



Τεχνολογικό Εκπαιδευτικό Ίδρυμα Θεσσαλονίκης Σχολή  
Τεχνολογίας Τροφίμων και Διατροφής

## Τμήμα Τεχνολογίας Τροφίμων

### ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ



ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΝΟΘΕΙΑΣ ΣΕ ΕΛΛΗΝΙΚΑ  
ΕΞΑΙΡΕΤΙΚΑ ΠΑΡΘΕΝΑ ΕΛΑΙΟΛΑΔΑ ΜΕ ΤΗ ΜΕΘΟΔΟ  
ΤΩΝ 3,5-ΣΤΙΓΜΑΣΤΑΔΙΕΝΙΩΝ

ΘΕΣΣΑΛΟΝΙΚΗ 2009

ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΝΟΘΕΙΑΣ ΕΛΛΗΝΙΚΩΝ ΕΞΑΙΡΕΤΙΚΩΝ ΠΑΡΘΕΝΩΝ  
ΕΛΑΙΟΛΑΔΩΝ ΜΕ ΤΗ ΜΕΘΟΔΟ ΤΩΝ 3,5-ΣΤΙΓΜΑΣΤΑΔΙΕΝΙΩΝ

ΜΑΥΡΙΔΗΣ ΑΝΑΣΤΑΣΙΟΣ

Υποβολή Πτυχιακής διατριβής που αποτελεί μέρος των απαιτήσεων για την απονομή του Πτυχίου του Τμήματος Τεχνολογίας Τροφίμων του ΑΤΕΙ Θεσσαλονίκης.

Σεπτέμβριος 2009

ΚΥΡΙΤΣΑΚΗΣ ΑΠΟΣΤΟΛΟΣ

ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΝΟΘΕΙΑΣ ΣΕ ΕΛΛΗΝΙΚΑ ΕΞΑΙΡΕΤΙΚΑ ΠΑΡΘΕΝΑ  
ΕΛΑΙΟΛΑΔΑ ΜΕ ΤΗ ΜΕΘΟΔΟ ΤΩΝ 3,5-ΣΤΙΓΜΑΣΤΑΔΙΕΝΙΩΝ

ΜΑΥΡΙΔΗΣ ΑΝΑΣΤΑΣΙΟΣ

ΑΤΕΙ Θεσσαλονίκης, Σχολή Τεχνολογίας Τροφίμων & Διατροφής, Τμήμα  
Τεχνολογίας Τροφίμων, 54101 Θεσσαλονίκη Τ.Θ 14561

Περίληψη

Στην παρούσα πτυχιακή εργασία δόθηκε ιδιαίτερη βάση στο τομέα της νόθευσης του ελαιολάδου.

Σε 40 δείγματα Ελληνικών εξαιρετικών παρθένων ελαιολάδων που παραλήφθηκαν έγινε ο προσδιορισμός των βασικών παραμέτρων της ποιότητας όπως οξύτητα, υπεροξειδία, σταθερές Κ. Επιπλέον προσδιορίστηκε και η υγρασία.

Ο προσδιορισμός των στιγμασταδιενίων έγινε με σκοπό να διαπιστωθεί τυχόν νοθεία στα αναλυθέντα δείγματα. Τα αποτελέσματα των αναλύσεων των ποιοτικών κριτηρίων έδωσαν τιμές για όλα τα δείγματα μέσα στα όρια που όριζε η Ε.Ε και το Δ.Σ.Ε.

Στα δείγματα αυτά έγινε ο προσδιορισμός των στιγμασταδιενίων με τροποποιημένη την επίσημη μέθοδο με την οποία προσδιορίζονται παράλληλα και οι κήροι του ελαιολάδου. Παράλληλα εφαρμόστηκε και η επίσημη μέθοδος σε αριθμό δειγμάτων προς σύγκριση των χρωματογραφημάτων.

Η εφαρμογή της τροποποιημένης μεθόδου που ήταν ο κύριος άξονας της πτυχιακής μας εργασίας σε όλα τα δείγματα έδειξε ότι δεν υπήρξε νοθεία σε κανένα από αυτά βάση των επίσημων ορίων που θέτουν η Ε.Ε και το Δ.Σ.Ε.

Όσο αφορά τη σύγκριση των αποτελεσμάτων που προέκυψαν από την εφαρμογή των 2 μεθόδων του προσδιορισμού των στιγμασταδιενίων (επίσημη και τροποποιημένη) δεν υπήρξαν διαφορές βάση συγκρίσεως των χρωματογραφημάτων.

# Περιεχόμενα

---

## Κεφαλαίο 1<sup>ο</sup>:

### Εισαγωγή

- Γενικά.....1

## Κεφαλαίο 2<sup>ο</sup>:

### Βιβλιογραφική Ανασκόπηση

2.1 Χημική Σύσταση Ελαιολάδου.....	2
• Σύσταση ελαιολάδου σε λιπαρά οξέα.....	3
• Φωσφολιπίδια του ελαιολάδου.....	4
• Ασαπωνοποιητο κλασμα.....	4
• Βασικότερες τάξεις ασαπωνοποιήτων συστατικών του ελαιολάδου.....	6
• Υδρογονάνθρακες.....	6
• Χρωστικές.....	6
• Βιταμίνες.....	8
• Τοκοφερόλες.....	8
• Στερόλες.....	10
• Φαινόλες.....	11
2.2 Ποιοτικά Κριτήρια και Κατηγορίες Ελαιολάδου.....	12
• Κριτήρια ποιότητας.....	12
• Οξύτητα.....	13
• Οξειδωση.....	13
• Χρώμα.....	13
• Οργανοληπτικά χαρακτηριστικά.....	14
• Κατηγορίες ελαιολάδου και πυρηνελαίου καθορισμένες από το Δ.Σ.Ε και την Ε.Ε.....	14
• Παρθένο ελαιόλαδο.....	14
• Ραφινρισμένο ελαιόλαδο.....	15
• Ελαιόλαδο ή γνήσιο ελαιόλαδο ή αγνό ή κουπέ (pure olive oil).....	15
• Ακατέργαστο πυρηνέλαιο.....	15
• Ραφινρισμένο πυρηνέλαιο.....	15
• Πυρηνέλαιο.....	15
2.3 Νοθεία Ελαιολάδου.....	18
• Λιπαρές ύλες που χρησιμοποιούνται για την νοθεία.....	18
• Πυρηνέλαιο.....	18
• Ορυκτέλαιο.....	18
• Σπορέλαια.....	18
• Ιχθυέλαια.....	19
• Προσμίξεις με έλαια ξένων χωρών.....	19
2.4 Έλεγχος Νοθείας Ελαιολάδου.....	19
• Περιγραφή των βασικότερων τεχνικών και μεθόδων ελέγχου νοθείας του ελαιολάδου.....	19
• Δοκιμή Carocci – Buzzi.....	19
• Δείκτης Bellier – Marcille.....	20
• Δοκιμή ανίχνευσης τσαγιελαίου.....	20
• Ανίχνευση σπορελαίων με τη δοκιμή Bellier.....	20
• Δείκτης Vizern – Gullot.....	20
• Αντίδραση πολυβρωμιδίων.....	20
• Προσδιορισμός στερολών.....	21
• Προσδιορισμός σκουαλενίου.....	22
• Προσδιορισμός των κορεσμένων λιπαρών οξέων στη 2-θέση του μορίου των τριγλυκεριδίων.....	22
• Προσδιορισμός αλειφατικών αλκοολών.....	22

• Προσδιορισμός κηρών.....	22
• Προσδιορισμός ερυθροδιόλης.....	23
• Ανάλυση των μεθυλεστέρων των λιπαρών οξέων για την εξακρίβωση της γνησιότητας του ελαιολάδου.....	23
• Προσδιορισμός των trans-ακόρεστων ή των trans-ισομερών των ακόρεστων λιπαρών οξέων για την εξακρίβωση της γνησιότητας του ελαιολάδου.....	24
• Ανάλυση τριγλυκεριδίων.....	24
• Αλογονωμένοι διαλύτες.....	26
• Προσδιορισμός στιγμασταδιενίων.....	26
2.5 Στερένια.....	26
• Εξευγενισμός και σχηματισμός στερενίων.....	26
• Δομή στιγμάστα-3,5-διενίου και καμπέστα-3,5-διενίου.....	27
• Η συγκέντρωση του στιγμάστα-3,5-διενίου ως μέσο ανίχνευσης νοθείας.....	28

### Κεφαλαίο 3<sup>ο</sup>:

3.1 Υλικά και Μέθοδοι.....	29
• Έλαια.....	29
• Αναλύσεις ελαιολάδων.....	29
• Προσδιορισμός της οξύτητας.....	29
• Προσδιορισμός της υγρασίας.....	30
• Προσδιορισμός του βαθμού οξειδωσης.....	30
• Προσδιορισμός αριθμού υπεροξειδίων.....	30
• Προσδιορισμός των ειδικών συντελεστών απορρόφησης του ελαιολάδου (σταθερές $K_{232}$ , $K_{270}$ , $\Delta K$ ).....	31
• Προσδιορισμός Στιγμασταδιενίων.....	32
• Προσδιορισμός Κήρων.....	38

### Κεφαλαίο 4<sup>ο</sup>:

#### Αποτελέσματα – Συζήτηση

4.1 Γενικές Αναλύσεις Ελαιολάδων.....	41
• Οξύτητα.....	41
• Υγρασία.....	41
• Αριθμός υπεροξειδίων.....	44
• Απορρόφηση στο υπεριώδες φως ειδικού μήκους κύματος ( $K_{232}$ , $K_{270}$ , $\Delta K$ ).....	44
• Αριθμός στιγμασταδιενίων.....	47
• Συγκριση χρωματογραφημάτων επίσημης και τροποποιημένης μεθόδου.....	47
• Προσδιορισμός κήρων.....	54

### Κεφαλαίο 5<sup>ο</sup>:

Συμπεράσματα.....	56
-------------------	----

Βιβλιογραφία.....	57
-------------------	----

---

# 1. Εισαγωγή

---

## Γενικά

Ελαιόλαδο ονομάζουμε το φυσικό χυμό που παράγεται από τον καρπό της ελιάς με φυσικές μεθόδους (σύνθλιψη, πίεση, φυγοκεντρική, σινολέα), χωρίς την προσθήκη χημικών βελτιωτικών και χωρίς καμία περαιτέρω κατεργασία. Γι' αυτό και μπορεί να καταναλωθεί αμέσως, όπως άλλωστε όλοι οι φυσικοί χυμοί. Έχει ευχάριστη γεύση, εξαιρετικό άρωμα και σπουδαία βιολογική και θρεπτική αξία. Για τους λόγους αυτούς έχει γίνει αποδεκτό όχι μόνο από τους καταναλωτές των ελαιοπαραγωγικών χωρών αλλά και απ' όλο τον κόσμο.

Το ελαιόλαδο είναι ένα λάδι υψηλών απαιτήσεων και αυτό οφείλεται στη γεύση, στο άρωμα και στη βιολογική του σημασία. Σε σύγκριση με τα κοινά φυτικά έλαια, το κόστος του ελαιολάδου είναι υψηλότερο. Αυτό έχει σαν αποτέλεσμα, το ελαιόλαδο να νοθεύεται με άλλα φτηνότερα λάδια, με σκοπό το κέρδος. Αρκετά ελαιόλαδα κυκλοφορούν στην αγορά με διάφορες τιμές κόστους. Υπάρχει βέβαια και η πιθανότητα της νοθείας καλής ποιότητας ελαιολάδου με ελαιόλαδο χαμηλότερης ποιότητας για οικονομικούς λόγους. Ο προσδιορισμός της νοθείας του ελαιολάδου είναι πολλές φορές πολύπλοκος, γι' αυτό και μια σειρά ελέγχων χρησιμοποιούνται για να αποδείξουν την αυθεντικότητα του ελαιολάδου και το είδος της νοθείας. Μέσα σε αυτούς τους ελέγχους συμπεριλαμβάνεται και ο προσδιορισμός των ελεύθερων οξέων, του αριθμού υπεροξειδίων, η σύνθεση των λιπαρών οξέων, η σύνθεση των στερολών, η σύνθεση των τριγλυκεριδίων και ο αριθμός σαπωνοποίησης. Τα αποτελέσματα των ελέγχων ελέγχονται από τον Ε.Φ.Ε.Τ για την εύρεση τυχόν σφαλμάτων και παραπτώματων. Κάθε έλεγχος νοθείας του ελαιολάδου παρέχει πληροφορίες για την ποιότητα του ελαιολάδου και το είδος νοθείας.

Στόχος της παρούσης εργασίας είναι ο προσδιορισμός νοθείας εάν υπάρχει σε εξαιρετικά παρθένα ελαιόλαδα Ελληνικής προέλευσης με τη μέθοδο των στιγμασταδιενίων.

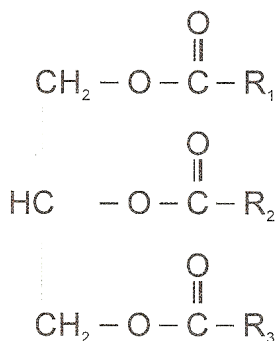
---

## 2. Βιβλιογραφική Ανασκόπηση

---

### 2.1 Χημική Σύσταση Ελαιολάδου

Το ελαιόλαδο, όπως και κάθε λιπαρή ύλη, είναι κυρίως ένα μίγμα τριγλυκεριδίων. Τα τριγλυκερίδια ονομάζονται και ουδέτερα λίπη. Είναι οργανικές χημικές ενώσεις, των οποίων το μόριό τους αποτελείται από ένα μόριο γλυκερόλης, ενωμένο με τρία μόρια ανώτερων λιπαρών οξέων. Από αυτήν ακριβώς τη σύνθεση λαμβάνουν και το χαρακτηριστικό τους όνομα ΤΡΙΓΛΥΚΕΡΙΔΙΑ. Στη σύνθεση των διαφόρων τριγλυκεριδίων χρησιμοποιούνται περίπου 50 διαφορετικά λιπαρά οξέα. Επειδή στο κάθε μόριο τριγλυκεριδίου είναι δυνατό να περιέχονται τρία μόρια του ίδιου λιπαρού οξέος, είτε και δύο ή τρία μόρια διαφορετικών λιπαρών οξέων, οι δυνατοί συνδυασμοί είναι πάρα πολλοί, και συνεπώς και τα είδη των τριγλυκεριδίων είναι πάρα πολλά. Από τα περίπου 50 λιπαρά οξέα που συμμετέχουν στη δομή των τριγλυκεριδίων, τα 16 είναι κορεσμένα, δηλαδή περιέχουν στο μόριό τους όλα τα άτομα του υδρογόνου που είναι δυνατό να κρατάνε, ενώ τα υπόλοιπα χαρακτηρίζονται ως ακόρεστα γιατί από το μόριό τους ελλείπουν 2, 4, ή 6 άτομα υδρογόνου. Από την αναλογία των κορεσμένων και των ακόρεστων λιπαρών οξέων στο μόριο του τριγλυκεριδίου, καθορίζεται, κατά γενικό κανόνα, και η θερμοκρασία κατά την οποία η κατάστασή του μεταβάλλεται από στερεά σε υγρή. Έτσι, τα διάφορα τριγλυκερίδια μπορεί να είναι στερεά στη συνήθη θερμοκρασία δωματίου, δηλαδή είναι λίπη, είτε να είναι υγρά, και αποκαλούνται έλαια.



**Εικόνα 2.1.** Δομή τριγλυκεριδίου (Κυριτσάκης, 2007).

Εκτός από τα τριγλυκερίδια, το ελαιόλαδο περιέχει μικρές ποσότητες και από άλλα συστατικά που προέρχονται από τον ελαιόκαρπο ή σχηματίζονται κατά την παραλαβή του (Fedeli, 1977, Κυριτσάκης και Dugan, 1985, Κυριτσάκης, 1998) όπως:

- Ελεύθερα λιπαρά οξέα (προϊόντα υδρόλυσης των τριγλυκεριδίων)
- Φωσφολιπίδια
- Στερόλες
- Φαινόλες
- Αλειφατικές αλκοόλες

- Χρωστικές
- Τοκοφερόλες
- Πτητικές οργανικές ενώσεις
- Διάφορες ρητινοειδείς και ζελατινοειδείς ουσίες, κ.λ.π.

Τα συστατικά του ελαιολάδου, όπως προαναφέρθηκε, διακρίνονται σε σαπωνοποιήσιμα (τριγλυκερίδια, φωσφολιπίδια, ελεύθερα λιπαρά οξέα, κ.α) και ασαπωνοποιήσιμα (υδρογονάνθρακες, αλειφατικές αλκοόλες, στερόλες, φαινόλες, κ.α). Το 98,0-99,5% περίπου των συστατικών είναι σαπωνοποιήσιμα και το υπόλοιπο μη σαπωνοποιήσιμα. Παρά το γεγονός ότι το μη σαπωνοποιήσιμο κλάσμα είναι ποσοτικά μικρό, τα συστατικά του διαδραματίζουν σημαντικό διατροφικό καθώς και βιολογικό ρόλο.

### Σύσταση Ελαιολάδου Σε Λιπαρά Οξέα

Η σύσταση του ελαιολαδου καθώς και των άλλων φυτικών ελαίων σε λιπαρά οξέα δεν είναι σταθερή. Εξαρτάται από ποικίλους παράγοντες όπως:

- η ποικιλία της ελιάς,
- οι εδαφικές καθώς και κλιματολογικές συνθήκες της περιοχής και
- ο βαθμός ωριμότητας του καρπού αλλά και διάφοροι άλλοι επηρεάζουν την σύσταση του ελαιολάδου σε λιπαρά οξέα (Κυριτσάκης, 2007).

Τα σημαντικότερα λιπαρά οξέα του ελαιολάδου είναι ακόρεστα. Μεταξύ αυτών σε μεγαλύτερη αναλογία απαντά το μονοακόρεστο ελαϊκό (C18:1). Το δεύτερο σημαντικότερο ακόρεστο λιπαρό οξύ του ελαιολάδου είναι το λινελαϊκό (C18:2). Άλλα ακόρεστα λιπαρά οξέα που απαντούν, στο ελαιόλαδο αλλά σε μικρές ποσότητες, είναι το λινολενικό (C18:3), το αραχιδονικό (C20:4) και το παλμιτελαϊκό (C16:1).

Από τα κορεσμένα οξέα αυτό που βρίσκεται σε μεγαλύτερη αναλογία είναι το παλμιτικό (C16:0) ακολούθει το στεατικό (C18:0) (Κυριτσάκης, 1998 ,European Union (EU) Regulation No 2568/1991).

Τα κύρια τριγλυκερίδια του ελαιολάδου είναι αυτά στα οποία απαντά το ελαϊκό οξύ, καθώς αποτελούν 70-80% του βάρους του ελαίου. Επειδή τα τριγλυκερίδια αυτά είναι υγρά σε θερμοκρασία δωματίου, το ελαιόλαδο στο σύνολο του παραμένει σε υγρή κατάσταση στις συνήθεις θερμοκρασίες δωματίου.

Εκτός από τα κύρια λιπαρά οξέα που προαναφέρθηκαν, στο ελαιόλαδο απαντούν σε ποσοστό μικρότερο όμως του 0,1% τα οξέα μυριστικό (C14:0), λαουρικό (C12:0) και αραχιδικό (C20:0). Έχουν προσδιοριστεί σε ίχνη και οξέα με είκοσι τέσσερα άτομα άνθρακα (C24) (Colakoglu, 1966).

Η επιτροπή Codex Alimentarius (1970), καθιέρωσε για τα λίπη και τα έλαια τα παρακάτω όρια (ελάχιστα και μέγιστα) για τα βασικά λιπαρά οξέα του ελαιολάδου: ελαϊκό 56-83%, παλμιτικό 7-20% και λινελαϊκό 3-20%. Τα συνήθη όρια μέσα στα οποία κυμαίνεται η περιεκτικότητα του ελαιολάδου στα διάφορα λιπαρά οξέα δίνονται στον Πίνακα 2.1.



**Πίνακας 2. 1.** Διακύμανση της περιεκτικότητας του ελαιολάδου σε λιπαρά οξέα.

Λιπαρά οξέα	Περιεκτικότητα %	Λιπαρά οξέα	Περιεκτικότητα %
Ελαϊκό	56,0 - 83,0	Μυριστικό	ίχνη - 0,1
Παλμιτικό	7,5-20,0	Αραχιδικό	≤ 0,8
Λινελαϊκό	3,5-20,0	Βεχενικό	≤ 0,2
Στεατικό	0,5-5,0	Λιγνοκερικό	≤ 1,0
Παλμιτελαϊκό	0,3-3,5	Δεκαεπτανοϊκό	≤ 0,5
Λινολενικό	ίχνη - 1,5	Δεκαεπτενείκο	≤ 0,6

(Κυριτσάκης, 2007)

Βασισμένοι στις αναλύσεις δειγμάτων από διάφορες χώρες οι Iverson et al., κατάταξαν το 1995 τα ελαιόλαδα σε δύο κατηγορίες: στη μία αυτά με χαμηλή περιεκτικότητα σε λινολεϊκό-παλμιτικό και υψηλή σε ελαϊκό οξύ, και στην άλλη αυτά με υψηλή περιεκτικότητα σε λινολεϊκό-παλμιτικό και χαμηλή σε ελαϊκό. Τα Ισπανικά, Ιταλικά και Ελληνικά ελαιόλαδα ανήκουν στην πρώτη κατηγορία ενώ τα Τυνησιακά ανήκουν στην δεύτερη (Iverson et al, 1965).

### **Φωσφολιπίδια Του Ελαιολάδου**

Το παρθένο ελαιόλαδο είναι φτωχό σε φωσφολιπίδια. Η συγκέντρωση τους κυμαίνεται από 35 έως 40 mg/kg. Η μεγαλύτερη ποσότητα των φωσφολιπιδίων προέρχεται από το πυρήνα του ελαιοκάρπου. Τα φωσφολιπίδια που απαντούν στο ελαιόλαδο είναι κυρίως η λεκιθίνη καθώς και η κεφαλίνη.

Το ελαϊκό οξύ είναι το κυριότερο από τα λιπαρά οξέα που συνθέτουν το μόριο των φωσφολιπιδίων του ελαιολάδου.

### **Ασαπωνοποίητο Κλάσμα**

Είναι εξαιρετικά δύσκολο να καθοριστεί η συνολική ποσότητα των μικροσυστατικών εξαιτίας της πολύπλοκης φύσης τους και της χαμηλής συγκέντρωσης τους. Μια απλή προσέγγιση είναι να καθοριστεί το ασαπωνοποίητο κλάσμα. Αυτό ορίζεται ως "το σύνολο των προϊόντων που υπάρχουν στην ουσία που αναλύεται, το οποίο μετά την ασαπωνοποίηση με υδροξείδιο του καλίου και την εξαγωγή με συγκεκριμένο διαλύτη, παραμένει μη πτητικό κάτω από τις καθορισμένες συνθήκες του "τεστ". Περιλαμβάνει λιπίδια φυσικής προέλευσης όπως στερόλες, αλειφατικές αλκοόλες μεγάλου μοριακού βάρους, χρωστικές και υδρογονάνθρακες καθώς και κάποια ξένα οργανικά συστατικά μη πτητικά στους 103°C (Γαρδούνη, 2001).

Η ποσότητα και η σύσταση του κλάσματος των ασαπωνοποίητων συστατικών του ελαιολάδου εξαρτώνται κατά κύριο λόγο από τον τρόπο με τον οποίο έχει γίνει η παραλαβή του. Ελαιόλαδο λόγω χάρη το οποίο παραλαμβάνεται με την εφαρμογή της υδραυλικής πίεσης, έχει χαμηλότερη περιεκτικότητα σε ασαπωνοποίητα συστατικά σε συγκριση με ελαιόλαδο το οποίο παραλαμβάνεται με εκχύλιση (Fedeli , 1971). Τα κυριότερα από τα συστατικά που περιέχονται στο ασαπωνοποίητο κλάσμα του παρθένου ελαιολάδου και του πυρηνελαίου δίνονται στον Πίνακα 2.2. Με βάση το πίνακα τα δύο έλαια διαφέρουν ως προς την εκατοστιαία περιεκτικότητα του κλάσματος αυτού σε επί μέρους τάξεις ασαπωνοποίητων συστατικών.

**Πίνακας 2.2.** Σύσταση του κλάσματος των ασαπωνοποιητών συστατικών του παρθένου ελαιολάδου και του πυρηνελαίου (%).

Τάξη ασαπωνοποιητών συστατικών	Παρθένο ελαιόλαδο	Πυρηνέλαιο
Σκουαλένιο και άλλοι υδρογονάνθρακες	30-50	12
Στερόλες	15	25
Τριτερπενοειδείς αλκοόλες	10	12
Ανώτερες αλειφατικές αλκοόλες (λιπαρές αλκοόλες)	-	16
Καροτενοειδή, τοκοφερόλες και άλλα συστατικά	25-45	35

(Κυριτσάκης, 2007)

Στον Πίνακα 2.3 δίνεται η περιεκτικότητα του παρθένου και του εξευγενισμένου ελαιολάδου σε μη γλυκεριδικά συστατικά. Η σύσταση των διαφόρων τάξεων ασαπωνοποιητών συστατικών π.χ. των στερολών και των τριτερπενοειδών αλκοολών χρησιμεύει στην εξακρίβωση της αυθεντικότητας του ελαιολάδου (μέσο ελέγχου νοθείας).

Είναι φανερό από τον ορισμό του ασαπωνοποιητού κλάσματος ότι όλες οι κατηγορίες μικροσυστατικών του ελαιολάδου δεν απομονώνονται με το ασαπωνοποίητο. Μέρος των γλυκεριδίων και των φωσφατιδίων σαπωνοποιείται. Επίσης οι πολικές φαινόλες οι οποίες είναι διαλυτές στο νερό, απομακρύνονται. Πρέπει να σημειωθεί ότι κατά την διάρκεια μιας αναλυτικής εργασίας με ασαπωνοποίητο υλικό, πολύτιμες πληροφορίες χάνονται αφού σημαντικά συστατικά όπως οι στερόλες και οι λιπαρές αλκοόλες είναι παρούσες τόσο σε ελεύθερη όσο και σε εστεροποιημένη μορφή. Ωστόσο, το ασαπωνοποίητο κλάσμα είναι ένα καθιερωμένο ποιοτικό κριτήριο, και συχνά χρησιμοποιείται σε ρουτίνες ανάλυσης γιατί δίνει το συνολικό ποσό των πιο σημαντικών μη γλυκεριδικών συστατικών όπως οι στερόλες οι υδρογονάνθρακες οι λιπαρές αλκοόλες και οι χρωστικές. Η ποσοτικοποίηση των ασαπωνοποιητών εξαρτάται από τον διαλύτη που χρησιμοποιείται. Γι αυτό και όταν παρουσιάζονται αποτελέσματα θα πρέπει να αναφέρεται ο διαλύτης που χρησιμοποιήθηκε.

**Πίνακας 2.3.** Περιεκτικότητα του παρθένου και του εξευγενισμένου ελαιολάδου σε μη γλυκεριδικά συστατικά.

Μη γλυκεριδικά συστατικά	Παρθένο ελαιόλαδο (mg/kg)	Εξευγενισμένο ελαιόλαδο (mg/kg)
Υδρογονάνθρακες	3800	390
Τοκοφερόλες	150	100
Φαινόλες	350	80
Πτητικοί εστέρες	100	30
Πτητικές καρβονυλικές ενώσεις (αλδεΐδες και κετόνες)	40	10
Αλειφατικές αλκοόλες	200	100
Τριτερπενοειδείς αλκοόλες και τριτερπενικές διαλκοόλες	3500	2500
Στερόλες	500	1500

(Κυριτσάκης, 2007)

## **Βασικότερες Τάξεις Ασαπωνοποιήτων Συστατικών Του Ελαιολάδου.**

### ▪ **Υδρογονάνθρακες**

Δύο υδρογονάνθρακες είναι παρόντες σε σημαντικές συγκεντρώσεις στο ελαιόλαδο, το σκουαλένιο και β-καροτένιο (το τελευταίο αναπτύσσεται στην παράγραφο των χρωστικών). Το σκουαλένιο είναι η πρόδρομη ένωση στη βιοσύνθεση των στερολών. Πρόκειται για πολυακόρεστο υδρογονάνθρακα με τριάντα άτομα ανθρακα. Είναι το συστατικό με την μεγαλύτερη συγκέντρωση στο ασαπωνοποίητο κλάσμα (εώς 40% κατά βάρος) (Κυριτσάκης, 2007).

**Πίνακας 2.4.** Περιεκτικότητα διαφόρων λιπαρών υλών σε σκουαλένιο.

<b>Λιπαρή ύλη</b>	<b>Αριθμός δειγμάτων</b>	<b>Σκουαλένιο (mg/100g ελαίου)</b>
Παρθένο ελαιόλαδο	44	136-708
Βαμβακέλαιο	12	4-12
Αραβοσιτέλαιο	9	19-36
Αραχιδέλαιο	11	13-49
Ηλιέλαιο	3	8-19
Σογιέλαιο	9	7-17
Σησαμέλαιο	1	3
Αμυγδαλέλαιο	1	21
Βούτυρο	1	7
Λίπος όρνιθας	1	4
Χοίρειο λίπος (λαρδί)	1	3
Βόειο λίπος (στέαρ)	1	10

(Κυριτσάκης, 2007)

Στο ελαιόλαδο έχουν ταυτοποιηθεί και πολυκυκλικοί αρωματικοί υδρογονάνθρακες, όπως το πυρένιο, το φλουορανθένιο, το χρυσένιο, κ.α. Οι υδρογονάνθρακες αυτοί δεν είναι ωστόσο φυσικά συστατικά του ελαιολάδου, αλλά προσμίξεις που η παρουσία τους οφείλεται κατά κύριο λόγο στη ρύπανση του περιβάλλοντος.

Άλλοι υδρογονάνθρακες παρόντες στο ελαιόλαδο είναι οι παραφίνες, από C11 εώς C30. Όσον αφορά στη συγκέντρωση των αρωματικών πολυκυκλικών υδρογονανθράκων υπάρχουν αντικρουόμενες απόψεις στην βιβλιογραφία. Οι ποσότητες που αναφέρονται μπορεί να ποικίλουν από sub-ppb εώς 700 ppb.

Αυτές οι διαφορές προφανώς οφείλονται στις αναλυτικές δυσκολίες που υπάρχουν στις διάφορες τεχνικές που εφαρμόζονται για την προετοιμασία των δειγμάτων και επίσης στην έλλειψη μεθοδολογίας για τον προσδιορισμό της ωριμότητας των ελιών από διάφορες ζώνες παραγωγής. Οι πολυκυκλικοί αρωματικοί υδρογονάνθρακες συνήθως παρατίθενται στην βιβλιογραφία ως κανονικά συστατικά του κλάσματος των υδρογονανθράκων, αλλά όπως δηλώνει ο Tisconia αυτά τα συστατικά είναι περισσότερο «επιμολυντές» παρά μεταβολίτες (Κυριτσάκης, 2007).

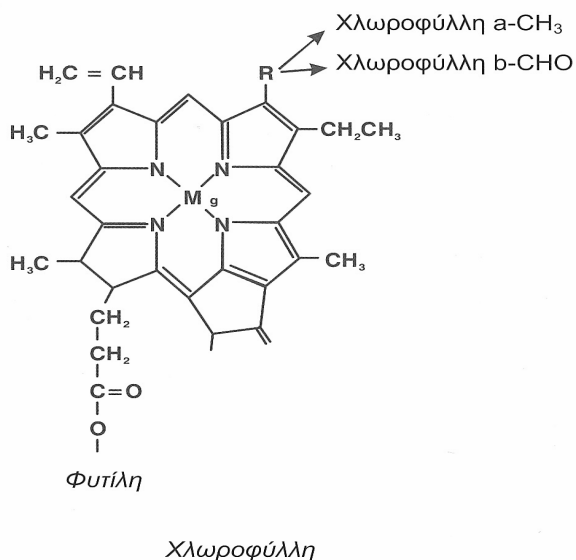
### • **Χρωστικές**

Το παρθένο ελαιόλαδο έχει χρώμα το οποίο κυμαίνεται από πρασινοκίτρινο ως χρυσαφί ανάλογα με την ποικιλία και τον βαθμό ωριμότητας της ελιάς. Η σύνθεση και η ολική περιεκτικότητα των χρωστικών που εκ φύσεως υπάρχουν στο ελαιόλαδο είναι παράμετροι ποιότητας διότι σχετίζονται με το χρώμα το οποίο είναι ένα βασικό χαρακτηριστικό

αξιολόγησης της ποιότητας του ελαιολάδου. Οι χρωστικές σχετίζονται επίσης με τους μηχανισμούς της αυτοξειδωσης και της φωτοξειδωσης.

### A. Χλωροφύλλες

Οι χλωροφύλλες α και β, και οι φαιοφυτίνες α και β είναι υπεύθυνες για το χρώμα. Η περιεκτικότητά τους στο φυσικό ελαιόλαδο ποικίλει μεταξύ 1 και 20 ppm. Η φαιοφυτίνη α κυριαρχεί και η συγκέντρωσή της φτάνει το 70-80% των ολικών χρωστικών. Αν τα λάδια έχουν παραχθεί από μαύρες ελιές η φαιοφυτίνη α είναι πρακτικά η μόνη χρωστική από αυτήν την κατηγορία που θα υπάρχει (Ranalli, 1992). Η χλωροφύλλη β διαφέρει ως προς την α στο ότι έχει αλδεϋδική ομάδα (CHO) αντί μεθύλιο (CH<sub>3</sub>) στο τρίτο άτομο άνθρακα.

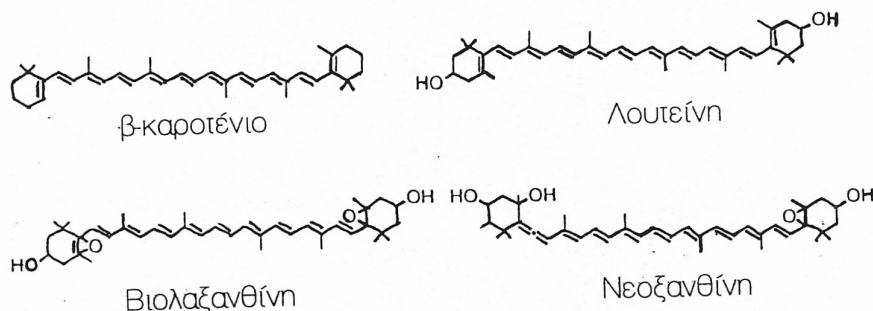


**Εικόνα 2.2.** Δομές των α και β χλωροφυλλών (Κυριτσάκης, 2007).

Η περιεκτικότητα σε χλωροφύλλες εξαρτάται ως ένα βαθμό από τη μέθοδο που χρησιμοποιείται για την εξαγωγή του λαδιού. Η απευθείας φυγοκέντρωση παράγει λάδια τα οποία είναι 20-40% πλουσιότερα σε χλωροφύλλες συγκριτικά με αυτά από πίεση (De Felice, 1979). Το στάδιο ωριμότητας είναι επίσης σημαντικό για την συγκέντρωση της χλωροφύλλης στο λάδι. Στα πρώτα στάδια συλλογής της ελιάς, οι χλωροφύλλες κυριαρχούν. Στο τέλος της περιόδου συλλογής (Ιανουάριος, Φεβρουάριος), η συγκέντρωσή τους μειώνεται σε λίγα ppm και οι ξανθοφύλλες, παρότι επίσης μειώνονται, γίνονται τα κύρια συστατικά των χρωστικών του ελαιολάδου. Η βιομηχανική διαδικασία εξαγωγής έχει μια επιπλέον επίδραση στις χρωστικές. Οι δύο τύποι καταστρέφονται μερικώς, αλλά η αποδόμιση των χλωροφυλλών είναι μεγαλύτερη από ότι των καροτινοειδών (Γαρδούνη, 2001).

### B. Καροτινοειδή

Τα κύρια καροτινοειδή που υπάρχουν στο ελαιόλαδο είναι η λουτεΐνη, το β-καροτένιο, η βιολαξανθίνη και οι νεοξανθίνη (Εικόνα 2.3). Τα ελαιόλαδα που παραλαμβάνονται με φυγοκέντρωση έχει αναφερθεί ότι έχουν υψηλότερη συγκέντρωση καροτινοειδών απ' ό,τι αυτά που παραλαμβάνονται με διύλιση. Διαφορές παρατηρήθηκαν επίσης για τις ίδιες ποικιλίες όταν χρησιμοποιούνται διαφορετικοί σπαστήρες ελιών (σταθεροί ή κινητοί σφαιρόμυλοι) (Ranalli, 1992).



**Εικόνα 2.3.** Τα καροτινοειδή που υπάρχουν στο ελαιόλαδο (Γαρδούνη, 2002).

Το κύριο συστατικό του κλάσματος των καροτινοειδών που υπάρχουν στο ελαιόλαδο είναι η λουτεΐνη. Προς το τέλος της περιόδου συλλογής αυτό το καροτινοειδές γίνεται το κυρίαρχο συστατικό στις ελιές γιατί κατά την διάρκεια της ωρίμανσης, λαμβάνει χώρα μια σημαντική μείωση των χλωροφυλλών.

Τα ολικά καροτινοειδή συνήθως κυμαίνονται μεταξύ 1 και 20 ppm στο ελαιόλαδο. Το β-καροτένιο απαντάται σε ποσότητες από 0.5 ως 4 ppm (Γαρδούνη, 2001).

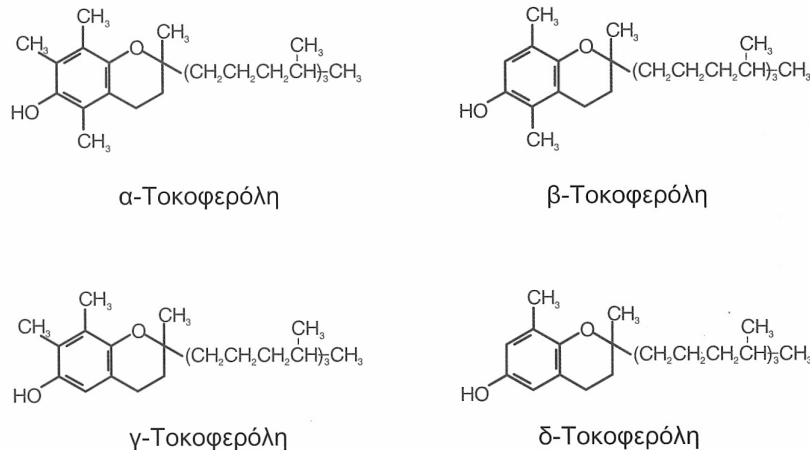
- **Βιταμίνες**

Οι βιταμίνες είναι τάξη οργανικών χημικών ενώσεων, οι οποίες είναι απαραίτητες για την κανονική αύξηση και διατήρηση ενός ζωντανού οργανισμού, ο οποίος δεν είναι σε θέση να τις συνθέσει μόνος του. Η ανεπαρκής παρουσία των βιταμινών στον οργανισμό προκαλεί ορισμένες ασθένειες, που είναι γνωστές ως αβιταμινώσεις.

Η βιταμίνη Ε απαντά στο ελαιόλαδο, όπως και σε όλες σχεδόν τις φυσικές λιπαρές ύλες. Στο ελαιόλαδο απαντά επίσης και η προβιταμίνη Α (β-καροτένιο) (Κυριτσάκης, 2007).

- **Τοκοφερόλες**

Οι τοκοφερόλες είναι σημαντικά συστατικά του ελαιολάδου. Πρόκειται για ετεροκυκλικές ενώσεις μεγάλου μοριακού βάρους. Συνεισφέρουν στη σταθερότητα του ελαιολάδου και έχουν επίσης έναν πλεονεκτικό βιολογικό ρόλο. Τα διαιτητικά πλεονεκτήματα του ελαιολάδου πηγάζουν μερικώς από την σύνθεση των λιπαρών οξέων του και μερικώς από την παρουσία φυσικών αντιοξειδωτικών. Σήμερα όλοι οι ειδικοί συμφωνούν ότι η έμμεση ζημιά που προκαλείται από τις ελεύθερες ρίζες στον ανθρώπινο οργανισμό σχετίζεται με κυτταρικές και έξωκυτταρικές αλλαγές, οι οποίες συμβαίνουν με τον καιρό στην διαδικασία της γήρανσης, σε χρόνιες ασθένειες και στην νόσο της στεφανιαίας. Αναφορές έχουν επίσης γίνει για τα πλεονεκτήματα της βιταμίνης Ε και στους εξακριβωμένους πλέον παράγοντες οι οποίοι μειώνουν τους κινδύνους της στεφανιαίας (π.χ εξάλειψη του καπνίσματος, έλεγχος του βάρους, χαμηλότερη κατανάλωση κεκορεσμένων λιπαρών και χοληστερόλης, σωματική άσκηση, κτλ) (Γαρδούνη, 2001).



**Εικόνα 2.4.** Χημικές δομές των τοκοφερολών που υπάρχουν στο ελαιόλαδο (Κυριτσάκης, 2007).

Από τις επί μέρους ομόλογες τοκοφερόλες οι οποίες έχουν βρεθεί στο ελαιόλαδο η  $\alpha$ -τοκοφερόλη αποτελεί την κύρια και καλύπτει 88,5% του συνόλου. Η  $\beta$ - μαζί με την  $\gamma$ -αποτελούν το 9,9% και η  $\delta$ - το 1,6% του συνόλου των τοκοφερολών (Fedeli, 1977). Η συνολική συγκέντρωση των τοκοφερολών στο ελαιόλαδο ποικίλει. Η περιεκτικότητα του ελαιολάδου σε  $\alpha$ - τοκοφερόλη κυμαίνεται από 12-150 mg/kg.

Όλες οι τοκοφερόλες αποτελούν φυσικά αντιοξειδωτικά των ελαίων καθώς παρουσιάζουν αντιοξειδωτική δράση, η οποία αυξάνεται από την  $\alpha$ - προς τη  $\delta$ -. Η σταθερότητα μάλιστα του ελαιολάδου στην οξείδωση οφείλεται και στην παρουσία των τοκοφερολών οι οποίες οξειδώνονται εύκολα. Εκτός από αντιοξειδωτική δράση, οι τοκοφερόλες παρουσιάζουν και βιταμινική δράση η οποία αυξάνεται αντίθετα με την αντιοξειδωτική τους ικανότητα, δηλαδή από τη  $\delta$ - προς την  $\alpha$ -.

Ο Ανδρικόπουλος και οι συνεργάτες του (1989) , προσδιόρισαν τις τοκοφερόλες  $\alpha$ - και  $\gamma$ -σε ελαιόλαδα διαφορετικών κατηγοριών και σε πυρηνέλαια και βρήκαν σημαντική διαφοροποίηση στην περιεκτικότητα μεταξύ των διαφόρων κατηγοριών. Οι Hernandez και Boatella (1987), διαπίστωσαν ότι κατά τον εξευγενισμό του ελαιολάδου παρατηρούνται απώλειες ως και 50% στα επίπεδα της  $\alpha$ - τοκοφερόλης (Κυριτσάκης, 2007).

Η περιεκτικότητα του ελαιολάδου σε τοκοφερόλες εξαρτάται πάρα πολύ από την ποικιλία. Οι συγκεντρώσεις τους είναι της τάξεως από 5 ως 300 ppm. Συνηθισμένες τιμές που έχουν αναφερθεί για καλής ποιότητας λάδια κυμαίνονται μεταξύ 100 και 300 ppm, Τιμές χαμηλές όπως 5ppm έχουν αναφερθεί σε εμπορικά λάδια υψηλής οξύτητας (Andrikopoulos et al, 1989).

Η συγκέντρωση σε τοκοφερόλες είναι υψηλότερη αν οι ελιές συλλεχθούν κατά την πρώτη περίοδο της συγκομιδής (Fedeli and Cortesi, 1993). Προς το τέλος της περιόδου συγκομιδής οι τοκοφερόλες είναι σημαντικά μειωμένες. Η βιοσύνθεση των τοκοφερολών συνεχίζεται και μετά την συγκομιδή. Το λάδι που παράγεται από ελιές οι οποίες αλέστηκαν αμέσως μετά την συγκομιδή, μπορεί να έχει μια πολύ χαμηλή περιεκτικότητα σε τοκοφερόλες συγκριτικά με ελαιόλαδο που παράχθηκε από τις ίδιες ελιές οι οποίες όμως αποθηκεύτηκαν για 10 με 15 μέρες πριν την άλεση.

- **Στερόλες**

Οι στερόλες είναι σημαντικά μη γλυκεριδικά συστατικά. Σχετίζονται με την ποιότητα του ελαιολάδου και χρησιμοποιούνται ευρέως για τον έλεγχο της αυθεντικότητας του. Πρόκειται για κυκλικές αλκοόλες μεγάλου μοριακού βάρους. Βρίσκονται σε όλες τις φυσικές λιπαρές ύλες είτε ελεύθερες είτε δεσμευμένες με τη μορφή εστέρων με λιπαρά οξέα.

Είναι διαλυτές στα λίπη, στα έλαια και στους μη πολικούς διαλύτες και αδιάλυτες στο νερό. Αποτελούν την κύρια τάξη των ασαπωνοποίητων συστατικών των λιπαρών υλών, όταν δεν είναι δεσμευμένες.

Στο ελαιόλαδο υπάρχουν τέσσερις κατηγορίες στερολών:

1. οι κοινές στερόλες (απομεθυλοστερόλες),
2. οι 4α-μεθυλοστερόλες,
3. οι 4,4-διμεθυλοστερόλες (τριτερπενικές αλκοόλες)
4. και οι τριτερπενικές διαλκοόλες,

### **1) Κοινές στερόλες (απομεθυλοστερόλες)**

Μέσω αέριου χρωματογράφου αναλύθηκε το κλάσμα των στερολών του ελαιολάδου. Η ανάλυση έδειξε ότι εκτός από τις κύριες στερόλες (καμπεστερόλη, στιγμαστερόλη, β-σιτοστερόλη και Δ<sup>5</sup>-αβεναστερόλη) βρέθηκαν σε ίχνη Δ<sup>7</sup>-αβεναστερόλη και ορισμένες άλλες στερόλες.

Είναι γεγονός ότι η β-σιτοστερόλη αποτελεί σχεδόν το σύνολο του στερολικού κλάσματος των ελαιολάδων. Η συνολική περιεκτικότητα του ελαιολάδου σε στερόλες κυμαίνεται από 180 έως 265 mg/100g (Κυριτσάκης, 1998).

Στη διάρκεια της αποθήκευσης του ελαιολάδου αυξάνεται ο βαθμός οξείδωσης με παράλληλη μείωση της περιεκτικότητας του σε στερόλες. Σύμφωνα με τους Tiscornia και Bertini (1972), η συγκέντρωση της σιτοστερόλης, της καμπεστερόλης και της στιγμαστερόλης στο ελαιόλαδο είναι ανεξάρτητη από την οξύτητα και τα άλλα φυσικοχημικά χαρακτηριστικά του (Κυριτσάκης, 2007).

Η εξακρίβωση της σύστασης του στερολικού κλάσματος μπορεί να βοηθήσει στη διαπίστωση πιθανής νοθείας του ελαιολάδου με άλλα φυτικά έλαια. Υψηλή συγκέντρωση στιγμαστερόλης στο ελαιόλαδο υποδηλώνει την παρουσία σογιέλαιου.

### **2) 4α-Μεθυλοστερόλες**

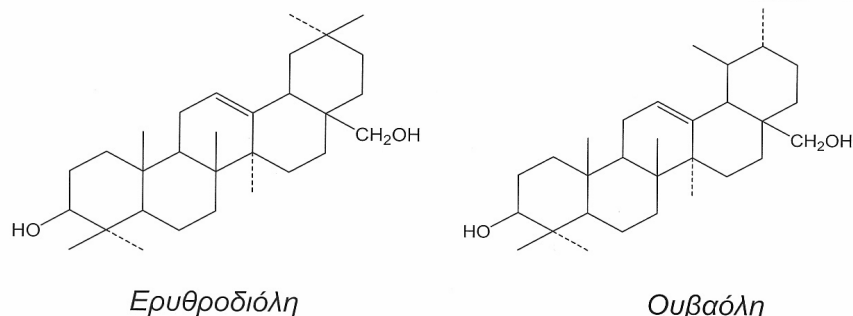
Από το ελαιόλαδο καθώς και από άλλα φυτικά έλαια έχει απομονωθεί ένα κλάσμα τα συστατικά του οποίου εμφανίζουν σε χρωματογραφία λεπτής στιβάδας (TLC), πολικότητα ανάλογη αυτής των στερολών. Στο κλάσμα αυτό απαντούν τέσσερις τουλάχιστον 4α-μεθυλοστερόλες, οι οποίες ταυτοποιήθηκαν κατόπιν διαχωρισμού σε αέριο χρωματογράφο και φασματοφωτόμετρο μάζας (MS).

Πρόκειται για τις:

- 4α-μεθυλο-24-μεθυλενο-Δ<sup>7</sup>-χοληστενο-3β-όλη
- 4α, 14α-διμεθυλο-9,19-κυκλοπροπανο-24-μεθυλενο-χοληστενο-3β όλη
- 4α,14α-διμεθυλο-24-μεθυλενο-Δ<sup>8</sup>χοληστενο-3β-όλη και
- 4α-μεθυλ-(24Z)-24-αιθυλιδενο-Δ<sup>7</sup>-χοληστενο-3β-όλη.

### **3) Τριτερπενικές διαλκοόλες**

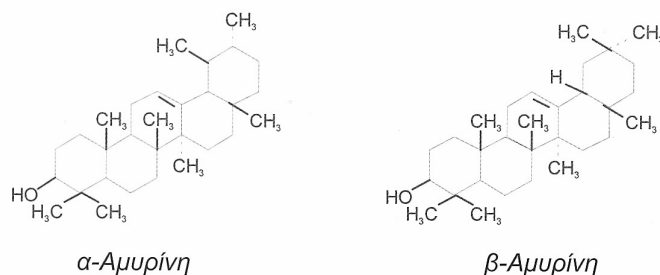
Οι δύο κύριες τριτερπενικές διαλκοόλες του ελαιολάδου είναι η ερυθροδιόλη και η ουβαόλη (εικόνα 2.5). Απόλυτες ποσότητες ερυθροδιόλης και ουβαόλης κυμαίνονται από 1-20mg/100g στο ελαιόλαδο και μπορεί να είναι ως και 280mg/100g στο πυρηνέλαιο. Οι τριτερπενικές διαλκοόλες μπορεί να εξαχθούν και να χρωματογραφηθούν μαζί με το κλάσμα των 4-δυσμέθυλοστερολών. Η σχετική τους περιεκτικότητα στο ολικό κλάσμα όπως καθορίζεται από την αέρια υγρή χρωματογραφία χρησιμοποιείται ως μια αξιόπιστη ένδειξη για τον διαχωρισμό του ελαιολάδου από το πυρηνέλαιο, (Γαρδούνη, 2001).



**Εικόνα 2.5.** Χημική δομή της Ερυθροδιόλης και Ουβαόλης (Κυριτσάκης, 2007).

#### 4) 4,4-Διμεθυλοστερόλες (τριτερπενικές αλκοόλες)

Ο Paganuzzi (1982), ταυτοποίησε τις τριτερπενικές αλκοόλες που απαντούν στο ελαιόλαδο. Αυτές είναι η α- και η β- αμυρίνη και ορισμένες άλλες τριτερπενικές αλκοόλες. Η συγκέντρωσή τους κυμαίνεται από 100 έως 150mg/100g ελαιολάδου (Kiosseoglou et al., 1987).



**Εικόνα 2.6.** Χημική δομή της α-Αμυρίνη και β-Αμυρίνη (Κυριτσάκης, 2007).

- **Φαινόλες**

Το παρθένο ελαιόλαδο περιέχει φαινολικά συστατικά τα οποία επηρεάζουν την σταθερότητα του και το άρωμα του. Φαινόλες ονομάζονται οι ενώσεις που περιέχουν τουλάχιστον ένα βενζολικό δακτύλιο και ένα ή περισσότερα υδροξύλια στο βενζολικό δακτύλιο. Μπορεί να είναι απλές φαινόλες (με ένα βενζολικό δακτύλιο), φαινολικά οξέα, φλαβονοειδή ή φαινολικές αλκοόλες.

Οι απλές φαινόλες είναι άχρωμες στερεές ενώσεις όταν είναι καθαρές, συνήθως όμως οξειδώνονται και αποκτούν σκούρο χρώμα όταν εκτίθενται στον αέρα. Η τάση τους να διαλύονται στο νερό αυξάνεται ανάλογα με τον αριθμό των φαινολικών υδροξυλικών ομάδων που έχουν στο μόριο τους, αλλά η διαλυτότητα τους σε πολικούς οργανικούς διαλύτες είναι μεγαλύτερη.



Γενικά η συγκέντρωση των φαινολικών συστατικών, που απαντούν στο παρθένο ελαιόλαδο, εξαρτάται από:

- την ποικιλία του ελαιοκάρπου
- τους περιβαλλοντικούς παράγοντες
- το βαθμό ωριμότητας του ελαιοκάρπου
- τις καλλιεργητικές φροντίδες
- τις συνθήκες διατήρησης του ελαιοκάρπου πριν από την επεξεργασία στο ελαιουργείο
- τον τύπο του ελαιουργείου και
- τις συνθήκες (θερμοκρασία, ποσότητα νερού) που εφαρμόζονται στο ελαιουργείο (Κυριτσάκης, 2007).

Μέχρι στιγμής καμία συγκεκριμένη ή επίσημη μέθοδος δεν έχει προταθεί για τον προσδιορισμό των φυσικών φαινολών στο ελαιόλαδο, και οι τιμές που αναφέρονται από διάφορους ερευνητές μπορούν πολύ δύσκολα να συγκριθούν μεταξύ τους μιας και αφορούν περιεκτικότητα ολικών φαινολών και ποσοστά συγκεκριμένων συστατικών. Η τυροσόλη και η υδρόξυτυροσόλη αναφέρονται συνήθως ως τα κύρια συστατικά. Οι φαινόλες ως πολικές ενώσεις είναι κατά κανόνα υδατοδιαλύτες, ελάχιστα λιποδιαλυτές και παρουσιάζουν έντονη αντιοξειδωτική δράση (Tuck., et al 2002).

Άλλα φαινολικά συστατικά που εμφανίζονται στην σύνθεση του ελαιολάδου είναι η ελευροπαΐνη, το καφεϊκό οξύ, φερουλικό οξύ, το π-κουμαρικό οξύ, το όρθο-κουμαρικό οξύ, το πρώτοκατεχικό οξύ, το σιναπικό οξύ, το π-υδροξυβενζοϊκό οξύ, απιγενίνη, το γαλλικό οξύ, κ.α.

Το εξευγενισμένο ελαιόλαδο δεν περιέχει πολυφαινόλες γιατί οι τελευταίες είναι πολικά συστατικά και απομακρύνονται πλήρως από το νερό κατά τον εξευγενισμό. Τα φαινολικά συστατικά που υπάρχουν στο ελαιόλαδο και στις μαργαρίνες είναι διαφορετικά από αυτά των ελιών. Οι τελευταίες περιέχουν κυρίως γλυκοζίτες όπως ελευροπαΐνη, φερβασκοσίδη, λουτεολίνη και ρουτίνη (Κυριτσάκης 2007).

Η συγκέντρωση των ολικών φαινολών συνήθως κυμαίνεται από 50 ως 200 ppm αλλά μπορούν να βρεθούν και ελαιόλαδα με περιεκτικότητα ως και 1000 ppm (Γαρδούνη, 2001).

## 2.2 Ποιοτικά Κριτήρια Και Κατηγορίες Ελαιολάδου

### Κριτήρια ποιότητας

Τα βασικά κριτήρια για την αξιολόγηση της ποιότητας του ελαιολάδου είναι:

- Η οξύτητα,
- η οξείδωση,
- το χρώμα και
- τα οργανοληπτικά του χαρακτηριστικά (άρωμα, γεύση).

Καθένα από τα παραπάνω ποιοτικά κριτήρια αξιολογεί κάτι το διαφορετικό (π.χ υδρόλυση, οξείδωση, κλπ), γι' αυτό το λόγο πρέπει όλα να λαμβάνονται υπόψη για τη σωστή αξιολόγηση του ελαιολάδου (Κυριτσάκης, 1993, Χριστοπούλου, 2005). Τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά εξαρτώνται τόσο από τη σύσταση του ελαιολάδου όταν αυτό βρίσκεται

ακόμα στον ελαιόκαρπο, καθώς και από τις διάφορες αλλοιώσεις τις οποίες υφίσταται στα στάδια που μεσολαβούν από τον σχηματισμό του στον καρπό μέχρι την κατανάλωση.

### • **Οξύτητα**

Η οξύτητα αποτελεί το βασικότερο κριτήριο ποιοτικής αξιολόγησης του ελαιολάδου. Με βάση την οξύτητα, το ελαιόλαδο διακρίνεται σε φαγώσιμο ή βιομηχανικό και ανάλογα διαμορφώνεται και η τιμή του και η εμπορευσιμότητα του.

Η οξύτητα του ελαιολάδου εξαρτάται κατά κύριο λόγο από την ποιοτική κατάσταση του ελαιοκάρπου από τον οποίο προέρχεται και μεταβάλλεται πολύ λίγο μετά την παραλαβή του απ' αυτόν. Μικρή αύξηση της οξύτητας του ελαιολάδου, μετά την παραλαβή του από τον ελαιόκαρπο, οφείλεται κυρίως στην παρουσία υδρολυτικών ενζύμων και υγρασίας στο ίζημα (μούργα), που συγκεντρώνεται στον πυθμένα των δοχείων αποθήκευσης και διατήρησης.

### • **Οξειδωση**

Η οξείδωση αποτελεί κριτήριο ελέγχου της ποιοτικής κατάστασης του ελαιολάδου και γενικότερα των λιπαρών υλών. Ο προσδιορισμός της γίνεται κυρίως με τον υπολογισμό των υπεροξειδίων, τη μέτρηση της απορρόφησης στο υπεριώδες φάσμα και με ορισμένες άλλες τεχνικές.

#### • **α. Αριθμός υπεροξειδίων**

Ο προσδιορισμός του αριθμού των υπεροξειδίων, αποτελεί βασικό κριτήριο ελέγχου του βαθμού οξείδωσης του ελαιολάδου. Για το παρθένο ελαιόλαδο, θα πρέπει αυτός ο αριθμός να είναι μικρότερος ή ίσος του 20 (πίνακας 2.5) όριο το οποίο έχει καθιερώσει το Δ.Σ.Ε και η ΕΕ.

#### • **β. Απορρόφηση στο υπεριώδες φάσμα**

Ο προσδιορισμός της απορρόφησης του ελαιολάδου στο υπεριώδες φάσμα χρησιμοποιείται κατά κανόνα, για τον έλεγχο της ποιοτικής του κατάστασης και ειδικότερα για τον προσδιορισμό του βαθμού της οξειδωτικής του αλλοίωσης. Η μέτρηση γίνεται σε φασματοφωτόμετρο υπεριώδους φάσματος, σε διαφορετικά μήκη κύματος 232 nm και 270 nm. Στα 232 nm απορροφούν το μέγιστο τα πρωτογενή προϊόντα της οξείδωσης (συζυγή υπεροξειδία), ενώ στα 270 nm απορροφούν το μέγιστο τα δευτερογενή προϊόντα της οξείδωσης (αλδεύδες, κετόνες).

Ο προσδιορισμός των σταθερών  $K_{232}$  και  $K_{270}$  μπορεί να χρησιμοποιηθεί και για τον έλεγχο της **νοθείας** του ελαιολάδου με ραφινρισμένο ελαιόλαδο ή σπορέλαια, τα οποία υποβάλλονται υποχρεωτικά στη διεργασία του ραφινρισματος γιατί στα 232 και στα 270nm απορροφούν επίσης και τα συζυγή διένια και τριένια τα οποία προκύπτουν κατά το ραφινρίσμα (εξευγενισμό). Όταν οι τιμές των σταθερών  $K_{232}$  και  $K_{270}$  είναι υψηλές και εκτός των επιθυμητών ορίων υπάρχει περίπτωση να έχουμε νοθεία του ελαιολάδου με ραφινρισμένα ελαιόλαδα. Επομένως, αν γίνει παράλληλα και ο προσδιορισμός του βαθμού οξείδωσης με τη μέθοδο των υπεροξειδίων είναι δυνατόν να καταλήξουμε σε συμπέρασμα αν οι υψηλές τιμές  $K_{232}$  και  $K_{270}$  που βρέθηκαν οφείλονται σε οξείδωση ή σε νοθεία.

Μία καλύτερη εικόνα της ποιοτικής κατάστασης του ελαιολάδου δίνει ο προσδιορισμός των απορροφήσεων σε μήκη κύματος 262, 268 και στα 274nm, με τη βοήθεια της εξίσωσης:

$$\Delta K = K_{268} - (K_{262} + K_{274}) / 2$$

### • **Χρώμα**

Το χρώμα του ελαιολάδου αποτελεί χαρακτηριστικό δείκτη ποιότητας. Αποτελεί βασικό παράγοντα μιας οργανοληπτικής εξέτασης. Συνήθως διαφέρει από ελαιόλαδο σε ελαιόλαδο σε αρκετές φορές επηρεάζει τις τελικές επιλογές του καταναλωτικού κοινού.

Το είδος των χρωστικών ουσιών, οι οποίες επικρατούν στον ελαιόκαρπο κατά το στάδιο της συγκομιδής, καθορίζει βασικά το χρώμα του ελαιολάδου, το οποίο παραλαμβάνεται.

Το χρώμα του ελαιολάδου είναι πράσινο στην αρχή της περιόδου συγκομιδής, όταν ο ελαιόκαρπος είναι ακόμη άγουρος και επικρατούν οι χλωροφύλλες. Με την πάροδο του χρόνου κατά την ωρίμανση του ελαιοκάρπου, το ελαιόλαδο παίρνει ένα κίτρινο προς χρυσαφί χρώμα επειδή υπάρχουν περισσότερες καροτίνες. Τέλικά πλέον υπερώριμος ελαιόκαρπος δίνει ελαιόλαδο με έντονα φαιό χρώμα.

### ✿ **Οργανοληπτικά χαρακτηριστικά**

Ο οργανοληπτικός έλεγχος των χαρακτηριστικών (άρωμα και γεύση) του ελαιολάδου αποτελεί το βασικότερο κριτήριο ποιοτικής αξιολόγησης.

Η οργανοληπτική αξιολόγηση γίνεται από ειδικευμένα άτομα, δοκιμαστές και προτιμάται να γίνεται σε κατάλληλα διαμορφωμένους χώρους. Στη μέθοδο όμως υπεισέρχεται και το υποκειμενικό στοιχείο του δοκιμαστή κάτι που, οπωσδήποτε, αποτελεί βασικό μειονέκτημα.

Με κριτήριο τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά, οι Frezotti και Manni (1956) διαφοροποίησαν τα ελαιόλαδα στα εξής κατηγορίες:

**Αγουρέλαια:** Προέρχονται από άγουρο ελαιόκαρπο και έχουν χαρακτηριστική πικρή γεύση.

**Πικρά ελαιόλαδα:** Παραλαμβάνονται από ελαιόκαρπο, ο οποίος περιέχει μεγάλες ποσότητες φύλλων.

**Φρουτώδη:** Έχουν τη γεύση φρέσκου καλής ποιότητας και φυσιολογικά ώριμου ελαιοκάρπου.

**Ελαιόλαδα με καλή γεύση:** Όλα τα ελαιόλαδα με την χαρακτηριστική διακριτική γεύση, χωρίς την παρουσία δυσάρεστων οσμών.

**Ελαττωματικά:** Ελαιόλαδα τα οποία παρουσιάζουν γεύση και οσμή μούχλας, χωματίλας, ταγγάδας, κ.λ.π.

Ας σημειωθεί ότι τα αγουρέλαια αποτελούν μία σημαντική κατηγορία ελαιολάδων που θα πρέπει να προτιμώνται γιατί έχουν ευνοϊκή επίδραση στην υγεία.

## **Κατηγορίες ελαιολάδου και πυρηνελαίου καθορισμένες από το Δ.Σ.Ε και την Ε.Ε**

Το Διεθνές Συμβούλιο Ελαιολάδου καθώς και η Ευρωπαϊκή Ένωση (Ε.Ε), με αποφάσεις τους που βασίζονται σε ορισμένα κριτήρια και χαρακτηριστικά, κατατάσσουν το ελαιόλαδο σε διάφορες κατηγορίες. Σύμφωνα με τους πιο πρόσφατους κανονισμούς, διακρίνονται οι εξής κατηγορίες ελαιολάδου και πυρηνελαίου:

### **1. Παρθένο ελαιόλαδο**

Ελαιόλαδο, το οποίο παραλαμβάνεται από τον ελαιόκαρπο μόνο με μηχανικά ή φυσικά μέσα και κατά την παραλαβή του εφαρμόζονται συνθήκες, κυρίως θερμικές, οι οποίες δεν προκαλούν αλλοιώσεις στην ποιότητα του. Το ελαιόλαδο της συγκεκριμένης κατηγορίας δεν έχει υποστεί καμία άλλη επεξεργασία παρά μόνο πλύση, μετάγγιση, φυγοκέντριση και

διήθηση. Στην κατηγορία αυτή δεν περιλαμβάνονται τα εστεροποιημένα ελαιόλαδα, μείγματα άλλων λαδιών, ούτε αυτά τα οποία εκχυλίζονται με διαλύτη. Το παρθένο ελαιόλαδο περιλαμβάνει τις εξής κατηγορίες:

- **Εξαιρετικό παρθένο ελαιόλαδο (extra virgin olive oil)**

Παρθένο ελαιόλαδο, του οποίου η οξύτητα εκφρασμένη σε ελαϊκό οξύ δεν υπερβαίνει το 0,8%. Ο αριθμός υπεροξειδίων εκφρασμένος σε  $\text{meqO}_2/\text{kg}$  ελαίου είναι  $\leq 20$ , η σταθερά  $K_{270} \leq 0,22$  και η σταθερά  $\Delta K \leq 0,01$ .

- **Παρθένο ελαιόλαδο (virgin olive oil)**

Παρθένο ελαιόλαδο του οποίου η οξύτητα, εκφρασμένη σε ελαϊκό οξύ, δεν υπερβαίνει το 2%. Ο αριθμός υπεροξειδίων και η τιμή  $\Delta K$  καθορίζονται όπως του εξαιρετικού παρθένου ελαιολάδου, ενώ η τιμή  $K_{270}$  ορίζεται στα 0,25.

- **Ελαιόλαδο Λαμπάντε (virgin olive oil lampante)**

Παρθένο ελαιόλαδο με οξύτητα εκφρασμένη σε ελαϊκό οξύ, που υπερβαίνει το 2%. Το ελαιόλαδο λαμπάντε είναι ακατάλληλο για κατανάλωση ως έχει και προορίζεται για ραφινάρισμα ή για βιομηχανική χρήση.

## **2. Ραφιναρισμένο ελαιόλαδο**

Ελαιόλαδο, το οποίο παραλαμβάνεται έπειτα από ραφινάρισμα παρθένων ελαιολάδων και του οποίου η οξύτητα, εκφρασμένη σε ελαϊκό οξύ, δεν πρέπει να υπερβαίνει τα 0,3g /100g ελαιολάδου. Ο αριθμός υπεροξειδίων εκφρασμένος σε  $\text{meqO}_2/\text{kg}$  ελαίου είναι μικρότερος ή ίσος με 5, η σταθερά  $K_{270}$  μικρότερη ή ίση με 1,1 και η σταθερά  $\Delta K$  μικρότερη ή ίση με 0,16.

## **3. Ελαιόλαδο ή γνήσιο ελαιόλαδο ή αγνό ή κουπέ (pure olive oil).**

Έλαιο το οποίο προκύπτει έπειτα από ανάμιξη εξευγενισμένου (ραφιναρισμένου) και παρθένου ελαιολάδου (εκτός από λαμπάντε) και του οποίου η οξύτητα, εκφρασμένη σε ελαϊκό οξύ, δεν υπερβαίνει το 1%. Ο αριθμός υπεροξειδίων εκφρασμένος σε  $\text{meqO}_2/\text{kg}$  ελαίου είναι  $\leq 15$ , η σταθερά  $K_{270} \leq 0,9$  και η σταθερά  $\Delta K \leq 0,15$ .

## **4. Ακατέργαστο πυρηνέλαιο**

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

## **5. Ραφιναρισμένο πυρηνέλαιο**

Έλαιο το οποίο λαμβάνεται από ραφινάρισμα του ακατέργαστου πυρηνελαίου του οποίου η οξύτητα, εκφρασμένη σε ελαϊκό οξύ, δεν υπερβαίνει το 0,3%. Ο αριθμός υπεροξειδίων εκφρασμένος σε  $\text{meqO}_2/\text{kg}$  ελαίου είναι  $\leq 10$ , η σταθερά  $K_{270} \leq 2$  και η σταθερά  $\Delta K \leq 0,2$ .

## **6. Πυρηνέλαιο**

Το πυρηνέλαιο είναι λάδι που προέρχεται από την επεξεργασία του πυρήνα καθώς και της ψίχας της ελιάς. Τα ελαιοτριβεία δεν μπορούν να αφαιρέσουν το σύνολο του ελαιολάδου που

περιέχει η ελιά, γι' αυτό ακολουθείται μία περαιτέρω επεξεργασία που ολοκληρώνει την απομάκρυνση του ελαιολάδου.

Η ποιότητα του πυρηνελαίου διαφοροποιείται από τα σπορέλαια, διότι διατηρεί τα βασικά χαρακτηριστικά και τις ιδιότητες του ελαιολάδου. Συγκεκριμένα, η χημική του σύσταση το καθιστά πιο ανθεκτικό στις υψηλές θερμοκρασίες τηγανίσματος σε σχέση με τα σπορέλαια και μπορεί να χρησιμοποιηθεί άφοβα για διαδοχικά τηγανίσματα. Επίσης, περιέχει υψηλά ποσοστά μονοακόρεστων υδρογονανθράκων του ελαιολάδου, τα οποία βοηθούν στη μείωση των γαστρικών υγρών καθώς και στη διευκόλυνση της πέψης.

Στο Πίνακα 2.5 παρουσιάζονται τα χαρακτηριστικά των διαφόρων κατηγοριών ελαιολάδου που μόλις προαναφέρθηκαν καθώς και διάφορα άλλα όρια άλλων χαρακτηριστικών π.χ κήρων .

**Πίνακας 2.5.** Επιτρεπόμενα όρια διαφόρων χαρακτηριστικών σε ανάλογες κατηγορίες ελαιολάδων.

Κατηγορία Ελαιολάδου	Οξύτητα (%)	Αριθμός υπεροξειδίων meqO <sub>2</sub> /kg λαδιού	Κήροι mg/kg	Αλογονομένοι διαλύτες	Κορεσμένα Οξέα στη θέση 2 του μορίου των τριγλυκεριδίων (%)	Στιγμασταδιένια (mg/kg)	Διαφορά μεταξύ της HPLC ανάλυσης και του θεωρητικού ECN42	K <sub>232</sub>	K <sub>270</sub>	K <sub>270</sub> μετά το πέρασμα από αλουμίνα	ΔΚ	Οργανοληπτική αξιολόγηση. Μέση τιμή Ελαττωμάτων (Md)	Οργανοληπτική αξιολόγηση. Μέση τιμή φρουτώδους (Mf)
Εξαιρετικό Παρθένο	≤ 0,8	≤ 20	≤ 250	≤ 0,20	≤ 1,3	≤ 0,15	≤ 0,2	≤ 2,50	≤ 0,20	≤ 0,10	≤ 0,01	Md = 0	Mf > 0
Παρθένο	≤ 2,0	≤ 20	≤ 250	≤ 0,20	≤ 1,3	≤ 0,15	≤ 0,2	≤ 2,60	≤ 0,25	≤ 0,10	≤ 0,01	Md ≤ 2,5	Mf > 0
Κοινό παρθένο	≤ 3,3	≤ 20	≤ 250	≤ 0,20	≤ 1,3	≤ 0,15	≤ 0,2	≤ 2,60	≤ 0,25	≤ 0,10	≤ 0,01	Md ≤ 6,0	-
Παρθένο Λαμπάντε	> 3,3	> 20	≤ 300	> 0,20	≤ 1,3	≤ 0,50	≤ 0,3	≤ 3,70	> 0,25	≤ 0,11	-	Md > 6	-
Ραφινρισμένο	≤ 0,5	≤ 5	≤ 350	≤ 0,20	≤ 1,5	-	≤ 0,3	≤ 3,40	≤ 1,20	-	≤ 0,16	-	-
Ελαιόλαδο	≤ 1,5	≤ 15	≤ 350	≤ 0,20	≤ 1,5	-	≤ 0,3	≤ 3,30	≤ 1,00	-	≤ 0,13	-	-
Ακατέργαστο Πυρηνέλαιο	> 0,5	-	> 350	-	≤ 1,8	-	≤ 0,6	-	-	-	-	-	-
Ραφινρισμένο Πυρηνέλαιο	≤ 0,5	≤ 5	> 350	≤ 0,20	≤ 2,0	-	≤ 0,5	≤ 2,50	≤ 2,50	-	≤ 0,25	-	-
Πυρηνέλαιο	≤ 1,5	≤ 15	> 350	≤ 0,20	≤ 2,0	-	≤ 0,5	≤ 2,00	≤ 2,00	-	≤ 0,20	-	-

**Σημείωση :**

Έλαια με περιεκτικότητα σε κήρους μεταξύ 300 και 350 mg/kg χαρακτηρίζονται λαμπάντε σε περίπτωση που οι συνολικές αλειφατικές αλκοόλες είναι μέχρι και 350 mg/kg ή το ποσοστό της ερυθροδιόλης και ουβαόλης είναι μέχρι 3,5. Έλαια με περιεκτικότητα σε κήρους μεταξύ 300 και 350 mg/kg χαρακτηρίζονται ακατέργαστα πυρηνέλαια αν οι συνολικές αλειφατικές αλκοόλες είναι περισσότερες από 350 mg/kg και το ποσοστό της ερυθροδιόλης και της ουβαόλης είναι μεγαλύτερο του 3,5. Όταν πρόκειται για ανίχνευση παρουσίας ραφινρισμένου ελαιολάδου, τότε η τιμή του K<sub>232</sub> ξεπερνά το όριο που του έχει τεθεί για την κατηγορία το ελαιόλαδο πρέπει να περνά από αλουμίνα και να προσδιορίζεται ξανά η τιμή. (ΕΛΑΙΣ, 2009).

## 2.3 Νοθεία Ελαιολάδου

### Λιπαρές ύλες που χρησιμοποιούνται για την νοθεία

#### Γενικά

Το έξτρα παρθένο, βιολογικό ελαιόλαδο, είναι ένας θαυμάσιος φυσικός χυμός και υπερέχει από άλλα έλαια. Λαμβάνεται με φυσική πίεση του καρπού της ελιάς, εν αντιθέσει προς τα σπορέλαια που λαμβάνονται μετά από χημική επεξεργασία των σπόρων με διάφορους οργανικούς διαλύτες. Το έξτρα παρθένο, βιολογικό ελαιόλαδο είναι πιο εύπεπτο από τα σπορέλαια και αξιοποιείται καλύτερα από τον ανθρώπινο οργανισμό. Είναι το μόνο που μπορεί να καταναλωθεί χωρίς καμία χημική κατεργασία. Σε σύγκριση με τα κοινά φυτικά έλαια, το κόστος του ελαιολάδου είναι υψηλότερο.

Η επιθυμία του ανθρώπου για εύκολο κέρδος οδηγεί στη νοθεία. Η πρακτική αυτή, μπορεί να αποβεί σε αρκετές περιπτώσεις επικίνδυνη για τη δημόσια υγεία. Νοθεία του ελαιολάδου από ασυνείδητους μεσάζοντες και εμπόρους εμφανιζόταν σε μεγάλη έκταση και στο παρελθόν και δυστυχώς η πρακτική αυτή θα συνεχισθεί αν οι αρμόδιοι δεν λάβουν αυστηρά μέτρα. Λόγω του ότι το ελαιόλαδο μοιάζει ως προς τα γενικά χαρακτηριστικά του με τα άλλα φυτικά έλαια είναι δυνατόν να γίνει νοθεία με προσθήκη μικρών ποσοτήτων άλλων ελαίων, χωρίς αυτή να μπορεί να γίνει αντιληπτή ούτε από τον καταναλωτή, αλλά ούτε και από εξειδικευμένα άτομα (Κυριτσάκης, 2007).

Παρακάτω αναφέρονται τα πιο συνηθισμένα μέσα νοθείας:

#### ✿ Πυρηνέλαιο:

Το πυρηνέλαιο μετά το ραφινάρισμα μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως λάδι φαγητού. Η ανάμιξη του με παρθένο ελαιόλαδο, δεν επιτρέπεται σε πολλές ελαιοπαραγωγικές χώρες και αν τυχόν γίνει θεωρείται νοθεία και διώκεται από τον νόμο. Το πυρηνέλαιο παρότι είναι λάδι κατά κύριο λόγο του μεσοκαρπίου της ελιάς μοιάζει περισσότερο με το σπορέλαιο γιατί εκχυλίζεται με τους ίδιους διαλύτες από τον ελαιοπυρήνα των ελαιούχων σπόρων.

#### ✿ Ορυκτέλαιο:

Το ορυκτέλαιο μπορεί να αναμιχθεί με το ελαιόλαδο και να αποτελέσει μέσο νοθείας του. Οι διάφοροι τύποι ορυκτελαίου είναι το παραφινέλαιο, τα λάδια αυτοκινήτου και γενικά των μηχανών εσωτερικής καύσης κ.τ.λ. Αυτά τα ορυκτέλαια δεν σαπωνοποιούνται με διαλύτες αλκαλίων και μεταφέρονται στα ασαπωνοποίητα συστατικά. Επί της συμπεριφοράς αυτής βασίζεται ο ποιοτικός και ποσοτικός προσδιορισμός τους. Η ποιοτική ανίχνευση του ορυκτελαίου γίνεται με διάλυμα ΚΟΗ σε νερό και οινόπνευμα 96ο (4% νερό κατ' όγκο) με τη σαπωνοποίηση του διαλύματος και την εμφάνιση έντονου θολώματος στο δείγμα.

#### ✿ Σπορέλαια:

Γίνεται με λάδια σπόρων τείου, σησαμέλαιο, βαμβάκέλαιο, αραχιδέλαιο, κ.α

### ✿ **Ιχθυέλαια:**

Περιέχουν σε αυξημένα ποσοστά, πολυακόρεστα λιπαρά οξέα με δύο, τρεις ή και περισσότερους δεσμούς. Τα οξέα αυτά σχηματίζονται με το βρώμιο, βρωμιοπαράγωγα, τα οποία καθιζάνουν και είναι μακροσκοπικά ορατά.

### ✿ **Προσμίξεις με έλαια ξένων χωρών:**

Μπορεί οι προσμίξεις να είναι νόμιμες, όταν όμως στις ετικέτες δε γίνεται η αναγραφή, τότε η ενέργεια αυτή αποτελεί νοθεία του ελαιολάδου, με στόχο την εξαπάτηση του καταναλωτή και την αισχροκέρδεια από τις επιχειρήσεις.

## **2.4 Έλεγχος Νοθείας Ελαιολάδου**

Ο πλέον σίγουρος και ίσως ο μοναδικός τρόπος για να διαπιστωθεί η νοθεία του ελαιολάδου είναι η χημική ανάλυση του. Στο παρελθόν για τον έλεγχο της γνησιότητας του ελαιολάδου χρησιμοποιούνταν τα κλασικά κριτήρια (προσδιορισμός φυσικών και χημικών σταθερών) σε συνδυασμό με τη μέτρηση της απορρόφησης στο υπεριώδες φώς (για τον υπολογισμό των ειδικών συντελεστών  $K_{232}$  και  $K_{270}$ ) και με την εφαρμογή ορισμένων άλλων μεθόδων (Codex Alimentarius Commission, 1970, Ninnis και Ninni, 1966, I00C (Δ.Σ.Ε), 1966). Αυτές οι τεχνικές έχουν μελετηθεί από το Διεθνές Συμβούλιο Ελαιολάδου (Δ.Σ.Ε) και αποτέλεσαν τη βάση για τις προτεινόμενες σύγχρονες τεχνικές και μεθόδους που έχουν καθιερωθεί τόσο από το ΔΣΕ όσο και από την ΕΕ για τον έλεγχο της νοθείας του ελαιολάδου.

Η ανάλυση των ασαπωνοποιητών συστατικών του ελαιολάδου (δηλαδή η διερεύνηση της σύστασης του κλάσματος των στερολών, των τοκοφερολών, των τριτερπενικών αλκοολών, κ.α) είναι πολύ χρήσιμη διότι αναδεικνύει τις διαφορές που παρατηρούνται μεταξύ των φυτικών ελαίων (Ciusa και Morgante, 1974, Pallota, 1976, Fedeli, 1977, Itoh et al., 1981, Firestone και Reina, 1992, 1996).

### ❖ **Περιγραφή των βασικότερων τεχνικών και μεθόδων ελέγχου νοθείας του ελαιολάδου.**

Στη συνέχεια γίνεται περιγραφή των βασικότερων μεθόδων ελέγχου νοθείας του ελαιολάδου οι οποίες αποτελούν επίσημες μεθόδους του Διεθνούς Συμβουλίου Ελαιολάδου (Δ.Σ.Ε) και της Ευρωπαϊκής Ένωσης (Ε.Ε).

### ✿ **Δοκιμή Carocci - Buzzi**

Η συγκεκριμένη δοκιμή, χρησιμοποιείται για τον έλεγχο της νοθείας του ελαιολάδου με πυρηνέλαιο, εξετάζοντας το σχηματισμό ή όχι νιφάδων στο δείγμα. Τα αποτελέσματα εκφράζονται ως θετικά ή αρνητικά ανάλογα με το αν θα σχηματιστούν νιφάδες ή όχι. Αν σχηματιστούν νιφάδες υπάρχει πυρηνέλαιο στο δείγμα που αναλύθηκε. Σε περίπτωση θολώματος χωρίς εμφάνιση νιφάδων δεν υπάρχει πυρηνέλαιο στο δείγμα.



### ✿ Δείκτης Bellier - Marcille

Ο δείκτης Bellier-Marcille δείχνει τη θερμοκρασία στην οποία αρχίζει η καθίζηση των αλάτων των λιπαρών οξέων του ελαίου. Ο συγκεκριμένος δείκτης δίνει μία ένδειξη για το «επίπεδο» των κορεσμένων λιπαρών οξέων μεγάλης αλυσίδας, τα οποία υπάρχουν στο έλαιο.

Ο προσδιορισμός του δείκτη Bellier-Marcille έχει προταθεί από το Δ.Σ.Ε και προσδιορίζεται στο παρθένο και στο εξευγενισμένο ελαιόλαδο, καθώς και στο εξευγενισμένο πυρηνέλαιο.

Ως δείκτης Bellier-Marcille ορίζεται η θερμοκρασία (°C) στην οποία παρουσιάζεται εκ νέου το θόλωμα. Η θερμοκρασία δεν πρέπει να διαφέρει περισσότερο από 0,25° C, όταν η μέθοδος εφαρμόζεται εις διπλούν. Ο δείκτης για το παρθένο και το εξευγενισμένο ελαιόλαδο δεν πρέπει να είναι μεγαλύτερος από 17.

### ✿ Δοκιμή ανίχνευσης τσαγιελαίου

Η μέθοδος βασίζεται στο σχηματισμό κόκκινου προϊόντος όταν στο διάλυμα ελαιολάδου σε χλωροφόρμιο, προστεθεί μίγμα οξικού ανυδρίτη - θειικού οξέος. Βασίζεται στην αρχική μέθοδο του Fitelson όπως τροποποιήθηκε από τους Lieberman-Burchard.

### ✿ Ανίχνευση σπορελαίων με τη δοκιμή Bellier

Με τη δοκιμή αυτή ανιχνεύονται γενικά όλα τα σπορέλαια στο ελαιόλαδο. Το αντιδραστήριο Bellier αποτελείται από κορεσμένο εν ψυχρώ διάλυμα ρεζορκίνης σε βενζένιο. Η ανατάραξη του μείγματος (αντιδραστήριο Bellier και πυκνό νιτρικό οξύ) διαρκεί 15 sec. Αν κατά τη διάρκεια η πριν το τέλος της ανατάραξης εμφανιστεί ιώδες ή ερυθροιώδες χρώμα τότε στο ελαιόλαδο υπάρχει σπορέλαιο. Αν το χρώμα εμφανιστεί αργότερα, ο χρωματισμός αυτός δεν λαμβάνεται υπόψη.

### ✿ Δείκτης Vizern - Guillot

Ο προσδιορισμός του δείκτη Vizern-Guillot έχει προταθεί από το Δ.Σ.Ε για τον έλεγχο της νοθείας του παρθένου και του εξευγενισμένου ελαιολάδου με ημιξηραινόμενα έλαια, δηλαδή με έλαια ο αριθμός ιωδίου των οποίων κυμαίνεται από 100 έως 150. Στην κατηγορία αυτή ανήκουν τα περισσότερα σπορέλαια.

Η μέθοδος βασίζεται στην αντίδραση των ημιξηραινόμενων ελαίων με το βρώμιο που οδηγεί στο σχηματισμό ιζήματος στους 0° C. Αν στο δείγμα υπάρχει ημιξηραινόμενο έλαιο σχηματίζεται ένα θρομβωμένο ίζημα, η ποσότητα του οποίου εξαρτάται από το ποσοστό της νοθείας και τη φύση του ελαίου που έχει χρησιμοποιηθεί για τη νοθεία. Σε περίπτωση που το μίγμα παραμείνει διαυγές το ελαιόλαδο δεν είναι νοθευμένο.

### ✿ Αντίδραση πολυβρωμιδίων

Με την αντίδραση αυτή ανιχνεύεται στο ελαιόλαδο, η παρουσία λιπαρών υλών που περιέχουν λιπαρά οξέα με περισσότερους από δύο, μη συζυγείς διπλούς δεσμούς. Η μέθοδος βασίζεται στο σχηματισμό ιζήματος λόγω της συγκράτησης βρωμίου στους διπλούς δεσμούς των οξέων αυτών. Το ίζημα αποτελούν πολυβρωμιωμένα παράγωγα τα οποία είναι αδιάλυτα σε διαιθυλαιθέρα.

## ✿ Προσδιορισμός στερολών

Στα έλαια απαντούν διάφορες στερόλες, όπως η καμπεστερόλη, η εργοστερόλη, η στιγμαστερόλη, η β-σιτοστερόλη και άλλες.

Τα παρθένα ελαιόλαδα είναι κατά κανόνα πλούσια σε β-σιτοστερόλη. Τα επίπεδα της στερόλης αυτής στα εξευγενισμένα ελαιόλαδα είναι χαμηλότερα γιατί κατά τον εξευγενισμό και κυρίως στα στάδια της εξουδετέρωσης και του αποχρωματισμού καταστρέφεται μέρος των στερολών, ενώ στο στάδιο της απόσμησης ένα άλλο μέρος συναποσπάται με τα δύσοσμα πτητικά συστατικά. Το ΔΣΕ (1995) πρότεινε τον προσδιορισμό των επί μέρους στερολών για τον έλεγχο της νοθείας (Κυριτσάκης, 2007).

Για τον προσδιορισμό των στερολών, το κλάσμα των ασαπωνοποίητων συστατικών του ελαιολάδου διέρχεται αρχικά μέσω αλουμίνας για την απομάκρυνση των ελεύθερων λιπαρών οξέων. Στη συνέχεια απομονώνεται το κλάσμα των στερολών με διαχωρισμό επάνω σε πλάκες TLC επιστρωμένες με Silica Gel G, και οι στερόλες μετατρέπονται σε τριμεθυλοσιλυλαιθερικά παράγωγα (TMS) τα οποία διαχωρίζονται αεριοχρωματογραφικά (Fedeli, 1977).

Ο Πίνακας 2.6 δίνει τις διάφορες στερόλες που έχουν βρεθεί στο ελαιόλαδο και ο Πίνακας 2.7 τα ελάχιστα όρια για τα επίπεδα των ολικών στερολών στις διάφορες κατηγορίες ελαιολάδου και πυρηνελαίου.

**Πίνακας 2.6.** Στερόλες που έχουν ταυτοποιηθεί στο ελαιόλαδο.

Είδος στερόλης	Περιεκτικότητα (%)
Χοληστερόλη	≤ 0,5
Βρασσικαστερόλη	≤ 0,1
Καμπεστερόλη	≤ 4,0
Στιγμαστερόλη	< Καμπεστερόλης εδώδιμου ελαιολάδου
Δ <sup>7</sup> -Στιγμαστερόλη+	≤ 0,5
β-Σιτοστερόλη+	
Δ <sup>5</sup> -Αβεναστερόλη+	
Δ <sup>5,23</sup> -Στιγμασταδιενόλη+	≥ 93,0
Χοληστερόλη+Σιτοστανόλη+	
Δ <sup>5,24</sup> -Στιγμασταδιενόλη	

(Κυριτσάκης, 2007)

**Πίνακας 2.7.** Όρια για τα επίπεδα των ολικών στερολών στις διάφορες κατηγορίες ελαιολάδου και πυρηνελαίου.

Κατηγορία ελαίου	Όρια (mg/100g)
Παρθένο ελαιόλαδο	≥ 100
Εξευγενισμένο ελαιόλαδο	≥ 100
Ελαιόλαδο	≥ 100
Ακατέργαστο πυρηνέλαιο	≥ 250
Εξευγενισμένο πυρηνέλαιο	≥ 180
Πυρηνέλαιο	≥ 160

(Δεν συνυπολογίζονται και οι τριτερπενικές  
διαλκοόλες ευθοροδιόλη, ουβαόλη)

(Κυριτσάκης, 2007)

### ✿ Προσδιορισμός σκουαλενίου

Η νοθεία του ελαιολάδου έχει ως αποτέλεσμα τη μείωση της περιεκτικότητας του σε σκουαλενιο. Στο εξευγενισμένο ελαιόλαδο απαντούν και ισομερή του σκουαλενίου. Η παρουσία τους μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως κριτήριο της προσθήκης εξευγενισμένου ελαιολάδου σε παρθένο ελαιόλαδο.

Ο Grab et al., (1992), προσδιόρισαν τα προϊόντα που σχηματίζονται λόγω της απόσπασης νερού από το μόριο των στερολών (στεραδιένια) και τα προϊόντα ισομερίωσης του σκουαλενίου, ως μέσο για την ανίχνευση νοθείας παρθένου με εξευγενισμένο ελαιόλαδο (Κυριτσάκης, 2007). Αυτά τα συστατικά απομονώνονται με εφαρμογή υγροχρωματογραφικής μεθόδου και ακολουθεί αεριοχρωματογραφική ανάλυση του κλάσματος που παραλαμβάνεται με χρήση τριχοειδούς στήλης που φέρει μέσης πολικότητας στατική φάση.

### ✿ Προσδιορισμός των κορεσμένων λιπαρών οξέων στη 2-θέση του μορίου των τριγλυκεριδίων

Η μέθοδος προσδιορισμού των κορεσμένων λιπαρών οξέων στη 2-θέση του μορίου των τριγλυκεριδίων έχει προταθεί από το Δ.Σ.Ε (1984, 1995) και την Ε.Ε (ΕΥ) (1991), ως μέθοδος ελέγχου της γνησιότητας του παρθένου ελαιολάδου.

Το παλμιτικό και το στεατικό οξύ είναι τα κύρια κορεσμένα λιπαρά οξέα των τριγλυκεριδίων του ελαιολάδου και του πυρηνελαίου. Στεατικό οξύ δεν έχει βρεθεί στη 2-θέση του μορίου των τριγλυκεριδίων του παρθένου ελαιολάδου, έχει όμως βρεθεί σ' αυτή του μορίου των τριγλυκεριδίων του πυρηνελαίου σε αναλογία 0,2- 0,3 % (στο σύνολο των λιπαρών οξέων που απαντούν στη 2-θέση). Γενικά τα κορεσμένα λιπαρά οξέα και τα οξέα με περισσότερα από 20 άτομα άνθρακα απαντούν πολύ σπάνια στη 2-θέση του μορίου των τριγλυκεριδίων των διαφόρων ελαίων.

### ✿ Προσδιορισμός αλειφατικών αλκοολών

Τα ελαιόλαδα περιέχουν μικρότερες ποσότητες αλειφατικών αλκοολών, από ότι τα πυρηνέλαια. Οι Gracian και Cota (1984), πραγματοποίησαν αεριοχρωματογραφική ανάλυση του κλάσματος των αλειφατικών αλκοολών του ελαιολάδου και του πυρηνελαίου και διαπίστωσαν την παρουσία κορεσμένων αλκοολών με γραμμική αλυσίδα, καθώς και μονο- και δισακόμεστων αλκοολών με 18-30 άτομα άνθρακα (Κυριτσάκης, 2007).

### ✿ Προσδιορισμός κηρών

Το εξαιρετικό παρθένο ελαιόλαδο χαρακτηρίζεται από την απουσία κηρών με 40-46 άτομα άνθρακα. Οι κηροί βρίσκονται σε μεγαλύτερες ποσότητες στο εξευγενισμένο ελαιόλαδο και στο πυρηνέλαιο. Ο προσδιορισμός των κηρών επιτρέπει τη διαφοροποίηση του πυρηνελαίου από το παρθένο ελαιόλαδο.

Ο προσδιορισμός των κηρών καθώς και των ολικών αλειφατικών αλκοολών καθιστά εφικτή την ανίχνευση της νοθείας του ελαιολάδου με πυρηνέλαιο (ΙΟΟC, 1995, ΕΥ, 1991). Σύμφωνα με την Ευρωπαϊκή επιτροπή, ο προσδιορισμός των κηρών είναι πιο αποτελεσματικός σε σχέση με τον προσδιορισμό των αλειφατικών αλκοολών για τον έλεγχο της νοθείας του παρθένου ελαιολάδου (Κυριτσάκης, 2007).

Το ανώτατο όριο για την περιεκτικότητα του παρθένου ελαιολάδου σε κηρούς, διαφοροποιείται αρκετά από των άλλων κατηγοριών όπως φαίνεται στο Πίνακα 2.8

**Πίνακας 2.8.** Όρια για τα επίπεδα των κήρων στις διάφορες κατηγορίες ελαιολάδου.

Ελαιόλαδο	≤ 250
Εδώδιμο παρθένο ελαιόλαδο	≤ 350
Λαμπάντε ελαιόλαδο	≤ 350
Εξευγενισμένο ελαιόλαδο	≤ 350
Ελαιόλαδο	≤ 350

(Κυριτσάκης, 2007)

### ✿ Προσδιορισμός ερυθροδιόλης

Σύμφωνα με το ΔΣΕ (1995), το εκατονταπλάσιο του λόγου του αθροίσματος ερυθροδιόλης και ουβαόλης προς το σύνολο των στερολών (συμπεριλαμβανομένων και των δύο αυτών τριτερπενικών αλκοολών) σε κάθε κατηγορία ελαιολάδου, δεν πρέπει να είναι μεγαλύτερο από 4,5 (Πίνακας 2.9). Γενικά οι μέθοδοι προσδιορισμού της ερυθροδιόλης και των αλειφατικών αλκοολών που χρησιμοποιούνται για την ανίχνευση πυρηνελαίου στο ελαιόλαδο έχουν κάποια μειονεκτήματα και δυστυχώς δεν υπάρχει ακόμη αξιόπιστη μέθοδος για τη διαπίστωση της παρουσίας τους.

**Πίνακας 2.9.** Αναλογία (%) της ερυθροδιόλης και της ουβαόλης στο σύνολο των στερολών στις διάφορες κατηγορίες ελαιολάδου και στο πυρηνέλαιο.

Ελαιόλαδο	$\frac{\text{Ερυθροδιόλη} + \text{Ουβαόλη}}{\text{Σύνολο Στερολών}} \times 100$
Λαμπάντε ελαιόλαδο	≤ 4,5
Παρθένο ελαιόλαδο	≤ 4,5
Εξευγενισμένο ελαιόλαδο	≤ 4,5
Ελαιόλαδο	≤ 4,5
Πυρηνέλαιο	≤ 4,5

(Κυριτσάκης, 2007)

### ✿ Ανάλυση των μεθυλεστέρων των λιπαρών οξέων για την εξακρίβωση της γνησιότητας του ελαιολάδου

Η συγκεκριμένη μέθοδος προϋποθέτει τη μετατροπή των λιπαρών οξέων στους μεθυλεστέρες τους που είναι πτητικοί (πολλά λιπαρά οξέα έχουν σημείο ζέσεως υψηλότερο από 400°C αλλά συχνά αποσυντίθενται σε χαμηλότερη θερμοκρασία). Τα τριγλυκερίδια έχουν επίσης υψηλό σ.ζ. και ορισμένα διασπώνται σε χαμηλότερες θερμοκρασίες. Αντίθετα οι μεθυλεστέρες έχουν σημαντικά χαμηλότερο σ.ζ. οπότε εξαερώνονται χωρίς να διασπαστούν.

Η αεριοχρωματογραφική ανάλυση των μεθυλεστέρων των λιπαρών οξέων έχει χρησιμοποιηθεί στο παρελθόν από πολλούς ερευνητές για την ανίχνευση της παρουσίας σπορέλαιων στο ελαιόλαδο (νοθεία). Η ανίχνευση όμως της παρουσίας πυρηνελαίου στο ελαιόλαδο είναι δύσκολη γιατί η σύσταση των δύο αυτών ελαίων σε λιπαρά οξέα είναι παρόμοια. Ο λόγος που το ελαιόλαδο και το πυρηνέλαιο έχουν παρόμοια σύσταση σε λιπαρά οξέα οφείλεται στο ότι η πρώτη ύλη είναι κοινή, καθώς, κατά την επεξεργασία του ελαιοκάρπου στο ελαιουργείο, η διαδικασία της άλεσης και της μάλαξης οδηγούν στην πλήρη ομογενοποίηση της σάρκας και του πυρήνα της ελιάς. Έτσι, το έλαιο που μένει στην ελαιοπυρήνα και παραλαμβάνεται στη συνέχεια με εκχύλιση έχει περίπου την ίδια σύσταση σε λιπαρά οξέα με το ελαιόλαδο.

✿ **Προσδιορισμός των trans-ακόρεστων ή των trans-ισομερών των ακόρεστων λιπαρών οξέων για την εξακρίβωση της γνησιότητας του ελαιολάδου**

Trans - ακόρεστα λιπαρά οξέα δεν υπάρχουν στο παρθένο ελαιόλαδο. Βρίσκονται στο εξευγενισμένο ελαιόλαδο καθώς σχηματίζονται κυρίως στο στάδιο της απόσπησης, ιδίως όταν αυτή λαμβάνει χώρα σε πολύ υψηλές θερμοκρασίες.

Υπάρχουν πολλές τεχνικές προσδιορισμού των trans ακόρεστων λιπαρών οξέων στο ελαιόλαδο και τα άλλα έλαια. Οι κυριότερες από αυτές είναι η φασματομετρία υπερύθρου (IR), η αεριοχρωματογραφία (GC) και η υγρή χρωματογραφία υψηλής απόδοσης (HPLC).

Στον Πίνακα 2.9 παρατίθενται τα ανώτατα επιτρεπτά όρια για τα επίπεδα των trans ακόρεστων λιπαρών οξέων στις διαφορετικές κατηγορίες ελαιολάδου όπως αυτά έχουν προταθεί από το Δ.Σ.Ε (1997).

**Πίνακας 2.9.** Ανώτατα όρια περιεκτικότητας (%) των λιπαρών οξέων των διαφόρων κατηγοριών ελαιολάδου και πυρηνελαίου σε trans - ακόρεστα λιπαρά οξέα.

Έλαιο	Trans - ακόρεστα λιπαρά οξέα (%)	
	C18:1	C18:2 + C18:3
Παρθένο ελαιόλαδο	< 0,05	< 0,05
Λαμπάντε ελαιόλαδο	≤ 0,10	≤ 0,10
Εξευγενισμένο ελαιόλαδο	≤ 0,20	≤ 0,30
Ελαιόλαδο	≤ 0,20	≤ 0,30
Ακατέργαστο πυρηνέλαιο	≤ 0,20	≤ 0,10
Εξευγενισμένο πυρηνέλαιο	≤ 0,40	≤ 0,35
Πυρηνέλαιο	≤ 0,40	≤ 0,35

(Κυριτσάκης, 2007)

✿ **Ανάλυση τριγλυκεριδίων**

Η ανάλυση αυτή δίνει χρήσιμες πληροφορίες για τη γνησιότητα και τον τόπο προέλευσης των ελαιολάδων (Cortesi, 1993, Synouri et al., 1995).

Η σύσταση του ελαιολάδου σε τριγλυκερίδια, ανεξάρτητα από τον τρόπο που εκφράζεται βοηθά κατά πολύ στον καθορισμό της ποικιλίας και στην ανίχνευση της νοθείας του (EU 1991, 1993, 1995, IOOC 1995, Synouri et al., 1995). Συνήθως τα τριγλυκερίδια ομαδοποιούνται σύμφωνα με τον ισοδύναμο αριθμό ατόμων άνθρακα (ECN) που δίνεται από τη σχέση:

$$ECN = CN - 2n$$

όπου:

**CN** = ο αριθμός των ατόμων άνθρακα των τριών λιπαρών οξέων που απαντούν στο μόριο του τριγλυκεριδίου

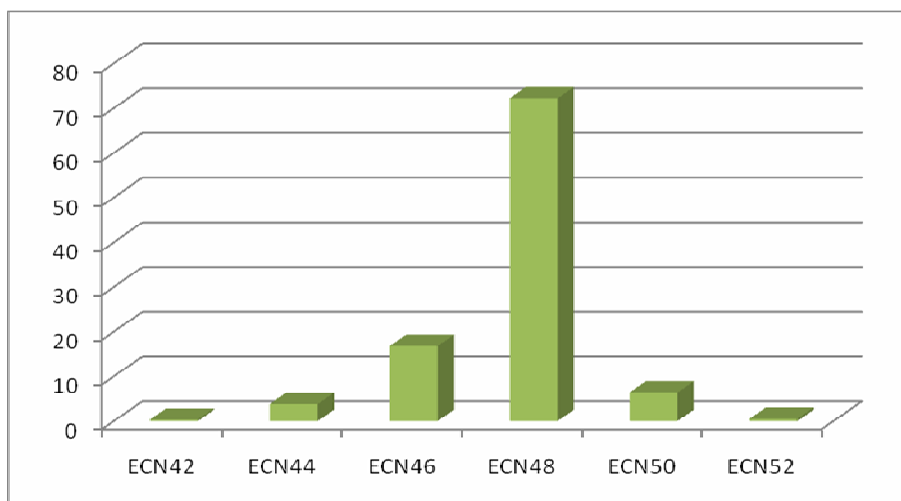
**n** = ο αριθμός των διπλών δεσμών στο μόριο του τριγλυκεριδίου.

Ο ισοδύναμος αριθμός ατόμων άνθρακα (ECN) για την τριλινελαί'νη είναι:

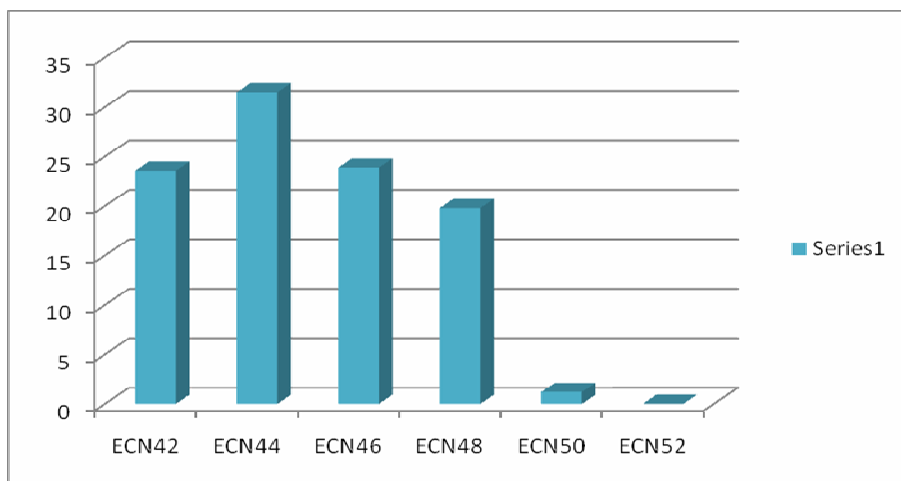
$$42 \rightarrow (18 \times 3 - 2 \times 6 = 42).$$

Το ελαιόλαδο αποτελείται από τριγλυκερίδια με υψηλό ποσοστό σε ECN 44, 46, 48 και 50. Τριγλυκερίδια με ECN 40 απουσιάζουν τελείως από το ελαιόλαδο, ενώ απαντούν σε πολύ

μικρά ποσοστά τριγλυκερίδια με ECN 42 και 52. Αντιθέτως τα συνηθισμένα σπορέλαια τα οποία είναι πλούσια σε λιγνολαϊκό οξύ όπως αραβοσιτέλαιο, ηλιέλαιο και σογιέλαιο περιέχουν σε υψηλό ποσοστό τριγλυκερίδια με ECN 42. Στην Εικόνα 2.6 παρουσιάζεται η εκατοστιαία σύσταση των τριγλυκεριδίων παρθένου ελαιολάδου σε ECN 42,44,46,48, 50 και 52, ενώ στην Εικόνα 2.7 η σύσταση των τριγλυκεριδίων νοθευμένου ελαιολάδου με αντίστοιχους ECN.



**Εικόνα 2.6.** Σύσταση (%) τριγλυκεριδίων παρθένου ελαιολάδου σε διάφορα ECN (Κυριτσάκης, 2007).



**Εικόνα 2.7.** Σύσταση (%) τριγλυκεριδίων νοθευμένου ελαιολάδου σε διάφορα ECN (Κυριτσάκης, 2007).

Για τον προσδιορισμό της σύστασης των ελαίων σε τριγλυκερίδια εφαρμόζονται διάφορες μέθοδοι. Ο αεριοχρωματογραφικός διαχωρισμός των τριγλυκεριδίων σε τριχοειδείς στήλες είναι εφικτός σε υψηλές θερμοκρασίες και έχει χρησιμοποιηθεί εκτεταμένα λόγω της ταχύτητας καθώς και της αποτελεσματικότητας του. Με το πέρασμα των ετών χρησιμοποιήθηκε η υγρή χρωματογραφία υψηλής πίεσης HPLC καθώς και υγρή χρωματογραφία υψηλής πίεσης αντίστροφης φάσης RP-HPLC, με την οποία καθίσταται δυνατό όχι μόνο να διαπιστωθεί η νοθεία αλλά και να αναγνωρισθούν τα σπορέλαια που συμβάλλουν σε αυτή.

Το Δ.Σ.Ε (1997), πρότεινε τον υπολογισμό της μέγιστης διαφοράς (ΔECN) ανάμεσα στην πραγματική και τη θεωρητική περιεκτικότητα σε τριγλυκερίδια με ECN 42 για την ανίχνευση της παρουσίας σπορέλαιων στο ελαιόλαδο.

#### ✿ Αλογονωμένοι διαλύτες

Με τον όρο αλογονωμένοι διαλύτες χαρακτηρίζονται ο τετραχλωράνθρακας, το χλωροφόρμιο, το τετραχλωροαιθυλένιο κ.ά. Τα ανώτατα όρια έχουν καθοριστεί σε 0,1 mg/kg για κάθε επιμέρους διαλύτη. Ωστόσο το σύνολο των αλογονομενων διαλυτών πρέπει σε κάθε περίπτωση να είναι μικρότερο από 0,2 mg/kg.

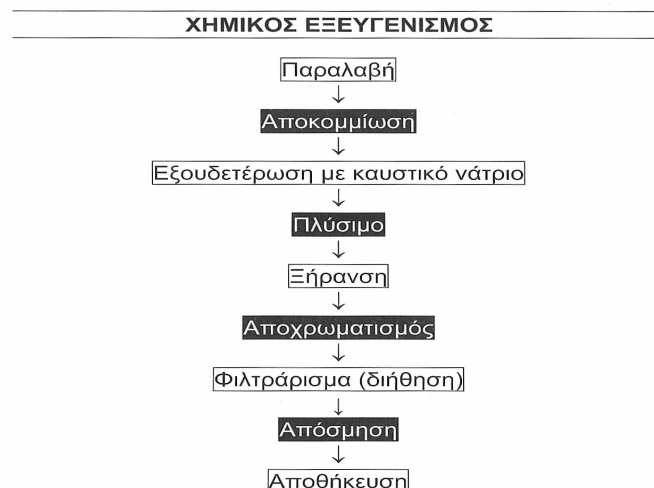
#### ✿ Προσδιορισμός στιγμασταδιενίων

Ο προσδιορισμός των στιγμασταδιενίων οι οποίοι είναι στεροειδείς υδρογονάνθρακες χρησιμοποιείται για την ανίχνευση του ποσοστού ραφιναρισμένου φυτικού ελαίου (παρθένο, υπόλειμα παρθένου, ηλιέλαιο, φοινικέλαιο κτλπ) σε εξαιρετικό παρθένο ελαιόλαδο μιας και τα ραφιναρισμένα ελαιόλαδα περιέχουν στιγμασταδιένια σε υψηλά επίπεδα και τα εξαιρετικά παρθένα σε ιδιαίτερα χαμηλά επίπεδα. Σκοπός της παρούσης εργασίας είναι ο έλεγχος αριθμού ελαίων με τη συγκεκριμένη μέθοδο η οποία αναπτύσσεται σε παρακάτω κεφάλαιο.

## 2.5 Στερένια

### Εξευγενισμός και σχηματισμός στερενίων

Όπως και στα περισσότερα φυτικά έλαια οι μη βρώσιμες μορφές του ελαιολάδου υπόκεινται σε εξουδετέρωση, λεύκανση και απόσμηση προκειμένου να παραληφθεί μια λιπαρή ύλη, η οποία συνήθως αναμιγνύεται με το φυσικό λάδι. Στην εικόνα 2.8 φαίνονται τα στάδια του εξευγενισμού (Κυριτσάκης, 2007).



Εικόνα 2.8. Στάδια χημικού εξευγενισμού (Κυριτσάκης, 2007).

Κάθε στάδιο της επεξεργασίας έχει συγκεκριμένες λειτουργίες για να απομακρύνει συγκεκριμένα κύρια ή μη κύρια συστατικά. Ο αλκαλικός εξευγενισμός απομακρύνει ελεύθερα λιπαρά οξέα, φωσφολιπίδια και χρωστικές. Η λεύκανση μειώνει τις χλωροφύλλες, τα καροτινοειδή και τα άλατα των λιπαρών οξέων που υπάρχουν. Η απόσμιση απομακρύνει τα αρωματικά τα προϊόντα οξείδωση, τα καροτινοειδή τα ελεύθερα λιπαρά οξέα, μικροβιακά υπολείματα και μέρος των στερολών, τοκοφερολών και υδρογονοαθρακών. Ο εξευγενισμός απομακρύνει επίσης τα υπεροξειδία αυξάνοντας έτσι τη σταθερότητα του λαδιού (Γαρδούνη, 2001).

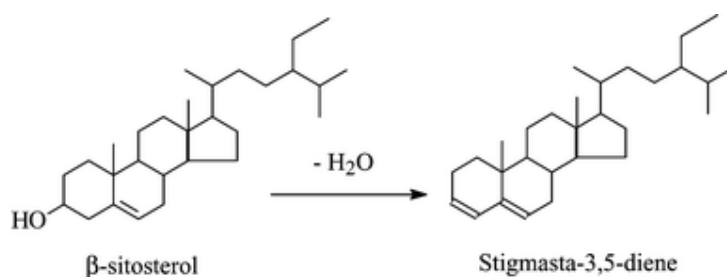
Μία ιδανική διαδικασία εξευγενισμού στοχεύει στο να κρατήσει αμετάβλητη τη σύσταση του ελαιολάδου. Ωστόσο τέτοιες απώλειες είναι αναπόφευκτες. Κατά την διάρκεια του εξευγενισμού πολλά συστατικά απομακρύνονται όπως οι τοκοφερόλες και άλλα σχηματίζονται ως αποτέλεσμα της επεξεργασίας. Στην τελευταία αυτή κατηγορία συστατικών ανήκουν και τα στεραδιένια (Γαρδούνη, 2001).

Τα στεραδιένια είναι υδρογονάνθρακες οι οποίοι σχηματίζονται από την αφυδάτωση των στερολών κατά την διάρκεια του εξευγενισμού των ελαίων. Ο εξευγενισμός προκαλεί τον σχηματισμό ολεφινικών στεροειδών όπως τα στιγμασταδιένια τα οποία προέρχονται από την απομάκρυνση ενός μορίου νερού από την β-σιτοστερόλη. Ομοίως προκύπτουν και τα καμπεσταδιένια αλλά από την απομάκρυνση ενός μορίου νερού από την καμπεστερόλη. Τέτοια αφυδάτωση μπορεί να συμβεί κατά την διάρκεια της λεύκανσης ακόμα και σε χαμηλές θερμοκρασίες (π.χ 50°C) και κατά την θέρμανση σε θερμοκρασίες υψηλότερες των 160°C. «Δυνατή» λεύκανση για την απομάκρυνση των ελεύθερων στερολών σε υψηλές συγκεντρώσεις λευκαντικών γαιών παράγει πολλές εκατοντάδες μικρογραμμάρια ολεφινικών προϊόντων υποβίβασης ανά κιλό λαδιού. Αυτά μπορεί να είναι στιγμασταδιένια στιγμαστατριένια (από την αφυδάτωση της στιγμαστερόλης), καμπεσταδιένια και καμπεστατριένια (από την αφυδάτωση της βρασικαστερόλης), ανάλογα με την σύσταση του κλάσματος των στερολών.

Τα πιο σημαντικά συστατικά που σχηματίζονται κατά τον εξευγενισμό και μας ενδιαφέρουν είναι κυρίως το στιγμάστα-3,5-διένιο και στη συνέχεια το καμπεστα-3,5-διένιο, Όπως προαναφέρθηκε το στάδιο της λεύκανσης είναι αυτό που επηρεάζει κατά κύριο λόγο την σύσταση του κλάσματος των στερολών. Κατά το στάδιο αυτό το κύριο προϊόν υποβίβασης της ποιότητας του ελαιολάδου που σχηματίζεται είναι το στιγμάστα-3,5-διένιο.

### Δομή στιγμάστα-3,5-διενίου και καμπέστα-3,5-διενίου

Η αφυδάτωση της σιτοστερόλης και της καμπεστερόλης μπορεί να προκαλέσει το σχηματισμό των δύο διπλών δεσμών είτε στη θέση 3,5 όπως φαίνεται στην εικόνα 2.9, είτε στις θέσεις 2,4. Συνήθως απαντώνται στα εξευγενισμένα λάδια και τα δύο ισομερή τόσο του στιγμαστα-3,5-διενίου όσο και του καμπέστα-3,5-διενίου (Γαρδούνη, 2001).



**Εικόνα 2.9.** Δομή Στιγμαστα-3,5-διενίου (Royal Society Of Chemistry, 2008).

Ο όρος διένια υποδεικνύει ακριβώς αυτούς τους δύο διπλούς δεσμούς στους δύο δακτυλίους είτε πρόκειται για τις θέσεις 3,5 είτε για τις 2,4 (Γαρδούνη, 2001).



## Η συγκέντρωση του στιγμαστα-3,5-διενίου ως μέσο ανίχνευσης νοθείας

Τα εξευγενισμένα λάδια περιέχουν σημαντικές ποσότητες στιγμασταδιενίου (3-100 mg/kg) το οποίο αντίθετα δεν περιέχεται σε σημαντικές ποσότητες στο παρθένο ελαιόλαδο. Τα εξευγενισμένα σπορέλαια περιέχουν επίσης σημαντικές ποσότητες στεροειδών υδρογοναναθράκων συμπεριλαμβανομένου επιπλέον καμπέστα-3,5-διενίου και στιγμαστα-3,5,22-τριενίου. Αυτά τα συστατικά απομακρύνονται μερικώς μεν κατά την απόσμιση, αλλά το ποσοστό που παραμένει στο λάδι είναι επαρκές για την ανίχνευση της εξευγενισμένης λιπαρής ύλης (Bailey, 1996).

Το στιγμαστα-3,5-διένιο αναλύεται διότι υπάρχει όριο από την νομοθεσία το οποίο ορίζει ότι η συγκέντρωση του στα εξαιρετικά παρθένα ελαιόλαδα δεν πρέπει να ξεπερνά τα 0.15 mg/kg λαδιού. Ο λόγος στιγμαστα-3,5-διενίου προς καμπέστα-3,5-διενίου (R1) καθορίζεται όταν η περιεκτικότητα σε στιγμαστα-3,5-διένια ξεπερνά τα 4 mg/kg. Στον πίνακα 2.10 φαίνονται τα όρια του στιγμαστα-3,5-διενίου και του λόγου R1 όπως έχουν καθοριστεί από το ΙΟΟC για τις διάφορες κατηγορίες ελαιολάδου (Κυριτσάκης, 2007).

**Πίνακας 2.10.** Όρια του λόγου R1 όπως καθορίζονται από το ΙΟΟC για τις διάφορες κατηγορίες ελαιολάδου .

Λάδι	Στιγμαστα-3,5-διένιο	R1
Παρθένο ελαιόλαδο	$\leq 0,15$	-
Λαμπάντε ελαιόλαδο	$\leq 0,50$	-
Εξευγενισμένο ελαιόλαδο	$\leq 50$	$\geq 12$
Ελαιόλαδο	$\leq 50$	$\geq 12$
Πυρηνέλαιο	$\leq 5$	$\geq 10$
Ραφιναρισμένο Πυρηνέλαιο	$\leq 120$	$< 15$
Μίγμα πυρηνελαίου και ελαιολάδου	$\leq 120$	$< 15$

(Κυριτσάκης, 2007)

---

### 3. Υλικά και Μέθοδοι

---

#### Έλαια

Στην παρούσα εργασία χρησιμοποιήθηκαν Ελληνικά εξαιρετικά παρθένα ελαιόλαδα διαφορετικών εταιριών 40 στον αριθμό. Τα συγκεκριμένα ελαιόλαδα διατίθενται αποκλειστικά στην Ελληνική αγορά και δεν εξάγονται σε χώρες του εξωτερικού. Η προμήθεια των δειγμάτων έγινε από την αγορά της Αθήνας αλλά και απο προμήθευση μερικών συσκευασιών απο την εταιρία ΕΛΑΙΣ. Οι συσκευασίες ήταν διαφόρων χωρητικότητας από 750 ml έως και 5 L. Η αναφερόμενη λίστα των ελαιολάδων αποτελείται και απο ένα ελαιόλαδο ονομαζόμενο ως εξαιρετικο παρθένο το οποίο είναι ελαιόλαδο απο ελαιοπαραγωγό και το οποίο προορίζεται για τυποποίηση.

#### Αναλύσεις ελαιολάδων

Στα ελαιόλαδα εκτός απο την χρωματογραφική ανάλυση για τον προσδιορισμό των στιγμασταδιενίων και των κήρων έγιναν πρίν μία σειρά απαραίτητων λεγόμενων γενικών αναλύσεων για να προσδιοριστεί η «ταυτότητα» τους .Αναλύσεις όπως:

- Ο προσδιορισμός της οξύτητας ,
- Προσδιορισμός της υγρασίας ,
- Ο προσδιορισμός των ειδικών συντελεστών απορρόφησης
- Τέλος ο προσδιορισμός του αριθμού των υπεροξειδίων

Οι παραπάνω αναλύσεις είναι απαραίτητες έτσι ώστε να σχηματιστεί μία γενική εικόνα περί τα ελαιόλαδα τα οποία έχουν συγκεντρωθεί έτσι ώστε να γνωρίζουμε την κατάσταση στην οποία βρίσκονται και άν αυτή βάση τα αποτελέσματα βρίσκεται σύμφωνη με τους κανονισμούς που έχουν θέσει η Ε.Ε και το Δ.Σ.Ε (Διεθνές Συμβούλιο Ελαιολάδου.).

Κατά την παραλαβή των ελαιολάδων και άνοιγμα των συσκευασιών **πριν από όλες** τις αναλύσεις τα έλαια διηθήθηκαν για τυχόν απομάκρυνση ανεπιθύμητων προσμίξεων (υπόλειμμα χόματος ή ακαθαρσίες της συσκευασίας) και το διηθημένο έλαιο το παραλάβαμε σε ποτήρι ζέσεως 250 ml αναλύθηκε. Όλες οι αναλύσεις έγιναν στο χημείο της ελαιουργικής εταιρίας ΕΛΑΙΣ.

Παρακάτω ακολουθούν οι γενικές αναλύσεις που έγιναν στα ελαιόλαδα:

#### Προσδιορισμός της οξύτητας.

Με τον προσδιορισμό της οξύτητας αναφερόμαστε στα ελεύθερα λιπαρά οξέα τα οποία περιέχονται στο έλαιο. Με τον προσδιορισμό της υπολογίζεται ο βαθμός υδρόλυσης των τριγλυκεριδίων του ελαιολάδου και των άλλων λιπαρών υλών. Η οξύτητα διαμορφώνει την εμπορική αξία του ελαιολάδου και αποτελεί το σημαντικότερο κριτήριο για την ποιοτική του αξιολόγηση.

### ✓ Υπολογισμός της οξύτητας

Ο υπολογισμός της οξύτητας γίνεται με τη βοήθεια του παρακάτω τύπου. Η οξύτητα εκφράζεται σε g ελαιϊκού οξέος ανά 100g ελαίου (Κυριτσάκης, 2007).

$$\text{Οξύτητα (\%)} = \frac{\text{ml NaOH} \times \text{κανονικότητα NaOH} \times 0,282 \times 100}{\text{Βάρος δείγματος (g)}}$$

**0,282 είναι το χιλιοστοϊσοδύναμο του ελαιϊκού οξέος.**

### ✿ Προσδιορισμός της υγρασίας

Ο προσδιορισμός της υγρασίας σε διάφορες λιπαρές ύλες (λάδια, βούτυρο, μαργαρίνες) μπορεί να γίνει με ξήρανση του δείγματος σε πυραντήριο δηλαδή θέρμανση μέχρι να σημειωθεί σταθερό βάρος, με μέθοδο απόσταξης ή με ξήρανση του δείγματος με χρήση υπέρυθρης ακτινοβολίας και χρήση ειδικού ζυγού. Με την χρήση της υπέρυθρης ακτινοβολίας μετρήθηκε η υγρασία στα συγκεκριμένα δείγματα (Κυριτσάκης, 1984).

### ❖ Σημείωση

- Μετά τον ποιοτικό έλεγχο, το εξαιρετικό παρθένο ελαιόλαδο φιλτράρεται. Απλό φιλτράρισμα με ένα ειδικό διηθητικό χαρτί, ώστε να κατακρατείται η υγρασία και οι ξένες ύλες. Γιατί η υγρασία και οι ξένες ύλες είναι οξειδωτικοί παράγοντες και υποβαθμίζουν το λάδι.

### ✿ Προσδιορισμός του βαθμού οξείδωσης

Η οξείδωση, γνωστή ως τάγγιση, παρατηρείται συνήθως σε τροφές που περιέχουν ακόρεστα λιπαρά οξέα, τα οποία και οξειδώνονται (οξειδωτική τάγγιση). Η οξείδωση οφείλεται στην παρουσία οξυγόνου, αλλά και άλλων παραγόντων όπως η θερμοκρασία, το φως, τα μέταλλα, κ.α.

Οι μέθοδοι και οι τεχνικές οι οποίες χρησιμοποιούνται για την εκτίμηση του βαθμού οξείδωσης του ελαιολάδου και των άλλων λιπαρών υλών, βασίζονται στον προσδιορισμό των πρωτογενών και των δευτερογενών προϊόντων της οξείδωσης.

Τα υπεροξειδία των ακόρεστων λιπαρών οξέων, είναι τα πρωτογενή προϊόντα της οξείδωσης, ενώ οι αλδεΐδες και οι κετόνες αποτελούν τα δευτερογενή προϊόντα τα οποία είναι προϊόντα διάσπασης των υπεροξειδίων.

### ❖ Προσδιορισμός αριθμού υπεροξειδίων

- Η συγκεκριμένη διαδικασία έλαβε μέρος σε εργαστηριακό μηχάνημα πλήρως αυτοματοποιημένο. Ο αναλυτής τοποθετεί σε σκουρόχρωμο ποτήρι (ύπαρξη σκότους) 4 - 4,5 g δείγματος ονομάζει και το δείγμα στον υπολογιστή και εφ'όσον θέσει το μηχάνημα σε λειτουργία μέσω των κατάλληλων διακοπών μετά από περίπου 10 min είναι σε θέση να λάβει το αποτέλεσμα από τον υπολογιστή.

- Η διαδικασία (Κυριτσάκης, 2007) ακολουθείται από το μηχάνημα αυτόματα με μόνη διαφορά την ποσότητα του δείγματος που τοποθετείται προς ανάλυση.
- Η ύπαρξη σκότους οφείλεται στο γεγονός ότι το ιωδιούχο κάλιο διασπάται πολύ εύκολα στο φως με απελευθέρωση ιωδίου.

✿ **Προσδιορισμός των ειδικών συντελεστών απορρόφησης του ελαιολάδου (σταθερές  $K_{232}$ ,  $K_{270}$ ,  $\Delta K$ ).**

Ο προσδιορισμός των ειδικών συντελεστών απορρόφησης ή διαφορετικά των σταθερών  $K_{232}$ ,  $K_{270}$  και της σχέσης  $\Delta K$ , γίνεται για τον έλεγχο της ποιοτικής κατάστασης ενός λαδιού και ιδιαίτερα του ελαιολάδου και της γνησιότητας του. Το Διεθνές Συμβούλιο Ελαιολάδου (Δ.Σ.Ε) και η Ε.Ε έχουν καθιερώσει μέγιστες τιμές, για τις παραπάνω σταθερές, και για κάθε κατηγορία ελαιολάδου (Πίνακας 2.5).

Η μέθοδος, στηρίζεται στην αρχή ότι τα πρωτογενή προϊόντα της οξειδωσης των πολυακόρεστων λιπαρών οξέων (συζυγή υπεροξειδία) εμφανίζουν μέγιστο απορρόφησης σε μήκος κύματος 232nm, ενώ σε μήκος κύματος 270nm απορροφούν ορισμένα προϊόντα της διάσπασης των υπεροξειδίων (αλδεύδες, κετόνες κ.τ.λ.π). Στα 270 nm μήκος κύματος απορροφούν όμως και τα συζυγή διένια και τριένια που σχηματίζονται κατά το ραφινάρισμα του ελαιολάδου. Έτσι μεγάλες τιμές απορρόφησης στα 270 nm είναι δυνατό να προέρχονται είτε από την οξείδωση του ελαιολάδου είτε από τη χημική επεξεργασία που τυχόν έχει δεχθεί το λάδι αυτό. Γενικά μικρές τιμές στους συντελεστές  $K_{232}$ ,  $K_{270}$ ,  $\Delta K$  ανταποκρίνονται σε ελαιόλαδα καλής ποιότητας.

✓ **Αντιδραστήρια**

- Καθαρό κυκλοεξάνιο κατάλληλο για φασματοφωτομετρική χρήση.

✓ **Συσκευές**

- Φασματοφωτόμετρο υπεριώδους φάσματος

Χρησιμοποίηση σε μήκη κύματος **232nm , 266nm, 270 nm και 274 nm**

✓ **Διαδικασία**

- Χρησιμοποιήθηκε δείγμα από το ήδη διηθημένο ελαιόλαδο.
- Χρειαστήκαν 2 καθαρές ογκομετρικές φιάλες των 25ml. Ονομάστηκαν αναλόγως (συνήθως 1 και 2).
- Στο ζυγό ακριβείας αφού μηδενίσαμε βάλουμε στη πρώτη φιάλη 2 σταγόνες περίπου (0,05g) και στη δεύτερη ζυγίζουμε δείγμα περίπου 0,25g (10 σταγόνες). Από την πρώτη θα πάρουμε την απορρόφηση στα 232 και από τη δεύτερη την απορρόφηση στα 270.
- Στον απαγωγό εισάγουμε μέχρι τη χαραγή της φιάλης κυκλοεξάνιο βάζουμε το πάμα και ανακινούμε καλά.
- Χρησιμοποιούμε κυψελίδες πάχους 1cm κατάλληλες για το φασματοφωτόμετρο οι οποίες είναι απολύτως καθαρές (καθαρισμός με κυκλοεξάνιο). Ξεπλένουμε τις κυψελίδες με το δείγμα 2-3 φορές και στο τέλος γεμίζουμε με το δείγμα μέχρι λίγο πιο

κάτω από το την κορυφή της κυψελίδας. Δεν θέλουμε να είναι τελείως γεμάτες γιατί κατά την κίνηση μέσα στο μηχάνημα το υγρό θα βρεθεί εκτός της κυψελίδας.

- Αφού οι κυψελίδες καθαριστούν με απορροφητικό χαρτί τοποθετούνται στις ανάλογες θέσεις στο μηχάνημα. Σαν μάρτυρας χρησιμοποιείται καθαρός διαλύτης.
- Θέτουμε σε λειτουργία το φασματοφωτόμετρο και τα αποτελέσματα τα σημειώνουμε στο υπολογιστικό φύλλο του υπολογιστή.
- Για τον προσδιορισμό της σχέσης  $\Delta K$  παίρνονται και οι απορροφήσεις και σ'άλλα μήκη κύματος έχοντας υπόψη ότι η σχέση  $\Delta K$  υπολογίζεται από τον ακόλουθο τύπο:

$$\Delta K = K_{270} - [(K_{266} + K_{274})/2]$$

**Τα επιμέρους K υπολογίζονται ως εξής:**

$$K_{232} = A_{232} / (4 \times \text{βάρος})$$

$$K_{266} = A_{266} / (4 \times \text{βάρος})$$

$$K_{270} = A_{270} / (4 \times \text{βάρος})$$

$$K_{274} = A_{274} / (4 \times \text{βάρος})$$

**Ως ανώτατα όρια για τους συντελεστές απορρόφησης έχουν δοθεί οι εξής:**

$$K_{232} \leq 2.50$$

$$K_{270} \leq 0,20$$

$$\Delta K \leq 0,01$$

## Προσδιορισμός Στιγμασταδιενίων

Παρακάτω παρουσιάζεται η μεθοδος των στιγμασταδιενίων EEC No 2568/91 d.d July 1991 , Annex XVII.

### ✓ Αντιδραστήρια

Όλοι οι διαλύτες πρέπει να είναι υψηλής αναλυτικής καθαρότητας ή εκτός και αν είναι με άλλο τρόπο ελεγμένοι (π.χ έχουν προμηθευτεί από πιστοποιημένους οργανισμούς) και το νερό που χρησιμοποιείται πρέπει να είναι απεσταγμένο ή τουλάχιστον ίσης καθαρότητας Προκειμένου να ελεγχθεί η καθαρότητα των διαλυτών πρέπει να γίνει τυφλή αξιολόγηση.

Τα αντιδραστήρια που χρησιμοποιούνται είναι:

- εξάνιο ή μίγμα αλκανίων με b.p. μεταξύ 65-70°C, απεσταγμένο με κλασματική στήλη
- αιθανόλη 96 % κ.ο,
- διάλυμα έκλουσης για στήλη χρωματογραφίας Το διάλυμα αυτό αποτελείται κυρίως από εξάνιο ή άλλα αλκάνια (99,8%) και από αιθανόλη υψηλής καθαρότητας (0,2%),
- Αλκοολικό διάλυμα υδροξειδίου του καλίου 10 %. Προστίθενται 10 ml ύδατος σε 50 g υδροξειδίου του καλίου, το διάλυμα αναδεύεται και εν συνεχεία αραιώνεται με αιθανόλη μέχρις όγκου 500 ml.
- νιτρικός άργυρος

- άνυδρο θειικό νάτριο
- silicagel 60 για χρωματογραφία στήλης, 70-230 mesh, η οποία θερμαίνεται σε φούρνο στους 110°C για δύο ή περισσότερες ώρες και κατόπιν αφήνεται να κρυώσει σε ξηραντήρα
- απόθεμα διαλύματος (200ppm) χολέστα-3,5-διενίου σε εξάνιο (10 mg σε 50ml)
- πρότυπο διάλυμα χολέστα3,5-διενίου σε εξάνιο συγκεντρώσεως 20ppm, το οποίο παρασκευάστηκε με αραιώση του παραπάνω διαλύματος (αν διατηρηθεί σε θερμοκρασία μικρότερη των 4°C, τότε τα παραπάνω διαλύματα μπορούν να διατηρηθούν για ένα διάστημα 4 μηνών),
- διάλυμα κανονικού νονακοζανίου σε εξάνιο συγκεντρώσεως περίπου 100ppm,
- φέρον αέριο για αέρια χρωματογραφία: ήλιο ή υδρογόνο 99,9990% καθαρότητας
- βοηθητικά αέρια για ανιχνευτή ιονισμού φλόγας: υδρογόνο 99,9990% καθαρότητας και καθαρός αέρας στα πρότυπα, (IOOC/T20/Doc, No, 11, 2001).

#### ✓ **Συσκευές**

Οι συσκευές που χρησιμοποιούνται είναι οι εξής:

- Φιάλες των 250 ml με επίπεδο πυθμένα κατάλληλες για χρήση με ψυκτήρα αναρροής.
- Διαχωριστικές χοάνες των 500 ml.
- Σφαιρικές φιάλες των 100 ml.
- περιστροφικός εξατμιστήρας υπό χαμηλή πίεση
- γυάλινη στήλη χρωματογραφίας (1.5-2.0cm id, , 50cm μήκος) με στρόφιγγα από τεφλόν και πώμα σε σχήμα δίσκου στο κάτω μέρος από κατάλληλο ινώδες,
- αέριος χρωματογράφος με ανιχνευτή ιονισμού φλόγας split injector (ή cold on column) και φούρνο προγραμματισμένο με απόκλιση  $\pm 1^\circ\text{C}$ ,
- τριχοειδής στήλη χρωματογραφίας τετηγμένης silica για αέρια χρωματογραφία (0.25mm id, 25m μήκος) καλυμμένη με 5-φαινυλομεθυλοσιλικόνη, και φιλμ 0,25mm πάχους (μπορούν επίσης να χρησιμοποιηθούν και άλλες στήλες παρόμοιας ή μικρότερης πολικότητας),
- Ηλεκτρικό θερμαντήρα ή εστία.
- ολοκληρωτής-καταγραφέας με δυνατότητα ολοκλήρωσης κοιλάδα-κοιλάδα
- 5-10μl μικροσύριγγα για αέρια χρωματογραφία με συγκολλημένη βελόνα (IOOC/T.20/Doc, No. 11, 2001).

#### ✓ **Διαδικασία**

- Ζυγίζονται  $20 \pm 0,1$  g ελαίου μέσα σε φιάλη των 250 ml προστίθεται 1 ml πρότυπου διαλύματος χολησταδιενί-3,5-ου (20mg) και 75 ml αλκοολικού διαλύματος ποτάσας 10 %, και ακολουθεί θέρμανση μέχρι ελαφρού βρασμού επί 30 λεπτά. Απομακρύνεται η φιάλη που περιέχει το δείγμα από τη θερμότητα και το διάλυμα αφήνεται να ψυχθεί ελαφρά (το διάλυμα δεν αφήνεται να ψυχθεί εντελώς γιατί τότε το δείγμα θα στερεοποιηθεί). Προστίθενται 100 ml ύδατος και το διάλυμα μεταφέρεται σε διαχωριστική χοάνη με τη βοήθεια 100 ml

εξανίου. Το μείγμα ανακινείται έντονα επί 30 δευτερόλεπτα και αφήνεται να ηρεμήσει μέχρι να σχηματισθούν οι στιβάδες.

Εάν σχηματισθεί γαλάκτωμα το οποίο διατηρείται, προστίθενται μικρές ποσότητες αιθανόλης.

- Η υποκείμενη υδατική φάση μεταφέρεται σε δεύτερη διαχωριστική χοάνη και εκχυλίζεται εκ νέου με 100 ml εξανίου. Αφήνεται να εκρεύσει για μια ακόμη φορά η κατώτερη φάση και εκπλύνονται τα εκχυλίσματα εξανίου (συνδυαζόμενα σε μια άλλη διαχωριστική χοάνη) τρεις φορές με 100 ml μείγματος αιθανόλης-ύδατος (1: 1) κάθε φορά, μέχρις ότου επιτευχθεί ουδέτερο pH. Το διάλυμα εξανίου διαβιβάζεται μέσω άνυδρου θειικού νατρίου (50 g), εκπλύνεται με 20 ml εξανίου και εξατμίζεται μέχρι ξηράνσεως μέσα σε περιστροφικό εξατμιστήρα σε θερμοκρασία 30 °C και υπό χαμηλή πίεση.
- Το υπόλειμμα φέρεται στην κλασματική στήλη με τη βοήθεια δύο δόσεων εξανίου του 1 ml η καθεμία, αφήνεται το δείγμα να εκρεύσει επί της στήλης με ταπείνωση της στάθμης του διαλύματος μέχρι της ανωτάτης στάθμης του θειικού νατρίου και αρχίζει η χρωματογραφική έκλυση με εξάνιο με ταχύτητα ροής ίση προς 1 ml/min περίπου. Απορρίπτονται τα πρώτα 25-30 ml του εκλούσματος και συλλέγονται τα επόμενα 40 ml. Το κλάσμα αυτό μεταγγίζεται σε σφαιρική φιάλη των 100 ml. Το δεύτερο κλάσμα εξατμίζεται μέχρι ξηράνσεως μέσα σε εξατμιστήρα σε θερμοκρασία 30 °C και υπό χαμηλή πίεση, και αμέσως, μετά διαλύεται το υπόλειμμα σε 0,2 ml εξανίου. Το διάλυμα φυλάσσεται στο ψυγείο μέχρις ότου αναλυθεί.

#### **Αέριος χρωματογραφία:**

Συνθήκες εργασίας για διάταξη έγχυσης split:

- Θερμοκρασία στη διάταξη έγχυσης: 300 °C.
- Θερμοκρασία ανιχνευτή: 320 °C.
- Καταγραφέας-ολοκληρωτής: οι παράμετροι ολοκλήρωσης πρέπει να καθορίζονται κατά τρόπον ώστε ο υπολογισμός των εμβαδών να είναι ακριβής. Συνιστάται η ολοκλήρωση κοιλάδα προς κοιλάδα.
- Ευαισθησία: το δεκαεξαπλάσιο περίπου της ελάχιστης εξασθένησης.
- Ογκος εγγεόμενου διαλύματος: 1μl.
- Θερμοκρασίες προγραμματισμού του κλιβάνου: αρχικά 235 °C επί 6 min και εν συνεχεία αύξηση κατά 2 °C/min μέχρι θερμοκρασίας 285 °C.
- Έγχυση με μερισμό ροής: 1: 15.
- Φέρον αέριο: ήλιο ή υδρογόνο υπό πίεση 120 kPa περίπου.

#### **Χρησιμοποιηθείσα Μέθοδος**

Στη συγκεκριμένη εργασία εφαρμόστηκε διαφοροποιημένη η επίσημη μέθοδος των στιγμασταδιενίων ως προς την διαδικασία προετοιμασίας του δείγματος.

#### **Αντιδραστήρια που χρησιμοποιήθηκαν:**

Όπως και στην επίσημη μέθοδο που προαναφέρθηκε έτσι και στην συγκεκριμένη οι διαλύτες πρέπει να είναι υψηλής αναλυτικής καθαρότητας ή εκτός και αν είναι με άλλο τρόπο ελεγμένοι (π.χ έχουν προμηθευτεί από πιστοποιημένους οργανισμούς) και το νερό που χρησιμοποιείται πρέπει να είναι απεσταγμένο ή τουλάχιστον ίσης καθαρότητας Προκειμένου να ελεγχθεί η καθαρότητα των διαλυτών πρέπει να γίνει τυφλή αξιολόγηση. Στη

συγκεκριμένη περίπτωση προμηθευτής των αντιδραστηρίων είναι η εταιρία Merck & Co., Inc. (ISO 9001).

Τα αντιδραστήρια που χρησιμοποιήθηκαν είναι:

- εξάνιο ή μίγμα αλκανίων με b.p. μεταξύ 65-70°C, απεσταγμένο με κλασματική στήλη
- αιθανόλη υψηλής καθαρότητας,
- διάλυμα έκλουσης για στήλη χρωματογραφίας Το διάλυμα αυτό αποτελείται κυρίως από εξάνιο ή άλλα αλκάνια (99,8%) και από αιθανόλη υψηλής καθαρότητας (0,2%),
- silicagel 60 για χρωματογραφία στήλης, 70-230 mesh, η οποία θερμαίνεται σε φούρνο στους 110°C για δύο ή περισσότερες ώρες και κατόπιν αφήνεται να κρυώσει σε ξηραντήρα
- διάλυμα waxes-ethyl-methylesters+stigmastadienes multi σε εξάνιο συγκεντρώσεως 200ppm, (περιέχει εσωτερικό πρότυπο χολέστα3,5-διενίου, καθώς επίσης και λαυρικό αραχιδεστέρα).
- διάλυμα κανονικού νονακοζανίου σε εξάνιο συγκεντρώσεως 100ppm,
- φέρον αέριο για αέρια χρωματογραφία: ήλιο ή υδρογόνο 99,9990% καθαρότητας
- βοηθητικά αέρια για ανιχνευτή ιονισμού φλόγας: υδρογόνο 99,9990% καθαρότητας και καθαρός αέρας, (IOOC/T20/Doc, No, 11, 2001).

#### • Συσκευές

Οι συσκευές που χρησιμοποιούνται είναι οι εξής:

- ποτήρια ζέσεως 5ml
- σφαιρικές φιάλες των 100ml,
- ογκομετρικούς κυλίνδρους 100 ml
- πλαστικές πιπέτες 3ml μιας χρήσεως
- ξηραντήρας ο οποίος περιέχει ενεργοποιημένη silica gel
- περιστροφικός εξατμηστήρας υπό χαμηλή πίεση
- γυάλινη στήλη χρωματογραφίας (1.5-2.0 cm id, , 50cm μήκος) με στρόφιγγα από τεφλόν και πόμα σε σχήμα δίσκου στο κάτω μέρος από κατάλληλο ινώδες,
- αέριος χρωματογράφος με ανιχνευτή ιονισμού φλόγας split injector (ή cold on column) και φούρνο προγραμματισμένο με απόκλιση  $\pm 1^\circ\text{C}$ ,
- τριχοειδής στήλη χρωματογραφίας τετηγμένης silica για αέρια χρωματογραφία (0.25mm id , 25m μήκος) καλυμμένη με 5-φαινυλομεθυλοσιλικόνη, και φιλμ 0,25mm πάχους (μπορούν επίσης να χρησιμοποιηθούν και άλλες στήλες παρόμοιας ή μικρότερης πολικότητας),
- ολοκληρωτής - καταγραφέας με δυνατότητα ολοκλήρωσης κοιλάδα-κοιλάδα
- 5-10 μl μικροσύριγγα για αέρια χρωματογραφία με συγκολλημένη βελόνα (IOOC/T.20/Doc, No. 11, 2001).



### **Διαδικασία προετοιμασίας δείγματος.**

Για τον προσδιορισμό των στιγμασταδιενίων χρειάζεται και η ανάλυση δείγματος ενός ελαίου το οποίο να περιέχει στιγμασταδιένια σε μεγάλη ποσότητα. Το χρωματογράφημα του ηλιελαίου θα παρουσιάσει μία ευδιάκριτη κορυφή στιγμασταδιενίων παρέχοντας σημαντικές πληροφορίες στον αναλυτή. Στη συγκεκριμένη περίπτωση χρησιμοποιήθηκε ηλιέλαιο SOL.

- Πλένουμε με άφθονο νερό πολύ καλά γυάλινη στήλη χρωματογραφίας αφήνοντας ανοιχτή τη στρόφιγγα και ανακινώντας έντονα. Στη συνέχεια πλένουμε με ακετόνη τη στήλη 2-3 φορές και με αέρα υψηλής πίεσης στεγνώνουμε τη στήλη. Τοποθετώντας τη στήλη σε στατό προσθέτουμε μικρή ποσότητα εξάνιου και αφήνουμε τη στρόφιγγα ανοιχτή να περάσει ποσότητα εξάνιου. Έπειτα βάζουμε στη στήλη προζυγισμένη ποσότητα  $15 \pm 0,20$  g silicagel ανανεμιγμένη με εξάνιο. Η δημιουργία της στήλης υποβοηθάται από ελαφρά χτυπήματα
- Για να ετοιμαστεί η στήλη silica gel, εισάγεται μέσα στην υάλινη στήλη εξάνιο μέχρι ύψους 5 cm περίπου και εν συνεχεία η στήλη πληρούται με υδαρές μείγμα silica gel και εξάνιου (15 g σε 40 ml) το οποίο προστίθεται τμηματικά. Το περιεχόμενο της στήλης αφήνεται σε ηρεμία και η καθίζηση ολοκληρώνεται με ελαφρά ανατάραξη. Προστίθεται άνυδρο θειικό νάτριο μέχρι ύψους 0,5 cm περίπου και τέλος εκλούεται η περίσσεια εξάνιου. (ρυθμός ροής εξάνιου στη στήλη 1,7-2,1 ml/min).
- Σε 2 ποτήρια ζέσεως αφού τα ονομάσουμε πρώτα σε ζυγό ακριβείας ζυγίσουμε 0,5 g ελαίου με ακρίβεια 3 δεκαδικών ψηφίων.
- Με χρήση μικροσύριγγας βάζουμε σε κάθε δείγμα 1ml από το πρότυπο το οποίο βρίσκεται στη κατάψυξη σε θερμοκρασίες περίπου  $-20^{\circ}\text{C}$ . Το φιαλίδιο του προτύπου το αφήνουμε 2-3 min σε θερμοκρασία περιβάλλοντος πριν.
- Βάζουμε σε κάθε δείγμα 2-3 σταγόνες χρωστική Soudan III.
- Χρησιμοποιούμε 3 μικρές σφαιρικές φιάλες των 100 ml. Ονομάζουμε πριν d-35, c-50+, wax (discard, collect).(x 2 φορές για 2 δείγματα).
- Με πλαστική πιπέτα παίρνουμε δείγμα το ανακατεύουμε και ρίχνουμε σιγα-σιγά στα τοιχώματα της στήλης, προσθέτουμε λίγο εξάνιο και επαναλαμβάνουμε τη διαδικασία 2 φορές. Τόσες χρειάζεται για να καθαρίσει τελείως το ποτήρι από το δείγμα.
- Αφήνουμε να πέσει αργά στη πρώτη σφαιρική (d-35) αφήνοντας να δημιουργηθεί ένα λεπτό στρώμα. Προσθέτουμε σε ογκομετρικό κύλινδρο (50 ml) 30 ml εξάνιο και προσεκτικά με διαφορετική πιπέτα αδειάζουμε το εξάνιο στη στήλη. Συλλέγουμε αυτά τα ml στη σφαιρική. Τα ml της συγκεκριμένης φιάλης απορρίπτονται γιατί ουσιαστικά είναι αποτελούνται μόνο από εξάνιο το οποίο ήταν το υλικό πλήρωσης της στήλης.
- Προσθέτουμε στον ογκομετρικό κύλινδρο εξάνιο έως πάνω να είναι τελείως γεμάτος (50+) και με διαφορετική πιπέτα σιγα-σιγά προσθέτουμε το εξάνιο το οποίο και συλλέγουμε στη συνέχεια στη σφαιρική φιάλη αφήνοντας πάλι ένα πολύ λεπτό στρώμα υγρού.
- Σε ογκομετρικό κύλινδρο 100 ml προσθέτουμε 96 ml εξάνιο και 4 ml διαιθυλεθέρα. Με διαφορετική πιπέτα τα προσθέτουμε προσεκτικά από τα τοιχώματα στη στήλη και τα συλλέγουμε στη σφαιρική (wax) αφήνοντας τη στήλη να αδειάσει τελείως.
- Βάζουμε τις σφαιρικές σε περιστροφικό εξατημηστήρα υπό χαμηλή πίεση και θερμοκρασία νερού  $40^{\circ}\text{C}$ .
- Προστίθενται 2 ml επάνιο στις σφαιρικές ανακινούνται και με πιπέτα μεταφέρεται το δείγμα σε vial το οποίο και τοποθετείται σε αυτόματο δειγματολήπτη αέριου χρωματογράφου.

#### ❖ Σημείωση

- Ο χρόνος κατακράτησης της χρωστικής (Soudan) έχει τιμή μεταξύ εκείνης των κήρων και των τριγλυκεριδίων, γι' αυτό όταν το χρώμα φτάσει στον πυθμένα της χρωματογραφικής στήλης η έκλουση πρέπει να διακοπεί καθώς έχουν διέλθει όλοι οι κήροι.

#### **Ανάλυση: Αέρια χρωματογραφία**

Το αέριο χρωματογραφικό σύστημα πρέπει αρχικά να ελεγχθεί με την εισαγωγή ενός μίγματος αποθέματος διαλύματος εσωτερικού προτύπου σε εξάνιο και η-νονακοζάνιου.

Η κορυφή του χολέστα-3,5-διενίου πρέπει να εμφανιστεί ως μια κορυφή ακριβώς πριν από το η-νονακοζάνιο (IOOC/T.20/Doc No. 11, 2001) Σε αντίθετη περίπτωση δυο πράγματα πρέπει να γίνουν: να αλλαχθεί η θερμοκρασία του φούρνου και/ή να χρησιμοποιηθεί μια λιγότερο πολική στήλη. Κάτω από αυτές τις συνθήκες οι κορυφές των κορεσμένων υδρογονανθράκων δεν αναμιγνύονται με τις κορυφές των στερενίων. (IOOC/T.20/Doc, No. 11, 2001).

Στη συνέχεια εφόσον πληρούνται οι προϋποθέσεις που προαναφέρθηκαν, από το διάλυμα που έχει προκύψει με τις παραπάνω διαδικασίες και το οποίο έχει φυλαχθεί στο ψυγείο ως την ανάλυση του, με την βοήθεια μικροσύρριγγας παίρνεται ποσότητα 0,2μl και εισάγεται προς ανάλυση. (IOOC/T.20/Doc No. 11, 2001).

#### **Χαρακτηρισμός των κορυφών**

Αν χρησιμοποιηθεί υδρογόνο ως φέρον αέριο, η κορυφή του εσωτερικού προτύπου εμφανίζεται περίπου στα 15±4 λεπτά και αυτή του στιγμαστα-3,5-διενίου σε σχετικό χρόνο κατακράτησης ίσο προς ≈1,29.(RT στιγμασταδιενίου / RT χολεσταδιενίου).

Η κορυφή του διαλύματος εσωτερικού προτύπου εμφανίζεται στα 19±4 min περίπου και το 3,5-στιγμασταδιένιο σε σχετικό χρόνο κατακράτησης ίσο προς 1,29. Το 3,5-στιγμασταδιένιο συνοδεύεται από μικρές ποσότητες ισομερούς και, συνήθως εμφανίζονται και τα δύο ως μία κορυφή χρωματογραφήματος. Η ποσότητα στιγμασταδιενίων στα εξαιρετικά παρθένα ελαιόλαδα κυμαίνεται από πολύ μικρή έως μηδενική εμφανίζοντας ανάλογες κορυφές παρα πολύ μικρές η καθόλου. Παρόλα αυτά, εάν η στήλη είναι πολύ πολική ή έχει μεγάλη διαχωριστική ικανότητα, το ισομερές μπορεί να εμφανίζεται ως μικρή κορυφή πριν και πολύ κοντά στην κορυφή του στιγμασταδιενίου. Για να εξασφαλιστεί η έκλουση των στιγμασταδιενίων σε μία κορυφή συνιστάται η αντικατάσταση της στήλης με άλλη μικρότερης πολικότητας ή μεγαλύτερης εσωτερικής διαμέτρου.

Οι χρόνοι ωστόσο είναι ενδεικτικοί και βασίζονται στην προσωπική κρίση και εκτίμηση του χημικού αναλυτή ο οποίος λαμβάνει υπόψιν πολλούς παράγοντες βασικότερος όλων η κατάσταση στην οποία βρίσκεται η στήλη και σε τι κατάσταση έχει τεθεί να λειτουργεί ο χρωματογράφος στην εκάστοτε συγκεκριμένη στιγμή. Μαζί με την παρασκευή των δειγμάτων είναι αναγκαίο να παρασκευαστεί και ένα δείγμα ελαίου το οποίο περιέχει στιγμασταδιένια σε μεγάλη ποσότητα (ηλιέλαιο) έτσι με βάση το γράφημα του θα διευκολυνθεί ο αναλυτής στον προσδιορισμό του σωστού χρόνου και κορυφής στο δείγμα που αναλύει.

## Ποσοτική αξιολόγηση του χρωματογραφήματος

Η περιεκτικότητα σε στιγμασταδιένια καθορίζεται από την σχέση:

$$\text{mg/kg στιγμασταδιενίων} = \frac{A_s * M_c}{A_c * M_0}$$

όπου:

$A_s$  = περιοχή που ανταποκρίνεται στην κορυφή των στιγμασταδιενίων

$A_c$  = περιοχή εσωτερικού προτύπου

$M_c$  = ποσότητα εσωτερικού προτύπου που προστέθηκε σε mg

$M_0$  = ποσότητα ελαιολάδου που χρησιμοποιήθηκε στην ανάλυση σε g

Συνήθως κάθε ζεύγος ισομερών οριοθετεί μια χρωματογραφική κορυφή, αλλά αν τα δύο ισομερή εμφανιστούν σε χωριστές κορυφές, πρέπει να υπολογιστούν και οι δύο κορυφές

Αν η ποσότητα των στιγμασταδιενίων είναι μεγαλύτερη από 50 ppm, η ανάλυση θα πρέπει να επαναληφθεί και να χρησιμοποιηθεί μικρότερο δείγμα λαδιού ώστε να επιτευχθεί ένας πιο ακριβής ποσοτικός προσδιορισμός (IOOC/T.20/Doc No. 11, 2001).

## Προσδιορισμός Κήρων

Λόγω του εσωτερικού προτύπου το οποίο περιέχει ένα μείγμα διαφορετικών προτύπων όπως αυτό των στιγμασταδιενίων (χολεσταδιένιο) που προαναφέρθηκε αλλά και των κήρων (λαυρικός αραχιδεστέρας) είμαστε σε θέση να προσδιορίσουμε και τη ποσότητα των κήρων (waxes) που περιέχονται στα συγκεκριμένα έλαια.

Η διαδικασία δημιουργίας των δειγμάτων για τον προσδιορισμό των κήρων είναι η ίδια με των στιγμασταδιενίων. Η τρίτη σφαιρική φιάλη (ονομαζομενη waxes) περιέχει το προς ανάλυση δείγμα για τον προσδιορισμό τους.

Οι συνθήκες του χρωματογράφου πρέπει να είναι οι εξής:

- Αρχική θερμοκρασία στήλης: 80 °C, αύξηση εν συνεχεία κατά 20 °C/min μέχρι τους 240 °C και κατόπιν προγραμματισμένη αύξηση κατά 5 °C/min μέχρι τους 325 °C, εν συνεχεία αύξηση κατά 20 °C/min μέχρι τους 340 °C.
- θερμοκρασία του ανιχνευτή: 350 °C,
- γραμμική ταχύτητα του φέροντος αερίου: υδρογόνο 20 έως 35 cm/s,

Οι συνθήκες αυτές μπορούν να μεταβάλλονται ανάλογα με τα χαρακτηριστικά της στήλης και της συσκευής έτσι ώστε να λαμβάνονται χρωματογραφήματα που να επιτυγχάνεται διαχωρισμός όλων των κήρων ικανοποιητική διαχωριστική ικανότητα για όλες τις κορυφές και χρόνος κατακράτησης  $24 \pm 3$  λεπτά για το εσωτερικό πρότυπο με 32 άτομα άνθρακα (IOOC/T.20/DOC No.18 2003). Ακολουθούν οι ευδιάκριτες κορυφές που αντιστοιχούν στους αλειφατικούς εστέρες με 40 έως 46 άτομα άνθρακα. Η αντιπροσωπευτική κορυφή των κήρων πρέπει να ισούται τουλάχιστον με το 60 % της κατώτερης τιμής της κλίμακας. Η λειτουργία

και ρύθμιση του χρωματογράφου εξαρτάται από την κρίση και την εμπειρία του χημικού αναλυτή ο οποίος έχει αναλάβει την εξαγωγή των αποτελεσμάτων.

#### **Ταυτοποίηση των κορυφών**

Οι διάφορες κορυφές πρέπει να ταυτοποιούνται βάσει των χρόνων κατακράτησης και με σύγκριση με μείγματα κηρών γνωστών χρόνων κατακράτησης, που αναλύθηκαν στις ίδιες συνθήκες.

Στην εικόνα 3.1 απεικονίζεται χρωματογράφημα των κηρών παρθένου ελαιολάδου.

#### **Ποσοτικός προσδιορισμός**

Με τη βοήθεια του ολοκληρωτή υπολογίζονται τα εμβαδά των κορυφών που αντιστοιχούν στο εσωτερικό πρότυπο και στους αλειφατικούς εστέρες με 40 έως 46 άτομα άνθρακα (C40 έως C46).

Υπολογίζεται η περιεκτικότητα κάθε εστέρα σε κηρούς, σε mg/kg λιπαρής ουσίας, σύμφωνα με τον τύπο:

$$\text{Εστέρας mg/kg} = \frac{A_x \times m_s \times 1\,000}{A_s \times m}$$

όπου:

$A_x$  = το εμβαδόν της κορυφής που αντιστοιχεί σε κάθε εστέρα, σε τετραγωνικά χιλιοστάμετρα,

$A_s$  = το εμβαδόν της κορυφής που αντιστοιχεί στο εσωτερικό πρότυπο, σε τετραγωνικά χιλιοστάμετρα,

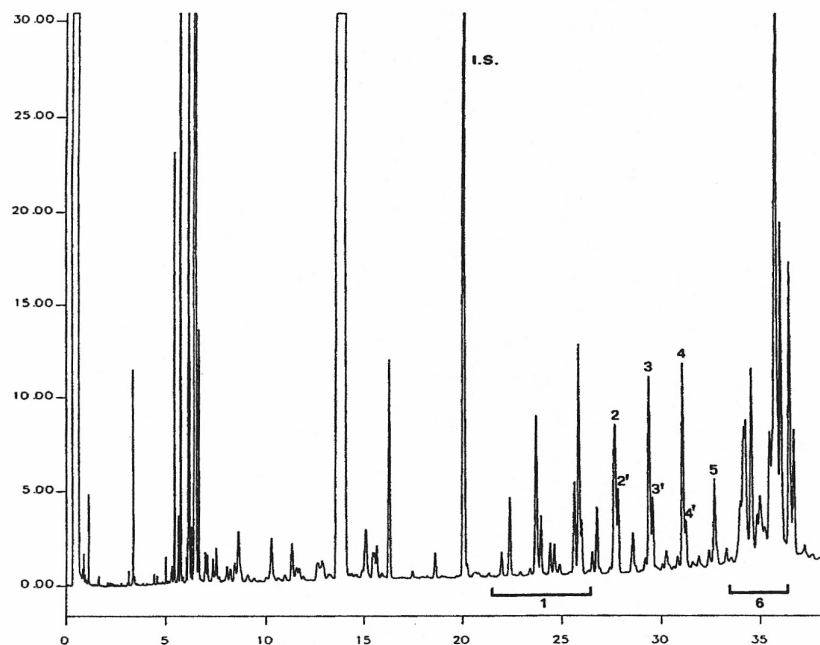
$m_s$  = η προστιθέμενη μάζα εσωτερικού προτύπου, σε χιλιοστόγραμμα,

$m$  = η μάζα του λαμβανόμενου για τον προσδιορισμό δείγματος, σε γραμμάρια.

#### **Έκφραση των αποτελεσμάτων.**

Αναφέρεται το άθροισμα των τιμών περιεκτικότητας σε κηρούς C40 έως C46, σε mg/kg λιπαρής ουσίας (ppm). Τα αποτελέσματα εκφράζονται με ένα δεκαδικό ψηφίο.

Τα συστατικά που πρέπει να προσδιορίζονται ποσοτικά αναφέρονται στις κορυφές που αντιστοιχούν σε εστέρες με άρτιο αριθμό ατόμων άνθρακα μεταξύ C40 και C46, κατά το παράδειγμα του χρωματογραφήματος κηρών ελαιολάδου που εμφανίζεται στην εικόνα 3.1. Σε περίπτωση διπλής εμφάνισης του εστέρα C46, συνιστάται η ταυτοποίησή του με ανάλυση του κλάσματος των κηρών πυρηνελαίου, όπου η κορυφή C46 αναγνωρίζεται εύκολα, καθώς υπερσιχύει σαφώς (IOOC/T.20/Doc No. 18, 2003).



**Εικόνα 3.1.** Χρωματογράφημα κήρων παρθένου ελαιολάδου (Επίσημη εφημερίδα της Ευρωπαϊκής Ένωσης, 2007).

Υπόμνημα:

I.S. = λαυρικός αραχιδεστέρας

1 = Διτερπενικοί εστέρες

2 + 2' = Εστέρες C40

3 + 3' = Εστέρες C42

4 + 4' = Εστέρες C44

5 = Εστέρες C46

6 = Τριτερπενικοί εστέρες στερολών και αλκοόλης.

---

## 4. Αποτελέσματα – Συζήτηση

---

### 4.1 Γενικές Αναλύσεις Ελαιολάδων

Στα δείγματα που ειχαμε στη διάθεση μας για την παρούσα εργασία όπως προαναφέρθηκε έγινε προσδιορισμός της οξύτητας, της υγρασίας, των υπεροξειδίων και των ειδικών συντελεστών απορρόφησης. Παρακάτω ακολουθούν τα αποτελέσματα των συγκεκριμένων μετρήσεων. Τα δείγματα ήταν 40 στο σύνολο και τα αποτελέσματα αφορούν το μέσο όρο δύο διαδοχικών επαναλήψεων στο ίδιο δείγμα ελαίου.

#### Οξύτητα

Σε 40 δείγματα εξαιρετικών παρθένων ελαιολάδων έγινε ο προσδιορισμός της οξύτητας ακολουθώντας την επίσημη μέθοδο του Διεθνούς Συμβουλίου Ελαιολάδου και της Ε.Ε (Κυριτσάκης, 2007). Τα αποτελέσματα των μετρήσεων αφορούν το μέσο όρο δύο διαδοχικών επαναλήψεων στο ίδιο δείγμα ελαιολάδου και παρουσιάζονται στο πίνακα 4.1. Η οξύτητα που δίνεται εκφράζεται επί τοις εκατό (%). Όσο πιο υψηλό είναι το νούμερο, τόσο πιο πολλά είναι τα ελεύθερα λιπαρά οξέα που περιέχονται στο ελαιόλαδο. Η περιεκτικότητα των εξεταζόμενων δειγμάτων σε ελεύθερα λιπαρά οξέα δεν παρουσίασε τιμές εκτός των ορίων που αναφέρονται στη βιβλιογραφία. Οι τιμές κυμαίνονται από 0,21 % του δείγματος ALEA LACONICA PREMIUM με τη μεγαλύτερη τιμή να καταγράφεται στο δείγμα ΛΑΤΖΙΜΑΣ (ΚΡΗΤΙΚΟ) με τιμή 0,59.

Η οξύτητα οφείλεται σε διάφορους παράγοντες, όπως στον τρόπο συγκομιδής και αποθήκευσης του καρπού, το στάδιο ωρίμανσής του κ.λ.π. Η κάθε εταιρία ακολουθεί διαφορετική στρατηγική στα επιμέρους στάδια παραγωγής αλλά και προμηθεύεται ελαιόλαδα από διαφορετικές περιοχές της Ελλάδας. Γι' αυτό το λόγο παρουσιάζονται και διαφορές μεταξύ των δειγμάτων. Ωστόσο όλα τα αποτελέσματα βρίσκονται εντός των ορίων που παρουσιάζονται στη βιβλιογραφία. Η μακρόχρονη αποθήκευση του καρπού πριν από την έκθλιψη, καθώς και το στοίβαγμα του καρπού σε μεγάλους σωρούς προκαλεί σημαντική αλλοίωση της γεύσης, λόγω αύξησης της οξύτητάς του. Η αυξημένη οξύτητα δίνει μια «τσουχτερή», δυσάρεστη επίγευση στο προϊόν. Τα ελαιόλαδα με υψηλή οξύτητα αλλοιώνονται ευκολότερα και γρηγορότερα από τα άλλα.

#### Υγρασία

Ο έλεγχος της υγρασίας των δειγμάτων πραγματοποιήθηκε με την αντίστοιχη μέθοδο που αναφέρεται στο αντίστοιχο κεφάλαιο (Κυριτσάκης, 1984). Τα αποτελέσματα της μεθόδου (πίνακας 4.2) έδειξαν να κυμαίνονται σε εύρος τιμών από 0,04 έως 0,07 με ανώτατο όριο βάση βιβλιογραφίας 0,10 %. Προκειμένου να συγκρατηθούν η υγρασία και οι ξένες ύλες, που έχουν οξειδωτική δράση και μπορούν να υποβαθμίσουν την ποιότητα του λαδιού, είναι αναγκαίο το φιλτράρισμά του με ειδικό διηθητικό χαρτί. Διαφορές μεταξύ των δειγμάτων οφείλονται σε διαφορετικούς τύπους φίλτρων που χρησιμοποιούνται για τη διήθηση του ελαιολάδου μεταξύ των παραγωγών.

**Πίνακας 4.1.** Οξύτητες ελαιολάδων (%) (g ελαϊκού οξέος / 100g ελαίου)

ΑΛΤΙΣ ΚΑΛΑΜΑΤΑΣ	0,25	MINEBA ΟΡΕΙΝΕΣ ΠΕΡΙΟΧΕΣ	0,33
ΑΛΤΙΣ ΓΕΥΣΗ ΕΚΛΕΚΤΗ	0,31	MINEPBA ΧΩΡΙΟ	0,30
ΑΝΩΣΚΕΛΗ Π.Ο.Π ΚΟΛΥΜΒΑΡΙ ΧΑΝΙΩΝ	0,40	MINEPBA ΠΕΔΙΝΟΙ ΕΛΑΙΩΝΕΣ	0,28
ΑΓΡΟΤΙΣΣΑ	0,33	ΜΑΡΑΤΑ ΕΞ.ΠΑΡΘ ΕΛΑΙΟΛ ΣΚΛΑΒΕΝΙΤΗΣ	0,21
ΑΛΕΑ ΛΑΚΩΝΙΑΣ PREMIUM	0,21	ΜΥΤΙΛΗΝΙΩ ΛΕΣΒΟΣ	0,29
ΑΓΓΟΥΡΕΛΑΙΟ ΑΛΤΙΣ	0,33	ΝΗΣΟΣ Π.Ο.Π ΠΕΖΑ ΗΡΑΚΛΕΙΟΥ ΚΡΗΤΗΣ	0,32
ΑΛΤΙΣ ΑΠΑΛΟ	0,26	ΞΥΛΟΥΡΗΣ /ΓΙΩΡΓΟΣ ΞΥΛΟΥΡΗΣ ΚΡΗΤΗ	0,26
ΑΛΤΙΣ ΠΑΡΑΔΟΣΙΑΚΟ	0,29	Π.Ο.Π ΠΕΖΑ ΚΡΗΤΗΣ(ΗΡΑΚΛΕΙΟ)	0,40
ΓΑΛΑΞΙΑΣ	0,35	ΠΑΣΙΦΑΗ	0,58
ΔΩΡΙΚΟ ΛΑΚΩΝΙΑΣ ΕΝ ΑΓΡ ΣΥΝ ΛΑΚΩΝ	0,37	ΣΠΙΤΙΚΟ	0,36
ELADIN KORE	0,42	ΣΗΤΕΙΑΚΟ	0,30
ΕΛΑΙΩΝΙΟΝ	0,32	TERRA CRETA SPARY	0,39
ELEA CRETA EV	0,40	ΦΙΛΑΙΟΣ Π.Γ.Ε ΛΑΚΩΝΙΑΣ	0,44
ΕΛΑΝΘΗ	0,46	CARREFOUR ΓΥΑΛΙΝΟ	0,34
ΛΑΤΖΙΜΑΣ(ΚΡΗΤΙΚΟ)	0,59	CARREFOUR ΠΛΑΣΤΙΚΟ ΔΟΧΕΙΟ	0,36
ΛΑΤΖΙΜΑΣ(ΒΟΡΕΙΟΣ ΜΥΛΟΠΟΤΑΜΟΣ ΡΕΘΜΥΝΟ ΚΡΗΤΗΣ)	0,43	GAEA ΒΙΟΛΟΓΙΚΟ	0,32
ΛΑΤΖΙΜΑΣ ΑΓΓΟΥΡΕΛΑΙΟ	0,22	GAEA Π.Ο.Π ΚΑΛΑΜΑΤΑΣ	0,36
ΛΙΟΣΤΡΟΦΙ	0,26	MR GRAND	0,44
ΛΙΟΤΡΙΒΙ	0,24	SPAR 1L	0,32
MINEPBA ΒΙΟΛΟΓΙΚΟ	0,58	ΕΞΑΙΡΕΤΙΚΟ ΠΑΡΘΕΝΟ	0,41

**Σημείωση :** Οι τιμές στα δείγματα είναι μέσοι όροι δύο διαδοχικών επαναλήψεων

Συνολο	Μ.Ο	Τυπική Απόκλιση	Συντελεστής Διασποράς	Ελάχιστο	Μέγιστο	95% Όρια Εμπιστοσύνης για το Μ.Ο
40	0,3508	0,0937	26,72	0,2100	0,5900	0,32078 0,38072

Ανώτατο όριο οξύτητας: 0,8 %.

**Πίνακας 4.2.** Υγρασία (%) δειγμάτων ελαιολάδων

ΑΛΤΙΣ ΚΑΛΑΜΑΤΑΣ	0,04	ΜΙΝΕΡΒΑ ΟΡΕΙΝΕΣ ΠΕΡΙΟΧΕΣ	0,05
ΑΛΤΙΣ ΓΕΥΣΗ ΕΚΛΕΚΤΗ	0,04	ΜΙΝΕΡΒΑ ΧΩΡΙΟ	0,05
ΑΝΩΣΚΕΛΗ Π.Ο.Π ΚΟΛΥΜΒΑΡΙ ΧΑΝΙΩΝ	0,05	ΜΙΝΕΡΒΑ ΠΕΔΙΝΟΙ ΕΛΑΙΩΝΕΣ	0,04
ΑΓΡΟΤΙΣΣΑ	0,06	ΜΑΡΑΤΑ ΕΞ.ΠΑΡΘ ΕΛΑΙΟΛ ΣΚΛΑΒΕΝΙΤΗΣ	0,05
ΑΛΕΑ ΛΑΚΩΝΙΑΣ PREMIUM	0,04	ΜΥΤΙΑΗΝΙΩ ΛΕΣΒΟΣ	0,06
ΑΓΓΟΥΡΕΛΑΙΟ ΑΛΤΙΣ	0,04	ΝΗΣΟΣ Π.Ο.Π ΠΕΖΑ ΗΡΑΚΛΕΙΟΥ ΚΡΗΤΗΣ	0,04
ΑΛΤΙΣ ΑΠΑΛΟ	0,04	ΞΥΛΟΥΡΗΣ /ΓΙΩΡΓΟΣ ΞΥΛΟΥΡΗΣ ΚΡΗΤΗ	0,06
ΑΛΤΙΣ ΠΑΡΑΔΟΣΙΑΚΟ	0,04	Π.Ο.Π ΠΕΖΑ ΚΡΗΤΗΣ(ΗΡΑΚΛΕΙΟ)	0,07
ΓΑΛΑΞΙΑΣ	0,04	ΠΑΣΙΦΑΗ	0,05
ΔΩΡΙΚΟ ΛΑΚΩΝΙΑΣ ΕΝ ΑΓΡ ΣΥΝ ΛΑΚΩΝ	0,04	ΣΠΙΤΙΚΟ	0,05
ELADIN KORE	0,04	ΣΗΤΕΙΑΚΟ	0,04
ΕΛΑΙΩΝΙΟΝ	0,07	TERRA CRETA SPARY	0,07
ELEA CRETA EV	0,04	ΦΙΛΑΙΟΣ Π.Γ.Ε ΛΑΚΩΝΙΑΣ	0,04
ΕΛΑΝΘΗ	0,04	CARREFOUR ΓΥΑΛΙΝΟ	0,05
ΛΑΤΖΙΜΑΣ(ΚΡΗΤΙΚΟ)	0,06	CARREFOUR ΠΛΑΣΤΙΚΟ ΔΟΧΕΙΟ	0,04
ΛΑΤΖΙΜΑΣ(ΒΟΡΕΙΟΣ ΜΥΛΟΠΟΤΑΜΟΣ ΡΕΘΜΥΝΟ ΚΡΗΤΗΣ)	0,05	GAEA ΒΙΟΛΟΓΙΚΟ	0,07
ΛΑΤΖΙΜΑΣ ΑΓΓΟΥΡΕΛΑΙΟ	0,04	GAEA Π.Ο.Π ΚΑΛΑΜΑΤΑΣ	0,06
ΛΙΟΣΤΡΟΦΙ	0,05	MR GRAND	0,05
ΛΙΟΤΡΙΒΙ	0,04	SPAR 1L	0,06
ΜΙΝΕΡΒΑ ΒΙΟΛΟΓΙΚΟ	0,04	ΕΞ ΠΑΡΘΕΝΟ	0,05

**Σημείωση :** Οι τιμές στα δείγματα είναι μέσοι όροι δύο διαδοχικών επαναλήψεων

Συνολο	Μ.Ο	Τυπική Απόκλιση	Συντελεστής Διασποράς	Ελάχιστο	Μέγιστο	95% Όρια Εμπιστοσύνης για το Μ.Ο
40	0,04875	0,01017	20,87	0,04000	0,07000	0,045496 0,052004

Ανώτατο όριο υγρασίας: 0,10 %.



### • Αριθμός υπεροξειδίων

Περαιτέρω προσδιορίστηκε ο αριθμός των υπεροξειδίων (Κυριτσάκης, 2007). Ο αριθμός υπεροξειδίων είναι το μέτρο του βαθμού οξειδωσης του ελαιολάδου σε πρωταρχικό στάδιο. Τα υπεροξειδία είναι χημικές ενώσεις που δημιουργούνται από την αντίδραση κυρίως του οξυγόνου με το ελαιόλαδο. Τα δείγματα που αναλύθηκαν έδωσαν τιμές υπεροξειδίων από 7 (meq O<sub>2</sub>/kg ελαίου) δείγμα Αλτις Παραδοσιακό έως 14,3 (meq O<sub>2</sub>/kg ελαίου) δείγμα GAEA ΒΙΟΛΟΓΙΚΟ (πίνακας 4.3). Όλες οι τιμές βρίσκονται εντός των ορίων βάση βιβλιογραφίας ( $\leq 20$  meq O<sub>2</sub>/kg λαδιού).

Υψηλά υπεροξειδία εκτός η κοντά στο νομοθετημένο όριο σημαίνει ότι το ελαιόλαδο έχει υποστεί οξειδωτικές αλλοιώσεις και ότι θα έχει μικρή αντοχή στο χρόνο. Πρακτικά ο αριθμός υπεροξειδίων προσδιορίζει, πόσο προχωρημένη είναι η οξείδωση των ουσιών του ελαιολάδου, πράγμα που επιτρέπει συμπεράσματα για την ηλικία και το είδος της αποθήκευσής του (καλής ή κακής). Υψηλές τιμές στα δείγματα εφόσον όλες οι άλλες μετρήσεις είναι ικανοποιητικές οφείλονται σε πιθανή παρατεταμένη έκθεση του ελαιολάδου στον αέρα (ανοιχτή συσκευασία, δείγμα προς ανάλυση αρκετή ώρα στο ποτήρι ζέσεως).

### • Απορρόφηση στο υπεριώδες φως ειδικού μήκους κύματος (K<sub>232</sub>, K<sub>270</sub>, ΔK)

Η εφαρμογή της μεθόδου του προσδιορισμού των ειδικών συντελεστών στα δείγματα προσδιόρισε ουσιαστικά τις μεταβλητές εκείνες που φαίνεται να παίζουν έναν από τους σημαντικότερους ρόλους στην συνολική εικόνα του τελικού προϊόντος και την εμπορική του ταυτότητα (πίνακας 4.4).

Η σταθερά K<sub>232</sub> δείχνει το ενδιάμεσο ποσοστό οξειδωσης των συστατικών του ελαιολάδου, όταν αυτό ελεγχθεί στο φασματοφωτόμετρο με φως μήκους κύματος 232 nm. Αν η τιμή της K<sub>232</sub> είναι μεγάλη αυτό οφείλεται σε έρπουσα, πολύ αργή ή μη μοντέρνα διαδικασία παραγωγής. Η τιμή αυτής της σταθεράς είναι αυξημένη π.χ., αν οι ελιές πριν από την έκθλιψη αποθηκεύονται για πολλές ημέρες. Η ανωτάτη ποιότητα ελαιολάδου, δηλαδή το εξαιρετικό παρθένο ελαιόλαδο έχει τιμές της K<sub>232</sub> μεταξύ 1,5 και 2,5. Τα δείγματα που αναλύθηκαν έδωσαν τιμές από 1,655 Αγγουρελαιο Αλτις μέχρι 2,246 Gaea Βιολογικό. Οι τιμές που έδωσαν τα έλαια Gaea βιολογικό και Αγρότισσα είναι εντός ορίων αλλά υψηλότερες σε σχέση με τα άλλα δείγματα. Συσχετίζοντας το φαινόμενο και με τον υψηλό αριθμό υπεροξειδίων καταλήγουμε στο συμπέρασμα ελατωματικής συσκευασίας των συγκεκριμένων ελαίων (προβλημα στο πώμα των συσκευασιών έπειτα από περαιτέρω έλεγχο).

Η τιμή αυτής της σταθεράς K<sub>270</sub> εξαρτάται από το πόσο φρέσκο είναι το ελαιόλαδο. Παλαιά ελαιόλαδα ή μείγματα με παλαιά ελαιόλαδα έχουν αυξημένες τιμές της K<sub>270</sub>. Η τιμή αυτής της σταθεράς είναι πολύ χαμηλή αμέσως μετά την εμφιάλωση και αυξάνεται με την πάροδο της ηλικίας του ελαιολάδου. Η έκθεσή του στην ηλιοακτινοβολία ή σε υψηλές θερμοκρασίες επιταχύνουν την πρόοδο της γήρανσης.

Όσο αφορά την τιμή ΔK η σταθερά δείχνει κάθε ανάμιξη με άλλο ελαιόλαδο, που δεν είναι εξαιρετικό παρθένο έχοντας ως όριο την τιμή 0,01. Η τιμή ΔK καθώς και όλοι οι άλλοι συντελεστές που αναφερθήκαμε προσδιορίζεται βάση της σχέσης που αναφέρεται στο κεφάλαιο 3. Οι τιμές ΔK που έδωσαν τα συγκεκριμένα έλαια είναι εντός ορίων και σε αυτή την περίπτωση υψηλές τιμές παρουσιάστηκαν και σε αυτή τη σταθερά στο έλαιο Gaea βιολογικό για τον λόγο που προαναφέρθηκε.

**Πίνακας 4.3.** Αριθμός υπεροξειδίων (μεq O<sub>2</sub>/kg ελαίου).

ΑΛΤΙΣ ΚΑΛΑΜΑΤΑΣ	7,8	MINEBA ΟΡΕΙΝΕΣ ΠΕΡΙΟΧΕΣ	9,5
ΑΛΤΙΣ ΓΕΥΣΗ ΕΚΛΕΚΤΗ	7,4	MINEPBA ΧΩΡΙΟ	8,8
ΑΝΩΣΚΕΛΗ Π.Ο.Π ΚΟΛΥΜΒΑΡΙ ΧΑΝΙΩΝ	9,1	MINEPBA ΠΕΔΙΝΟΙ ΕΛΛΙΩΝΕΣ	10,1
ΑΓΡΟΤΙΣΣΑ	13,5	ΜΑΡΑΤΑ ΕΞ.ΠΑΡΘ ΕΛΛΙΟΛ ΣΚΛΑΒΕΝΙΤΗΣ	9,1
ΑΛΕΑ ΛΑΧΟΝΙΚΑ PREMIUM	7,2	ΜΥΤΙΑΗΝΙΩ ΛΕΣΒΟΣ	9,8
ΑΓΓΟΥΡΕΛΑΙΟ ΑΛΤΙΣ	8,2	ΝΗΣΟΣ Π.Ο.Π ΠΕΖΑ ΗΡΑΚΛΕΙΟΥ ΚΡΗΤΗΣ	7,6
ΑΛΤΙΣ ΑΠΑΛΟ	9,0	ΞΥΛΟΥΡΗΣ /ΓΙΩΡΓΟΣ ΞΥΛΟΥΡΗΣ ΚΡΗΤΗ	7,0
ΑΛΤΙΣ ΠΑΡΑΔΟΣΙΑΚΟ	7,0	Π.Ο.Π ΠΕΖΑ ΚΡΗΤΗΣ(ΗΡΑΚΛΕΙΟ)	9,3
ΓΑΛΑΞΙΑΣ	10,2	ΠΑΣΙΦΑΗ	13,9
ΔΩΡΙΚΟ ΛΑΚΩΝΙΑΣ ΕΝ ΑΓΡ ΣΥΝ ΛΑΚΩΝ	8,3	ΣΠΙΤΙΚΟ	8,5
ELADIN KORE	9,6	ΣΗΤΕΙΑΚΟ	8,4
ΕΛΑΙΩΝΙΟΝ	10,2	TERRA CRETA SPARY	8,1
ELEA CRETA EV	8,6	ΦΙΛΑΙΟΣ Π.Γ.Ε ΛΑΚΩΝΙΑΣ	10,3
ΕΛΑΝΘΗ	9,7	CARREFOUR ΓΥΑΛΙΝΟ	8,4
ΛΑΤΖΙΜΑΣ(ΚΡΗΤΙΚΟ)	14,0	CARREFOUR ΠΛΑΣΤΙΚΟ ΔΟΧΕΙΟ	8,7
ΛΑΤΖΙΜΑΣ(ΒΟΡΕΙΟΣ ΜΥΛΟΠΟΤΑΜΟΣ ΡΕΘΜΥΝΟ ΚΡΗΤΗΣ)	12,3	GAEA ΒΙΟΛΟΓΙΚΟ	14,3
ΛΑΤΖΙΜΑΣ ΑΓΓΟΥΡΕΛΑΙΟ	8,0	GAEA Π.Ο.Π ΚΑΛΑΜΑΤΑΣ	8,8
ΛΙΟΣΤΡΟΦΙ	9,2	MR GRAND	12,3
ΛΙΟΤΡΙΒΙ	12,5	SPAR 1L	7,9
MINEPBA ΒΙΟΛΟΓΙΚΟ	10,7	ΕΞΑΙΡΕΤΙΚΟ ΠΑΡΘΕΝΟ	8,6

**Σημείωση :** Οι τιμές στα δείγματα είναι μέσοι όροι δύο διαδοχικών επαναλήψεων

Συνολο	M.O	Τυπική Απόκλιση	Συντελεστής Διασποράς	Ελάχιστο	Μέγιστο	95% Όρια Εμπιστοσύνης για το M.O
40	9,548	1,979	20,73	7,000	14,300	8,9145 10,1805

Ανώτατο όριο αριθμού υπεροξειδίων 20 μεq O<sub>2</sub>/kg λαδιού

**Πίνακας 4.4. Προσδιορισμός των ειδικών συντελεστών απορρόφησης του ελαιολάδου (σταθερές K<sub>232</sub>, K<sub>270</sub>, ΔK).**

	K232	K270	ΔK		K232	K270	ΔK
ΑΛΤΙΣ ΚΑΛΑΜΑΤΑΣ	1,728	0,124	0,004	ΜΙΝΕΒΑ ΟΡΕΙΝΕΣ ΠΕΡΙΟΧΕΣ	2,070	0,181	0,006
ΑΛΤΙΣ ΓΕΥΣΗ ΕΚΛΕΚΤΗ	1,736	0,138	0,002	ΜΙΝΕΡΒΑ ΧΩΡΙΟ	1,940	0,170	0,001
ΑΝΩΣΚΕΛΗ Π.Ο.Π ΚΟΛΥΜΒΑΡΙ ΧΑΝΙΩΝ	1,912	0,145	0,003	ΜΙΝΕΡΒΑ ΠΕΔΙΝΟΙ ΕΛΛΑΙΩΝΕΣ	2,068	0,170	0,003
ΑΓΡΟΤΙΣΣΑ	2,232	0,144	0,002	ΜΑΡΑΤΑ ΕΞ.ΠΑΡΘ ΕΛΛΑΙΟΛ ΣΚΛΑΒΕΝΙΤΗΣ	1,888	0,120	0,004
ΑΛΕΑ ΛΑCΟΝΙCΑ PREMIUM	1,820	0,131	0,004	ΜΥΤΙΛΗΝΙΩ ΛΕΣΒΟΣ	1,708	0,101	0,002
ΑΓΓΟΥΡΕΛΑΙΟ ΑΛΤΙΣ	1,655	0,132	0,002	ΝΗΣΟΣ Π.Ο.Π ΠΕΖΑ ΗΡΑΚΛΕΙΟΥ ΚΡΗΤΗΣ	1,841	0,139	0,002
ΑΛΤΙΣ ΑΠΑΛΟ	1,850	0,140	0,004	ΞΥΛΟΥΡΗΣ /ΓΙΩΡΓΟΣ ΞΥΛΟΥΡΗΣ ΚΡΗΤΗ	1,844	0,159	0,003
ΑΛΤΙΣ ΠΑΡΑΔΟΣΙΑΚΟ	1,852	0,150	0,002	Π.Ο.Π ΠΕΖΑ ΚΡΗΤΗΣ(ΗΡΑΚΛΕΙΟ)	1,812	0,139	0,001
ΓΑΛΑΞΙΑΣ	1,879	0,146	0,002	ΠΑΣΙΦΑΗ	1,828	0,135	0,002
ΔΩΡΙΚΟ ΛΑΚΩΝΙΑΣ ΕΝ ΑΓΡ ΣΥΝ ΛΑΚΩΝ	1,774	0,138	0,003	ΣΠΙΤΙΚΟ	1,913	0,150	0,002
ELADIN KORE	1,917	0,156	0,002	ΣΗΤΕΙΑΚΟ	1,876	0,132	0,002
ΕΛΑΙΩΝΙΟΝ	2,006	0,173	0,004	TERRA CRETA SPARY	1,931	0,161	0,002
ELEA CRETA EV	1,859	0,138	0,002	ΦΙΛΑΙΟΣ Π.Γ.Ε ΛΑΚΩΝΙΑΣ	1,991	0,135	0,003
ΕΛΑΝΘΗ	1,902	0,132	0,002	CARREFOUR ΓΥΑΛΙΝΟ	1,757	0,128	0,003
ΛΑΤΖΙΜΑΣ(ΚΡΗΤΙΚΟ)	1,970	0,171	0,003	CARREFOUR ΠΛΑΣΤΙΚΟ ΔΟΧΕΙΟ	1,883	0,133	0,001
ΛΑΤΖΙΜΑΣ(ΒΟΡΕΙΟΣ ΜΥΛΟΠΟΤΑΜΟΣ ΡΕΘΜΥΝΟ ΚΡΗΤΗΣ)	2,026	0,186	0,006	GAEA ΒΙΟΛΟΓΙΚΟ	2,246	0,183	0,008
ΛΑΤΖΙΜΑΣ ΑΓΓΟΥΡΕΛΑΙΟ	1,821	0,144	0,004	GAEA Π.Ο.Π ΚΑΛΑΜΑΤΑΣ	1,960	0,160	0,002
ΛΙΟΣΤΡΟΦΙ	1,916	0,143	0,004	MR GRAND	1,933	0,153	0,002
ΛΙΟΤΡΙΒΙ	2,023	0,139	0,002	SPAR 1L	1,981	0,186	0,002
ΜΙΝΕΡΒΑ ΒΙΟΛΟΓΙΚΟ	1,789	0,134	0,003	ΕΞΑΙΡΕΤΙΚΟΠΑΡΘΕΝΟ	1,849	0,137	0,002

**Σημείωση :** Οι τιμές στα δείγματα είναι μέσοι όροι δύο διαδοχικών επαναλήψεων.

	Σύνολο	Μ.Ο	Τυπική Απόκλιση	Συντελεστής Διασποράς	Ελάχιστο	Μέγιστο	95% Όρια Εμπιστοσύνης για το Μ.Ο	
K232	40	1,8997	0,1242	6,54	1,6550	2,2460	1,8599	1,9394
K270	40	0,14690	0,01921	13,08	0,10100	0,18600	0,14076	0,15304
ΔK	40	0,002825	0,001430	50,63	0,001000	0,008000	0,002368	0,003282

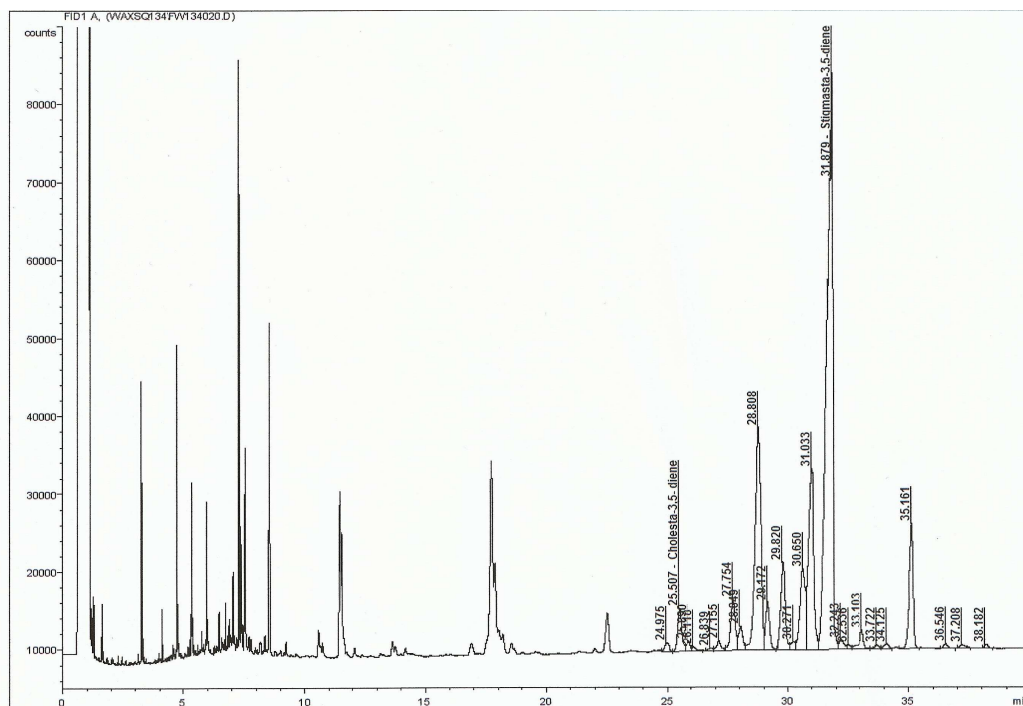
Ανώτατα όρια K<sub>232</sub> ≤ 2.50 K<sub>270</sub> ≤ 0,20 ΔK ≤ 0,01.

## ❁ Προσδιορισμός στιγμασταδιενίων

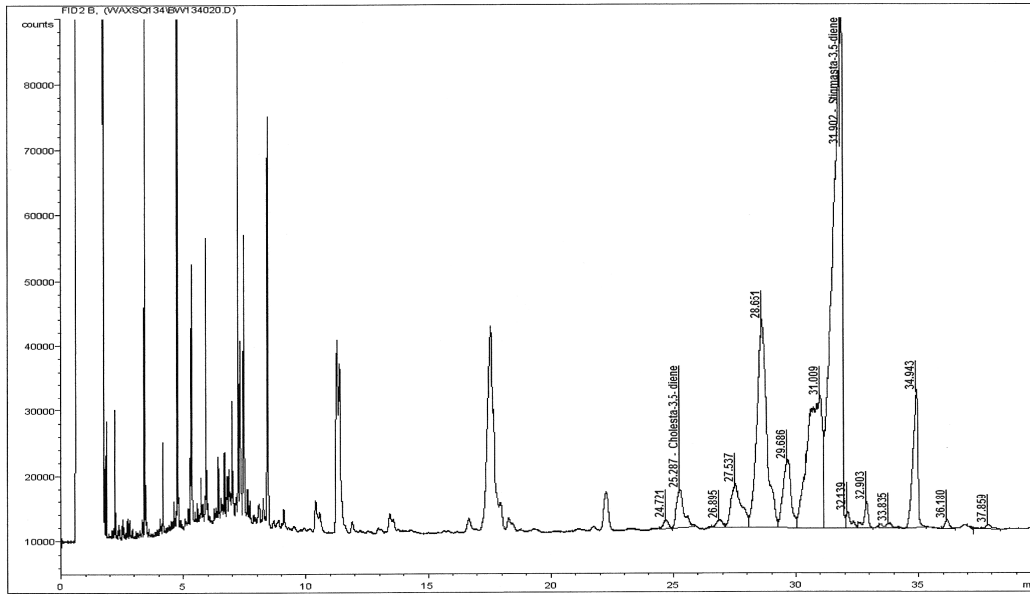
Η ουσία που εξετάζεται στην παρούσα μέθοδο είναι αποκλειστικά το στιγμαστα-3,5-διένιο. Όπως έχει ήδη προαναφερθεί αυτή οι ουσία δεν αποτελεί φυσικο συστατικό του ελαιολάδου αλλά προκύπτει με αφυδάτωση των αντοίστιχων στερολών. Γι'αυτό και δεν υπάρχουν άλλες ουσίες παραπλήσιας δομής στα δείγματα που χρησιμοποιήθηκαν. Τα δείγματα που αναλύθηκαν σύμφωνα με τη μέθοδο που περιγράφεται στο κεφάλαιο 'Υλικά και Μέθοδοι' δεν παρουσιάζουν τιμές στιγμασταδιενίων εκτός των ορίων που αναφέρονται στη βιβλιογραφία. Σχεδόν όλα τα δείγματα δίνουν μηδενικές τιμές με κάποια έλαια να δίνουν τιμές από 0,01-0,03 (πίνακας 4.8) βάση της χρωματογραφικής ανάλυσης που υποβλήθηκαν. Οι συγκεκριμένες τιμές που έδωσαν τα δείγματα βρίσκονται σύμφωνες και με τα αποτελέσματα των γενικών αναλύσεων που πραγματοποιήθηκαν. Έτσι επιβεβαιώνονται και τα αποτελέσματα των μετρήσεων των ποιοτικών κριτηρίων που προηγήθηκαν. Ο ποσοτικός προσδιορισμός καθώς και η εξαγωγή των χρωματογραφήματων έγινε με βάση τη σχετική μέθοδο που αναλύεται στο κεφάλαιο 4. Λόγω της πολύ μικρής ποσότητας των στιγμασταδιενίων έως μηδενικής σε μερικά χρωματογραφήματα δεν εμφανίζεται κορυφή στιγμασταδιενίου.

## Συγκριση χρωματογραφήματων επίσημης και τροποποιημένης μεθόδου.

Λόγω της καθαρότητας των δειγμάτων και την απουσία στιγμασταδιενίων από τα δείγματα δεν είμαστε σε θέση να παρουσιάσουμε αποτελέσματα ελαιού το οποίο να περιέχει σε αρκετή ποσότητα στιγμασταδιένια εκτός ορίων έτσι ώστε να γίνει εμφανές σε χρωματογράφημα. Μέσω και των δύο μεθόδων προσδιορίσαμε τα στιγμασταδιένια σε δείγμα ηλιελαίου SOL(οξύτητα 0,21 υπεροξείδια 4,5 ) το οποίο περιέχει σε μεγάλη ποσότητα στιγμασταδιένια. Τα χρωματογραφήματα (εικόνες 4.1 και 4.2) το επιβεβαιώνουν. Η κορυφή των στιγμασταδιενίων είναι ευδιάκριτη και σαφώς πολύ μεγαλύτερη σε έκταση από αυτή του εσωτερικού προτύπου και στα δύο γραφήματα. Η επίσημη μέθοδος έδωσε 19,460 (mg/kg) και η τροποποιημένη 19,380 (mg/kg).

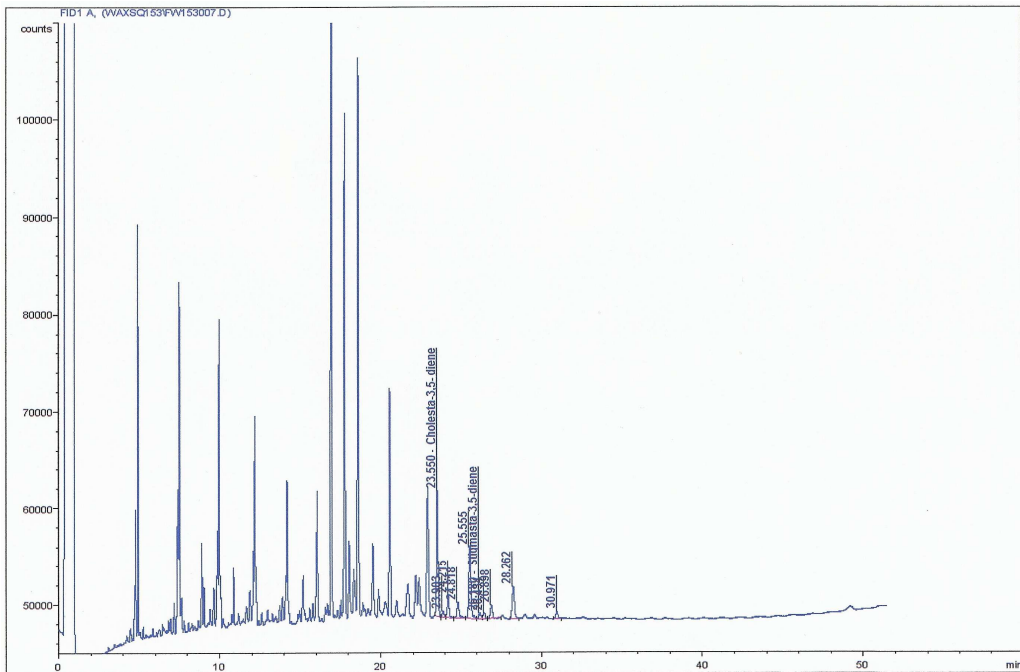


Εικόνα 4.1. Χρωματογράφημα ηλιελαίου επίσημης μεθόδου.

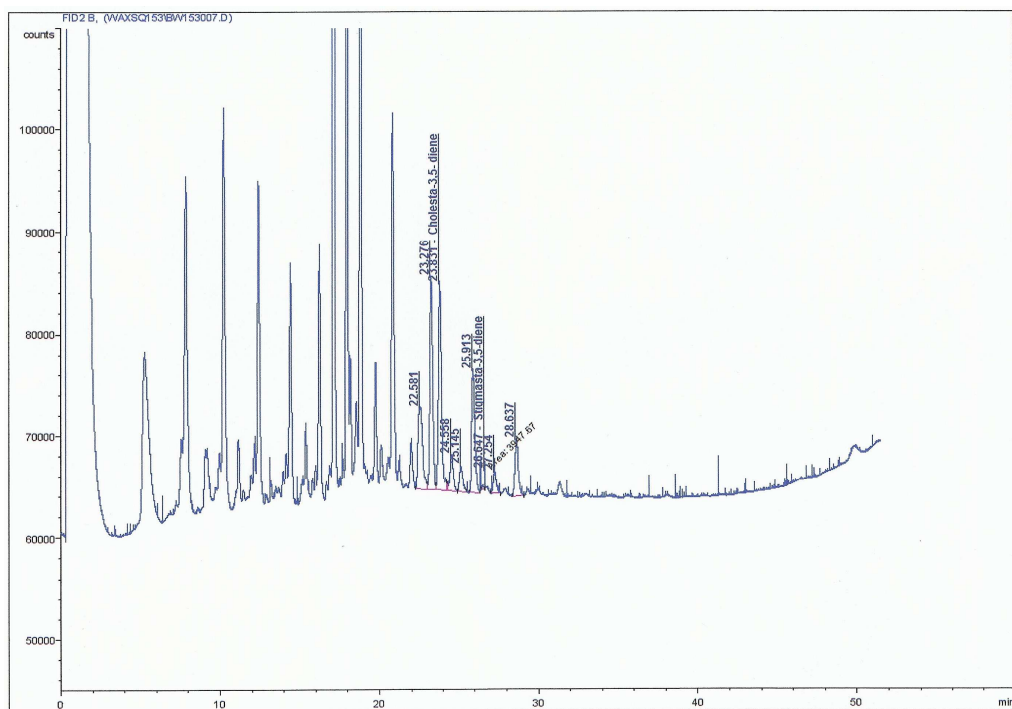


**Εικόνα 4.2.** Χρωματογράφημα ηλιελαίου τροποποιημένης μεθόδου.

Σε δείγμα εξαιρετικού παρθένου ελαιολάδου (μη τυποποιημένο) προσδιορίστηκε ο αριθμός των στιγμασταδιενίων και με τις δύο μεθόδους. Τα γραφήματα (εικόνες 4.3 και 4.4) επιβεβαιώνουν και γραφικά το μηδενικό αποτέλεσμα που δίνουν και οι 2 μέθοδοι. Το συγκεκριμένο δείγμα ελαίου δεν περιέχει καθόλου στιγμασταδιένια. Επίσης και σε αυτή την περίπτωση και οι δύο μέθοδοι δίνουν παραπλήσια γράφημα. Οι χρόνοι εμφάνισης των κορυφών του προτύπου και των στιγμασταδιενίων βρίσκονται πολύ κοντά ανάμεσα στα δύο γραφήματα.



**Εικόνα 4.3.** Χρωματογράφημα εξαιρετικού παρθένου ελαίου επίσημης μεθόδου.



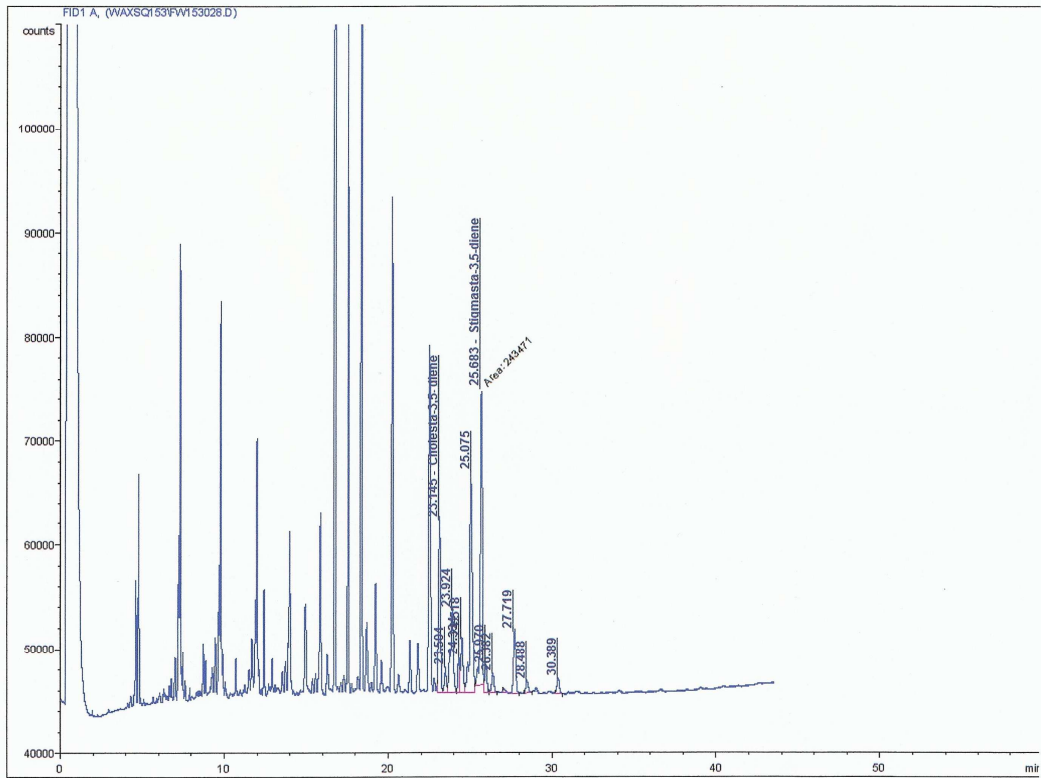
**Εικόνα 4.4.** Χρωματογράφημα εξαιρετικού παρθένου ελαίου τροποποιημένης μεθόδου.

**Πίνακας 4.5.** Αποτελέσματα μετρήσεων σε εξαιρετικό παρθένο ελαιόλαδο

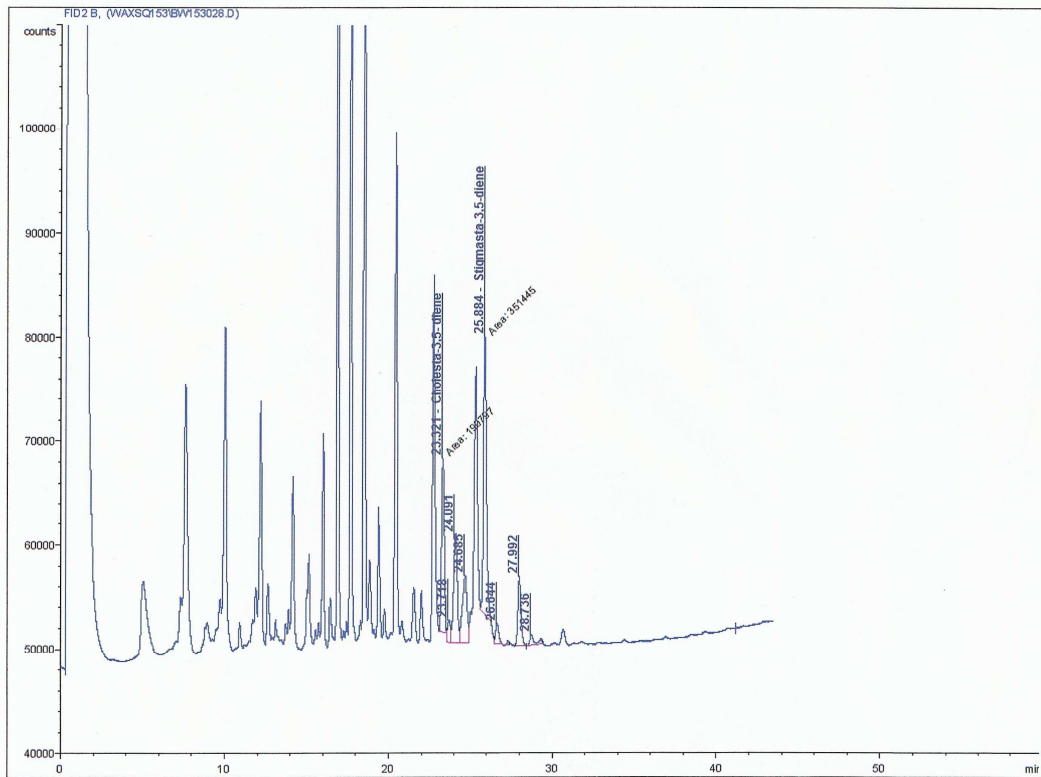
Μέτρηση	Εξ παρθενο έλαιο
Οξύτητα	0,37 (g ελαϊκού οξέος / 100g ελαίου)
Υπεροξειδία	12 (meq O <sub>2</sub> /kg ελαίου)
K232	1,942
K270	0,164
ΔΚ	0,002
Υγρασία	0,04 (%)
Στιγμασταδιένια (επίσημη μέθοδος)	0,00(mg/kg)
Στιγμασταδιένια (τροποποιημένη μέθοδος)	0,00(mg/kg)

**Σημείωση.** Οι τιμές στο δείγμα είναι οι μέσοι όροι 2 επαναλήψεων.

Τέλος νοθεύσαμε έλαια ονομασίας Αλτις Παραδοσιακό και Απαλό με ηλιέλαιο Sol. Σε συνολικό δείγμα ελαίου 20 g αποτελούμενο από 17 g ελαίου Αλτις προστέθηκαν 3 g ηλιελαίου Sol. Στη συνολική ποσότητα δείγματος των 20 g πραγματοποιήθηκαν όλες οι προαναφερόμενες μετρήσεις που έγιναν σε όλα τα δείγματα και η μέτρηση των στιγμασταδιενίων έγινε και με τις δύο μεθόδους και στη συγκεκριμένη περίπτωση. Τα αποτελέσματα (πίνακες 4.6 και 4.7) επιβεβαιώνουν τη νόθευση. Όλες οι μετρήσεις των συντελεστών Κ έδωσαν αποτελέσματα εκτός των ορίων που αναφέρονται στη βιβλιογραφία. Οι διαφορετικές μεθοδολογίες που αναπτύχθηκαν για τη μέτρηση των στιγμασταδιενίων στα νοθευμένα δείγματα έδωσαν παρεμφερή αποτελέσματα και στα 2 δείγματα με αντίστοιχα χρωματογραφήματα (εικόνες 4.5, 4.6, 4.7, 4.8).



Εικόνα 4.5. Χρωματογράφημα νοθευμένου δείγματος Αλις Παραδοσιακό (επίσημη μέθοδος).

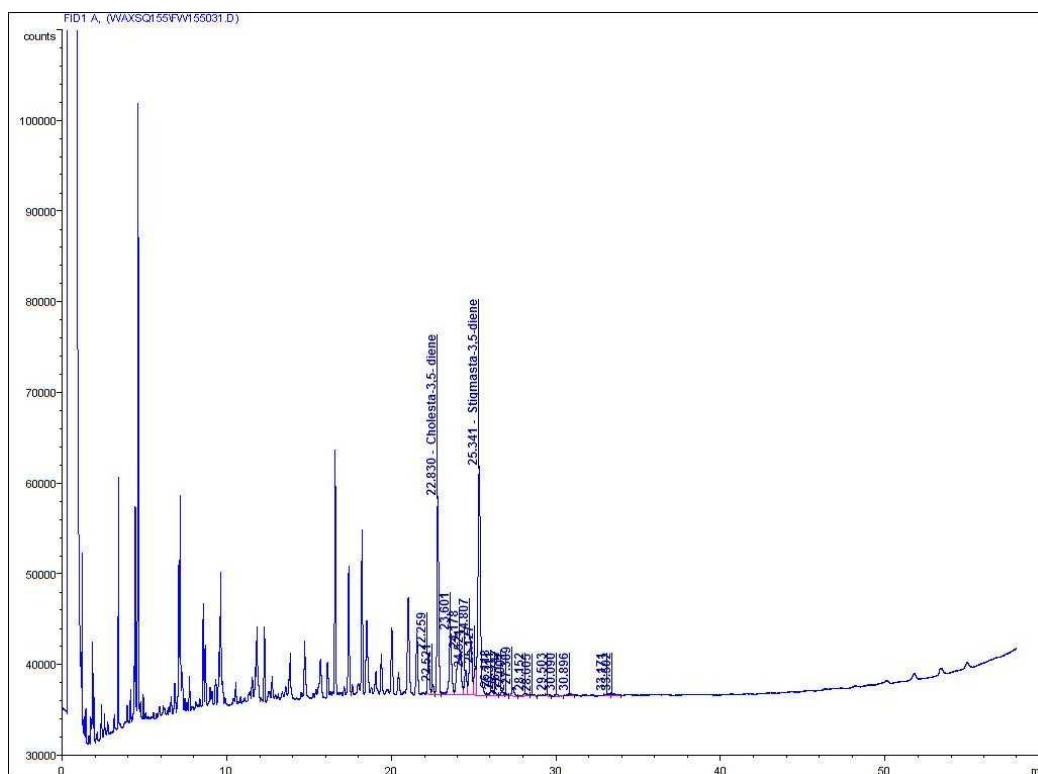


Εικόνα 4.6. Χρωματογράφημα νοθευμένου δείγματος Αλις Παραδοσιακό (τροποποιημένη μέθοδος).

**Πίνακας 4.6.** Αποτελέσματα μετρήσεων σε νοθευμένο δείγμα ελαίου (Αλις Παραδοσιακό).

Μέτρηση	Μείγμα ελαίου 17g εξ Παρθένο + 3 g Ηλιέλαιο
Οξύτητα	0.58 (g ελαϊκού οξέος / 100g ελαίου)
Υγρασία	0.06 (%)
Υπεροξειδία	12.7 (meq O <sub>2</sub> /kg ελαίου)
K232	2.857
K270	0,253
ΔΚ	0,011
Στιγμασταδιένια Επίσημη μέθοδος	1.840 (mg/kg)
Στιγμασταδιένια χρησιμοποιηθείσα μέθοδος	1.850 (mg/kg)

**Σημείωση.** Οι τιμές στο δείγμα είναι οι μέσοι όροι 2 επαναλήψεων.

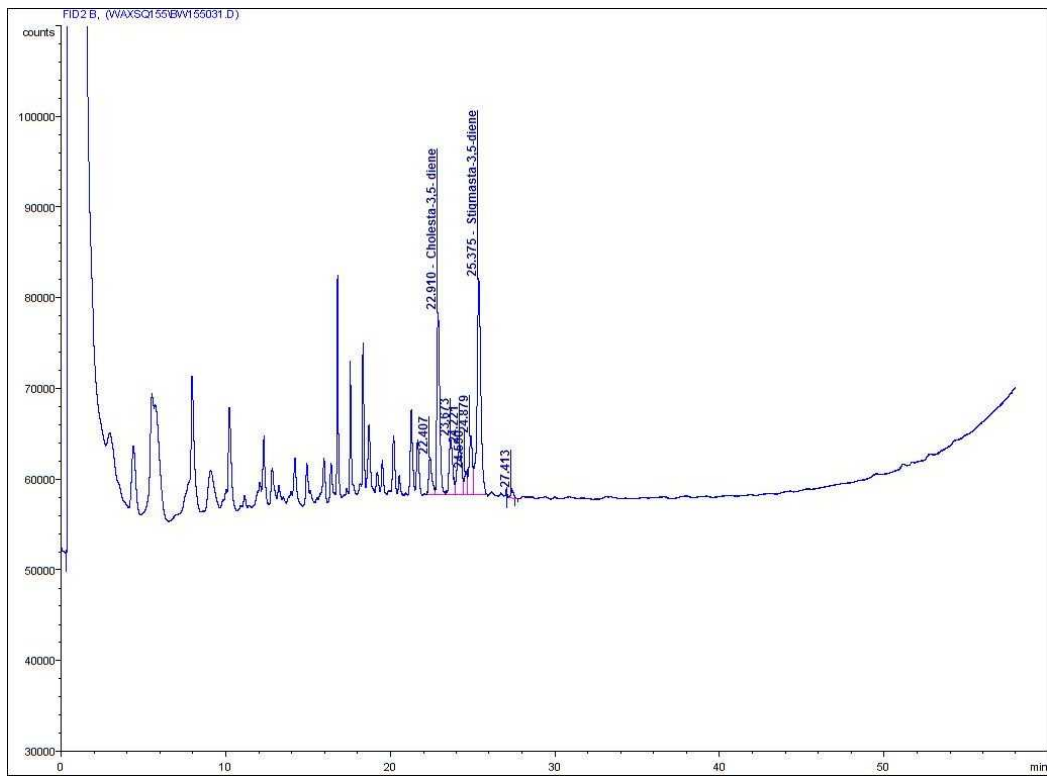


**Εικόνα 4.7.** Χρωματογράφημα νοθευμένου δείγματος Αλις Απαλό (επίσημη μέθοδος).

**Πίνακας 4.7.** Αποτελέσματα μετρήσεων σε νοθευμένο δείγμα ελαίου (Αλις Απαλό).

Μέτρηση	Μείγμα ελαίου 17g εξ Παρθένο + 3 g Ηλιέλαιο
Οξύτητα	0.67 (g ελαϊκού οξέος / 100g ελαίου)
Υγρασία	0.06 (%)
Υπεροξειδία	10,4 (meq O <sub>2</sub> /kg ελαίου)
K232	2.713
K270	0,239
ΔΚ	0,011
Στιγμασταδιένια Επίσημη μέθοδος	1.427 (mg/kg)
Στιγμασταδιένια χρησιμοποιηθείσα μέθοδος	1.410 (mg/kg)





**Εικόνα 4.8.** Χρωματογράφημα νοθευμένου δείγματος Αλιτις Απαλό (τροποποιημένη μέθοδος).

**Πίνακας 4.8.** Αριθμός στιγμασταδιενίων (mg/kg).

ΑΛΤΙΣ ΚΑΛΑΜΑΤΑΣ	0,00	MINEBA ΟΡΕΙΝΕΣ ΠΕΡΙΟΧΕΣ	0,00
ΑΛΤΙΣ ΓΕΥΣΗ ΕΚΛΕΚΤΗ	0,02	MINEPBA ΧΩΡΙΟ	0,00
ΑΝΩΣΚΕΛΗ Π.Ο.Π ΚΟΛΥΜΒΑΡΙ ΧΑΝΙΩΝ	0,00	MINEPBA ΠΕΔΙΝΟΙ ΕΛΛΑΙΩΝΕΣ	0,00
ΑΓΡΟΤΙΣΣΑ	0,00	ΜΑΡΑΤΑ ΕΞ.ΠΑΡΘ ΕΛΑΙΟΛ ΣΚΛΑΒΕΝΙΤΗΣ	0,00
ΑΛΕΑ LACONICA PREMIUM	0,01	ΜΥΤΙΑΗΝΙΩ ΛΕΣΒΟΣ	0,03
ΑΓΓΟΥΡΕΛΑΙΟ ΑΛΤΙΣ	0,00	ΝΗΣΟΣ Π.Ο.Π ΠΕΖΑ ΗΡΑΚΛΕΙΟΥ ΚΡΗΤΗΣ	0,00
ΑΛΤΙΣ ΑΠΑΛΟ	0,01	ΞΥΛΟΥΡΗΣ /ΓΙΩΡΓΟΣ ΞΥΛΟΥΡΗΣ ΚΡΗΤΗ	0,01
ΑΛΤΙΣ ΠΑΡΑΔΟΣΙΑΚΟ	0,02	Π.Ο.Π ΠΕΖΑ ΚΡΗΤΗΣ(ΗΡΑΚΛΕΙΟ)	0,00
ΓΑΛΑΞΙΑΣ	0,00	ΠΑΣΙΦΑΗ	0,00
ΔΩΡΙΚΟ ΛΑΚΩΝΙΑΣ ΕΝ ΑΓΡ ΣΥΝ ΛΑΚΩΝ	0,00	ΣΠΙΤΙΚΟ	0,00
ELADIN KORE	0,00	ΣΗΤΕΙΑΚΟ	0,00
ΕΛΑΙΩΝΙΟΝ	0,00	TERRA CRETA SPARY	0,00
ELEA CRETA EV	0,00	ΦΙΛΑΙΟΣ Π.Γ.Ε ΛΑΚΩΝΙΑΣ	0,01
ΕΛΑΝΘΗ	0,00	CARREFOUR ΓΥΑΛΙΝΟ	0,00
ΛΑΤΖΙΜΑΣ(ΚΡΗΤΙΚΟ)	0,01	CARREFOUR ΠΛΑΣΤΙΚΟ ΔΟΧΕΙΟ	0,00
ΛΑΤΖΙΜΑΣ(ΒΟΡΕΙΟΣ ΜΥΛΟΠΟΤΑΜΟΣ ΡΕΘΜΥΝΟ ΚΡΗΤΗΣ)	0,00	GAEA ΒΙΟΛΟΓΙΚΟ	0,00
ΛΑΤΖΙΜΑΣ ΑΓΓΟΥΡΕΛΑΙΟ	0,00	GAEA Π.Ο.Π ΚΑΛΑΜΑΤΑΣ	0,00
ΛΙΟΣΤΡΟΦΙ	0,02	MR GRAND	0,00
ΛΙΟΤΡΙΒΙ	0,00	SPAR IL	0,00
MINEPBA ΒΙΟΛΟΓΙΚΟ	0,00	ΕΞΑΙΡΕΤΙΚΟ ΠΑΡΘΕΝΟ	0,03

**Σημείωση.** N=40. Ανώτατο όριο αριθμού στιγμασταδιενίων 0,15 (mg/kg ελαίου).

## ✿ Προσδιορισμός Κήρων

Στην παρούσα μέθοδο περιγράφηκε η διαδικασία προσδιορισμού της περιεκτικότητας των ελαιολάδων σε κήρους. Η μέθοδος μπορεί να χρησιμοποιηθεί κυρίως για τη διάκριση μεταξύ του ελαιολάδου που λαμβάνεται με έκθλιψη και εκείνου που λαμβάνεται με εκχύλιση (πυρηνελαίου). Λόγω του εσωτερικού προτύπου που προσθέσαμε στα δείγματα είμαστε σε θέση να εξάγουμε και τον αριθμό των κήρων που περιέχονται στο ελαιόλαδο. Ο ποσοτικός προσδιορισμός καθώς και η εξαγωγή των χρωματογραφημάτων έγινε με βάση τη σχετική μέθοδο που αναλύεται στο κεφάλαιο 4. Τα έλαια στα οποία προσδιορίστηκε ο αριθμός κήρων έδωσαν τιμές εντός των ορίων που αναφέρονται στη βιβλιογραφία (πίνακας 4.10) με μεγαλύτερη τιμή να δίνει το αγγουρέλαιο Αλτις και μικρότερη ελαιόλαδο Sprag το οποίο εμπορεύεται το πολυκατάστημα Βερόπουλος. Τα δείγματα που νοθεύτηκαν έδωσαν κήρους ελαφρά αυξημένους. Η μέθοδος όμως χρησιμοποιείται κατά κύρια βάση για τον προσδιορισμό διαφορετικού τύπου νόθευσης γι' αυτό τα αποτελέσματα δεν μπορούν να θεωρηθούν αξιόπιστα.

**Πίνακας 4.9.** Αποτελέσματα κήρων νοθευμένων ελαίων.

	Κήροι
Αλτις Παραδοσιακό	mg/kg
Χωρίς νόθευση	221
Νοθευμένο	269
	Κήροι
Αλτις Απαλό	mg/kg
Χωρίς νόθευση	237
Νοθευμένο	263

Ο καρπός της ελιάς περιβάλλεται από κηρώδης ουσίες που δημιουργούνται από το ελαιόδενδρο για την προστασία του καρπού από το περιβάλλον. Μέρος αυτών περνά στο ελαιόλαδο κατά την επεξεργασία του καρπού στο ελαιουργείο. Χαμηλές τιμές κήρων στο ελαιόλαδο, δηλώνουν προϊόν που παρελήφθη με κατάλληλες συνθήκες στο ελαιουργείο, άρα καλύτερης ποιότητας και με δυνατότητα μεγαλύτερης διάρκειας ζωής.

**Πίνακας 4.10** . Αριθμός κήρων (mg/kg).

ΑΛΤΙΣ ΚΑΛΑΜΑΤΑΣ	85	ΜΙΝΕΒΑ ΟΡΕΙΝΕΣ ΠΕΡΙΟΧΕΣ	143
ΑΛΤΙΣ ΓΕΥΣΗ ΕΚΛΕΚΤΗ	95	ΜΙΝΕΡΒΑ ΧΩΡΙΟ	97
ΑΝΩΣΚΕΛΗ Π.Ο.Π ΚΟΛΥΜΒΑΡΙ ΧΑΝΙΩΝ	99	ΜΙΝΕΡΒΑ ΠΕΔΙΝΟΙ ΕΛΛΙΩΝΕΣ	114
ΑΓΡΟΤΙΣΣΑ	161	ΜΑΡΑΤΑ ΕΞ.ΠΑΡΘ ΕΛΛΙΟΛ ΣΚΛΑΒΕΝΙΤΗΣ	84
ΑΛΕΑ ΛΑΧΟΝΙΚΑ PREMIUM	108	ΜΥΤΙΑΗΝΙΩ ΛΕΣΒΟΣ	118
ΑΓΓΟΥΡΕΛΑΙΟ ΑΛΤΙΣ	197	ΝΗΣΟΣ Π.Ο.Π ΠΕΖΑ ΗΡΑΚΛΕΙΟΥ ΚΡΗΤΗΣ	101
ΑΛΤΙΣ ΑΠΑΛΟ	109	ΞΥΛΟΥΡΗΣ /ΓΙΩΡΓΟΣ ΞΥΛΟΥΡΗΣ ΚΡΗΤΗ	103
ΑΛΤΙΣ ΠΑΡΑΔΟΣΙΑΚΟ	70	Π.Ο.Π ΠΕΖΑ ΚΡΗΤΗΣ(ΗΡΑΚΛΕΙΟ)	105
ΓΑΛΑΞΙΑΣ	87	ΠΑΣΙΦΑΗ	155
ΔΩΡΙΚΟ ΛΑΚΩΝΙΑΣ ΕΝ ΑΓΡ ΣΥΝ ΛΑΚΩΝ	121	ΣΠΙΤΙΚΟ	118
ELADIN KORE	86	ΣΗΤΕΙΑΚΟ	104
ΕΛΑΙΩΝΙΟΝ	128	TERRA CRETA SPARY	107
ELEA CRETA EV	89	ΦΙΛΑΙΟΣ Π.Γ.Ε ΛΑΚΩΝΙΑΣ	79
ΕΛΑΝΘΗ	97	CARREFOUR ΓΥΑΛΙΝΟ	94
ΛΑΤΖΙΜΑΣ(ΚΡΗΤΙΚΟ)	186	CARREFOUR ΠΛΑΣΤΙΚΟ ΔΟΧΕΙΟ	105
ΛΑΤΖΙΜΑΣ(ΒΟΡΕΙΟΣ ΜΥΛΟΠΟΤΑΜΟΣ ΡΕΘΜΥΝΟ ΚΡΗΤΗΣ)	112	GAEA ΒΙΟΛΟΓΙΚΟ	144
ΛΑΤΖΙΜΑΣ ΑΓΓΟΥΡΕΛΑΙΟ	103	GAEA Π.Ο.Π ΚΑΛΑΜΑΤΑΣ	136
ΛΙΟΣΤΡΟΦΙ	99	MR GRAND	124
ΛΙΟΤΡΙΒΙ	82	SPAR 1L	68
ΜΙΝΕΡΒΑ ΒΙΟΛΟΓΙΚΟ	163	ΕΞΑΙΡΕΤΙΚΟ ΠΑΡΘΕΝΟ	110

**Σημείωση :** Οι τιμές στα δείγματα είναι μέσοι όροι δύο διαδοχικών επαναλήψεων.

Σύνολο	Μ.Ο	Τυπική Απόκλιση	Συντελεστής Διασποράς	Ελάχιστο	Μέγιστο	95% Όρια Εμπιστοσύνης για το Μ.Ο	
40	112,15	29,35	26,17	68,00	197,00	102,76	121,54

Ανώτατο όριο αριθμού κήρων 250 (mg/kg ελαίου).

---

## 5. Συμπεράσματα

---

Σκοπός της παρούσης πτυχιακής εργασίας ήταν ο προσδιορισμός των στιγμασταδινίων σε εξαιρετικά παρθένα έλαια για έλεγχο νοθείας . Στα δείγματα που είχαμε στη διαθεσή μας έγιναν μία σειρά μετρήσεων όπως αυτές περιγράφονται στα αντιστίχα κεφάλαια. Τα αποτελέσματα των συγκεκριμένων μετρήσεων έγκειται εντός των ορίων που έχουν θέσει η Ε.Ε και το Δ.Σ.Ε. Σύμφωνα με τις τιμές των αποτελεσμάτων δεν προσδιορίστηκε νοθεία σε κανένα από τα δείγματα ελαίων που αναλύθηκαν. Επομένως δεν υπήρξε περίπτωση πρόσμιξης εξαιρετικού παρθένου ελαιολάδου με έλαιο χαμηλότερης βιολογικής αξίας. Η επίσημη μέθοδος καθώς και η συγκεκριμένη που ακολουθηθηκε εξάγουν όμοια χρωματογραφήματα και αποτελέσματα. Χρησιμοποιώντας την τροποποιημένη μέθοδο εξοικονομούμε χρόνο κάτι το οποίο είναι πολύ χρήσιμο σε περιπτώσεις μεγάλου φόρτου εργασίας. Ο χαρακτηρισμός των δειγμάτων τους ως εξαιρετικά παρθένα καλύπτεται πλήρως βάση μετρήσεων συγκεκριμένων μεταβλητών.

---

## 6. Βιβλιογραφία

---

### Ξενόγλωσση

E.U.R No 2568/91 d.d July (1991) , Annex XVII. Determination of stigmastadienes in vegetable oils.

Fedeli E, (1993). Olive Oil Technology.

Inversion, J.L., Eisner, J. and Firestone, D. (1965). Fatty composition of olive oil. J. Assoc. Agric. Chem. 48:1191.

IOOC (2003). Method of analysis. Determination of wax content by capillary column gas chromatography.

IOOC (2001). Method of analysis. Determination of stigmastadienes in vegetable oils.

Ranalli, A. (1992). Carotenoids in virgine olive oils. Effect on technology.

Kiosseoglou, B., Vlachopoulou, I. and Boskou, D.(1987). Esterified 4-monomethyl and 4,4 dimethyl-sterols in some vegetable oils.

Tuck, K. and Hayball, P.( 2002). Major phenolic compounds in olive oil: metabolism and health effects. Journal of Nutritional Biochemistry, 13, 636-639.

### Ελληνική

Γαρδουνη, Α. (2001). Προσδιορισμός Στιγμασταδιενίου σε Ραφιναρισένα Ελαιόλαδα, Πτυχιακή εργασία,, Γεωπονικό Πανεπιστήμιο, Αθήνα.

Κυριτσάκης, Α. (2007). Ελαιόλαδο Συμβατικό και Βιολογικό Βρώσιμη Ελιά – Πάστα Ελιάς. Θεσσαλονίκη.

Κυριτσάκης, Α. (1984). Εργαστηριακές Ασκήσεις Τεχνολογίας και Ποιοτικού Ελέγχου Λιπαρών Υλών. Θεσσαλονίκη.