ΑΝΩΤΑΤΟ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΚΟ ΕΚΠΑΙΔΕΥΤΙΚΟ ΙΔΡΥΜΑ ΚΡΗΤΗΣ
ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ ΣΗΤΕΙΑΣ

ΤΕΙ ΚΡΗΤΗΣ

ΤΜΗΜΑ ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ ΚΑΙ ΔΙΑΙΤΟΛΟΓΙΑΣ

Πειραματική μελέτη πάνω στην ανίχνευση της χλωροφύλλης και άλλων δεικτών ποιότητας διαφορετικών τύπων ελαιολάδου και σπορέλαιων για γρήγορο έλεγχο της υποβάθμισης της ποιότητας. Εφαρμογή του Φθορισμού σαν μία εναλλακτική μέθοδο, ελέγχου της ποιότητας του ελαιολάδου.



ΕΙΣΗΓΗΤΕΣ

ΖΑΦΕΙΡΟΠΟΥΛΟΣ ΒΑΣΙΛΕΙΟΣ
ΛΑΠΙΔΑΚΗΣ ΝΙΚΟΛΑΟΣ
ΧΑΤΖΑΚΗ ΕΙΡΗΝΗ

ΣΠΟΥΔΑΣΤΡΙΕΣ

ΑΡΧΟΝΤΑΚΗ ΕΙΡΗΝΗ
ΧΟΥΧΟΥΜΗ ΚΑΤΕΡΙΝΑ

Σητεία Οκτώβριος 2007

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ:

Για την εκπόνηση αυτής της πτυχιακής εργασίας θα θέλαμε να ευχαριστούμε θερμά τον καθηγητή μας κ. Βασίλειο Ζαφειρόπουλο για την πολύτιμη συμβολή και βοήθεια του από την έναρξη μέχρι την ολοκλήρωση της. Την κ. Ειρήνη Χατζάκη για τη βοήθειά της στο πειραματικό και στο βιβλιογραφικό μέρος, καθώς επίσης και τον κ. Νικόλαο Λαπιδάκη για τη συμβολή του στο πειραματικό μέρος.
Ευχαριστούμε τον κ. Γεώργιο Φραγκιαδάκη για την πολύτιμη διευκόλυνση να μας παραχωρήσει το εργαστήριο χημείας και για το χρόνο που μας διέθεσε. Τον κ. Πέτρο Δημητροπουλάκη για την εγκατάσταση βασικών προγραμμάτων που χρησιμοποιήθηκαν στο πειραματικό μέρος.
Τέλος, ευχαριστούμε πολύ τους γονείς μας για την οικονομική και ηθική στήριξη τους.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ---3
1.ΕΙΣΑΓΩΓΗ---5
1.1 ΛΑΔΙ---5
1.1.1 ΙΣΤΟΡΙΚΗ ΑΝΑΣΚΟΠΗΣΗ---5
1.1.2 ΕΛΑΙΟΚΑΡΠΟΣ-ΕΛΑΙΟΛΑΔΟ---6
1.1.3 ΜΕΘΟΔΟΙ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑΣ ---6
1.1.4 ΣΥΝΘΕΣΗ ΕΛΑΙΟΛΑΔΟΥ ΣΕ ΛΙΠΑΡΑ ΟΞΕΑ --- 10
1.1.5 ΒΑΣΙΚΕΣ ΔΙΑΦΟΡΕΣ ΤΟΥ ΕΛΑΙΟΛΑΔΟΥ ΜΕ ΤΑ ΑΛΛΑ ΣΠΟΡΕΛΑΙΑ --- 12
1.1.6 ΜΕΘΟΔΟΙ ΣΥΝΤΗΡΗΣΗΣ--- 13
1.1.7 ΣΥΣΚΕΥΑΣΙΑ--- 14
1.2 ΠΟΙΟΤΗΤΑ --- 16
1.2.1 ΒΑΣΙΚΑ ΚΡΙΤΗΡΙΑ ΠΟΙΟΤΗΤΑΣ --- 16
1.2.2 ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΟΙ ΟΠΟΙΟΙ ΕΠΗΡΕΑΖΟΥΝ ΤΗΝ ΠΟΙΟΤΗΤΑ ΤΟΥ ΕΛΑΙΟΛΑΔΟΥ--- 19
1.3 UV-ΟΡΑΤΟΥ - ΦΑΣΜΑΤΟΣΚΟΠΙΑ --- 22
1.4 ΧΛΩΡΟΦΥΛΛΗ--- 27
1.5 ΦΘΟΡΙΣΜΟΣ --- 29
1.6 ΟΞΥΤΗΤΑ - ΟΓΚΟΜΕΤΡΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ --- 32
1.7 ΝΟΘΕΙΑ --- 33
1.8 ΤΗΓΑΝΙΣΜΑ --- 34
1.8.1 Η ΔΙΑΤΡΟΦΙΚΗ ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΟΥ ΤΗΓΑΝΙΣΜΑΤΟΣ --- 36
2.ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ--- 37
2.1 ΔΕΙΓΜΑΤΑ--- 37
2.2 ΦΑΣΜΑΤΟΦΩΤΟΜΕΤΡΙΑ UV-VIS--- 39
2.2.1 ΠΕΡΙΓΡΑΦΗ ΟΡΓΑΝΟΥ: --- 39
2.2.2 ΦΑΣΜΑΤΟΣΚΟΠΙΑ UV-VIS--- 41
2.2.3 ΦΑΣΜΑΤΟΣΚΟΠΙΑ VIS--- 47
2.2.4 Φθορισμός --- 49
2.2.5 ΟΞΥΤΗΤΑ --- 51
2.2.6 ΝΟΘΕΙΑ --- 53
2.2.7 ΜΕΘΟΔΟΣ ΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΑΣ TLC--- 54
2.2.8 ΤΗΓΑΝΙΣΜΑ --- 55
3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΣΥΖΗΤΗΣΗ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ--- 58
3.1 ΦΑΣΜΑΤΟΣΚΟΠΙΑ UV--- 58
3.2 ΦΑΣΜΑΤΟΣΚΟΠΙΑ VIS --- 62
3.3 ΦΘΟΡΙΣΜΟΣ --- 67
3.4 ΤΗΓΑΝΙΣΜΑ --- 74
3.4.1 ΦΘΟΡΙΣΜΟΣ ΣΕ ΤΗΓΑΝΙΣΜΕΝΑ ΔΕΙΓΜΑΤΑ--- 74
3.4.2 ΦΑΣΜΑΤΟΣΚΟΠΙΑ UV ΣΕ ΤΗΓΑΝΙΣΜΕΝΑ ΔΕΙΓΜΑΤΑ--- 77
3.4.3 ΦΑΣΜΑΤΟΣΚΟΠΙΑ VIS ΣΕ ΤΗΓΑΝΙΣΜΕΝΑ ΔΕΙΓΜΑΤΑ --- 78
3.4.4 EZB2 (Δείγμα από λάδι που έχει τηγανιστεί φαγητό, κάτω από οικιακές συνθήκες) --- 81
3.5 ΝΟΘΕΙΑ --- 82
3.5.1 ΝΟΘΕΙΑ ΜΕ ΣΠΟΡΕΛΑΙΑ --- 82
3.5.2 ΝΟΘΕΙΑ ΜΕ ΠΥΡΗΝΕΛΑΙΟ--- 86

3.5.3 ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΤΙΚΑ ---------- 88
3.6 ΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΑ-TLC ---------- 91
3.7 ΟΞΥΤΗΤΑ ---------- 92
3.8 ΣΥΣΧΕΤΙΣΕΙΣ ΜΕΤΑΞΥ ΜΕΘΟΔΩΝ ---------- 93
4. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ ---------- 97
5. ΚΕΦΑΛΑΙΟ ---------- 100
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ ---------- 100

1.ΕΙΣΑΓΩΓΗ

1.1 ΛΑΔΙ

1.1.1 ΙΣΤΟΡΙΚΗ ΑΝΑΣΚΟΠΗΣΗ

Από την αρχαιότητα είναι γνωστό ότι το ελαιόλαδο κατέχει εξέχουσα θέση στις διατροφικές συνήθειες των ανθρώπων. Η ιστορία της ελιάς και οι παραδόσεις γύρω από αυτήν ανάγονται στα πρώτα χρόνια της οργανωμένης ζωής του ανθρώπου πάνω στη γη. Αυτό αποδεικνύεται από πολλές πηγές, μυθολογικές παραδόσεις, εβραϊκές γραφές, ανασκαφές (Ελλάδα, Αίγυπτο) και παλαιοντολογικά ευρήματα (π.χ. φύλλα και κλαδιά στα εδαφικά προϊστορικά στρώματα της Κύμης, στην Εύβοια, και στο Αιξάν Προβάνς της Γαλλίας). Κλαδιά ελιάς βρέθηκαν στους τάφους των Φαραώ και η καλλιέργειά της περιγράφεται σε πάπυρο, που χρονολογείται πριν από το 1550 π.Χ.
Καρποί ελιάς ήταν ανάμεσα στα αγαθά που υποσχέθηκαν στους Εβραίους στη γη Χαναάν πολύ πριν από το 1550 π.Χ. Στη Γένεση (κεφ. Η') αναφέρεται ότι το περιστέρι που άφησε ο Νώε μετά τον κατακλυσμό επέστρεψε στην κιβωτό με ένα κλαδί ελιάς στο ράμφος του ως σύμβολο ειρήνης και γαλήνης.
Οι αρχαίοι Έλληνες θεωρούσαν τον κλάδο ελιάς σύμβολο νίκης και τιμούσαν τους Ολυμπιονίκες με στεφάνι (κότινος) από άγρια ελιά που την ονόμαζαν «καλλιστέφανον». Κατά τη μυθολογία η Μορία Ελαία, που ήταν ήμερη, φυτεύτηκε από την Αθηνά στην Ακρόπολη. Οι Αθηναίοι την θεωρούσαν ιερή, την χρησιμοποιούσαν στα Παναθήναια και τιμωρούσαν με θάνατο όποιον έκοβε τα κλαδιά της.
Στο Βυζάντιο η ελαιοπαραγωγή μειώθηκε αισθητά, για να αυξηθεί κατακόρυφα το 15^{ο} αιώνα με την ανάπτυξη στην Ευρώπη της σαπωνοποιίας, στην οποία ως πρώτη ύλη χρησιμοποιείται το λάδι. Στα νεώτερα χρόνια το ελληνικό κράτος δείχνει ιδιαίτερο ενδιαφέρον για την ελιά και το 1856 ψηφίζεται νόμος "περί εκκεντρίσεως των εθνικών αγριελιών" .
Όποια και αν είναι η επικρατέστερη εκδοχή για την καταγωγή της ελιάς, το βέβαιο είναι ότι οι Έλληνες ήταν οι πρώτοι που την καλλιέργησαν γιατί αναγνώρισαν τα προτερήματά της (ο Ιπποκράτης και άλλοι μεγάλοι γιατροί της εποχής εκείνης όπως ο Γαληνός και ο Διοσκουρίδης είχαν πιστέψει στις ευεργετικές επιδράσεις του ελαιολάδου στην υγεία και συνιστούσαν την κατανάλωσή του για την θεραπεία αρκετών παθήσεων), και οι πρώτοι που διέδωσαν την καλλιέργειά της στην Ευρώπη. Αυτό αποδεικνύεται από το γεγονός ότι το λατινικό όνομα oiea και τα παράγωγα του (olívo, Olivier, olive) προέρχονται από την ελληνική ονομασία «ελαία».
Πολλούς αιώνες μετά, το ελαιόλαδο συνεχίζει να αποτελεί απαραίτητο συστατικό στη διατροφή μας καθώς αποδεικνύει συνεχώς ότι παρέχει υγεία και μακροβιότητα [1, 2] .

1.1.2 ΕΛΑΙΟΚΑΡΠΟΣ-ΕΛΑΙΟΛΑΔΟ

Ο καρπός της ελιάς, από τον οποίο παράγεται το ελαιόλαδο, είναι δρυπή με σχήμα αυγοειδές και συχνά καταλήγει σε μυτερό άκρο. Αυτός αποτελείται από:
α. το επικάρπιο ή επιδερμίδα ή μεμβράνη που καλύπτει το 1,5-3,5% του βάρους του καρπού
β. το μεσοκάρπιο ή σάρκα , που περιέχει ιστούς πλούσιους σε λάδι και σε νερό και καλύπτει το 70-90% του καρπού, και
γ. το ενδοκάρπιο ή πυρήνας, που αποτελείται από το σκληρό ξυλώδες τμήμα στο οποίο περιέχεται συνήθως ένα και πολύ σπάνια δύο ενδοσπέρμια .
Τα κύρια συστατικά της σάρκας της ελιάς είναι: το νερό (50%), το λάδι (22%), τα σάκχαρα (19,1%), οι πρωτεΐνες (1.6%), οι πηκτίνες, τα οργανικά οξέα , οι τανίνες, η ελευρωπαίνη, τα ανόργανα συστατικά κ.α.[1] .

1.1.3 ΜΕΘΟΔΟΙ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑΣ

A. Παραλαβή ελαιοκάρπου:
Ο ελαιόκαρπος μεταφέρεται στο ελαιουργείο, ζυγίζεται και παίρνει σειρά για επεξεργασία.

B. Τροφοδοσία – αποφύλλωση:
Στην πρώτη φάση της επεξεργασίας ο ελαιόκαρπος τοποθετείται στη λεκάνη τροφοδοσίας του ελαιουργείου από όπου οδηγείται στο αποφυλλωτήριο με τη βοήθεια μεταφορικής ταινίας ή αναβατόριου με ατέρμονα κοχλία. Από τα δύο συστήματα μεταφοράς του ελαιοκάρπου μειονεκτεί ο ατέρμονας κοχλίας, γιατί συνθλίβει τον καρπό και δημιουργεί προϋποθέσεις απώλειας λαδιού στο πλυντήριο.
Η απομάκρυνση των φύλλων της ελιάς είναι επιβεβλημένη γιατί η παραμονή τους και η σύνθλιψη τους μαζί με τον ελαιόκαρπο έχει σαν αποτέλεσμα την πικρίζουσα γεύση που αποκτά το ελαιόλαδο και να εμπλουτίζεται με μεγάλη ποσότητα χλωροφύλλης η οποία κατά τη διάρκεια της διατήρησής του, παρουσία φωτός, επιδρά αρνητικά στην προστασία της ποιότητος.

C. Πλύσιμο:
Το πλύσιμο του ελαιόκαρπου αποτελεί μια από τις πιο απαραίτητες διεργασίες στην εξαγωγή του ελαιολάδου. Έχει ιδιαίτερη σημασία για την ποιότητα του λαδιού το οποίο παραλαμβάνεται, γιατί απομακρύνει τις ξένες ύλες που μεταφέρει ο ελαιόκαρπος (σκόνη, χώμα κ.α.) και εμποδίζει έτσι το σχηματισμό αλκαλογαιωδών μειγμάτων, κατά το διαχωρισμό.
Το πλύσιμο του ελαιοκάρπου γίνεται στο πλυντήριο το οποίο αποτελεί ένα βασικό μηχάνημα του ελαιουργείου.

D. Σπάσιμο- άλεση ελαιοκάρπου:
Το σπάσιμο ή η άλεση του ελαιόκαρπου αποτελεί το πρώτο κύριο στάδιο της εξαγωγής του λαδιού. Και γίνεται με τους εξής τρόπους:
- Ελαιόμυλο
- Σπαστήρες

Ο ελαιόμυλος αποτελείται από μία, δύο ή τρεις μεγάλες πέτρες κυλινδρικού ή κωνικού σχήματος οι οποίες είναι από γρανίτη και περιστρέφονται γύρο από ένα ξύλινο ή μεταλλικό άξονα πάνω σε μια όμοιας σύστασης, σταθερή βάση. Το όλο σύστημα διαθέτει, συνήθως, ένα μεταλλικής κατασκευής περίβλημα για τη συγκράτηση του ελαιοκάρπου και της ελαιοζύμης ενώ με ειδικό μεταλλικό ή ξύλινο εξάρτημα κατευθύνεται ο ελαιόκαρπος κάτω από τις περιστρεφόμενες πέτρες.
Η περιστροφή των ελαιόλιθων γίνεται με πολύ αργό ρυθμό και επιτυγχάνεται ταυτόχρονα σπάσιμο του ελαιοκάρπου και μερική μάλαξη της ελαιοζύμης.
Οι σπαστήρες αυτοί είναι μικρών διαστάσεων και λειτουργούν με μεγάλο αριθμό στροφών, προκαλούν δε σπάσιμο του ελαιοκάρπου κατά την πτώση του από τη χοάνη τροφοδοσίας. Οι μεταλλικοί σπαστήρες καθημερινά εκτοπίζουν τους ελαιόμυλους λόγω:

- του μεγάλου όγκου τους,
- της μικρής απόδοσης και
- του μεγάλου κόστους προμήθειας

Ε. Μάλαξη:

Η μάλαξη της ελαιοζύμης η οποία προκύπτει από το σπάσιμο-άλεση του ελαιοκάρπου αποτελεί το πιο βασικό στάδιο της επεξεργασίας του ελαιοκάρπου, σε όλα τα ελαιόλαδα, ανεξαρτήτως των συστημάτων παραλαβής του ελαιολάδου, γιατί συντελεί στη συνένωση των μικρών ελαιοσταγονιδίων σε μεγαλύτερες ποσότητες λαδιού. Η συνένωση αυτή είναι απαραίτητη προϋπόθεση για το διαχωρισμό του λαδιού από φυτικά υγρά.
Η διαδικασία της μάλαξης γίνεται σε ειδικούς μαλακτήρες οι οποίοι αποτελούνται από μία λεκάνη διαφορετικού σχήματος και χωρητικότητας ανάλογα με τον τύπο του ελαιουργείου.
Κατά τη μάλαξη θα πρέπει να έχουμε τη μεγαλύτερη δυνατή επαφή των ελαιοσταγονιδίων, μεταξύ τους, διαδικασία που εμποδίζει το σχηματισμό γαλακτωμάτων και συντελεί επίσης στην προστασία της ποιότητας του ελαιόλαδου.
Η θέρμανση της ελαιοζύμης είναι απαραίτητη κατά τη μάλαξη και διευκολύνει την έξοδο του ελαιόλαδου από τα φυτικά κύτταρα γιατί η υψηλή θερμοκρασία μειώνει το ιξώδες καθώς τα ελαιοσταγονίδια κινούνται και ενώνονται γρηγορότερα.
Όμως αν ξεπεραστεί η οριακή θερμοκρασία (περίπου 25°C)[*], με απώτερο σκοπό να εξαχθεί μεγαλύτερη ποσότητα λαδιού, έχουμε δυσμενή επίδραση στην ποιότητα του ελαιολάδου.
Για να μην ξεπεραστούν οι οριακές θερμοκρασίες πρέπει να είναι εφοδιασμένο το μέσο μάλαξης με θερμοστάτη αυτόματης λειτουργίας για τη ρύθμιση της θερμοκρασίας της ελαιοζύμης στα επιτρεπτά επίπεδα.

F. Παραλαβή του ελαιολάδου από την ελαιοζύμη:

Ο διαχωρισμός του ελαιολάδου από την ελαιοζύμη γίνεται με πίεση, φυγοκέντριση, εκλεκτική διήθηση ή εκχύλιση .

[*] εξαρτάται από το τύπο του παραγόμενου ελαιολάδου.

i. Πίεση:

Η εφαρμογή της πίεσης για την εξαγωγή του ελαιόλαδου χρονολογείται από τότε που ξεκίνησε η καλλιέργεια της ελιάς. Στα πολύ παλιά ελαιουργεία, τόσο το σπάσιμο του ελαιόκαρπου όσο και η πίεση που χρειαζόταν για την εξαγωγή του λαδιού, εφαρμόζονταν από τον ίδιο τον άνθρωπο ή τα ζώα σε κατάλληλα κατασκευασμένους μηχανισμούς. Η εφεύρεση της υδραυλικής πίεσης αποτέλεσε επανάσταση στη λειτουργία των παλαιών τύπου κλασικά ελαιουργεία.

ii. Φυγοκέντριση:

Η φυγοκέντριση αποτελεί μια νέα, σχετικά, τεχνική διαχωρισμού του ελαιολάδου από την ελαιοζύμη και βασίζεται στη διαφορά του ειδικού βάρους που παρουσιάζουν τα συστατικά της ελαιοζύμης (ελαιόλαδο, νερό και στερεά συστατικά).
Στα ελαιουργεία φυγοκεντρικού τύπου η ελαιοζύμη μετά τη μάλαξη, σε μαλακτήρα οριζόντιας ή κάθετης διάταξης, αραιώνεται με αρκετό νερό και εν συνεχεία φυγοκεντρείται δια μέσου του φυγοκεντριτή, όπου γίνεται ο διαχωρισμός της σε τρεις φάσεις.
Όπως προαναφέρθηκε, κατά το σπάσιμο-άλεση του ελαιόκαρπου τεμαχίζονται τα φυτικά κύτταρα και ελευθερώνονται οι σταγόνες του λαδιού, οι οποίες στη φάση της μάλαξης συνενώνονται σε μεγαλύτερες. Στη φάση αυτή το ελαιόλαδο βρίσκεται εντελώς ελεύθερο, είτε κλεισμένο σε μορφή μικρών σταγονιδίων στο εσωτερικό μικροπηγμάτων, είτε τέλος σαν γαλάκτωμα ανάμεσα στα φυτικά υγρά. Όσο μεγαλύτερο είναι το ποσοστό του ελεύθερου λαδιού και όσο λιγότερα μικροπήγματα περιέχει η ελαιοζύμη, τόσο ευκολότερα γίνεται η εξαγωγή του ελαιολάδου με τη φυγοκέντριση. Για το διαχωρισμό του ελαιολάδου το οποίο βρίσκεται σε ελεύθερη μορφή στην ελαιοζύμη, αρκεί μόνο η φυγόκεντρος δύναμη. Αντίθετα ο διαχωρισμός του ελαιόλαδου το οποίο βρίσκεται κλεισμένο στα μικροπήγματα, επιτυγχάνεται μόνο με την προσθήκη μεγάλης ποσότητας νερού το οποίο τροποποιεί τα κολλοειδή συστατικά και διευκολύνει το διαχωρισμό του. Γι' αυτό άλλωστε γίνεται αραίωση της ελαιοζύμης, με μεγάλη ποσότητα νερού, πριν περάσει από το φυγοκεντριτή.

iii. Συνάφεια:

Εκτός από την πίεση και την φυγοκέντριση, για την παραλαβή του ελαιολάδου από την ελαιοζύμη χρησιμοποιείται και η συνάφεια μέσω ενός μηχανήματος που ονομάζεται 'sinolea' και αποτελείται από 6.000 περίπου μεταλλικά ελάσματα από ειδικό κράμα μετάλλου που παρουσιάζει μεγάλη εκλεκτική συνάφεια με το ελαιόλαδο. Εξαιτίας της μεγάλης συνάφειας ελαιολάδου – μετάλλου, συγκρατείται ποσότητα ελαιολάδου κατά την επαφή της ελαιοζύμης με τα ελάσματα, το οποίο συγκεντρώνεται σε ειδική λεκάνη. Τα φυτικά υγρά και μέρος του λαδιού που δεν συγκρατήθηκε από τα ελάσματα παραμένουν στην ελαιοζύμη. Με τον τρόπο αυτό παραλαμβάνεται η μεγαλύτερη δυνατή ποσότητα του ελαιολάδου της ελαιοζύμης ενώ το υπόλοιπο που παραμένει, εξάγεται με τη βοήθεια ενός φυγοκεντριτή.

G. Τελικός διαχωρισμός – Καθαρισμός ελαιολάδου:

Οποιαδήποτε μέθοδος (πίεση, φυγοκέντριση, συνάφεια) και αν εφαρμοστεί για την εξαγωγή του ελαιολάδου από την ελαιοζύμη, είναι αναγκαίο να περάσει αυτό από τον ελαιοδιαχωριστήρα του ελαιουργικού συγκροτήματος για τον τελικό καθαρισμό του.

Ο ελαιοδιαχωριστήρας αποτελείται από τον σταθερό κορμό και το κινητό τύμπανο το οποίο περιστρέφεται με μεγάλο αριθμό στροφών. Σ' αυτό, είναι κατάλληλα προσαρμοσμένος μεγάλος αριθμός κωνικών δίσκων (πιάτα). Η υγρή φάση κατανέμεται σε λεπτά στρώματα πάνω στην περιμετρική επιφάνεια κάθε δίσκου και έτσι γίνεται πιο αποτελεσματική η επίδραση της φυγοκεντρικής δύναμης με την οποία διαχωρίζεται, τελικά, το ελαιόλαδο από τα απόνερα και τις ξένες ύλες.
Οι παράγοντες οι οποίοι επηρεάζουν τον τελικό διαχωρισμό – καθαρισμό του ελαιολάδου είναι:

i. *Ειδικό βάρος*: Όσο μεγαλύτερη είναι η διαφορά του ειδικού βάρους των συστατικών της υγρής φάσης τόσο ευκολότερος είναι ο διαχωρισμός τους.
ii. *Σχήμα και διαστάσεις των σταγονιδίων*: Όσο πιο μεγάλα είναι τα σταγονίδια του μείγματος τόσο πιο γρήγορα γίνεται ο διαχωρισμός. Τα μικρά ελαιοσταγονίδια οδηγούν στο σχηματισμό γαλακτωμάτων. Τα λεία και στρογγυλά σταγονίδια διαχωρίζονται ευκολότερα από τα 'ανώμαλα' και επιμήκη.
iii. *Ιξώδες*: Όσο περισσότερο ρευστή είναι η υγρή φάση τόσο γρηγορότερα διαχωρίζεται.
iv. *Θερμοκρασία*: Υψηλή θερμοκρασία διευκολύνει τον διαχωρισμό.

Έχει διαπιστωθεί ότι περίπου το 80% της χλωροφύλλης και το 40% των καροτενοειδών χάνονται κατά τη διάρκεια της εξαγωγής του ελαιολάδου από τον ελαιόκαρπο [3] .

Ανάλογα με τα χαρακτηριστικά και την επεξεργασία που έχει υποστεί το ελαιόλαδο διαχωρίζεται στις παρακάτω κατηγορίες [4]:

- **ΕΞΑΙΡΕΤΙΚΑ ΠΑΡΘΕΝΟ ΕΛΑΙΟΛΑΔΟ**

Είναι το λάδι το οποίο έχει αποκτηθεί από τους καρπούς της ελιάς χωρίς να έχει υποστεί οποιοδήποτε χειρισμό ή επεξεργασία όπως αυτές που αναφέρονται στο ραφιναρισμένο ελαιόλαδο [2] .

- **ΠΑΡΘΕΝΟ ΕΛΑΙΟΛΑΔΟ**

Είναι το λάδι το οποίο δεν έχει υποστεί καμία επεξεργασία πέρα από την έκθλιψη με μηχανικά ή φυσικά μέσα σε χαμηλές θερμοκρασίες, φυγοκέντριση ή διήθηση. Είναι διαυγές και διάφανο, έχει πρασινοκίτρινο έως χρυσοκίτρινο χρώμα, έχει ήπια γεύση και οσμή και είναι απαλλαγμένο από μυρωδιές ή γεύσεις που είναι ένδειξη μεταποιήσεις του λαδιού [2, 5] .

- **ΕΛΑΙΟΛΑΔΟ Ή ΑΓΝΟ**

Μίγμα παρθένου και ραφιναρισμένου ελαιολάδου με μέγιστη οξύτητα 1,5%. Στην ετικέτα συνοδεύεται από τους χαρακτηρισμούς γνήσιο ή αγνό αλλά ο καταναλωτής θα πρέπει να γνωρίζει ότι δεν πρόκειται για αγνό, φυσικό ελαιόλαδο [2] .

- **ΡΑΦΙΝΑΡΙΣΜΕΝΟ ΕΛΑΙΟΛΑΔΟ**

Είναι το λάδι που δημιουργείται από το παρθένο ελαιόλαδο με τη βοήθεια μεθόδων καθαρισμού που δεν οδηγούν σε αλλαγές της αρχικής γλυκεριδικής δομής του (συνήθης κατεργασίες μείωση οξύτητας – εξουδετέρωση, αποχρωματισμός, απόσμηση), του οποίου τα όξινα ή/ και τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά του το καθιστούν ακατάλληλο για κατανάλωση. Είναι διαυγές με πολύ ανοιχτό χρώμα, ρευστό, χωρίς

άρωμα και γεύση, χωρίς τα ωφέλιμα συστατικά του ελαιόλαδου. Χρησιμοποιείται στη ζαχαροπλαστική γιατί έχει τη λιπαρότητα του ελαιολάδου [2, 5] .

- **ΠΥΡΗΝΕΛΑΙΟ**

Το λάδι που έχει παραληφθεί από το πολτό της ελιάς (πυρήνα – σάρκωμα καρπού από το οποίο έχει αφαιρεθεί η μεγαλύτερη ποσότητα ελαίων) με εκχύλιση με οργανικούς διαλύτες και στην συνέχεια απομάκρυνση τους με θέρμανση. Πολλές φορές είναι απαραίτητες οι διαδικασίες ραφιναρίσματος στο παραληφθέν προϊόν. Έχει σκούρο πράσινο χρώμα [2, 5] .
Το πυρηνέλαιο σύμφωνα με τους κανονισμούς δε θεωρείται κατηγορία ελαιολάδου.

Τα κυριότερα συστατικά του ελαιολάδου είναι τα τριγλυκερίδια (95-98%) και σε μικρότερες ποσότητες είναι τα διγλυκερίδια, οι εστέρες κεριών, τα ελεύθερα λιπαρά οξέα, οι τριτερπενικές αλκοόλες, οι υδρογονάνθρακες, οι στερόλες, οι φαινόλες, τα φλαβονοειδή, οι χρωστικές ουσίες, τοκοφερόλες και οι πτητικές ενώσεις [6] .

1.1.4 ΣΥΝΘΕΣΗ ΕΛΑΙΟΛΑΔΟΥ ΣΕ ΛΙΠΑΡΑ ΟΞΕΑ

Η σύνθεση του ελαιόλαδου σε λιπαρά οξέα, όπως και των άλλων φυτικών λαδιών, κυμαίνεται και εξαρτάται από την ποικιλία, τις κλιματολογικές συνθήκες της περιοχής όπου καλλιεργούνται τα δένδρα και από διάφορους άλλους παράγοντες.

Το μεγαλύτερο ποσοστό των λιπαρών οξέων του ελαιόλαδου συνιστάται από ακόρεστα οξέα. Μεταξύ αυτών, το μονοακόρεστο ελαϊκό (C18:1) [†] περιέχεται σε μεγαλύτερη ποσότητα. Το δεύτερο κατά σειρά ακόρεστο λιπαρό οξύ του ελαιόλαδου είναι το λινελαϊκό(C18:2). Τα άλλα ακόρεστα οξέα, λινολενικό (C18:3)(η περιεκτικότητα του ελαιολάδου σε λινολεϊκό οξύ θεωρείται ιδανική, καθώς πλησιάζει εκείνη του μητρικού γάλακτος) αραχιδονικό (C20:4), και παλμιτολεϊκό (C16:1) συναντώνται στο ελαιόλαδο σε πολύ μικρές ποσότητες.

Από το κορεσμένα οξέα σε μεγαλύτερο ποσοστό συναντάται το παλμιτικό (C16:0) και ακολουθεί το στεατικό (C18:0).

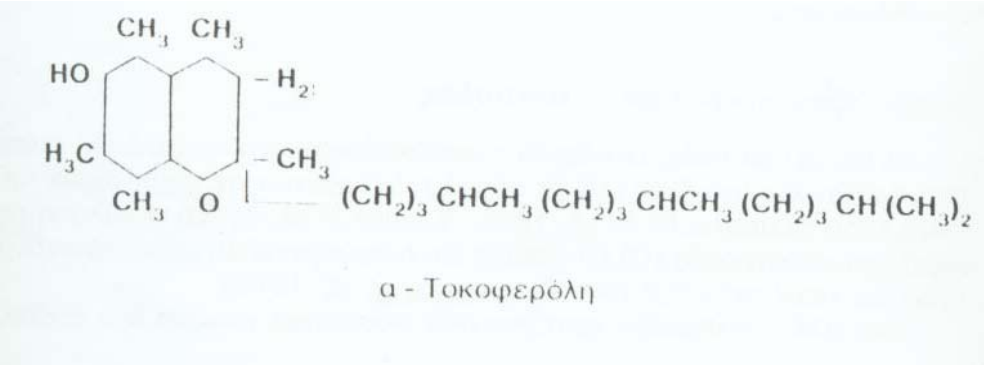
Τα κύρια γλυκερίδια του ελαιόλαδου είναι αυτά του ελαϊκού οξέος που μόνα τους ξεπερνούν το 70-80% του βάρους του λαδιού. Επειδή τα γλυκερίδια αυτά είναι υγρά, σε θερμοκρασία δωματίου, το ελαιόλαδο, στο σύνολό του, παραμένει σε υγρή κατάσταση στις συνήθεις θερμοκρασίες δωματίου.

Μια εικόνα της σύνθεσης του ελαιόλαδου και ορισμένων άλλων φυτικών λαδιών σε λιπαρά οξέα, δίνει ο πίνακας 1.1. που ακολουθεί από τον οποίο φαίνεται χαρακτηριστικά ότι το ελαιόλαδο περιέχει περισσότερο ελαϊκό και λιγότερο λινελαϊκό και λινολενικό οξύ από τα άλλα λάδια, ένα από τα στοιχεία που το καθιστά περισσότερο ανθεκτικό στην οξείδωση.

[†] ο συμβολισμός αυτός στα οξέα μας δείχνει πόσους άνθρακες και πόσους διπλούς δεσμούς περιέχει ένα οξύ στο μόριο του. Έτσι το συγκεκριμένο οξύ βλέπουμε ότι έχει 18 άνθρακες και 1 διπλό δεσμό.

Εκτός όμως από τα λιπαρά οξέα το ελαιόλαδο περιέχει:

- Βιταμίνη Ε (τοκοφερόλη)
- Προβιταμίνη Α, καροτίνη
- Μέταλλα: σελήνιο
- Και εξακόσιες περίπου αντιοξειδωτικές ουσίες της τάξεως των πολύ-φαινολικών.



Σχήμα 1.1 *Δομή α-τοκοφερόλης.*

Εκτός από τα παραπάνω το ελαιόλαδο και τα άλλα φυτικά έλαια περιέχουν και άλλα συστατικά τα οποία όμως συναντώνται σε μικρές ποσότητες και για το λόγο αυτό αναφέρονται ως δευτερεύοντα συστατικά. Τα συστατικά αυτά βρίσκονται στο ασαπωνοποίητο μέρος του ελαιολάδου και τόσο η ποσότητα όσο και η σύνθεση αυτού του μέρους εξαρτάται απ' τον τρόπο παραλαβής του ελαιολάδου.

Τα κυριότερα συστατικά του ασαπωνοποίητου μέρους του ελαιολάδου είναι:

- **Υδρογονάνθρακες**, που η προσθήκη τους σε βαμβακέλαιο συντέλεσε στην αύξηση της σταθερότητας της οξείδωσής του.
- **Καροτινοειδείς χρωστικές**, οι οποίες σχετίζονται με την απόσβεση που προκαλεί στο οξυγόνο απλής κατάστασης.
- **Δι-υδροξυ-τριτερπενικές αλκοόλες**, αποτελούν τη βάση για τη διαφοροποίηση του ελαιολάδου από το πυρηνέλαιο.
- **Στερόλες**, μπορούν να βοηθήσουν στον έλεγχο της νοθείας.
- **4α –μεθυλικές στερόλες**
- **Τοκοφερόλες**, βοηθούν στην ανίχνευση της νοθείας.
- **Φαινόλες**
- **Φωσφολίπη**
- **Χρωστικές**, από τις οποίες η κυριότερη είναι η χλωροφύλλη που στο φως επιταχύνει την οξείδωση βοηθώντας στο σχηματισμό οξυγόνου.
- **Κηρούς**

Εκτός από το ελαιόλαδο , στα φυτικά λάδια ανήκουν και τα σπορέλαια, από τα οποία αυτά που χρησιμοποιούνται ευρέως είναι το αραβοσιτέλαιο, το σογιέλαιο, το ηλιέλαιο και σπανιότερα το φουντουκέλαιο.

Πίνακας 1.1 *Ποσότητα λιπαρών οξέων στο ελαιόλαδο, αραβοσιτέλαιο, σογιέλαιο και ηλιέλαιο.*

	Αραβοσιτέλαιο	Σογιέλαιο	Ηλιέλαιο	Ελαιόλαδο
λιπαρά οξέα με λιγότερα από 14 άτομα άνθρακα	-	<0,1	<0,4	-
καπρονικό C6:0	-	-	-	-
καπρινικό C8:0	-	-	-	-
καπριλικό C10:0	-	-	-	-
λαουρικό C 12:0	<0,3	-	-	-
μυριστικό C14:0	<0,3	<0,5	<0,5	≤0,05
παλμιτικό C16:0	9-14	7-14	3-10	13
παλμιτελαϊκό C16:1	<0,5	<0,5	<1,0	1,2
δεκαεπτενοϊκό C17:0	-	-	-	-
δεκαεπτενοϊκό C17:1	-	-	-	-
στεατικό C18:0	0,5-4,0	3-5,5	1-10	2
ελαϊκό C18:1	24-42	18-26	14-35	69
λινελαϊκό C18:2	34-62	50-57	55-75	10
λινολενικό C18:3	<2,0	5,5-10	<0,3	≤0,9
αραχιδονικό C20:0	<1,0	<0,6	<1,5	ίχνη
εικοσενοϊκό C20:1	<0,5	<0,5	<0,5	0,2
βεχενικό C22:0	<0,5	<0,5	<1,0	≤0,2
ερουκικό C22:1	-	-	<0,5	-
λιγνοκηρικό C24:0	<0,5	<0,5	<0,5	≤0,2
εικοσιτετρανοϊκό C24:1	-	-	<0,5	-
C18:3-C24:1	-	-	-	-
C20:0-C24:1	-	-	-	-
αραχιδονικό οξύ και ανώτερα λιπαρά οξέα	-	-	-	-

1.1.5 ΒΑΣΙΚΕΣ ΔΙΑΦΟΡΕΣ ΤΟΥ ΕΛΑΙΟΛΑΔΟΥ ΜΕ ΤΑ ΑΛΛΑ ΣΠΟΡΕΛΑΙΑ

Η αξία του ελαιολάδου για την υγεία του ανθρώπου και τη σωστή διατροφή του είναι πλέον διεθνώς αναγνωρισμένη και τεκμηριωμένη επιστημονικά.
Το ελαιόλαδο προέρχεται απευθείας από την σάρκα της ελιάς και εξάγεται με φυσικές μόνο μεθόδους (πίεση, αποστάλαξη ή φυγοκέντρηση) χωρίς οποιαδήποτε περαιτέρω επεξεργασία με αποτέλεσμα το ελαιόλαδο να περιέχει μέχρι και 300 διαφορετικές ουσίες, όπως βιταμίνες A & E, αιθέρες, φαινόλες με αντιοξειδωτική δράση, στερόλες και κυρίως β-σιτεστρόλη που εμποδίζει την απορρόφηση της χοληστερίνης από τις τροφές στο έντερο, αλκοόλες, καροτενοειδή κ.α. Όλες αυτές οι ουσίες εκτός από την αναμφισβήτητη συνεισφορά τους στη θρεπτική και βιολογική αξία του ελαιολάδου επιπλέον συμβάλλουν θετικά στη γεύση, στο άρωμα και στο χρώμα του.
Αντίθετα τα σπορέλαια προέρχονται από το σπέρμα του καρπού έπειτα από χημική επεξεργασία (π.χ. εκχύλιση σε διαλύτες όπως βενζίνη και εξάνιο, κατεργασία με καυστική σόδα, αποχρωματισμός, απόσμηση σε υψηλές θερμοκρασίες μέχρι και 400ºC κτλ.) με αποτέλεσμα να περιέχουν μόνο λιπαρές ουσίες με χαμηλή θρεπτική αξία, χωρίς άρωμα και γεύση.

Η σύνθεση του ελαιολάδου είναι αρμονικότερη όσον αφορά τα λιπαρά οξέα σε σχέση με αυτή των σπορέλαιων. Το ελαιόλαδο αποτελείται κατά 75% από μονο-ακόρεστα λιπαρά με κυριότερο το ελαϊκό οξύ, ενώ τα σπορέλαια κατά το ήμισυ αποτελούνται από πολύ-ακόρεστα. Η υψηλή περιεκτικότητα του ελαιολάδου σε μονο-ακόρεστα το καθιστά λιγότερο ευάλωτο στην οξείδωση εν συγκρίσει με τα σπορέλαια, καθώς τα μονο-ακόρεστα λιπαρά διασπώνται δύσκολα, ενώ τα πολύ-ακόρεστα διασπώνται εύκολα και απελευθερώνουν ουσίες επιβλαβείς που προκαλούν οξειδώσεις στο κύτταρο. Η ίδια ποσότητα ελαιολάδου μπορεί να χρησιμοποιηθεί επανειλημμένα για τηγάνισμα, χωρίς ουσιαστική απώλεια σε ελαϊκό οξύ. Έτσι, κατά το τηγάνισμα με ελαιόλαδο περιορίζεται αισθητά η εμφάνιση υπεροξειδίων και ελεύθερων ριζών που δρουν αρνητικά στο κεντρικό νευρικό σύστημα. Συνεπώς, το τηγάνισμα με ελαιόλαδο αποτελεί πιο υγιεινό τρόπο μαγειρέματος από ότι με την χρήση σπορελαίων, εξαιτίας των αντιοξειδωτικών που περιέχει και της χημικής του σύνθεσης (μονοακόρεστα, λιπαρά οξέα) που το κάνουν πιο ανθεκτικό.

1.1.6 ΜΕΘΟΔΟΙ ΣΥΝΤΗΡΗΣΗΣ

Το ελαιόλαδο πρέπει να καταναλώνεται όσο το δυνατόν πιο γρήγορα μετά την εξαγωγή του από τον ελαιόκαρπο, γιατί η ποιότητα του αλλοιώνεται προοδευτικά, με το χρόνο αποθήκευσης. Ο βαθμός αλλοίωσης εξαρτάται από τις συνθήκες αποθήκευσης.

- **Δεξαμενές και αλλά μέσα αποθήκευσης του ελαιολάδου**

Για την αποθήκευση μεγάλων ποσοτήτων ελαιολάδου χρησιμοποιούνται μεγάλες ελαιοδεξαμενές. Οι δεξαμενές αυτές πρέπει να είναι κατασκευασμένες από αδρανές, απρόσβλητο από λάδι υλικό και να το προφυλάσσουν από το φως, τον αέρα και να το διατηρούν σε χαμηλές θερμοκρασίες. Το καλύτερο υλικό κατασκευής των δεξαμενών είναι ο ανοξείδωτος χάλυβας.
Για την ευκολότερη απομάκρυνση της μούργας, η βάση των δεξαμενών θα πρέπει να έχει σχήμα ανεστραμμένου κώνου.
Πολύ συχνά οι ελαιοπαραγωγοί χρησιμοποιούν για την αποθήκευση του ελαιόλαδου, σιδερένια βαρέλια. Σπάνια χρησιμοποιούνται σήμερα τα πιθάρια που αποτελούσαν το κύριο μέσον αποθήκευσης παλιότερα.'
Η χρήση των σιδερένιων βαρελιών χωρίς επικάλυψη των εσωτερικών τοιχωμάτων αποτελεί τον χειρότερο τρόπο αποθήκευσης του λαδιού και επιβάλλεται να εγκαταλειφθεί άμεσα, γιατί, με την χρήση των μέσων αυτών, υποβοηθείται η γρήγορη οξείδωση του ελαιόλαδου, εξαιτίας της καταλυτικής δράσης του σιδήρου, ενώ το ελαιόλαδο αποκτά μεταλλική γεύση, λόγω του σχηματισμού μεταλλικού σαπουνιού.
Για όσο όμως χρόνο εξακολουθούν να χρησιμοποιούνται τα σιδερένια βαρέλια, θα πρέπει να γίνεται επικάλυψη των εσωτερικών τοιχωμάτων με φύλλο πλαστικού. Η λύση αυτή ασφαλώς δεν είναι ιδανική, είναι όμως ένα μέτρο που αποσκοπεί στην αποφυγή της επαφής του λαδιού με τα σιδερένια τοιχώματα και αποτρέπει, ως ένα βαθμό, την οξειδωτική τάγκιση που επιταχύνεται με τη δράση του σιδήρου. Η χρήση ανοξείδωτων δεξαμενών σε οικιακή βάση, αντί των σιδερένιων βαρελιών, αποτελεί την καλύτερη λύση.
Επειδή το κόστος κατασκευής μεγάλης χωρητικότητας ανοξείδωτων δεξαμενών είναι πολύ υψηλό, είναι σύνηθες φαινόμενο να χρησιμοποιούνται διάφορα μέσα για την

επικάλυψη των εσωτερικών τοιχωμάτων των δεξαμενών κατασκευασμένων από μέταλλο ή άλλα υλικά.

- ***Μέσα επικάλυψης των δεξαμενών***

Το γυαλί είναι ένα από τα καταλληλότερα μέσα για την επικάλυψη της εσωτερικής επιφάνειας των ελαιοδεξαμενών και των άλλων μεγάλων αποθηκευτικών χώρων. Το κόστος όμως του υλικού αυτού αποτελεί περιοριστικό παράγοντα χρησιμοποίησής του. Για την εσωτερική επικάλυψη των ελαιοδεξαμενών μπορούν όμως να χρησιμοποιηθούν και πλακίδια από σμάλτο τα οποία συνδυάζουν μεγάλη αντοχή και σχετική αδράνεια. Αντίθετα τα πλακίδια από κεραμικό, που χρησιμοποιούνται για εσωτερική επικάλυψη, δημιουργούν προβλήματα εξαιτίας της πορώδους σύστασής τους.
Οι εποξικές ρητίνες είναι ένα άλλο μέσο, με ευρεία εφαρμογή στην επικάλυψη, των εσωτερικών τοιχωμάτων των ελαιοδεξαμενών. Οι ουσίες αυτές συγκεντρώνουν πολλά πλεονεκτήματα.
Η προσπάθεια πάντως για την εξεύρεση κατάλληλων μέσων επικάλυψης που να συνδυάζουν την αντοχή σε παράγοντες που προκαλούν αλλοιώσεις και την οικονομία στη δαπάνη κατασκευής συνεχίζεται, επειδή τα μέσα αποθήκευσης διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στην ποιότητα του ελαιόλαδου.
Το ελαιόλαδο που αποθηκεύτηκε σε μεταλλικά βαρέλια, χωρίς επικάλυψη, είχε μεγαλύτερη περιεκτικότητα σε σίδηρο, μεγαλύτερη απορρόφηση στο υπεριώδες φάσμα και ανεπιθύμητα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά, συγκριτικά με το ελαιόλαδο που είχε διατηρηθεί σε επικαλυμμένα εσωτερικά βαρέλια.
Ο μικρότερος αριθμός υπεροξειδίων του ελαιόλαδου που είχε αποθηκευτεί στα μη επικαλυμμένα βαρέλια, δεν σημαίνει ότι είχε οξειδωθεί λιγότερο από το άλλο. Το πιο πιθανό είναι, να διασπάστηκαν τα υπεροξείδια που είχαν σχηματιστεί σε δευτερογενείς καρβονυλικές ενώσεις

1.1.7 ΣΥΣΚΕΥΑΣΙΑ

Δοχεία συσκευασίας – χαρακτηριστικά:
Τα δοχεία που χρησιμοποιούνται, συνήθως για την συσκευασία του ελαιόλαδου είναι από λευκοσίδηρο, πλαστικό και χάρτινες συσκευασίες (τετραπάκ).
Η τυποποίηση και η συσκευασία του ελαιόλαδου, σε κατάλληλα δοχεία και μέσα, αποτελούν βασικές προϋποθέσεις για την καλύτερη διατήρηση, εμπορία και διάθεση του προϊόντος αυτού.
Γενικά, για την καλύτερη διατήρηση και προστασία της ποιότητας του ελαιόλαδου, τα δοχεία συσκευασίας θα πρέπει να συγκεντρώνουν ορισμένα χαρακτηριστικά:

1. Αδιαπερατότητα των τοιχωμάτων από το οξυγόνο και το φως,
2. Ανθεκτικότητα στις πιέσεις, τις οποίες δέχονται, κατά τη μεταφορά και την αποθήκευση,
3. Ευκολία στη χρήση,
4. Ελκυστικότητα στον αγοραστή, και
5. Μικρό κόστος αγοράς.

Για τη συσκευασία του ελαιόλαδου χρησιμοποιούνται, σήμερα ειδικές συσκευαστικές μονάδες συνεχούς λειτουργίας.
Η αντικατάσταση του αέρα, ο οποίος βρίσκεται είτε στο επάνω μέρος των δοχείων συσκευασίας είτε διαλυμένος μέσα στο λάδι, με ένα αδρανές αέριο όπως είναι το άζωτο ή το αργό, εξασφαλίζει καλύτερη διατήρηση στο προϊόν. Μελέτες για τη χρήση αδρανών αερίων, κατά τη συσκευασία του ελαιόλαδου, έχουν γίνει στο εξωτερικό.

Στην ετικέτα των δοχείων τα οποία περιέχουν ελαιόλαδο θα πρέπει να αναγράφονται τα παρακάτω στοιχεία:

1. Ονομασία του προϊόντος
2. Οξύτητα
3. Καθαρό περιεχόμενο
4. Όνομα και Διεύθυνση
5. Χώρα προέλευσης
6. Ενδείξεις για την τοπική προέλευση του ελαιόλαδου
7. Ταυτοποίηση εμπορικών παρτίδων
8. Ημερομηνία συσκευασίας
9. Ημερομηνία λήξης
10. Συνθήκες αποθήκευσης [1]

1.2 ΠΟΙΟΤΗΤΑ

1.2.1 ΒΑΣΙΚΑ ΚΡΙΤΗΡΙΑ ΠΟΙΟΤΗΤΑΣ

Τα βασικά κριτήρια για την αξιολόγηση της ποιότητας του ελαιολάδου είναι η οξύτητα, η οξείδωση, η υδρόλυση, το χρώμα και τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά (οσμή και γεύση).
Ο καλύτερος τρόπος ταξινόμησης του ελαιολάδου, είναι αυτός ο οποίος συνδέεται με τον έλεγχο των οργανοληπτικών του χαρακτηριστικών.
Τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά, η οξύτητα και η οξείδωση του ελαιολάδου, εξαρτώνται τόσο από τη σύσταση του, στον ελαιόκαρπο, όσο και από τις διάφορες αλλοιώσεις τις οποίες παθαίνει αυτό, στα στάδια που μεσολαβούν, από το σχηματισμό του στον καρπό μέχρι την κατανάλωση.

Α. ΟΞΥΤΗΤΑ

Η οξύτητα αποτελεί το βασικότερο κριτήριο ποιοτικής αξιολόγησης του ελαιολάδου και εκφράζεται συνήθως σε ποσοστό επί τις εκατό (εκφρασμένη σε gr ελαϊκού οξέος ανά 100gr ελαιολάδου) και διαμορφώνεται από τα ελεύθερα λιπαρά οξέα που υπάρχουν στο λάδι. Με βάση την οξύτητα, το ελαιόλαδο, διακρίνεται σε φαγώσιμο (οξύτητα μέχρι 3,3%) και βιομηχανικό (οξύτητα μεγαλύτερη από 3,3%). Καλύτερο όμως ποιοτικά λάδι θεωρείται αυτό του οποίου η οξύτητα κυμαίνεται μεταξύ 0,5-1,5%.
Η οξύτητα του ελαιολάδου, όπως προαναφέρθηκε, εξαρτάται κατά κύριο λόγο από την ποιοτική κατάσταση του ελαιοκάρπου από τον οποίο προέρχεται και μεταβάλλεται πολύ λίγο μετά την εξαγωγή του απ' αυτόν. Η αύξηση της οξύτητας του ελαιόλαδου, μετά την παραλαβή του από τον ελαιόκαρπο, οφείλεται κυρίως στην παρουσία υδρολυτικών ενζύμων και υγρασίας στο ίζημα (μούργα) που καθιζάνει στον πυθμένα των δοχείων αποθήκευσης και διατήρησης, καθώς και στις κακές συνθήκες αποθήκευσης [1].

Β. ΟΞΕΙΔΩΣΗ

Το ελαιόλαδο όπως και όλες οι άλλες λιπαρές ύλες οι οποίες περιέχουν ακόρεστα λιπαρά οξέα, οξειδώνονται όταν έλθουν σε επαφή με το οξυγόνο. Η οξείδωση παρατηρείται, κυρίως, μετά την παραλαβή του και ιδιαίτερα κατά τη διάρκεια της αποθήκευσης όταν, αυτή, γίνεται σε ακατάλληλες συνθήκες. Η οξείδωση του ελαιόλαδου, μπορεί να συμβεί σε συνθήκες τόσο απουσίας όσο και παρουσίας φωτός (φωτοοξείδωση) και παρουσία χρωστικών ουσιών. Αυτό φάνηκε και σε μελέτη που έγινε τοποθετώντας μια λάμπα πάνω από δείγματα λαδιού.[7]
Τα προϊόντα της οξείδωσης έχουν δυσάρεστη γεύση και οσμή. Υποβαθμίζουν την ποιότητα των λιπαρών υλών και σε μεγάλες ποσότητες και προχωρημένο βαθμό οξείδωσης, θεωρούνται τοξικά.
Η οξείδωση στο ελαιόλαδο επιφέρει τροποποίηση στα οργανοληπτικά του χαρακτηριστικά (οσμή, γεύση). Επιφέρει επίσης αλλαγή και στις φυσικές του ιδιότητες όπως είναι το ιξώδες (μείωση του ιξώδες).

Γενικά η οξείδωση προκαλεί μείωση ή απώλεια των απαραίτητων για τον άνθρωπο βασικών λιπαρών οξέων, όπως είναι το λινελαϊκό και το λινολενικό και απώλεια των λιποδιαλυτών βιταμινών και ειδικότερα, μείωση της θρεπτικής αξίας των λιπαρών υλών.
Θα πρέπει όμως να σημειωθεί ότι το ελαιόλαδο είναι πολύ ανθεκτικό στην οξείδωση εξαιτίας της μικρής περιεκτικότητας σε πολυακόρεστα λιπαρά οξέα και της παρουσίας, σ' αυτό, φυσικών αντιοξειδωτικών. Παρόλα αυτά δεν παύει όμως να παρουσιάζει ευαισθησία στην φωτοοξείδωση (η φωτοοξείδωση αποτελεί μια σοβαρότατη αλλοίωση των φυτικών λαδιών και ιδιαίτερα του ελαιολάδου) [1].

Γ. ΥΔΡΟΛΥΣΗ

Η υδρόλυση αποτελεί μια από τις βασικότερες αλλοιώσεις του ελαιόλαδου και οφείλεται στην απελευθέρωση λιπαρών οξέων από τα γλυκερίδιά του. Συνοδεύεται με αύξηση της οξύτητας και αλλαγή της γεύσης, μειονεκτήματα τα οποία έχουν σαν αποτέλεσμα την υποβάθμιση της εμπορικής του αξίας. Η υδρόλυση λαμβάνει χώρα, κυρίως, κατά το χρόνο πριν από την εξαγωγή του ελαιόλαδου από τον ελαιόκαρπο.
Η υδρόλυση του ελαιόλαδου επηρεάζεται από διάφορους παράγοντες, όπως είναι:

- η υγρασία
- η θερμοκρασία
- τα ένζυμα
- οι διάφοροι μικροοργανισμοί κ.α.
- το μικροκλίμα [1].

Δ. ΧΡΩΜΑ

Το χρώμα του ελαιολάδου αποτελεί χαρακτηριστικό δείκτη ποιότητας. Διαφέρει συνήθως από ελαιόλαδο σε ελαιόλαδο και πολλές φορές επηρεάζει τις προτιμήσεις του καταναλωτικού κοινού.
Το είδος και η ποσότητα των φυσικών χρωστικών ουσιών (χλωροφύλλες, φαιοφυτίνες, ξανθοφύλλες, καροτίνες κλπ.) οι οποίες επικρατούν στον ελαιόκαρπο, στο σταδιο της συγκομιδής, καθορίζει βασικά το χρώμα του ελαιολάδου το οποίο παραλαμβάνεται τελικά.
Το χρώμα του ελαιολάδου είναι πράσινο στην αρχή της περιόδου της συγκομιδής, που ο ελαιόκαρπος είναι ακόμη άγουρος και επικρατούν οι χλωροφύλλες και οι φαιοφυτίνες (η χλωροφύλλη-α μπορεί να είναι παρόν σε ένα παρθένο ελαιόλαδο αμέσως μετά από την παραγωγή του, αλλά αυτή γρήγορα μετατρέπεται σε φαιοφυτίνη-α που είναι η κύρια χρωστική ουσία.). Με την πρόοδο της ωρίμανσης, του ελαιοκάρπου, το ελαιόλαδο παίρνει κίτρινο χρυσαφί χρωματισμό επειδή υπάρχουν περισσότερες καροτίνες. Τέλος, ο υπερώριμος ελαιόκαρπος δίνει ελαιόλαδο με έντονα σκοτεινό χρώμα.
Το χρώμα όμως του ελαιολάδου επηρεάζεται και από το σύστημα επεξεργασίας το οποίο χρησιμοποιείται για την εξαγωγή του. Για παράδειγμα, ένα ελαιόλαδο του οποίου η ελαιοζύμη υποβάλλεται σε επιπλέον μάλαξη θα έχει εντονότερο πράσινο χρώμα το οποίο θα οφείλεται στην απελευθέρωση μεγαλύτερης ποσότητας χλωροφύλλης.
Σημασία επίσης έχει και το υλικό από το οποίο έχουν κατασκευαστεί τα μηχανήματα με τα οποία έρχεται σε επαφή ο πολτός κατά την μάλαξη. Έχει παρατηρηθεί ότι ελαιόλαδα τα οποία ήρθαν σε επαφή με μεταλλικό μαλακτήρα είχαν υψηλότερο περιεχόμενο σε

χλωροφύλλη και καροτενοειδή το οποίο έχει ως αποτέλεσμα εντονότερο πράσινο χρώμα σε αντίθεση με αυτά που είχαν έρθει σε επαφή με πέτρινους μαλακτήρες. Τέλος η διαδικασία του ραφιναρίσματος δίνει στα ελαιόλαδα πιο λαμπερό χρώμα [4, 8, 9] .

Ε. ΘΟΛΩΜΑ ΤΟΥ ΕΛΑΙΟΛΑΔΟΥ

Εκτός από το χρώμα του λαδιού ,σημαντικός παράγοντας ποιότητας είναι και το θόλωμα. Το χρώμα του ελαιόλαδου επηρεάζεται από το τύπο του ελαιόδεντρου και το στάδιο ωρίμανσης που βρίσκεται ο ελαιόκαρπος κατά τη συγκομιδή, ενώ το θόλωμα επηρεάζεται κυρίως από την επεξεργασία του ελαιοκάρπου κατά τη μετατροπή του σε ελαιόλαδο[10].

ΣΤ. ΟΡΓΑΝΟΛΗΠΤΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ

Ο έλεγχος των οργανοληπτικών χαρακτηριστικών (οσμής και γεύσης) του ελαιολάδου αποτελεί, χωρίς αμφιβολία, το βασικότερο κριτήριο ποιοτικής αξιολόγησης.
Ο οργανοληπτικός έλεγχος γίνεται από ειδικευμένα άτομα, τους δοκιμαστές. Στη μέθοδο όμως αυτή υπεισέρχεται το υποκειμενικό στοιχείο του δοκιμαστή κάτι που οπωσδήποτε, αποτελεί μειονέκτημα.
Με κριτήριο τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά, τα οποία παρουσιάζουν τα διάφορα ελαιόλαδα, διακρίνονται οι εξής κατηγόριες:

Αγουρέλαια: Προέρχονται από μη ώριμο ελαιόκαρπο και έχουν χαρακτηριστική πικρίζουσα 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 τη χαρακτηριστική διακριτική γεύση, χωρίς την παρουσία δυσάρεστων οσμών.

Ελαττωματικά: Ελαιόλαδα τα οποία παρουσιάζουν τη γεύση και οσμή μούχλας, χώματος, ταγκάδας, κλπ.

Το άρωμα και η γεύση εξαρτώνται από την ποιότητα του ελαιολάδου, την ποικιλία της ελιάς, τις κλιματολογικές-εδαφολογικές συνθήκες ανάπτυξης της ελιάς, του βαθμού ωρίμανσης του καρπού, τη θερμοκρασία μάλαξης καθώς και το υλικό από το οποίο είναι κατασκευασμένος ο μαλακτήρας. έχει παρατηρηθεί ότι οι μεταλλικοί μαλακτήρες δίνουν πιο δυνατή πικρή γεύση στο λάδι από ότι τα λάδια που έχουν παραχθεί με πέτρινους μαλακτήρες και ότι η αυξημένη περίοδος μάλαξης σε συνδυασμό με υψηλή θερμοκρασία μάλαξης δίνουν λιγότερο πικρή γεύση [1, 8, 11] .

1.2.2 ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΟΙ ΟΠΟΙΟΙ ΕΠΗΡΕΑΖΟΥΝ ΤΗΝ ΠΟΙΟΤΗΤΑ ΤΟΥ ΕΛΑΙΟΛΑΔΟΥ

Η διαμόρφωση της ποιότητας του ελαιολάδου αρχίζει από το χρόνο που αυτό σχηματίζεται στον ελαιόκαρπο και έτσι επηρεάζεται από διάφορους παράγοντες. Έτσι τελικά η ποιότητα του ελαιολάδου συνδέεται έμμεσα με τους παράγοντες που παρεμβάλλονται σε όλο αυτό το κύκλωμα προκαλώντας διάφορες αλλοιώσεις ή μεταβολές στη χημική του σύσταση.
Οι παράγοντες οι οποίοι επιδρούν και μπορεί να επηρεάσουν την ποιότητα του ελαιολάδου εξετάζονται στα παρακάτω στάδια:

1. κατά το σχηματισμό του ελαιολάδου στον καρπό
2. από το σχηματισμό του έως και το χρόνο συγκομιδής του ελαιόκαρπου
3. κατά την επεξεργασία του ελαιόκαρπου στο ελαιουργείο, και
4. κατά το χρόνο αποθήκευσης και διατήρησης του ελαιολάδου

I. ΚΑΤΑ ΤΟ ΣΧΗΜΑΤΙΣΜΟ ΤΟΥ ΕΛΑΙΟΛΑΔΟΥ ΣΤΟΝ ΚΑΡΠΟ

- ΠΟΙΚΙΛΙΑ

Η ποικιλία του ελαιοκάρπου συνδέεται έμμεσα με την ποιότητα του ελαιολάδου και ιδιαίτερα με τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά του (οσμή και γεύση). Υπάρχουν ποικιλίες οι οποίες δίνουν ελαιόλαδο με καλύτερα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά από άλλες, για παράδειγμα στην Ελλάδα οι ελιές της Άμφισσας οι ‘χοντροελιές’ είναι κυρίως επιτραπέζιες ενώ οι μικρόκαρπες ελιές δίνουν εξαιρετικής ποιότητας λάδι [1, 2].

- ΚΛΙΜΑ

Το κλίμα της περιοχής όπου καλλιεργείται η ελιά επηρεάζει επίσης τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά του ελαιολάδου. Ελαιόδεντρα τα οποία καλλιεργούνται σε ορεινές περιοχές παράγουν λάδι με ιδιαίτερα ευχάριστη γεύση σε σχέση με εκείνα των πεδινών περιοχών.
Αναλύσεις ελαιολάδων τα οποία προέρχονται από ελαιόδεντρα δροσερών περιοχών έδειξαν ότι σε αυτά υπάρχουν περισσότερα λιπαρά οξέα με διπλούς δεσμούς, συγκρινόμενα με τα ελαιόλαδα που παράγονται σε θερμές και ξηρές περιοχές. Έτσι τα ελαιόλαδα των βόρειων Μεσογειακών χωρών είναι πιο λεπτόρρευστα από τα ελαιόλαδα των νότιων Μεσογειακών χωρών, γιατί τα πρώτα είναι πλούσια σε υγρά γλυκερίδια (μεγάλη περιεκτικότητα σε πολυακόρεστα οξέα) ενώ τα δεύτερα είναι πλούσια σε στέρεα γλυκερίδια.
Γενικά, σε περιοχές με μεγάλη ηλιοφάνεια, η παρουσία των αρωματικών συστατικών είναι μεγάλη και η ποιότητα του ελαιόλαδου εκλεκτή [1, 10].

- ΕΔΑΦΟΣ

Τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά του ελαιολάδου επηρεάζονται αισθητά και από τη σύσταση του εδάφους που καλλιεργείται η ελιά καθώς και από την καλλιεργητική τεχνική που χρησιμοποιείται (πότισμα, κλάδεμα, λίπανση). Σε εδάφη ξηρά και ασβεστολιθικά τα ελαιόδεντρα δίνουν ελαιόλαδο πλουσιότερο σε αρωματικά συστατικά (πιο νόστιμο λαδί) από ότι σε εδάφη υγρά και αργιλώδη. Εδάφη πλούσια σε φώσφορο και κάλιο επιταχύνουν την ωρίμανση του ελαιοκάρπου και βελτιώνουν αισθητά τη ποιότητα του ελαιολάδου.
Γενικά, στα ασβεστολιθικά εδάφη οι ελιές παράγουν ελαιόλαδο λεπτόρρευστο, ενώ στα αργιλώδη εδάφη οι ελιές δίνουν παχύρρευστο λάδι [1].

II. ΑΠΟ ΤΟ ΣΧΗΜΑΤΙΣΜΟ ΤΟΥ ΕΛΑΙΟΛΑΔΟΥ ΜΕΧΡΙ ΚΑΙ ΤΟ ΧΡΟΝΟ ΣΥΓΚΟΜΙΔΗΣ ΤΟΥ ΕΛΑΙΟΚΑΡΠΟΥ

Η ποιότητα του ελαιολάδου, κατά το χρόνο παραμονής του ελαιόκαρπου στο δέντρο μπορεί να επηρεαστεί από την επίδραση των παρακάτω παραγόντων:

- ΕΝΤΟΜΟΛΟΓΙΚΕΣ ΚΑΙ ΜΥΚΗΤΟΛΟΓΙΚΕΣ ΠΡΟΣΒΟΛΕΣ

Κάθε προσβολή του ελαιοκάρπου, από έντομα οι μύκητες, προκαλεί άμεσα ή έμμεσα αλλοίωση στη ποιότητα του ελαιολάδου (ιδιαίτερα στα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά του). Από εντομολογικές προσβολές τη μεγαλύτερη ζημιά προκαλεί ο δάκος, ενώ από τις μυκητολογικές προσβολές μεγαλύτερη αλλοίωση προκαλεί το γλοιοσπόριο.
Γενικά, κάθε είδους προσβολή η οποία προκαλεί λύση στη συνέχεια των κυττάρων του καρπού, δημιουργεί προϋποθέσεις για μια σειρά βιοχημικών αντιδράσεων οι οποίες οδηγούν στην αλλοίωση της ποιότητας του ελαιολάδου. Επομένως, η φυτοϋγιεινή προστασία του ελαιοκάρπου συντελεί σημαντικά στη βελτίωση της ποιότητας του περιεχόμενου λαδιού [1] .

- ΧΡΟΝΟΣ ΣΥΓΚΟΜΙΔΗΣ ΤΟΥ ΕΛΑΙΟΚΑΡΠΟΥ

Είναι διαπιστωμένο ότι το άριστο των ποιοτικών χαρακτηριστικών του ελαιολάδου συναντάται σε ελαιόκαρπο ο οποίος βρίσκεται στο στάδιο της φυσιολογικής ωριμότητας (¾ καρπού είναι μοβ και ¼ πράσινο).
Ο άγουρος ελαιόκαρπος δίνει ελαιόλαδο με έντονο πράσινο χρώμα και πικρίζουσα γεύση. Η παράταση της παραμονής του ελαιοκάρπου στο ελαιόδεντρο έχει σαν συνέπεια τη μείωση των αρωματικών συστατικών του ελαιολάδου, την αύξηση της οξύτητας και την αλλαγή του χρώματος του.
Σε έρευνα που έγινε σε μια ποικιλία ελαιολάδου, το οποίο προέρχεται από διαφορετικές περιοχές (Ισπανία) χρησιμοποιήθηκε η μέθοδος HPLC, για την ανάλυση φαινολικών ενώσεων και τοκοφερολών. Παρατηρήθηκε ότι η συγκομιδή του ελαιοκάρπου που έγινε στη αρχή της σεζόν σε σχέση με αυτά που οι ελιές συλλέχθηκαν στο τέλος της σεζόν, είχαν υψηλότερο περιεχόμενο σε φαινολικές ενώσεις. Επίσης φαίνεται ότι η διαφορετική γεωγραφική περιοχή των ελαιοκάρπων δεν επηρέασε τη σύσταση του [1, 12] .

- ΤΡΟΠΟΙ ΣΥΓΚΟΜΙΔΗΣ

Η συγκομιδή του καρπού των ελαιοποιήσιμων ποικιλιών γίνεται, είτε από το δέντρο, είτε από το έδαφος μετά από φυσιολογική πτώση. Τα διάφορα μέσα τα οποία χρησιμοποιούνται για το ραβδισμό, χτένισμα κ.λ.π. , επηρεάζουν την ποιότητα του ελαιολάδου ανάλογα με τα τραύματα που προκαλούν στο καρπό. Τα κτυπημένα σημεία των καρπών, σε συνθήκες ακατάλληλης αποθήκευσης, αποτελούν εστίες μόλυνσης και ανάπτυξης μυκήτων.
Η αλλοίωση της ποιότητας του ελαιόλαδου όταν ο ελαιόκαρπος μαζεύεται κατευθείαν από το έδαφος, μετά από φυσιολογική πτώση, είναι πολύ μεγάλη και συνδέεται άμεσα:
1.με την αύξηση της οξύτητας,
2.με την έναρξη της οξείδωσης, και
3.με την προσρόφηση δυσάρεστων οσμών (χώματος) από το έδαφος.
Έτσι έχει παρατηρηθεί ότι και ο τρόπος συγκομιδής επηρεάζει το χρώμα και τη γεύση του ελαιολάδου [1, 10] .

III. ΚΑΤΑ ΤΟ ΧΡΟΝΟ ΑΠΟΘΗΚΕΥΣΗΣ ΚΑΙ ΔΙΑΤΗΡΗΣΗΣ ΤΟΥ ΕΛΑΙΟΚΑΡΠΟΥ

- ΜΕΣΑ ΤΟΠΟΘΕΤΗΣΗΣ ΚΑΙ ΔΙΑΤΗΡΗΣΗΣ ΤΟΥ ΕΛΑΙΟΚΑΡΠΟΥ ΜΕΧΡΙ ΤΗΝ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ

Για την αποθήκευση του ελαιοκάρπου μετά τη συγκομιδή χρησιμοποιούνται είτε σάκοι από νήμα γιούτας οι οποίοι επιτρέπουν τον επαρκή αερισμό του ελαιοκάρπου με αποτέλεσμα να αποφεύγεται η δημιουργία συνθηκών που ευνοούν την ανάπτυξη μυκήτων, είτε πλαστικοί σάκοι οι οποίοι υποβοηθούν την ανάπτυξη μυκήτων εξαιτίας του ασφυκτικού περιβάλλοντος που δημιουργείται. Εκτός από τους σάκους καλύτερες συνθήκες διατήρησης και αποθήκευσης του ελαιοκάρπου προσφέρουν τα τελάρα τα οποία είναι ανοιχτά από πάνω και έχουν οπές στις γύρω πλευρές, ώστε να αερίζεται ο καρπός [1].

- ΤΟΠΟΘΕΤΗΣΗ ΤΟΥ ΕΛΑΙΟΚΑΡΠΟΥ ΣΤΟ ΕΛΑΙΟΥΡΓΕΙΟ ΣΕ ΣΩΡΟΥΣ

Η τοποθέτηση του ελαιοκάρπου σε μεγάλους σωρούς στα ελαιουργεία μέχρι την έκθλιψη του, οδηγεί στη γρήγορη αλλοίωση της ποιότητας του ελαιόλαδου, αφού σε ένα τέτοιο περιβάλλον αναπτύσσονται υψηλές θερμοκρασίες με αποτέλεσμα τη δημιουργία μυκήτων και την έντονη υδρολυτική αλλοίωση του ελαιολάδου [1] .

- ΧΡΟΝΟΣ ΑΠΟΘΗΚΕΥΣΗΣ ΤΟΥ ΕΛΑΙΟΚΑΡΠΟΥ ΜΕΧΡΙ ΤΗΝ ΕΞΑΓΩΓΗ ΤΟΥ ΕΛΑΙΟΛΑΔΟΥ

Η αποθήκευση του ελαιοκάρπου μέχρι την επεξεργασία του είναι αναπόφευκτη όπως αναπόφευκτες είναι και οι αλλοιώσεις σε αυτό το διάστημα. Αυτές οι αλλοιώσεις γίνονται σοβαρότερες όταν οι συνθήκες αποθήκευσης είναι ακατάλληλες, όταν ο ελαιόκαρπος είναι πληγωμένος ή όταν έχει προκληθεί από φυσικούς εχθρούς ή ασθένειες. Σε αυτό το χρονικό διάστημα σημειώνονται ποικίλες ποιοτικές αλλοιώσεις που συνδέονται με την μείωση των αλδεϋδικών ενώσεων του ελαιολάδου, στις οποίες αποδίδεται το χαρακτηριστικό άρωμα του ελαιολάδου καθώς και των φαινολικών ενώσεων κάτι που έχει ως αποτέλεσμα την αύξηση της ευπάθειας του ελαιολάδου στην οξειδωτική τάγγιση [1] .

IV. ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ ΤΟΥ ΕΛΑΙΟΚΑΡΠΟΥ ΣΤΟ ΕΛΑΙΟΥΡΓΕΙΟ

Κατά την επεξεργασία του ελαιοκάρπου στο ελαιουργείο είναι δυνατόν να αλλοιωθεί η ποιότητα του λαδιού αν δεν δοθεί προσοχή στα παρακάτω σημεία:

- το οξυγόνο με το οποίο έρχονται σε επαφή η ελαιοζύμη και το ελαιόλαδο (όσο γίνεται να περιοριστεί η επαφή με τον ατμοσφαιρικό αέρα)
- η θερμοκρασία του νερού του οποίου προστίθεται στις διάφορες φάσεις επεξεργασίας να είναι χαμηλότερη των 25^{o}C, αφού έχει διαπιστωθεί ότι θερμοκρασίες νερού υψηλότερες των 25^{o}C, προκαλούν καταστροφή των αρωματικών συστατικών του ελαιολάδου.
- οι μεταλλικές επιφάνειες των μηχανημάτων του ελαιουργείου που έρχονται σε επαφή με την ελαιοζύμη πρέπει να είναι κατασκευασμένες από ανοξείδωτα υλικά.[1]

V. ΑΠΟΘΗΚΕΥΣΗ-ΔΙΑΤΗΡΗΣΗ ΤΟΥ ΕΛΑΙΟΛΑΔΟΥ

Κατά την αποθήκευση του ελαιόλαδου για να μην υπάρξουν ποιοτικές αλλοιώσεις πρέπει να δοθεί προσοχή σε παράγοντες όπως το οξυγόνο, η θερμοκρασία, το φως και ο περιέκτης. Ο περιέκτης για την καλύτερη αποθήκευση πρέπει να είναι γυάλινος, να φυλάσσεται στο σκοτάδι μακριά από υγρασία και να είναι καλά σφραγισμένος ώστε το ελαιόλαδο να μην έρχεται σε επαφή με τον ατμοσφαιρικό αέρα. Τέλος πρέπει να αποθηκεύεται για όσο γίνεται μικρότερο χρονικό διάστημα γιατί η ποιότητα του ελαιόλαδου μειώνεται με τη πάροδο του χρόνου εξαιτίας των οξειδωτικών και υδρολυτικών υποβαθμίσεων που προκαλούν μερική απώλεια δευτερευόντων συστατικών του ελαιολάδου που είναι προστατευτικά για τον άνθρωπο. Σε μια πειραματική έρευνα που πραγματοποιήθηκε για να μελετήσει την επιρροή που έχει η έκθεση στο φως, στην ποιότητα του ελαιολάδου μετά από 12 μήνες αποθήκευσης στο σκοτάδι, κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι τα λάδια που αποθηκεύτηκαν στο φως είχαν σημαντικά χαμηλότερο περιεχόμενο σε τοκοφερόλη, καροτενοειδή και χλωροφύλλη απ' ότι τα λάδια που φυλάχτηκαν στο σκοτάδι. Συνολικά τα αποτελέσματα έδειξαν ότι τα λάδια που φυλάσσονται στα ράφια των καταστημάτων, όταν εκτίθενται σε φως, έχουν χαμηλότερη διάρκεια ζωής από ότι αυτά που είναι στο σκοτάδι. Επίσης φαίνεται ότι και μετά από δύο μήνες μόνο έκθεσης του λαδιού που εξετάστηκε, στο φως, η ποιότητα του έχει υποβαθμιστεί τόσο, ώστε να μην θεωρείται πια έξτρα παρθένο [1, 13] .

1.3 UV-ΟΡΑΤΟΥ - ΦΑΣΜΑΤΟΣΚΟΠΙΑ

Το K_{270} και το K_{232} ορίζονται ως συντελεστές απορρόφησης και χρησιμοποιούνται στη Φασματοφωτομετρία με υπεριώδη ακτινοβολία. Η μέθοδος στηρίζεται στο γεγονός ότι τα υπεροξείδια (πρωτογενή προϊόντα οξείδωσης) απορροφούν στα 232 nm, ενώ τα προϊόντα διάσπασης των υπεροξειδίων (δευτερογενή προϊόντα: αλδεύδες, κετόνες κ.λ.π.) απορροφούν στα 270 nm. Ο συντελεστής Κ είναι η ειδική ονομασία της απορρόφησης του ελαιολάδου που χρησιμοποιείται αντί του Α που συμβολίζεται κανονικά η απορρόφηση άλλων ενώσεων. Ο τύπος που χρησιμοποιούμε για να υπολογίσουμε την απορρόφηση Α είναι, $A=\log (I_o/I)= \varepsilon * c * d$ βάση του νόμου του Beer – Lambert τον οποίο θα αναλύσουμε στο επόμενο κεφάλαιο.

Η ανάπτυξη των προϊόντων οξείδωσης οφείλεται στο οξειδωτικό τάγγισμα που είναι η σημαντικότερη αλλοίωση των εδώδιμων λιπών και ελαίων και έχει σαν αποτέλεσμα την ανάπτυξη δυσάρεστης οσμής και γεύσης καθώς και την υποβάθμιση της θρεπτικής τους αξίας. Η ανάπτυξη της τάγγισης οφείλεται στην οξείδωση των λιπαρών οξέων από το ατμοσφαιρικό οξυγόνο (αυτοοξείδωση). Ο μηχανισμός της οξείδωσης των λιπαρών οξέων γίνεται σε τρία στάδια:

ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΣ

ΕΝΑΡΞΗ: 1. RH — ενέργεια → R•

ΔΙΑΔΟΣΗ 2. R• + O_2 ⟶ ROO•

↑——————————————————┤

3. ROO• + RH ⟶ ROOH + R•

ΤΕΡΜΑΤΙΣΜΟΣ

4. R• + R• ⟶ RR
5. R• + ROO• ⟶ ROOR
6. ROO• + ROO• ⟶ ROOR + O_2

Γι' αυτό αντιλαμβανόμαστε τη σημαντικότητα του υπολογισμού του K_{232} και K_{270}, όπου:
Ως ειδικός συντελεστής απορρόφησης K_{232} ορίζεται η απορρόφηση (A) στα 232 nm, διαλύματος πάχους 1 cm που περιέχει 1 gr ελαίου σε 100 ml διαλύτη.
Ο ειδικός συντελεστής απορρόφησης K_{270} ορίζεται ως η απορρόφηση (A) στα 270 nm, διαλύματος πάχους 1 cm που περιέχει 1 gr ελαίου σε 100ml διαλύτη.
Σύμφωνα με τον ελληνικό κώδικα τροφίμων, το ελαιόλαδο κατατάσσεται στις παρακάτω κατηγορίες ανάλογα με τις φωτομετρικές τιμές.

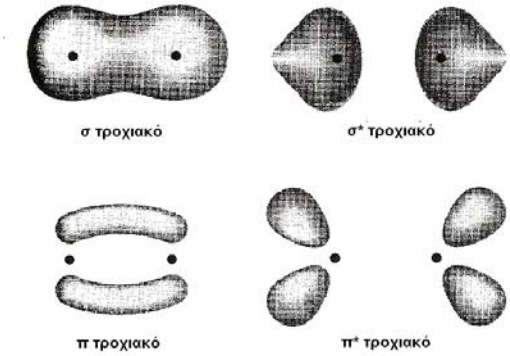
- Εξαιρετικά παρθένο ελαιόλαδο: $K_{270}<0.18$, $K_{232}<2.25$
- Παρθένο Ελαιόλαδο: $K_{270}<0.25$, $K_{232}<3.5$
- Παρθένο ελαιόλαδο (lampate): $K_{270}>0.25$, $K_{232}>3.5$ [1] .

Πίνακας 1.2 *Χαρακτηριστικά των διαφόρων τύπων ελαιολάδων.*

	Εξαιρετικό Παρθένο Ελαιόλαδο	**Παρθένο Ελαιόλαδο**	**Ελαιόλαδο (γνωστό ως κουπέ ή ραφινέ)**
Περιγραφή	Ελαιόλαδο ανώτερης κατηγορίας που παράγεται απευθείας από ελιές και μόνο με μηχανικές μεθόδους	Ελαιόλαδο που παράγεται απευθείας από ελιές και μόνο με μηχανικές μεθόδους	Ελαιόλαδο – αποτελούμενο από εξευγενισμένα ελαιόλαδα και παρθένα ελαιόλαδα: Έλαιο που περιέχει αποκλειστικά ελαιόλαδα που έχουν υποστεί επεξεργασία εξευγενισμού και έλαια που έχουν παραχθεί απευθείας από ελιές
Οξύτητα	0,0-0,8%	0,9-2,0%	0,1-1,0%
Υπεροξείδια	<20 meq/kg	<20 meq/kg	<15 meq/kg
K232	<2.50	<3.50	<3.50
K270	<0.20	<0.25	<1.00

Η απορρόφηση της ορατής ή της υπεριώδους ακτινοβολίας συνήθως οφείλεται στη διέγερση δεσμικών ηλεκτρονίων και κατά συνέπεια τα μήκη κύματος των απορροφήσεων μπορούν να συσχετισθούν με τους τύπους των δεσμών στα εξεταζόμενα σωματίδια. Συμπεραίνουμε λοιπόν ότι η Φασματοφωτομετρία μοριακής απορρόφησης αποτελεί ένα χρήσιμο μέσο για την ταυτοποίηση χαρακτηριστικών ομάδων σε ένα μόριο. Ωστόσο, πολύ μεγαλύτερη είναι η χρησιμότητα της φασματοφωτομετρίας

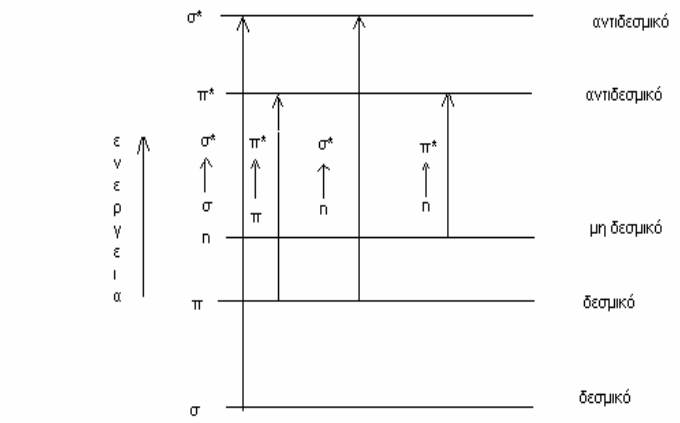
ορατού και υπεριώδους, στον ποσοτικό προσδιορισμό των ενώσεων που περιέχουν τις ομάδες αυτές.
Όλες οι οργανικές ενώσεις έχουν την ικανότητα να απορροφούν ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία καθώς όλες περιέχουν ηλεκτρόνια σθένους, τα οποία μπορούν να διεγερθούν σε υψηλότερες ενεργειακές καταστάσεις. Οι ενέργειες που συνδέονται με διέγερση ηλεκτρονίων απλών δεσμών είναι τόσο μεγάλες ώστε η απορρόφηση ακτινοβολίας περιορίζεται στη λεγόμενη περιοχή *υπεριώδους κενού* (λ<185nm) όπου απορροφούν ισχυρά και τα συστατικά της ατμόσφαιράς. Οι πειραματικές δυσκολίες για μετρήσεις στη περιοχή αυτή είναι τόσο μεγάλες, ώστε οι φασματοφωτομετρικές μελέτες των οργανικών ενώσεων να πραγματοποιούνται αποκλειστικά σε μήκη κύματος μεγαλύτερα από 185nm. Η απορρόφηση ακτινοβολίας μεγαλύτερου μήκους κύματος στην ορατή και υπεριώδη περιοχή οφείλεται σε ένα περιορισμένο αριθμό χαρακτηριστικών ομάδων, που καλούνται χρωμοφόρα και οι οποίες περιέχουν ηλεκτρόνια σθένους με σχετικά χαμηλές ενέργειες διέγερσης.
Τα ηλεκτρόνια που συνεισφέρουν στην απορρόφηση ενός οργανικού μορίου είναι: (1) αυτά που συμμετέχουν απευθείας στον σχηματισμό δεσμών και επομένως συνδέονται με περισσότερα από ένα άτομα, (2) μη δεσμικά ή μονήρη εξωτερικά ηλεκτρόνια που συνήθως εντοπίζονται γύρω από άτομα όπως το οξυγόνο τα αλογόνα το θείο και το άζωτο.



Σχήμα 1.2 *Κατανομή ηλεκτρονίων στα μοριακά τροχιακά σ και π.*

Τα φάσματα απορρόφησης λαμβάνονται με την μέτρηση της έντασης της απορρόφησης της ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας που χρησιμοποιείται για τη διέγερση των ηλεκτρονίων από χαμηλότερη σε υψηλότερη στάθμη ενέργειας. Τη φασματοσκοπία υπεριώδους - ορατού ενδιαφέρουν τα σ και π δεσμικά μοριακά τροχιακά (μικρής ενεργείας) καθώς και τα σ* και π* αντιδεσμικά μοριακά τροχιακά (υψηλής ενέργειας) απλών και πολλαπλών δεσμών (κορεσμένες και ακόρεστες ενώσεις) καθώς και τα n μη δεσμικά τροχιακά (αδιάθετα ζεύγη ηλεκτρονίων τα οποία δεν μετέχουν στο δεσμό O, N, S), οι μεταπτώσεις αυτές βρίσκονται στην υπεριώδη περιοχή ενώ οι μεταπτώσεις d→d* βρίσκονται στην ορατή περιοχή.
Οι κορεσμένες ενώσεις οι οποίες περιέχουν άτομα με ελεύθερα ζεύγη ηλεκτρόνιων (μη δεσμικά ηλεκτρόνια) μπορούν να δώσουν μεταπτώσεις n→σ*. Σε γενικές γραμμές οι μεταπτώσεις αυτές απαιτούν μικρότερη ενέργεια από τις σ →σ* και είναι δυνατόν να προέλθουν από τις ακτινοβολίες σε μήκη κύματος 150-250 nm, με τις εντονότερες κορυφές να είναι κάτω από τα 200 nm.

Τα μέγιστα των μεταπτώσεων n→σ* τείνουν να μετατοπιστούν προς τα μικρότερα μήκη κύματος, σε διαλύτες μεγάλης πολικότητας, όπως το νερό και η αιθανόλη. Ο αριθμός των χαρακτηριστικών ομάδων των οργανικών ενώσεων που δίνουν κορυφές μεταπτώσεων n→σ* στη περιοχή του προσιτού υπεριώδους είναι σχετικά μικρός.
Οι περισσότερες εφαρμογές της φασματοφωτομετρίας μοριακής απορρόφησης, όσον αφορά στις οργανικές ενώσεις βασίζονται στη μετάπτωση n ή π ηλεκτρονίων στην π* διεγερμένη κατάσταση. Ο λόγος είναι ότι, οι ενέργειες που απαιτούνται για τις μεταπτώσεις αυτές βρίσκονται στη φασματική περιοχή των 200-700 nm όπου δεν παρουσιάζονται πειραματικές δυσκολίες κατά τις μετρήσεις. Και οι δύο κατηγορίες μεταπτώσεων προϋποθέτουν τη παρουσία μιας ακόρεστης χαρακτηριστικής ομάδας στο μόριο της οργανικής ένωσης, η οποία παρέχει τα τροχιακά π. Για τις ομάδες αυτές ισχύει ο όρος *χρωμοφόρα ή αυξόχρωμες*.
Με την απορρόφηση υπεριώδους και ορατής ακτινοβολίας προκύπτουν ηλεκτρονικές μεταπτώσεις σε μοριακά τροχιακά υψηλότερης ενεργείας, όπως φαίνεται στο παρακάτω διάγραμμα:



Σχήμα 1.3 *Ηλεκτρονιακές ενεργειακές στάθμες σε ένα μόριο.*

Πίνακας 1.3 *Χαρακτηριστικά απορρόφησης μερικών συνηθισμένων χρωμοφόρων.*

Χρωμοφόρο	Παράδειγμα	Διαλύτης	λ_{max}(nm)	ε_{max}	Τύπος μετάπτωσης
Αλκένιο	$C_6H_{13}CH{=}CH_2$	*n*-Επτάνιο	177	13000	$\pi \rightarrow \pi^*$
Αλκίνιο	$C_5H_{11}C{\equiv}CCH_3$	*n*-Επτάνιο	178	10000	$\pi \rightarrow \pi^*$
			196	2000	–
			225	160	–
Καρβονύλιο	$CH_3\overset{\overset{O}{\|}}{C}CH_3$	*n*-Εξάνιο	186	1000	$n \rightarrow \sigma^*$
			280	16	$n \rightarrow \pi^*$
	$CH_3\overset{\overset{O}{\|}}{C}H$	*n*-Εξάνιο	180	μεγάλο	$n \rightarrow \sigma^*$
			293	12	$n \rightarrow \pi^*$
Καρβοξύλιο	$CH_3\overset{\overset{O}{\|}}{C}OH$	Αιθανόλη	204	41	$n \rightarrow \pi^*$
Αμίδιο	$CH_3\overset{\overset{O}{\|}}{C}NH_2$	Ύδωρ	214	60	$n \rightarrow \pi^*$
Αζωομάδα	$CH_3N{=}NCH_3$	Αιθανόλη	339	5	$n \rightarrow \pi^*$
Νιτροομάδα	CH_3NO_2	Ισοοκτάνιο	280	22	$n \rightarrow \pi^*$
Νιτρωδομάδα	C_4H_9NO	Διαιθυλαιθέρας	300	100	–
			665	20	$n \rightarrow \pi^*$
Νιτρική ομάδα	$C_2H_5ONO_2$	Διοξάνιο	270	12	$n \rightarrow \pi^*$

Για την μέτρηση των προϊόντων οξείδωσης στο συγκεκριμένο πείραμα χρησιμοποιήθηκε φασματοφωτόμετρο από το οποίο έγινε η λήψη των φασμάτων απορρόφησης στην υπεριώδη ακτινοβολία. Το φασματοφωτόμετρο που χρησιμοποιήθηκε στις μετρήσεις UV ήταν διπλής δέσμης.
Γενικότερα, υπάρχουν πολλών ειδών φασματοφωτόμετρα που χρησιμοποιούνται. Ένα μαζικό φασματοφωτόμετρο (head-space) προσφέρει επιλεκτικότητα, ευαισθησία, σταθερότητα και ταχύτητα στο χρήστη του. Αποτελείται από ένα αυτόματο σύστημα εισαγωγής δειγμάτων το οποίο συνδέεται άμεσα με ένα με ένα μαζικό ανιχνευτή, χωρίς να γίνεται ο οποιοσδήποτε χρωματογραφικός διαχωρισμός. [14]
Στα παρούσα πτυχιακή εργασία χρησιμοποιήθηκε η μέθοδος UV-VIS για τον προσδιορισμό των προϊόντων οξείδωσης και της χλωροφύλλης σε ελαιόλαδα και σπορέλαια. Επίσης χρησιμοποιήθηκε τόσο σαν δείκτης συσχέτισης στη μελέτη της νοθείας όσο και στη μελέτη της υποβάθμισης του ελαιολάδου κατά το τηγάνισμα.

1.4 ΧΛΩΡΟΦΥΛΛΗ

Η χλωροφύλλη είναι μια χρωστική ουσία με αντιοξειδωτική δράση (που υποβαθμίζεται από το οξυγόνο, το φως, τη θερμότητα και τη ταυτόχρονη δράση κάποιον ενζύμων) και τη συναντάται στα φρούτα και τα λαχανικά, καθώς και σε όλους τους φυτικούς οργανισμούς που έχουν πράσινο χρώμα. Δεν συντίθεται από τους ζωικούς οργανισμούς για αυτό πρέπει να την λαμβάνουν από τα τρόφιμα αφού τα ζωικά κύτταρα μπορούν να την αφομοιώσουν [4, 9, 15] .

Στο ελαιόλαδο υπάρχουν διάφορες χρωστικές ουσίες (χλωροφύλλες, φαιοφυτίνες, ξανθοφύλλες, καροτίνες κλπ.) [4] εκ των οποίων η κυριότερη είναι η χλωροφύλλη και είναι αυτή που προσδίδει αυτό το χαρακτηριστικό πράσινο χρώμα στο καρπό αλλά και στο ελαιόλαδο [1, 16] .

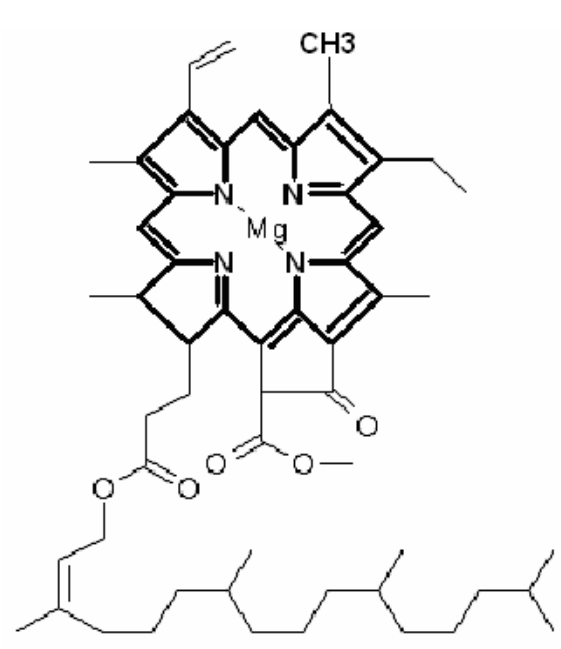
Η χλωροφύλλη υπάρχει στη μορφή της α- και της β-χλωροφύλλης. Η α- μορφή είναι κυανοπράσινη, ενώ η β- κιτρινοπράσινη. Και οι δυο χλωροφύλλες περιέχουν μαγνήσιο στο μόριο τους, αποικοδομούνται εύκολα και μετατρέπονται σε φαιοφυτίνες.

Η β-χλωροφύλλη διαφέρει από την α- στο ότι έχει αλδεϋδική ομάδα (-CHO) αντί μεθύλιο (-CH_3) στο 3 άτομο του άνθρακα (βλέπε συντακτικούς τύπους στο σχήμα 1.4).

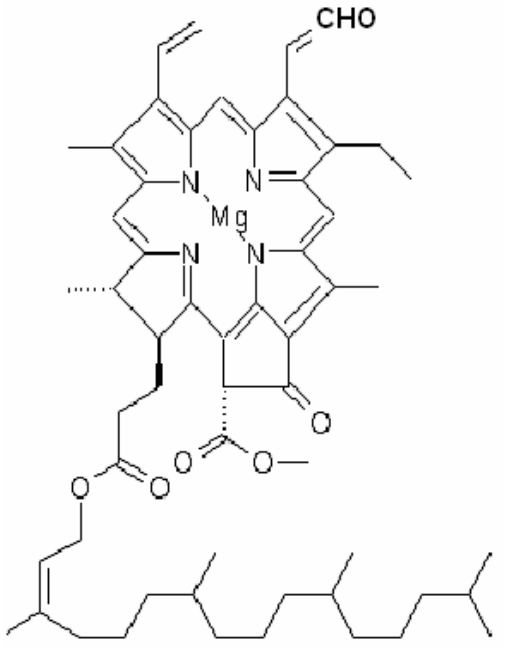
Το μόριο χλωροφύλλης αποτελείται κυρίως από πορφυρίνες, οι οποίες έχουν τέσσερα πυρολικά δακτύλια στις γωνίες ενός υποθετικού τετραγώνου, και ενός ιόντος μαγνήσιου που συνδέεται με τα τέσσερα άτομα αζώτου των πυρολικών δαχτυλιδιών.

Και η αστάθεια στο χρώμα του λαδιού που τείνει να αλλάξει κατά τη διάρκεια του χρόνου, και η διαλυτότητα της χρωστικής ουσίας στο λίπος εξαρτώνται από αυτά τα συστατικά [1, 4] .

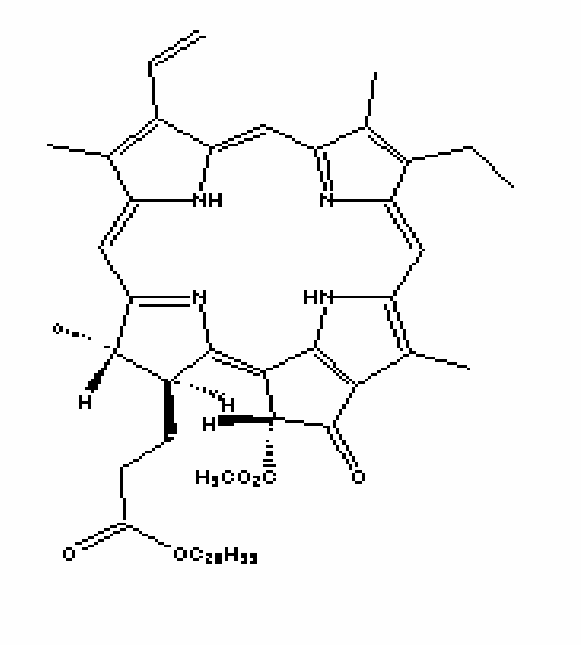
Η χλωροφύλλη-α είναι ίδια με την φαιοφυτίνη-α (και αντίστοιχα η -β) με τη μόνη διαφορά ότι από τον πορφυρικό δακτύλιο λείπει το μαγνήσιο (βλέπε σχήμα 1.4)



α-χλωροφύλλη ($C_{55}H_{72}O_5N_4Mg$**)**



β-χλωροφύλλη ($C_{55}H_{70}O_6N_4Mg$**)**



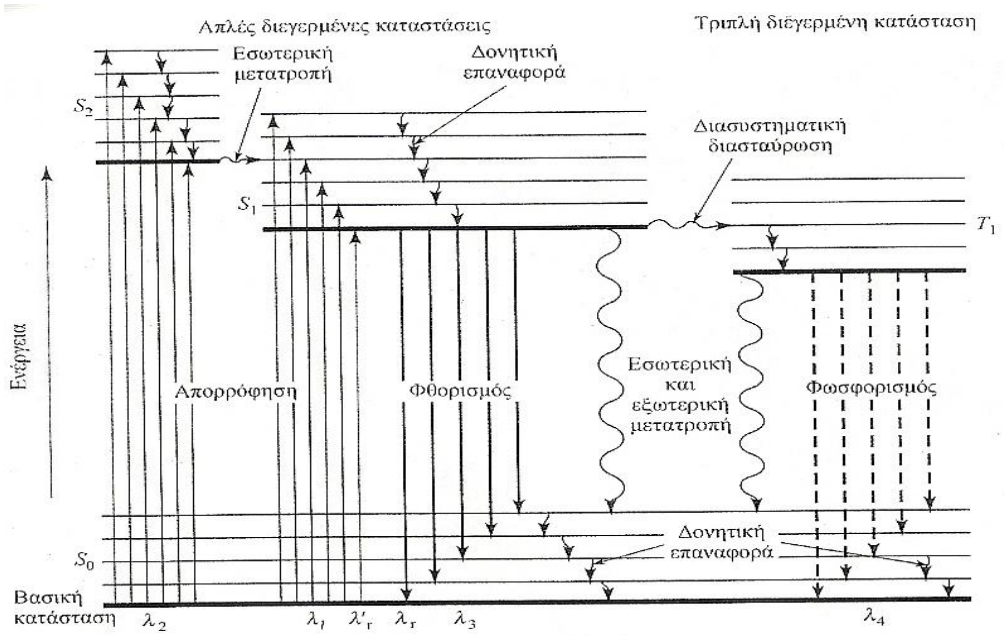
Φαιοφυτίνη-α

Σχήμα 1.4 *Δομή της χλωροφύλλης-α, -β και της φαιοφυτίνης-α.*

Το χρώμα του καρπού σχετίζεται με τη ποσότητα των χρωστικών που περιέχονται σε αυτόν. Έτσι οι πράσινες ελιές (άγουρες) έχουν υψηλό περιεχόμενο σε χλωροφύλλη και φαιοφυτίνη ενώ οι ώριμες ελιές δίνουν κίτρινο χρώμα εξαιτίας των καροτενοειδών [8] . Η παρουσία τους στο ελαιόλαδο εξαρτάται από το είδος του καρπού, γενετικούς παράγοντες (ποικιλία ελιάς), το στάδιο ωρίμανσης της ελιάς, περιβαλλοντικές συνθήκες, διαδικασία επεξεργασίας του καρπού και την αποθήκευση [9] .
Οι χρωστικές ουσίες της χλωροφύλλης (κυρίως χλωροφύλλη-α) είναι δείκτες της ποιότητας του ελαιολάδου. Κατά τη διάρκεια της βιομηχανικής επεξεργασίας του σπόρου οι χρωστικές ουσίες τις χλωροφύλλης (κυρίως φαιοφυτίνες που είναι η καλύτερη διαλυτή ουσία στο λάδι) εξάγονται από τα ακατέργαστα λάδια και γίνονται δείκτες ποιότητας. Τα αποτελέσματα της θερμικής επεξεργασίας των καρπών της ελιάς ερευνήθηκαν ώστε να προσδιοριστεί η ποσότητα των κύριων χρωστικών που υπάρχουν στο παρθένο ελαιόλαδο. Κατά τη θερμική επεξεργασία το περιεχόμενο τις λουτείνης αυξήθηκε σημαντικά καθώς επίσης παρατηρήθηκε αύξηση στη β-καροτίνη, στη χλωροφύλλη (α+β) και στη φαιοφυτίνη (α+β) [3] .
Ο προσδιορισμός των χρωστικών της χλωροφύλλης γίνεται με φασματοφωτομετρικές μεθόδους, όπου για την ανίχνευσή τους χρησιμοποιούμε ορατή ακτινοβολία (VIS). Έτσι στο φρέσκο παρθένο ελαιόλαδο βρίσκουμε τα καροτενοειδή στο 414, 455, και 485 nm, τα φλαβονοειδή στα 535 nm και τη χλωροφύλλη στο 610 και 670nm [17]. Εκτός από την άμεση φασματοφωτομετρία οι ολικές χρωστικές ουσίες της χλωροφύλλης προσδιορίζονται και με φθορισμό ενώ οι μεμονωμένες χρωστικές ουσίες ανιχνεύονται με HPLC [8, 16, 18, 19] .

1.5 ΦΘΟΡΙΣΜΟΣ

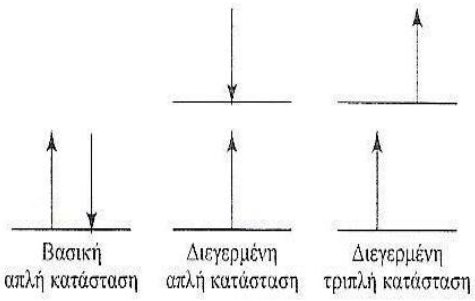
Ο Μοριακός Φθορισμός είναι μία κατηγορία της φασματομετρίας που συνήθως γίνεται με τη βοήθεια ειδικού οργάνου του φθορισμόμετρου όπου η διέγερση προκαλείται με απορρόφηση φωτονίων χωρίς τη μεταβολή του ηλεκτρονιακού spin. Εκτός του φθορισμόμετρου χρησιμοποιούνται και άλλες εργαστηριακές διατάξεις όπου συλλέγεται ο φθορισμός με κατάλληλη οπτική ίνα. Ο Φθορισμός είναι βραχύβιο φαινόμενο και η παραγόμενη φωταύγεια εξαφανίζεται αμέσως ($<10^{-5}$ sec.). Σε όλες τις περιπτώσεις η εκπεμπόμενη ακτινοβολία περιέχει μήκη κύματος μεγαλύτερα από εκείνα της ακτινοβολίας διέγερσης.
Στο ενεργειακό διάγραμμα ενός τυπικού φωτοφωταυγάζοντος μορίου, η κατώτερη παχιά οριζόντια γραμμή αντιστοιχεί στη βασική ενεργειακή κατάσταση του μορίου που συνήθως συμβολίζεται ως S_o ενώ οι ανώτερες παχιές γραμμές αντιστοιχούν στα βασικά δονητικά ενεργειακά επίπεδα των τριών διεγερμένων ηλεκτρονιακών καταστάσεων.
Τα φάσματα φθορισμού λαμβάνονται με διέγερση σε καθορισμένο μήκος κύματος και καταγραφή της έντασης εκπομπής ως συνάρτηση του μήκους κύματος [20] .



Σχήμα 1.5 *Μερικό ενεργειακό διάγραμμα ενός φωτοφωταυγάζοντος συστήματος.*

Ο φθορισμός στηρίζεται στο φαινόμενο της φωταύγειας το οποίο , έχει ως εξής: το μόριο μιας διαλυμένης ουσίας, που περιέχεται σε ένα διάλυμα έχει την ικανότητα να απορροφά ακτινοβολία ορισμένου μήκούς κύματος και να μεταβαίνει σε κατάσταση αυξημένης ενέργειας (διεγερμένη κατάσταση). Μετά από παραμονή απειροελάχιστου χρόνου σε αυτήν, επιστρέφει αυτόματα στην αρχική βασική του κατάσταση, αποδίδοντας μέρος της προσληφθείσας ενέργειας υπό μορφή ακτινοβολίας. Η εκπεμπόμενη ακτινοβολία έχει πάντα μεγαλύτερο μήκος κύματος από εκείνη που προκάλεσε τη διέγερση (απορροφούμενη) γιατί μεταφέρει μικρότερη ενέργεια. Το φαινόμενο αυτό ονομάζεται φθορισμός και η ακτινοβολία η οποία εκπέμπεται ακτινοβολία φθορισμού. Ο χρόνος παραμονής του μορίου στην διεγερμένη κατάσταση είναι της τάξεως των $10^{-12} – 10^{-8}$ sec. Το διεγερμένο μόριο όμως είναι δυνατόν να χάσει με άλλο τρόπο μέρος την επιπλέον ενέργεια και να μεταβεί σε μια μετασταθή

κατάσταση, η οποία είναι σχετικά σταθερή αν και έχει μεγαλύτερη ενέργεια από τη βασική κατάσταση του μορίου. Αφού παραμείνει στη μετασταθή κατάσταση για χρόνο 0,001 sec ή και περισσότερο, επιστρέφει στη βασική του κατάσταση εκπέμποντας φωτεινή ακτινοβολία μικρότερης ενέργειας και συνεπώς μεγαλύτερου μήκους κύματος από εκείνη του φθορισμού. Το φαινόμενο αυτό λέγεται φωσφορισμός.
Συνεπώς η φωταύγεια είναι το φαινόμενο ακτινοβολίας από ένα διεγερμένο, λόγω απορρόφησης ακτινοβολίας μόριο, και περιλαμβάνει το φθορισμό και το φωσφορισμό.



Σχήμα 1.6 *Διεγερμένη κατάσταση μορίων.*

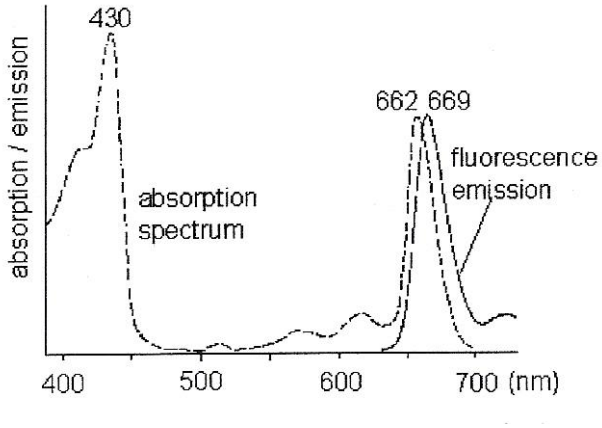
Η αρχή λειτουργίας της φθορισμομετρίας στηρίζεται στο γεγονός ότι ένταση της εκπεμπόμενης ακτινοβολίας φθορισμού, είναι απ' ευθείας ανάλογη προς τη συγκέντρωση της φθορίζουσας ουσίας στο εξεταζόμενο διάλυμα (για χαμηλές σχετικά συγκεντρώσεις).
Η ένταση της ακτινοβολίας φθορισμού είναι ανάλογη επίσης προς την ένταση της ακτινοβολίας διέγερσης για αυτό οι πηγές ακτινοβολίας (λυχνίες) που εφαρμόζονται πρέπει να παρέχουν ενέργεια μεγάλης ισχύος (ακτινοβολία υψηλής έντασης).
Σε κάθε περίπτωση εφαρμογής της φθορισμομετρίας πρέπει να δίδονται τα μήκη κύματος (nm) της ακτινοβολίας διέγερσης και εκπομπής.
Μια από τις πιο σημαντικές εφαρμογές της μεθόδου αυτής είναι ο προσδιορισμός βιταμινών (πολύ μικρές συγκεντρώσεις) σε τρόφιμα και υγρά. Οι βιταμίνες που έχουν την ιδιότητα να εμφανίζουν το φαινόμενο της φωταύγειας λέμε ότι έχουν φυσικό φθορισμό όπως είναι η A (ρετινόλη), η E (τοκοφερόλη), η B_{12} (ριβοφλαβίνη), κ.α..

Πίνακας 1.4 *Βιταμίνες και σε ποια μήκη κύματος φθορίζουν.*

Βιταμίνη	Είδος φθορίζοντος μορίου	λ_{exc}(nm)*	λ_{emm}(nm)*
Ρητινόλη (A)	φυσικός φθορισμός	313	475
Τοκοφερόλη (E)	" "	295	340
Θειαμίνη (B1)	οξείδωση σε θειαμίνη	375	430
Ριβοφλαβίνη (B2)	φυσικός φθορισμός	440	565
Φολικό οξύ	" "	365	450
Νικοτιναμίδιο	συμπύκνωμα κετόνης	365	440
Παντοθενόλη (B5)	παράγωγο νινυδρίνης	385	465
Πυριδοξίνη (B6)	" πυριδοξάλης με κυανιούχα	365	445
Κυανοκοβαλαμίνη	ιμιδαζολικό παράγωγο ή	285	380
(B12)	μετατροπή σε αλλοξαζίνη	440	>510
Ασκορβικό οξύ(C)	οξείδωση με ο-φαινυλενοδιαμίνη	350	430
Καλσιφερόλη (D)	προϊόν κατεργασίας με οξύ	390	470
Φυλλοκινόνη (K1)	παράγωγο της ναφθοκινόνης	365	431

* λ_{exc} = μήκος κύματος ακτινοβολίας διέγερσης
λ_{emm} = " " " εκπομπής (φθορισμού)

Οπουδήποτε υπάρχει χλωροφύλλη μπορεί να μετρηθεί με το φθορισμό (ελαιόλαδο, φύλλα, φυτοπλαγκτόν κ.α.) ενώ με βάση τον φθορισμό της χλωροφύλλης είναι εφικτή η μέτρηση της φωτοσύνθεσης [21, 22] .



Σχήμα 1.6 *Φάσμα απορρόφησης και φθορισμού της χλωροφύλλης-α.*

Έτσι διαπιστώνεται ότι ο φθορισμός της χλωροφύλλης στην επιδερμίδα των φύλλων τοποθετείται στα 650-800nm με μέγιστη κορυφή στα 690nm και στα 740 nm ενώ ο φθορισμός των φαινολικών ουσιών 350-600 nm με μέγιστο στα 440 και 540 nm [21, 22].
Οι φασματικές κορυφές της χλωροφύλλης στο φυτοπλαγκτόν εμφανίζονται στα 670-690 nm [23] .
Ο φθορισμός της χλωροφύλλης στα φυτικά λάδια σύμφωνα με τη βιβλιογραφία εμφανίζεται στα 681 nm (χλωροφύλλη-α 669 nm, χλωροφύλλη-β 653 nm [8, 24, 25], παράγωγα χλωροφύλλης βλέπουμε στα 640-800 nm (max 675), πολυφαινόλες και φαινόλες 315-330 nm, Βιταμίνες 350-600 nm (Βιτ.Ε 525 nm, Βιτ. A, D, K 480-510 nm) [24-26] φαιοφυτίνη-α 671 nm, φαιοφυτίνη -β 658 nm, NADH KAI NADPH 440-464 nm, FAD και φλαβονοειδή 520-535 nm [8, 26] .
Με τις τεχνικές του σύγχρονου φθορισμού μπορούν να διαφοροποιηθούν τα παρθένα ελαιόλαδα σύμφωνα με τη ποιότητα τους σε λαμπάντε και εδώδιμα (η μέγιστη διαφοροποίηση των φασμάτων στα εδώδιμα και τα λαμπάντε εμφανίζεται στα 429-545 nm) [27] .
Διάφοροι παράμετροι που επηρεάζουν το φθορισμό είναι οι καιρικές συνθήκες, η ηλιακή ακτινοβολία, η εποχή καθώς και οι παράμετροι κάτω από τις οποίες γίνεται το πείραμα όπως η ποσότητα του δείγματος, θερμοκρασία του δείγματος και η συσκότιση του χώρου [15] .

Ένα από τα σημαντικότερα πλεονεκτήματα της μεθόδου του φθορισμού είναι η επιλεκτικότητα του. Εντούτοις σε ορισμένες περιπτώσεις είναι ανεπαρκής. Σε αυτές τις περιπτώσεις χρησιμοποιούνται πολυδιάστατες τεχνικές φθορισμού όπως η συνολική φωτοβόλος ακτινοβολία (TLS, Total Luminescence Spectroscopy) η οποία βοηθάει στο χαρακτηρισμό, τη διαφοροποίηση και τον έλεγχο της ποιότητας του ελαιολάδου [28].
Άλλος τρόπος φθορισμού είναι ο front-face φθορισμός, όπου χρησιμοποιούνται δυο ανόθευτα δείγματα λαδιού διαφορετικής γεωμετρίας. Με αυτό το τρόπο το δείγμα είναι μέσα στη κυψελίδα και η ακτίνα περνάει μέσα από αυτήν. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα να υπάρχει μεγάλο λάθος γιατί το ελαιόλαδο απορροφά σημαντικό ποσοστό ακτινοβολίας

και φθορισμού. Επίσης μπορεί να χρησιμοποιηθεί ο right-angel φθορισμός για τα διαυγή δείγματα που αραιώνονται με n-εξάνιο [29].
Η μέθοδος του φθορισμού χρησιμοποιείται επίσης για τον εντοπισμό επιπρόσθετων χρωστικών ουσιών όπως είναι η χλωροφύλλη του χαλκού. Η ουσία αυτή προστίθεται παράνομα σε ελαιόλαδα (κυρίως ραφιναρισμένα και λαμπάντε) που έχουν χάσει το χρώμα τους για να το επαναφέρουν. Η ανίχνευση αυτής της χρωστικής είναι δύσκολη λόγω της ομοιότητάς της με την κανονική χλωροφύλλη. [4]

Στην παρούσα πτυχιακή εργασία, η μέθοδος του φθορισμού εφαρμόστηκε αρχικά για το προσδιορισμό της χλωροφύλλης σε μη νοθευμένα δείγματα, για να ελεγχθεί μια πιο γρήγορη και πιο φορητή μέθοδος όπως είναι ο φθορισμός. Επίσης έγινε σύγκριση των αποτελεσμάτων αυτής της μεθόδου με τα αποτελέσματα της φασματοφωτομετρίας για να διαπιστωθεί αν υπάρχει συσχέτιση μεταξύ τους (Κεφάλαιο 3).

1.6 ΟΞΥΤΗΤΑ - ΟΓΚΟΜΕΤΡΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ

Η οξύτητα αποτελεί το βασικότερο κριτήριο ποιοτικής αξιολόγησης του ελαιολάδου. Με βάση την οξύτητα, το ελαιόλαδο διακρίνεται σε φαγώσιμο (εδώδιμο) με οξύτητα έως 3,3% και βιομηχανικό (λαμπάντε) με οξύτητα μεγαλύτερη του 3,3% [27] .

Πίνακας 1.5 *Κατηγοριοποίηση του ελαιολάδου βάση της οξύτητας.*

ΟΝΟΜΑΣΙΑ	**ΜΕΓΙΣΤΗ ΟΞΥΤΗΤΑ**	**ΧΡΗΣΗ**
Εξαιρετικά παρθένο	1%	Σαλάτες
Παρθένο ελαιόλαδο	1%	Φαγητά
Κοινό παρθένο-κουράντε	3.30%	Φαγητά κατσαρόλας
Βιομηχανικό παρθένο ή λαμπάντε	3-5%	

[2, 25] .

Η οξύτητα του ελαιολάδου εξαρτάται κατά κύριο λόγο από την ποιοτική κατάσταση του ελαιόκαρπου από τον οποίο προέρχεται και μεταβάλλεται πολύ λίγο από την εξαγωγή του απ' αυτόν. Η αύξηση της οξύτητας του ελαιολάδου, μετά την παραλαβή του από τον ελαιόκαρπο, οφείλεται κυρίως στην παρουσία υδρολυτικών ενζύμων και υγρασίας στο ίζημα (μούργα) που καθιζάνει στον πυθμένα των δοχείων αποθήκευσης και διατήρησης [1].
Η οξύτητα ανιχνεύεται μέσω της ογκομετρικής ανάλυσης, η οποία είναι μια κατηγορία αναλύσεων της ποσοτικής ανάλυσης, στις οποίες με τη βοήθεια ενός διαλύματος γνωστής συγκέντρωσης, το οποίο ονομάζεται πρότυπο διάλυμα ή τιτλοδότης, προσδιορίζεται η συγκέντρωση διαλύματος άγνωστης συγκέντρωσης που λέγεται άγνωστο τιτλοδοτούμενο διάλυμα.
Στην ογκομετρική ανάλυση ο τιτλοδότης τοποθετείται συνήθως στη προχοϊδα και το τιτλοδοτούμενο διάλυμα στη κωνική. Οι υπολογισμοί γίνονται με τη βοήθεια της σχέσης που ισχύει στο ισοδύναμο σημείο $greq_{τιτλοδότη} = greq_{τιτλοδοτούμενης\ ουσίας}$

1.7 ΝΟΘΕΙΑ

Το παγκόσμιο ενδιαφέρον για το ελαιόλαδο αυξάνεται καθημερινά λόγω των ευεργετικών του επιδράσεων στην υγεία και τη σύνδεση του με τη Μεσογειακή – Κρητική Διατροφή. Επίσης, το ελαιόλαδο διακρίνεται για το εξαιρετικό του άρωμα, την ευχάριστη γεύση του και τη σπουδαία βιολογική και θρεπτική του αξία. Αυτός είναι και ο κύριος λόγος που συνεχίζει και κυριαρχεί, πάρα το σκληρό ανταγωνισμό που δέχεται από άλλα φυτικά λάδια, τα οποία προσφέρονται σε χαμηλότερες τιμές.
Το ελαιόλαδο μοιάζει, σε γενικά χαρακτηριστικά, με τα άλλα φυτικά λάδια και έτσι είναι δυνατό να υπάρξει νοθεία χωρίς να γίνει αντιληπτή από το καταναλωτή (ή ακόμα και από εξειδικευμένα άτομα).
Η νοθεία του ελαιολάδου με άλλα φθηνότερα λάδια έχει ξεκινήσει να γίνεται από παλιά και από τα πιο γνωστά λάδια που έχουν χρησιμοποιηθεί μέχρι σήμερα για τη νοθεία του ελαιολάδου είναι το πυρηνέλαιο, το καλαμποκέλαιο, το φυστικέλαιο, το σησαμέλαιο, το ηλιέλαιο, το σογιέλαιο, το φουντουκέλαιο και το λάδι της παπαρούνας [11, 30]. Έχει διαπιστωθεί επίσης νοθεία με χρήση πολύ μικρής ποσότητας ζωικών λαδιών (π.χ. λαρδί – χοιρινό λίπος), ρετσινόλαδου, εστεροποιημένων ελαιολάδων (λάδια τα οποία προέρχονται από εστεροποίηση της γλυκερίνης με λιπαρά οξέα), μετουσιωμένο κραμβέλαιο με ανιλίνη. Καταλαβαίνουμε λοιπόν ότι η νοθεία του ελαιολάδου σε αρκετές περιπτώσεις μπορεί να αποτελέσει σοβαρό πρόβλημα για τη δημόσια υγεία. Για αυτό το λόγο πρέπει να υπάρχουν μέθοδοι ανίχνευσης της νοθείας του ελαιολάδου ικανές να ανιχνεύσουν οποιαδήποτε νοθεία και σε οποιοδήποτε ποσοστό όσο μικρό και αν είναι αυτό [1, 25].
Μέχρι σήμερα υπάρχουν αρκετές μέθοδοι ανίχνευσης της νοθείας όπως οι χρωματομετρικές αντιδράσεις, ο προσδιορισμός του βαθμού ιωδίου, η τιμή σαπωνοποίησης, μέτρηση πυκνότητας, ιξώδες, δείκτης διάθλασης, απορρόφηση στο υπεριώδες φως και άλλες χρωματογραφικές τεχνικές. Η πιο διαδεδομένη μέθοδος για την ανίχνευση του παρθένου ελαιολάδου με ραφιναρισμένο λάδι είναι με second-derivative φασματοφωτομετρία, με την οποία μπορεί να προσδιοριστεί και νοθεία μικρότερη του 5% [31]. Μία άλλη μέθοδος ανίχνευσης νοθείας του ελαιολάδου με φουντουκέλαιο είναι η χρήση ανοσοποιητικών μεθόδων. Αυτό γίνεται με την απομόνωση των υπολειμμάτων αλλεργιογόνου πρωτεΐνης στο φουντουκέλαιο. Με αυτή τη μέθοδο ανιχνεύεται φουντουκέλαιο σε ελαιόλαδο ακόμα και σε ποσοστό 1% [30]. Αυτές όμως οι μέθοδοι είναι δύσκολο να χρησιμοποιούνται γιατί είναι χρονοβόρες, ακριβές και χρειάζονται ειδικούς και έμπειρους χειριστές [25, 32].
Στην παρούσα εργασία η μέθοδος του φθορισμού εφαρμόστηκε σαν μία νέα-εναλλακτική τεχνική για την εύρεση της νοθείας. Αυτή η νέα τεχνική είναι, γρήγορη (χωρίς προετοιμασία δειγμάτων), φιλική προς το περιβάλλον (χωρίς χημικά και οργανικούς διαλύτες), οικονομική και εύχρηστη.

1.8 ΤΗΓΑΝΙΣΜΑ

Το παρθένο ελαιόλαδο είναι το πιο κοινό λάδι που χρησιμοποιείται στο μαγείρεμα στις μεσογειακές χώρες και το τηγάνισμα, μια από τις πιο συνηθισμένες τεχνικές μαγειρέματος.
Με την έκθεση του ελαιολάδου στον αέρα και το φως αρχίζει η επιδείνωση στο ελαιόλαδο εξαιτίας της οξείδωσης ακόμη και κοντά σε θερμοκρασία δωματίου (30ºC). Το ποσοστό επιδείνωσης γίνεται πολύ γρήγορα στο τηγανισμένο ελαιόλαδο όχι μόνο εξαιτίας της οξείδωσης αλλά και λόγω της υδρόλυσης, όπως αποδεικνύεται από το αυξανόμενο % FFA (ποσοστό ελευθέρων λιπαρών οξέων) με το χρόνο τηγανίσματος. Η επιδείνωση στο τηγανισμένο ελαιόλαδο δεν εξαρτάται μόνο από το ποσοστό υγρασίας και τη θερμική αγωγιμότητα των τηγανισμένων τροφίμων, αλλά και από την περιεκτικότητα αυτών των τροφίμων σε λίπος [11, 33] .
Το βαθύ τηγάνισμα είναι μια διαδικασία κατά την οποία μέρος του νερού των τροφίμων αντικαθίσταται από το μαγειρεμένο λίπος. Οι συνέπειες του βαθύ τηγανίσματος είναι οι ακόλουθες:

i. Το πραγματικό χρονικό διάστημα που το καυτό μαγειρεμένο λίπος ενεργεί στα τρόφιμα είναι αρκετά σύντομο. Η όλη διαδικασία τηγανίσματος διαρκεί μόνο λίγα λεπτά. Το μεγαλύτερο μέρος αυτού του χρόνου αντιστοιχεί στη φάση που εξατμίζεται το νερό. Κατά τη διάρκεια αυτής της φάσης, η θερμοκρασία μέσα στα τρόφιμα είναι γύρω στους 100°C. Ως εκ τούτου, το καυτό μαγειρεμένο λίπος ενεργεί στα τρόφιμα για μια εξαιρετικά μικρή χρονική περίοδο, η και δράση αυτή περιορίζεται στο εξωτερικό του τροφίμου. Ένα άλλο σημείο που πρέπει να γνωρίζουμε είναι ότι η διαδικασία αυτή πραγματοποιείται με έλλειψη οξυγόνου. Το τελικό αποτέλεσμα αυτών των δύο παραγόντων είναι ότι το βαθύ τηγάνισμα επιδρά στα θερμοευαίσθητα συστατικά των τροφίμων λιγότερο επιθετικά από άλλες μαγειρικές διαδικασίες. Παραδείγματος χάριν, έχει διαπιστωθεί ότι τα λαχανικά (πατάτες και πιπέρια) διατηρούν πολύ περισσότερη βιταμίνη C όταν τηγανίζονται από ότι όταν μαγειρεύονται με άλλες μεθόδους, όπως το σοτάρισμα ή μαγείρεμα σε κατσαρόλα.

ii. Το λίπος είναι ίσως το συστατικό των τροφίμων που προσδίδει περισσότερο σε αυτά την ωραία γεύση τους. Η ανταλλαγή του ύδατος με το μαγειρεμένος λίπος και η τραγανή επιφάνεια καθιστούν τα τηγανισμένα τρόφιμα πιο εύγευστα.

iii. Εάν το τηγάνισμα γίνεται σωστά, η ποσότητα του λίπους που καταναλώνεται στα τηγανιτά τρόφιμα δεν είναι μεγαλύτερη απ΄ ότι όταν χρησιμοποιούνται άλλες μέθοδοι μαγειρέματος επειδή υπάρχει μία περιορισμένη διείσδυση του λαδιού μέσα στο τρόφιμο.

iv. Σημαντικές ποσοτικές και ποιοτικές αλλαγές εμφανίζονται στην λιπαρή σύνθεση των τροφίμων κατά τη διάρκεια του τηγανίσματος. Κατά συνέπεια, η πραγματική πρόσληψη λιπιδίων όταν καταναλώνουμε τηγανισμένα τρόφιμα διαφέρει από την πρόσληψη λιπιδίων όταν καταναλώνουμε ακατέργαστα τρόφιμα.

Το ελαιόλαδο αποδεικνύεται ιδιαίτερα κατάλληλο για το τηγάνισμα διαφόρων ειδών τροφίμων. Εξαρτάται όμως από το αν είναι άπαχα ή λιπαρά τα τρόφιμα που τηγανίζονται. Όσον αφορά στα άπαχα τρόφιμα κατά το τηγάνισμά τους, το μαγειρεμένο λάδι εισέρχεται σ΄ αυτά και έτσι η λιπαρή σύνθεση αυτών των τροφίμων είναι αυτή του μαγειρεμένου λίπους [11].
Κατά την διάρκεια αυτής της διαδικασίας, που οφείλεται στην υψηλή θερμοκρασία και στην απορρόφηση οξυγόνου και νερού, οι τριγλυκερόλες στο λάδι υφίστανται μια σειρά από αντιδράσεις όπως υδρόλυση, οξείδωση ισομερισμό και πολυμερισμό.
Το ελαιόλαδο και γενικά όλες οι λιπαρές ύλες οξειδώνονται, από την επίδραση της θερμοκρασίας κατά το μαγείρεμα και το τηγάνισμα, ιδιαίτερα όταν οι συνθήκες είναι πολύ δραστικές (υψηλή θερμοκρασία και μεγάλη διάρκεια μαγειρέματος).
Η έντονη και προχωρημένη οξείδωση συνδέεται με τη δημιουργία υπεροξειδίων, πολυμερών και προϊόντων διάσπασης των υπεροξειδίων.
Το ελαιόλαδο οξειδώνεται λιγότερο από τα σπορέλαια κατά το τηγάνισμα επειδή περιέχει μικρότερο ποσοστό πολυακόρεστων οξέων (λινελαϊκό , λινολενικό) και μεγαλύτερο ποσοστό μονοακόρεστων (ελαϊκό). Η αντοχή του ελαιολάδου κατά τη διάρκεια τηγανίσματος είναι μεγάλη εξαιτίας της περιεκτικότητάς του σε λινελαϊκό οξύ (πίνακας 1.6). Η περιεκτικότητα του ελαϊκού οξέος στο ελαιόλαδο δεν μεταβάλλεται γρήγορα κατά το τηγάνισμα, αφού πρώτα πρέπει να μειωθεί στο ελάχιστο η περιεκτικότητα σε λινελαϊκό οξύ. Αυτό το κάνει πιο ανθεκτικό, και για αυτό το ελαιόλαδο θεωρείται το πιο κατάλληλο για τηγάνισμα.

Πίνακας 1.6 *Ποσοστό (%)των λιπαρών οξέων μετά από 10 διαδικασίες τηγανίσματος* [17] .

	VOO (virgin olive oil)			**VS** (vegetable shortening)		
Fatty acid	**Fresh**	**Deep-fry***	**Pan-fry***	**Fresh**	**Deep-fry***	**Pan-fry***
8:0	n.d.	0.01	0.09	n.d.	0.07	0.12
14:0	n.d.	n.d.	n.d.	0.2	0.2	0.2
16:0	12.3	12.1	12.3	11.1	11.8	12.1
16:1	0.6	0.6	0.6	0.1	n.d.	n.d.
18:0	2.4	2.3	2.3	3.0	3.4	3.9
18:1ω9c	73.0	72.5	73.0	27.6	28.1	29.2
18:1ω7	2.7	2.4	2.5	1.0	0.8	0.9
18:2ω6t†	n.d.	n.d.	n.d.	0.4	0.4	0.4
18:2ω6c	7.0	6.8	6.4	53.5	52.5	50.1
18:3ω3	0.6	0.6	0.5	0.14	0.16	0.17
20:0	0.3	0.3	0.3	0.2	0.3	0.3
20:1ω9	0.2	0.2	0.2	0.1	0.1	0.1
22:0	0.1	0.1	0.1	0.3	0.3	0.4
24:0	n.d.	n.d.	n.d.	0.1	0.1	0.1
PUFA	7.6	7.4	6.9	54.1	53.1	50.8
18:2/18:1	0.092	0.091	0.085	1.88	1.83	1.68
18:2/16:0	0.57	0.56	0.52	4.9	4.5	4.2
PUFA/SFA	0.50	0.50	0.40	3.7	3.3	2.9

1.8.1 Η ΔΙΑΤΡΟΦΙΚΗ ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΟΥ ΤΗΓΑΝΙΣΜΑΤΟΣ

Το ελαιόλαδο κατά το τηγάνισμα βοηθά:

- στην υψηλή διατήρηση της βιταμίνης Α και C σε διάφορα φαγητά
- στον εμπλουτισμό των τροφίμων με βιταμίνη Ε από το απορροφούμενο λάδι
- στον εμπλουτισμό των τροφίμων με το απορροφούμενο λάδι αυξάνει τη πρόσληψη σε θερμίδες
- στον εμπλουτισμό των τροφίμων με σκουαλένιο από το απορροφούμενο λάδι [34] .

Εκτός από τα παραπάνω από έρευνες έχει διαπιστωθεί ότι κατά τη διάρκεια του τηγανίσματος κάτω από συνηθισμένες οικιακές συνθήκες, μετά από 8 τηγανίσματα πατάτας με το ίδιο λάδι υπήρξε σημαντική επιδείνωση των φυσικών αντιοξειδωτικών του λαδιού. Η συνοχή από α- και (β+γ) -τοκοφερόλες κατά τη διάρκεια των 8 τηγανισμάτων άλλαξε από 85-90% (πρώτο τηγάνισμα) σε 15-40% (στο $8^{ο}$ τηγάνισμα). Ακόμα σημειώθηκε σημαντική μείωση διαφόρων φαινολών μέχρι το $8^{ο}$ τηγάνισμα, ενώ οι υδροξυτυροσόλες είχαν τη πιο γρήγορη μείωση. Στα δείγματα που τηγανίστηκαν πατάτες (που είναι το πιο σύνηθες σε ένα νοικοκυριό) είχανε μείωση από το $3^{ο}$-$4^{ο}$ τηγάνισμα [35]. Άλλη έρευνα παρουσιάζει ότι η συγκέντρωση των αντιοξειδωτικών αλλάζει σημαντικά κατά τη θερμική οξείδωση σε θερμοκρασία 60-100 ^{o}C. Τα πρώτα αντιοξειδωτικά που χάνονται κατά τη θερμική επεξεργασία φαίνεται να είναι τα παράγωγα υδροξυτυροσόλης. Η α-τοκοφερόλη οξειδώνεται μετά την ελάττωση των παραγώγων της υδροξυτυροσόλης, ενώ τα παράγωγα της τυροσόλης, είναι τα αντιόξινα που μειώνονται λιγότερο. Η αύξηση της σταθερότητας του ελαιολάδου εξαρτάται από την υδροξυτυροσόλη η οποία είναι αποτελεσματική σε τιμές υπεροξειδίου χαμηλότερες των 20meq/kg. Η τυροσόλη και η α-τοκοφερόλη φαίνεται να έχουν μια συνεργατική επίδραση. Όσον αφορά στην βιολογική αξία του παρθένου ελαιολάδου η υδροξυτυροσόλη καταστρέφεται ταχύτατα και είναι δυνατόν να απουσιάζει σε έξτρα παρθένο ελαιόλαδο όταν αυτό είναι αποθηκευμένο για μεγάλο χρονικό διάστημα [36] . Στην παρούσα εργασία έγιναν μετρήσεις UV σε τηγανισμένα δείγματα για να προσδιοριστούν τα προϊόντα οξείδωσης (K_{270} και K_{232}) και πως επηρεάζονται από το τηγάνισμα. Η μέθοδος VIS πραγματοποιήθηκε για τον προσδιορισμό της χλωροφύλλης και πως υποβαθμίζεται σε υψηλές θερμοκρασίες. Τέλος, μετρήθηκαν αυτά τα δείγματα και με τη μέθοδο του φθορισμού για να γίνει αφενός η συσχέτιση μεταξύ των τριών μεθόδων και αφετέρου να δειχθεί ότι η συγκεκριμένη μέθοδος ενδείκνυται για τη μελέτη της υποβάθμισης της χλωροφύλλης.

2.ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

2.1 ΔΕΙΓΜΑΤΑ

Τα δείγματα που χρησιμοποιήθηκαν στο πειραματικό μέρος είναι τυποποιημένα επώνυμα λάδια που πωλούνται στο εμπόριο και χρησιμοποιούνται από τους καταναλωτές καθημερινά.
Το ποσοστό της χλωροφύλλης στο ελαιόλαδο επηρεάζεται εκτός των άλλων και από γεωγραφικούς παράγοντες. Για το λόγο αυτό χρησιμοποιήθηκαν δείγματα από τη Σητεία, τη Ζάκρο, το Ηράκλειο και τα Χανιά. Αυτά τα δείγματα διαχωρίστηκαν σε βιολογικό ελαιόλαδο και σε ελαιόλαδο το οποίο δεν έχει υποστεί την διεργασία και τον τρόπο καλλιέργειας του βιολογικού. Υπάρχουν δείγματα διαφορετικών χρονολογιών αλλά και από τη φετινή σοδειά κάτι που βοήθησε στη μελέτη αν η χλωροφύλλη επηρεάζεται με τη πάροδο του χρόνου.
Σκοπός της λήψης διαφορετικών δειγμάτων είναι να διαπιστωθεί αν υπάρχουν διαφορές στο ποσοστό χλωροφύλλης που υπάρχει στο ελαιόλαδο όταν αυτό προέρχεται από διαφορετικές περιοχές, έχει υποστεί διαφορετική επεξεργασία (φιλτραρισμένο-αφιλτράριστο), έχει διαφορετική θερμοκρασία παραλαβής και μάλαξης, και διαφορετικό χρόνο ζωής.
Τέλος έγινε θέρμανση (σε θερμοκρασία καπνίσματος) των δειγμάτων σε διαφορετικές θερμοκρασίες για να παρατηρηθούν οι αλλοιώσεις που παθαίνουν τα συστατικά του ελαιολάδου κατά την επεξεργασία του.
Η ονομασία του ελαιολάδου που χρησιμοποιήθηκε στο πειραματικό μέρος αντιστοιχεί στην ονομασία του ελαιολάδου που μπορεί να το βρει κανείς στο εμπόριο. Η αντιστοιχία φαίνεται στο παρακάτω πίνακα:

Όπως μπορεί να διαπιστωθεί από τον πίνακα 2.1 τα δείγματα ΕΖΝ, ΕΖΠ, ΕΠ, ΕΣ, ΕΧ, ΒΖ, ΒΣ, ΒΧ και ΒΤ είναι τυποποιημένα ελαιόλαδα. Τα ΕΖΒ1 και ΕΖΒ2 είναι ελαιόλαδα από τον ίδιο παραγωγό με διαφορά 2 ετών ημερομηνία παραγωγής.

Πίνακας 2.1 *Συγκεντρωτικός πίνακας δειγμάτων που χρησιμοποιήθηκαν και χαρακτηριστικά.*

Ονομασία Παραγωγών	**ΔΕΙΓΜΑ**	**Ημ/νία τυποποίησης**	**Πιθανή Ημ/νία Παραγωγής** [‡]	**Πειραματική ονομασία δείγματος**
Αγροτικών συνεταιρισμών Ζάκρου	Ελαιόλαδο Ζάκρου (νέο)	1-Ιουν-2005	Μαρ-05	ΕΖΝ
Αγροτικών συνεταιρισμών Ζάκρου	Ελαιόλαδο Ζάκρου (παλιό)	3-Ιουλ-2004	Μαρ-04	ΕΖΠ
Ένωση αγροτικών συνεταιρ. πεζών Ηρακλ.	Ελαιόλαδο Πεζών (Ηρακλείου)	Μαρ-2005	Δεκ-04	ΕΠ
Ένωση αγροτικών συνεταιρ. Σητείας	Ελαιόλαδο Σητείας	11-Οκτ-2005	Μαρ-05	ΕΣ
ΑΒΕΑ Αγροκήπιο Χάνια Κρήτης	Ελαιόλαδο Χανίων	Απρ-2005	Φεβ-04	ΕΧ
Τζουανάκης Μιχάλης	Βιολογικό Ζάκρου	Απρ-2005	Φεβ-04	ΒΖ
Ένωση αγροτικών συνεταιρισμ. Σητείας	Βιολογικό Σητείας	30-Μαρ-2005	Οκτ-04	ΒΣ
Συνεταιρ. Παραγ. Καταναλ. Οικολογ. Προϊόντων	Βιολογικό Χανίων	Σεπ-2005	Απρ-05	ΒΧ
Βασίλης Ζαφειρόπουλος	Ελαιόλαδο Ιδιώτη	δεν είναι τυποποιημένο	Μαρ-03	ΕΖΒ 1
Βασίλης Ζαφειρόπουλος	Ελαιόλαδο Ιδιώτη	δεν είναι τυποποιημένο	Φεβ-05	ΕΖΒ 2
Ένωση αγροτικών συνεταιρισμ. Σητείας	Βιολογικό Τοπλού	Ιουν.-2005	Φεβ-05	ΒΤ
Συνεταιρ. Παλαιόκαστρου	Ελαιόλαδο Παλαιόκαστρου (1)	δεν είναι τυποποιημένο	Δεκ-05	ΕΠΑΛ 1
Συνεταιρ. Παλαιόκαστρου	Ελαιόλαδο Παλαιόκαστρου (2)	δεν είναι τυποποιημένο	Δεκ-05	ΕΠΑΛ 2
Συνεταιρ. Παλαιόκαστρου	Ελαιόλαδο Παλαιόκαστρου(3α)	δεν είναι τυποποιημένο	Δεκ-05	ΕΠΑΛ 3α
Συνεταιρ. Παλαιόκαστρου	Ελαιόλαδο Παλαιόκαστρου(3β)	δεν είναι τυποποιημένο	Δεκ-05	ΕΠΑΛ 3β
Συνεταιρ. Παλαιόκαστρου	Ελαιόλαδο Παλαιόκαστρου (4)	δεν είναι τυποποιημένο	Δεκ-05	ΕΠΑΛ 4 (Μ.Ο. μίας εβδομ.)
Ένωση αγροτικών συνεταιρισμ. Σητείας	Ελαιόλαδο Σητείας (1)	δεν είναι τυποποιημένο	Δεκ-05	ΕΣΗΤ 1
Ένωση αγροτικών συνεταιρισμ. Σητείας	Ελαιόλαδο Σητείας (2)	δεν είναι τυποποιημένο	Δεκ-05	ΕΣΗΤ 2
Ένωση αγροτικών συνεταιρισμ. Σητείας	Ελαιόλαδο Σητείας (3)	δεν είναι τυποποιημένο	Δεκ-05	ΕΣΗΤ 3
	Ηλιέλαιο	Τυποποιημένο	----------	ηλιέλαιο
	Αραβοσιτέλαιο	Τυποποιημένο	----------	αραβοσιτέλαιο
	Σογιέλαιο	Τυποποιημένο	----------	σογιέλαιο
	Πυρηνέλαιο	Τυποποιημένο	----------	πυρηνέλαιο
	Φουντουκέλαιο	Τυποποιημένο	----------	Φουντουκέλαιο

Τα ΕΠΑΛ1,2,3α και 3β προέρχονται από τον ίδιο παραγωγό αλλά έχουν διαφορετική θερμοκρασία μάλαξης αφού τα δείγματα έχουν ληφθεί ανά τακτά χρονικά διαστήματα, ενώ το ΕΠΑΛ4 είναι ο μέσος όρος δειγμάτων κατά τη διάρκεια μίας βδομάδας. Η λήψη των ΕΣΗΤ έγινε βάση της θερμοκρασίας μάλαξης και του τόπου παραγωγής:

Πίνακας 2.2 *Περιγραφή των τριών δειγμάτων ΕΣΗΤ με τη θερμοκρασία μάλαξης των τόπο προέλευσης του ελαιοκάρπου και το υψόμετρο.*

ΔΕΙΓΜΑ	**ΘΕΡΜΟΚΡΑΣΙΑ**	**ΠΕΡΙΟΧΗ**	**ΥΨΟΜΕΤΡΟ**
ΕΣΗΤ1	45,7 ^{O}C	Ζάκρος	200 m.
ΕΣΗΤ2	39,6 ^{O}C	Σητεία	Θάλασσα
ΕΣΗΤ3	33,9 ^{O}C	Έξω Μουλιανά	250 m.

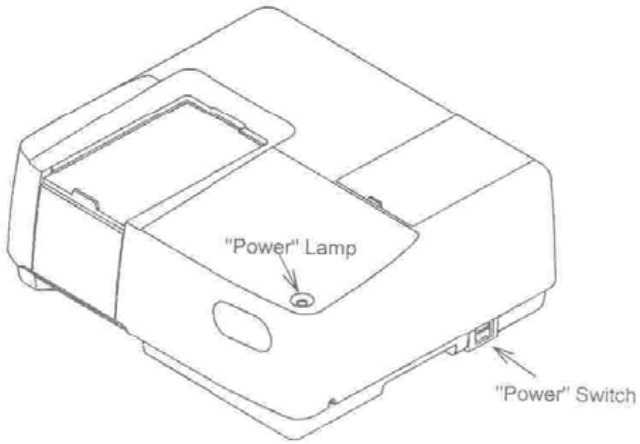
[‡] Η Ημερομηνία παραγωγής αντιστοιχεί σε 1,5 χρόνο πριν την ημερομηνία λήξης

Στα μη τυποποιημένα δείγματα ΕΣΗΤ και ΕΠΑΛ και ΕΖΒ επειδή τα δείγματα ήταν μη ομογενοποιημένα έγινε διήθηση χρησιμοποιώντας διηθητικό χαρτί, χωνί και ποτήρι βρασμού.

2.2 ΦΑΣΜΑΤΟΦΩΤΟΜΕΤΡΙΑ UV-VIS

2.2.1 ΠΕΡΙΓΡΑΦΗ ΟΡΓΑΝΟΥ:

Κατηγορία της ενόργανης ανάλυσης που γίνεται με τη βοήθεια ειδικού οργάνου του φασματοφωτόμετρου UV-ορατού , χρησιμοποιώντας την μετρούμενη απορρόφηση δείγματος σε συγκεκριμένο μήκος κύματος (συνήθως λ_{max}).
Τα βασικά μέρη του φασματοφωτόμετρου είναι: η πηγή της ακτινοβολίας , ο μονοχρωμάτορας, η κυψελίδα, ο ανιχνευτής και ο μετρητής ή καταγραφέας.
Η πηγή που χρησιμοποιείται για το υπεριώδες φάσμα είναι συνήθως λυχνίες εκκένωσης υδρογόνου ή δευτερίου, ενώ για την ορατή περιοχή χρησιμοποιούνται λυχνίες πυράκτωσης με νήμα βολφρανίου.
Οι κυψελίδες που χρησιμοποιούνται στην περιοχή του ορατού είναι από γυαλί ή πλαστικό ενώ για το υπεριώδες φάσμα από χαλαζία . Η διαδρομή που θα διανύσει το φως μέσα στη κυψελίδα είναι συνήθως 1 cm. Η ακτινοβολία ορισμένου μήκους κύματος η οποία απομονώθηκε με τον μονοχρωμάτορα έντασης I_o, προσπίπτει στο διάλυμα από την μια πλευρά της κυψελίδας και βγαίνει από την άλλη πλευρά, με ένταση I.
Φωτολυχνίες, φωτοπλάστες και φωτοδίοδοι χρησιμοποιούνται ως ανιχνευτές στο φασματοφωτόμετρο. Η αρχή λειτουργίας των ανιχνευτών αυτών είναι η εξής: τα φωτόνια της ορατής κι της υπεριώδους ακτινοβολίας έχουν ενέργεια ικανή να απελευθερώσει ηλεκτρόνια, όταν προσκρούουν σε επιφάνειες κατεργασμένες με ειδικές ενώσεις. Επίσης μπορούν να προκαλέσουν τη μετακίνηση μη αγώγιμων ηλεκτρονίων σε ζώνες αγωγιμότητας. Και στις δυο περιπτώσεις παράγεται ηλεκτρικό ρεύμα ανάλογο με την ισχύ της προσπίπτουσας ακτινοβολίας.



Σχήμα 2.1 *Στο πείραμα χρησιμοποιήθηκε φασματοφωτόμετρο τύπου JASCO V- 530.*

Βήμα 1ο:
Στην αριστερή πλευρά του φασματοφωτόμετρου πατάμε το διακόπτη ON για να ενεργοποιηθεί το μηχάνημα (όταν ενεργοποιηθεί ,η λάμπα χρειάζεται πέντε λεπτά για να σταθεροποιηθεί)

Βήμα 2ο:
Άνοιγμα του υπολογιστή

Βήμα 3ο:
Πατάμε measurement → parameters και γίνονται οι εξής ρυθμίσεις :
Photometric Mode →Abs
Response → medium
Band Width → 2.0 nm
Scanning Speed → 200nm / min
*Start → 800nm
*End → 200nm

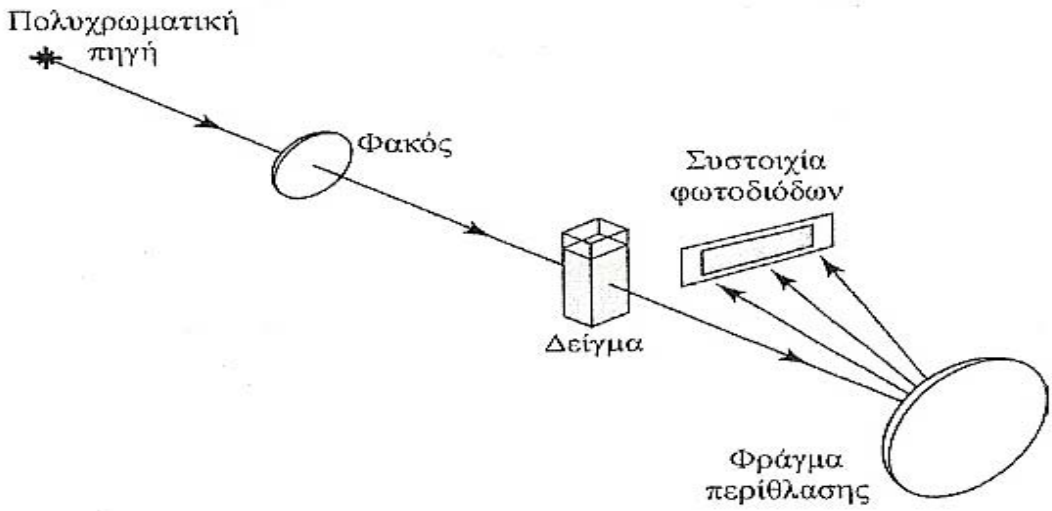
**για μετρήσεις στην υπεριώδες (UV) ακτινοβολία 800 -200 nm [§], ενώ στο ορατό (VIS) 800 – 400nm*

Βήμα 4ο:
Επιλέγεται από τα προγράμματα Jasco → Spectra Manager. Τοποθετούνται οι 2 κυψελίδες με το διαλύτη (ισοοκτάνιο) στο φασματοφωτόμετρο και κλείνεται καλά το καπάκι ώστε να μην διοχετεύεται φως. Πατάμε measurement → baseline και από το εικονίδιο του baseline πατάμε ξανά measurement. Αφού ολοκληρωθεί το φάσμα αναφοράς, το σώζουμε και πατάμε start για να επιβεβαιωθεί ότι το φάσμα είναι μηδενικό.

Βήμα 5ο:
Αλλάζουμε το δείγμα (κυψελίδα sample) και πατάμε start

Βήμα 6ο:
Με την ολοκλήρωση της απορρόφησης του φάσματος, εμφανίζεται ένα παράθυρο με το διάγραμμα αναφοράς καθώς και όλα τα διαγράμματα που θα ληφθούν στη συνέχεια. Η επικεφαλίδα του παραθύρου είναι PARAMETERS SAVES / PARAMETER NAME, όπου μετονομάζουμε το διάγραμμα και πατάμε OK ώστε να τα επεξεργαστούμε αργότερα. Η απορρόφηση στο υπεριώδες (200-800nm) είναι τόσο μεγάλη που η κορυφή της χλωροφύλλης δεν φαίνεται και έτσι αλλάζουμε την κλίμακα με τον εξής τρόπο:
View → scale → 0.5 ή 0.1. Για να μελετήσουμε συγκεκριμένες κορυφές στο φάσμα μετακινούμε με τον κέρσορα την κόκκινη γραμμή στα μήκη κύματος που μας ενδιαφέρουν (αυτά φαίνονται στο κάτω μέρος της οθόνης) [37].

[§] η υπεριώδες ακτινοβολία απορροφά στα 200-400 nm. Εμείς όμως ρυθμίσαμε το μηχάνημα σε μήκος κύματος από 200-800 nm ώστε να μετρηθεί και η χλωροφύλλη και να γίνει σύγκριση των φασμάτων στη συνέχεια αραιωμένων (UV) και μη (VIS) δειγμάτων.



Σχήμα 2.2 *Διάγραμμα πολυδιαυλικού φασματοφωτόμετρου.*

Τα φάσματα υπεριώδους – ορατού είναι φάσματα απορρόφησης ή εκπομπής και λαμβάνονται κατά τη διέγερση ή αποδιέγερση ενός ατόμου ή ενός μορίου από τη θεμελιώδη ηλεκτρονική κατάσταση σε μια από τις διεγερμένες ή αντιστρόφως, αντίστοιχα.

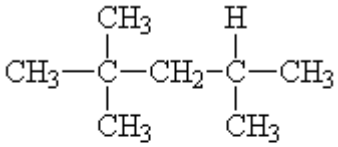
Η απορρόφηση είναι γραμμική συνάρτηση της συγκέντρωσης και η σχέση τους δίνεται από το νόμο του Beer – Lambert:
$A=\log (I_o/I)= \varepsilon * c * d$
A: απορρόφηση
I_o : ένταση εισερχόμενης ακτινοβολίας
I: ένταση εξερχόμενης ακτινοβολίας
ε: συντελεστής μοριακής απόσβεσης. Κάθε ένωση έχει το δικό της φάσμα και στο φάσμα αυτό υπάρχει ένας συντελεστής ε
c: συγκέντρωση του διαλύματος σε mole/L και σε κάποιες περιπτώσεις χρησιμοποιείται καθαρό δείγμα
d: μήκος διαδρομής της ακτινοβολίας σε cm [20] .

2.2.2 ΦΑΣΜΑΤΟΣΚΟΠΙΑ UV-VIS

Τα φάσματα απορρόφησης απεικονίζουν την οργάνωση των διπλών δεσμών και αποτελούν το *δακτυλικό αποτύπωμα* των χρωστικών ουσιών. Με τη φασματοσκοπία μπορούν να προσδιοριστούν σημαντικές χρωστικές ουσίες σε ένα δείγμα. Αφού προσδιοριστεί η έντασή τους μπορεί να υπολογιστεί η συγκέντρωσή τους [38].
Στην παρούσα εργασία παίρναμε πάντα τα φάσματα (φασματοσκοπία) αντί των εντάσεων κάποιων κορυφών (φασματοφωτομετρία) που είναι και η πλέον συνηθισμένη τεχνική.

ΠΡΟΕΤΟΙΜΑΣΙΑ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ

<u>Για τη προετοιμασία των δειγμάτων χρησιμοποιήθηκαν:</u>
Κωνικές φιάλες
Ογκομετρικές φιάλες (10ml)
Ηλεκτρονικό ζυγό
Πιπέτα – τιπ
Κυψελίδες χαλαζία (quartz)
<u>Δείγματα</u>: ελαιόλαδα και σπορέλαια
<u>Αντιδραστήρια</u>: Ισοοκτάνιο (isooctane C_8H_{18}) και ακετόνη



isooctane
2,2,4-trimethylpentane

Σχήμα 2.3 *Δομή ισοοκτανίου.*

<u>1ο βήμα</u>: πλένουμε τις κωνικές φιάλες με ισοοκτάνιο και περιμένουμε να στεγνώσουν καλά.

<u>2ο βήμα</u>: βάζουμε μικρή ποσότητα ελαιολάδου των δειγμάτων που θέλουμε να φτιάξουμε στις κωνικές φιάλες.

<u>3ο βήμα</u>: τοποθετούμε την ογκομετρική φιάλη στο ηλεκτρονικό ζυγό και μηδενίζουμε τη ζυγαριά (απόβαρο).

<u>4ο βήμα</u>: με την πιπέτα και το τιπ τραβάμε συγκεκριμένη ποσότητα ελαιολάδου από την κωνική φιάλη.

<u>5ο βήμα</u>: πιέζουμε προσεκτικά την πιπέτα στο εσωτερικό της ογκομετρικής φιάλης, ώστε να μην μείνει ποσότητα ελαιολάδου στα τοιχώματα της φιάλης μέχρι ο ζυγός να δείξει περίπου 0,03gr.

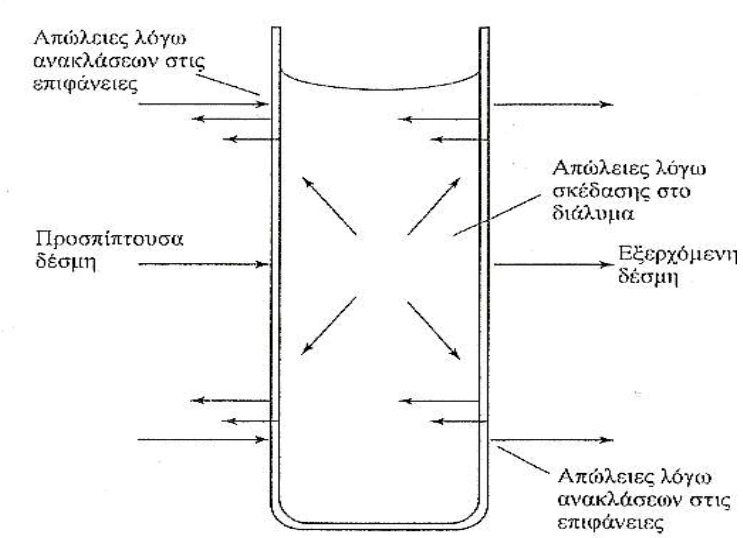
<u>6ο βήμα</u>: παίρνουμε την ογκομετρική φιάλη από το ζυγό και την γεμίζουμε μέχρι τη χαραγή των 10ml με ισοοκτάνιο, βάζουμε το πώμα και αναδεύουμε αργά μέχρι το μείγμα να ομογενοποιηθεί.

<u>7ο βήμα</u>: καθαρίζουμε πολύ καλά τις κυψελίδες χαλαζία με ισοοκτάνιο και αφού στεγνώσουν γεμίζουμε τη μια κυψελίδα με το δείγμα και την άλλη με καθαρό ισοοκτάνιο (τυφλό διάλυμα).

8ο βήμα: καθαρίζουμε προσεκτικά την εξωτερική επιφάνεια των κυψελίδων (ώστε να μην έχουν δαχτυλιές για το καλύτερο δυνατόν αποτέλεσμα).

9ο βήμα: τοποθετούμε τις κυψελίδες στο φασματοφωτόμετρο σε ειδική θέση για το προσδιοριζόμενο διάλυμα (S→sample) και ειδική θέση για το τυφλό (R→reference). Το τυφλό διάλυμα χρησιμοποιείται για να ισορροπηθούν τα φαινόμενα απορρόφησης από τα τοιχώματα της κυψελίδας καθώς και ανάκλασης της δέσμης φωτός από αυτά. Για αντιστάθμιση αυτών των φαινομένων συγκρίνεται η ισχύς της δέσμης που διαπερνά το διάλυμα του αναλυτή με την ισχύ της δέσμης που διαπερνά την κυψελίδα όταν αυτή περιέχει μόνο το διαλύτη.

Τα βήματα αυτά ακολουθήθηκαν για την προετοιμασία όλων των δειγμάτων για τις μετρήσεις στο UV.



Σχήμα 2.4 *Απώλειες από ανάκλαση και σκέδαση.*

ΥΠΟΛΟΓΙΣΜΟΣ ΕΙΔΙΚΟΥ ΣΥΝΤΕΛΕΣΤΗ ΄΄Κ΄΄

Τα φάσματα που λαμβάνουμε από το φασματοφωτόμετρο μας δίνουν την απορρόφηση (Α) οπού εμείς πρέπει να την μετατρέψουμε σε απορρόφηση Κ. Απορρόφηση Κ όπως προαναφέραμε είναι ο ειδικός συντελεστής του λαδιού ο οποίος είναι κριτήριο ποιότητας. Η απορρόφηση Κ ενός καλού λαδιού είναι της τάξεως 0,18-0,20.

Για να υπολογίσουμε τους συντελεστές Κ στα μήκη κύματος 232, 270 και 670 nm πρέπει να αφαιρέσουμε την απορρόφηση στο μήκος κύματος 800 όπου εκεί η απορρόφηση πρέπει πρακτικά να είναι μηδέν.
Οπότε A_{232}= απορρόφηση στα 232 nm – απορρόφηση στα 800 nm, ομοίως για το A_{270} και A_{670}.

Το Κ αναφέρεται στην απορρόφηση ενός διαλύματος που είναι περιεκτικότητας 1%w/v. Στο λάδι λόγω της σύγχρονης μέτρησης του K_{270} και K_{232}, η περιεκτικότητα πρέπει να είναι 0,3%w/v.

Δηλαδή:

στα 100 ml ογκομετρικής φιάλης βάζουμε 0,3 gr λάδι
στα 10 ml >> X; gr λάδι
X= 0,03gr λάδι

Στα 10ml διαλύματος έχουμε 0,03gr λάδι
Στα 100ml διαλύματος έχουμε X; gr λάδι
X= 0,3% w/v

Επομένως, 0,3% έχουν απορρόφηση A_{232}
1% έχει απορρόφηση X;
X= K_{232}

Ο *τελικός τύπος* που ισχύει είναι : $\mathbf{K_{232}=A_{232}/ (m*10)}$, όπου m είναι η μάζα σε gr.

Την ίδια διαδικασία ακολουθούμε και για τη μετατροπή του A_{270} σε K_{270} με *τελικό τύπο*:
$\mathbf{K_{270}=A_{270}/ (m*10)}$

Ομοίως εισάγουμε τον όρο $K_{670,}$ δηλαδή, την απορρόφηση στα 670nm ενός διαλύματος ελαιολάδου σε 1% ισοοκτάνιο. Ο τύπος είναι $\mathbf{K_{670}=A_{670}/(m*10)}$. Όπου $A_{670,}$ είναι η απορρόφηση του διαλύματος που παρασκευάστηκε σύμφωνα με τα πάρα πάνω. Έτσι την απορρόφηση A_{670} την ονομάζουμε K_{670} επειδή χρησιμοποιούμε αραιωμένο δείγμα και ακολουθούμε τους κανόνες του K_{232} και K_{270}.

Αν θεωρήσουμε τώρα ότι A'_{670} είναι η απορρόφηση του καθαρού ελαιολάδου ο τύπος που προκύπτει είναι:
$\mathbf{A'_{670}= K_{670} *100=A_{670}*100/ (m*10)= (A_{670}*10)/m}$

Ο τύπος λοιπόν που χρησιμοποιήθηκε για τον υπολογισμό του $K_{670,}$ είναι :
$\mathbf{A'_{670}=(A_{670}*10)/m}$

Επειδή η απορρόφηση στα 670nm είναι πολύ μικρή, όταν ερευνάται η απορρόφηση της χλωροφύλλης δεν χρειάζεται να γίνεται μετά από αραίωση. Επειδή όμως εμείς είχαμε το αραιωμένο δείγμα για τις μετρήσεις στα 232 nm και 270 nm μετρήσαμε και στα 670nm. Η ίδια μέτρηση (στα 670nm) γίνεται και χωρίς να είναι αραιωμένο το δείγμα (VIS) που είναι μια μέθοδος γρήγορη, πιο εύκολη, χωρίς χημικά και φιλική προς το περιβάλλον.
Με τον παραπάνω τρόπο έγιναν αρκετές μετρήσεις για κάθε δείγμα τις οποίες θα δούμε αναλυτικά σε επόμενο κεφάλαιο. Θα πρέπει να αναφερθεί ότι έγιναν διαφορετικές ζυγίσεις και επακόλουθες μετρήσεις στο ίδιο διάλυμα (δείγμα) την ίδια χρονική στιγμή, για να μελετηθεί όμως και η συμπεριφορά του συντελεστή K με τη πάροδο του χρόνου έγιναν μετρήσεις στο ίδιο δείγμα και μετά από διάστημα 3 μηνών. Σκοπός των διαφορετικών ζυγίσεων ήταν να απαλείψουμε τα σφάλματα (μέσω του μέσου όρου) που αναφέρονται στην επόμενη σελίδα.

Στη συνέχεια μετά τον υπολογισμό των Κ των δειγμάτων υπολογίζεται το Μέσο Όρο και η Τυπική Απόκλιση βάση του εξής τύπου:

$$\sigma = \sqrt{\frac{n\sum x^2 - \left(\sum x\right)^2}{n(n-1)}}$$

Η τυπική απόκλιση (σ) αποτελεί μέτρο της διασποράς των τιμών σε σχέση με τη τιμή του μέσου όρου και θα βοηθά στην απόρριψη τιμών.
Για να απορρίψουμε κάποιες ακραίες τιμές χρησιμοποιήσαμε το κριτήριο Chauvenet σύμφωνα με τα παρακάτω βήματα :

- υπολογίζουμε το μέσο όρο <x> και την τυπική απόκλιση (σ)
- για κάθε μια από τις ακραίες μετρήσεις (μεγαλύτερη - μικρότερη) υπολογίζαμε την τιμή β_{max} ή β_{min} από τη σχέση $\beta_i = |\langle x\rangle - x_i|/\sigma$.
- από το παρακάτω πίνακα βρίσκουμε πιο β αντιστοιχεί στον αριθμό μετρήσεων Ν και αν κάποιο από τα β_i είναι μεγαλύτερο από αυτά τα β, τότε απορρίπτουμε την αντίστοιχη χ_i μέτρηση.

Πίνακας 2.3 *Πίνακας απόρριψης τιμών.*

N	**B**	**N**	**β**
1	-	11	1,691
2	-	12	1,732
3	0,968	13	1,769
4	1,150	14	1,803
5	1,281	15	1,834
6	1,383	16	1,863
7	1,465	17	1,889
8	1,534	18	1,915
9	1,593	19	1,938
10	1,644	20	1,959

- για να υπολογίσουμε το επί τοις εκατό λάθος (στο K_{232} και K_{270}) ακολουθούμε τον εξής τύπο: λάθος%= (τυπική απόκλιση / μέσο όρο) $*$ 100
- αφού απορρίψουμε τις ακραίες μετρήσεις υπολογίζουμε εκ νέου το μέσο όρο και τη νέα τυπική απόκλιση
- τέλος, δεν εφαρμόζουμε ξανά το κριτήριο Chauvenet για τις εναπομείνασες μετρήσεις [39].

Απόρριψη τιμών γίνεται γιατί υπάρχουν πολλοί παράγοντες που μπορούν να προκαλέσουν σφάλμα.

<u>Πιθανοί λόγοι λάθους είναι:</u>

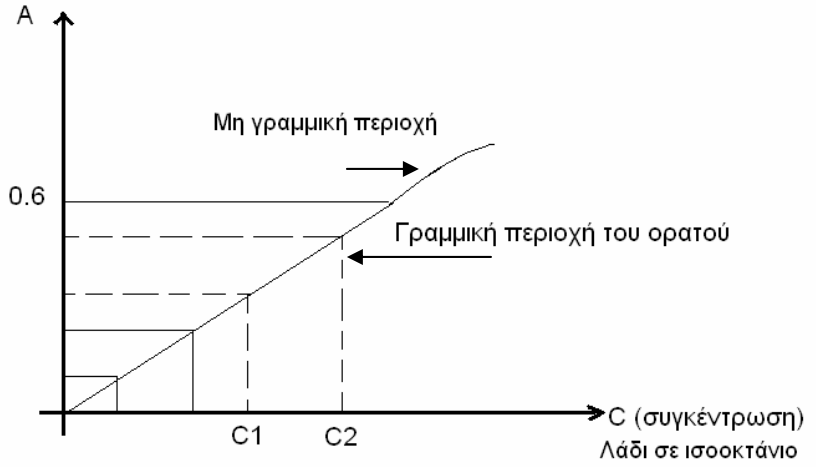
1. Ζύγιση (π.χ. λάθος ζυγού)
2. Μη επαρκής καθαριότητα ογκομετρικής φιάλης από προηγούμενη χρήση (υπολείμματα λαδιού στα τοιχώματα)

3. Παραμονή του λαδιού στα τοιχώματα και πιθανή απορρόφηση του αν παραμείνει αρκετή ώρα χωρίς ισοοκτάνιο
4. Ελλιπής διάλυση δείγματος
5. Το λάδι να μην είναι ομογενοποιημένο και έτσι σε κάθε λήψη δείγματος να λαμβάνουμε από διαφορετική φάση
6. Λάθος οργάνου
7. Μη επαρκής καθαριότητα κυψελίδας και εσωτερικά και εξωτερικά τοιχώματα (δακτυλικά αποτυπώματα, λίπη ή άλλες αποθέσεις στα τοιχώματα των κυψελίδων μεταβάλουν σημαντικά τα χαρακτηριστικά απορρόφησης τους)
8. Άλλα τυχαία γεγονότα.

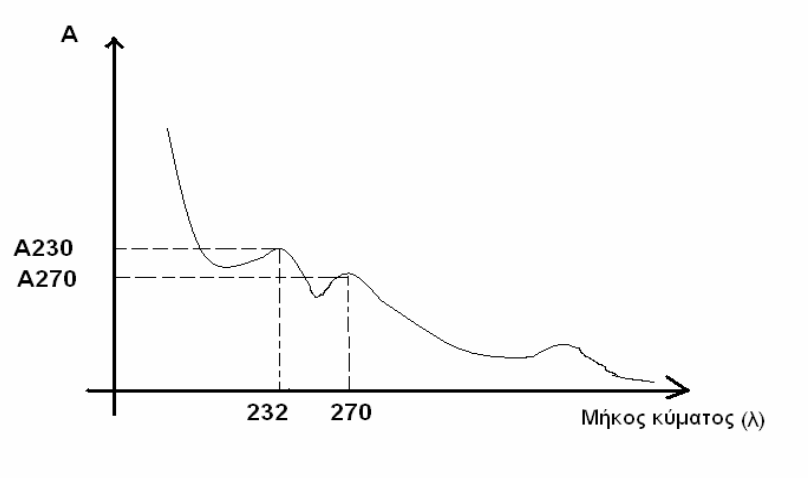
ΓΡΑΜΜΙΚΗ ΠΕΡΙΟΧΗ ΟΡΓΑΝΟΥ

Ο νόμος του Beer περιγράφει με επιτυχία την απορρόφηση υλικών που περιέχουν σχετικά μικρές συγκεντρώσεις της υπό εξέταση διαλυμένης ουσίας. Σε μεγάλες συγκεντρώσεις (συνήθως > 0,01M), η μέση απόσταση μεταξύ των απορροφούντων μορίων, μειώνεται σε σημείο που κάθε μόριο επηρεάζει την κατανομή φορτίων των γειτονικών του. Η αλληλεπίδραση αυτή με τη σειρά της, μπορεί να μεταβάλλει την ικανότητα τους να απορροφούν ακτινοβολία ενός δεδομένου μήκους κύματος. Επειδή το μέγεθος της αλληλεπίδρασης εξαρτάται από τη συγκέντρωση, η εμφάνιση αυτού του φαινομένου προκαλεί αποκλίσεις από τη γραμμική σχέση μεταξύ απορρόφησης και συγκέντρωσης.

Παρόμοια επίδραση εμφανίζεται και σε υλικά που περιέχουν χαμηλές συγκεντρώσεις του αναλύτη, αλλά υψηλές συγκεντρώσεις άλλων ουσιών και ειδικότερα ηλεκτρολυτών. Η στενή γειτνίαση ιόντων με τα μόρια του αναλύτη μεταβάλλει τη γραμμομοριακή απορροφητικότητα τους μέσω ηλεκτρονιακών αλληλεπιδράσεων. Η δράση αυτή ελαχιστοποιείται με αραίωση. Για αυτό στην αρχή της δειγματοληψίας ετοιμάστηκαν διαλύματα με διαφορετική αραίωση για να ελεγχθεί η διαφορετικότητα των φασμάτων που εμφανίζουν.



Σχήμα 2.5 *Σχέση συγκέντρωσης – απορρόφησης. Συνήθως μέχρι την τιμή A=0,6 το όργανο συμπεριφέρεται γραμμικά.*

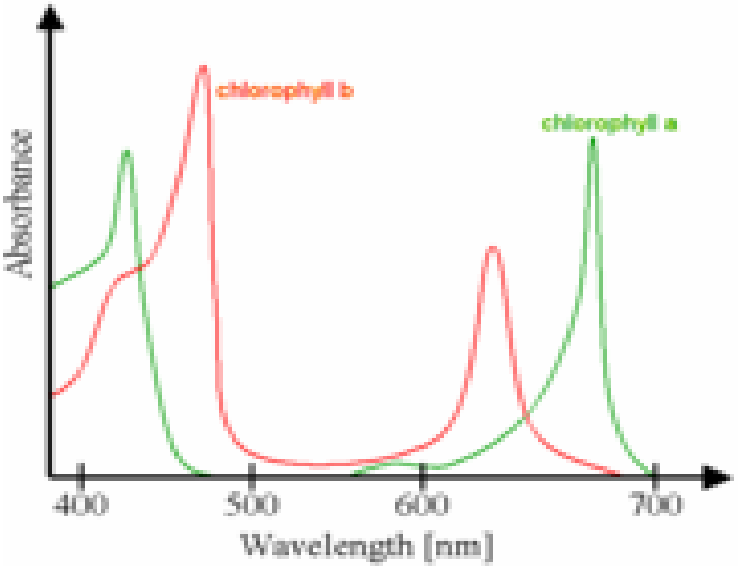


Σχήμα 2.6 *Γράφημα απορρόφησης με μήκος κύματος.*

Από τα παραπάνω σχήματα προέκυψε ότι η γραμμικότητα για τα 232 nm είναι για συγκεντρώσεις περίπου έως 0,3% w/v, ενώ για τα 270 nm είναι για συγκεντρώσεις έως 0,8%w/v. Έπειτα από αυτές τις διαπιστώσεις επιλέξαμε τα δείγματα μας να έχουν συγκέντρωση 0.3%w/v ώστε να είναι εφικτή η γραμμικότητα με ένα φάσμα και για τις δύο απορροφήσεις.

2.2.3 ΦΑΣΜΑΤΟΣΚΟΠΙΑ VIS

Με τον όρο ορατό φως ορίζεται η περιοχή της ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας που βλέπει το ανθρώπινο μάτι και περιλαμβάνει τις ακτινοβολίες με μήκη κύματος 400-700 nm. Στην ορατή περιοχή του φάσματος απορροφούνται ενώσεις που εμφανίζουν εκτεταμένη συζυγία (πάνω από 4-6 διπλούς δεσμούς που εναλλάσσονται με απλούς δεσμούς). Στα 250 – 280 nm απορροφούν διένια και τριένια (συζυγιακοί δεσμοί). Οπότε στα 270 nm εκτός από τις αλδεϋδες και τις κετόνες απορροφούν διένια και τριένια. Όσο αυξάνεται δεσμός των συζυγιακών δεσμών αυξάνεται και το μήκος κύματος στο οποίο απορροφά η ένωση.
Ενώσεις που περιέχουν ομάδες με τουλάχιστον 6 συζυγιακούς διπλούς δεσμούς απορροφούν στο ορατό και ονομάζονται χρωμοφόρες ή αυξόχρωμες (π.χ. καροτένιο χλωροφύλλη, φαιοφυτίνη κ.α.) [38]. Τα φάσματα εμφανίζονται με χρώμα συμπληρωματικό της περιοχής στην οποία απορροφούν. Το πρότυπο απορρόφησης του φωτός (δηλαδή η γραφική παράσταση της απορρόφησης στα διάφορα μήκη κύματος του φωτός) από μια χρωστική ονομάζεται φάσμα απορρόφησης της χρωστικής αυτής. Η χλωροφύλλη λόγω των συζυγών διπλών δεσμών απορροφά στο ορατό φως.
Για να πραγματοποιηθούν μετρήσεις στο VIS (ορατή ακτινοβολία) χρησιμοποιήσαμε το φασματοσκόπιο με τον ίδιο τρόπο όπως και στο UV, με τη μόνη διαφορά ότι τα δείγματα δεν αραιώνονται. Κύριος λόγος των μετρήσεων στο ορατό φως ήταν να μελετηθεί η συγκέντρωση της χλωροφύλλης (χρωστική ουσία) στο κάθε δείγμα.



Σχήμα 2.7 *Φάσματα απορρόφησης χλωροφύλλης-α και –β.*

Για τη προετοιμασία των δειγμάτων χρησιμοποιήσαμε:
Ποτήρια βρασμού
Πιπέτα – τιπ
Κυψελίδες πλαστικές (*μιας χρήσης*)
Δείγματα: ελαιόλαδα και σπορέλαια
Αντιδραστήρια*:* Ακετόνη *για την πλύση των ποτηριών βρασμού*

Τα μήκη κύματος που μετρήσαμε για να βρούμε τη συγκέντρωση (ppm) της χλωροφύλλης είναι: A_{670}, A_{630}, A_{710} και A_{800}. Στο A_{670} συναντάται η κορυφή της χλωροφύλλης από την οποία αφαιρείται η τιμή της απορρόφηση A_{800} (λάθος οργάνου, υπόβαθρο). Οι τιμές στο A_{630} και στο A_{710} (ελάχιστες τιμές αριστερά και δεξιά της κορυφής της χλωροφύλλης, υπόβαθρο) της λαμβάνονται για να υπολογιστούν τα ppm της χλωροφύλλης, βάση του τύπου:

$$\text{Χλωροφύλλη (ppm)} = [A_{670} – (A_{630} + A_{710}) * 0,5] / 0,101 \text{ L} \quad [11]$$

Απόρριψη τιμών γίνεται και στην ορατή περιοχή ακολουθώντας την ίδια διαδικασία με το UV.

Πιθανοί λόγοι λάθους είναι:
1. σφάλμα οργάνου
2. καθαριότητα κυψελίδας
3. μη ομογενοποιημένο δείγμα
4. άλλα τυχαία γεγονότα.

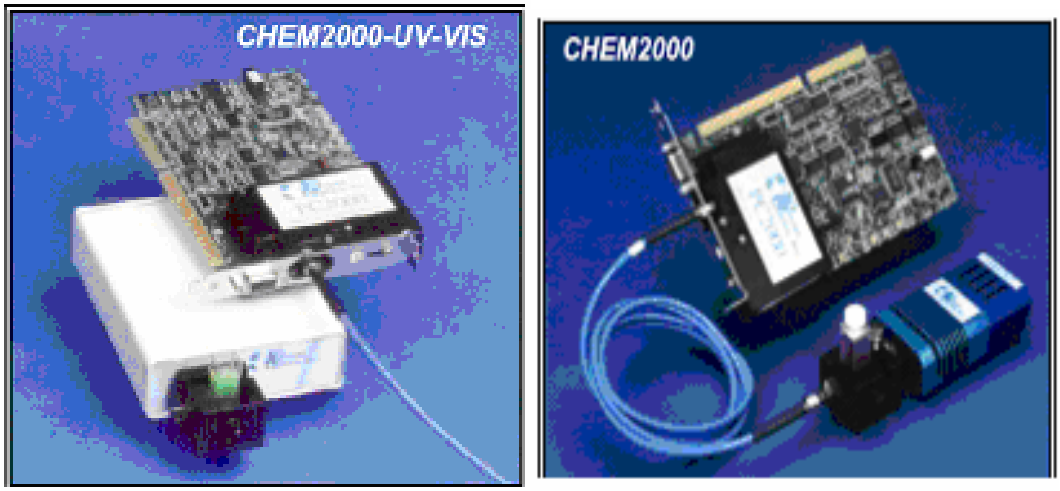
2.2.4 Φθορισμός

Στο συγκεκριμένο πείραμα χρησιμοποιήθηκε η μέθοδος του φθορισμού για τη μέτρηση της χλωροφύλλης και άλλων χρωστικών ουσιών αλλά και βιταμινών σε ελαιόλαδα και σε σπορέλαια. Έγινε σύγκριση των φασμάτων που λάβαμε για να δούμε τη διαφορετικότητά τους και να διαπιστωθεί αν είναι δυνατό να χρησιμοποιηθεί ο φθορισμός για ανίχνευση της νοθείας του ελαιολάδου με άλλα φυτικά λάδια ή πυρηνέλαιο, καθώς επίσης και τι ποσοστό νοθείας μπορεί να ανιχνευτεί. Επίσης ο φθορισμός χρησιμοποιήθηκε για την μέτρηση τηγανισμένων δειγμάτων ως μια γρήγορη μέθοδος με την οποία μπορεί εύκολα να εντοπιστεί πιθανή υποβάθμιση του τηγανισμένου ελαιολάδου.



(α) *(β)*

Σχήμα 2.8 *(α) Τύπος μηχανήματος φθορισμού (β) Οπτική ίνα.*



(α) (β)

Σχήμα 2.9 *(α, β) Μηχάνημα που χρησιμοποιήθηκε.*

<u>Για τη προετοιμασία των δειγμάτων χρησιμοποιήθηκαν:</u>
Πλαστικά καπάκια
Ποτήρια βρασμού
Καπάκια νερού (αντί κυψελίδες)
Φθορισμόμετρο DST-38D Multi – Function Money Detector
Οπτική ίνα
<u>Δείγματα</u>: ελαιόλαδα και σπορέλαια

<u>Διαδικασία πειράματος:</u>

<u>1ο βήμα</u>: ονομάζουμε τα καπάκια και βάζουμε το αντίστοιχο δείγμα λαδιού
<u>2ο βήμα</u>: ανοίγουμε το πρόγραμμα του φθορισμόμετρου, στον υπολογιστή OOIBase32
<u>3ο βήμα</u>: σταθεροποιούμε την οπτική ίνα με τη βοήθεια ενός ειδικού στατήρα (που δίνει τη δυνατότητα ρύθμισης της γωνίας στις 45^o) έτσι ώστε να «κοιτάει» το κέντρο του φθορισμόμετρου όπου τοποθετούνται τα δείγματα
<u>4ο βήμα</u>: ρυθμίζουμε το πρόγραμμα: Integ Time $\rightarrow$ 100
Average $\rightarrow$ 15
Boxcar $\rightarrow$ 9
Flash Delay $\rightarrow$ 100
<u>5ο βήμα</u>: με το που τοποθετηθεί το δείγμα στο κέντρο του φθορισμόμετρου έτσι ώστε η οπτική ίνα να δείχνει στο κέντρο, πατάμε ultraviolet.
<u>6ο βήμα</u>: για τη λήψη του φάσματος περιμένουμε μερικά δευτερόλεπτα και πατάμε το κουμπί με τη φωτογραφική μηχανή. Λαμβάνουμε το φάσμα και το αποθηκεύουμε (ως Procceded spectra) για περαιτέρω επεξεργασία.
<u>7ο βήμα</u>: ακολουθούμε την ίδια διαδικασία για όλα τα δείγματα προσέχοντας να μην φτάσει η λάμπα σε σημείο κορεσμού.
<u>8ο βήμα:</u> αφού ολοκληρωθούν τις μετρήσεις σε όλα τα δείγματα καταγράφουμε τις εντάσεις εκπομπής στα παρακάτω μήκη κύματος:

Στα 310 nm μετράται το λευκό υπόβαθρο του οργάνου, στα 370 nm η σκέδαση της UVακτινοβολίας της λάμπας του οργάνου, στα 435-441 nm τα προϊόντα οξείδωσης, στα 630 nm μετριέται το δεύτερο λευκό υπόβαθρο του οργάνου, στα 675 nm την κορυφή της χλωροφύλλης και τέλος, στα 450 nm το υπόβαθρο της κορυφής
435 – 441 nm.

Οι αφαιρέσεις που έγιναν στο κεφάλαιο των αποτελεσμάτων για να ληφθούν οι καθαρές (πραγματικές) κορυφές του φάσματος χωρίς το λάθος του οργάνου (υπόβαθρο) είναι:
675-630 nm χλωροφύλλη
435-310 nm προϊόντα οξείδωσης
369-310 nm κορυφή της χλωροφύλλης
435-450 nm προϊόντα οξείδωσης

<u>Οι μετρήσεις που πραγματοποιήθηκαν είναι οι εξής:</u>
<u>Σειρά 1:</u> μετρήσεις όλων των ελαιόλαδων και σπορέλαιών. Τα αποτελέσματα της $1^{ης}$ σειράς μετρήσεων ήταν άκυρα λόγω κορεσμού της λάμπας (υπερθέρμανση λάμπας).
<u>Σειρά 2:</u> για να μελετηθεί η γραμμικότητα του οργάνου, μετρήθηκαν 20 δείγματα από το ίδιο λάδι.

Σειρά 3: μετρήσαμε όλα τα ελαιόλαδα και σπορέλαια κυκλικά από 2 φορές το κάθε δείγμα.
Σειρά 4: μία σειρά μετρήσεων όλων των ελαιολάδων και σπορέλαιων και μία δεύτερη μέτρηση με το πυρηνέλαιο όπου χρησιμοποιήθηκαν σαν δείγματα αναφοράς ένα ελαιόλαδο και ένα σπορέλαιο.
Σειρά 5: μετρήσεις σε όλα τα ελαιόλαδα τηγανισμένα και μη και σε όλα τα σπορέλαια.
Σειρά 6: μετρήσεις σε όλα τα ελαιόλαδα και σπορέλαια.
Σειρά 7: επιλεκτικές μετρήσεις σε τέσσερα δείγματα. Η μια σειρά μετρήσεων των τεσσάρων δειγμάτων ήταν εκτεθειμένα στον αέρα και το φως, ενώ η άλλη σειρά μετρήσεων των ίδιων δειγμάτων ήταν αποθηκευμένα στο σκοτάδι.

2.2.5 ΟΞΥΤΗΤΑ

Με τον όρο οξύτητα περιγράφουμε τα gr. του ελαϊκού οξέος που υπάρχουν σε 100 gr ελαιόλαδο. Βάση της οξύτητας διαχωρίζουμε το ελαιόλαδο σε εξαιρετικά παρθένο και παρθένο, για αυτό είναι και πολύ σημαντικό να υπολογίζεται σωστά.
Για να υπολογίσουμε την οξύτητα κάναμε ογκομετρική ανάλυση. Ογκομετρική ανάλυση ονομάζεται ο ποσοτικός προσδιορισμός μιας ουσίας άγνωστης συγκέντρωσης με τη προσθήκη ορισμένου όγκου διαλύματος μιας άλλης ουσίας γνωστής συγκέντρωσης.
Το διάλυμα γνωστής συγκέντρωσης ονομάζεται πρότυπο διάλυμα ή τιτλοδότης, ενώ η ουσία της οποίας η συγκέντρωση πρόκειται να προσδιοριστεί ονομάζεται τιτλοδοτούμενη ουσία. Η όλη διαδικασία της προσθήκης του προτύπου διαλύματος είναι γνωστή σαν ογκομέτρηση ή τιτλοδότηση.
Κατά τη διάρκεια του πειράματος το πρότυπο διάλυμα μπαίνει στην προχοΐδα, ενώ το διάλυμα της ουσίας με την άγνωστη συγκέντρωση μπαίνει σε μία κωνική φιάλη. Από τη προχοΐδα προσθέτουμε το πρότυπο διάλυμα στη κωνική φιάλη που περιέχει το άγνωστο διάλυμα, με προσοχή, μέχρι να ολοκληρωθεί η αντίδραση όλης της ποσότητας του προσδιοριζόμενου διαλύματος. Το σημείο στο οποίο όλη η ποσότητα του τιτλοδότη έχει αντιδράσει με όλη τη ποσότητα της τιτλοδοτούμενης ουσίας, ονομάζεται ισοδύναμο σημείο.
Παρατηρώντας από τη προχοίδα τον όγκο του πρότυπου διαλύματος που προστέθηκε και από την στοιχειομετρική αναλογία της αντίδρασης, υπολογίζεται η συγκέντρωση του άγνωστου διαλύματος.
Το τέλος της αντίδρασης διαπιστώνεται με το μάτι από την αλλαγή του χρώματος που συμβαίνει λόγω της προσθήκης στο άγνωστο διάλυμα μικρής ποσότητας δείκτη (δεν συμμετέχει στην αντίδραση της ογκομέτρησης). Το σημείο αλλαγής του χρώματος δείχνει το τελικό σημείο της αντίδρασης.
Για την πραγματοποίηση μίας σωστής ογκομετρικής ανάλυσης πρέπει να πληρούνται οι εξής προϋποθέσεις: η αντίδραση να είναι ποσοτική, στοιχειομετρική, να γίνεται με μεγάλη ταχύτητα και να υπάρχει τρόπος προσδιορισμού του τέλους της αντίδρασης.

Σε κάθε ογκομετρική ανάλυση ισχύει:

$$\text{αριθμός meq}_{(\text{τιτλοδότη})} = \text{αριθμός meq}_{(\text{τιτλοδοτούμενης ουσίας})}$$

όπου meq= N (κανονικότητα διαλύματος) * V (όγκος διαλύματος σε ml)

Διαδικασία πειράματος:

Για την προετοιμασία των δειγμάτων χρησιμοποιήθηκαν:
Κωνική φιάλη
Στατήρα – προχοϊδα
Ογκομετρικό κύλινδρο
Ηλεκτρονικό ζυγό ακριβείας
Υδροβολέας (απιονισμένο νερό)
Δείγματα: ελαιόλαδα
Αντιδραστήρια*:* αιθανόλη, διαιθυλεθέρα, καυστικό νάτριο (NaOH), φαινολοφθαλαίνη 1% (δείκτης)

1ο βήμα: Σε ένα ογκομετρικό κύλινδρο ετοιμάζεται διάλυμα με 250ml αιθανόλη και 250ml διαιθυλεθέρα, από το οποίο βάζουμε 50ml σε κάθε κωνική φιάλη. Χρησιμοποιούνται τόσες κωνικές όσες και τα δείγματά μας.
2ο βήμα:ξεπλένουμε τη προχοίδα αρκετές φορές με απιονισμένο νερό και μία φορά με καυστικό νάτριο (NaOH, 0,1N).
3ο βήμα: φτιάχνουμε το αιθανολικό διάλυμα φαινολοφθαλαίνης 1% και ρίχνουμε 8 σταγόνες σε κάθε κωνική φιάλη που περιέχει το μείγμα των διαλυτών αιθανόλης και διαιθυλεθέρα.
4ο βήμα: εξουδετερώνουμε το παραπάνω διάλυμα με το διάλυμα του καυστικού νατρίου μέχρι να εμφανιστεί ελαφριά ροζ απόχρωση.
5ο βήμα: για κάθε δείγμα ελαιολάδου που θέλουμε να ογκομετρήσουμε, ζυγίζουμε 8gr με τη βοήθεια του ηλεκτρονικού ζυγού, σε κωνική φιάλη.
6ο βήμα: προσθέτουμε το ουδέτερο διάλυμα στη κωνική φιάλη που περιέχει το ελαιόλαδο και αναδεύουμε μέχρι να επιτευχθεί πλήρης διάλυση του ελαιολάδου με το μείγμα των διαλυτών.
7ο βήμα: ογκομετρούμε το διάλυμα του καυστικού νατρίου υπό ισχυρή ανάδευση μέχρι να εμφανιστεί ρόδινη απόχρωση η οποία πρέπει να παραμείνει σταθερή για τουλάχιστον 30sec.
**κατά τη διάρκεια της ογκομέτρησης σημειώνουμε την ένδειξη της προχοίδας (ml τιτλοδότη) ώστε στη συνέχεια να υπολογίσουμε την οξύτητα.*

ΥΠΟΛΟΓΙΣΜΟΣ ΟΞΥΤΗΤΑΣ

Ξέρουμε ότι ισχύουν οι σχέσεις:

1. $(N*V)_{τιτλοδότη}=(N*V)_{τιτλοδοτούμενης\ ουσίας}$
2. $(greq)_{τιτλοδότη}=(greq)_{τιτλοδοτούμενης\ ουσίας}$
3. $(meq)_{τιτλοδότη}=(meq)_{τιτλοδοτούμενης\ ουσίας}$
4. $(N*V_{(ml)})_{τιτλοδότη}=(meq)_{τιτλοδοτούμενης\ ουσίας}$, και
5. $1\ greq_{(ελαικού)}=282gr$
   $1\ meq_{(ελαικού)}=282mgr \Rightarrow (N*V)_{τιτλοδότη}=(meq)_{(ελαικού)}$

τιτλοδοτούμενη ουσία: ελεύθερα λιπαρά οξέα ελαιολάδου
τιτλοδότης: διάλυμα NaOH O,1N

Από τα παραπάνω προκύπτουν ότι: $1\ meq_{(ελαικού)} = 282mgr$

$(N*V) = x\ mgr$

$x=282mgr*(N*V)$

για τη μετατροπή σε gr: $x=282*(N*V) / 1000$

*αν **α** τα gr. του ελαιολάδου που έχουμε χρησιμοποιήσει τότε για να βρούμε το επί της εκατό (%):*

τα α gr ελαιολάδου που χρησιμοποιήσαμε είναι $282*(N*V) / 1000$ gr

στα 100 gr ελαιολάδου έχουμε x gr .

$$x= \frac{282*(N*V) *100}{1000*\alpha} \Rightarrow$$

$$x= \frac{282 * N * V}{10*\alpha} \text{ gr.}$$

όπου V τα ml NaOH που χρησιμοποιήσαμε για την ογκομέτρηση, N=0,1 και α τα gr. του ελαιολάδου κάθε δείγματος.

Με τη βοήθεια αυτού του τύπου υπολογίσαμε την οξύτητα του ελαιολάδου σε κάθε δείγμα.

2.2.6 ΝΟΘΕΙΑ

Ο πιο σίγουρος τρόπος για να διαπιστωθεί η νοθεία του ελαιολάδου είναι η χημική ανάλυση του. Για τον έλεγχο της γνησιότητας του ελαιολάδου χρησιμοποιούνται συνήθως κριτήρια όπως προσδιορισμός φυσικών και χημικών ουσιών σε συνδυασμό με τον έλεγχο των συντελεστών απορρόφησης. Στην συγκεκριμένη μελέτη εφαρμόστηκε η τεχνική του φθορισμού σαν μια εναλλακτική μέθοδος.

Για τη προετοιμασία των δειγμάτων χρησιμοποιήθηκαν:

Ογκομετρικό κύλινδρο 100ml

Δείγματα: ελαιόλαδα και σπορέλαια

Τα σπορέλαια που χρησιμοποιήθηκαν (ηλιέλαιο, σογιέλαιο, αραβοσιτέλαιο καθώς επίσης και πυρηνέλαιο) συναντώνται συχνά στη νοθεία του ελαιολάδου. Οι αραιώσεις του ελαιολάδου που έγιναν ήταν 3%, 5%, 10%, 20%, 40%, 60% και 80% με σπορέλαιο ή πυρηνέλαιο καθώς υπήρχαν και δείγματα με 100% ελαιόλαδο και 100% από κάθε σπορέλαιο ή πυρηνέλαιο.

Είχαμε δηλαδή τους εξής ογκομετρικούς κυλίνδρους:

100% ελαιόλαδο : 100ml ελαιόλαδο

3% ηλιέλαιο : 97 ml ελαιόλαδο και 3 ml ηλιέλαιο

5% ηλιέλαιο: 95 ml ελαιόλαδο και 5 ml ηλιέλαιο

10% ηλιέλαιο: 90 ml ελαιόλαδο και 10 ml ηλιέλαιο

20% ηλιέλαιο: 80 ml ελαιόλαδο και 20 ml ηλιέλαιο

40% ηλιέλαιο: 60 ml ελαιόλαδο και 40 ml ηλιέλαιο

60% ηλιέλαιο: 40 ml ελαιόλαδο και 60 ml ηλιέλαιο

80% ηλιέλαιο: 20 ml ελαιόλαδο και 80 ml ηλιέλαιο

100% ηλιέλαιο: 100 ml ηλιέλαιο

ομοίως έγιναν οι αραιώσεις στο σογιέλαιο, στο αραβοσιτέλαιο και στο πυρηνέλαιο.

Αφού ετοιμάστηκαν τα δείγματα πήραμε 2 σειρές από φάσματα φθορισμού.

Από τα φάσματα αυτά καταγράφηκαν οι εντάσεις στα εξής μήκη κύματος:
Στα 310 nm όπου μετράμε το υπόβαθρο του οργάνου, στα 370 nm μετράμε την απορρόφηση της λάμπας του οργάνου, στα 435-441 nm μετράμε προϊόντα οξείδωσης και τη κορυφή των σπορέλαιων, στα 630 nm μετράμε το δεύτερο υπόβαθρο του οργάνου, στα 675 nm την κορυφή της χλωροφύλλης, στα 450 nm το τρίτο υπόβαθρο του οργάνου και στα 525 nm την απορρόφηση της Βιταμίνη Ε.
Οι αφαιρέσεις στις εντάσεις για να ληφθούν οι καθαρές (πραγματικές) κορυφές του φάσματος χωρίς το λάθος του οργάνου είναι:
675-630 nm χλωροφύλλη
435-310 nm προϊόντα οξείδωσης και τη κορυφή των σπορέλαιων
369-310 nm κορυφή λάμπας
435-450 nm προϊόντα οξείδωσης και τη κορυφή των σπορέλαιων
525-639 nm απορρόφηση της Βιταμίνη Ε.

2.2.7 ΜΕΘΟΔΟΣ ΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΑΣ TLC

Η χρωματογραφία περιλαμβάνει μια σειρά τεχνικών διαχωρισμού μειγμάτων διαλυμένων ουσιών. Ο διαχωρισμός στηρίζεται σε χαρακτηριστικές διαφορές που παρουσιάζουν τα μόρια, όπως το φορτίο, το μέγεθος, η πολικότητα ή η ικανότητα τους να δεσμεύονται ιδανικά στο χρωματογραφικό υλικό. Σε όλες τις περιπτώσεις το σύστημα περιλαμβάνει μια ακίνητη φάση, που μπορεί να είναι στερεή ή υγρή και μια κινητή φάση που μπορεί να είναι υγρή ή αέρια. Η κινητή φάση κινείται διαμέσου της ακίνητης φάσης, παρασύροντας τις ενώσεις του προς διαχωρισμό μίγματος. Άλλη μέθοδο χρωματογραφίας είναι το HPLC. Σε αυτή τη μέθοδο το δείγμα μπαίνει σε μία στήλη από την οποία περνούν μία-μία οι ουσίες. Η στήλη αυτή είναι συνδεδεμένη με ένα μηχάνημα το οποίο μετράει επιτόπου τη συγκεκριμένη ουσία και μας δίνει το φάσμα της [38]. Αυτή η μέθοδος χρωματογραφίας σε συνδυασμό με χημειομετρικές αξιολογήσεις μπορεί να χρησιμοποιηθεί αποτελεσματικά και για το διαχωρισμό των λαδιών. Ο διαχωρισμός των διγλυκεριδίων, των τριγλυκεριδίων και στερολών εμφανίζεται μέσα σε 20 min και επιτυγχάνεται χρησιμοποιώντας μια ειδική στήλη (oct adecyl silica) [6].
Η βασική αρχή της χρωματογραφίας TLC στηρίζεται στη χημική συγγένεια των ουσιών που διαχωρίζονται με το διαλύτη και με το μέσο απορρόφησης που διαχωρίζονται. Εφαρμόζεται σε ουσίες που έχουν χρώμα είτε για ταυτοποίηση είτε για διαχωρισμό και σε πολύ μικρές ποσότητες ουσιών.

Χρησιμοποιήσαμε την τεχνική της χρωματογραφίας για να διαχωριστούν οι χρωστικές του σπανακιού έτσι ώστε να πάρουμε χλωροφύλλη (α+β) και φαιοφυτίνη (α+β) στην καθαρή μορφή τους από τις οποίες στη συνέχεια διαλύθηκαν σε ακετόνη και εξάνιο. Μετέπειτα πήραμε φάσματα αναφοράς που χρησιμοποιήθηκαν για σύγκριση και ταυτοποίηση των χρωστικών ουσιών με τα φάσματα που παίρναμε κατά τη μέτρηση της χλωροφύλλης στο VIS.

Διαδικασία πειράματος:

Για τη προετοιμασία των δειγμάτων χρησιμοποιήθηκαν:
Ποτήρι βρασμού
Ογκομετρικό σωλήνα
Χωνί
Δοκιμαστικός σωλήνας
Χαρτί TLC
Κυψελίδες γυάλινες
Δείγμα: εκχύλισμα σπανακιού
Αντιδραστήρια:Ακετόνη και εξάνιο

Με τη βοήθεια δύο ογκομετρικών σωλήνων βάλαμε 17 ml εξάνιο και 5 ml ακετόνη σε ένα ποτήρι βρασμού (ο διαλύτης είναι μη πολικός). Πήραμε σταγόνες από εκχύλισμα χρωστικών ουσιών σπανακιού οι οποίες τοποθετήθηκαν στο κάτω τμήμα χαρτιού, στην ίδια σειρά, με ειδική επίστρωση TLC (με ενεργοποιημένο τριοξείδιο του αργιλίου). Από τη στιγμή που ο διαλύτης είναι μη πολικός θα παρασύρει τη πιο μη πολική ένωση (αφού είναι συγγενείς) και έτσι αυτή η ένωση θα πάει πιο ψηλά στο χαρτί TLC.
Η πιο μη πολική ένωση είναι το β-καροτένιο (που ανεβαίνει πιο ψηλά) ενώ ακολουθούν η χλωροφύλλη-α, η χλωροφύλλη-β, η φαιοφυτίνη-α, η φαιοφυτίνη-β και τέλος οι ξανθοφύλλες που είναι οι πιο πολικές ενώσεις.
Αφού αναπτύχθηκε, το χαρτί TLC αφέθηκε να στεγνώσει καλά και κόπηκε σε 2 λωρίδες. Η μία λωρίδα είχε τη χλωροφύλλη α+β και η άλλη τη φαιοφυτίνη α+β.
Στη συνέχεια πήραμε δύο δοκιμαστικούς σωλήνες και ξύσαμε το χαρτί, παίρνοντας έτσι μέσα στον ένα δοκιμαστικό σωλήνα τη χλωροφύλλη α+β και στον άλλο τη φαιοφυτίνη α+β.
Σε κάθε δοκιμαστικό σωλήνα προσθέσαμε 60% ακετόνη και 40% εξάνιο, για να πετύχουμε καλύτερη διάλυση (η ακετόνη μπήκε επειδή έχουμε πολική ένωση ενώ το εξάνιο επειδή έχουμε μη πολική ένωση).
Αφού διαλύθηκαν καλά τα διαλύματα τοποθετήθηκαν στις κυψελίδες και πήραμε το φάσμα απορρόφησης στο UV ώστε στη συνέχεια να γίνει η ταυτοποίηση.

2.2.8 ΤΗΓΑΝΙΣΜΑ

Κατά τη διάρκεια του τηγανίσματος παρατηρούνται πολλές αλλαγές στη σύσταση του ελαιολάδου όπως προαναφέρθηκε στην εισαγωγή. Εμείς πραγματοποιήσαμε πείραμα συνεχούς καπνίσματος[**] του ελαιολάδου για 5 ώρες, λαμβάνοντας δείγμα ανά τακτά χρονικά διαστήματα και στη συνέχεια μετρήσαμε στα δείγματα την απορρόφηση με τη μέθοδο UV και VIS και την εκπομπή με το φθορισμό. Παρατηρείται ότι η χλωροφύλλη μειώνεται και τα προϊόντα οξείδωσης αυξάνονται μετά από κάποιες ώρες βρασμού.
Χρησιμοποιήθηκαν τρεις τύποι ελαιολάδου, το EZN μη τυποποιημένο, το ΕΠ τυποποιημένο και το BZ τυποποιημένο βιολογικό , για να διαπιστωθούν οι διαφορές στη σύστασή τους κάτω από τις ίδιες θερμοκρασίες βρασμού.

[**] στη συγκεκριμένη εργασία πραγματοποιήθηκε κάπνισμα του ελαιολάδου αλλά για ευκολία χρησιμοποιούμε τον όρο τηγάνισμα.

Σκεύη που χρησιμοποιήθηκαν:
Ηλεκτρικά μάτια
Θερμόμετρα
Κατσαρόλες

Η διαδικασία που ακολουθήθηκε στο πείραμα έχει ως εξής:

Βάλαμε 500 ml ελαιολάδου σε μια κατσαρόλα και τοποθετήθηκε στο ηλεκτρικό μάτι με ένδειξη τους 200 ^{o}C. Στην θερμοκρασία των 80 ^{o}C παίρνουμε το πρώτο δείγμα, στους 130 ^{o}C το δεύτερο και στους 180 ^{o}C το τρίτο αφού αυξήθηκε η θερμοκρασία της εστίας στους 300 ^{o}C. Μέχρι και το έβδομο δείγμα η θερμοκρασία της εστίας παρέμεινε στους 300 ^{o}C. Στη συνέχεια η θερμοκρασία της εστίας ανέβηκε στους 350 ^{o}C μέχρι το τέλος του πειράματος. Από το τέταρτο έως και το ενδέκατο δείγμα, λαμβάναμε δείγματα ανά μισή ώρα σημειώνοντας τη θερμοκρασία του ελαιολάδου. Η διαδικασία αυτή είναι ίδια και για τα τρία δείγματα. Θα πρέπει να αναφερθεί ότι η πραγματική θερμοκρασία της εστίας, δεν είναι φυσικά αυτή της ένδειξης, αλλά η μετρούμενη με το θερμόμετρο.

Στον πίνακα που ακολουθεί φαίνονται τα δείγματα που λάβαμε με τις αντίστοιχες θερμοκρασίες.

Πίνακας 2.4 *Δείγματα ελαιολάδων που θερμάνθηκαν.*

ΔΕΙΓΜΑ	ΧΡΟΝΟΣ ΤΗΓΑΝΙΣΜΑΤΟΣ	ΘΕΡΜΟΚΡΑΣΙΑ ΛΑΔΙΟΥ ºC	ΘΕΡΜΟΚΡΑΣΙΑ ΕΣΤΙΑΣ ºC
ΕΖΝ ΑΝΑΦΟΡΑΣ	0	25	0
ΕΖΝ1	0,33	80	200
ΕΖΝ2	0,67	130	200
ΕΖΝ3	1	180	300
ΕΖΝ4	1,5	199	300
ΕΖΝ5	2	200	300
ΕΖΝ6	2,5	199	300
ΕΖΝ7	3	198	300
ΕΖΝ8	3,5	223	350
ΕΖΝ9	4	227	350
ΕΖΝ10	4,5	225	350
ΕΖΝ11	5	216	350

ΔΕΙΓΜΑ	ΧΡΟΝΟΣ ΤΗΓΑΝΙΣΜΑΤΟΣ	ΘΕΡΜΟΚΡΑΣΙΑ ΛΑΔΙΟΥ ºC	ΘΕΡΜΟΚΡΑΣΙΑ ΕΣΤΙΑΣ ºC
ΕΠ ΑΝΑΦΟΡΑΣ	0	25	0
ΕΠ1	0,33	80	200
ΕΠ2	0,67	130	200
ΕΠ3	1	180	300
ΕΠ4	1,5	199	300
ΕΠ5	2	200	300
ΕΠ6	2,5	200	300
ΕΠ7	3	196	300
ΕΠ8	3,5	231	350
ΕΠ9	4	226	350
ΕΠ10	4,5	220	350
ΕΠ11	5	220	350

ΔΕΙΓΜΑ	ΧΡΟΝΟΣ ΤΗΓΑΝΙΣΜΑΤΟΣ	ΘΕΡΜΟΚΡΑΣΙΑ ΛΑΔΙΟΥ ºC	ΘΕΡΜΟΚΡΑΣΙΑ ΕΣΤΙΑΣ ºC
ΒΖ ΑΝΑΦΟΡΑΣ	0	25	0
ΒΖ1	0,33	80	200
ΒΖ2	0,67	130	200
ΒΖ3	1	180	300
ΒΖ4	1,5	188	300
ΒΖ5	2	191	300
ΒΖ6	2,5	194	300
ΒΖ7	3	195	300
ΒΖ8	3,5	225	350
ΒΖ9	4	225	350
ΒΖ10	4,5	226	350
ΒΖ11	5	226	350

Στα δείγματα που συλλέχθηκαν εφαρμόστηκε:

1. Φασματοσκοπία UV όπου πήραμε επιλεκτικά έξι δείγματα ίδιου ελαιολάδου (ΕΖΝ αναφοράς, ΕΖΝ2, ΕΖΝ4, ΕΖΝ6, ΕΖΝ8, ΕΖΝ11) για να μετρήσουμε τα προϊόντα οξείδωσης στο K_{232} και στο K_{270}.
2. Φασματοσκοπία VIS σε όλα τα δείγματα για να διαπιστωθεί πως αντιδρά η χλωροφύλλη ανάλογα με τη θερμοκρασία και το χρόνο τηγανίσματος.
3. Φθορισμό σε όλα τα δείγματα καθώς και σε μια σειρά δειγμάτων μη τηγανισμένων (δείγματα αναφοράς). Μετρήθηκαν τα προϊόντα οξείδωσης, η χλωροφύλλη και χρησιμοποιήθηκαν τα αποτελέσματα του φθορισμού για να γίνει συσχέτιση με τα αποτελέσματα των μεθόδων UV και VIS.

3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΣΥΖΗΤΗΣΗ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ

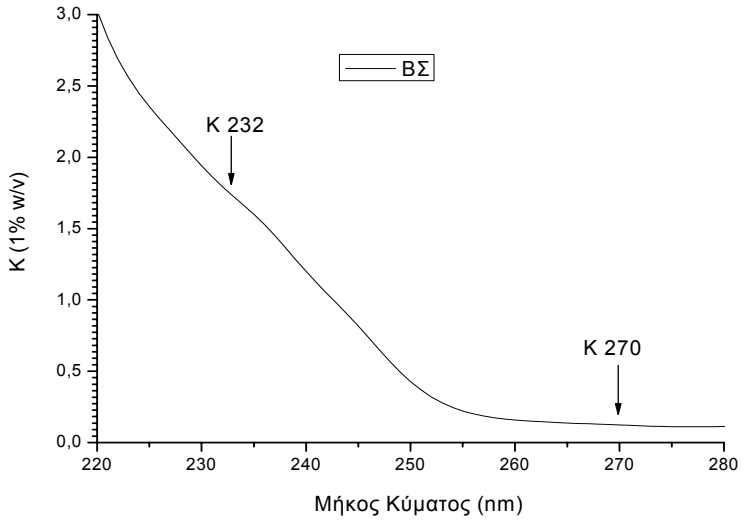
3.1 ΦΑΣΜΑΤΟΣΚΟΠΙΑ UV

Η Φασματοσκοπία UV πραγματοποιήθηκε για να μετρηθούν τα πρωτογενή και δευτερογενή προϊόντα οξείδωσης τα οποία σχετίζονται με τα K_{232} και K_{270} αντίστοιχα. Πρόκειται για μια δοκιμασμένη μέθοδο ανίχνευσης των προϊόντων οξείδωσης του ελαιολάδου, της οποίας τα αποτελέσματα συσχετίστηκαν με αποτελέσματα άλλων μεθόδων που εφαρμόστηκαν.
Η προετοιμασία των δειγμάτων αναφέρεται στο δεύτερο κεφάλαιο. Τα αποτελέσματα καθώς και ο αριθμός των μετρήσεων με διαφορετικές ζυγίσεις που έγιναν σε κάθε δείγμα παρουσιάζονται στο Πίνακα 3.1. Για να υπολογιστούν τα αποτελέσματα αυτής της μεθόδου στα δείγματα του ελαιολάδου χρησιμοποιήθηκαν οι τύποι που προαναφέρθηκαν στο Κεφάλαιο 2.2.2.
Δηλαδή: $\mathbf{K_{232}=A_{232}/(m*10)}$
$\mathbf{K_{270}=A_{270}/(m*10)}$
όπου m είναι η μάζα (gr) του δείγματος και A είναι η απορρόφηση (nm).

Πίνακας 3.1 *Συγκεντρωτικά αποτελέσματα των μετρήσεων K_{232} και K_{270}.*

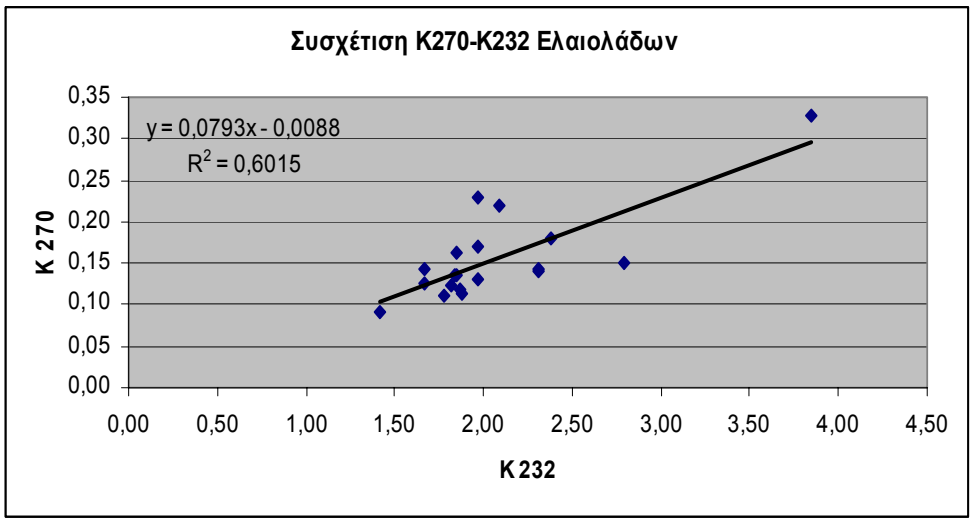
ΔΕΙΓΜΑ	ΑΡΙΘΜΟΣ ΜΕΤΡΗΣΕΩΝ	K_{232}	τυπ.αποκλ. (±) K_{232}	K_{270}	τυπ.αποκλ. (±) K_{270}
ΕΖΝ	6	1,85	0,16	0,13	0,03
ΕΖΠ	6	2,09	0,11	0,22	0,05
ΕΠ	16	1,97	0,06	0,17	0,02
ΕΣ	5	2,31	0,01	0,14	0,02
ΕΧ	10	1,97	0,05	0,23	0,03
ΒΖ	6	2,79	0,07	0,15	0,01
ΒΣ	8	1,84	0,05	0,14	0,03
ΒΧ	10	2,38	0,11	0,18	0,05
ΕΖΒ 1	11	3,85	0,14	0,33	0,08
ΕΖΒ 2	14	2,31	0,11	0,14	0,04
ΒΤ	14	1,85	0,21	0,16	0,05
ΕΠΑΛ 1	10	1,97	0,08	0,13	0,03
ΕΠΑΛ 2	8	1,88	0,06	0,11	0,01
ΕΠΑΛ 3α	8	1,87	0,03	0,12	0,01
ΕΠΑΛ 3β	6	1,82	0,01	0,12	0,06
ΕΠΑΛ 4 (Μ.Ο. μίας εβδομ.)	12	1,77	0,10	0,11	0,05
ΕΣΗΤ 1	6	1,42	0,01	0,09	0,02
ΕΣΗΤ 2	8	1,66	0,06	0,12	0,02
ΕΣΗΤ 3	12	1,67	0,04	0,14	0,03
ΗΛΙΕΛΑΙΟ	4	3,72	0,09	1,86	0,14
ΑΡΑΒΟΣΙΤΕΛΑΙΟ	4	5,39	0,18	2,68	0,02
ΣΟΓΙΕΛΑΙΟ	2	7,46	0,01	2,93	0,02
ΦΟΥΝΤΟΥΚΕΛΑΙΟ	2	9,15	0,01	1,12	0,03
ΠΥΡΗΝΕΛΑΙΟ	2	4,31	0,02	1,81	0,01

Τα φάσματα ελήφθησαν κατά τη διάρκεια της φασματοφωτομετρίας είχαν τη μορφή που φαίνεται στο Σχήμα 3.1. Από αυτά τα φάσματα μετρήσαμε τις απορροφήσεις στα μήκη κύματος 232 και 270 nm (προϊόντα οξείδωσης). Στα 232 nm η απορρόφηση οφείλεται σε υπεροξείδια που δημιουργούνται με μηχανισμό ελεύθερων ριζών από τα ελεύθερα λιπαρά οξέα του ελαιολάδου. Στα 270 nm η απορρόφηση οφείλεται σε αλδεϋδες και κετόνες που είναι προϊόντα διάσπασης των υπεροξειδίων. Τόσο τα υπεροξείδια όσο οι αλδεϋδες και οι κετόνες είναι προϊόντα αυτοοξείδωσης του ελαιολάδου, αποτέλεσμα της έκθεσης τους στο φως και στο ατμοσφαιρικό οξυγόνο.



Σχήμα 3.1 *Τυπικό φάσμα UV τυποποιημένου ελαιολάδου (ΒΣ).*

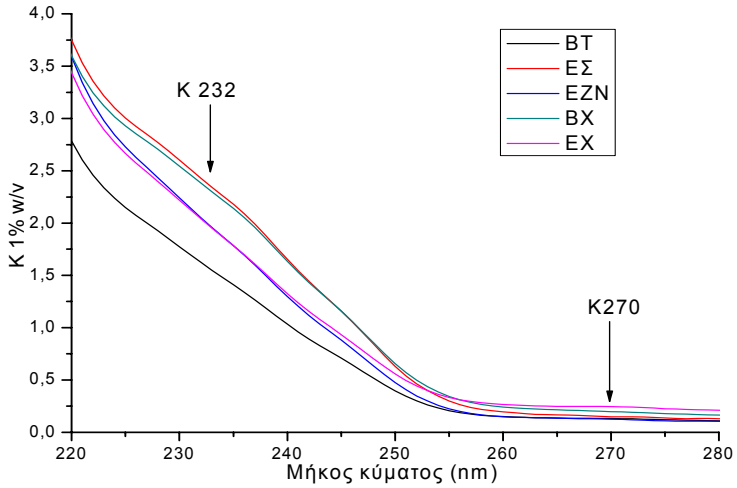
Στο Σχήμα 3.2 βλέπουμε τη συσχέτιση του K_{232} με του $K_{270.}$ Το $R^{\dagger\dagger}$ ισούται με 0,7756 οπότε συμπεραίνεται ότι πρόκειται για μια καλή συσχέτιση που δείχνει κάποια αλληλεξάρτηση των πρωτογενών και δευτερογενών προϊόντων οξείδωσης.



Σχήμα 3.2 *Συσχέτιση K270-K232 ελαιολάδων σε μετρήσεις UV.*

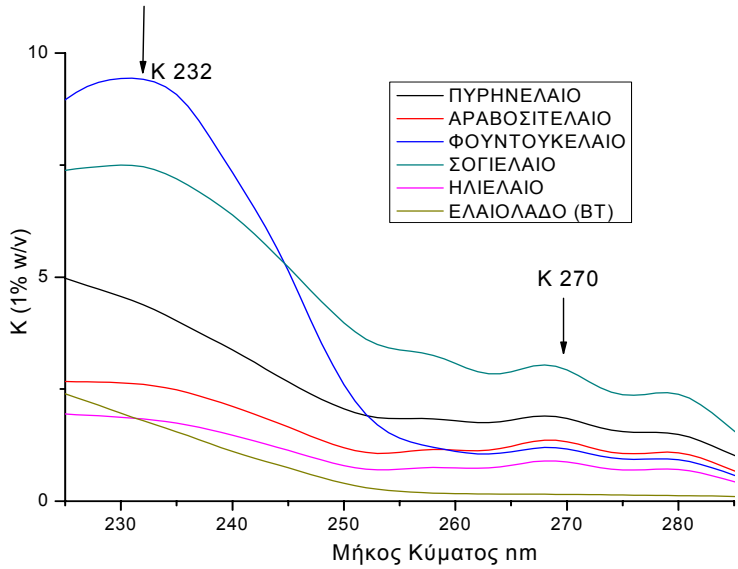
[††] συντελεστής συσχέτισης, όσο πιο κοντά είναι στη μονάδα τόσο καλύτερη είναι η συσχέτιση.

Στο Σχήμα 3.3 παρατηρείτε το εύρος των τιμών των προϊόντων οξείδωσης, διαφορετικών ελαιολάδων, εκ των οποίων τα δύο είναι βιολογικά (ΒΤ και ΒΧ).



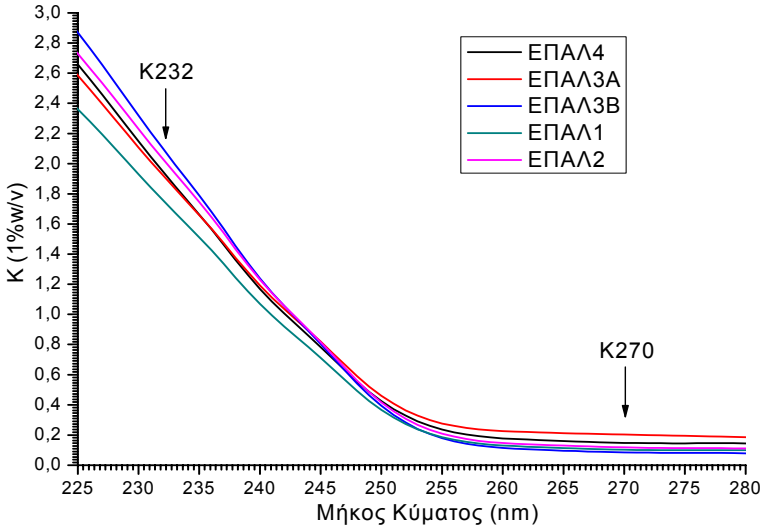
Σχήμα 3.3 *Λεπτομέρεια στο φάσμα απορρόφησης επιλεγμένων τυποποιημένων ελαιολάδων στο UV.*

Κοιτάζοντας τις λεπτομέρειες των φασμάτων στο Σχήμα 3.4 διαπιστώνεται ότι τα σπορέλαια εμφανίζουν κορυφές στο 270 και 232 nm που σχετίζονται με τη μεγάλη απορρόφηση και μικρή διείσδυση της δέσμης φωτός στη κυψελίδα ενώ στο ελαιόλαδο το αντίστροφο. Εξαιτίας αυτής της διαφορετικότητας των σπορέλαιων είναι εύκολο, όπως θα διαπιστωθεί στη συνέχεια, να ανιχνευτεί μία νοθεία. Το πυρηνέλαιο εμφανίζεται στη μέση αφού έχει ιδιότητες παρόμοιες με του ελαιόλαδου. Παρατηρώντας το φάσμα που δίνει το φουντουκέλαιο διαπιστώνεται ότι παρουσιάζει μεγάλες διαφορές από τα υπόλοιπα σπορέλαια που πιθανότατα οφείλεται στην αλλοίωση του λόγω μη σωστής αποθήκευσης.

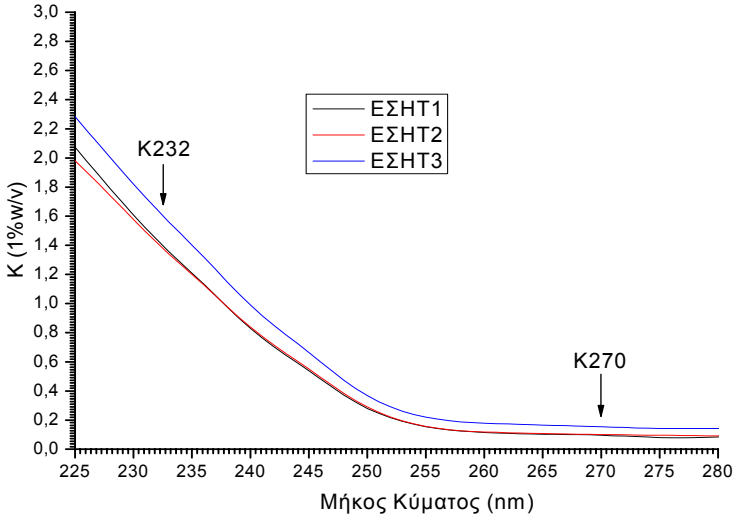


Σχήμα 3.4 *Φάσματα απορρόφησης σπορέλαιων συγκριτικά με τυποποιημένο ελαιόλαδο στο UV.*

Για να διαπιστωθεί αν τα προϊόντα οξείδωσης σχετίζονται με τη διαφορετική θερμοκρασία μάλαξης έγιναν μετρήσεις στα δείγματα ΕΠΑΛ, ενώ για το αν τα προϊόντα οξείδωσης σχετίζονται από γεωγραφικούς παράγοντες , μετρήθηκαν τα δείγματα ΕΣΗΤ. Πρόκειται για μη τυποποιημένα δείγματα, τα οποία συλλέχτηκαν από τα ελαιοτριβεία της Σητείας και του Παλαίκαστρου και των οποίων οι ποσότητες δεν ήταν επαρκείς για υπάρξουν ικανοποιητικά αποτελέσματα. Τα φάσματα που παρουσιάζονται στο Σχήμα 3.5 και 3.6 δεν δίνουν ξεκάθαρα αποτελέσματα και για αυτό το λόγο χρειάζεται περαιτέρω έρευνα με περισσότερα δείγματα και μετρήσεις.



Σχήμα 3.5 *Φάσματα ΕΠΑΛ ελαιολάδων στο UV.*



Σχήμα 3.6 *Φάσματα ΕΣΗΤ ελαιολάδων στο UV.*

Στο Σχήμα 3.6 παρατηρείται ότι τα φάσματα των ΕΣΗΤ1 και ΕΣΗΤ2 σχεδόν ταυτίζονται. Στο δείγμα ΕΣΗΤ3 παρατηρούνται διαφορές σε σχέση με τα δύο προηγούμενα κάτι που ίσως οφείλεται στο μεγαλύτερο υψόμετρο και τη χαμηλότερη θερμοκρασία μάλαξης του δείγματος. Όπως όμως προαναφέρθηκε πρέπει να γίνει περαιτέρω έρευνα χρησιμοποιώντας πολλά διαφορετικά δείγματα για να διαπιστωθεί η αξιοπιστία της υπόθεσης αυτής.

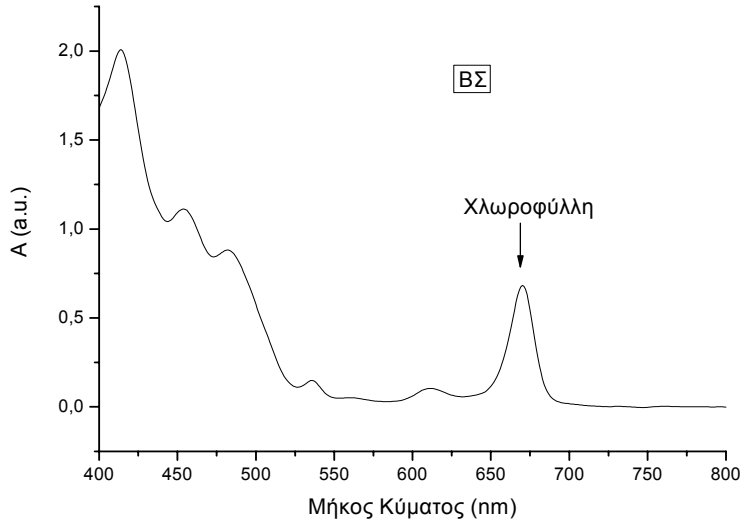
3.2 ΦΑΣΜΑΤΟΣΚΟΠΙΑ VIS

Φασματοσκοπία VIS πραγματοποιήθηκε για την μέτρηση της χλωροφύλλης καταγράφοντας την κύρια της απορρόφηση στα 670 nm. Πρόκειται για μια δοκιμασμένη μέθοδο, όπως αναφέραμε και στη μέθοδο UV, της οποίας τα αποτελέσματα θα συσχετιστούν με το φθορισμό, μια εναλλακτική μέθοδο εύρεσης της χλωροφύλλης. Στη μέθοδο της φασματοσκοπίας VIS τα δείγματα δεν χρειάζονται ζύγιση / αραίωση και δεν χρησιμοποιούνται οργανικοί διαλύτες όπως στη μέθοδο UV, επειδή η απορρόφηση είναι μικρή, ως εκ τούτου το δείγμα ελαιολάδου τοποθετείται απευθείας σε πλαστική κυψελίδα μίας χρήσης. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα οι μετρήσεις της χλωροφύλλης με φασματοσκοπία VIS να είναι πιο εύχρηστες και γρήγορες από ότι αν γινόντουσαν με φασματοσκοπία στην αόρατη ακτινοβολία. Τέλος η μέθοδος VIS δίνει τη δυνατότητα της ακριβής μέτρησης της χλωροφύλλης στα 670 nm.
Η κορυφή της χλωροφύλλης βρίσκετε στα 670 nm ενώ οι επιμέρους μορφές της (χλωροφύλλη α+β και φαιοφυτίνη α+β) απορροφούν σε άλλα μήκη κύματος όπως παρατηρήσαμε με τη μέθοδο χρωματογραφίας TLC (Κεφάλαιο 3.6).
Για να βγάλουμε τα αποτελέσματα της φασματοσκοπίας VIS στα δείγματα του ελαιολάδου χρησιμοποιήθηκαν τους τύπους που προαναφέρθηκαν στο Κεφάλαιο 2.2.2.
Δηλαδή: **Χλωροφύλλη (ppm) = K_{670} = [A_{670} – (A_{630} + A_{710}) * 0,5] / 0,101 L**
Παρακάτω παρουσιάζονται οι μέσοι όροι των αποτελεσμάτων καθώς και οι τυπικές αποκλίσεις των ppm της χλωροφύλλης.

Πίνακας 3.2 *Συγκεντρωτικά αποτελέσματα μετρήσεων της χλωροφύλλης στα διάφορα δείγματα.*

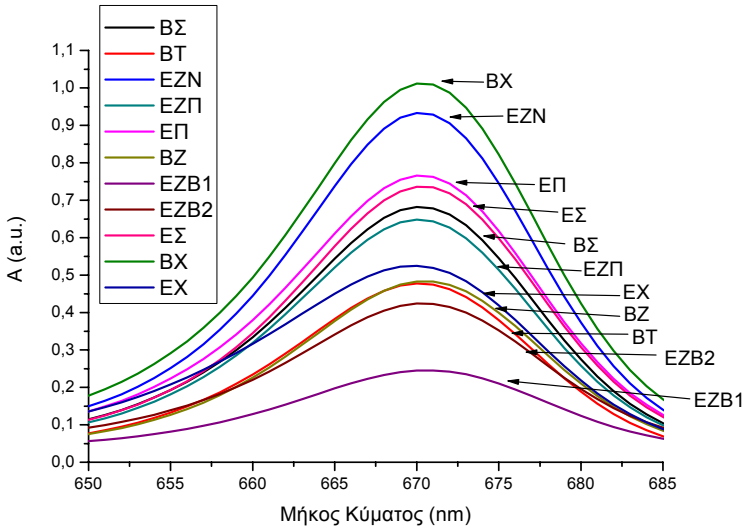
ΔΕΙΓΜΑ	**ppm χλωρ.**	**τυπ.αποκλ. (±) ppm χλωροφύλλης**
ΕΖΝ	8,785	0,022
ΕΖΠ	6,085	0,015
ΕΠ	7,137	0,015
ΕΣ	6,903	0,013
ΕΧ	4,804	0,023
ΒΖ	4,521	0,008
ΒΣ	6,418	0,010
ΒΧ	9,444	0,010
ΕΖΒ 1	2,139	0,001
ΕΖΒ 2	3,752	0,000
ΒΤ	4,525	0,014
ΕΠΑΛ 1	2,407	0,002
ΕΠΑΛ 2	2,624	0,001
ΕΠΑΛ 3α	2,933	0,001
ΕΠΑΛ 3β	2,712	0,001
ΕΠΑΛ 4 (Μ.Ο. μίας εβδομ.)	3,020	0,006
ΕΣΗΤ 1	6,277	0,006
ΕΣΗΤ 2	4,057	0,002
ΕΣΗΤ 3	6,852	0,009
ΗΛΙΕΛΑΙΟ	-0,001	0,001
ΑΡΑΒΟΣΙΤΕΛΑΙΟ	-0,002	0,000
ΣΟΓΙΕΛΑΙΟ	0,030	0,000
ΠΥΡΗΝΕΛΑΙΟ	0,285	0,000

Η μορφή των φασμάτων που προέκυψε με τη μέθοδο της φασματοφωτομετρίας VIS έχει τη μορφή που φαίνεται στο Σχήμα 3.7. Οι απορροφήσεις που μετρήθηκαν σε αυτά τα φάσματα για την εύρεση της συγκέντρωσης της χλωροφύλλης (εφαρμογής τύπου) ήταν στα: 670 nm (κορυφή χλωροφύλλης), 630 και 710 nm (λευκά υπόβαθρα) και 800 nm (λάθος οργάνου, λευκό υπόβαθρο).



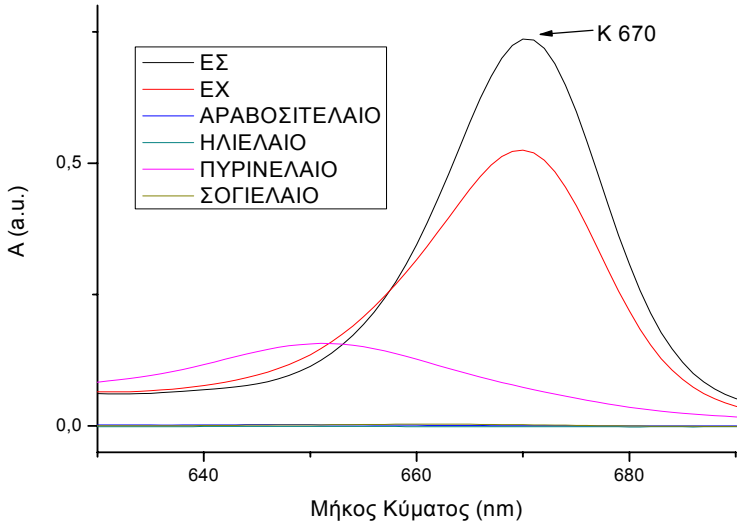
Σχήμα 3.7 *Τυπικό φάσμα απορρόφησης VIS (για το ελαιόλαδο ΒΣ).*

Στο Σχήμα 3.8 παρουσιάζονται οι απορροφήσεις της χλωροφύλλης τυποποιημένων και μη ελαιολάδων. Παρατηρείται ότι τα τυποποιημένα ελαιόλαδα σε σχέση με τα δυο μη τυποποιημένα (EZB1 και EZB2) παρουσιάζουν υψηλότερα επίπεδα χλωροφύλλης στα 670 nm. Αυτό ίσως οφείλεται στις καλύτερες μεθόδους συσκευασίας επεξεργασίας των τυποποιημένων ελαιολάδων καθώς και στην παλαιότητα.



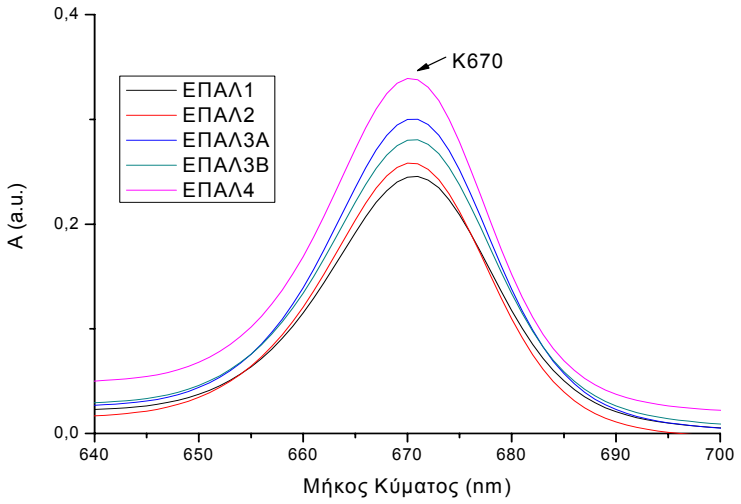
Σχήμα 3.8 *Φάσματα ελαιολάδων στη φασματική περιοχή των 670 nm.*

Συγκρίθηκαν τα φάσματα τυποποιημένων ελαιολάδων και σπορέλαιων όπως φαίνεται στο Σχήμα 3.9. Τα ελαιόλαδα παρουσιάζουν κορυφή στο 670 nm όπου βρίσκεται η χλωροφύλλη σε αντίθεση με τα σπορέλαια που δεν παρουσιάζουν κορυφή σε αυτό το μήκος κύματος (πλήρη απουσία χλωροφύλλης). Το πυρηνέλαιο έχει κάπως παρόμοια συμπεριφορά με το ελαιόλαδο και παρουσιάζει μια καμπύλη περίπου στα 650 nm.

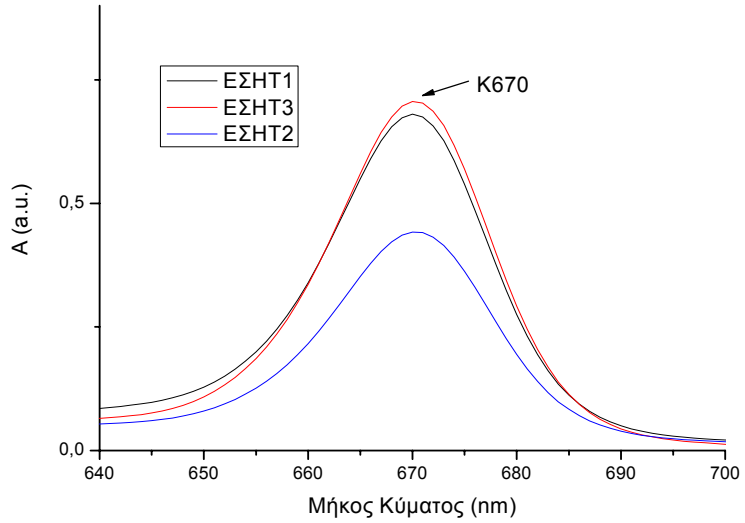


Σχήμα 3.9 *Φάσματα απορρόφησης σπορέλαιων συγκριτικά με τυποποιημένα ελαιόλαδα στο VIS στην περιοχή 630-690 nm.*

Πραγματοποιήθηκαν μετρήσεις στα δείγματα ΕΠΑΛ στην ανάγκη να διαπιστωθεί αν η χλωροφύλλη σχετίζεται με τη διαφορετική θερμοκρασία μάλαξης, ενώ μετρώντας τα δείγματα ΕΣΗΤ αν η χλωροφύλλη σχετίζεται με γεωγραφικούς παράγοντες. Λαμβάνοντας τα αποτελέσματα που παρουσιάζονται στο Σχήμα 3.10 και 3.11, διαπιστώθηκε όπως και στη μέθοδο UV ότι χρειάζεται περαιτέρω έρευνα με περισσότερα δείγματα και μετρήσεις.



Σχήμα 3.10 *Φάσματα απορρόφησης ΕΠΑΛ ελαιολάδων στο VIS στην περιοχή 640-700 nm.*



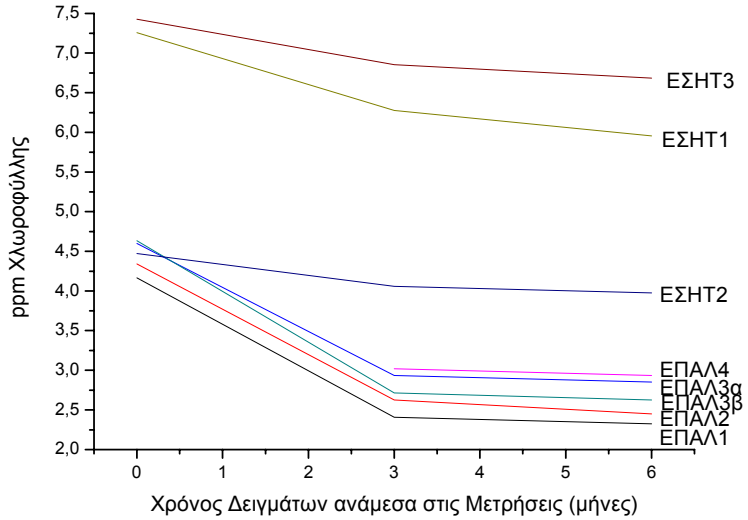
Σχήμα 3.11 *Φάσματα απορρόφησης ΣΗΤ ελαιολάδων στο VIS στην περιοχή 640-700* nm.

Πραγματοποιήθηκαν μετρήσεις στα φρέσκα δείγματα (μη τυποποιημένα) ΕΠΑΛ και ΕΣΗΤ για να διαπιστωθεί πως μειώνεται η χλωροφύλλη μετά από 3 μήνες και μετά από 6 μήνες από τη πρώτη μέτρηση μετά από τη παραλαβή τους από το ελαιοτριβείο. Τα δείγματα ήταν αποθηκευμένα σε σκοτεινό χώρο, απουσίας υγρασίας και αέρα, σε καλά κλεισμένες γυάλινες φιάλες.

Πίνακας 3.3 *Χρόνος μετρήσεων και ppm χλωροφύλλης των δειγμάτων ΕΠΑΛ και ΕΣΗΤ.*

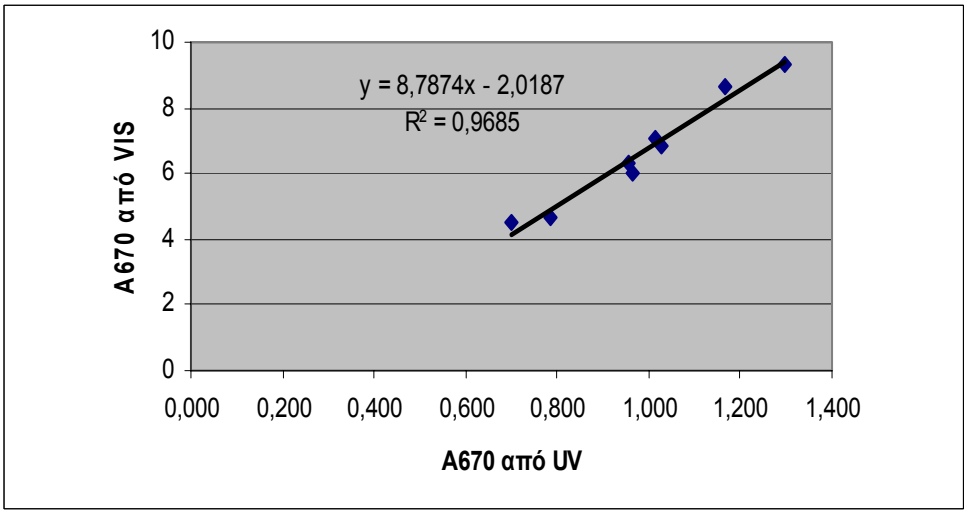
	χρόνος δειγμάτων (μήνες)	***PPM ΧΛΩΡ.***
ΕΠΑΛ1 VIS 2	*0*	*4,16*
ΕΠΑΛ1 VIS 1	*3*	*2,41*
ΕΠΑΛ1	*6*	*2,32*
ΕΠΑΛ2 VIS 2	*0*	*4,34*
ΕΠΑΛ2 VIS 1	*3*	*2,62*
ΕΠΑΛ2	*6*	*2,45*
ΕΠΑΛ3α VIS 2	*0*	*4,60*
ΕΠΑΛ3α VIS 1	*3*	*2,93*
ΕΠΑΛ3α	*6*	*2,85*
ΕΠΑΛ3β VIS 2	*0*	*4,63*
ΕΠΑΛ3β VIS 1	*3*	*2,71*
ΕΠΑΛ3β	*6*	*2,62*
ΕΠΑΛ 4	*3*	*3,02*
ΕΠΑΛ 4	*6*	*2,93*
ΕΣΗΤ1 VIS 2	*0*	*7,26*
ΕΣΗΤ 1	*3*	*6,28*
ΕΣΗΤ 1	*6*	*5,96*
ΕΣΗΤ2 VIS 2	*0*	*4,47*
ΕΣΗΤ 2	*3*	*4,06*
ΕΣΗΤ 2	*6*	*3,97*
ΕΣΗΤ3 VIS 2	*0*	*7,43*
ΕΣΗΤ 3	*3*	*6,85*
ΕΣΗΤ 3	*6*	*6,68*

Παρατηρήθηκε ότι στα περισσότερα δείγματα στη πρώτη μέτρηση (μετά από 3 μήνες) η μείωση της χλωροφύλλης είναι απότομη στους 6 μήνες ενώ με το πέρας του χρόνου η χλωροφύλλη μειώνεται σταδιακά. Αυτό φαίνεται στο Πίνακα 3.3 και εντονότερα στο Σχήμα 3.12.
Πρέπει να σημειωθεί ότι τα φάσματα στα Σχήματα 3.10 και 3.11 σχετίζονται με τα αποτελέσματα του Σχήματος 3.12 παρόλο που οι μετρήσεις του Σχήματος 3.12 πραγματοποιήθηκαν 3 και 6 μήνες αργότερα.



Σχήμα 3.12 *Μείωση ποσότητας χλωροφύλλης με το πέρασμα του χρόνου.*

Στο Σχήμα 3.13 φαίνεται η συσχέτιση των δύο μεθόδων μέτρησης της χλωροφύλλης το R της οποίας είναι 0,98. Η μία μέτρηση προέρχεται από αραιωμένα δείγματα ελαιολάδου με ισοοκτάνιο (UV) ενώ η άλλη μέτρηση προέρχεται από την ίδια μέθοδο χωρίς όμως να έχει αραιωθεί το δείγμα (VIS). Παρατηρείται ότι η συσχέτιση είναι σχεδόν τέλεια και συμπεραίνουμε ότι και με τις δύο μεθόδους μπορούν να ληφθούν σωστά αποτελέσματα. Προτιμάται για τη μέτρηση της χλωροφύλλης η μέθοδος φασματοσκοπίας VIS επειδή το δείγμα δεν χρειάζεται αραίωση και είναι πιο εύχρηστη και γρήγορη σαν μέθοδος συγκριτικά με τη φασματοσκοπία UV.

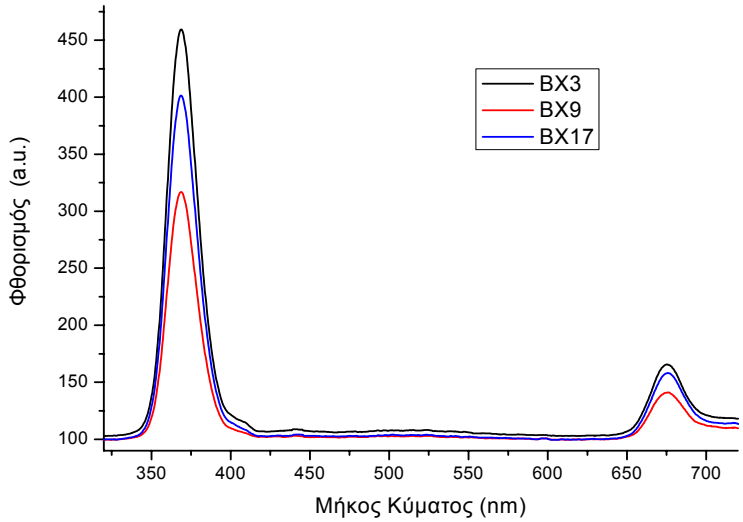


Σχήμα 3.13 *Συσχέτιση UV(A_{670}) – VIS ppm χλωροφύλλης.*

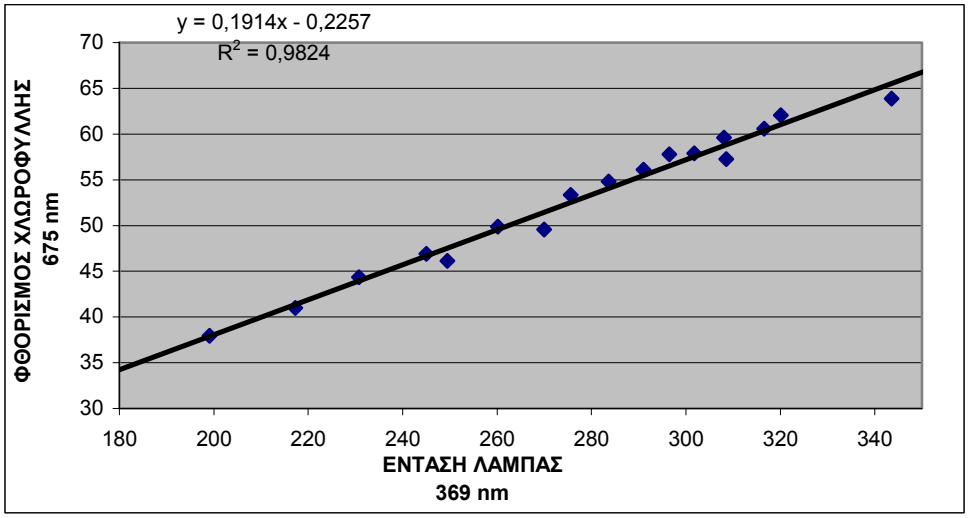
3.3 ΦΘΟΡΙΣΜΟΣ

Η μέθοδος φθορισμού χρησιμοποιήθηκε ως εναλλακτική μέθοδος μέτρησης της χλωροφύλλης, των προϊόντων οξείδωσης και άλλων σημαντικών ουσιών του ελαιολάδου. Ως προτερήματα αυτής της μεθόδου θεωρούνται η φιλικότητα του προς το περιβάλλον από την στιγμή που δεν χρησιμοποιούνται οργανικοί διαλύτες οι οποίοι δεν αφομοιώνονται από το περιβάλλον και είναι και ιδιαίτερα ακριβοί. Επίσης είναι γρήγορη επειδή τα διαλύματα δεν χρειάζονται προετοιμασία (π.χ. ζύγιση και αραίωση). Τέλος, υπάρχει δυνατότητα μεταφοράς του οργάνου στο τόπο της μέτρησης, γεγονός που την κάνει να είναι και μία εύχρηστη μέθοδος.

Μετά την διαδικασία η οποία περιγράφεται στο Κεφάλαιο 2.2.4, για να ελεγχθεί η επαναληψιμότητα του φθορισμού, ελήφθησαν 20 δείγματα του ίδιου ελαιολάδου (ΒΧ) στα οποία πραγματοποιήθηκαν 2 κυκλικές μετρήσεις. Από τα προαναφερθέντα αποτελέσματα παρατίθενται επιλεκτικά κάποια φάσματα στο Σχήμα 3.14. Η πρώτη κορυφή που παρατηρείται αντιστοιχεί στη σκέδαση της ακτινοβολίας της λάμπας από την επιφάνεια του δείγματος ενώ η δεύτερη στο φθορισμό στην απορρόφηση της χλωροφύλλης.

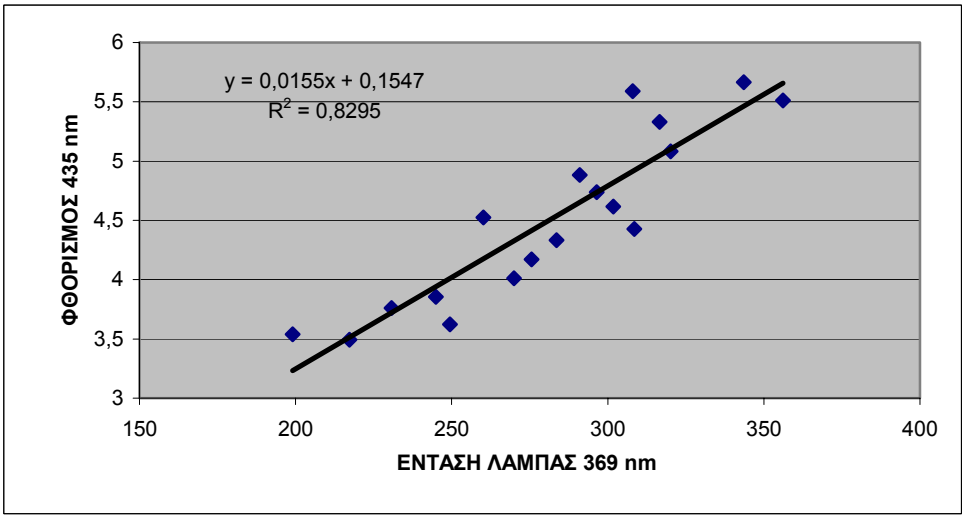


Σχήμα 3.14 *Τυπικά φάσματα εκπομπής φθορισμού εκπομπής στο ίδιο δείγμα ΒΧ για να ελέγξουμε γραμμικότητα οργάνου (δείγμα από την σειρά 2).*



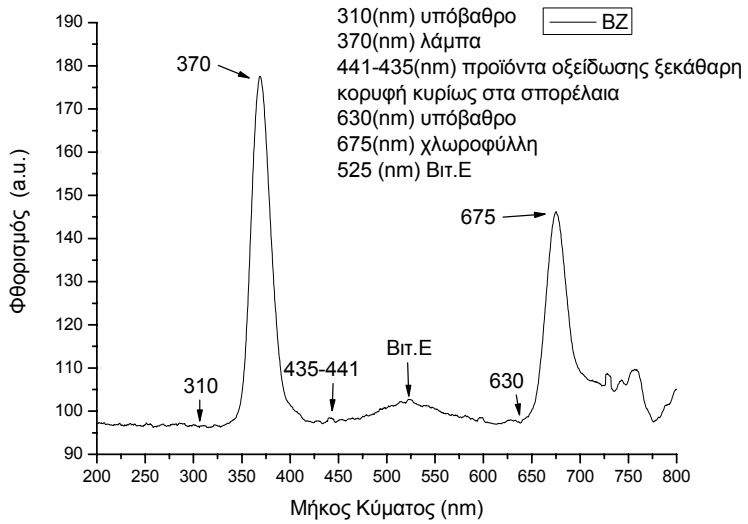
Σχήμα 3.15 *Έλεγχος γραμμικότητας οργάνου.*

Στο Σχήμα 3.15 έγινε συσχέτιση φθορισμού της χλωροφύλλης ως προς την ένταση της λάμπας, με τη δόκιμη μεθοδολογία της αφαίρεσης της έντασης ενός διπλανού μήκους κύματος (Κυριτσάκης) σύμφωνα με την οποία αφαιρείται η ένταση φθορισμού του υποβάθρου. Έτσι από το φθορισμό της χλωροφύλλης αφαιρέθηκε το υπόβαθρο 630 nm και από την ένταση της λάμπας το υπόβαθρο το οποίο μετρήθηκε στα 310 nm. Από τον συντελεστή R=0.99 προκύπτει ότι η γραμμικότητα είναι πολύ καλή.



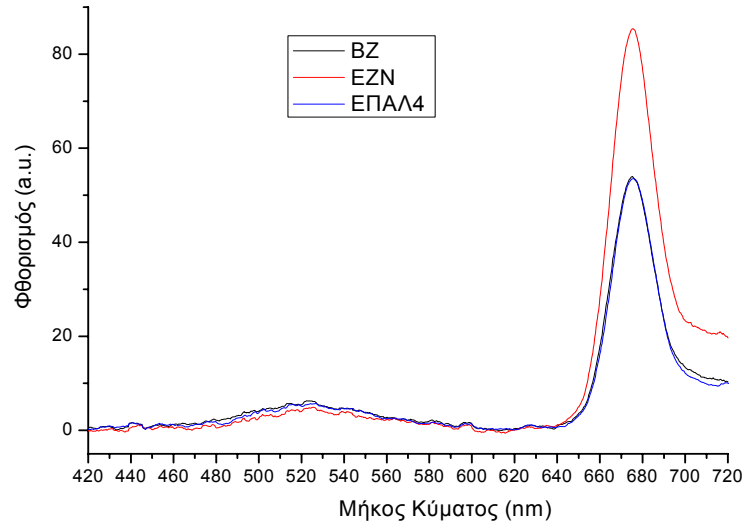
Σχήμα 3.16 *Συσχέτιση φθορισμού των προϊόντων οξείδωσης με ένταση λάμπας.*

Στο Σχήμα 3.16 συσχετίζεται ο φθορισμός στα 435 nm όπου απορροφούν τα προϊόντα οξείδωσης με την ένταση της απορρόφησης της λάμπας. Και στις δύο περιπτώσεις έχει αφαιρεθεί η ένταση του φθορισμού του υπόβαθρου στα 310 nm.
Συγκρίνοντας τις δυο συσχετίσεις (Σχήμα 5.15 και Σχήμα 3.16) συμπεραίνεται ότι η δεύτερη έχει μικρότερο συντελεστή συσχέτισης R= 0,9102 λόγω της μείωσης του S/N (σήμα /θόρυβο) σε αυτήν την περιοχή του φάσματος.



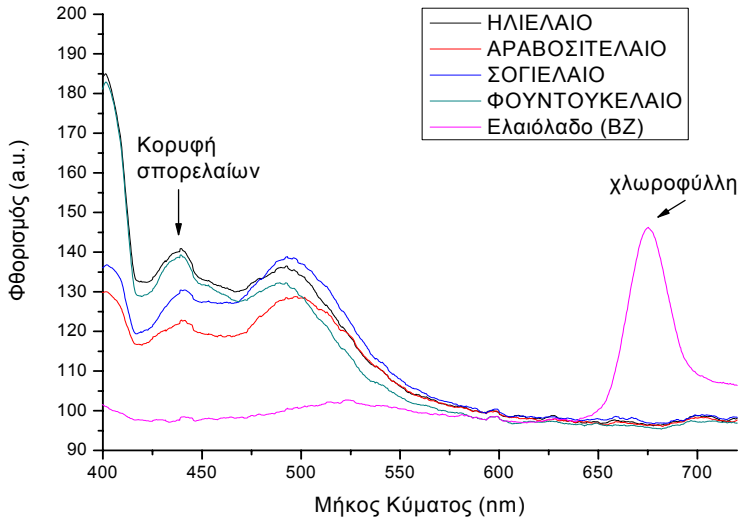
Σχήμα 3.17 *Τυπικό δείγμα φάσματος φθορισμού και τα μήκη κύματος στα οποία μετράμε τις εκπομπές φθορισμού (δείγμα από την σειρά 3).*

Με την μέθοδο αυτή λαμβάνονται φάσματα της μορφής του Σχήματος 3.17 από το οποίο προκύπτουν οι τιμές εκπομπής στο φάσμα. Για να υπολογιστεί η καθαρή εκπομπή της χλωροφύλλης των προϊόντων οξείδωσης της βιταμίνης Ε και της έντασης της λάμπας αφαιρούνται τα υπόβαθρα από τις κορυφές που προαναφέρθηκαν δηλαδή :
675-630nm χλωροφύλλη
435-310nm προϊόντα οξείδωσης
369-310nm κορυφή της χλωροφύλλης
435-450nm προϊόντα οξείδωσης



Σχήμα 3.18 *Τρία ελαιόλαδα (βιολογικό –τυποποιημένο -μη τυποποιημένο) τυπικό φάσμα φθορισμού (δείγμα από σειρά 3).*

Το Σχεδιάγραμμα 3.18 δείχνει την απόλυτη χλωροφύλλη σε κάθε δείγμα αφού έχει γίνει εξομάλυνση ως προς το φθορισμό της λάμπας για να παρατηρηθούν οι διαφορές της εκπομπής της χλωροφύλλης σε βιολογικό, τυποποιημένο και μη τυποποιημένο ελαιόλαδο. Παρατηρείται λοιπόν ότι στα επιλεγμένα δείγματα ο φθορισμός του τυποποιημένου ελαιολάδου είναι μεγαλύτερος από αυτόν του βιολογικού και του μη τυποποιημένου ελαιολάδου.

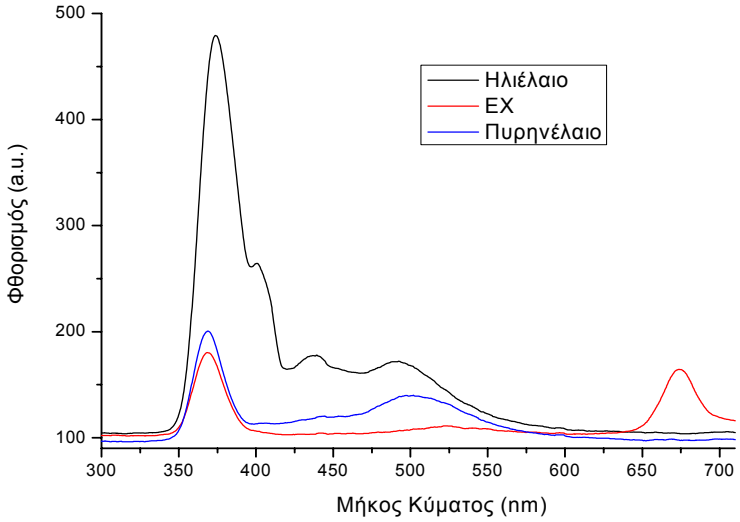


Σχήμα 3.19 *Φάσμα ελαιολάδων και σπορέλαιων (δείγμα από σειρά 3).*

Στο Σχήμα 3.19 παρατηρείται ότι τα σπορέλαια δεν φθορίζουν στα 670 nm λόγω έλλειψης χλωροφύλλης σε αντίθεση με το ελαιόλαδο, ενώ παρουσιάζουν κορυφή στα 435-441 nm λόγω

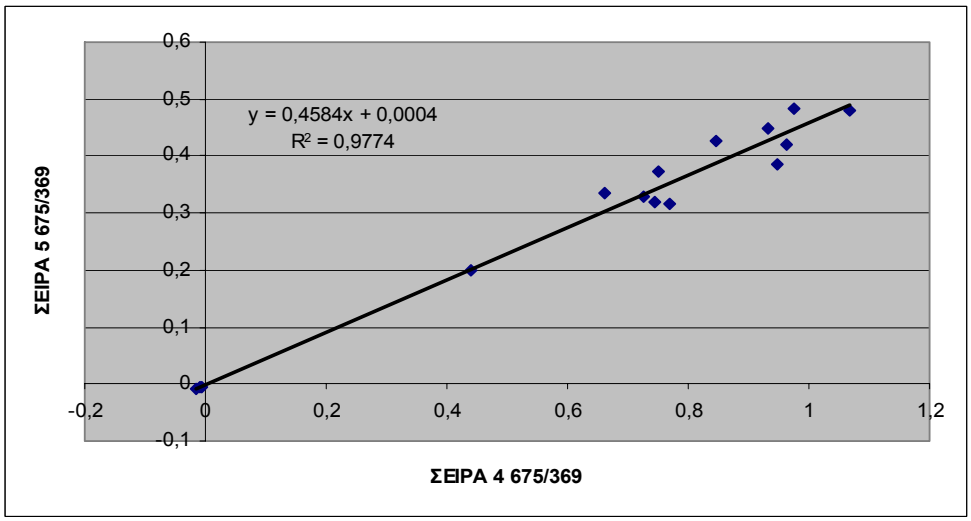
a) της μικρής διείσδυσης και μεγάλης απορρόφησης της UV δέσμης της λάμπας, και
b) της αυξημένης παρουσίας προϊόντων οξείδωσης, τα οποία φθορίζουν στην περιοχή των 435-441 nm.

Οι μετρήσεις που προέκυψαν από το φουντουκέλαιο λόγω αλλοίωσής του, δεν λαμβάνονται υπόψη , παρόλο που παρουσιάζονται στο σχεδιάγραμμα.



Σχήμα 3.20 *Φάσμα φθορισμού ελαιολάδου, σπορέλαιου και πυρηνέλαιο. Η κορυφή στα 369nm οφείλεται στη σκέδαση της ακτινοβολίας της UV λάμπας από την επιφάνεια του δείγματος (δείγμα από σειρά 4).*

Σε αυτό το φάσμα δεν γίνεται εξομάλυνση ως προς τη λάμπα για να δειχθεί η διαφορετική σκέδαση από την επιφάνεια των δειγμάτων. Το ηλιέλαιο δίνει φάσμα πιο δυνατής έντασης από τα άλλα δύο, κάτι το οποίο φαίνεται από τη κορυφή της λάμπας σε μήκος κύματος 370nm. Αυτό συμβαίνει επειδή στα σπορέλαια υπάρχει μικρότερη διείσδυση της ακτινοβολίας UV από ότι στα ελαιόλαδα λόγω της μεγαλύτερης απορρόφησης (βλέπε Σχήμα 3.4.). Μικρότερη διείσδυση σημαίνει μεγαλύτερη σκέδαση της UV ακτινοβολίας της λάμπας από τα ανώτερα στρώματα της επιφάνειας του δείγματος του ηλιέλαιου.

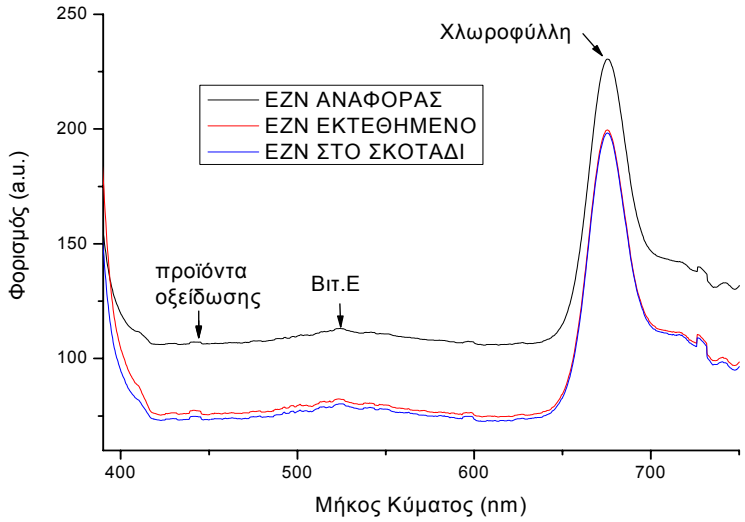


Σχήμα 3.21 *Συσχέτιση μεταξύ δύο σειρών φθορισμού χλωροφύλλης ελαιολάδων και σπορέλαιων(δείγμα από σειρές 4 και 5).*

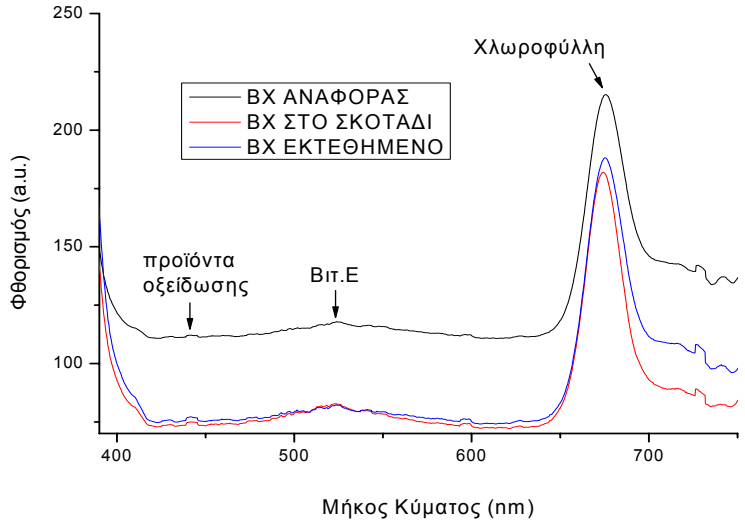
Για τον έλεγχο της επαναληψιμότητας στις διαφορετικές σειρές , έγινε συσχέτιση του φθορισμού της χλωροφύλλης της σειράς 4 ως προς την σειρά 5. Όπως φαίνεται στο Σχήμα 3.21, η τιμή του συντελεστή συσχέτισης ανέρχεται σε R= 0.99 που μεταφράζεται ως τέλεια επαναληψιμότητα μεταξύ των διαφορετικών σειρών φθορισμού.

ΈΛΕΓΧΟΣ ΣΕ ΑΠΟΘΗΚΕΥΜΕΝΑ ΚΑΙ ΕΚΤΕΘΗΜΕΝΑ ΕΛΑΙΟΛΑΔΑ

Για να ελεγχθεί ο τυχόν βαθμός αλλοίωσης της χλωροφύλλης, των προϊόντων οξείδωσης και της βιταμίνης Ε με το πέρασμα του χρόνου και της έκθεσης σε φως και αέρα τα οποία αποτελούν παράγοντες οξείδωσης, πραγματοποιήθηκαν οι παρακάτω μετρήσεις με την μέθοδο του φθορισμού:

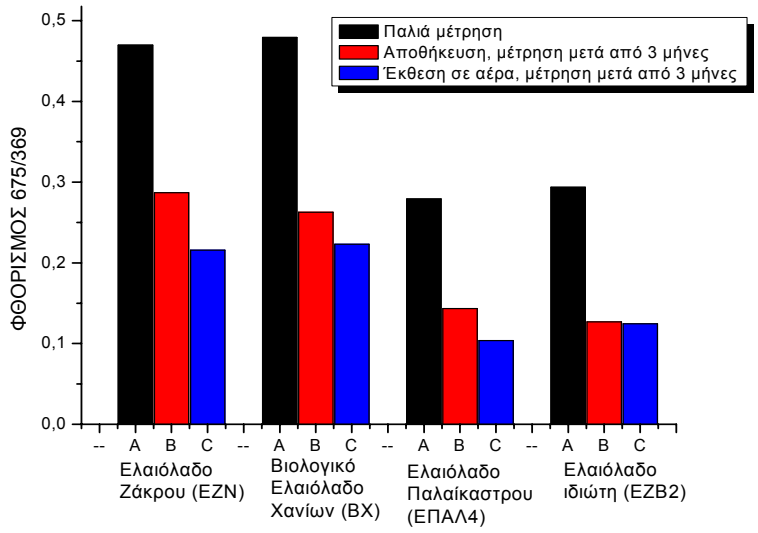


Σχήμα 3.22 *Φάσμα φθορισμού του EZN (δείγμα από σειρά 7).*



Σχήμα 3.23 *Φάσμα φθορισμού του BX (δείγμα από σειρά 7).*

Από τα Σχήματα 3.22 και 3.23 προκύπτει το συμπέρασμα ότι τα δείγματα που ήταν αποθηκευμένα στο σκοτάδι και κλεισμένα αεροστεγώς με τα εκτεθειμένα δείγματα στο φως και στον αέρα δεν έχουν μεγάλες διαφορές όσον αφορά στις τιμές απορρόφησης της χλωροφύλλης και των προϊόντων οξείδωσης. Διαφορά φαίνεται μεταξύ των δειγμάτων αναφοράς με τα άλλα δύο (εκτεθειμένα και μη) λόγω του ότι η οξείδωση ξεκινάει από την στιγμή που έρχεται σε επαφή η επιφάνεια του ελαιολάδου με τον αέρα και το φως. Η πτώση του φθορισμού της χλωροφύλλης και της φαιοφυτίνης σημαίνει αλλοίωση στη σύστασή τους η οποία ξεκινάει με το άνοιγμα του μπουκαλιού στα τυποποιημένα ελαιόλαδα.
Στο ίδιο συμπέρασμα οδηγούμαστε παρατηρώντας και το Σχήμα 3.24 στο οποίο φαίνεται η συγκέντρωση της χλωροφύλλης του δείγματος αναφοράς συγκριτικά με τα άλλα δείγματα.



Σχήμα 3.24 *Συγκεντρωτικό ραβδόγραμμα όλων των ελαιολάδων (αναφοράς- εκτεθειμένα- αποθηκευμένα). Οι τιμές στον άξονα του φθορισμού αντιστοιχούν στο λόγο του φθορισμού στα 675 nm προς την ένταση της σκέδασης της λάμπας στα 369 nm.*

Στο ραβδόγραμμα επαληθεύεται η μείωση της χλωροφύλλης στα τυποποιημένα ελαιόλαδα (EZN,BX) για τους προαναφερθέντες λόγους.
Όσον αφορά στο ΕΠΑΛ4, φρέσκο λάδι, η αλλαγή στην σύστασή του σε χλωροφύλλη και φαιοφυτίνη ξεκινάει από την ημερομηνία παραγωγής και συνεχίζει τους επόμενους μήνες. Μεγαλύτερη αλλαγή παρατηρείται κατά την έκθεσή του στο φως και στον αέρα.
Στην περίπτωση του EZB2, οι τιμές του αποθηκευμένου και του εκτεθειμένου δείγματος είναι ίδιες και εξηγούνται διότι η ημερομηνία παραγωγής ήταν πολύ παλιά. Ως εκ τούτου οι αλλαγές έχουν ήδη πραγματοποιηθεί.

3.4 ΤΗΓΑΝΙΣΜΑ

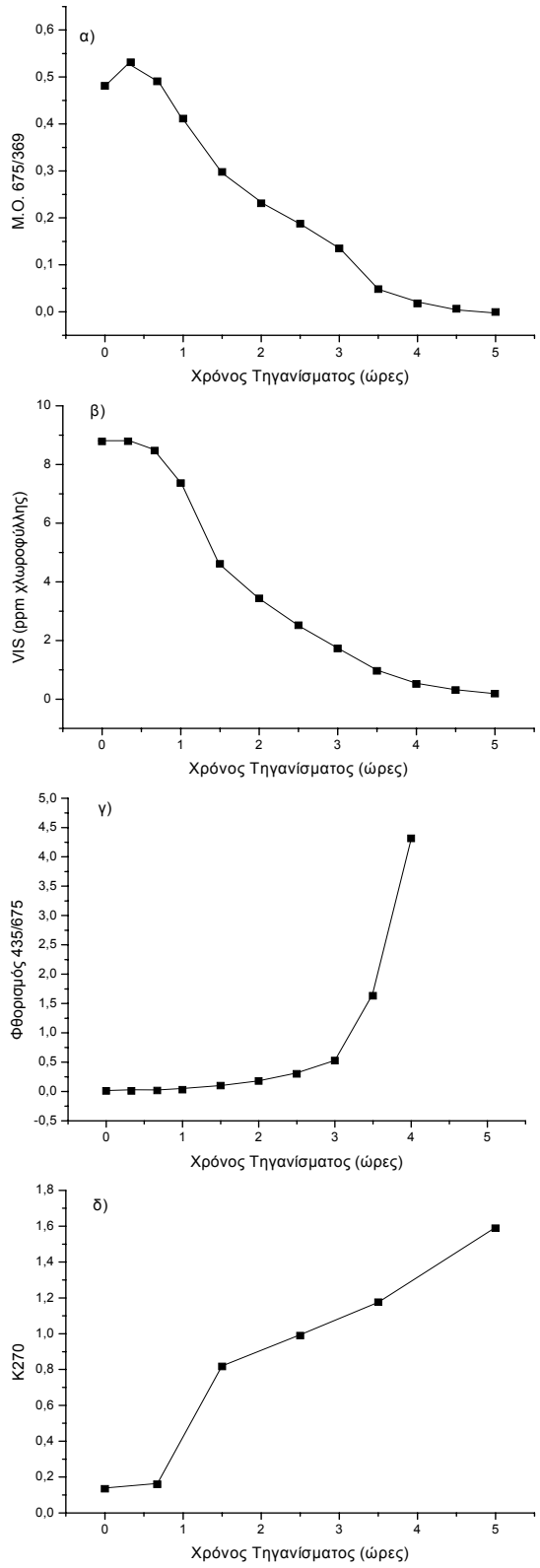
Σε όλα τα δείγματα ελαιολάδου τα οποία θερμάνθηκαν, έγιναν μετρήσεις με την μέθοδο του φθορισμού και φασματοσκοπία στην ορατή ακτινοβολία ενώ φασματοσκοπία στην υπεριώδη ακτινοβολία έγινε επιλεκτικά στα δείγματα, EZN αναφοράς, EZN2, EZN4, EZN6, EZN8 και EZN11. Χρησιμοποιήθηκαν και οι 3 μέθοδοι για επαλήθευση της εγκυρότητας του φθορισμού αφού θα γινόταν σύγκριση με μια μέθοδο δοκιμασμένη (φασματοσκοπία).

3.4.1 ΦΘΟΡΙΣΜΟΣ ΣΕ ΤΗΓΑΝΙΣΜΕΝΑ ΔΕΙΓΜΑΤΑ

Άλλος τρόπος προσδιορισμού τις χλωροφύλλης πέρα από τις ήδη υπάρχουσες μεθόδους είναι ο φθορισμός ο οποίος χρησιμοποιείται ως εναλλακτική μέθοδος με τα εξής χαρακτηριστικά: γρήγορη, χωρίς προετοιμασία δείγματος, χωρίς χημικά, φιλική προς το περιβάλλον , χωρίς οργανικούς διαλύτες.

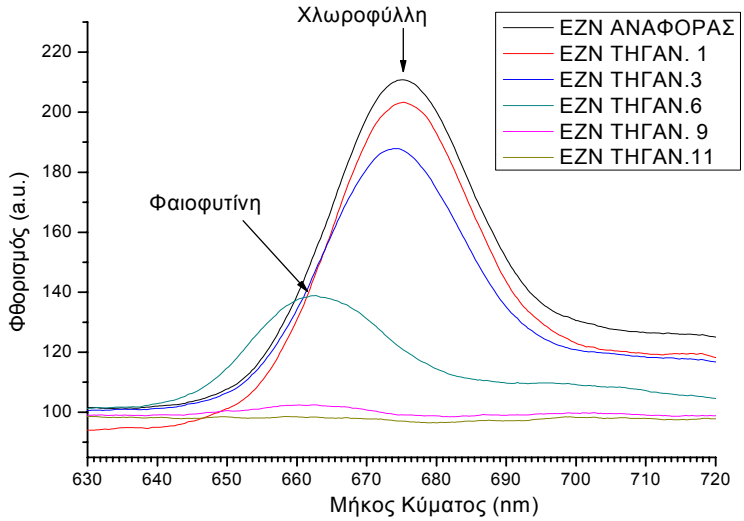
Πίνακας 3.4 *Συγκεντρωτικός πίνακας αποτελεσμάτων φθορισμού χλωροφύλλης και προϊόντων οξείδωσης , ppm χλωροφύλλης (VIS),K_{270}(δευτερογενή προϊόντα οξείδωσης,UV).*

ΔΕΙΓΜΑ	ΘΕΡΜΟΚΡΑΣΙΑ ΕΣΤΙΑΣ	ΩΡΕΣ ΤΗΓΑΝΙΣΜΑΤΟΣ	ΘΕΡΜΟΚΡΑΣΙΑ ΛΑΔΙΟΥ	Μ.Ο. 675/369	Μ.Ο. 435/369	ppm χλωρ.	Κ 270
EZN ΑΝΑΦΟΡΑΣ	0	0	25	0,481	0,005	8,785	0,135
EZN1	200	0,33	80	0,531	0,005	8,793	
EZN2	200	0,67	130	0,491	0,009	8,470	0,160
EZN3	300	1	180	0,411	0,012	7,366	
EZN4	300	1,5	199	0,298	0,030	4,613	0,817
EZN5	300	2	200	0,231	0,041	3,435	
EZN6	300	2,5	199	0,188	0,056	2,514	0,989
EZN7	300	3	198	0,135	0,071	1,726	
EZN8	350	3,5	223	0,048	0,078	0,963	1,175
EZN9	350	4	227	0,018	0,076	0,518	
EZN10	350	4,5	225	0,006	0,075	0,309	
EZN11	350	5	216	-0,001	0,074	0,186	1,588



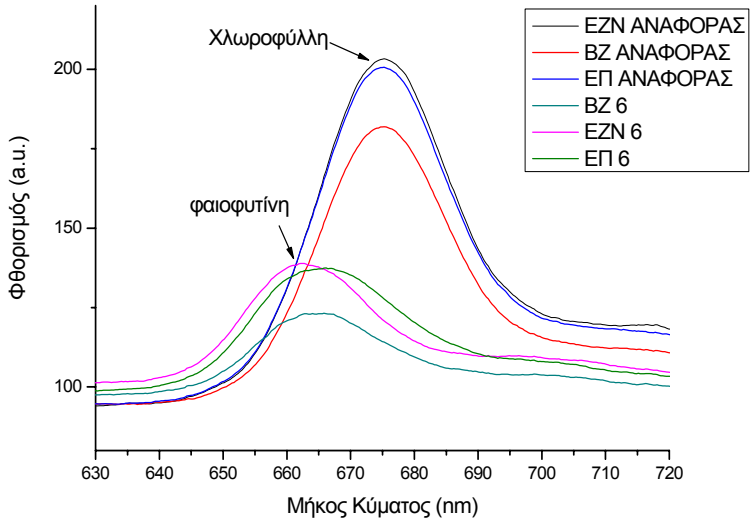
Σχήμα 3.25 *α) Συσχέτιση φθορισμού 675/369 ως προς το χρόνο τηγανίσματος*
β) Συσχέτιση ppm χλωροφύλλης ως προς το χρόνο τηγανίσματος
γ) Συσχέτιση φθορισμού 435/675 ως προς το χρόνο τηγανίσματος
δ) *Συσχέτιση K_{270} (επιλεκτικά δείγματα) ως προς το χρόνο τηγανίσματος.*

Στις Συσχετίσεις (α) και (β) στο σχήμα 3.25 παρατηρείται ότι μέχρι τους *130C* (0,67 ώρες) δεν υπάρχει αλλοίωση της χλωροφύλλης ενώ από το σημείο αυτό και μετά, σημειώνεται βαθμιαία πτώση της. Μετά τις 4 ώρες η παρουσία της είναι σχεδόν μηδενική στο ελαιόλαδο.
Στα Σχήματα (α) και (β) παρατηρείται παρόμοια συμπεριφορά επειδή γίνεται και στις δύο περιπτώσεις μέτρηση της χλωροφύλλης απλά αυτό γίνετε με διαφορετικές μεθόδους (φθορισμός και φασματοσκοπία VIS αντίστοιχα).
Στην Συσχέτιση (γ) τα προϊόντα οξείδωσης αυξάνονται σταδιακά μέχρι τις 3 ώρες τηγανίσματος και στις επόμενες 2 ώρες παρατηρείται απότομη αύξησή τους .
Στην Συσχέτιση (δ) διαπιστώνεται ότι όσο αυξάνεται ο χρόνος τηγανίσματος τόσο αυξάνονται τα προϊόντα οξείδωσης (K270) ενώ υπάρχει σταθερότητα μέχρι την 1,5 ώρα τηγανίσματος και μετά γραμμικότητα μέχρι την λήξη του πειράματος.
Όπως στα Σχήματα (α) και (β) παρατηρήθηκαν ομοιότητες, έτσι υπάρχει παρόμοια συμπεριφορά και στα Σχήματα (γ) και (δ), όπου διαπιστώνεται αύξηση και στα δύο σχήματα. Αυτό συμβαίνει γιατί και στις δύο περιπτώσεις έχουν μετρηθεί τα προϊόντα οξείδωσης με διαφορετική μέθοδο (φθορισμό και UV φασματοσκοπία αντίστοιχα). Ο διαφορετικός τρόπος αύξησης οφείλεται στο ότι το K_{270} δείχνει τα προϊόντα οξείδωσης ενώ στο (γ) η αύξηση επιτείνεται γιατί διαιρείται με το φθορισμό 675 που συγχρόνως μειώνεται.



Σχήμα 3.26 *Επιλεκτικά φάσματα φθορισμού του τηγανισμένου EZN (τα ίδια αποτελέσματα προέκυψαν και για τα λάδια ΕΠ και ΒΖ που θερμάνθηκαν κάτω από τις ίδιες συνθήκες*).

Στο Σχήμα 3.26 παρατίθενται επιλεκτικά φάσματα εκπομπής του ελαιολάδου EZN το οποίο θερμάνθηκε για 5 ώρες. Παρατηρείται σταδιακή μείωση της χλωροφύλλης μέχρι το τρίτο δείγμα ενώ στο έκτο η κορυφή της χλωροφύλλης έχει μετατοπιστεί στα 660 nm περίπου γιατί έχει μετατραπεί σε φαιοφυτίνη (χλωροφύλλη-α →φαιοφυτίνη-α) . Η μετατροπή αυτή γίνεται ξαφνικά και όχι σταδιακά εξαιτίας της απομάκρυνσης του μαγνησίου από το μόριο της χλωροφύλλης.

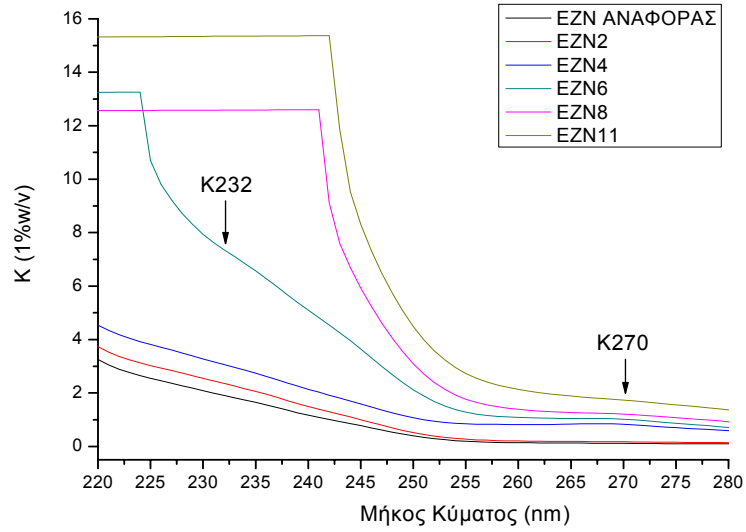


Σχήμα 3.27 *Φάσματα εκπομπής συγκριτικά σε διαφορετικά δείγματα. Μετατόπιση κορυφής χλωροφύλλης μετά από 2,5 ώρες τηγανίσματος.*

Στο Σχήμα 3.27 παρουσιάζονται συγκεντρωτικά τα 3 δείγματα των ελαιόλαδων που θερμάνθηκαν (τηγανίστηκαν) καθώς και τα δείγματα αναφοράς αυτών. Παρατηρείται ίδια συμπεριφορά και στα τρία δείγματα δηλαδή, μετατόπιση της κορυφής της χλωροφύλλης από τα 670 nm στα 660 nm, από τη στιγμή που η χλωροφύλλη μετατρέπεται σε φαιοφυτίνη στη θερμοκρασία των 200ºC.

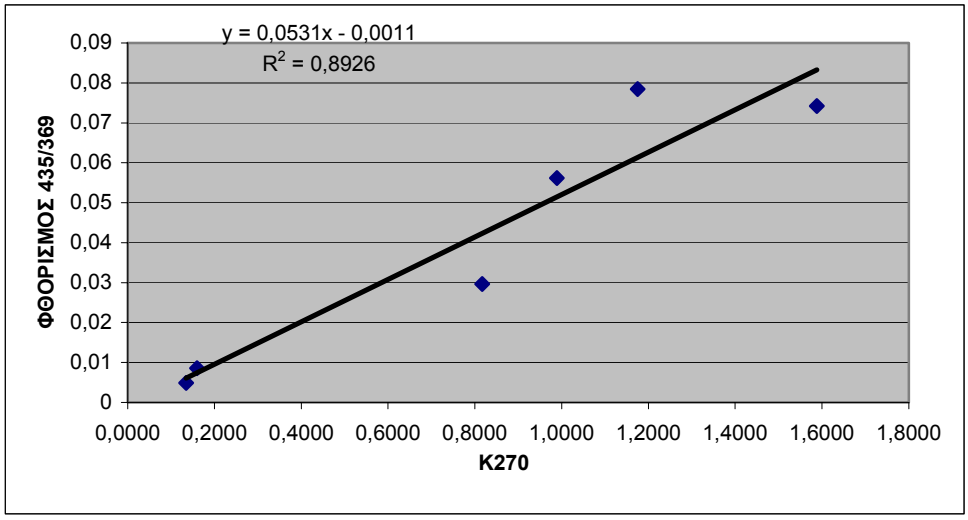
3.4.2 ΦΑΣΜΑΤΟΣΚΟΠΙΑ UV ΣΕ ΤΗΓΑΝΙΣΜΕΝΑ ΔΕΙΓΜΑΤΑ

Η μέθοδος της φασματοσκοπίας εφαρμόσθηκε σε επιλεκτικά τηγανισμένα δείγματα του ελαιολάδου ΕΖΝ τα οποία αραιώθηκαν με ισοοκτάνιο για την ανίχνευση των δευτερογενών προϊόντων οξείδωσης. Τα αποτελέσματα αυτά παρατίθενται στον πίνακα 3.4.



Σχήμα 3.28 *Φάσματα UV του τηγανισμένου ελαιόλαδου ΕΖΝ*

Στο Σχήμα 3.28 διαπιστώνεται σταδιακή αύξηση των προϊόντων οξείδωσης σε συνάρτηση με το πέρας του χρόνου τηγανίσματος. Από το τέταρτο δείγμα και μετά (1,5 ώρα τηγανίσματος) αυξάνονται τα προϊόντα οξείδωσης και κατ' επέκταση υποβιβάζεται η ποιότητα του ελαιολάδου. Επειδή το μηχάνημα που χρησιμοποιήθηκε μετράει απορρόφηση μέχρι τα 5 a.u. και από το έκτο δείγμα και μετά υπάρχει απορρόφηση μεγαλύτερη αυτής της τιμής, παρουσιάζεται ο κορεσμός που φαίνεται στο φάσμα 3.28. Για να μπορούσαμε να δούμε αυτές τις κορυφές (232 nm) θα έπρεπε να έχει γίνει μεγαλύτερη αραίωση.
Αξίζει λοιπόν να σημειωθεί πως προτεινόμενος χρόνος τηγανίσματος είναι η 1,5 ώρα, από τη στιγμή που μέχρι τη συγκεκριμένη ώρα δεν έχει παρατηρηθεί αξιόλογη υποβάθμιση- αλλοίωση του ελαιολάδου.

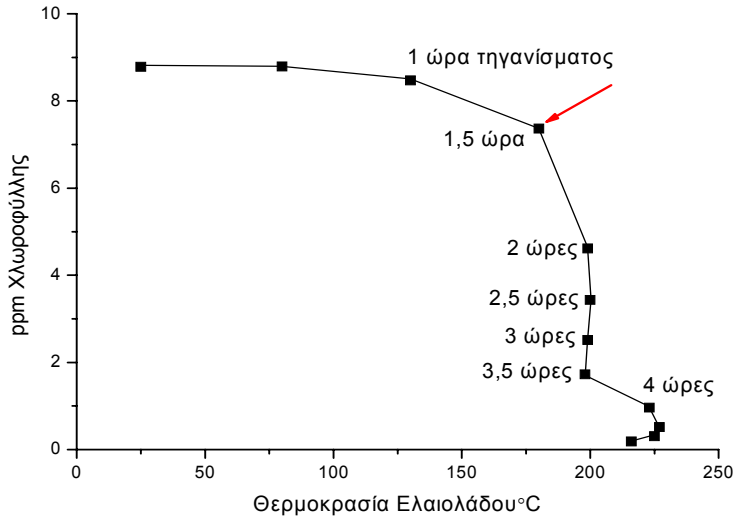


Σχήμα 3.29 *Συσχέτιση φθορισμού-UV σε σχέση με τα προϊόντα οξείδωσης.*

Η Συσχέτιση που παρατίθενται στο σχήμα 3.29 είναι πολύ καλή με συντελεστή συσχέτισης R= 0,94 και έγινε για την επιβεβαίωση της εναλλακτικής μεθόδου, του φθορισμού. Από το παραπάνω γράφημα διαπιστώνεται λοιπόν ότι υπάρχει συσχέτιση των δύο μεθόδων (φασματοσκοπία UV - φθορισμός) μετρώντας τα προϊόντα οξείδωσης.

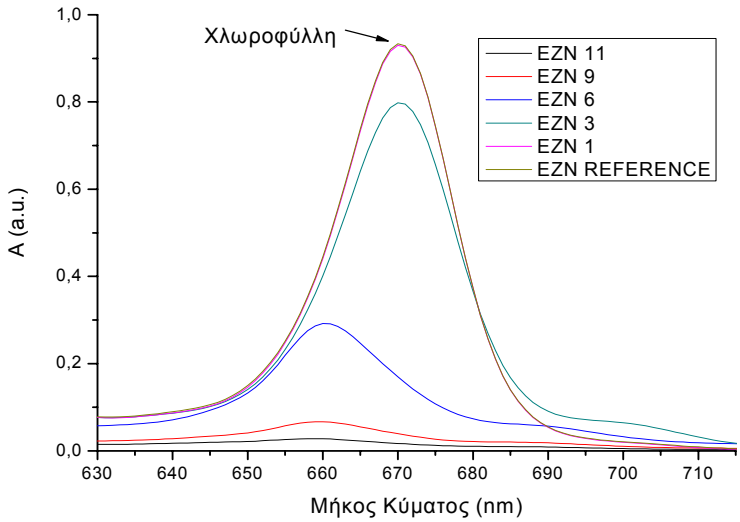
3.4.3 ΦΑΣΜΑΤΟΣΚΟΠΙΑ VIS ΣΕ ΤΗΓΑΝΙΣΜΕΝΑ ΔΕΙΓΜΑΤΑ

Εκτός από τις μεθόδους που προαναφέρθηκαν, μετρήσεις πραγματοποιήθηκαν και με τη φασματοσκοπία στο ορατό φως. Το πείραμα πραγματοποιήθηκε και στα τρία ελαιόλαδα που θερμάνθηκαν (ΕΖΝ, ΕΠ, ΒΖ) και σε αυτό το υποκεφάλαιο θα παρατεθούν ενδεικτικά αποτελέσματα του ΕΖΝ ελαιολάδου.
Κύριως στόχος αυτών των μετρήσεων ήταν να υπολογιστεί η υποβάθμιση της χλωροφύλλης κατά τη συνεχή θέρμανση.



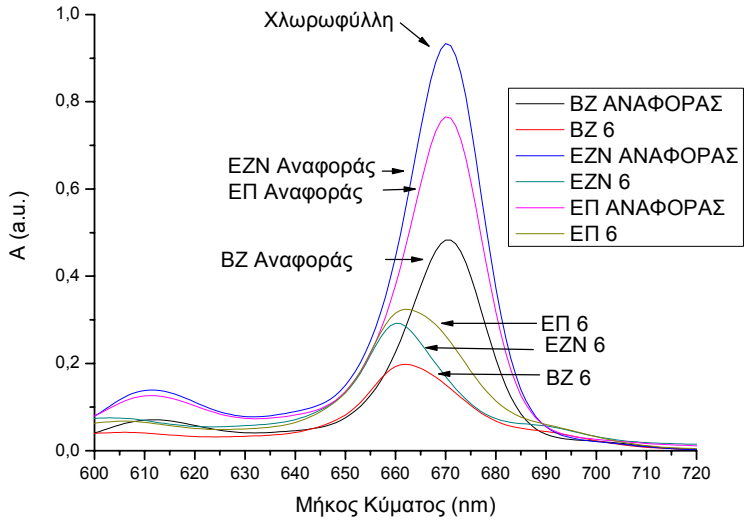
Σχήμα 3.30 *Σχέση ppm χλωροφύλλης με θερμοκρασία του δείγματος EZN.*

Από το Σχήμα 3.30 διαπιστώνετε ότι υπάρχει μια μικρή μείωση της χλωροφύλλης έως τη θερμοκρασία των 180 ^{o}C. Από τους 180 ^{o}C μέχρι τους 223^{o}C παρατηρείται απότομη πτώση της χλωροφύλλης, ενώ από τους 223^{o}C μέχρι τους 216^{o}C (5 ώρες συνεχούς θέρμανσης) η ποσότητα της χλωροφύλλης είναι μηδαμινή. Συμπεραίνεται λοιπόν ότι όσο αυξάνεται η θερμοκρασία του ελαιολάδου μειώνεται η ποσότητα της χλωροφύλλης.



Σχήμα 3.31 *Φασματοσκοπία VIS σε τηγανισμένο ελαιόλαδο (EZN).*

Από το Σχήμα 3.26 (μέθοδος φθορισμού) και 3.31 (φασματοσκοπία στο ορατό φως) επαληθεύεται η συσχέτιση μεταξύ των δύο μεθόδων εφόσον τα φάσματα τους είναι πανομοιότυπα. Παρατηρείται και εδώ ότι με την αύξηση του χρόνου τηγανίσματος η χλωροφύλλη μειώνεται και υπάρχει μετατόπιση της κορυφής της χλωροφύλλης μετά τη μετατροπή της σε φαιοφυτίνη (στο έκτο δείγμα-2,5 ώρες θέρμανσης). Διαπιστώνεται ότι μετά το ένατο δείγμα παύει να υπάρχει ακόμα και η κορυφή της φαιοφυτίνης.



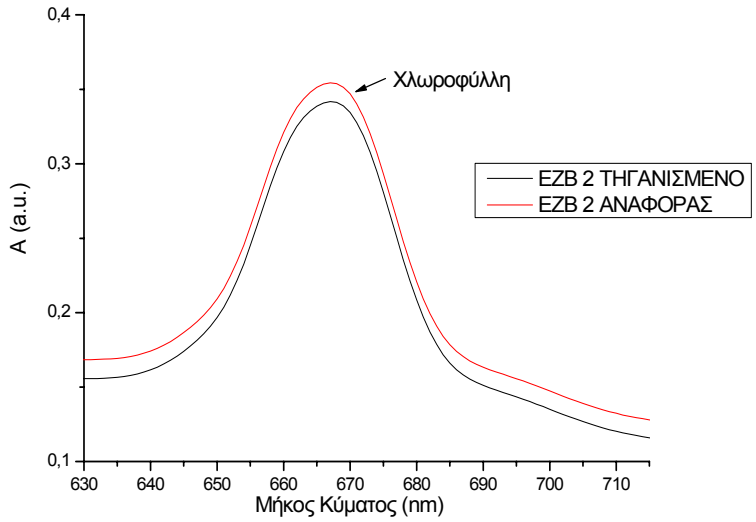
Σχήμα 3.32 *Σύγκριση δειγμάτων αναφοράς με τα αντίστοιχα τηγανισμένα ελαιόλαδα στα δείγματα ΒΖ,ΕΖΝ και ΕΠ.*

Στο Σχήμα 3.32 επιβεβαιώνεται η επαναληψιμότητα της μεθόδου καθώς και η μετατροπή της χλωροφύλλης σε φαιοφυτίνη μετά το έκτο δείγμα (2,5 ώρες θέρμανσης-199 ^{o}C). Επίσης διαπιστώνεται ότι η μετατροπή αυτή συμβαίνει στιγμιαία και όχι σταδιακά εφόσον και τα τρία δείγματα παρουσιάζουν ίδια συμπεριφορά κάτω από ίδιες συνθήκες θέρμανσης.

3.4.4 EZB2 (Δείγμα από λάδι που έχει τηγανιστεί φαγητό, κάτω από οικιακές συνθήκες)

Πίνακας 3.5 *Ποσότητα χλωροφύλλης τηγανισμένου ελαιολάδου σε φαγητό*

ΔΕΙΓΜΑ	Μ.Ο. ppm	τυπ.αποκλ. (±)
EZB2 REFERENCE	3,75	0,01
EZB2 ΤΗΓ. VIS 1	2,02	0,01



Σχήμα 3.33 *Σύγκριση ελαιολάδου αναφοράς με ελαιόλαδο στο οποίο έχουν τηγανιστεί πιτάκια για μία φορά.*

Στο Σχήμα 3.33 δεν παρατηρείται αξιόλογη μεταβολή της χλωροφύλλης στο τηγανισμένο δείγμα, είτε ποιοτική (μετατροπή της χλωροφύλλης σε άλλη ένωση) είτε ποσοτική (αλλαγή της περιεκτικότητας του ελαιολάδου σε χλωροφύλλη). Πρέπει να αναφερθεί ότι η διαδικασία τηγανίσματος έγινε κάτω από οικιακές συνθήκες. Με τον όρο αυτό εννοείτε ότι πρόκειται για φρέσκο ελαιόλαδο, το οποίο τηγανίστηκε για πρώτη φορά και η διαδικασία τηγανίσματος δεν διήρκεσε για περισσότερο από 1 ώρα.

3.5 ΝΟΘΕΙΑ

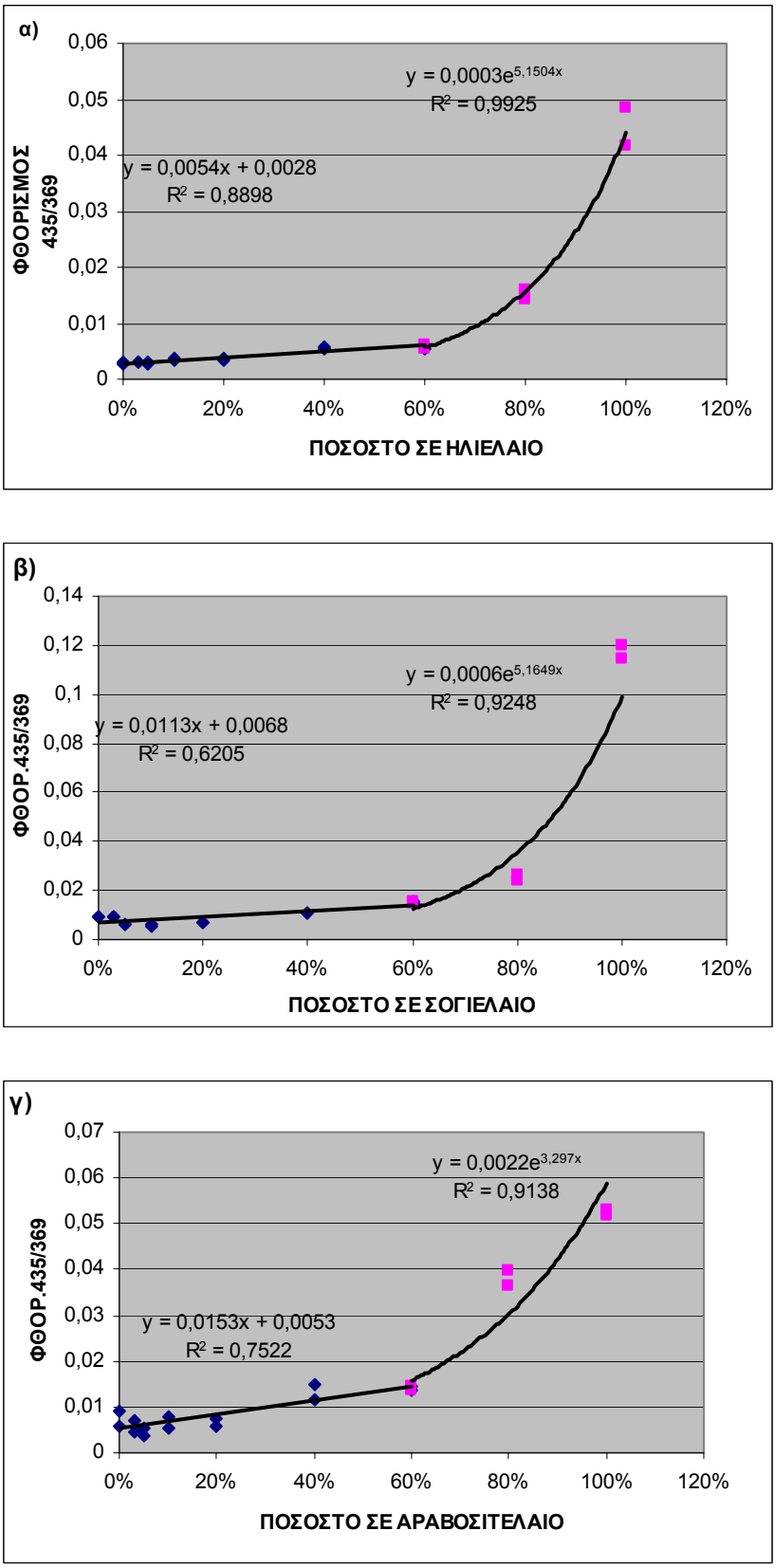
Για την ανίχνευση νοθευμένων δειγμάτων μέχρι σήμερα έχουν χρησιμοποιηθεί κυρίως χρωματογραφικές τεχνικές όπως, χρωματογραφικές αντιδράσεις, προσδιορισμός του βαθμού ιωδίου, η τιμή σαπωνοποίησης, μετρήσεις πυκνότητας, ιξώδες, δείκτης διάθλασης, απορρόφηση στο υπεριώδες φως κ.α. Στη παρούσα εργασία χρησιμοποιήθηκε η μέθοδος του φθορισμού ως μία εναλλακτική μέθοδος.
Αφού ακολουθήθηκε η διαδικασία που προαναφέρθηκε στο υποκεφάλαιο 2.2.5, για τη προετοιμασία των δειγμάτων και έγιναν οι μετρήσεις φθορισμού, βγήκαν τα ακόλουθα αποτελέσματα:

3.5.1 ΝΟΘΕΙΑ ΜΕ ΣΠΟΡΕΛΑΙΑ

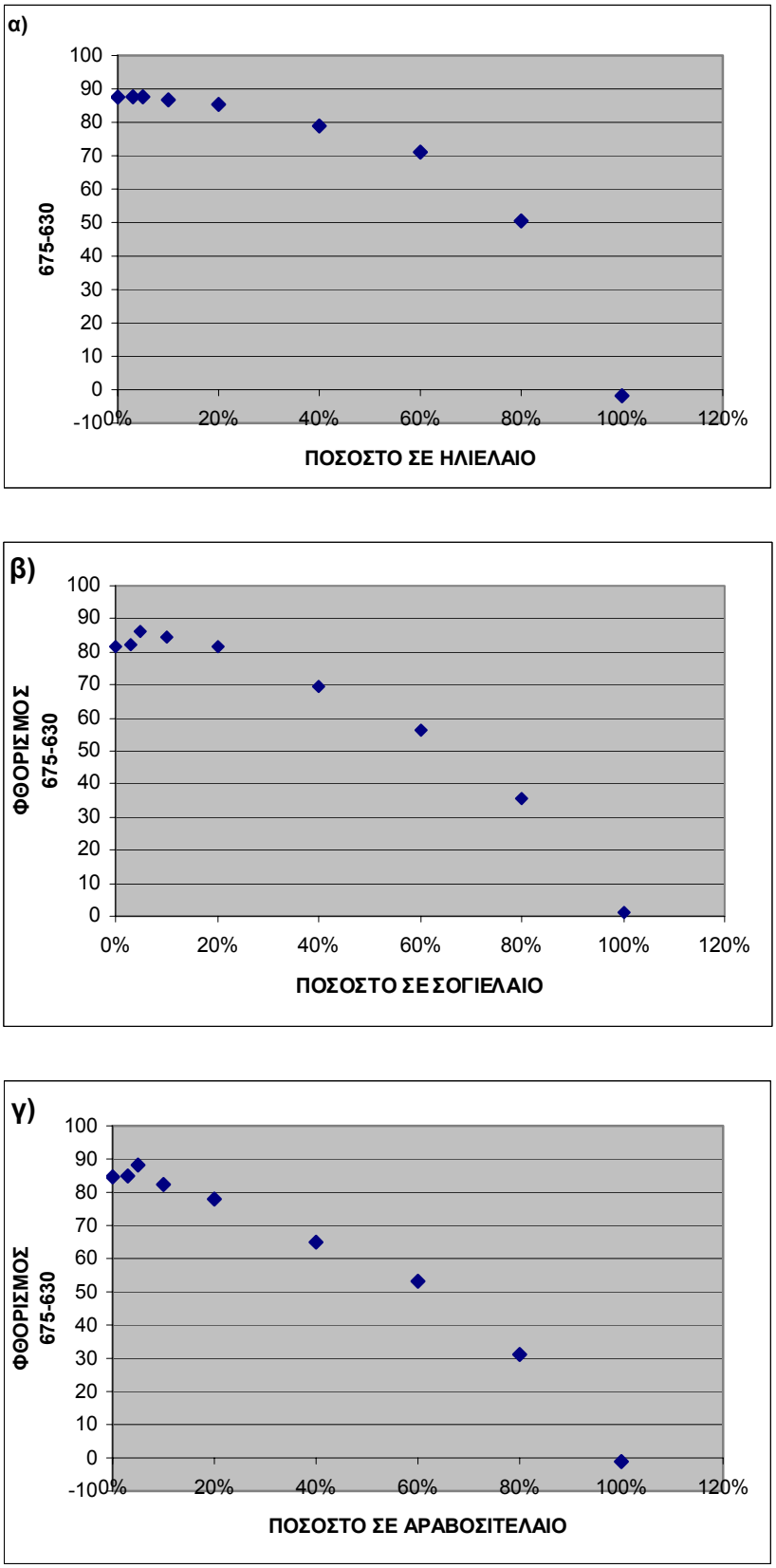
Στις Συσχετίσεις του Σχήματος 3.34 παρατηρείται γραμμική αύξηση των προϊόντων οξείδωσης, έως το 60% της νοθείας, ανεξάρτητα του σπορέλαιου που χρησιμοποιήθηκε ως μέσο νόθευσης του ελαιολάδου. Από το 60% έως το 100% παρατηρείται εκθετική αύξηση των προϊόντων οξείδωσης. Οι συντελεστές συσχέτισης κάθε γραφήματος είναι:
α) γραμμική αύξηση R=0.94, εκθετική αύξηση R=0.99
β) γραμμική αύξηση R=0.79, εκθετική αύξηση R=0.96
γ) γραμμική αύξηση R=0.87, εκθετική αύξηση R=0.96

Σύμφωνα με το Σχήμα 3.35 όπου συσχετίζεται η εκπομπή του φθορισμού της χλωροφύλλης των νοθευμένων δειγμάτων με το ποσοστό νοθείας παρατηρείται ότι η χλωροφύλλη παραμένει σχετικά σταθερή έως ποσοστό νοθείας 10% ενώ στη συνέχεια μειώνεται ανάλογα με τη αύξηση της νοθείας. Η αρχική σταθερότητα ίσως να οφείλεται στον κορεσμό του φθορισμού λόγω μεγάλης έντασης της λάμπας. Μπορεί επίσης να οφείλεται στην επαναπορρόφηση του φθορισμού στα 675 nm από τη χλωροφύλλη του ίδιου του δείγματος όταν η συγκέντρωσή της είναι υψηλή.

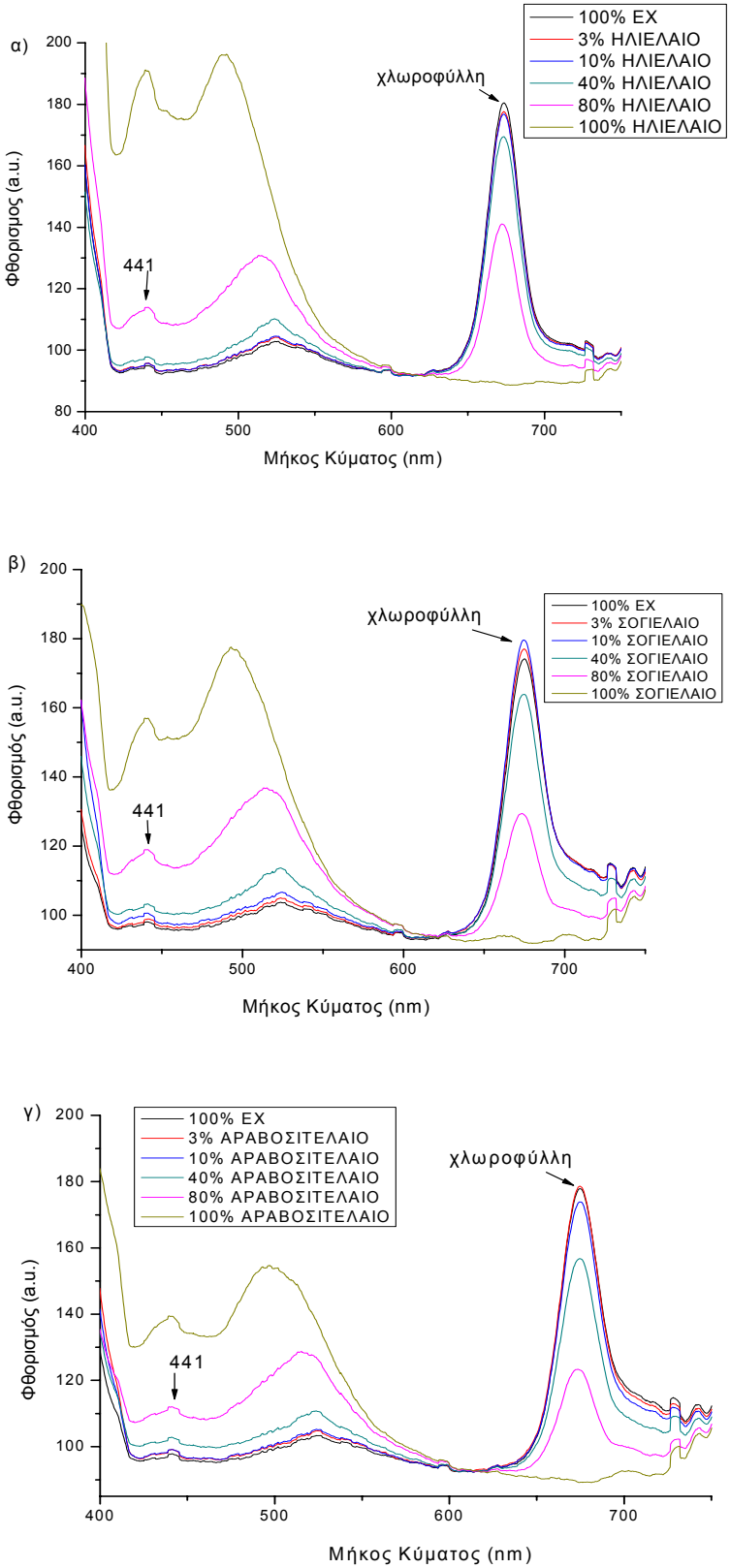
Στα φάσματα που παρατίθενται στο σχήμα 3.36 φαίνεται η μείωση της χλωροφύλλης, η οποία είναι ανάλογη της αύξησης του νοθεύματος. Η κορυφή που εμφανίζεται στα 441 nm σχετίζεται με τη αύξηση της ποσότητας του νοθεύματος (σπορέλαιου) στο ελαιόλαδο και όχι με τα προϊόντα οξείδωσης. Ακόμα γνωρίζουμε ότι τα σπορέλαια εκπέμπουν περισσότερο από τα ελαιόλαδα, από τη στιγμή που η διείσδυση της ακτίνας UV είναι μικρότερη στη κυψελίδα με το δείγμα από ότι στα ελαιόλαδα.



Σχήμα 3.34 *Φθορισμός 435 (προϊόντα οξείδωσης) ως προς ποσοστό νοθείας α)με ηλιέλαιο β)με σογιέλαιο γ)με αραβοσιτέλαιο.*



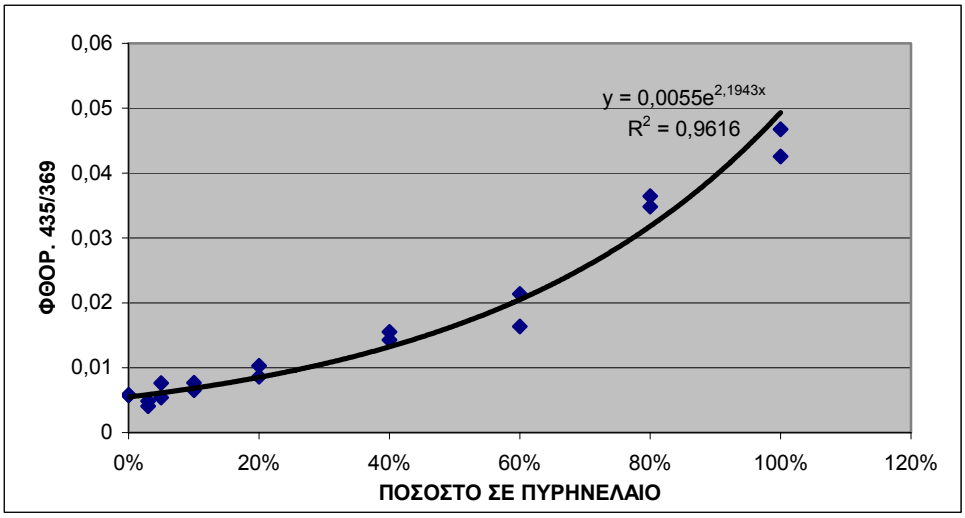
Σχήμα 3.35 *Φθορισμός στα 675 (χλωροφύλλη) ως προς ποσοστό νοθείας α)με ηλιέλαιο β)με σογιέλαιο γ)με αραβοσιτέλαιο.*



Σχήμα 3.36 *Φάσματα φθορισμού νοθευμένων ελαιολάδων με σπορέλαια. α)με ηλιέλαιο β)με σογιέλαιο γ)με αραβοσιτέλαιο.*

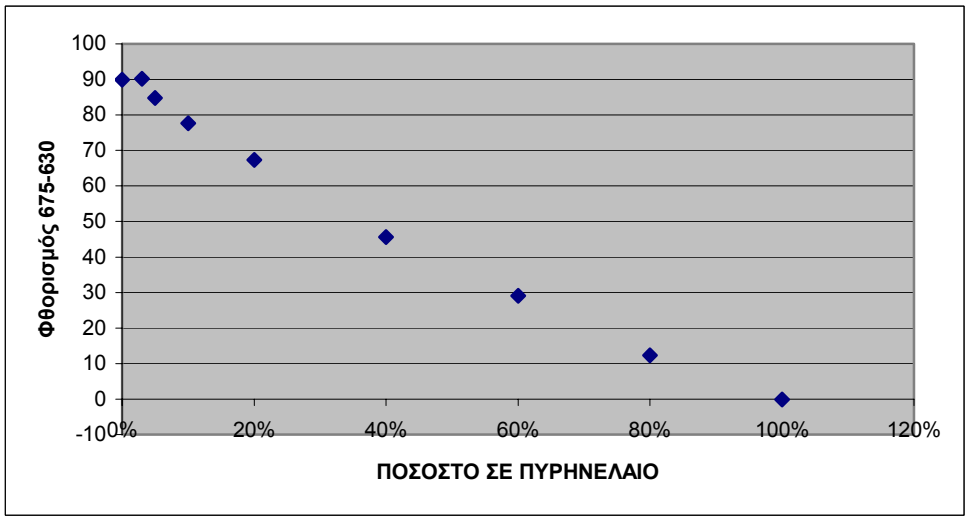
3.5.2 ΝΟΘΕΙΑ ΜΕ ΠΥΡΗΝΕΛΑΙΟ

Ένας άλλος διαδεδομένος τρόπος νοθείας του ελαιολάδου είναι με προσθήκη του πυρηνελαίου, του οποίου η ανίχνευση είναι δυσκολότερη εξαιτίας των παρόμοιων ιδιοτήτων του με το ελαιόλαδο.



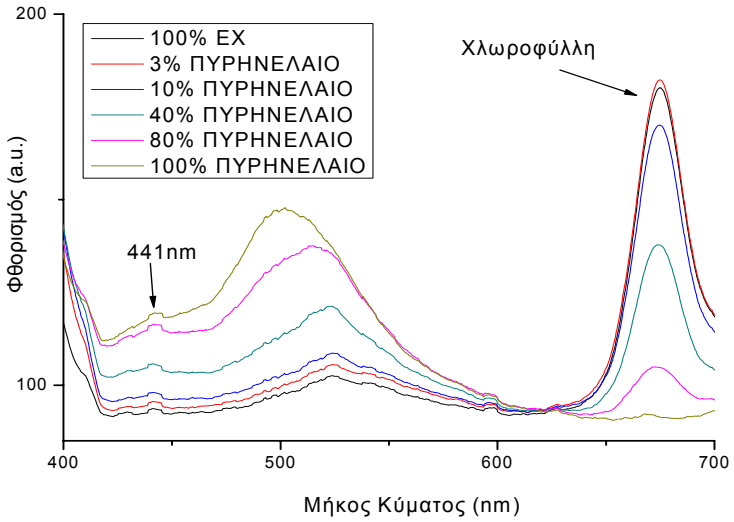
Σχήμα 3.37 *Φθορισμός 435 (προϊόντα οξείδωσης) ως προς ποσοστό νοθείας με πυρηνέλαιο.*

Στο Σχήμα 3.37 φαίνεται εκθετική αύξηση των προϊόντων οξείδωσης εν συναρτήσει του ποσοστού νοθείας με πυρηνέλαιο και με συντελεστή συσχέτισης R=0,98.



Σχήμα 3.38 *Φθορισμός στα 675 (χλωροφύλλη) ως προς το ποσοστό νοθεία με πυρηνέλαιο.*

Παρατηρείται ότι όπως και στο Γράφημα 3.35 υπάρχει μικρή μείωση της χλωροφύλλης μέχρι και το 10%, ενώ στη συνέχεια εμφανίζεται σταδιακή μείωση της. Στο γράφημα είναι εμφανές ότι στο δείγμα που περιλαμβάνει αποκλειστικά πυρηνέλαιο η χλωροφύλλη απουσιάζει πλήρως.

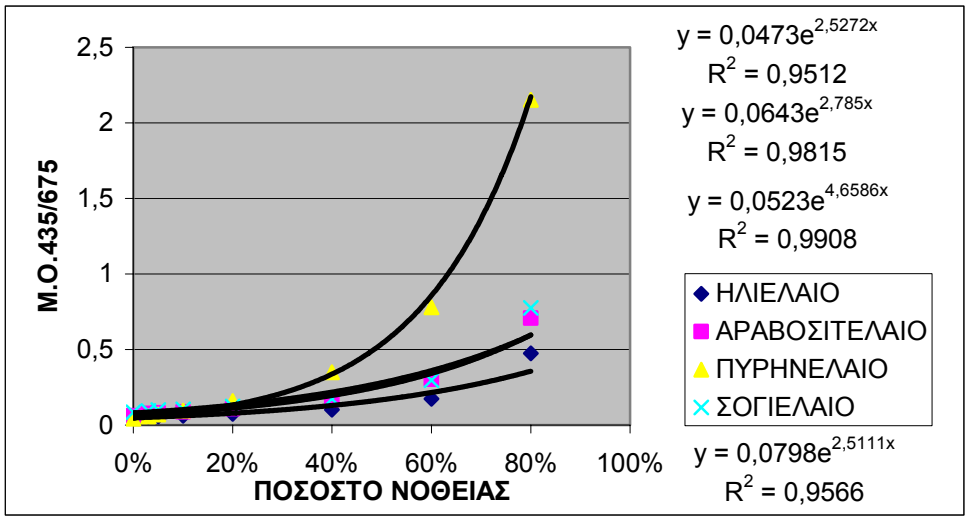


Σχήμα 3.39 *Φάσματα φθορισμού νοθευμένου ελαιολάδου με πυρηνέλαιο.*

Συγκριτικά με αντίστοιχα τα φάσματα του Σχήματος 3.36, παρατηρείται ομοιότητα όσον αφορά στη μείωση της χλωροφύλλης με τη διαφορά ότι το καθαρό πυρηνέλαιο εμφανίζει μικρή κορυφή χλωροφύλλης στα 670 nm που παρουσιάζεται είτε από ελάχιστη ποσότητα χλωροφύλλης είτε από ουσίες με παρόμοια δομή σε αυτή όπως είναι οι φαιοφυτίνες. Επίσης πρέπει να σημειωθεί ότι στα 441nm εμφανίζεται καθαρά η κορυφή λόγω των προϊόντων οξείδωσης, η σχετική ένταση της οποίας αυξάνεται καθώς μεγαλώνει η νοθεία σε πυρηνέλαιο.

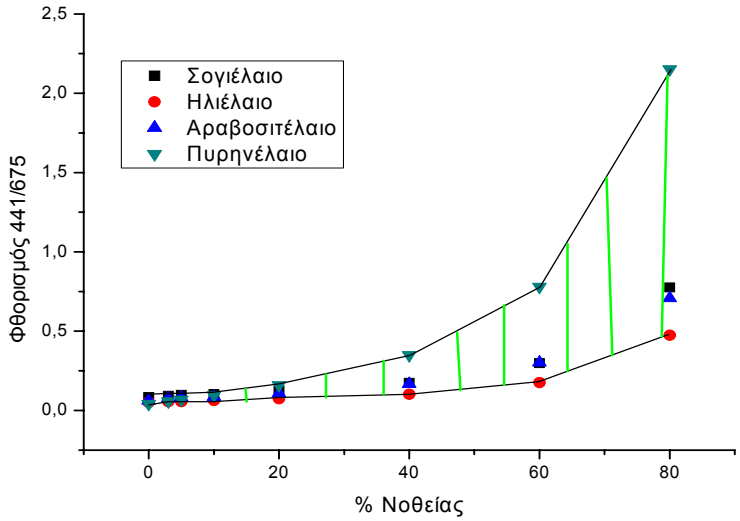
3.5.3 ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΤΙΚΑ

Παρακάτω παρουσιάζεται η συνολική συσχέτιση μεταξύ του φθορισμού των προϊόντων οξείδωσης ως προς τα ποσοστά νοθείας των δειγμάτων. Παρατηρείται ότι το ελαιόλαδο που είναι νοθευμένο με 40% πυρηνέλαιο παρουσιάζει εντονότερη εκθετική αύξηση των προϊόντων οξείδωσης απ' ότι στα σπορέλαια.

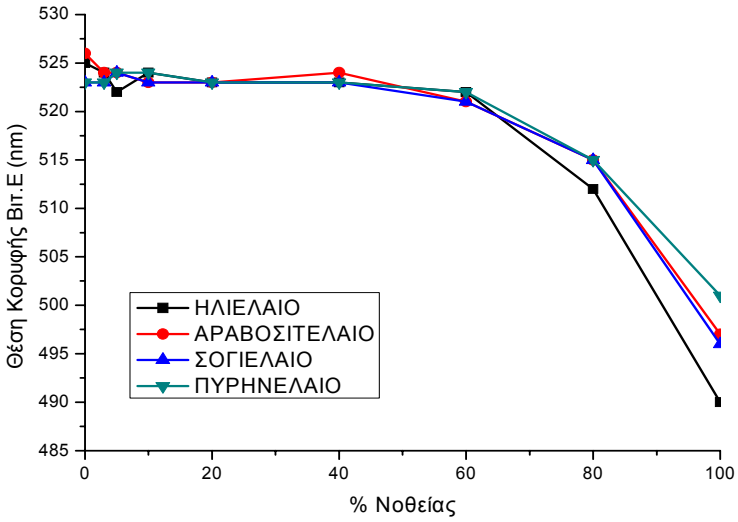


Σχήμα 3.40 *Συγκεντρωτικές συσχετίσεις των προϊόντων οξείδωσης ως προς το ποσοστό νοθείας όλων των νοθευμένων δειγμάτων.*

Από το παραπάνω συγκεντρωτικό διάγραμμα προκύπτει το Σχήμα 3.41 όπου παρουσιάζεται μια ζώνη τιμών βάση της οποίας μπορεί ανιχνευθεί νοθευμένο ελαιόλαδο αγνώστου νοθεύματος και ποσότητας με τη προϋπόθεση ότι το νόθευμα είναι ηλιέλαιο, αραβοσιτέλαιο, σογιέλαιο ή πυρηνέλαιο.



Σχήμα 3.41 *Ζώνη τιμών για εύρεση νοθείας και ποσοστού νοθεύματος βάση του φθορισμού των προϊόντων οξείδωσης.*

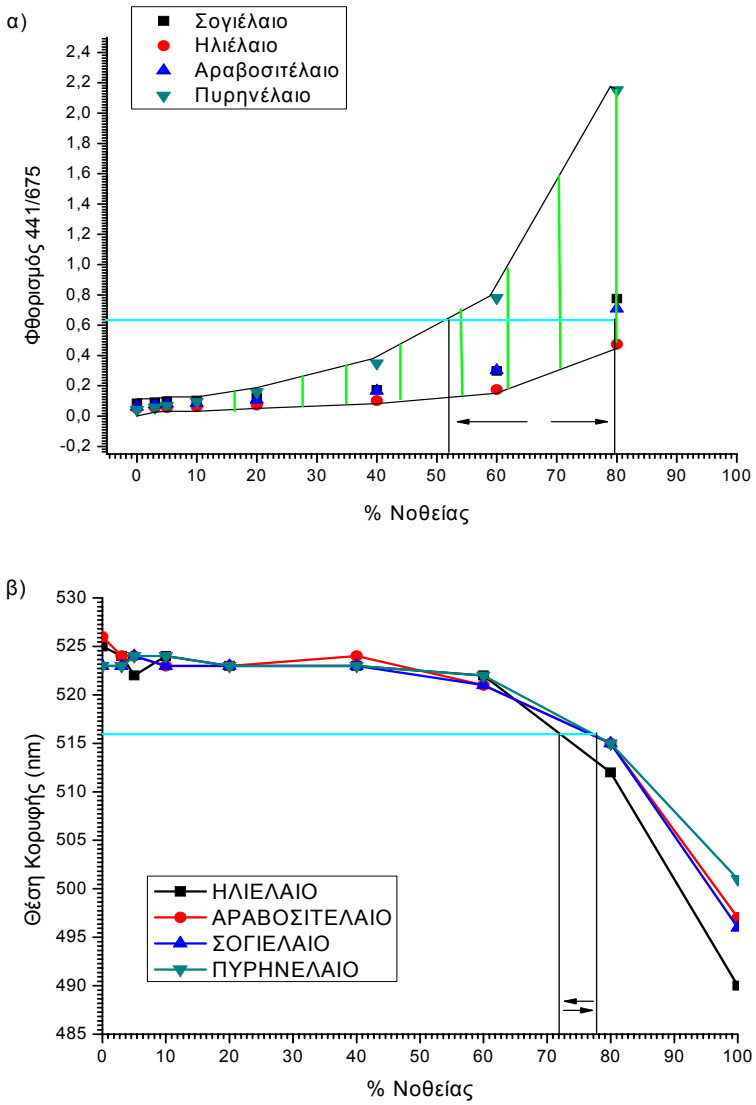


Σχήμα 3.42 *Ζώνη τιμών για εύρεση νοθείας και ποσοστού νοθεύματος βάση της κορυφής του φθορισμού της Βιταμίνης Ε.*

Με τη βοήθεια των δύο παραπάνω γραφημάτων (Σχήμα 3.41 και 3.42) μπορεί να ανιχνευθεί νοθεία σε άγνωστο ή μη δείγμα, με τον εξής τρόπο:
Σε περίπτωση που το νόθευμα είναι άγνωστο, λαμβάνεται φάσμα φθορισμού και σημειώνονται οι μέγιστες τιμές φθορισμού στα 435-441nm (προϊόντα οξείδωσης) και στα 675nm (χλωροφύλλη) ενώ εκεί που εμφανίζεται η Βιτ.Ε (συνήθως στα 525nm) σημειώνεται το μήκος κύματος της κορυφής.
Εν συνεχεία υπολογίζεται ο λόγος της εκπομπής των προϊόντων οξείδωσης ως προς την εκπομπή της χλωροφύλλης. Η τιμή του λόγου αυτού σημειώνεται στον y άξονα του Σχήματος 3.41 από το οποίο φέρεται παράλληλη γραμμή στον x άξονα. Η γραμμή θα πρέπει να τέμνει τη ζώνη τιμών σε δύο σημεία από τα οποία λαμβάνεται ένα εύρος τιμών του πιθανού ποσοστού νοθείας.
Αφού βρεθεί το μήκος κύματος στο οποίο εμφανίζεται η κορυφή της Βιτ.Ε, σημειώνεται στον y άξονα του Σχήματος 3.42 από το οποίο φέρεται παράλληλη γραμμή στον x άξονα. Η γραμμή θα πρέπει να τέμνει και σε αυτήν την περίπτωση τη ζώνη τιμών σε δύο σημεία από τα οποία λαμβάνεται ένα δεύτερο εύρος τιμών του πιθανού ποσοστού νοθείας. Συγκρίνοντας έτσι τα αποτελέσματα των δυο αυτών γραφημάτων προκύπτει ένα κοινό εύρος το οποίο υποδεικνύει το πιθανό ποσοστό νοθείας του δείγματος.

Στη περίπτωση που το νόθευμα είναι γνωστό μπορούμε να βρούμε με μεγάλη ακρίβεια το ποσοστό νοθείας μόνο από το πρώτο γράφημα, με τον εξής τρόπο: λαμβάνεται φάσμα φθορισμού και σημειώνεται ο λόγος της απορρόφησης των προϊόντων οξείδωσης ως προς την απορρόφηση της χλωροφύλλης (441/675nm). Σημειώνεται στον y άξονα η τιμή του λόγου και φέρεται παράλληλη προς τον x άξονα. Το σημείο που τέμνεται η παράλληλη γραμμή με το σημείο του γνωστού νοθεύματος υποδεικνύει το ποσοστό νοθείας.
Ακολουθεί παράδειγμα για την εύρεση της νοθείας.

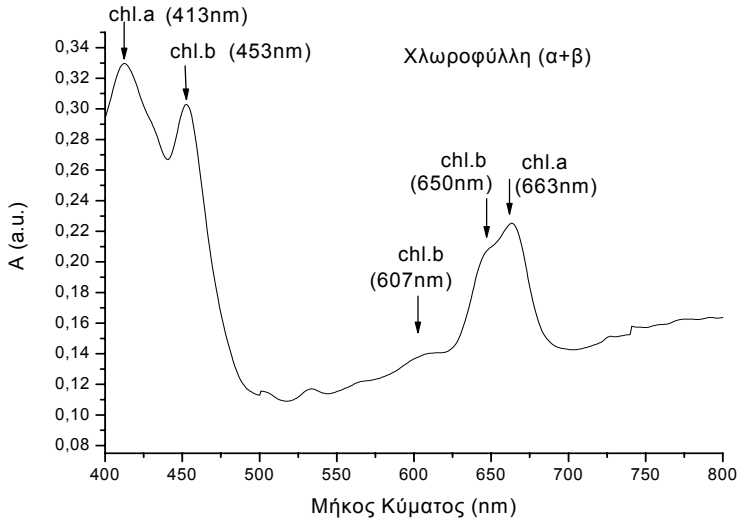
π.χ. Σε δείγμα νοθευμένο ελέγχεται ο φθορισμός και υπολογίζεται ο λόγος 441/675. Έστω ότι η τιμή αυτού του λόγου είναι 0,64, φέρεται παράλληλη γραμμή από αυτό το σημείο προς τον άξονα x (γαλάζια γραμμή, σχήμα 3.43α). Η παράλληλη αυτή τέμνει τη ζώνη τιμών σε δύο σημεία. Από τα σημεία αυτά λαμβάνεται ένα εύρος τιμών (51-79%). Στη συνέχεια βρίσκεται η κορυφή της Βιτ.Ε με τη μέθοδο του φθορισμού, έστω στα 516nm. Φέρεται από το σημείο αυτό παράλληλη γραμμή στο x άξονα, και σημειώνεται το εύρος τιμών στο οποίο τέμνει τη ζώνη (72-78%).
Τέλος συγκρίνοντας το εύρος των δυο τιμών ελέγχονται τα κοινά σημεία τα οποία προσδιορίζουν το πιθανό ποσοστό νοθείας του δείγματος. Στη συγκεκριμένη περίπτωση το πιθανό ποσοστό νοθείας είναι από 72% έως 78%.



Σχήμα 3.43 *Παράδειγμα εύρεσης νοθείας με τη χρήση ζωνών.*

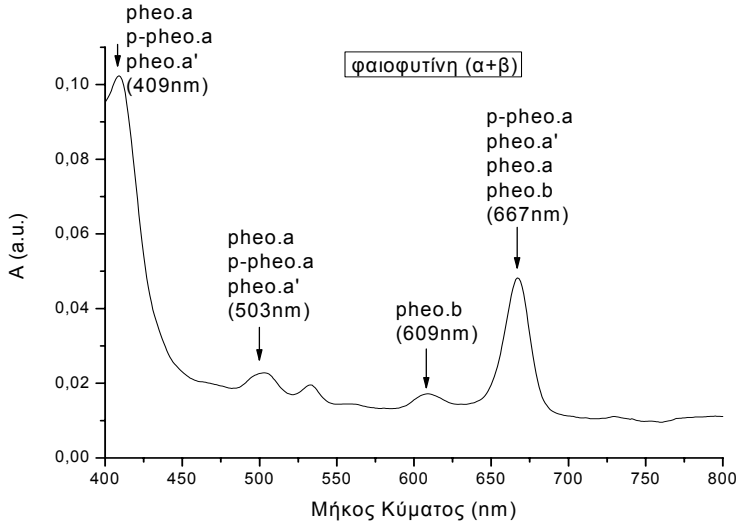
3.6 ΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΑ-TLC

Η μέθοδος της χρωματογραφίας TLC χρησιμοποιήθηκε για την εύρεση των φασμάτων απορρόφησης της χλωροφύλλης (α+β) και της φαιοφυτίνης (α+β) και για ταυτοποίηση αυτών των φασμάτων με της είδη υπάρχουσας βιβλιογραφίας.



Σχήμα 3.44 *Αναλυτικό φάσμα της χλωροφύλλης και των άλλων μορφών της.*

Στο παραπάνω Σχήμα (3.44) φαίνεται ότι οι διαφορετικές μορφές της χλωροφύλλης απορροφούν σε διάφορα μήκη κύματος. Η χλωροφύλλη-α απορροφά στα 413 και 663nm ενώ η χλωροφύλλη-β στα 453, στα 607 και στα 650nm. Στα 670nm υπολογίζεται η κύρια κορυφή της χλωροφύλλης (α+β) επειδή απορροφά εντονότερα.



Σχήμα 3.45 *Αναλυτικό φάσμα της φαιοφυτίνης (α+β).*

Στο Σχήμα 3.45 παρουσιάζονται οι κορυφές της φαιοφυτίνης (α+β) αλλά και των παραγώγων τους. Η φαιοφυτίνη-α εμφανίζεται στα 503 και στα 667nm, ενώ η φαιοφυτίνη-β στα 609 και στα 667nm.

Παρατηρώντας τα δύο Σχήματα 3.44 και 3.45 φαίνεται ότι τα μήκη κύματος που απορροφά η χλωροφύλλη-α είναι σχεδόν ίδια με αυτά της φαιοφυτίνης-α. Το ίδιο συμβαίνει και με τη σχέση της χλωροφύλλη-β με τη φαιοφυτίνη-β. Αυτό δικαιολογείτε επειδή η δομή της χλωροφύλλης-α είναι ίδια με αυτή της φαιοφυτίνης-α (ομοίως συμβαίνει και στη -β) με τη μόνη διαφορά ότι από το πορφυρικό δακτύλιο λείπει το μαγνήσιο στις φαιοφυτίνες.

3.7 ΟΞΥΤΗΤΑ

Η μέθοδος της οξύτητας αποτελεί μία από τις κυριότερες μεθόδους ελέγχου της ποιοτικής κατάστασης του ελαιολάδου. Πραγματοποιήθηκε για τον έλεγχο της ποιότητας των τυποποιημένων και μη τυποποιημένων ελαιολάδων.

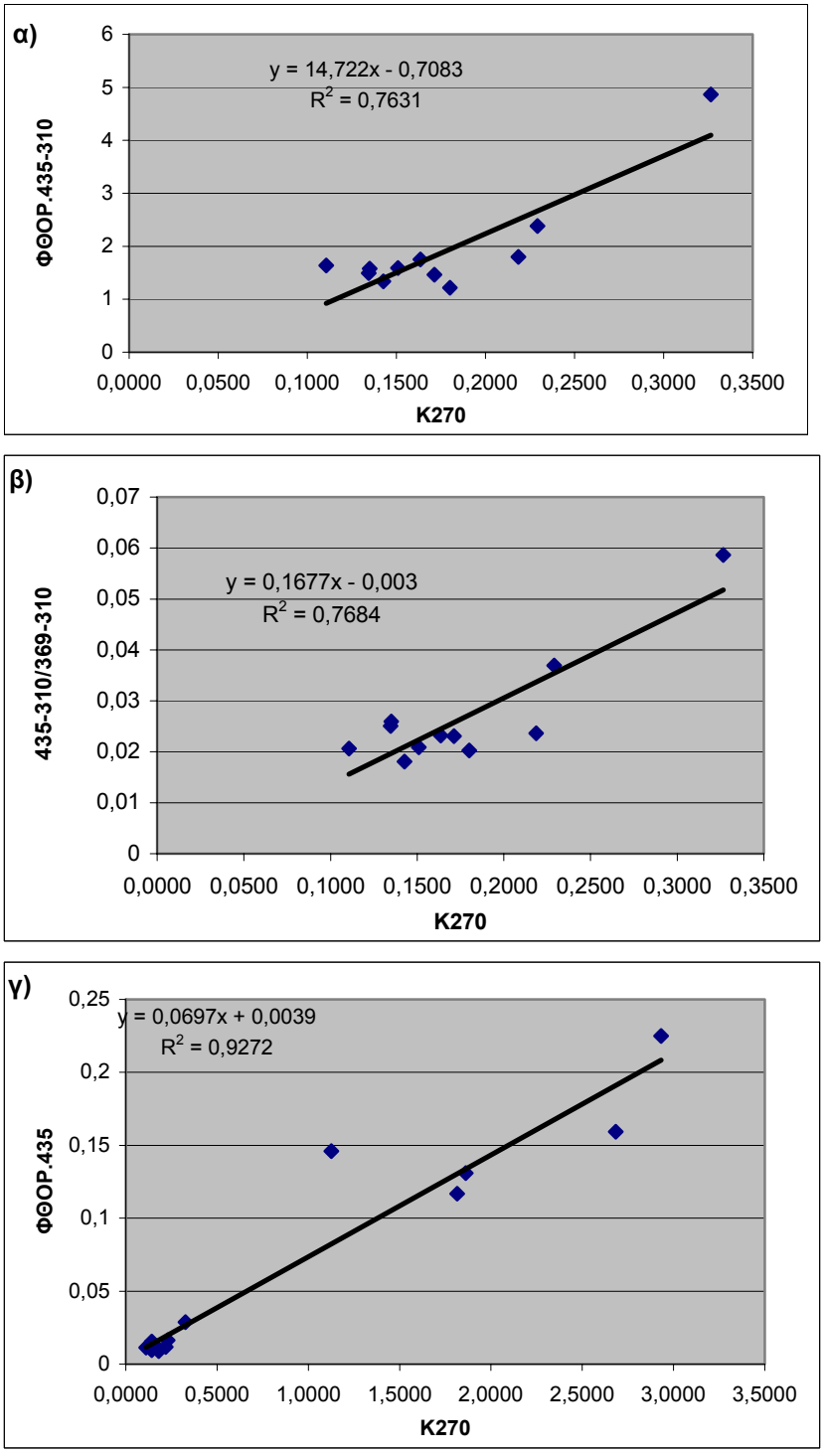
Πίνακας 3.6 *Πειραματική ονομασία δειγμάτων και ο μέσος όρος των τιμών της οξύτητας*

ΔΕΙΓΜΑ	ΟΞΥΤΗΤΑ (%)	τυπ.αποκλ. (±)
ΕΖΝ	0,55	0,02
ΕΖΠ	0,71	0,02
ΕΠ	0,8	0,02
ΕΣ	0,45	0,02
ΕΧ	0,97	0,02
ΒΖ	0,70	0,02
ΒΣ	0,55	0,01
ΒΧ	0,76	0,06
ΕΖΒ 1	1,44	0,01
ΕΖΒ 2	0,63	0,00
ΒΤ	0,76	0,02
ΕΠΑΛ 4 (Μ.Ο. μίας εβδομ.)	0,37	0,08
ΕΣΗΤ 1	0,23	0,02
ΕΣΗΤ 2	0,62	0,01
ΕΣΗΤ 3	0,57	0,02

Από το Πίνακα 3.6 συμπεραίνεται ότι στη κατηγορία του παρθένου ελαιολάδου (οξύτητα 0,9-2,0%) κατατάσσονται τα ελαιόλαδα ΕΧ και ΕΖΒ1, ενώ όλα τα υπόλοιπα ανήκουν στην κατηγορία του εξαιρετικά παρθένου ελαιολάδου αφού έχουν οξύτητα 0,0-0,8%.

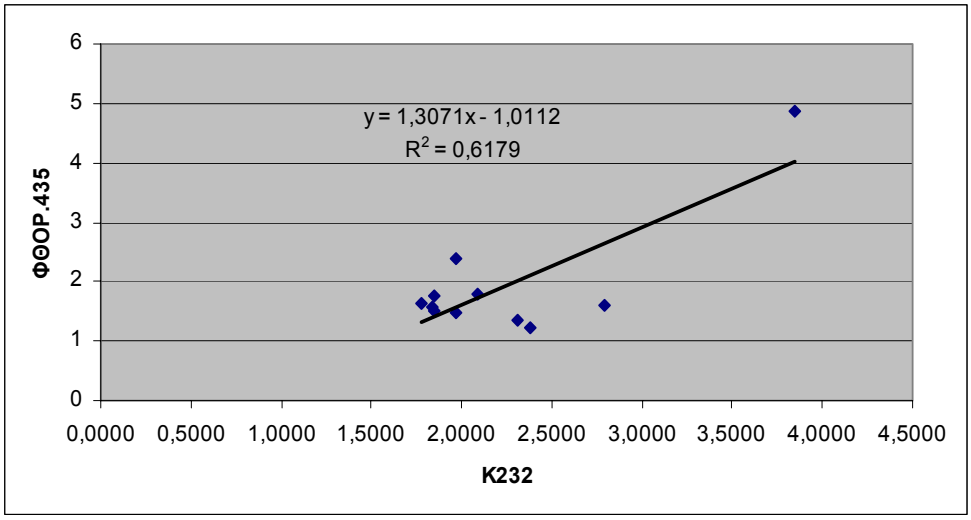
3.8 ΣΥΣΧΕΤΙΣΕΙΣ ΜΕΤΑΞΥ ΜΕΘΟΔΩΝ

Εφόσον χρησιμοποιήθηκαν αυτές οι διαφορετικές μέθοδοι για την εύρεση ίδιων δεδομένων ήταν απαραίτητη και η μελέτη της μεταξύ τους συσχέτισης.



Σχήμα 3.46 *Συσχέτιση K_{270} (προϊόντα οξείδωσης) και φθορισμού στα 435nm α) σε δείγματα ελαιολάδου (σειρά 3) β) σε δείγματα ελαιολάδου (σειρά 3) γ) σε δείγματα ελαιολάδου και σπορέλαιων (σειρά 5).*

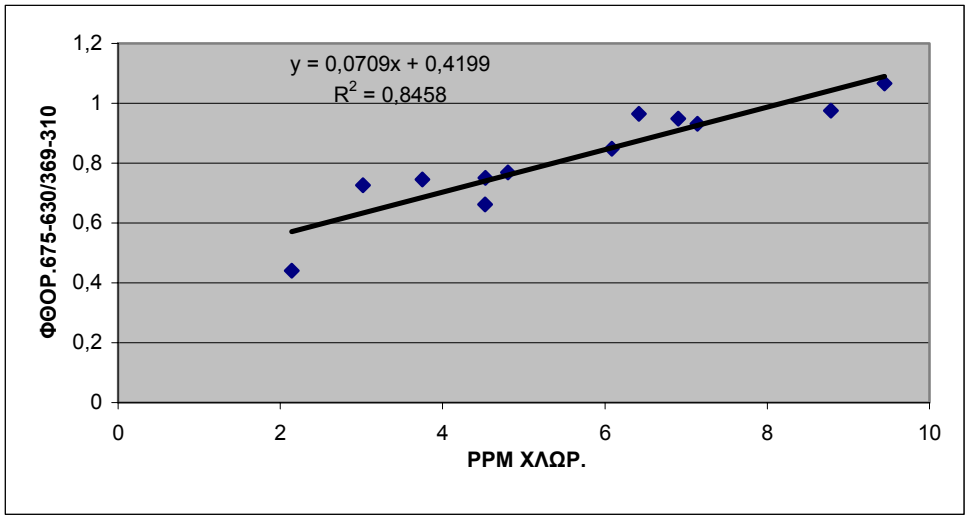
Στο Σχήμα 3.46 παρατίθενται συσχετίσεις μεταξύ των μεθόδων του φθορισμού και της φασματοσκοπίας UV σε μετρήσεις των προϊόντων οξείδωσης.
α) ο φθορισμός ελαιολάδων στα 435nm έχει υπολογιστεί με την αφαίρεση του λευκού υπόβαθρου και σε συσχέτιση με το K_{270} δίνει R=0,87
β) ο φθορισμός ελαιολάδων στα 435nm έχει υπολογιστεί βάση του λόγου 435/369 αφαιρώντας το λευκό υπόβαθρο 310nm και σε συσχέτιση με το K_{270} δίνει R=0,88
γ) ο φθορισμός 435nm έχει υπολογιστεί βάση του λόγου 435/369 αφαιρώντας το λευκό υπόβαθρο 310nm και σε συσχέτιση με το K_{270} δίνει R=0,96. Τα δείγματα που συσχετίστηκαν είναι ελαιόλαδα και σπορέλαια.
Από τα παραπάνω γραφήματα επιβεβαιώνεται ότι υπάρχει πολύ καλή συσχέτιση μεταξύ των δύο μεθόδων.



Σχήμα 3.47 *Συσχέτιση UV K_{232} (προϊόντα οξείδωσης) – φθορισμός 435 με ελαιόλαδα.*

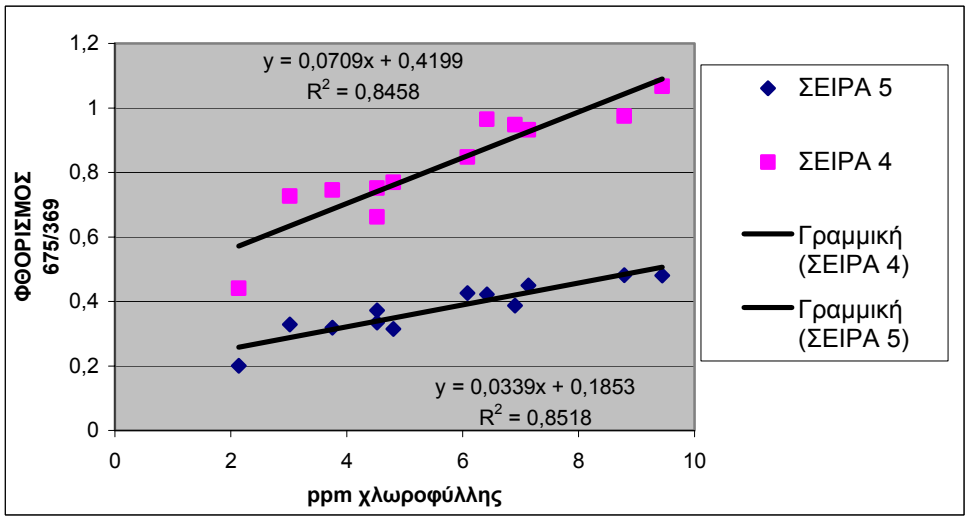
Στο Σχήμα 3.47 παρατίθενται συσχετίσεις μεταξύ των μεθόδων του φθορισμού και της φασματοσκοπίας UV σε μετρήσεις των προϊόντων οξείδωσης. Ο φθορισμός ελαιολάδων στα 435nm έχει υπολογιστεί με την αφαίρεση του λευκού υπόβαθρου 310nm και σε συσχέτιση με το K_{232} δίνει R=0,79.

Συγκρίνοντας τις συσχετίσεις που παρουσιάζονται στα Σχήματα 3.46 και 3.47 διαπιστώνεται ότι αυτές του φθορισμού με το K_{270} έχουν καλύτερο συντελεστή συσχέτισης από αυτές του K_{232}. Αυτό πιθανώς συμβαίνει επειδή τα προϊόντα οξείδωσης του K_{270} (δευτερογενή), είναι τα τελικά προϊόντα οξείδωσης.



Σχήμα 3.48 *Συσχέτιση VIS (ppm χλωροφύλλης) – φθορισμός 675 (χλωροφύλλη) (σειρά 5).*

Διαπιστώθηκε ότι τα αποτελέσματα της μεθόδου του φθορισμού συσχετίζονται και με τα αποτελέσματα της φασματοσκοπίας στο ορατό φως όπως φαίνεται στο παραπάνω Σχήμα (3.48). Ο φθορισμός της χλωροφύλλης υπολογίστηκε βάση του λόγου 675/369 αφαιρώντας το λευκό υπόβαθρο 630nm από τη κορυφή της χλωροφύλλης στα 675nm και 310nm από τη κορυφή της λάμπας στα 369nm. Στη συνέχεια συσχετίστηκε με τα ppm χλωροφύλλης με συντελεστή συσχέτισης R=0,92.



Σχήμα 3.49 *Συσχέτιση φθορισμού χλωροφύλλης – ppm χλωροφύλλης (σειρα4-σειρα5).*

Στο Σχήμα 3.49 παρατίθενται συσχετίσεις αποτελεσμάτων μεταξύ των μεθόδων του φθορισμού και της φασματοσκοπίας VIS δύο διαφορετικών σειρών. Με αυτό το τρόπο ελέγχεται η συσχέτιση μεταξύ των δύο μεθόδων καθώς και η επαναληψιμότητα των μεθόδων στις διαφορετικές σειρές. Ο φθορισμός υπολογίστηκε βάση του λόγου

675/369 αφού έγιναν οι αφαιρέσεις των λευκών υποβάθρων 675-630nm και 369-310nm. Ο συντελεστής συσχέτισης και των δύο σειρών είναι R=0.92 επαληθεύεται έτσι η επαναληψιμότητα μεταξύ των διαφορετικών σειρών καθώς και η συσχέτιση των δύο μεθόδων.

4. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Στόχος αυτής της πτυχιακής εργασίας ήταν να ερευνηθεί κατά πόσο επηρεάζονται οι συγκεντρώσεις της χλωροφύλλης και των προϊόντων οξείδωσης στους διάφορους τύπους λαδιού, π.χ. ελαιόλαδα τυποποιημένα και μη τυποποιημένα, βιολογικό ελαιόλαδο, πυρηνέλαιο, σπορέλαια και μίγματα αυτών με ελαιόλαδο. Επίσης ερευνήθηκε η διακύμανση των παραπάνω συγκεντρώσεων κατά την υποβάθμιση του ελαιολάδου. Τέλος μελετήθηκε η συσχέτιση αυτής της συγκέντρωσης με τη παλαιότητα, την έκθεση σε φως και αέρα, την οξύτητα και άλλους παράγοντες που αναφέρονται αναλυτικά στη συνέχεια.

Ένας άλλος σημαντικός στόχος αυτής της μελέτης ήταν να δειχτεί ότι η καταγραφή του φθορισμού στα ελαιόλαδα, μια σχετικά εύκολη και γρήγορη διαδικασία, δίνει εξίσου αξιόπιστα αποτελέσματα όσο και το φάσμα απορρόφησης και θα μπορούσε στο μέλλον να αντικαταστήσει τη φασματοσκοπία / φασματομετρία UV-VIS.

Ένα άλλο σημείο ενδιαφέροντος ήταν κατά πόσον η ποικιλία του ελαιοκάρπου, οι γεωγραφικοί παράγοντες, η θερμοκρασία μάλαξης του ελαιοκάρπου κατά τη παραλαβή του ελαιόλαδου και η διαδικασία αποθήκευσης και τυποποίησης επηρεάζουν τη συγκέντρωση της χλωροφύλλης και των προϊόντων οξείδωσης. Στη συνέχεια έγινε μελέτη της πιθανής συσχέτισης της χλωροφύλλης με τα προϊόντα οξείδωσης και πως αυτός ο συνδυασμός των δεικτών μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την αναγνώριση πιθανής αλλοίωσης που έχει υποστεί το ελαιόλαδο κατά το τηγάνισμα ή για την ανίχνευση πιθανής νοθείας του ελαιόλαδου με σπορέλαια ή πυρηνέλαιο.

Ακολουθούν τα επιμέρους συμπεράσματα της ερευνητικής μας μελέτης.

Όσον αφορά στον γεωγραφικό παράγοντα και τη θερμοκρασία μάλαξης των φρέσκων δειγμάτων, διαπιστώθηκε ότι οι δείκτες K_{270} και K_{232} δεν εξαρτώνται άμεσα από αυτούς. Εντούτοις το θέμα αυτό θα πρέπει να διερευνηθεί εκτεταμένα για την εξαγωγή πιο ασφαλών συμπερασμάτων καθώς δεν ήταν επαρκής ο αριθμός των δειγμάτων στο πείραμα αυτό. Αυτό συνέβη διότι ο κύριος στόχος ήταν να μελετηθεί η συμπεριφορά των τυποποιημένων δειγμάτων, ως εκ τούτου ο αριθμός των μη τυποποιημένων δειγμάτων που προέκυψε στη συνέχεια ήταν περιορισμένος.

Στα δείγματα που λήφθηκαν από τη περιοχή του Παλαίκαστρου, φρέσκα δείγματα, φαίνεται ότι όσο αυξάνεται η θερμοκρασία μάλαξης αυξάνεται και η ποσότητα της χλωροφύλλης. Στα δείγματα που λήφθηκαν από τον αγροτικό συνεταιρισμό Σητείας (επίσης φρέσκα δείγματα) παρατηρήθηκε η παρουσία αυξημένης χλωροφύλλης στα δείγματα που προήλθαν από μέρη με υψόμετρο σε σχέση με τα δείγματα που προήλθαν από περιοχές κοντά σε θάλασσα. Αυτά τα συμπεράσματα αναφέρονται με κάθε επιφύλαξη καθώς τα δείγματα δεν ήταν αρκετά, για τους λόγους που προαναφέρθηκαν.

Στη συγκεκριμένη εργασία πραγματοποιήθηκε φασματοσκοπία UV και είναι εμφανές ότι η συσχέτιση μεταξύ των δεικτών K_{270} και K_{232} είναι μικρή γιατί η τιμή των τελικών προϊόντων οξείδωσης προσεγγίζει περισσότερο την τιμή των δευτερογενών προϊόντων K_{270}.

Αναφερόμενοι στην μέθοδο φασματοσκοπίας VIS, διαπιστώνεται ότι στα 670 nm, όπου τα δείγματα του ελαιολάδου παρουσιάζουν την κύρια κορυφή απορρόφησης που οφείλεται στη χλωροφύλλη, τα σπορέλαια δεν παρουσιάζουν ανάλογη κορυφή λόγω της πλήρους απουσίας της χλωροφύλλης. Στο πυρηνέλαιο φαίνεται μετατοπισμένη η κορυφή περίπου στα 650 nm λόγω της πιθανής παρουσίας φαιοφυτίνης.

Τα αποτελέσματα της φασματοσκοπίας UV (φάσματα από 200-800 nm) και VIS (φάσματα από 400-800 nm) συσχετίστηκαν άριστα. Έτσι συμπεραίνεται ότι όσον αφορά στη μέτρηση της χλωροφύλλης προτείνεται η χρήση της μεθόδου φασματοσκοπίας VIS (ορατή ακτινοβολία), λόγω της απλότητάς της, σε αντίθεση με τη φασματοσκοπία UV, που για την πραγματοποίηση της τα δείγματα πρέπει να αραιωθούν με οργανικούς διαλύτες.

Ως προς την εφαρμογή της μεθόδου του φθορισμού, κατ' αρχάς έγινε έλεγχος της επαναληψιμότητας των μετρήσεων. Ως εκ τούτου έγινε καταγραφή φασμάτων φθορισμού πολλών δειγμάτων από τα ίδια λάδια και διαπιστώθηκε η αξιοπιστία του οργάνου. Ακολούθως συσχετίζοντας την ένταση του φθορισμού της χλωροφύλλης (675 nm) ως προς την ένταση της λάμπας UV (369 nm) επαληθεύθηκε η γραμμικότητα του οργάνου. Αξιοσημείωτο είναι το γεγονός ότι στα σπορέλαια η κορυφή από 435 έως 441 nm (μήκος κύματος όπου εμφανίζονται τα προϊόντα οξείδωσης) είναι κατά πολύ μεγαλύτερη από ό,τι στο ελαιόλαδο κατ' αντιστοιχία με ό,τι συμβαίνει στο K_{270}. Επί πλέον στα σπορέλαια, στην περιοχή του ορατού από 400-600 nm το υπόβαθρο του φθορισμού είναι πολύ υψηλότερο από ό,τι στο ελαιόλαδο, το οποίο σχετίζεται με την μεγάλη απορρόφηση και ως εκ τούτου μικρή διείσδυση της UV ακτινοβολίας της λάμπας μέσα στο σπορέλαιο (βλ. UV φάσματα απορρόφησης), με αποτέλεσμα την αύξηση της σκεδαζόμενης από την επιφάνεια ακτινοβολίας. Παράλληλα, στην συσχέτιση που έγινε μεταξύ αποθηκευμένων και εκτεθειμένων ελαιολάδων, παρατηρήθηκε αντίστοιχη μείωση της χλωροφύλλης και στα δύο δείγματα αφού η οξείδωση επιταχύνεται με το άνοιγμα του μπουκαλιού.

Η μέθοδος του φθορισμού επίσης εφαρμόστηκε σε τηγανισμένα δείγματα, όπου παρατηρήθηκε ότι έως την θερμοκρασία των 130^{o}C δεν υπάρχει αλλοίωση της χλωροφύλλης, ενώ μετά από τέσσερις ώρες καπνίσματος η συγκέντρωση της χλωροφύλλης βρέθηκε ότι είναι αμελητέα. Όσον αφορά στα προϊόντα οξείδωσης τόσο με τη μέθοδο φασματοσκοπίας UV όσο και του φθορισμού, παρατηρείται αρχικά σταδιακή και μετέπειτα απότομη αύξησή τους με την πάροδο του χρόνου καπνίσματος. Μέχρι την μιάμιση ώρα, η ποιότητα του ελαιολάδου δεν υποβαθμίζεται και έτσι αποτελεί προτεινόμενο χρόνο μαγειρέματος. Με την παράλληλη χρήση της μεθόδου φασματοσκοπίας VIS παρατηρείται γραμμική μείωση της χλωροφύλλης στην μιάμιση ώρα τηγανίσματος ενώ μετά το περάς των 3,5 ωρών η ποσότητας της χλωροφύλλης στο δείγμα θεωρείται αμελητέα. Αξιοσημείωτο ότι μετά τις 2,5 ώρες επέρχεται μετατροπή της χλωροφύλλης σε φαιοφυτίνη και μετατόπιση της κορυφής στα 650 nm. Το δείγμα από μη τυποποιημένο ελαιόλαδο ιδιώτη μαγειρεύτηκε κάτω από συνθήκες οικιακής χρήσης και η μεταβολή της χλωροφύλλης είναι μηδαμινή όταν το ελαιόλαδο χρησιμοποιείται για ένα μόνο τηγάνισμα.

Στα νοθευμένα δείγματα παρατηρείται γραμμική αύξηση των προϊόντων οξείδωσης μέχρι νοθεία 60%, ενώ μετά εκθετική αύξηση στην συσχέτιση που έγινε μεταξύ του φθορισμού 435/369 με το ποσοστό της νοθείας. Στο ίδιο ποσοστό (60%) διακρίνεται η γραμμική μείωση της χλωροφύλλης και στην συνέχεια εκθετική μείωσή της. Αναφερόμενοι στο πυρηνέλαιο αξίζει να σημειωθεί ότι παρουσιάζει καλή γραμμικότητα λόγω των παρόμοιων φυσικών ιδιοτήτων που έχει με το ελαιόλαδο, δηλαδή μέχρι το ποσοστό νοθείας 80% παρουσιάζει καλή γραμμικότητα (η χλωροφύλλη μειώνεται σταδιακά αφού περιέχει και το πυρηνέλαιο μικρή ποσότητα χλωροφύλλης αντίθετα με τα σπορέλαια που δεν έχουν) ενώ από εκείνο το σημείο και μετά η χλωροφύλλη είναι μηδενική.

Μέσω της μεθόδου του φθορισμού είναι εφικτή η εκτίμηση του ποσοστού νοθείας. Η εύρεση της νοθείας του ελαιολάδου με σπορέλαια ή πυρηνέλαιο χωρίζεται σε δύο φάσης που η κάθε μία περιλαμβάνει από ένα σχεδιάγραμμα με μία ζώνη τιμών. Σε αυτή τη νέα μεθοδολογία χρησιμοποιείται εκτός από την ένταση του φθορισμού της χλωροφύλλη και η μετατόπιση της κορυφής της Βιταμίνης Ε. Με συνδυασμό αυτών των δύο χαρακτηριστικών δεικτών βρίσκεται το αποτέλεσμα (πιθανό ποσοστό νοθείας του δείγματος).

Με την μέθοδο TLC φαίνεται σε ποιο μήκος κύματος απορροφά η χλωροφύλλη και τα παράγωγά της. Η απορρόφηση στα 232 nm (πρωτογενή προϊόντα οξείδωσης) οφείλεται σε υπεροξείδια που δημιουργούνται με μηχανισμό ελεύθερων ριζών από τα ελεύθερα λιπαρά οξέα του ελαιολάδου ενώ στα 270 nm (δευτερογενή προϊόντα οξείδωσης) οφείλεται σε αλδεϋδες και κετόνες που είναι προϊόντα διάσπασης των υπεροξειδίων. Τόσο τα υπεροξείδια όσο οι αλδεϋδες και οι κετόνες είναι προϊόντα αυτοοξείδωσης του ελαιολάδου αποτέλεσμα της έκθεσης του στο φως και στο ατμοσφαιρικό οξυγόνο.

Τέλος πρέπει να αναφερθεί ότι σε παλαιότερες έρευνες έχει χρησιμοποιηθεί η μέθοδος της φασματοσκοπίας UV-VIS και είναι ήδη γνωστή η εγκυρότητα των αποτελεσμάτων που λαμβάνονταν από αυτήν. Τα αποτελέσματα των UV-VIS μετρήσεων αυτής της εργασίας χρησιμοποιήθηκαν για την επιβεβαίωση της εγκυρότητας του φθορισμού σαν μέθοδος ελέγχου της ποιότητας του ελαιολάδου. Η μέθοδος του φθορισμού ενώ δεν αποτελούσε μια κανονική μέθοδο για την εύρεση της νοθείας, βρέθηκε ότι είναι μια μέθοδος αξιόπιστη και έγκυρη, ικανή να αντικαταστήσει τις προηγούμενες λόγω των προτερημάτων (οικονομική, φιλική προς το περιβάλλον, γρήγορη και εύχρηστη) που την διακρίνουν. Σε αυτό το συμπέρασμα οδηγηθήκαμε μετά από συσχέτιση των αποτελεσμάτων του φθορισμού με την ήδη δοκιμασμένη μέθοδο της φασματοσκοπίας / φασματομετρίας UV-VIS.

5. ΚΕΦΑΛΑΙΟ

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Α.ΚΥΡΙΤΣΑΚΗ, *ΤΟ ΕΛΑΙΟΛΑΔΟ*. Vol. 1. 1988: ΑΓΡΟΤΙΚΕΣ ΣΥΝΕΤΑΙΡΙΣΤΙΚΕΣ ΕΝΩΣΕΙΣ.
2. ΕΝΗΛΙΚΩΝ, Ι.Δ.Ε., *ΕΛΑΙΟΛΑΔΟ ΔΩΡΟ ΤΗΣ ΦΥΣΗΣ*, ΥΠΟΥΡΓΕΙΟ ΕΘΝΙΚΗΣ ΠΑΙΔΕΙΑΣ ΚΑΙ ΘΡΗΣΚΕΥΜΑΤΩΝ: ΧΑΝΙΑ p. 3.
3. P.Luaces, A.G.P., J.M. Garcia, C.Sanz, *Effects of heat-treatments of olive fruit on pigment composition of virgin olive oil.* FOOD CHEMISTRY, 2005. **90**: p. 169-174.
4. L.Del Giovine, F.F., *Copper chlorophyll in olive oils: identification and determination by LIF capillary electrophoresis* FOOD CONTROL 2005. **16**: p. 267-272.
5. ALIMENTARIUS, C., *CODEX STANDARD FOR OLIVE OIL, VIRGIN AND REFINED, AND FOR REFIND OLIVE-POMACE OIL.* .**8-2001**: p. 25-39.
6. K.Nagy, D.B., G.Avellone, P.Agozzino, L.Ceraulo, K.Vekey, *High performance liquid chromaography-mass spectrometry based chemometric characterization of olive oils.* Chromatography A, 2005. **1078**: p. 90-97.
7. A.Nakajima, H.H., *Phptosensitized oxidation of oleic acid, methyl oleate, and olive oil using visible light.* Photochem. Photobiol., 1993. **74**: p. 189-194.
8. T.G.Diaz, I.D.M., S.A.Correa, B.Roldan, M.I.R.Caceres, *Simultaneous Fluorometric Determination of Chlorophylls a and b and Pheophytins a and b in Olive Oil by Partial Least-Squares Calibration.* AGRICULTURAL AND FOOD CHEMSTRY 2003. **51**: p. 6934-6940.
9. D.Giuffrida, F.S., A.Salvo, L.L. Pera, G.Dugo, *Pigments composition in monovarietal virgin olive oils from varius sicilian olive varieties* SCIENCEDIRECT, 2005. **article in press**.
10. A.G.Mignani, L.C., A.Cimato, C.Attilio, P.R.Smith, *Spectral nephelometry for the geografic classification of Italian extra virgin olive oils.* sciencedirect, 2005: p. 363-369.
11. OIL, H.O.O., *HANDBOK OF OLIVE OIL* SENSORY QUALITY OF OLIVES OILS. 356-361.
12. A.Garcia, M.B., C.Romero, P.Garcia, A.Garrido, *Study of phenolic compounds in virgin olive oils of the Picual variety.* 2002: p. 407-412.
13. F.Caponio, M.T.B., A.Pasqualone, E.Sikorska, T.Gomes, *Influence of the exposure to light on extra virgin olive oil quality during storage.* 2005: p. 92-98.
14. C.C.Oliveros, R.B., M.Casale, C.Armanino, M.Forina *Optimisation of a new headspace mass spectrometry instrument. Discrimination of different geografical original olve oils.* . Chromatography A, 2005. **1076**: p. 7-15.
15. Liangyun Liu, Y.Z., Jihua Wang, Chunjiang Zhao *Detecting Solar-Induced Chlorophyll Fluorescence From Field Radience Spectra Based on the Fraunhofer Line Principle* IEEE TRANSACTIONS ON GEOSCIENCE AND REMOTE SENSING, 2005. **43**: p. 827-832.
16. A.Cert, W.M., M.C. Perez-Camino, *Chromatographic analysis of minor constituents in vegetable oils* Journal of Chromatography A, 2000. **881**: p. 131-148.

17. N.K.Andrikopoulos, N.K., A.F.& M.N.Barbagianni *Performance of virgin olive oil and vegetable shortening during domestic deep-frying and pan-frying of potatoes.* Food Science and Technology, 2002. **37**: p. 177-190.
18. J.Pokorny, L.K., P.Dysseler, *Determination of Chlorophyll Pigments in Crude Vegetable Oils* International Union of Pure and Applied Chemistry 1995. **67**: p. 1781-1787.
19. D.Hornero-Mendez, B.G.-R., M.I. Minguez-Mosquera *Routine and Sensitive SPE-HPLC method for quantitative determination of pheophytin a and pyropheophytin a in olive oils* food research international, 2005. **38**: p. 1067-1072.
20. Γ.ΒΛΑΤΣΙΟΣ, *ΑΝΑΛΥΤΙΚΗ ΧΗΜΕΙΑ (ΘΕΩΡΙΑ ΚΑΙ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ).* ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΚΟ ΕΚΠΑΙΔΕΥΤΙΚΟ ΙΔΡΥΜΑ ΚΡΗΤΗΣ 2000.
21. karlsruhe, U., *Fluorescence* 2003.
22. F.E. Hoge, P.E.L., C.W. Wright, R.N.Swift,J.K.Yungel, *Chlorophyll biomass in the global oceans: aierbone lidar retrieval using fluorescence of both chlorophyll and chromophoric cissolved organic matter.* 2005. **44**.
23. F.E. Hoge, P.E.L., R.N.Swift, J.K.Yungel, M.R.Abbott, R.M.Letelier, W.E.Esaias, *Validation of Terra-MODIS phytiplankton chlorophyll fluorescence line height. I. Initial airborne lidar results.* 2003. **42**.
24. N.B. Kyriakidis, P.S., *Fluorescence Spectra Measurement of Olive Oil and Other Vegetable Ois* Journal of AOAC INTERNATIONAL 2000. **83**(6): p. 1435-1439.
25. F.Guimet , J.F., R.Boque, *Rapid detection of olive-pomace oil adulteration in extra virgin olive oils from the protected denomination of origin "siurana" using excitation-emission fluorescence spectroscopy and three-way methods of analysis* sciencedirect, 2005. **544**: p. 143-152.
26. M.Zandomeneghi, L.C.a.C.C., *Journal of AGRICULTUR AND FOOD CHEMISTRY.* Fluorescence of Vegetable Oils: Olives Oils 2005. **53**: p. 759-766.
27. K.I.Poulli, G.A.M., C.A.Georgiou, *Classification of edible and lampante virgin olive oil based on synchronous fluorescence and total luminescence spectroscopy* Journal of ANALYTICA CHIMICA ACTA, 2005: p. 151-156.
28. E. Sikorska, A.R., I.V. Khmelinskii, R.Herance, J.L.Bourdelande, M.Sikorski, J.Koziol, *Characterization of edible oils using total Luminescence Spectroscopy.* Fluorescence 2003. **14**: p. 25-35.
29. M.Zandomeneghi, L.C.a.C.C., *Fluorescence of vegetable oils: olive oils* AGRICULTURAL AND FOOD CHEMSTRY, 2005. **53**: p. 759-766.
30. Σειραγάκης, Γ.Μ., *Χρήση ανοσοχημικών μεθόδων για προσδιορισμό φουντουκέλαιου σε ελαιόλαδο.* Χημικά Χρονικά 2004.
31. V.M. Kapoulas, N.K.A., *Detection of Virgin Olive Oil Adulteration with Refined Oils by Second-Derivative Spectrophotometry.* FOOD CHEMISTRY, 1986. **23**: p. 183-192.
32. K.Papadopoulos, T.T., C.H. Tzikis, A.Nikokavoura, D.Dimotikali, *Investigations of the adulteration of extra virgin olive oils with seed oils using their weak chemiluminescence.* ANALYTICA CHIMICA ACTA, 2002. **464**: p. 135-140.
33. S.Naz, R.S., H.Sheikh, S.A.Sayeed, *Deterioration of olive, corn and soybean oils due to air, light, heat and deep-frying* sciencedirect, 2005. **38**: p. 127-134.

34. K.Andrikopoulos, N., *Oxidative stressed frying fats and oils Potential role for health.*
35. N.K.Andrikopoulos, G.V.Z.D., A.Falirea, N.Kalogeropoulos,H.S.Hatzinikola *Deterioration of natural antioxidant species of vegetable edibles oils during the domestic deep-frying and pan-frying of potatoes* food sciences and nutrition, 2002. **53**: p. 351-363.
36. Michalis Nisiotis, M.T.-M., *Changes in antioxidant concentration of virgin olive oil during thermal oxidation.* Food-chemistry.
37. *manual φασματοφωτόμετρου JASCO V- 530.*
38. Schoefts, B., *Chlorophyll and carotenoid analysis in food products. Properties of the pigments and methods of analysis* Food Science & Technology 2002. **13**: p. 361-371.
39. Ζ. Φθενάκης, Γ.Μ., *ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΕΣ ΑΣΚΗΣΕΙΣ ΦΥΣΙΚΗΣ* ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΚΟ ΕΚΠΑΙΔΕΥΤΙΚΟ ΙΔΡΥΜΑ ΚΡΗΤΗΣ 2004.