στερολών στο ελαιόλαδο, με έμφαση στη β-σιτοστερόλη και τα δομικά της ανάλογα, καταδεικνύοντας την ποικιλομορφία των μορίων στερολών. Πηγή: (Bajoub et al., 2014).

3.5 Τοκοφερόλες

Οι τοκοφερόλες, συλλογικά γνωστές ως βιταμίνη Ε, αποτελούν μια ομάδα λιποδιαλυτών ενώσεων με αντιοξειδωτική δράση και με σημαντικό ρόλο στην προστασία των κυτταρικών συστατικών από οξειδωτικές βλάβες. Στην Εικόνα 5 παρουσιάζονται οι χημικές δομές των τοκοφερόλων και των τοκοτριενόλων, που συνολικά αποτελούν το σύμπλεγμα της βιταμίνης Ε που βρίσκονται στο ελαιόλαδο (Ricciarelli et al., 2002).

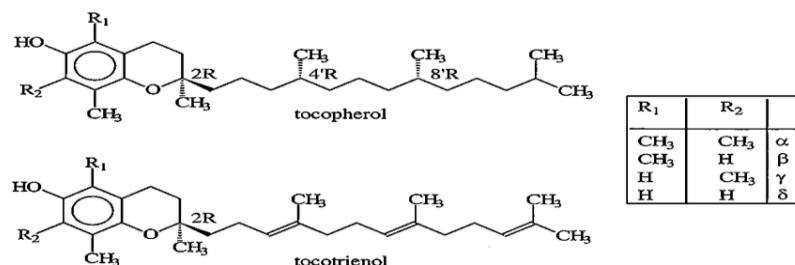
Οι δομές των τοκοφερόλων και των τοκοτριενόλων χαρακτηρίζονται από την παρουσία ενός δακτυλίου χρωμανόλης (εξαμελής αρωματικός δακτύλιος) που φέρει στη θέση 6 ένα -OH σχηματίζοντας την 6-χρωμανόλη. Οι τοκοφερόλες μπορούν να τερματίσουν τις αντιδράσεις αυτοοξειδωσης των λιπαρών υλών προσφέροντας το -H του υδροξυλίου τους σε μια υπερόξυ-ρίζα (ή οποιαδήποτε άλλη ελεύθερη ρίζα) προς σχηματισμό ενός υδροϋπεροξειδίου και της ρίζας της α-τοκοφερόλης (η οποία είναι σχετικά αδρανής ένωση), τερματίζοντας έτσι τις αλυσιδωτές αντιδράσεις. Στις τοκοφερόλες στο δακτύλιο της χρωμανόλης είναι συνδεδεμένη μια ουρά φυτυλίου, ενώ στις τοκοτριενόλες μια ακόρεστη ισοπρενοειδή πλευρική αλυσίδα γνωστή ως ουρά φαρνεσουλίου (Εικόνα 3.5). (Boskou, 2006).

Η αντιοξειδωτική δράση των τοκοφερόλων και των τοκοτριενόλων αποδίδεται στη φαινολική υδροξυλομάδα στον δακτύλιο της χρωμανόλης, η οποία μπορεί να δώσει ένα άτομο υδρογόνου για την εξουδετέρωση των ελεύθερων ριζών. Ο μηχανισμός αυτός είναι θεμελιώδης για τη σταθερότητα του ελαιολάδου, καθώς συμβάλλει στην προστασία του από την οξειδωτική τάγγιση (de Mendoza et al., 2013).

Οι τοκοφερόλες και οι τοκοτριενόλες διακρίνονται ανάλογα με τον αριθμό και τη θέση των μεθυλίων στον δακτύλιο της χρωμανόλης σε α, β, γ και δ, όπως αναφέρεται στον πίνακα της Εικόνας 3.5 (Ricciarelli et al., 2002). Για παράδειγμα, η α-τοκοφερόλη, η οποία

θεωρείται ότι έχει την υψηλότερη βιολογική δραστηριότητα, έχει τρεις μεθυλομάδες συνδεδεμένες στον δακτύλιο της χρωμανόλης, ενώ η β-τοκοφερόλη έχει δύο, η γ-τοκοφερόλη έχει δύο σε διαφορετικές θέσεις και η δ-τοκοφερόλη έχει μόνο μία (Boskou, 2006).

Ενώ η διατροφική σημασία των τοκοφερολών ως πηγή βιταμίνης E είναι ευρέως αναγνωρισμένη για το ρόλο της στην ανθρώπινη υγεία, ιδίως στη λειτουργία του ανοσοποιητικού συστήματος και στην υγεία του δέρματος, η χημική δομή αυτών των μορίων είναι υπεύθυνη για τις αντιοξειδωτικές τους ιδιότητες. Οι ιδιότητες αυτές δεν είναι ευεργετικές μόνο για την υγεία αλλά και για τη συντήρηση του ελαιολάδου, παρατείνοντας τη διάρκεια ζωής του προστατεύοντας από την οξείδωση (Ricciarelli et al., 2002).



Εικόνα 3.5: Χημικές δομές των τοκοφερολών και των τοκοτριενόλων (βιταμίνη E) Πηγή: (Ricciarelli et al., 2002).

Η συγκέντρωση της α-τοκοφερόλης στο ελαιόλαδο επηρεάζεται σημαντικά από διάφορους αγρονομικούς και περιβαλλοντικούς παράγοντες που σχετίζονται με την καλλιέργεια της ελιάς. Οι παράγοντες αυτοί περιλαμβάνουν τη γενετική ποικιλία των ελιών, την ποιότητα του εδάφους, τις πρακτικές άρδευσης και τις κλιματικές συνθήκες. Για παράδειγμα, οι διάφορες ποικιλίες ελιάς περιέχουν φυσικά διαφορετικά επίπεδα α-τοκοφερόλης. Ομοίως, η γονιμότητα και η σύνθεση του εδάφους μπορεί να επηρεάσει το θρεπτικό περιεχόμενο των ελιών, επηρεάζοντας έτσι τα επίπεδα της α-τοκοφερόλης. Επιπλέον, η άρδευση και οι κλιματικές συνθήκες, όπως η ποσότητα του ηλιακού φωτός και της βροχόπτωσης που δέχονται, παίζουν καθοριστικό ρόλο στον καθορισμό της συνολικής υγείας και του θρεπτικού προφίλ των ελαιοκάρπων. Τα στοιχεία αυτά συμβάλλουν συλλογικά σε αυτό που μπορεί να ονομαστεί ως "δυναμικό της ελαιοκαλλιέργειας", το οποίο επηρεάζει άμεσα τη συγκέντρωση α-τοκοφερόλης στο παραγόμενο ελαιόλαδο (de Mendoza et al., 2013). Αξίζει να σημειωθεί ότι η εφαρμογή ορθών πρακτικών παραγωγής και προγραμμάτων ποιοτικού ελέγχου που

υποστηρίζονται από την Ευρωπαϊκή Ένωση έχει επηρεάσει θετικά τα επίπεδα τοκοφερόλης σε παρθένα ελαιόλαδα διαφορετικής γεωγραφικής προέλευσης. Ως αποτέλεσμα, τα επίπεδα α-τοκοφερόλης στο ελαιόλαδο είναι σημαντικά υψηλότερα από την ιστορική μέση τιμή των 100 mg/kg, όπως αναφέρεται από τους Gunstone et al., (1994) και Belitz et al., (2004).

Η αντιοξειδωτική δράση της α-τοκοφερόλης, όπως συζητείται από τους Kamal-Eldin & Appelqvist (1996), είναι ιδιαίτερα σημαντική για τα οφέλη του ελαιολάδου στην υγεία και τη σταθερότητά του. Ερευνητικά δεδομένα σε ιταλικά και ισπανικά ελαιόλαδα δείχνουν ότι η συγκέντρωση της α-τοκοφερόλης (Conte et al., 1993; Salvador et al., 1998) κυμαίνεται από 55 έως 315 mg/kg. Τα ελληνικά ελαιόλαδα, σύμφωνα με τους Psomiadou et al. (2000), έχουν υψηλότερα από τα αναφερόμενα επίπεδα α-τοκοφερόλης, που κυμαίνονται μεταξύ 98 και 370 mg/kg. Σε άλλες μελέτες (Mikrou et al., 2020) για ελληνικά «εξαιρετικά παρθένα ελαιόλαδα» (Extra virgin olive oil – EVOO) διαπιστώθηκε επίσης ότι η συγκέντρωσή της κυμαίνεται από 73 έως 370 mg/kg. Ενώ ακόμη υψηλότερες συγκεντρώσεις βρέθηκαν σε ελαιόλαδα από την Τυνησία και την Ισπανία. Η περιεκτικότητα σε τοκοφερόλη επηρεάζεται από πολυάριθμους παράγοντες. Σε ορισμένες μελέτες αναφέρεται εξάρτηση της συγκέντρωσης της α-τοκοφερόλης από την ποικιλία της ελιάς ενώ πρόσφατα ευρήματα δείχνουν ότι οι αγρονομικές παράγοντες, όπως το κλίμα, το έτος καλλιέργειας και η ωριμότητα του ελαιόκαρπου παίζουν σημαντικότερο ρόλο. Τεχνολογικοί παράγοντες, συμπεριλαμβανομένων των μεθόδων επεξεργασίας και αποθήκευσης, επηρεάζουν επίσης τις συγκεντρώσεις τοκοφερόλης (Mikrou et al., 2020).

Εκτός από την α-τοκοφερόλη, το παρθένο ελαιόλαδο περιέχει επίσης μικρότερες ποσότητες β-τοκοφερόλης, δ-τοκοφερόλης και γ-τοκοφερόλης, σε συγκεντρώσεις που κυμαίνονται από 10 έως 20 mg/kg.

Σημειώνεται επίσης ότι η συγκέντρωση της τοκοφερόλης μειώνεται στους ώριμους καρπούς ενώ το σύστημα εκχύλισης που χρησιμοποιείται μπορεί να επηρεάσει τα επίπεδά της, όπως διαπίστωσαν οι Psomiadou & Tsimidou (1998) και Beltran et al. (2005). Επιπλέον, διεργασίες όπως ο εξευγενισμός ή η υδρογόνωση οδηγούν σε απώλεια τοκοφερολών (Andrikopoulos et al., 1989 και Rabascall & Riera, 1987).

Η γεωγραφική προέλευση, ένας άλλος βασικός παράγοντας, έχει αποδειχθεί ότι επηρεάζει τα επίπεδα της τοκοφερόλης. Μελέτες που συγκρίνουν ελαιόλαδα από

διαφορετικές περιοχές αναφέρουν σημαντικές διαφορές που αποδίδονται στις κλιματικές συνθήκες. Για παράδειγμα, τα ελαιόλαδα από την ποικιλία Arbequina της Ισπανίας παρουσιάζουν διαφορές στην περιεκτικότητα σε τοκοφερόλη ανάλογα με την περιοχή καλλιέργειας. Παρόμοια τάση έχει παρατηρηθεί και σε ελαιόλαδα στην Τυνησία (Mikrou et al., 2020).

3.6 Φαινολικές Ενώσεις

Οι φαινολικές ενώσεις στο ελαιόλαδο, όπως η υδροξυτυροσόλη και η ελαιοευρωπαϊνή, αντιπροσωπεύουν μια κατηγορία χημικών συστατικών γνωστών για τις ισχυρές αντιοξειδωτικές τους ιδιότητες. Η εικόνα 3.6 απεικονίζει τις μοριακές δομές αυτών των ενώσεων, που συμβάλλουν σε μεγάλο βαθμό στην οξειδωτική σταθερότητα και τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά του ελαιολάδου (Kritikou et al., 2020).

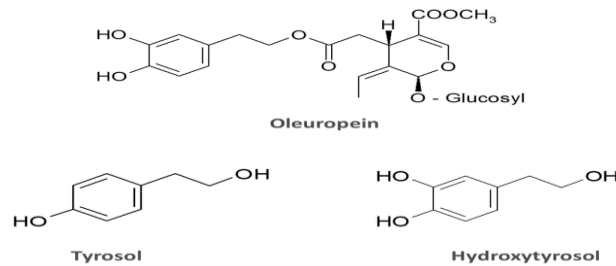
Η ελαιοευρωπαϊνή είναι ένα γλυκοζυλιωμένο σεκοϊριδοειδές, και μία από τις πιο άφθονες φαινολικές ενώσεις στο φρέσκο ελαιόλαδο υπεύθυνη για την πικάντικη και πικρή γεύση του ελαίου. Η δομή της, (Εικόνα 6), αποτελείται από υδροξυτυροσόλη, ελενολικό οξύ και ένα μόριο γλυκόζης εστεροποιημένη στο ελενολικό οξύ. Αυτό το σύνθετο μόριο είναι ένα ισχυρό αντιοξειδωτικό, το οποίο, λόγω της ικανότητάς του να απομακρύνει τις ελεύθερες ρίζες, διαδραματίζει καθοριστικό ρόλο στην προστασία του ελαίου από την οξειδωτική αποικοδόμηση (Garcia et al., 2019).

Η υδροξυτυροσόλη, είναι μια φαινολική αλκοόλη (Εικόνα 3.6), προϊόν αποικοδόμησης της ελαιοευρωπαϊνής της οποίας η συγκέντρωση αυξάνεται καθώς το ελαιόλαδο ωριμάζει. Περιέχει δύο ομάδες υδροξυλίου συνδεδεμένες στον αρωματικό δακτύλιο, οι οποίες είναι ιδιαίτερα δραστικές έναντι των ελεύθερων ριζών, επιτρέποντας στην ένωση να δρα ως αποτελεσματικό αντιοξειδωτικό (Kritikou et al., 2020).

Η τυροσόλη, μια άλλη φαινολική αλκοόλη, έχει χημική δομή παρόμοια με αυτή της υδροξυτυροσόλης, αλλά διαθέτει μόνο μια -OH. Η αντιοξειδωτική της ικανότητα είναι χαμηλότερη από εκείνη της υδροξυτυροσόλης, ωστόσο συμβάλλει και αυτή στην προστασία του ελαιολάδου έναντι της οξείδωσης (Youssef et al., 2010).

Οι παραπάνω φαινολικές ενώσεις συνδέονται επίσης με διάφορα οφέλη για την υγεία, λόγω της αντιφλεγμονώδους και καρδιοπροστατευτικής τους δράσης, που συνδέονται με την αντιοξειδωτική τους ενεργότητα. Βοηθούν στην προστασία των λιποπρωτεϊνών

χαμηλής πυκνότητας (LDL) από οξειδωτικές βλάβες, οι οποίες αποτελούν βασικό παράγοντα για την ανάπτυξη καρδιαγγειακών παθήσεων (Giacomo Squeo et al. 2020).



Εικόνα 3.6: Μοριακές δομές της ελαιοευρωπαΐνης, της υδροξυτυροσόλης και της τυροσόλης, βασικών φαινολικών ενώσεων που συμβάλλουν στο αντιοξειδωτικό προφίλ του ελαιολάδου. Πηγή: (Kritikou et al., 2020)

3.7 Καροτενοειδή

Τα καροτενοειδή είναι μια κατηγορία φυσικών χρωστικών που συντίθενται από τα φυτά, τα φύκια και τα φωτοσυνθετικά βακτήρια. Οι ενώσεις αυτές είναι γνωστές για τα ζωηρά τους χρώματα και απαντώνται και στο ελαιόλαδο, συμβάλλοντας στη χαρακτηριστική του απόχρωση. Στην εικόνα 3.7 παρουσιάζονται οι δομές διαφόρων καροτενοειδών, όπως το λυκοπένιο, το β-καροτένιο, η β-κρυπτοξανθίνη, η λουτεΐνη και η ζεαξανθίνη, καθένα από τα οποία συμβάλλει στο χαρακτηριστικό χρώμα και το αντιοξειδωτικό προφίλ του ελαιολάδου (Mozos et al., 2018).

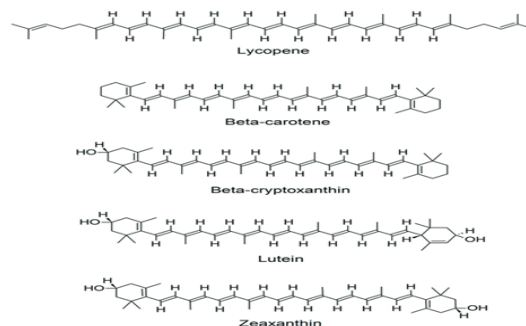
Το λυκοπένιο, η ένωση που ευθύνεται για το κόκκινο χρώμα της ντομάτας, αποτελείται από οκτώ μονάδες ισοπρενίου και 13 διπλούς δεσμούς, αλλά στερείται του δακτυλίου της β-ιονόνης. Οι διπλοί δεσμοί στο μόριο βρίσκονται σε all-trans διαμόρφωση (οι τερματικοί διπλοί δεσμοί δεν αποτελούν μέρος του συζευγμένου συστήματος στο λυκοπένιο). Αυτό το εκτεταμένο σύστημα συζυγών διπλών δεσμών είναι το κλειδί για τη χημική συμπεριφορά του λυκοπενίου, ιδίως για την ικανότητά του να αποσβένει τη δράση του οξυγόνου διεγερμένης κατάστασης (singlet) και να αλληλεπιδρά με τις ελεύθερες ρίζες (Merchak et al., 2017).

Το β-καροτένιο, προβιταμίνη Α, περιέχει δύο δακτυλίους ιονόνης και 11 συζευγμένους διπλούς δεσμούς και το χρώμα του είναι κίτρινο έως πορτοκαλί (Boskou, 2006).

Η β-κρυπτοξανθίνη, δομικά παρόμοια με το β-καροτένιο διαθέτει μια πρόσθετη ομάδα υδροξυλίου, που την καθιστά περισσότερο πολική, επηρεάζοντας ενδεχομένως τη διαλυτότητα και τη σταθερότητα αυτής της χρωστικής (Mozos et al., 2018).

Η λουτεΐνη και η ζεαξανθίνη είναι ξανθοφύλλες, υδροξυλιωμένα παράγωγα των καροτενοειδών, τα οποία διαθέτουν ομάδες υδροξυλίου συνδεδεμένες στα άκρα του μορίου. Οι ομάδες υδροξυλίου αυξάνουν την πολικότητα των ενώσεων αυτών και συμβάλλουν στην αύξηση της αντιοξειδωτικής δραστικότητάς τους. Η λουτεΐνη έχει κίτρινο χρώμα, παρουσιάζει δομικά πολλές ομοιότητες με τη ζεαξανθίνη από την οποία διαφέρει μόνο στη θέση ενός από τους διπλούς δεσμούς του δακτυλίου (Lanzon et al., 1994).

Τα καροτενοειδή προστατεύουν το ελαιόλαδο από οξειδωτικές βλάβες, ενισχύοντας τη σταθερότητα και τη διάρκεια ζωής του. (Mariani et al., 1992). Η παρουσία των καροτενοειδών στο ελαιόλαδο δεν επηρεάζει μόνο τις οργανοληπτικές ιδιότητες του ελαιολάδου αλλά και τις φυσικές του ιδιότητες όπως το ιξώδες και τη συμπεριφορά του σε διαφορετικές θερμοκρασίες και συνθήκες αποθήκευσης.



Εικόνα 3.7: Χημικές δομές των καροτενοειδών που περιέχονται στο ελαιόλαδο, συμπεριλαμβανομένου του λυκοπενίου, του β-καροτενίου, της β-κρυπτοξανθίνης, της λουτεΐνης και της ζεαξανθίνης Πηγή: (Mozos et al., 2018).

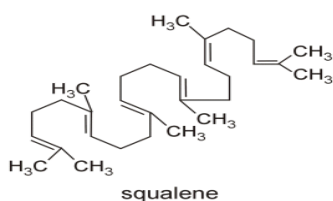
3.8 Σκουαλένιο

Το σκουαλένιο, μια οργανική ένωση που απαντάται στη φύση, είναι ένας υδρογονάνθρακας που αποτελεί σημαντικό ενδιάμεσο προϊόν στη βιοσύνθεση της χοληστερόλης και άλλων στερολών. Στην Εικόνα 8 παρουσιάζεται η μοριακή δομή του σκουαλένιου. Είναι το συστατικό με τη μεγαλύτερη συγκέντρωση στο ασαπωνοποίητο κλάσμα (40 % κ.β.). Στο ελαιόλαδο η συγκέντρωσή του κυμαίνεται από 200-7500 mg/kg, σημαντικά υψηλότερη σε σύγκριση με άλλα φυτικά έλαια (Tan et al., 2017).

Η δομή του σκουαλένιου χαρακτηρίζεται από μια μακρά, μη διακλαδισμένη αλυσίδα ατόμων άνθρακα, η οποία αποτελείται από έξι μονάδες ισοπρένιου, με αποτέλεσμα να αποτελείται συνολικά από τριάντα άτομα άνθρακα. Είναι ένας πολυακόρεστος

υδρογονάνθρακας με έξι διπλούς δεσμούς, οι οποίοι χωρίζονται με γέφυρες μεθυλενίου, γεγονός που προσδίδει στο σκουαλένιο μοναδικές χημικές ιδιότητες (Mikrou et al., 2020). Η μοριακή διαμόρφωση του σκουαλένιου είναι αξιοσημείωτη για τη συμμετρία της και την παρουσία πολλαπλών μεθυλομάδων (CH₃) που διακλαδίζονται από την κύρια ανθρακική αλυσίδα. Αυτή η δομή επηρεάζει τη ρευστότητα και τη διαπερατότητα των κυτταρικών μεμβρανών, καθώς το σκουαλένιο αποτελεί βασικό συστατικό της λιπιδικής διπλοστοιβάδας σε πολλούς οργανισμούς, συμπεριλαμβανομένου του ανθρώπου (Rodrigues et al., 2018).

Το σκουαλένιο συμβάλλει στην οξειδωτική σταθερότητα του ελαιολάδου, παρά το γεγονός ότι είναι ακόρεστη ένωση. Αναφέρεται ότι η σταθερά του ρυθμού (*ko*) απόσβεσης του οξυγόνου διεγερμένης κατάστασης από το σκουαλένιο είναι παρόμοιο με εκείνο του BHT ενώ η συνεισφορά ηλεκτρονίων από τις μεθυλομάδες του μορίου συμβάλλουν στη τιμή της *ko* (Amarowicz, 2009).



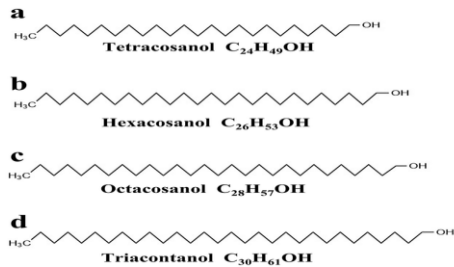
Εικόνα 3.8: Μοριακή δομή του σκουαλένιου. Πηγή: https://www.researchgate.net/figure/Chemical-structure-of-squalene-SQ_fig1_327977928

3.9 Αλειφατικές αλκοόλες

Οι αλειφατικές αλκοόλες ανήκουν στο ασαπωνοποίητο κλάσμα του ελαιολάδου. Είναι ανώτερες ή λιπαρές αλκοόλες με C>16 σε ελεύθερη ή εστεροποιημένη μορφή.

Οι κύριες γραμμικές αλειφατικές αλκοόλες που υπάρχουν στο ελαιόλαδο είναι η εξακοζανόλη, η οκτακοζανόλη, η τετρακοζανόλη και η εικοσιδυανόλη. Οι αλειφατικές αλκοόλες βρίσκονται σε σημαντικά μεγαλύτερες ποσότητες στο πυρηνέλαιο από ότι σε άλλα ελαιόλαδα. Η υψηλή περιεκτικότητα σε ολικές αλειφατικές αλκοόλες σε ορισμένα ελαιόλαδα οφείλεται κυρίως στην παρουσία των αλειφατικών αλκοολών σε ελεύθερη (μη εστεροποιημένη) μορφή παρά ως κηροί. Το φαινόμενο αυτό αποδίδεται σε αντίξοες κλιματολογικές συνθήκες (παρατεταμένη ξηρασία). (Jasminka Giacometti, 2001)

Οι αλειφατικές αλκοόλες δεν αποτελούν αντικείμενο όταν εξετάζεται η διατροφική αξία του ελαιολάδου - ωστόσο, παίζουν ρόλο στο οργανοληπτικό προφίλ του. Η παρουσία τους μπορεί να επηρεάσει τη γεύση και το άρωμα του ελαιολάδου, προσθέτοντας λεπτές νότες που εκτιμώνται στα παρθένα ελαιόλαδα υψηλής ποιότητας (Aparicio and Luna, 2002).



Εικόνα 3.9: Δομές αλειφατικών αλκοολών στο ελαιόλαδο, a) τετρακοζανόλη, b) εξακοζανόλη, c) οκτακοζανόλη, d) τριακοντανόλη. Πηγή: (Journal of Neuroimmune Pharmacology, 2023).

4. Γενικές Αρχές της υγρής χρωματογραφίας υψηλής επίδοσης

Η υγρή χρωματογραφία υψηλής επίδοσης (High-Performance Liquid Chromatography - HPLC) αποτελεί μια τεχνική στην αναλυτική χημεία, ευρέως γνωστή για την ακρίβεια και την ικανότητά της να διαχωρίζει, να ταυτοποιεί και να ποσοτικοποιεί ενώσεις που υπάρχουν σε οποιοδήποτε δείγμα μπορεί να διαλυθεί σε υγρό. Η υγρή χρωματογραφία υψηλής επίδοσης αξιοποιεί τη δύναμη της υψηλής πίεσης για να προωθήσει το διαλύτη μέσω της στήλης ταχύτερα και με μεγαλύτερη αποτελεσματικότητα, βελτιώνοντας έτσι την ανάλυση των συστατικών μιγμάτων (Lough & Wainer, 1995).

Ένα μείγμα διαλυμένο σε ένα υγρό, (κινητή φάση), διέρχεται μέσα από μια στήλη γεμάτη με ένα στερεό, (στατική φάση). Οι διαφορετικοί ρυθμοί με τους οποίους τα συστατικά του μείγματος αλληλεπιδρούν με αυτές τις φάσεις οδηγούν στο διαχωρισμό τους. Η αποτελεσματικότητα της διαδικασίας διαχωρισμού αυξάνεται σημαντικά με τη χρήση υψηλής πίεσης, η οποία εξασφαλίζει ταχεία ροή της κινητής φάσης μέσω της στατικής φάσης (Huber & Majors, 2007).

Η ευελιξία της υγρής χρωματογραφίας υψηλής επίδοσης αναδεικνύεται μέσω της ποικιλίας των διαθέσιμων στατικών φάσεων, καθεμία από τις οποίες είναι προσαρμοσμένη για συγκεκριμένους τύπους αναλυτών. Αυτή η προσαρμοστικότητα καθιστά την υγρή χρωματογραφία υψηλής επίδοσης μια προτιμώμενη μέθοδο σε διάφορους τομείς, από φαρμακευτικά προϊόντα έως περιβαλλοντικές δοκιμές. Η στατική φάση μπορεί να επιλεγεί με βάση την πολικότητα, το μέγεθος ή άλλες χημικές ιδιότητες των προς διαχωρισμό ουσιών (Hearn, 2017).

- Τα κύρια μέρη ενός συστήματος υγρής χρωματογραφίας υψηλής επίδοσης είναι:
 1. δοχεία διαλυτών έκλουσης, 2. σύστημα ανάμιξης δ/των, 3. αντλία 4 .εισαγωγέας, 5. στήλη διαχωρισμού, 6. ανιχνευτής, 7. σύστημα καταγραφής και επεξεργασίας δεδομένων
- Η επιλογή του ανιχνευτή καθορίζεται από τη φύση των προς ανάλυση ενώσεων και την απαιτούμενη ευαισθησία της ανάλυσης (Gray, 2000). Ευρέως χρησιμοποιούμενοι ανιχνευτές είναι οι: α. δείκτη διάθλασης (RI - Refractive index). β. απορρόφησης (UV/Vis), γ. σταθερού μήκους κύματος, δ. μεταβαλλόμενου μήκους κύματος, ε. συστοιχίας διόδων (DAD – Diode Array Detector)

Η κινητή φάση παίζει επίσης καθοριστικό ρόλο στην αποτελεσματικότητα της ανάλυσης. Η σύνθεσή της μπορεί να ρυθμιστεί σχολαστικά για τη βελτιστοποίηση του διαχωρισμού των συστατικών του μείγματος. Η κινητή φάση μπορεί να είναι ένας μόνο διαλύτης ή ένα μείγμα διαλυτών, συχνά ένας συνδυασμός πολικών και μη πολικών υγρών, επιτρέποντας τη ρύθμιση της διαδικασίας έκλουσης. Η βαθμιδωτή έκλουση, όπου η σύνθεση της κινητής φάσης μεταβάλλεται δυναμικά κατά τη διάρκεια της διαδικασίας διαχωρισμού, ενισχύει περαιτέρω την αποτελεσματικότητα της ανάλυσης, επιτρέποντας τον αποτελεσματικό διαχωρισμό ευρέος φάσματος ενώσεων (Huber & Majors, 2007).

Ένα από τα σημαντικότερα πλεονεκτήματα της υγρής χρωματογραφίας υψηλής επίδοσης είναι η ικανότητά της να παρέχει διαχωρισμό υψηλής ανάλυσης. Αυτό είναι ιδιαίτερα σημαντικό όταν πρόκειται για πολύπλοκα μείγματα ή όταν τα συστατικά είναι πολύ παρόμοια ως προς τις χημικές τους ιδιότητες. Η υψηλή πίεση που εφαρμόζεται στην υγρή χρωματογραφία υψηλής επίδοσης επιτρέπει τη χρήση λεπτότερων μεγεθών σωματιδίων στη στατική φάση, γεγονός που αυξάνει την επιφάνεια για αλληλεπιδράσεις μεταξύ της στατικής φάσης και των αναλυτών στην κινητή φάση. Αυτό οδηγεί σε αποτελεσματικότερους διαχωρισμούς και πιο οξείες κορυφές στο χρωματογράφημα που προκύπτει (Broeckhoven et al., 2019).

Η υγρή χρωματογραφία υψηλής επίδοσης δεν περιορίζεται μόνο στον διαχωρισμό και την ανάλυση μικρών μορίων. Χρησιμοποιείται επίσης εκτενώς στο διαχωρισμό μεγαλύτερων βιομορίων όπως οι πρωτεΐνες και τα νουκλεϊκά οξέα. Αυτό κατέστη δυνατό χάρη στην ανάπτυξη εξειδικευμένων στηλών και κινητών φάσεων που ανταποκρίνονται στις μοναδικές ιδιότητες αυτών των βιομορίων. Η δυνατότητα ανάλυσης μεγάλων βιομορίων έχει επεκτείνει τις εφαρμογές της υγρής χρωματογραφίας υψηλής επίδοσης σε τομείς όπως η βιοτεχνολογία και η μοριακή βιολογία (Broeckhoven et al., 2019).

Συμπερασματικά, η υγρή χρωματογραφία υψηλής επίδοσης είναι μια εξαιρετικά εξελιγμένη αναλυτική τεχνική που συνεχίζει να εξελίσσεται και να επεκτείνει τις εφαρμογές της. Η αρχή της έγκειται στον αποτελεσματικό διαχωρισμό ενώσεων με βάση τη διαφορετική αλληλεπίδρασή τους με τη σταθερή και την κινητή φάση υπό υψηλή πίεση. Η ευελιξία της υγρής χρωματογραφίας υψηλής επίδοσης, σε συνδυασμό με την υψηλή ανάλυση και την ευαισθησία της, την καθιστά απαραίτητο εργαλείο στα σύγχρονα αναλυτικά εργαστήρια σε διάφορους επιστημονικούς κλάδους.

5. Πειραματικός Σχεδιασμός-Μεθοδολογία Επιφανειακής απόκρισης (Design Expert)

Ο πειραματικός σχεδιασμός απόκρισης επιφάνειας (RSM) αποτελεί μια κομβική μεθοδολογία στο πεδίο των στατιστικών και μαθηματικών τεχνικών που χρησιμοποιούνται για τη βελτιστοποίηση διεργασιών και προϊόντων σε διάφορους τομείς, από τη μηχανική έως τη φαρμακευτική. Η προσέγγιση αυτή περιλαμβάνει μια περίπλοκη διερεύνηση των σχέσεων μεταξύ πολλών ανεξάρτητων μεταβλητών και μιας ή περισσότερων μεταβλητών απόκρισης. Ο κύριος στόχος της μεθοδολογίας επιφανειακής απόκρισης είναι η εύρεση ενός βέλτιστου συνόλου συνθηκών που παράγουν ένα επιθυμητό αποτέλεσμα, είτε πρόκειται για τη μεγιστοποίηση της απόδοσης μιας χημικής αντίδρασης, είτε για την ενίσχυση της απόδοσης ενός προϊόντος, είτε για τη βελτίωση της αποδοτικότητας μιας διαδικασίας.

Στο επίκεντρο της μεθοδολογίας της επιφανειακής απόκρισης βρίσκεται η ιδέα της χρήσης μιας σειράς σχεδιασμένων πειραμάτων για τη συστηματική διερεύνηση των επιδράσεων πολλαπλών μεταβλητών. Τα πειράματα αυτά δεν είναι τυχαία, αλλά σχεδιάζονται στρατηγικά για τη διερεύνηση των σχέσεων μεταξύ μεταβλητών και αποκρίσεων. Η πρωταρχική εστίαση έγκειται στην προσαρμογή ενός μοντέλου παλινδρόμησης στα πειραματικά δεδομένα, το οποίο στη συνέχεια επιτρέπει την πρόβλεψη των αποκρίσεων σε διαφορετικά σύνολα συνθηκών. Αυτό το μοντέλο είναι μια μαθηματική αναπαράσταση των σχέσεων εντός των δεδομένων και χρησιμοποιείται για τον προσδιορισμό του συνδυασμού τιμών μεταβλητών που βελτιστοποιούν την απόκριση (Li et al., 2021).

Μία από τις βασικές πτυχές της μεθοδολογίας της επιφανειακής απόκρισης στον πειραματικό σχεδιασμό είναι ο στρατηγικός σχεδιασμός και η εκτέλεση των πειραμάτων. Η διαδικασία αυτή είναι ζωτικής σημασίας για την κατανόηση των πολύπλοκων σχέσεων μεταξύ πολλαπλών μεταβλητών και της συλλογικής επίδρασής τους σε μια μεταβλητή απόκριση. Μεταξύ των διαφόρων πειραματικών σχεδιασμών που χρησιμοποιούνται σε αυτή τη μεθοδολογία, οι σχεδιασμοί Central Composite Design (CCD) και Box-Behnken είναι ιδιαίτερα αξιοσημείωτοι λόγω της αποδοτικότητας και της αποτελεσματικότητάς τους στη διερεύνηση συστημάτων πολλαπλών μεταβλητών (Myers et al., 2016).

Ο κεντρικός σύνθετος σχεδιασμός (Central Composite Design - CCD) είναι ένας ιδιαίτερα αξιόλογος πειραματικός σχεδιασμός, ιδιαίτερα χρήσιμος όταν η μελέτη περιλαμβάνει τρεις ή περισσότερες μεταβλητές. Ο CCD φημίζεται για την ικανότητά του να διερευνά αποτελεσματικά ολόκληρο τον πειραματικό χώρο με περιορισμένο αριθμό πειραματικών εκτελέσεων. Αυτός ο σχεδιασμός αποτελείται συνήθως από τρία διακριτά σύνολα πειραματικών εκτελέσεων: έναν παραγοντικό ή κλασματικό παραγοντικό σχεδιασμό, ένα σύνολο αξονικών σημείων (που ονομάζονται επίσης σημεία αστέρων) και κεντρικά σημεία. Το παραγοντικό ή κλασματικό παραγοντικό στοιχείο επιτρέπει την εκτίμηση των γραμμικών επιδράσεων και των επιδράσεων αλληλεπίδρασης των μεταβλητών, ενώ τα αξονικά σημεία, στρατηγικά τοποθετημένα σε κάποια απόσταση από το κέντρο του χώρου σχεδιασμού, επιτρέπουν την εκτίμηση των τετραγωνικών επιδράσεων. Η συμπερίληψη των κεντρικών σημείων, τα οποία είναι επαναλαμβανόμενες εκτελέσεις στο μέσο κάθε επιπέδου παράγοντα, βοηθά στην εκτίμηση του πειραματικού σφάλματος και της παρουσίας καμπυλότητας στην επιφάνεια απόκρισης (Myers et al., 2016).

Η δομή του CCD είναι ιδιαίτερα επωφελής όταν η επιφάνεια απόκρισης θεωρείται ότι είναι τετραγωνική, κάτι που συμβαίνει συχνά σε πολλές πρακτικές εφαρμογές. Περιλαμβάνοντας σημεία στα, πάνω και κάτω από τα κεντρικά επίπεδα κάθε παράγοντα, η CCD παρέχει μια ολοκληρωμένη διερεύνηση της επιφάνειας απόκρισης. Αυτός ο σχεδιασμός είναι καθοριστικός για τον προσδιορισμό των βέλτιστων συνθηκών, ιδίως σε διεργασίες όπου η απόκριση αναμένεται να ακολουθεί μη γραμμικό μοτίβο καθώς οι μεταβλητές μεταβάλλονται (Khuri & Mukhopadhyay, 2010).

Από την άλλη πλευρά, ο σχεδιασμός Box-Behnken είναι μια άλλη αποτελεσματική προσέγγιση στη μεθοδολογία της επιφανειακής απόκρισης, ιδίως όταν ο αριθμός των πειραμάτων πρέπει να μειωθεί περαιτέρω σε σύγκριση με τον CCD. Αυτός ο σχεδιασμός αποτελεί ειδική περίπτωση του παραγοντικού σχεδιασμού τριών επιπέδων. Δεν περιέχει παραγοντικά σημεία ή αξονικά σημεία στα άκρα των επιπέδων των παραγόντων, αλλά αντίθετα εστιάζει στα μεσαία σημεία των άκρων του παραγοντικού κύβου και στα κεντρικά σημεία. Αυτή η δομή καθιστά τον σχεδιασμό Box-Behnken λιγότερο επιρρεπή σε ακραίες συνθήκες που θα μπορούσαν να οδηγήσουν σε μη πρακτικά ή μη ασφαλή πειράματα, ιδίως στα προκαταρκτικά στάδια της έρευνας (Li et al., 2021).

Ο σχεδιασμός Box-Behnken είναι ιδιαίτερα πλεονεκτικός όταν πρόκειται για πειράματα όπου οι ακραίες τιμές των παραγόντων δεν είναι επιθυμητές ή πρακτικές. Ο σχεδιασμός του είναι λιγότερο απαιτητικός όσον αφορά τον συνολικό αριθμό των απαιτούμενων πειραμάτων σε σύγκριση με το CCD, γεγονός που τον καθιστά μια οικονομικά αποδοτική επιλογή, ενώ παράλληλα παρέχει μια αξιόπιστη ανάλυση των κύριων επιδράσεων και των επιδράσεων αλληλεπίδρασης των μεταβλητών (Li et al., 2021).

Τόσο ο σχεδιασμός CCD όσο και ο σχεδιασμός Box-Behnken απαιτούν τη μεταβολή κάθε παράγοντα σε τουλάχιστον τρία επίπεδα: χαμηλό, μεσαίο και υψηλό. Αυτή η πολυεπίπεδη παραλλαγή είναι θεμελιώδης για την καταγραφή της πλήρους εικόνας της συμπεριφοράς του συστήματος. Με τη συστηματική διερεύνηση αυτών των επιπέδων, οι ερευνητές μπορούν να επιτύχουν πληρέστερη κατανόηση του τρόπου με τον οποίο κάθε μεταβλητή αλληλεπιδρά με άλλες και του συλλογικού τους αντίκτυπου στην απόκριση. Αυτή η ολοκληρωμένη διερεύνηση είναι το κλειδί για τον εντοπισμό του βέλτιστου συνόλου συνθηκών για την επιθυμητή απόκριση, καθώς και για την κατανόηση της φύσης των σχέσεων μεταξύ των εμπλεκόμενων παραγόντων (Myers et al., 2016).

Μετά τη διεξαγωγή των πειραμάτων, το επόμενο βήμα είναι η ανάλυση των δεδομένων με τη χρήση ανάλυσης παλινδρόμησης. Αυτό περιλαμβάνει την προσαρμογή ενός πολυωνυμικού μοντέλου στα δεδομένα, το οποίο θα μπορούσε να είναι γραμμικό, τετραγωνικό ή ακόμη και κυβικό, ανάλογα με την πολυπλοκότητα του συστήματος και την καμπυλότητα της επιφάνειας απόκρισης που παρατηρείται στα δεδομένα. Το μοντέλο χρησιμοποιείται στη συνέχεια για τη δημιουργία επιφανειών απόκρισης και περιγράμματος, τα οποία είναι γραφικές αναπαραστάσεις της σχέσης μεταξύ των μεταβλητών και της απόκρισης. Αυτά τα οπτικά εργαλεία είναι ανεκτίμητα για τον εντοπισμό των συνθηκών που βελτιστοποιούν την απόκριση (Mäkelä, 2017).

Μετά την εκτέλεση των πειραμάτων στο πλαίσιο της μεθοδολογίας της επιφανειακής απόκρισης, ακολουθεί η ανάλυση των δεδομένων. Η φάση αυτή, καθοριστική για την αποκρυπτογράφηση των περίπλοκων σχέσεων μεταξύ των μεταβλητών και του αντίκτυπου στην απόκριση, διέπεται κυρίως από τις αρχές της ανάλυσης παλινδρόμησης. Η ανάλυση παλινδρόμησης σε αυτό το πλαίσιο δεν είναι απλώς ένα στατιστικό εργαλείο-είναι η γέφυρα που συνδέει τα εμπειρικά δεδομένα με ουσιαστικά συμπεράσματα, μετατρέποντας τα ακατέργαστα δεδομένα σε ένα κατανοητό μοντέλο που αποκαλύπτει

τα υποκείμενα πρότυπα και τις αλληλεπιδράσεις στο πειραματικό σύστημα. Σημαντικό τμήμα αυτής της ανάλυσης είναι η προσαρμογή ενός πολυωνυμικού μοντέλου στα πειραματικά δεδομένα. Η διαδικασία αυτή περιλαμβάνει την επιλογή ενός μαθηματικού μοντέλου που αναπαριστά καλύτερα τη σχέση μεταξύ των ανεξάρτητων μεταβλητών (των παραγόντων που μεταβλήθηκαν κατά τη διάρκεια των πειραμάτων) και της εξαρτημένης μεταβλητής (της παρατηρούμενης απόκρισης). Η επιλογή του μοντέλου - γραμμικό, τετραγωνικό ή κυβικό - εξαρτάται σε μεγάλο βαθμό από τη φύση του υπό εξέταση συστήματος και την παρατηρούμενη συμπεριφορά της επιφάνειας απόκρισης (Mäkelä, 2017).

Σε απλούστερα συστήματα, όπου η απόκριση μεταβάλλεται αναλογικά με τις μεταβολές των μεταβλητών, μπορεί να αρκεί ένα γραμμικό μοντέλο. Ωστόσο, σε πολλές πρακτικές καταστάσεις, ιδίως σε τομείς όπως η χημική μηχανική ή η φαρμακολογία, η σχέση μεταξύ μεταβλητών και αποκρίσεων είναι σπάνια γραμμική. Σε αυτές τις περιπτώσεις, τα τετραγωνικά ή κυβικά μοντέλα είναι καταλληλότερα, καθώς μπορούν να φιλοξενήσουν την καμπυλότητα και τις πιο σύνθετες αλληλεπιδράσεις που παρατηρούνται στην επιφάνεια απόκρισης. Ένα τετραγωνικό μοντέλο, για παράδειγμα, μπορεί να συλλάβει όχι μόνο τις άμεσες επιδράσεις των μεταβλητών και τις αμφίδρομες αλληλεπιδράσεις τους, αλλά και τις τετραγωνικές επιδράσεις, οι οποίες υποδηλώνουν την παρουσία καμπυλότητας στην επιφάνεια απόκρισης. Για ακόμη πιο πολύπλοκα συστήματα, όπου η επιφάνεια απόκρισης παρουσιάζει σοβαρή καμπυλότητα ή σημεία καμπής, ένα κυβικό μοντέλο μπορεί να είναι απαραίτητο για την ακριβή αποτύπωση της σχέσης (Clément et al., 2019).

Μόλις επιλεγεί και προσαρμοστεί στα δεδομένα ένα κατάλληλο μοντέλο, το επόμενο βήμα περιλαμβάνει τη δημιουργία επιφανειών απόκρισης και περιγράμματος. Αυτές οι γραφικές αναπαραστάσεις είναι ισχυρά εργαλεία της μεθοδολογίας επιφανειακής απόκρισης. Μια επιφάνεια απόκρισης είναι ένα τρισδιάστατο διάγραμμα που δείχνει τη σχέση μεταξύ δύο μεταβλητών και της απόκρισης, κρατώντας τις άλλες μεταβλητές σταθερές. Παρέχει μια οπτική αναπαράσταση του τρόπου με τον οποίο η απόκριση μεταβάλλεται με τις αλλαγές στις μεταβλητές και μπορεί να αποκαλύψει περιοχές του πειραματικού χώρου όπου η απόκριση μεγιστοποιείται ή ελαχιστοποιείται (Clément et al., 2019).

Από την άλλη πλευρά, τα διαγράμματα περιγράμματος προσφέρουν μια δισδιάστατη προβολή της ίδιας σχέσης. Αυτά τα διαγράμματα εμφανίζουν γραμμές σταθερής απόκρισης, που μοιάζουν με τοπογραφικούς χάρτες, και είναι ιδιαίτερα χρήσιμα για τον εντοπισμό βέλτιστων συνθηκών. Εξετάζοντας τα περιγράμματα, μπορεί κανείς να διακρίνει τους συνδυασμούς μεταβλητών που αποδίδουν παρόμοιες αποκρίσεις και να εντοπίσει τις συνθήκες που οδηγούν στο επιθυμητό αποτέλεσμα. Αυτά τα οπτικά εργαλεία δεν είναι απλώς για παρουσίαση- παίζουν κρίσιμο ρόλο στην ανάλυση και την ερμηνεία των πειραματικών δεδομένων. Διευκολύνουν τον εντοπισμό των βέλτιστων συνθηκών - συνδυασμών μεταβλητών που οδηγούν στην καλύτερη δυνατή απόκριση. Επιπλέον, βοηθούν στην κατανόηση της ευαισθησίας της απόκρισης στις αλλαγές των μεταβλητών, η οποία είναι ζωτικής σημασίας για τον έλεγχο και τη βελτιστοποίηση της διαδικασίας (Yolmeh & Jafari, 2017).

Στο πεδίο του πειραματικού σχεδιασμού, ιδίως στο πλαίσιο της μεθοδολογίας της επιφανειακής απόκρισης, η επικύρωση του μοντέλου αποτελεί ένα κομβικό στάδιο, το οποίο γεφυρώνει το χάσμα μεταξύ των θεωρητικών προβλέψεων και της πρακτικής εφαρμογής. Η επικύρωση του μοντέλου δεν είναι απλώς ένα διαδικαστικό βήμα- είναι μια απόδειξη της αξιοπιστίας και της ευρωστίας του μοντέλου. Η φάση αυτή είναι απαραίτητη για να διασφαλιστεί ότι το μοντέλο όχι μόνο ταιριάζει καλά στα δεδομένα, αλλά και ότι αντιπροσωπεύει με ακρίβεια τα υποκείμενα φυσικά ή χημικά φαινόμενα και μπορεί να προβλέπει αξιόπιστα τα αποτελέσματα υπό ποικίλες συνθήκες (Cai et al., 2019).

Η διαδικασία επικύρωσης του μοντέλου περιλαμβάνει συνήθως τη διεξαγωγή μιας σειράς πρόσθετων πειραμάτων. Τα πειράματα αυτά είναι στρατηγικά σχεδιασμένα για να ελέγχουν τις προβλέψεις του μοντέλου. Ιδανικά, διεξάγονται σε ή κοντά στις βέλτιστες συνθήκες που προτείνει το μοντέλο. Αυτή η στοχευμένη προσέγγιση είναι σκόπιμη - εστιάζοντας στις συνθήκες στις οποίες το μοντέλο προβλέπει τα καλύτερα αποτελέσματα, η διαδικασία επικύρωσης αξιολογεί άμεσα την ικανότητα του μοντέλου να προσδιορίζει τις βέλτιστες λειτουργικές παραμέτρους (Cai et al., 2019).

Κατά την επικύρωση του μοντέλου, τα πραγματικά πειραματικά αποτελέσματα συγκρίνονται σχολαστικά με τις προβλεπόμενες τιμές που προκύπτουν από το μοντέλο. Η σύγκριση αυτή είναι κρίσιμη, καθώς αποκαλύπτει το βαθμό στον οποίο το μοντέλο

μπορεί να εμπιστευθεί ότι κάνει ακριβείς προβλέψεις. Εάν το μοντέλο είναι ακριβές, θα παρατηρηθεί ισχυρή συσχέτιση μεταξύ των προβλεπόμενων και των πραγματικών αποτελεσμάτων. Τα πειραματικά αποτελέσματα θα αντικατοπτρίζουν στενά τις προβλέψεις του μοντέλου, επικυρώνοντας έτσι την αποτελεσματικότητα του μοντέλου (Yolmeh & Jafari, 2017).

Η μεθοδολογία της επιφανειακής απόκρισης χρησιμοποιείται ευρέως στη βελτιστοποίηση διεργασιών επειδή προσφέρει μια συστηματική προσέγγιση για τη διερεύνηση πολύπλοκων συστημάτων. Είναι ιδιαίτερα χρήσιμη όταν οι σχέσεις μεταξύ των μεταβλητών δεν είναι απλές και περιλαμβάνουν αλληλεπιδράσεις. Με την αποτελεσματική διερεύνηση του πειραματικού χώρου, η μεθοδολογία αυτή εξοικονομεί χρόνο και πόρους, καθιστώντας την πολύτιμο εργαλείο στην έρευνα και την ανάπτυξη (Khuri & Mukhopadhyay, 2010)

ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

6.1 Σκοπός

Σκοπός της παρούσας μεταπτυχιακής εργασίας είναι η μελέτη της επίδρασης των παραμέτρων ελαιοποίησης (ποσότητα προστιθέμενου νερού κατά τη μάλαξη) καθώς και της χρήσης τεχνολογικών βοηθημάτων όπως είναι το αλάτι, στη συγκέντρωση των τοκοφερολών του ελαιολάδου.

6.2 Δείγματα μελέτης

Ελαιόκαρπος ποικιλίας Κορωνέικη συλλέχθηκε κατά την ελαιοκομική περίοδο 2022-2023, από ελαιώνα στην Καλαμάτα.

6.2.1 Προσδιορισμός βαθμού ωριμότητας

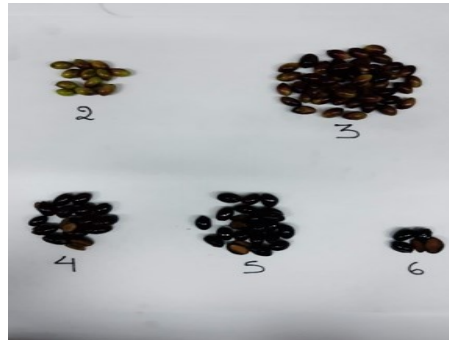
Η πορεία ωρίμανσης του ελαιόκαρπου δύναται να γίνει αισθητή οπτικά από τις εξωτερικές χρωματικές μεταβολές που υπόκειται το χρώμα. Η σταδιακή χρωματική μετάβαση ξεκινά με βαθύ πράσινο χρώμα σε μωβ και στο τέλος μαύρος χρωματισμός. Κατά την ωρίμανση αλλάζει και η υφή της σάρκας καθώς επίσης και τα αισθητηριακά χαρακτηριστικά του ελαιολάδου. Επιπλέον, εάν τα αισθητηριακά χαρακτηριστικά των ελιών εμφανίζουν ένα έντονο φρουτώδες άρωμα και η ελεύθερη οξύτητα κυμαίνεται μεταξύ 0,1 και 0,3%, αυτό είναι το βέλτιστο σημείο ωρίμανσης.

Για μεγαλύτερη ευχέρεια του χειριστή, έχει δημιουργηθεί ένα σύστημα ταξινόμησης των ελιών, με βάση τα χρωματικά κριτήρια.

Πίνακας 6.1 : Δείκτης ωριμότητας των ελιών (Πηγή:ΙΟΟ)

Κατηγορία 0	Χρώμα δέρματος βαθύ πράσινο
Κατηγορία 1	Χρώμα δέρματος κίτρινο-πράσινο
Κατηγορία 2	Χρώμα δέρματος πράσινο με ερυθρές κουκίδες < μισή επιφάνεια του καρπού
Κατηγορία 3	Αρχή της αλλαγής χρώματος Χρωματισμός δέρματος με > από τη μισή επιφάνεια του δέρματος να αλλάζει σε ερυθρό ή μωβ
Κατηγορία 4	Τέλος της αλλαγής χρώματος Χρωματισμός δέρματος μαύρος με λευκή σάρκα
Κατηγορία 5	Χρωματισμός δέρματος μαύρος με < από τη μισή επιφάνεια της σάρκας να γίνεται μωβ
Κατηγορία 6	Χρωματισμός δέρματος μαύρος με το μωβ χρώμα της σάρκας να μην φτάνει στον πυρήνα
Κατηγορία 7	Χρωματισμός δέρματος μαύρος με το μωβ χρώμα της σάρκας να φτάνει στον πυρήνα

Για να μπορέσει να γίνει ορθή αξιολόγηση του δείκτη ωριμότητας των ελιών πρέπει να ληφθεί ένας πληθυσμός από το δείγμα που επρόκειτο να οδηγηθεί για ανάλυση. Οπότε, από όλο το δείγμα, λαμβάνονται τυχαία 100 ελιές. Σε αυτόν τον πληθυσμό, γίνεται η ταξινόμηση των καρπών ένα κάθε φορά. (International olive council)



Εικόνα 6.1: Δείγματα ελιών για προσδιορισμό βαθμού ωριμότητας. (Πηγή: Προσωπικό αρχείο)

Ο δείκτης ωριμότητας λαμβάνεται με εφαρμογή του παρακάτω τύπου όπου A, B, C, D, E, F, G και H είναι ο αριθμός των καρπών σε κάθε κατηγορία χρωμάτων 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, και 7 αντίστοιχα:

$$M.I. = \frac{A0 + B1 + C3 + D4 + E5 + G6 + H7}{100}$$

Όπως προκύπτει από το δειγματικό πληθυσμό που χρησιμοποιήθηκε για τον προσδιορισμό του βαθμού ωριμότητας των ελιών και ύστερα από υπολογισμούς, ο βαθμός ωριμότητας των ελιών αντιστοιχεί σε 1,5.

Αναφορικά με την απόδοση του ελαιολάδου, χρησιμοποιήθηκε ο τύπος που ορίζεται από τον IOC και εκφράζονται σε ποσοστό τοις εκατό, $TOC (\%) = \frac{\text{weight of oil}}{\text{weight of paste}} \times 100$.

Τα αποτελέσματα αυτής της εξίσωσης αναφέρονται στον πίνακα 6.2.

6.3 Παράμετροι ελαιοποίησης

Χρησιμοποιήθηκαν 18kg ελιών, τα οποία μοιράστηκαν σε τρία μέρη των 6 kg. Στη συνέχεια τα 6 kg χωρίστηκαν σε τρία μέρη των 2 kg.

Τα ακόλουθα βήματα πραγματοποιήθηκαν σε κάθε δειγματικό πληθυσμό των 2 kg:

- i. Πλύσιμο και αποφύλλωση των καρπών.
- ii. Τοποθέτηση των καρπών στο μύλο και άλεσή τους.

- iii. Χωρισμός της πάστας σε τρία μέρη ζυγίζοντας 500 g πάστας σε κάθε σκεύος με ακρίβεια 2 δεκαδικών ψηφίων.
- iv. Συνθήκες μάλαξης: Πριν την έναρξη της μάλαξης προστέθηκε 1% m/m ταλκ (5 g) και η αντίστοιχη ποσότητα άλατος. Έγινε ανάδευση των δειγμάτων για 1 min και στη συνέχεια πραγματοποιήθηκε η μάλαξη. Στην ίδια θερμοκρασία, πραγματοποιούνται ταυτόχρονα 3 μαλάξεις που αντιστοιχούν σε 30 °C / 30 min. -10 λεπτά πριν το τέλος κάθε μάλαξης, προστίθενται η αντίστοιχη ποσότητα 100 ή 200 mL καυτού νερού βρύσης με ογκομετρικό κύλινδρο και συνεχίζεται η μάλαξη.
- v. Πραγματοποιείται η πρώτη φυγοκέντρηση και μια δεύτερη στην οποία προστίθεται 100 mL καυτού νερού. Ύστερα συλλέγεται το έλαιο. Το ίδιο επαναλαμβάνεται σε όλα τα δείγματα. Παραμένουν τα δείγματα για 1 h σε σκοτάδι και στο τέλος σημειώνεται ο όγκος του ελαίου.
- vi. Κάθετη φυγοκέντρηση: Παραλαμβάνεται το έλαιο με σύριγγα των 50mL και μεταφέρεται σε falcon των 50 mL. Η φυγοκέντρηση διαρκεί 15min και στη συνέχεια τα δείγματα αποθηκεύονται σε σκουρόχρωμα μπουκάλια τα οποία έχουν προηγουμένως επισημανθεί.
- vii. Αφαιρείται η περίσσεια οξυγόνου με χρήση αζώτου και τα μπουκάλια αποθηκεύονται στους -20 °C .

Πίνακας 6.2: Πίνακας δειγμάτων

Δείγμα	NaCl (%)	H ₂ O (ml)	Πάστα ελιάς (g)	Ελαιόλαδο (mL)	TOC (%)
Δ1H1	10	200	500,21	75	14,99
Δ1H2	0	200	501,42	45	8,97
Δ1H3	5	100	501,34	95	18,95
Δ2H1	10	200	501,41	60	11,96
Δ2H2	5	100	501,26	95	78,95
Δ2H3	1.8	200	500,59	18	3,60
Δ3H1	5	200	500,65	60	11,98
Δ3H2	0	100	500,60	65	12,98
Δ3H3	10	100	500,72	95	18,97
Δ4H1	0	100	500,19	85	16,99
Δ4H2	5	200	500,28	75	14,99

Δ4H3	10	0	500,82	95	18,97
Δ5H1	3.5	200	500,24	65	12,99
Δ5H2	10	200	500,43	75	14,99
Δ5H3	0	200	500,98	30	5,99
Δ6H1	7.7	200	501,01	80	15,97
Δ6H2	7.5	100	500,39	95	18,99
Δ6H3	0	200	500,05	20	3,99
Δ7H1	2.5	100	500,18	65	12,99
Δ7H2	5	100	500,27	85	16,99
Δ7H3	5	200	500,68	45	8,99

6.4 Προσδιορισμός Τοκοφερολών με υγρή χρωματογραφία

Ο προσδιορισμός των τοκοφερολών στα δείγματα ελαιολάδου πραγματοποιήθηκε με υγρή χρωματογραφία υψηλής επίδοσης (HPLC). Η μέθοδος αυτή για τον προσδιορισμό των τοκοφερολών συστήνεται από τον IUPAC (International Union of Pure and Applied Chemistry) και ακολουθήθηκαν όλα τα βήματα που περιγράφονται από αυτόν.

Εργαστηριακός εξοπλισμός

Αντιδραστήρια

- ❖ Εξάνιο
- ❖ Πρότυπη ουσία α-τοκοφερόλη
- ❖ 1,4 Διοξάνιο

Υλικά - Σκεύη

- ✓ Μηχανικές πιπέτες
- ✓ Ογκομετρικές φιάλες (10, 25, 50 mL)
- ✓ Σιφώνια πληρώσεως, χωρητικότητας (5 , 10, 20 mL)
- ✓ Σφαιρικές φιάλες
- ✓ Πλαστικές σύριγγες, φίλτρα PVDF 0,45 μm
- ✓ Φιαλίδια HPLC
- ✓ Συσκευή διήθησης κενού, Millipore

Συσκευές

- ♦ Αναλυτικός ζυγός, METTLER AE200
- ♦ Σύστημα υγρής χρωματογραφίας JASCO

6.4.1 Πειραματική πορεία για την υγρή χρωματογραφία υψηλής επίδοσης

Στον ακόλουθο πίνακα παρουσιάζονται οι συνθήκες ανάλυσης στην υγρή χρωματογραφία.

Πίνακας 6.3: Συνθήκες ανάλυσης με υγρή χρωματογραφία

Αντλία Αυτόματος δειγματολήπτης	JASCO PU – 2089 Plus JASCO AS - 1555	
Στήλη χρωματογραφίας	Restek DB Silica 5 μm , 250 x 4.6 mm, 140 Å	
Ανιχνευτής	Ανιχνευτής φθορισμού FP-920	Μήκος κύματος διέγερσης: 295 nm Μήκος κύματος εκπομπής: 330 nm
Σύστημα έκλουσης διαλυτών	Ισοκρατικό (Εξάνιο/1,4- διοξάνιο, 97:3 v/v)	
Ροή: 1,5 mL/min		

Προετοιμασία δειγμάτων ελαιολάδων και προτύπων

Παρασκευή μητρικού διαλύματος

Ζυγίζονται 0,01 g της πρότυπης ουσίας σε ογκομετρική φιάλη των 50 mL και αραιώνεται μέχρι την χαραγή με n-εξάνιο. Η συγκέντρωση της πρότυπης ουσίας ύστερα από την αρραίωση είναι 200 $\mu\text{g/mL}$.

Παρασκευή διαλύματος εργασίας

Πρέπει να παρασκευαστεί ένα κατάλληλο πρότυπο διάλυμα, ανάλογα με την ευαισθησία του χρησιμοποιούμενου ανιχνευτή φθορισμού. Εκτελείται κατάλληλη αρραίωση με εξάνιο του μητρικού διαλύματος ώστε να προκύψει διάλυμα εργασίας με συγκέντρωση 1-5 $\mu\text{g/mL}$. Παρασκευάστηκε διάλυμα 2 $\mu\text{g/mL}$ άρα 100 μL πρότυπης ουσίας σε ογκομετρική των 10ml.

Προετοιμασία κινητής φάσης

Η αναλογία της κινητής φάσης είναι 97 : 3, εξάνιο : 1,4 διοξάνιο. Για την προετοιμασία 500 mL αναμείχθηκαν 485 mL εξάνιο με 15 mL 1,4 διοξάνιο. Ύστερα από την προετοιμασία της κινητής φάσης ακολουθεί απαέρωσή της.



Εικόνα 6.2: Διήθηση κινητής φάσης στη συσκευή διήθησης κενού, Millipore (Πηγή: Προσωπικό αρχείο)

Προετοιμασία δειγμάτων για την υγρή χρωματογραφία

Ζυγίζονται 0,1 g ελαιολάδου από το κάθε δείγμα. Σε ογκομετρική φιάλη των 10 mL διαλύεται το δείγμα σε εξάνιο. Το διάλυμα διηθείται μέσω φίλτρου σύριγγας (Nylon, 0,45 μm). Πριν την ανάλυση εξισορροπείται το σύστημα αντλώντας την κινητή φάση στη στήλη με ροή 1 mL/min για τουλάχιστον 30 min. Τα πρότυπα διαλύματα και τα δείγματα τοποθετούνται στον δίσκο του αυτόματου δειγματολήπτη. Ο όγκος έκχυσης είναι 20 μL . Καταγράφονται τα χρωματογραφήματα και τα εμβαδά των κορυφών. Γίνεται μέτρηση της μέγιστης απορρόφησης αυτού του διαλύματος στα 292 nm. Στο τέλος της ανάλυσης όλων των δειγμάτων, η χρωματογραφική στήλη εκπλένεται με διάλυμα n-εξανίου για τουλάχιστον 15 min.

6.4.2 Υπολογισμοί

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

Όπου:

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

ρ είναι η συγκέντρωση τοκοφερόλης στο πρότυπο διάλυμα, σε $\mu\text{g/mL}$ (= 2,40 $\mu\text{g/mL}$)

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

\bar{A}_t είναι η τιμή των εμβαδών του κάθε δείγματος δοκιμής

m είναι η μάζα του δείγματος δοκιμής σε g

V είναι ο όγκος του παρασκευασθέντος διαλύματος δοκιμής (= 10 mL)

6.5 Στατιστικές μέθοδοι βελτιστοποίησης

Προκειμένου να αξιολογηθούν οι παράγοντες που επιλέχθηκαν στην παρούσα μελέτη ως προς την αποτελεσματικότητά τους στην συγκέντρωση της α-τοκοφερόλης, εφαρμόστηκε Κεντρικός Σύνθετος Σχεδιασμός (Central Composite Design) CCD που αποτελείται από 20 πειράματα ώστε να βρεθούν τα βέλτιστα επίπεδα των παραγόντων (αλάτι, νερό) για την απόκριση (συγκέντρωση α-τοκοφερόλης mg/Kg ελαιόλαδου). Η βελτιστοποίηση της απόκρισης έγινε με τη χρήση συνάρτησης επιθυμίας από το Λογισμικό Design-Expert 11.0.5.0 (Stat-Ease, Inc., Minneapolis, MN, USA).

7. Αποτελέσματα και Συζήτηση

7.1 Αποτελέσματα Προσδιορισμού α-τοκοφερόλης

Στον πίνακα 7.1 παρουσιάζονται τα αποτελέσματα που προέκυψαν αναφορικά με την περιεκτικότητα σε α-τοκοφερόλη των ελαιολάδων εκφρασμένη ως mg α-τοκοφερόλης/kg ελαιολάδου.

Πίνακας 7.1: Συγκέντρωση α-τοκοφερόλης (mg/Kg ελαιολάδου) στα δείγματα ελαιολάδου

Δείγμα	m(g)	\bar{A}_t	mg α-τοκοφερόλης/kg ελαιολάδου
α-Τοκοφερόλη	2,40 µg/mL		
cal 1	0,0120	14,76143	
cal5	0,0120	14,07819	
Δ1H1	0,1122	3,25713	51,24
Δ1H2	0,1117	3,30948	52,29
Δ1H3	0,1158	3,26094	49,70
Δ2H1	0,1209	3,48533	50,88
Δ2H2	0,1063	2,83364	47,05
Δ2H3	0,1120	3,29361	51,90
Δ3H1	0,1180	3,42720	51,26
Δ3H2	0,1575	4,44867	49,85
Δ3H3	0,1192	3,22730	47,79
cal 2	0,0120	13,55365	
Δ4H1	0,1032	2,99646	51,25
Δ4H2	0,1256	3,23819	45,51
Δ4H3	0,1179	2,94682	44,12
Δ5H1	0,1700	4,97302	51,63
Δ5H2	0,1196	3,31139	48,87
Δ5H3	0,1070	2,92850	48,31
Δ6H1	0,1011	2,36829	41,35
Δ6H2	0,1026	2,51345	43,24
cal 3	0,0120	12,45474	
Δ6H3	0,1007	2,92589	51,28
Δ7H1	0,1378	3,20819	41,09
Δ7H2	0,1017	4,17793	72,51
Δ7H3	0,1299	3,44447	46,80
cal 4	0,0120	13,13963	
average			49,43 ± 6,33 mg α-τοκοφερόλη/kg ελαιολάδου

* \bar{A}_t : Τιμή των εμβαδών κάθε δείγματος δοκιμής

Στον πίνακα 7.1, η ονομασία των δειγμάτων πραγματοποιήθηκε ως εξής: όπως αναφέρθηκε παραπάνω, έγινε διαχωρισμός των κιλών ελιών σε δείγματα των 6 κιλών τα οποία στη συνέχεια μοιράστηκαν σε δείγματα των 2 κιλών. Η πάστα που προέκυψε σε κάθε δείγμα των 2 κιλών στη συνέχεια χωρίστηκε σε 3 μέρη. Λαμβάνοντας υπόψη ότι σε κάθε δείγμα χρησιμοποιήθηκαν διαφορετικές ποσότητες σε NaCl, ταλκ και νερό, έπρεπε να υπάρξει και η αντίστοιχη ονομασία για κάθε δείγμα. Οπότε, το Δ αντιπροσωπεύει το κάθε δείγμα των 2 κιλών και το Η αντιπροσωπεύει το δείγμα της πάστας που προέκυψε. Δηλαδή, το Δ1Η1 αφορά από το πρώτο δείγμα των 2 κιλών, το πρώτο μέρος της ελαιόπαστας. Τα cal με την αρίθμησή τους αφορά δείγματα α-τοκοφερόλης που χρησιμοποιήθηκαν στην υγρή χρωματογραφία υψηλής επίδοσης.

Τα αποτελέσματα που παρουσιάζονται στον πίνακα 7.1, έδωσαν μέσο όρο 49,43 mg α-τοκοφερόλης/ kg ελαιολάδου, με τη χαμηλότερη τιμή να ανιχνεύεται στο δείγμα Δ7Η1 (41,09 mg α-τοκοφερόλης/ kg ελαιολάδου) και τη μέγιστη στο δείγμα Δ7Η2 (72,51 mg α-τοκοφερόλης/ kg ελαιολάδου).

Τα παραπάνω δεδομένα μας οδηγούν στο συμπέρασμα ότι η χρήση 5 % NaCl συνδυαστικά με τα 5g ταλκ και τα 100 mL νερού, σε συνθήκες μάλαξης 30°C για 30 min, έδωσαν τα βέλτιστα αποτελέσματα ως προς την περιεκτικότητα του ελαιολάδου σε τοκοφερόλη (Δ7Η2).

Συγκριτικά, στο δείγμα Δ7Η1, όπου είχε γίνει προσθήκη της ίδιας ποσότητας ταλκ και νερού αλλά άλλαζε η ποσότητα του NaCl (2,5 %), έδωσε τη χαμηλότερη απόδοση σε περιεκτικότητα του ελαιολάδου σε τοκοφερόλη.

Η συγκέντρωση της α-τοκοφερόλης ποικίλει μεταξύ των ποικιλιών και της γεωγραφικής προέλευσης. Στη μελέτη των Béchir et al., (2023) ερευνήθηκε η συγκέντρωση του ελαιολάδου σε α-τοκοφερόλες στις Τυνησιακές ποικιλίες Chemlali και Chaaibi. Τα αποτελέσματα που συλλέχθηκαν ήταν $142,83 \pm 1,60$ mg/kg και $301,63 \pm 1,86$ mg/kg αντίστοιχα.

Σε αντίστοιχη μελέτη των Gagour et al. (2024), ο δειγματικός πληθυσμός αφορούσε ποικιλίες στην περιοχή του Μαρόκου. Τα αποτελέσματα έδειξαν αρκετά υψηλή συγκέντρωση στην ποικιλία Picholine φτάνοντας τα $166,3 \pm 5$ g/100g ενώ οι άλλες ποικιλίες είχαν αισθητή διαφορά με μόνο 76,5 – 93,5 g/100 g.

Οι Tuberoso et al., (2016) μελέτησαν τις ιταλικές ποικιλίες Tonda di Villacidro, Tonda di Cagliari, Semidana, και Bosana και προσδιόρισαν ότι η συγκέντρωση της α-τοκοφερόλης στα ακόλουθα επίπεδα: 172,2 mg/kg, 159,3 mg/kg, 181,5 mg/kg, 213,3 mg/kg κατά μέσο όρο, αντίστοιχα.

Σύμφωνα με τους Borges et al., 2017 η ποικιλία Arbequina, με προέλευση την Ισπανία και τη Βραζιλία, είχε περιεκτικότητα σε α-τοκοφερόλη κυμαινόμενη από 92-208 mg/kg στα δείγματα προερχόμενα από την Ισπανία ενώ σε αυτά της Βραζιλίας οι τιμές κυμαίνονται από 147-171 mg/kg.

Οι D. Arslan και M. Schreiner, 2012, μελέτησαν ένα δειγματικό πληθυσμό (Egriburun, Karamani, Halhali, Saurani και Hasebi) στην περιοχή της Τουρκίας, όπου οι ποικιλίες Karamani και Saurani διέθεταν την υψηλότερη συγκέντρωση σε α-τοκοφερόλη από 224–343 mg/kg.

Ωστόσο, τα δεδομένα που προέκυψαν από τη βιβλιογραφία έρχονται σε αντίθεση με τα αποτελέσματα της παρούσας εργασίας όπως φαίνεται και στον πίνακα 7.1. Το πλήθος των τιμών από τη βιβλιογραφία, παρουσιάζει σημαντικές διαφορές από το μέσο όρο των δειγμάτων, καθώς στην παρούσα έρευνα η συγκέντρωση ήταν μόλις 49,43 mg α-τοκοφερόλης / kg ελαιολάδου.

Σε μια παλαιότερη έρευνα για τα ελληνικά ελαιόλαδα, οι Andrikopoulos et al. (1989), συμπέραναν ότι τα παρθένα ελαιόλαδα περιείχαν κατά μέσο όρο 113,81 mg/kg α-τοκοφερόλης, ενώ οι πιο επεξεργασμένες μορφές, όπως τα εξευγενισμένα έλαια και τα υπολείμματα (πυρηνέλαια), παρουσίασαν διαφορετικές συγκεντρώσεις, υποδεικνύοντας ότι τα επίπεδα επεξεργασίας επηρεάζουν σημαντικά την περιεκτικότητα σε τοκοφερόλη. Η μελέτη αυτή ανέδειξε επίσης τη μεταβλητότητα της περιεκτικότητας σε α-τοκοφερόλη μεταξύ των διαφόρων τύπων ελαιολάδου, γεγονός που υποδηλώνει ότι τόσο η ποικιλία ελιάς όσο και η μέθοδος επεξεργασίας διαδραματίζουν καθοριστικό ρόλο. Οι Cayuela & García (2017) χρησιμοποίησαν τη φασματοσκοπία εγγύς υπέρυθρου φωτός για την πρόβλεψη της περιεκτικότητας σε α-τοκοφερόλη σε ελαιόλαδα, επιτυγχάνοντας υψηλή ακρίβεια. Η μέθοδος αυτή αποτελεί μια πολλά υποσχόμενη τεχνική ταχείας αξιολόγησης για τον κλάδο, αναδεικνύοντας τον τρόπο με τον οποίο οι τεχνολογικές εξελίξεις μπορούν να βοηθήσουν στην ταχεία ταξινόμηση των ελαιολάδων με βάση την περιεκτικότητά τους σε βιταμίνη E.

Οι Franco et al., (2014) ανέφεραν σημαντικές διαφορές στα επίπεδα α-τοκοφερόλης μεταξύ διαφορετικών ποικιλιών παρθένων ελαιολάδων από την Extremadura, που κυμαίνονταν από 170 έως 485 mg/kg. Η μελέτη τους διαπίστωσε επίσης μια ισχυρή θετική συσχέτιση μεταξύ της περιεκτικότητας σε α-τοκοφερόλη και της οξειδωτικής σταθερότητας, γεγονός που υποδηλώνει ότι τα υψηλότερα επίπεδα τοκοφερόλης συμβάλλουν στη διατήρηση της ποιότητας του ελαιολάδου με την πάροδο του χρόνου.

Οι Deiana et al., (2002) διερεύνησαν τη σταθερότητα και την αντιοξειδωτική δράση της α-τοκοφερόλης σε εξαιρετικό παρθένο ελαιόλαδο υπό διάφορες συνθήκες και θερμοκρασίες αποθήκευσης. Διαπίστωσαν ότι η εξάντληση της α-τοκοφερόλης συνδέεται στενά με την οξειδωτική υποβάθμιση του ελαίου, αναδεικνύοντας τον κρίσιμο ρόλο της στη διατήρηση της σταθερότητας του ελαίου.

Οι Sayago Gómez et al. (2009) ανέπτυξαν μια μέθοδο φωταύγειας για την αξιολόγηση της α-τοκοφερόλης σε παρθένο ελαιόλαδο, αποδεικνύοντας τις δυνατότητες χρήσης προηγμένων φασματοσκοπικών τεχνικών για τον γρήγορο και ακριβή προσδιορισμό της περιεκτικότητας σε τοκοφερόλη. Τέλος, οι Rastrelli et al. (2002) ανέλυσαν τις μεταβολές της συγκέντρωσης της α-τοκοφερόλης στο εξαιρετικό παρθένο ελαιόλαδο κατά τη διάρκεια ενός έτους υπό διαφορετικές συνθήκες αποθήκευσης. Τα ευρήματά τους έδειξαν σημαντική υποβάθμιση της α-τοκοφερόλης σε πλημελής συνθήκες αποθήκευσης, τονίζοντας τη σημασία της σωστής αποθήκευσης για τη διατήρηση των θρεπτικών και λειτουργικών ιδιοτήτων του ελαιολάδου.

Από κοινού, οι μελέτες αυτές υπογραμμίζουν την πολυπλοκότητα των παραγόντων που επηρεάζουν την περιεκτικότητα σε α-τοκοφερόλη στα ελαιόλαδα, από την ποικιλία της ελιάς και τις μεθόδους επεξεργασίας έως τις συνθήκες αποθήκευσης και τις αναλυτικές τεχνικές. Επίσης διαφαίνεται η σημασία της α-τοκοφερόλης όχι μόνο ως διατροφικό συστατικό αλλά και ως κρίσιμος παράγοντας για την οξειδωτική σταθερότητα και τη διάρκεια ζωής του ελαιολάδου.

7.2 Παράγοντες που επηρεάζουν την απόδοση σε ελαιόλαδο και την περιεκτικότητα σε α-τοκοφερόλη

Η απόδοση σε ελαιόλαδο καθώς και η περιεκτικότητά του σε α-τοκοφερόλη επηρεάζεται από γενετικούς και περιβαλλοντικούς παράγοντες καθώς και από την περίοδο της συγκομιδής και τις συνθήκες αποθήκευσης των καρπών (Gabriel Beltrán et al., 2010)

Από τη μελέτη των Gabriel Beltrán et al., προκύπτει ότι υπάρχει σχέση εξάρτησης μεταξύ της ποικιλίας των καρπών και της ημερομηνίας συγκομιδής. Ο σωστός χρόνος συγκομιδής εξαρτάται από την ποικιλία της ελιάς (γενετικοί παράγοντες), οπότε και οι περίοδοι συγκομιδής ποικίλλουν. Κύριο κριτήριο για τη συγκομιδή αποτελεί το στάδιο ωρίμανσης του καρπού. Στην έρευνά τους προκύπτει ότι καρποί που βρίσκονταν στα στάδια 2 και 3 της ωρίμανσης δεν είχαν τόσο καλή απόδοση και αυτό οφείλεται στη δράση των ενζύμων που παράγονται στο στάδιο της ωρίμανσης (Gabriel Beltrán et al., 2010) Ο ιδανικότερος χρόνος συγκομιδής βρίσκεται στο πρώτο στάδιο ωρίμανσης όπου και παρατηρήθηκαν αρκετά υψηλότερα ποσοστά περιεκτικότητας σε α-τοκοφερόλη και απόδοσης ελαίου. (Rania Ben Hmida et al., 2022)

Τα μετεωρολογικά δεδομένα έχουν επίσης ισχυρό αντίτυπο στη συγκέντρωση του ελαιολάδου καθώς και στη συγκέντρωση των τοκοφερολών. Στην έρευνα των Rania Ben Hmida et al., 2022 αναφέρεται πως οι μεταβολές του καιρού έχουν αρνητικές επιδράσεις. Πιο συγκεκριμένα, οι υψηλές φθινοπωρινές θερμοκρασίες έχουν ως αποτέλεσμα τη μείωση της ανάπτυξης των καρπών και της συσσώρευσης ελαίου. Αυτό συνεπάγεται αλλαγή του χημικού προφίλ του ελαιολάδου σε σύγκριση με αυτό υπό φυσιολογικές καιρικές συνθήκες. Επιπροσθέτως, οι επαναλαμβανόμενες μεταβολές του καιρού από περιόδους ξηρασίας σε απότομη μεταβολή σε περιόδους βροχοπτώσεων έχουν τα αντίστοιχα αποτελέσματα. (Rania Ben Hmida et al., 2022)

Οι ιδανικότερες συνθήκες για υψηλή απόδοση σε ελαιόλαδο και υψηλή περιεκτικότητα σε τοκοφερόλες, είναι αυτές που επικρατούν στο Μεσογειακό κλίμα, το οποίο έχει αποδειχτεί ότι είναι το ιδανικότερο κλίμα για την καλλιέργεια της ελιάς. (Rania Ben Hmida et al., 2022).

Επιπλέον, άλλοι παράγοντες που επηρεάζουν την απόδοση και την ποιότητα του ελαιολάδου είναι οι καλλιεργητικές πρακτικές και η τεχνολογία παραλαβής. Για παράδειγμα, οι Giovacchino et al. (2002) διερεύνησαν πώς οι διάφορες εργασίες που εμπλέκονται στην επεξεργασία της ελιάς, όπως η αφαίρεση των φύλλων και το πλύσιμο των καρπών, επηρεάζουν σημαντικά όχι μόνο την απόδοση του ελαιολάδου αλλά και την ποιότητά του. Διαπίστωσαν ότι διεργασίες, όπως η σύνθλιψη, έχουν άμεσο αντίκτυπο στην περιεκτικότητα του ελαιολάδου σε φαινολικά συστατικά καθώς και στα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά του. Συγκεκριμένα, η χρήση μεταλλικών σπαστήρων τείνει να παράγει λάδι με υψηλότερο ποσοστό σε φαινολικές ενώσεις και πιο έντονη

πικράδα και καυστικότητα λόγω της βίαιης δράσης σύνθλιψης, ενώ οι πέτρινοι μύλοι αποδίδουν ένα πιο ήπιο γευστικό προφίλ.

Οι Erel et al., (2013) διεξήγαγαν μια μελέτη που επικεντρώθηκε στην επίδραση των μακροθρεπτικών συστατικών, ιδίως του αζώτου, στην ποιότητα του ελαιολάδου. Τα ευρήματά τους έδειξαν ότι τα υψηλότερα επίπεδα αζώτου στους καρπούς οδήγησε σε μείωση της περιεκτικότητας σε φαινολικά και αύξηση των πολυακόρεστων λιπαρών οξέων, τα οποία είναι λιγότερο επιθυμητά για τη σταθερότητα και τη γεύση του ελαιολάδου.

Οι Rodrigues et al., (2018) διερεύνησαν την επίδραση της πυκνότητας φύτευσης των δέντρων στην ποιότητα του ελαιολάδου, συμπεραίνοντας ότι οι υψηλότερες πυκνότητες φύτευσης μπορούν να μεταβάλουν το προφίλ των λιπαρών οξέων και να μειώσουν την οξειδωτική του σταθερότητα. Η έρευνά τους υποδηλώνει ότι η στρατηγική διαχείριση της πυκνότητας φύτευσης θα μπορούσε να επηρεάσει όχι μόνο την απόδοση αλλά και τη χημική σύσταση του ελαιολάδου, η οποία με τη σειρά της επηρεάζει τις οργανοληπτικές ιδιότητες και τη διάρκεια ζωής του.

Τέλος, οι Diamantakos et al., (2020) διερεύνησαν τον τρόπο με τον οποίο οι διαφοροποιήσεις στον χρόνο συγκομιδής, τη θερμοκρασία και τη διάρκεια της μαλάξεως επηρεάζουν τα φαινολικά συστατικά του ελαιολάδου. Τα αποτελέσματά τους έδειξαν μια σημαντική συσχέτιση μεταξύ του βαθμού ωρίμανσης και της περιεκτικότητας σε φαινολικά συστατικά, υποδηλώνοντας ότι η νωρίτερη συγκομιδή θα μπορούσε να είναι επωφελής για τη μεγιστοποίηση των ιδιοτήτων του ελαιολάδου που προάγουν την υγεία. Παρατήρησαν επίσης διαφορετικές συμπεριφορές μεταξύ των ποικιλιών ελιάς, υποδεικνύοντας ότι γενετικοί παράγοντες παίζουν επίσης ρόλο στην ποιότητα του ελαιόλαδου.

Συμπερασματικά, οι μελέτες αυτές παρέχουν μια ολοκληρωμένη εικόνα του τρόπου με τον οποίο διάφοροι παράγοντες, από τις τεχνικές καλλιέργειας έως τις συνθήκες επεξεργασίας, επηρεάζουν την ποιότητα και τις χημικές ιδιότητες του ελαιόλαδου. Η κατανόηση αυτών των σχέσεων αποτελεί κλειδί για τους παραγωγούς που στοχεύουν στη βελτιστοποίηση τόσο της απόδοσης όσο και της ποιότητας, γεγονός που υποδηλώνει ότι τόσο οι αγρονομικές πρακτικές όσο και οι τεχνολογίες επεξεργασίας χρειάζονται προσεκτική εξέταση για την παραγωγή ελαιολάδου υψηλής ποιότητας.

7.3 Η επίδραση των συνθηκών ελαιοποίησης στα ποιοτικά χαρακτηριστικά του ελαιολάδου

Η ελαιοποίηση περιλαμβάνει διάφορα κρίσιμα στάδια που επηρεάζουν άμεσα την ποιότητα και τα χαρακτηριστικά του τελικού προϊόντος. Διάφοροι ερευνητές έχουν μελετήσει τα στάδια αυτά, προσφέροντας πολύτιμες πληροφορίες για τη δυναμική της εκχύλισης του ελαιόλαδου και τους παράγοντες που επηρεάζουν την ποιότητά του.

Στη μελέτη τους, οι Fregarane & Salvador (2017) μελέτησαν τη συγκέντρωση των σεκοϊριδοειδών κατά τα στάδια της παραγωγής ελαιόλαδου - σύνθλιψη, μάλαξη και διαχωρισμός. Τα ευρήματά τους συνοψίζουν ότι η συγκέντρωση αυτών των ενώσεων εξαρτάται σημαντικά από την ένταση της σύνθλιψης και την ποικιλία της ελιάς. Η μελέτη αυτή υπογραμμίζει τη δυνατότητα προσαρμογής των συνθηκών ελαιοποίησης προκειμένου να μην επηρεαστεί αρνητικά η περιεκτικότητα του παρθένου ελαιόλαδου σε φαινολικές ουσίες, η οποία είναι ζωτικής σημασίας για τις οργανοληπτικές του ιδιότητες.

Οι Klen και Vodopivec (2012) συνέκριναν τη συγκέντρωση του φαινολικού κλάσματος σε ελαιόλαδα που παραλήφθηκαν κατά την επεξεργασία του ελαιόλαδου από παραδοσιακά συστήματα πρέσας και σύγχρονα συστήματα φυγοκέντρωσης. Διαπίστωσαν ότι, ενώ τα προφίλ των φαινολικών ενώσεων ήταν παρόμοια στα διάφορα συστήματα, η ποσότητα διέφερε, με το σύστημα φυγοκέντρωσης δύο φάσεων να παρουσιάζει τα υψηλότερα ποσοστά μεταφοράς. Αυτό αναδεικνύει τον αντίκτυπο της τεχνολογίας εκχύλισης στο αντιοξειδωτικό δυναμικό του ελαιόλαδου, το οποίο είναι απαραίτητο για τη σταθερότητα και τα οφέλη του για την υγεία.

Οι Artajo et al. (2006) διερεύνησαν τη μεταφορά φαινολικών ενώσεων κατά την εκχύλιση ελαιόλαδου σημειώνοντας ιδιαίτερα τον τρόπο με τον οποίο οι ενώσεις αυτές κατανέμονται μεταξύ του ελαιόλαδου, του πυρήνα και των υγρών αποβλήτων. Τα αποτελέσματά τους υποδεικνύουν βιομετασχηματισμό των φαινολών κατά τη διάρκεια της σύνθλιψης, η οποία επηρεάζει τη χημική σύσταση του τελικού προϊόντος. Συγκεκριμένα, τα ένζυμα όπως οι πολυφαινολοξειδάσες και οι εστέρες υδρολύσης διασπούν τις φαινολικές ενώσεις, με αποτέλεσμα τη μετατροπή τους σε διαφορετικά παράγωγα. Αυτές οι μεταβολές επηρεάζουν τη χημική σύσταση και τις οργανοληπτικές ιδιότητες του τελικού προϊόντος, όπως η γεύση και το άρωμα. Η κατανόηση αυτών των μετασχηματισμών μπορεί να βοηθήσει στη βελτίωση των συνθηκών επεξεργασίας,

επιτρέποντας τη διατήρηση ή την ενίσχυση των επιθυμητών φαινολικών ενώσεων και, κατ' επέκταση, τη βελτίωση της ποιότητας του ελαιολάδου. Η κατανόηση αυτών των μετασχηματισμών μπορεί να βοηθήσει στη βελτιστοποίηση των συνθηκών επεξεργασίας για τη βελτίωση της ποιότητας του ελαιολάδου.

Τέλος, οι Vekiarí και Koutsaftakis (2002) μελέτησαν την επίδραση των συστημάτων και των συνθηκών εκχύλισης στην περιεκτικότητα του ελαιολάδου σε πολυφαινόλες. Η εργασία τους καταδεικνύει ότι ο τύπος του συστήματος εκχύλισης επηρεάζει σημαντικά τη διατήρηση των πολυφαινολών στο λάδι, με τα παραδοσιακά συστήματα να συγκρατούν περισσότερες πολυφαινόλες σε σύγκριση με τα φυγοκεντρικά συστήματα. Η διαπίστωση αυτή είναι ζωτικής σημασίας για τους παραγωγούς που στοχεύουν στη μεγιστοποίηση των οφελών του ελαιολάδου για την υγεία, οι οποίες προέρχονται σε μεγάλο βαθμό από την περιεκτικότητά του σε πολυφαινόλες.

Από την αρχική παραλαβή και προετοιμασία του καρπού έως τα τελικά στάδια καθαρισμού και αποθήκευσης, κάθε βήμα πρέπει να διαχειρίζεται προσεκτικά για την παραγωγή ελαιολάδου υψηλής ποιότητας. Η κατανόηση αυτών των διαδικασιών επιτρέπει στους παραγωγούς να τελειοποιούν τις τεχνικές τους, διασφαλίζοντας ότι το ελαιόλαδο όχι μόνο πληροί τα πρότυπα ποιότητας αλλά και διατηρεί τις θρεπτικές και οργανοληπτικές του ιδιότητες.

7.4 Μεθοδολογία επιφανειακής απόκρισης -D optimal design

Με τη βοήθεια της μεθοδολογίας επιφανειακής απόκρισης (RSM), είναι δυνατός ο προσδιορισμός των σημαντικότερων παραγόντων και των αλληλεπιδράσεών τους. Επιπλέον με την εφαρμογή του πειραματικού σχεδιασμού Κεντρικής Σύνθεσης (CCD) σε συνδυασμό με τη μεθοδολογία επιφανειακής απόκρισης διερευνήθηκε η δυνατότητα βελτιστοποίησης των επιπέδων των παραγόντων α. ποσότητα προστιθέμενου άλατος κατά την μάλαξη και β. ποσότητα νερού κατά τη μάλαξη, με στόχο τον έλεγχο των συγκεντρώσεων της α-τοκοφερόλης στα ανώτατα όρια.

Πίνακας 7.2: D-optimal design δύο μεταβλητών και η τιμή της απόκρισης: συγκέντρωση της α-τοκοφερόλης σε mg/Kg ελαιολάδου

Block	Run	Factor 1 A:salt % m/m	Factor 2 B:water mL	Response 1 R1
Block 1	1	10	200	51,2382
Block 1	2	0	200	50,8826
Block 1	3	5	100	51,2636
Block 1	4	10	200	51,2484
Block 1	5	5	100	49,1948
Block 1	6	1,8	200	41,3461
Block 1	7	5	200	41,0925
Block 2	8	0	100	52,2947
Block 2	9	10	100	47,0503
Block 2	10	0	100	49,8541
Block 2	11	5	200	45,5055
Block 2	12	10	100	48,8687
Block 2	13	3,5	200	43,2389
Block 2	14	10	200	54,7797
Block 3	15	0	200	49,7033
Block 3	16	7,7	200	51,9045
Block 3	17	7,5	100	47,7875
Block 3	18	0	200	43,8044
Block 3	19	2,5	100	48,3073
Block 3	20	5	100	51,2838
Block 3	21	5	200	46,802

Στο Σχήμα 7.1 φαίνεται ότι το μοντέλο που επιλέχθηκε ήταν το 2FI ενώ οι παράγοντες που επισημαίνονται με « m » συμπεριλαμβάνονται στο μοντέλο.

Process Order: 2FI

m	The term will be included in the model.
⚠	Indicates the term is aliased with another term, or was not estimated in the Fit Summary calculations. Including the term in the model is not recommended.
🔒	A user-forced term. Automatic model selection will always produce a model that includes this term.
🔒	Indicates that the term is required to be in the model by the program.

Σχήμα 7.1: Επιλογή μοντέλου

Πίνακας 7.3: Εκτίμηση της σημαντικότητας των παραμέτρων με ανάλυση ANOVA για την συγκέντρωση της α-τοκοφερόλης στο ελαιόλαδο

Παράμετροι	p-value	
Μοντέλο	0,0002	σημαντικό
A-salt	0,0056	
B-water	0,0074	
AB	0,0001	
Έλλειψη προσαρμογής (Lack of Fit)	0,1191	μη σημαντικό

Σύμφωνα με τα αποτελέσματα της ανάλυσης ANOVA το μοντέλο είναι σημαντικό, όπως επίσης και οι δύο παράγοντες (αλάτι και νερό) που επιλέχθηκαν ($p < 0.05$). Σημαντική είναι και η αλληλεπίδραση (AB) μεταξύ της ποσότητας άλατος (A) και του νερού (B) που προστίθεται κατά τη μάλαξη της ελαιόπαστας ($p < 0.05$). Στο Σχήμα 7.1 παρατίθεται το διάγραμμα κατανομής των υπολοίπων (Residuals: διαφορά μεταξύ της προβλεπόμενης και της πειραματικής τιμής) όπου όπως φαίνεται τα σημεία είναι σχεδόν γραμμικά. Το γεγονός αυτό εξηγεί την καλή προσαρμογή του μοντέλου και γι' αυτό η γραφική παράσταση των υπολοίπων παρουσιάζει συμπεριφορά κανονικής κατανομής.

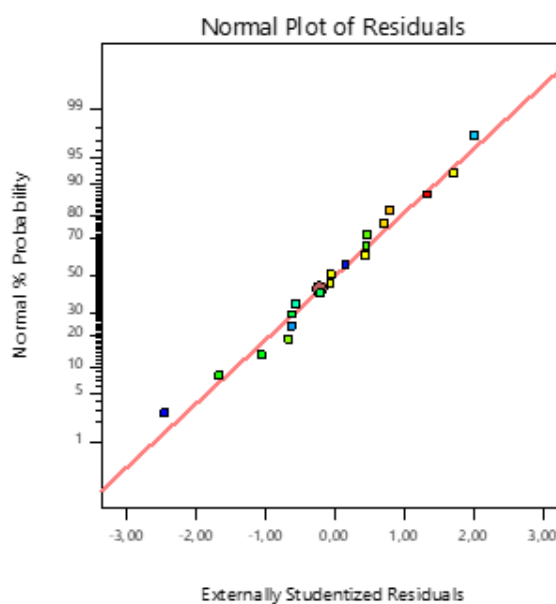
Design-Expert® Software

R1

Color points by value of

R1:

41,0925  54,7797

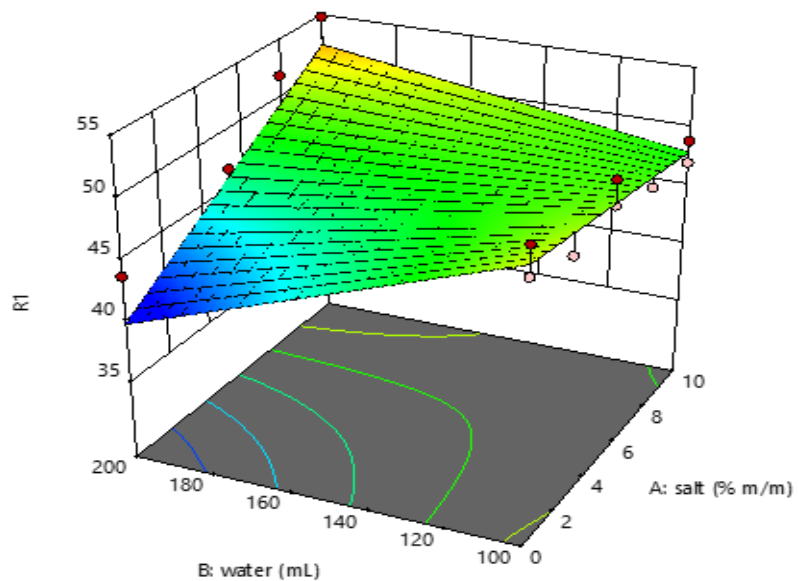


Γράφημα 7.1: Διάγραμμα κανονικών πιθανοτήτων των Residuals στην συγκέντρωση α-τοκοφερόλης

Design-Expert® Software
Factor Coding: Actual

R1
● Design points above predicted value
○ Design points below predicted value
 41,0925 ■ ■ ■ ■ ■ 54,7797

X1 = A: salt
X2 = B: water



Γράφημα 7.2: Επίδραση της ποσότητας άλατος και νερού στη συγκέντρωση της α-τοκοφερόλης

Το Γράφημα 7.2 αποτελεί την τρισδιάστατη απεικόνιση της απόκρισης συναρτήσεως των δύο ανεξάρτητων μεταβλητών. Η περιγραφή γίνεται με τη χρήση ισομετρικών διαγραμμάτων (contour plot) όπου παρατηρείτε πως η αλληλεπίδραση των δύο παραγόντων, 10% άλατος και της παρουσίας 200mL νερού κατά τη μάλαξη αυξάνει το περιεχόμενο σε α-τοκοφερόλη, φτάνοντας το ποσοστό 54,78 mg/Kg ελαιόλαδου.

Βελτιστοποίηση της συγκέντρωσης α-τοκοφερόλης στο ελαιόλαδο

Για τον προσδιορισμό των βέλτιστων συνθηκών χρησιμοποιήθηκε η συνάρτηση επιθυμητότητας (Desirability). Το λογισμικό προτείνει τις βέλτιστες τιμές των παραγόντων για τη μεγιστοποίηση της απόκρισης, οι οποίες όπως φαίνεται στον Πίνακα 7.3 είναι προσθήκη 200mL νερού και 10% άλατος όταν έχει χρησιμοποιηθεί 1% ταλκ κατά τη μάλαξη της ελαιόπαστας.

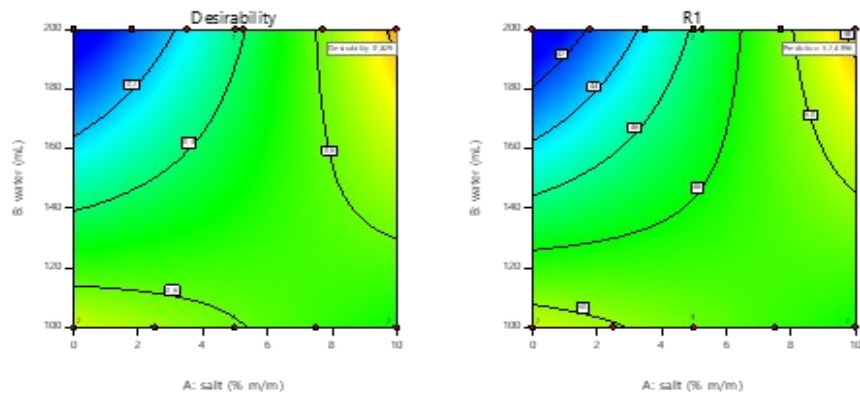
Πίνακας 7.4: Επιλογή των βελτιστοποιημένων παραγόντων

α/α	Ποσότητα άλατος (% w/w)	Ποσότητα νερού (mL)	mg α-τοκοφερόλης/Kg ελαιόλαδου	Επιθυμητότητα
1	10.00	200.00	52,440	0,829
2	10,000	198,563	52,375	0,824
3	10,000	187,226	51,868	0,787
4	0,000	100,000	50,852	0,713

Design-Expert® Software
Factor Coding: Actual

All Responses
● Design Points
0,000 1,000

X1 = A: salt
X2 = B: water



Γράφημα 7.3 : Διάγραμμα των τιμών επιθυμητότητας για την εκχύλιση της α-τοκοφερόλης από την ελαιόπαστα

Η επιθυμητότητα θα πρέπει να είναι κοντά στη μονάδα. Η τιμή επιθυμητότητας 0,829 θα μπορούσε να βελτιστοποιηθεί εάν είχε προηγηθεί ένα βήμα διαλογής προκειμένου να εντοπιστούν εκείνοι οι παράγοντες με τις σημαντικότερες επιδράσεις στην απόκριση.

Επιβεβαίωση του μοντέλου

Η επιβεβαίωση (confirmation) χρησιμοποιείται για να επιβεβαιώσει ότι το μοντέλο μπορεί να προβλέψει τα πραγματικά αποτελέσματα στις βέλτιστες ρυθμίσεις που καθορίζονται από την ανάλυση.

Ένα δείγμα ελαιολάδου εκχυλίστηκε υπό τις βέλτιστες συνθήκες (10% αλάτι και 200mL νερό στη μάλαξη). Ο μέσος όρος της συγκέντρωσης της α-τοκοφερόλης βρέθηκε ίσος με 49,5 mg/Kg ελαιόλαδου που επιβεβαιώνεται από το διάστημα πρόβλεψης $52,4396 \pm 2,15453$. Συνεπώς το μοντέλο που εφαρμόστηκε επιβεβαιώνεται ότι λειτουργεί στο διάστημα πρόβλεψης 95%.

Πίνακας 7.5: Επιβεβαίωση του μοντέλου

Response	Predicted Mean	Predicted Median	Observed	Std Dey	n	SE PRE S	95% PI low	Data Mean	95% PI high
R1	52,4396	52,4396		2,15453	1	2,42705	47,1963	49,5	57,6829

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Η απόδοση του ελαιολάδου εξαρτάται από ποικίλους παράγοντες, όπως είναι οι γενετικοί, οι περιβαλλοντικοί, η περίοδος συγκομιδής καθώς επίσης και οι συνθήκες αποθήκευσης των καρπών. Σε μια προσπάθεια εύρεσης τρόπων βελτίωσης της απόδοσης των ελαιόκαρπων σε ελαιόλαδο, μελετήθηκε η χρήση τεχνολογικών βοηθημάτων όπως είναι το αλάτι και το ταγκ, συνεργατικά με την προσθήκη νερού.

Από την παρούσα μελέτη προκύπτει ότι η καλύτερη απόδοση του ελαιολάδου ως προς την περιεκτικότητα σε α-τοκοφερόλη, παρατηρήθηκε όταν χρησιμοποιήθηκαν 200 mL νερού, 10 % άλατος και 1 % ταγκ στην ελαιόπαστα. Η τιμή που καταγράφηκε ήταν 54,78 mg α-τοκοφερόλης / kg ελαιολάδου. Ωστόσο, τα αποτελέσματα της έρευνας, δε φαίνεται να συμβαδίζουν με τις υπόλοιπες επιστημονικές έρευνες που έχουν πραγματοποιηθεί.

Συμπερασματικά, η χρήση των τεχνολογικών βοηθημάτων κατά το στάδιο της μάλαξης πρέπει να μελετηθεί περισσότερο όπως επίσης και οι συνθήκες της ελαιοποίησης. Με την παρούσα εργασία αποδείχθηκαν τα παραπάνω, ωστόσο υπάρχει περιθώριο για περισσότερη διερεύνηση της χρήσης τους.

BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Andrikopoulos, N. K., Hassapidou, M. N., & Manoukas, A. G. (1989). The tocopherol content of Greek olive oils. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 46(4), 503-509.
- Artajo, L., Romero, M., & Motilva, M. (2006). Transfer of phenolic compounds during olive oil extraction in relation to ripening stage of the fruit. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 86, 518-527. <https://doi.org/10.1002/JSFA.2384>.
- Bajoub, A., Carrasco-Pancorbo, A., Ouazzani, N., & Fernández-Gutiérrez, A. (2014). UHPLC–MS in Virgin Olive Oil Analysis. *Ultra Performance Liquid Chromatography Mass Spectrometry: Evaluation and Applications in Food Analysis*, 213.
- Bechir Baccouri, Theresa Sieren, Salma Nayet Mohamed, Ina Willenberg. (2023) Fingerprinting of tocopherol, phenolic compounds and oxidative properties of unstudied minor and rare Tunisian olive oils, *South African Journal of Botany*, Volume 156, May 2023, Pages 54-64
- Belitz, H. D., Grosch, W., & Schieberle, P. (2009). Legumes. *Food chemistry*, 746-769.
- Boskou, D. (2006). Olive Oil Chemistry and Technology. Department of Chemistry. *Aristotle University of Thessaloniki*.
- Broeckhoven, K., Shoykhet, K., & Dong, M. (2019). Modern HPLC pumps: perspectives, principles, and practices. *LCGC North America*, 37(6), 374-384.
- Cai, S., Lv, W., Zhu, H., Zhang, D., Fu, Z., Zhang, H., & Xu, S. (2019). Effect of nitrogen application rate on soil fungi community structure in a rice-fish mutualistic system. *Scientific Reports*, 9(1), 16188.
- Carlo I. G. Tuberoso, Igor Jerković, Marialuce Maldini, Gabriele Serreli, "Phenolic Compounds, Antioxidant Activity, and Other Characteristics of Extra Virgin Olive Oils from Italian Autochthonous Varieties *Tonda di Villacidro*, *Tonda di Cagliari*, *Semidana*, and *Bosana*", *Journal of Chemistry*, vol. 2016, Article ID 8462741, 7 pages, 2016. <https://doi.org/10.1155/2016/8462741>
- Caponio, F., Squeo, G., Difonzo, G., Pasqualone, A., Summo, C., Paradiso, V.M., 2016. Has the use of talc an effect on yield and extra virgin olive oil quality? *Journal of Science of Food and Agriculture*. 96, 3292–3299. <https://doi.org/10.1002/jsfa.7658>
- Cayuela, J. A., & García, J. F. (2017). Sorting olive oil based on alpha-tocopherol and total tocopherol content using near-infra-red spectroscopy (NIRS) analysis. *Journal of Food Engineering*, 202, 79-88.
- Claverie, A., Dupont, L., & Julien, M. (2018). Industrial applications of talc and its impact on physical properties. *Journal of Material Sciences and Engineering*, 42(3), 117-123.
- Claverie, M., Dumas, A., Carême, C., Poirier, M., Le Roux, C., Micoud, P., ... & Aymonier, C. (2018). Synthetic Talc and Talc-Like Structures: Preparation, Features and Applications. *Chemistry–A European Journal*, 24(3), 519-542.

- Clément, C. C., Cambouris, A. N., Ziadi, N., Zebarth, B. J., & Karam, A. (2019). Nitrogen source and rate effects on residual soil nitrate and overwinter NO₃-N losses for irrigated potatoes on sandy soils. *Canadian Journal of Soil Science*, 100(1), 44-57.
- COI/OH/Doc. No 1 – GUIDE FOR THE DETERMINATION OF THE CHARACTERISTICS OF OIL-OLIVES
- Conte, L. S., Caboni, M. F., & Lercker, G. (1993). Olive oils produced in Romagna. 1: Oils from Lamone river. *Rivista Italiana delle Sostanze Grasse (Italy)*.
- De Blas, O. J., & del Valle González, A. (1996). Determination of sterols by capillary column gas chromatography. Differentiation among different types of olive oil: Virgin, refined, and solvent-extracted. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 73(12), 1685-1689.
- Deiana, M., Rosa, A., Cao, C., Pirisi, F., Bandino, G., & Dessì, M. (2002). Novel approach to study oxidative stability of extra virgin olive oils: importance of alpha-tocopherol concentration. *Journal of agriculture and food chemistry*. 50, 4342-6 . <https://doi.org/10.1021/JF020033T>.
- Diamantakos, P., Giannara, T., Skarkou, M., Melliou, E., & Magiatis, P. (2020). Influence of harvest time and malaxation conditions on the concentration of individual phenols in extra virgin olive oil related to its healthy properties. *Molecules*, 25(10), 2449.
- de Mendoza, M. F., Gordillo, C. D. M., Expósito, J. M., Casas, J. S., Cano, M. M., Vertedor, D. M., & Baltasar, M. N. F. (2013). Chemical composition of virgin olive oils according to the ripening in olives. *141*(3), 2575-2581.
- El Qarnifa, S., El Antari, A., & Hafidi, A. (2019). Effect of maturity and environmental conditions on chemical composition of olive oils of introduced cultivars in Morocco. *Journal of Food Quality*, 2019, 1-14.
- Erel, R., Kerem, Z., Ben-Gal, A., Dag, A., Schwartz, A., Zipori, I., ... & Yermiyahu, U. (2013). Olive (*Olea europaea* L.) tree nitrogen status is a key factor for olive oil quality. *Journal of agriculture and food chemistry*, 61(47), 11261-11272.
- Espadas-Aldana, G., Vialle, C., Belaud, J. P., Vaca-Garcia, C., & Sablayrolles, C. (2019). Analysis and trends for Life Cycle Assessment of olive oil production. *Sustainable Production and Consumption*, 19, 216-230.
- Franco, M., Galeano-Díaz, T., Sánchez, J., Miguel, C., & Martín-Vertedor, D. (2014). Total phenolic compounds and tocopherols profiles of seven olive oil varieties grown in the south-west of Spain. *Journal of oleo science*, 63 2, 115-25 . <https://doi.org/10.5650/JOS.ESS13098>.
- Fregapane, G., & Salvador, M. (2017). Fate and Prediction of Phenolic Secoiridoid Compounds throughout the Different Stages of the Virgin Olive Oil Making Process. *Antioxidants*, 6. <https://doi.org/10.3390/antiox6030061>.
- Garcia, E., Lopez, R., & Fernandez, A. (2019). Enhancing phenolic compound retention in olive oil using talc during extraction. *International Journal of Food Science and Technology*, 54(2), 432-438.

- Garcia-Gonzalez, D. L., & Aparicio, R. (2010). Research in olive oil: challenges for the near future. *Journal of agriculture and food chemistry*, 58(24), 12569-12577.
- Gimeno, E., Castellote, A. I., Lamuela-Raventós, R. M., De la Torre, M. C., & López-Sabater, M. C. (2002). The effects of harvest and extraction methods on the antioxidant content (phenolics, α -tocopherol, and β -carotene) in virgin olive oil. *Food Chemistry*, 78(2), 207-211.
- Giovacchino, L., Sestili, S., & Vincenzo, D. (2002). Influence of olive processing on virgin olive oil quality. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 104, 587-601. 3.0.CO;2-M" target="_blank">[https://doi.org/10.1002/1438-9312\(200210\)104:9/10<587::AID-EJLT587>3.0.CO;2-M](https://doi.org/10.1002/1438-9312(200210)104:9/10<587::AID-EJLT587>3.0.CO;2-M).
- Grams, G. W., & Eskins, K. (1972). Dye-sensitized photooxidation of tocopherols. Correlation between singlet oxygen reactivity and vitamin E activity. *Biochemistry*, 11(4), 606-608.
- Gray, A. (2000). Basic HPLC theory and practice. *Principles and Practice of Bioanalysis*, 44.
- Gunstone, F. D., Harwood, J. L., & Padley, F. B. (1994). Fungal lipids. *The lipid handbook, 2nd ed.* Chapman & Hall, London, United Kingdom, 209-215.
- Hatzakis, E., Koidis, A., Boskou, D., & Dais, P. (2008). Determination of phospholipids in olive oil by ³¹P NMR spectroscopy. *Journal of agricultural and food chemistry*, 56(15), 6232-6240.
- Hearn, M. T. (2017). High-performance liquid chromatography of peptides and proteins: General principles and basic theory. In *High-Performance Liquid Chromatography of Peptides and Proteins* (pp. 95-104). CRC Press.
- Huber, U., & Majors, R. E. (2007). Principles in preparative HPLC. *Agilent Technologies Inc., Germany*, 2, 60-71.
- Inglese, P., Famiani, F., Galvano, F., Servili, M., Esposto, S., & Urbani, S. (2011). 3 factors affecting extra-virgin olive oil composition. *Horticultural reviews*, 38, 83.
- Jamila Gagour, Khaoula El Ghailassi, Mohamed Ibourki, El Hassan Sakar, Said Gharby. (2024) Physicochemical traits of olive fruit and oil from eight Moroccan wild olive (*Olea europaea* L. Subsp. *Oleaster*) populations.
- Jasminka Giacometti, Determination of aliphatic alcohols, squalene, α -tocopherol and sterols in olive oils: direct method involving gas chromatography of the unsaponifiable fraction following silylation (2021)
- Kamal-Eldin, A., & Appelqvist, L. Å. (1996). The chemistry and antioxidant properties of tocopherols and tocotrienols. *Lipids*, 31(7), 671-701.
- Khuri, A. I., & Mukhopadhyay, S. (2010). Response surface methodology. *Wiley Interdisciplinary Reviews: Computational Statistics*, 2(2), 128-149.
- Klen, T., & Vodopivec, B. (2012). The fate of olive fruit phenols during commercial olive oil processing: Traditional press versus continuous two- and three-phase centrifuge. *Lwt - Food Science and Technology*, 49, 267-274. <https://doi.org/10.1016/J.LWT.2012.03.029>.

- Klen, T., Wondra, A., Vrhovsek, U., Sivilotti, P., & Vodopivec, B. (2015). Olive Fruit Phenols Transfer, Transformation, and Partition Trail during Laboratory-Scale Olive Oil Processing.. *Journal of agricultural and food chemistry*, 63 18, 4570-9 . <https://doi.org/10.1021/jf506353z>.
- Koidis, A., & Boskou, D. (2006). The contents of proteins and phospholipids in cloudy (veiled) virgin olive oils. *European journal of lipids and technology*, 108(4), 323-328.
- Koprivnjak, O., Majetić, V., Staver, M. M., Lovrić, A., & Blagović, B. (2010). Effect of phospholipids on extraction of hydrophilic phenols from virgin olive oils. *Food chemistry*, 119(2), 698-702.
- Kornfeldt, A., & Croon, L. B. (1981). 4-demethyl-, 4-monomethyl-and 4, 4-dimethylsterols in some vegetable oils. *Lipids*, 16(5), 306-314.
- Kritikou, E., Kalogiouri, N. P., Kolyvira, L., & Thomaidis, N. S. (2020). Target and Suspect HRMS Metabolomics for the Determination of Functional Ingredients in 13 Varieties of Olive Leaves and Drupes from Greece. *Molecules*, 25(21), 4889.
- Kritikou, Evangelia & Kalogiouri, Natasa & Kolyvira, Lydia & Thomaidis, Nikolaos. (2020). Target and Suspect HRMS Metabolomics for the Determination of Functional Ingredients in 13 Varieties of Olive Leaves and Drupes from Greece. 25. 4889. 10.3390/molecules25214889.
- León, L., Beltrán, G., Aguilera, M. P., Rallo, L., Barranco, D., & De la Rosa, R. (2011). Oil composition of advanced selections from an olive breeding program. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 113(7), 870-875.
- Li, Z., Lu, D., & Gao, X. (2021). Optimization of mixture proportions by statistical experimental design using response surface method-A review. *Journal of Building Engineering*, 36, 102101.
- Liu, H., Wang, Y., & Zhang, J. (2014). Safety and regulatory aspects of cosmetic grade talc: A review. *Journal of Cosmetic Dermatology*, 15(4), 334-340.
- Liu, X., Liu, X., & Hu, Y. (2014). Investigation of the thermal decomposition of talc. *Clays and Clay Minerals*, 62(2), 137-144.
- Lough, W. J., & Wainer, I. W. (Eds.). (1995). *High performance liquid chromatography: fundamental principles and practice*. cRc press.
- Mailer, R. J. (2005). Variation in oil quality and fatty acid composition in Australian olive oil. *Australian Journal of Experimental Agriculture*, 45(1), 115-119.
- Mäkelä, M. (2017). Experimental design and response surface methodology in energy applications: A tutorial review. *Energy Conversion and Management*, 151, 630-640.
- Maria Tasioula-Margari, Otu Okogeri. (2001) Simultaneous determination of phenolic compounds and tocopherols in virgin olive oil using HPLC and UV detection. Volume 74, Issue 3, August 2001, Pages 377-383
- Martinez, L., Sanchez, P., & Torres, M. (2020). Talc in olive oil production: Impacts on yield and quality. *European Journal of Agronomy*, 75, 102-108.

- McKenzie, J. M., & Koch, K. R. (2004). Rapid analysis of major components and potential authentication of South African olive oils by quantitative ¹³C nuclear magnetic resonance spectroscopy. *South African Journal of Science*, 100(7), 349-354.
- Merchak, N., El Bacha, E., Khouzam, R. B., Rizk, T., Akoka, S., & Bejjani, J. (2017). Geoclimatic, morphological, and temporal effects on Lebanese olive oils composition and classification: A ¹H NMR metabolomic study. *Food Chemistry*, 217, 379-388.
- Mikrou, T., Pantelidou, E., Parasyri, N., Papaioannou, A., Kapsokefalou, M., Gardeli, C., & Mallouchos, A. (2020). Varietal and geographical discrimination of Greek monovarietal extra virgin olive oils based on squalene, tocopherol, and fatty acid composition. *Molecules*, 25(17), 3818.
- Mozos, I., Stoian, D., Caraba, A., Malainer, C., Horbańczuk, J. O., & Atanasov, A. G. (2018). Lycopene and vascular health. *Frontiers in pharmacology*, 521.
- Myers, R. H., Montgomery, D. C., & Anderson-Cook, C. M. (2016). *Response surface methodology: process and product optimization using designed experiments*. John Wiley & Sons. March 2016, 856 pages
- Ninni, V. (1999). A statistical approach to the biosynthetic route of fatty acids in olive oil: cross-sectional and time series analyses. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 79(15), 2113-2121.
- Ochando-Pulido, J., Hodaifa, G., Víctor-Ortega, M., Rodríguez-Vives, S., & Martínez-Férez, A. (2013). Reuse of olive mill effluents from two-phase extraction process by integrated advanced oxidation and reverse osmosis treatment.. *Journal of hazardous materials*, 263 Pt 1, 158-67 .
<https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2013.07.015>.
- Ochando-Pulido, J., Stoller, M., Bravi, M., Martínez-Férez, A., & Chianese, A. (2012). Batch membrane treatment of olive vegetation wastewater from two-phase olive oil production process by threshold flux based methods. *Separation and Purification Technology*, 101, 34-41.
<https://doi.org/10.1016/J.SEPPUR.2012.09.015>.
- Okogeri, O., & Tasioula-margari, M. (2002). Changes occurring in phenolic compounds and alpha-tocopherol of virgin olive oil during storage.. *Journal of agriculture and food chemistry*, 50 5, 1077-80 .
- Paiva-Martins, F., & Kiritsakis, A. (2017). Olive fruit and olive oil composition and their functional compounds. *Olives and Olive Oil as Functional Foods: Bioactivity, Chemistry and Processing*, 81-115.
- Psomiadou, E., & Tsimidou, M. (1998). Simultaneous HPLC determination of tocopherols, carotenoids, and chlorophylls for monitoring their effect on virgin olive oil oxidation. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 46(12), 5132-5138.
- Psomiadou, E., Tsimidou, M., & Boskou, D. (2000). α-Tocopherol content of Greek virgin olive oils. *Journal of agricultural and food chemistry*, 48(5), 1770-1775.
- Rabascall, N., & Boatella Riera, J. (1987). Variations of the tocopherols and tocotrienols content in the obtainment, refining and hydrogenation processes of edible oils.

- Grasas y Aceites (Spain)*. Food Chemistry 102(3):812-817, December 2007,102(3):812-817, DOI:[10.1016/j.foodchem.2006.06.016](https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2006.06.016)
- Ranalli, A., & Angerosa, F. (1996). Integral centrifuges for olive oil extraction. The qualitative characteristics of products. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 73(4), 417-422.
- Rania Ben Hmida, Boutheina Gargouri, Fatma Chtourou, Mounir Abichou, Didar Sevim and Mohamed Bouaziz (2022). Study on the Effect of Climate Changes on the Composition and Quality Parameters of Virgin Olive Oil “Zalmati” Harvested at Three Consecutive Crop Seasons: Chemometric Discrimination, 2022 Oct 28;7(44):40078-40090, doi: [10.1021/acsomega.2c04813](https://doi.org/10.1021/acsomega.2c04813). eCollection 2022 Nov 8.
- Rao, C. V., Newmark, H. L., & Reddy, B. S. (1998). Chemopreventive effect of squalene on colon cancer. *Carcinogenesis*, 19(2), 287-290.
- Rapa, M., & Ciano, S. (2022). A review on life cycle assessment of the olive oil production. *Sustainability*, 14(2), 654.
- Rastrelli, L., Passi, S., Ippolito, F., Vacca, G., & Simone, F. (2002). Rate of degradation of alpha-tocopherol, squalene, phenolics, and polyunsaturated fatty acids in olive oil during different storage conditions.. *Journal of agriculture and food chemistry*, 50 20, 5566-70 . <https://doi.org/10.1021/JF011063J>.
- Reiter, B., & Lorbeer, E. (2001). Analysis of the wax ester fraction of olive oil and sunflower oil by gas chromatography and gas chromatography-mass spectrometry. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 78(9), 881-888.
- Ricciarelli, Roberta & Zingg, Jean-Marc & Azzi, Angelo. (2002). The 80th Anniversary of Vitamin E: Beyond Its Antioxidant Properties. *Biological chemistry*. 383. 457-65. 10.1515/BC.2002.048.
- Rodrigues, N., Casal, S., Peres, A. M., Baptista, P., Bento, A., Martín, H., ... & Pereira, J. A. (2018). Effect of olive trees density on the quality and composition of olive oil from cv. Arbequina. *Scientia Horticulturae*, 238, 222-233.
- Rotondo, A., La Torre, G. L., Dugo, G., Cicero, N., Santini, A., & Salvo, A. (2020). Oleic acid is not the only relevant mono-unsaturated fatty ester in olive oil. *FOODS*, 9(4), 1-13.
- Sánchez, S., Olivares, I., Puentes, J. G., Órpez, R., La Rubia, M. D., Pacheco, R., & García Martín, J. F. (2022). Use of Natural Microtals during the Virgin Olive Oil Production Process to Increase Its Content in Antioxidant Compounds. *Processes*, 10(5), 950.
- Santinelli, F., Damiani, P., & Christie, W. W. (1992). The triacylglycerol structure of olive oil determined by silver ion high-performance liquid chromatography in combination with stereospecific analysis. *Journal of the American Oil Chemists Society*, 69, 552-556.
- Sayago Gómez, A., Escuderos Fernández-Calvillo, M. E., Morales Millán, M. T., & Aparicio López, R. (2009). Evaluation of alpha-tocopherol in virgin olive oil by a luminiscent method. *Grasas y aceites*, 60 (4), 336-342.
- Scano, P., Casu, M., Lai, A., Saba, G., Dessi, M. A., Deiana, M., ... & Bandino, G. (1999). Recognition and quantitation of cis-vaccenic and eicosenoic fatty acids in olive oils by ¹³C nuclear magnetic resonance spectroscopy. *Lipids*, 34(7), 757-759.

- Schwartz S., T. Lorenzo, (2002). Chlorophylls in Foods, *CRC Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 29: 1-17, (1990). Servili M., P. Piacquadio, G. De Stefano, et al., Influence of a New Crushing Technique on the Composition of the Volatile Compounds and Related Sensory Quality of Virgin Olive Oil. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* 104: 483-489.
- [Sergio Cruz](#), [Khaled Yousfi](#), [Ana G. Pérez](#), [Cristina Mariscal](#) & [José M. Garcia](#) (2006), Salt improves physical extraction of olive oil
- Shioi, Y. (1996). Conversion of chlorophyllide to pheophorbide by Mg-dechelating substance in extracts of *Chenopodium album*. *Plant Physiol. Biochem.*, 34, 41-47.
- Smith, T. J., Yang, G. Y., Seril, D. N., Liao, J., & Kim, S. (1998). Inhibition of 4-(methylnitrosamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanone-induced lung tumorigenesis by dietary olive oil and squalene. *Carcinogenesis*, 19(4), 703-706.
- Tan, L., Pratt, L. R., & Chaudhari, M. I. (2017). Molecular-Scale Description of SPAN80 Desorption from a Squalane–Water Interface. *The Journal of Physical Chemistry B*, 122(13), 3378-3383.
- Taticchi, A., Esposto, S., Veneziani, G., Urbani, S., Selvaggini, R., & Servili, M. (2013). The influence of the malaxation temperature on the activity of polyphenoloxidase and peroxidase and on the phenolic composition of virgin olive oil. *Food Chemistry*, 136(2), 975-983.
- Termentzi, A., Halabalaki, M., & Skaltsounis, A. L. (2015). From drupes to olive oil: an exploration of olive key metabolites. In *Olive and Olive Oil Bioactive Constituents* (pp. 147-177). AOCS Press.
- Tura, M., Mandrioli, M., & Gallina Toschi, T. (2019). Preliminary study: Comparison of antioxidant activity of cannabidiol (CBD) and α -tocopherol added to refined olive and sunflower oils. *Molecules*, 24(19), 3485.
- Tsarouhas, P., Achillas, C., Aidonis, D., Folinias, D., & Maslis, V. (2015). Life Cycle Assessment of olive oil production in Greece. *Journal of cleaner production*, 93, 75-83.
- Vekiari, S., & Koutsaftakis, A. (2002). The effect of different processing stages of olive fruit on the extracted olive oil polyphenol content. *Grasas Y Aceites*, 53, 304-308. <https://doi.org/10.3989/GYA.2002.V53.I3.321>.
- Vlahov, G. (2005). ^{13}C nuclear magnetic resonance spectroscopy to check 1, 3-random, 2-random pattern of fatty acid distribution in olive oil triacylglycerols. *Spectroscopy*, 19(2), 109-117.
- Vossen, P. (2005). Olive oil production. *Olive production manual. Olive production manual. Sibbet, SG and Ferguson, L.(Eds.). University of California. Agriculture and Natural Resources. USA. Publication, 3353, 157-173.*
- Yolmeh, M., & Jafari, S. M. (2017). Applications of response surface methodology in the food industry processes. *Food and Bioprocess Technology*, 10(3), 413-433.
- Youssef, N. B., Zarrouk, W., Carrasco-Pancorbo, A., Ouni, Y., Segura-Carretero, A., Fernández-Gutiérrez, A., ... & Zarrouk, M. (2010). Effect of olive ripeness on chemical properties and phenolic composition of chétoui virgin olive oil. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 90(2), 199-204.

Zahrabi, Ebrahim & Mokari Bolhassan, Iman & Veladi, Hadi & Hosseinzadeh, Rashid.
(2016). Nano Liposomes in Novel Drug Delivery Systems: a review.