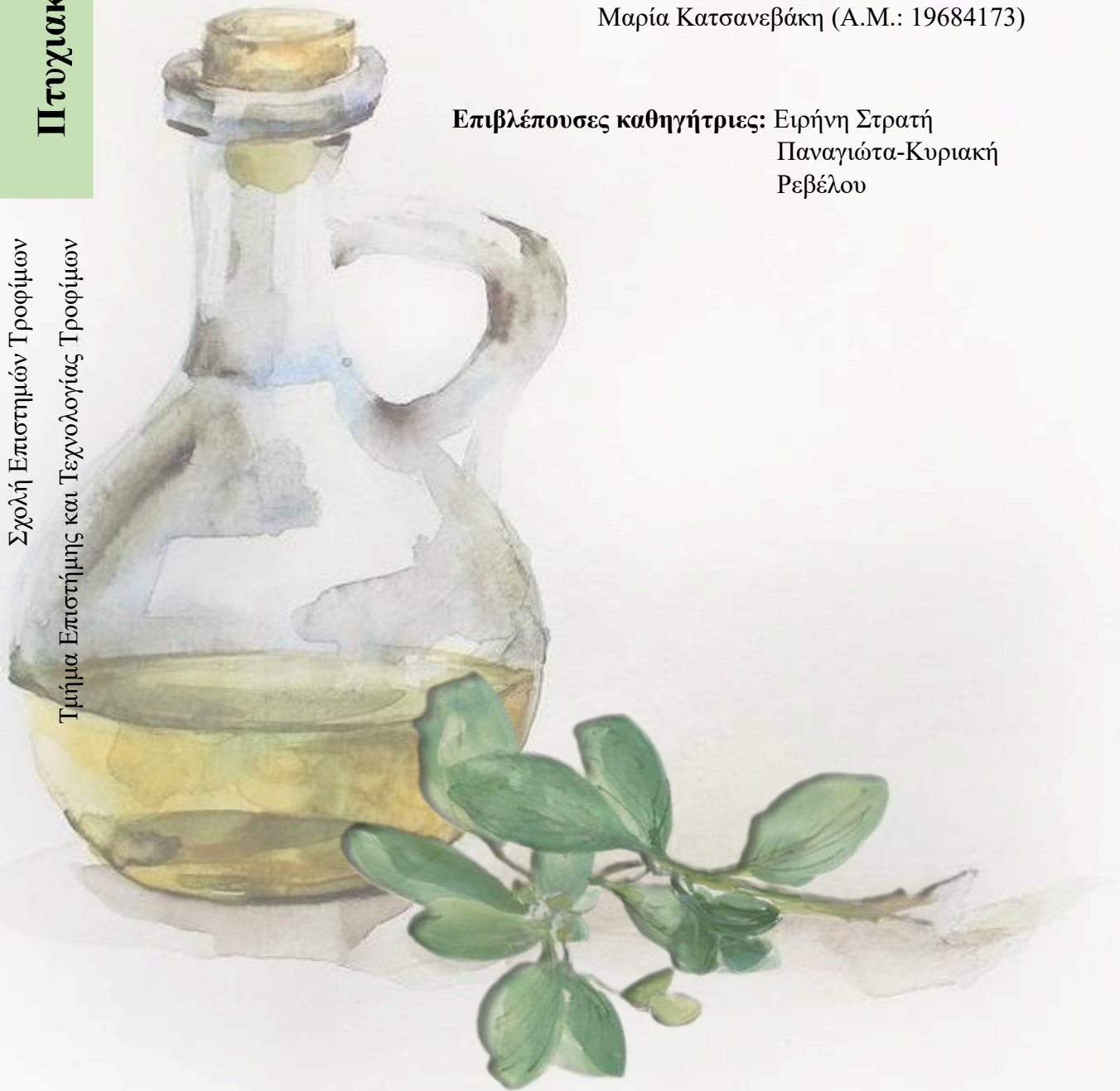


## «Μελέτη εμπλουτισμού εξαιρετικού παρθένου ελαιολάδου με ματζουράνα»

**Φοιτήτριες:** Αθηνά Βενιέρη (Α.Μ.: 18684072)  
Μαρία Κατσανεβάκη (Α.Μ.: 19684173)

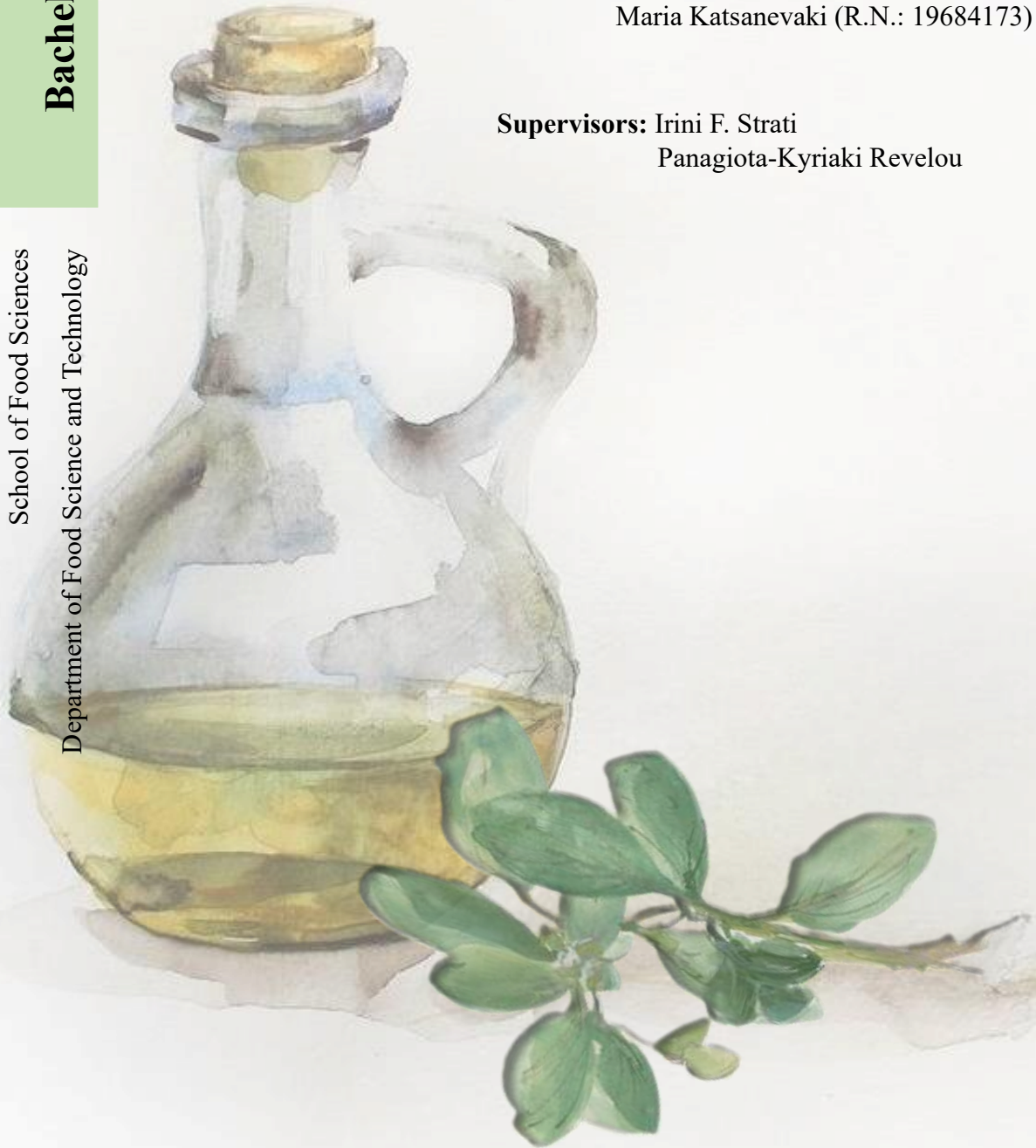
**Επιβλέπουσες καθηγήτριες:** Ειρήνη Στρατή  
Παναγιώτα-Κυριακή  
Ρεβέλου



## «Study of extra virgin olive oil flavoring with marjoram»

**Students:** Athina Venieri (R.N.: 18684072)  
Maria Katsanevaki (R.N.: 19684173)

**Supervisors:** Irimi F. Strati  
Panagiota-Kyriaki Revelou



Έγινε δεκτή

Οι υπογράφωντες δηλώνουμε ότι έχουμε εξετάσει την πτυχιακή εργασία με τίτλο «Μελέτη εμπλουτισμού εξαιρετικού παρθένου ελαιολάδου με ματζουράνα» που παρουσιάστηκε από την **Βενιέρη Αθηνά** και την **Κατσανεβάκη Μαρία** και βεβαιώνουμε ότι γίνεται δεκτή.

<b>α/α</b>	<b>ΟΝΟΜΑΤΕΠΩΝΥΜΟ</b>	<b>ΒΑΘΜΙΑΔΑ/ΙΔΙΟΤΗΤΑ</b>	<b>ΨΗΦΙΑΚΗ ΥΠΟΓΡΑΦΗ</b>
<b>1</b>	<b>ΕΙΡΗΝΗ ΣΤΡΑΤΗ</b>	<b>ΕΠΙΚΟΥΡΗ ΚΑΘΗΓΗΤΡΙΑ/ ΕΠΙΒΛΕΠΟΥΣΑ</b>	
<b>2</b>	<b>ΠΑΝΑΓΙΩΤΑ-ΚΥΡΙΑΚΗ ΡΕΒΕΛΟΥ</b>	<b>ΔΡ./ΑΚΑΔΗΜΑΪΚΗ ΥΠΟΤΡΟΦΟΣ/ ΕΠΙΒΛΕΠΟΥΣΑ</b>	
<b>3</b>	<b>ΒΑΣΙΛΕΙΑ ΣΙΝΑΝΟΓΛΟΥ</b>	<b>ΚΑΘΗΓΗΤΡΙΑ/ ΚΟΣΜΗΤΟΡΑΣ ΤΗΣ ΣΧΟΛΗΣ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΤΡΟΦΙΜΩΝ/ΜΕΛΟΣ</b>	

## Δήλωση συγγραφέων πτυχιακής εργασίας

Οι κάτωθι υπογεγραμμένες Αθηνά Βενιέρη του Ιακώβου και Μαρία Κατσανεβάκη του Λάμπρου, με αριθμούς μητρώου 18684072 και 19684173 αντίστοιχα, φοιτήτριες του Πανεπιστημίου Δυτικής Αττικής της Σχολής Επιστημών Τροφίμων του Τμήματος Επιστήμης και Τεχνολογίας Τροφίμων, δηλώνουμε υπεύθυνα ότι:

«Είμαστε συγγραφείς αυτής της πτυχιακής εργασίας και ότι κάθε βοήθεια την οποία είχαμε για την προετοιμασία της είναι πλήρως αναγνωρισμένη και αναφέρεται στην εργασία. Επίσης, οι όποιες πηγές από τις οποίες κάναμε χρήση δεδομένων, ιδεών ή λέξεων, είτε ακριβώς είτε παραφρασμένες, αναφέρονται στο σύνολό τους, με πλήρη αναφορά στους συγγραφείς, τον εκδοτικό οίκο ή το περιοδικό, συμπεριλαμβανομένων και των πηγών που ενδεχομένως χρησιμοποιήθηκαν από το διαδίκτυο. Επίσης, βεβαιώνουμε ότι αυτή η εργασία έχει συγγραφεί από εμάς αποκλειστικά και αποτελεί προϊόν πνευματικής ιδιοκτησίας τόσο δικής μας, όσο και του Ιδρύματος.

Παράβαση της ανωτέρω ακαδημαϊκής μας ευθύνης αποτελεί ουσιώδη λόγο για την ανάκληση του πτυχίου μας».

Η Δηλούσα

Η Δηλούσα

Αθηνά Βενιέρη

Μαρία Κατσανεβάκη



## Ευχαριστίες

Θα θέλαμε να ευχαριστήσουμε θερμά την επιβλέπουσα καθηγήτρια μας κυρία Ειρήνη Στρατή, Επίκουρη Καθηγήτρια του Τμήματος Επιστήμης και Τεχνολογίας Τροφίμων του Πανεπιστημίου Δυτικής Αττικής, για την αδιάκοπη καθοδήγηση και το χρόνο που διέθεσε, παρέχοντας μας χρήσιμες οδηγίες και συμβουλές για την εκπόνηση της πτυχιακής μας εργασίας.

Στο ίδιο πλαίσιο ευγνωμοσύνης, θα θέλαμε να ευχαριστήσουμε την κυρία Παναγιώτα-Κυριακή Ρεβέλου, Ακαδημαϊκή Υπότροφο του Τμήματος Επιστήμης και Τεχνολογίας Τροφίμων του Πανεπιστημίου Δυτικής Αττικής και Μεταδιδακτορική Ερευνήτρια του Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών, για την πολύτιμη βοήθεια της στη διεξαγωγή της μεθόδου SPME-GC-MS.

Τέλος, οφείλουμε ένα μεγάλο «ευχαριστώ» στους γονείς μας για την οικονομική και ηθική στήριξη που μας προσέφεραν καθ'όλη τη διάρκεια των σπουδών μας, καθώς επίσης σε συγγενείς και φίλους που συνέβαλαν είτε πρακτικά, είτε ψυχικά στην ολοκλήρωση της πτυχιακής μας εργασίας.

*Στους γονείς μου, Μαρία και Ιάκωβο και στα αδέρφια μου, Βασίλη και Γιάννη.*

*Αθηνά Βενιέρη*

*Στη δίδυμη αδελφή μου, Σπυριδούλα.*

*Μαρία Κατσανεβάκη*

## Περίληψη

Ο συνδυασμός ελαιολάδων και εμπλουτιστικών παραγόντων, όπως το αρωματικό φυτό ματζουράνα (*Origanum majorana* L.) που ανήκει στην οικογένεια *Lamiaceae*, οδήγησε στην ανάπτυξη των «εμπλουτισμένων ελαιολάδων», τα οποία ‘κερδίζουν’ την αποδοχή των καταναλωτών τα τελευταία χρόνια, κατακτώντας έτσι τη δική τους θέση στην παγκόσμια αγορά. Στην παρούσα πτυχιακή εργασία μελετήθηκε ο εμπλουτισμός δειγμάτων Εξαιρετικού Παρθένου Ελαιολάδου με υπέργεια τμήματα του φυτού *O. majorana* σε δύο διαφορετικές συγκεντρώσεις (20 g/L και 40 g/L), ώστε να μελετηθεί η επίδραση του εμπλουτισμού στις ποιοτικές παραμέτρους, στο οργανοληπτικό προφίλ, στο ολικό φαινολικό περιεχόμενο, στην αντιριζική και αντιοξειδωτική δράση, καθώς και στην οξειδωτική σταθερότητα του ελαιολάδου. Για το σκοπό αυτό διεξάχθηκαν αναλύσεις σε δύο διαφορετικά χρονικά διαστήματα (την ημέρα του εμπλουτισμού και μετά από 14 ημέρες αποθήκευσης σε συνθήκες σκότους). Με βάση τα αποτελέσματα που λήφθηκαν, η οξύτητα δεν μεταβλήθηκε σημαντικά μεταξύ των δειγμάτων, παρουσιάζοντας εύρη τιμών από 0,50-0,59% w/w σε ελαϊκό οξύ, ενώ οι ειδικές αποσβέσεις  $K_{232}$ ,  $K_{270}$  και ο δείκτης ΔΚ παρέμειναν εντός των ορίων που έχουν θεσπιστεί για την κατηγορία «Εξαιρετικό Παρθένο Ελαιόλαδο». Οι χρωματικές παράμετροι Red, Yellow, Blue και Neutral των δειγμάτων κυμάνθηκαν από 1–1,4, 35–38, 0 και 0,3-0,9 μονάδες στην κλίμακα Lovibond και η ποσότητα σε χλωροφύλλη και β-καροτένιο αυξήθηκε στα εμπλουτισμένα δείγματα Α και Β τόσο την ημέρα 0, όσο και την ημέρα 14. Ως προς το πτητικό κλάσμα που προσδιορίστηκε με τη μέθοδο SPME-GC-MS, η προσθήκη ματζουράνας στα δείγματα Α και Β προσέδωσε νέες πτητικές ενώσεις, ενισχύοντας το οργανοληπτικό προφίλ και τη βιοδραστικότητα του ελαιολάδου. Ταυτόχρονα, ενίσχυσε τα υπάρχοντα πτητικά συστατικά του ελαιολάδου, μόνο την ημέρα του εμπλουτισμού. Το ολικό φαινολικό περιεχόμενο, η αντιριζική και η αντιοξειδωτική δράση που εκτιμήθηκαν με τις μεθόδους Folin-Ciocalteu, ABTS<sup>++</sup> και FRAP, αντίστοιχα, δεν επηρεάστηκαν σημαντικά από τον εμπλουτισμό. Τέλος, όσον αφορά την οξειδωτική σταθερότητα που προσδιορίστηκε με τη μέθοδο Rancimat, καταγράφηκε αύξηση του χρόνου επαγωγής του δείγματος Β και στις δύο χρονικές περιόδους.

**Λέξεις-κλειδιά:** Εμπλουτισμένα ελαιόλαδα, ματζουράνα, Lovibond, SPME-GC-MS, Folin-Ciocalteu, ABTS<sup>•+</sup>, FRAP, Rancimat



## Abstract

The idea of combining olive oils with flavoring agents, such as marjoram (*Origanum majorana* L.), a herb belonging to the *Lamiaceae* family, has led to the development of "flavor infused olive oils", which have recently gained popularity among consumers and thus their own place in the global market. In the present thesis, the enrichment of Extra Virgin Olive Oil samples with aerial parts of the *O. majorana* plant at two different concentrations (20 g/L and 40 g/L) was studied, in order to assess the effect of the enrichment on the quality parameters, on the organoleptic profile, in the total phenolic content, in the antiradical and antioxidant activity, as well as in the oxidative stability of extra virgin olive oil. For this purpose, a series of analyses were carried out at two different time intervals (on the day of enrichment and after 14 days of storage in dark conditions). Based on the results obtained, the acidity did not vary significantly between the samples, with values ranging from 0.50-0.59% w/w in oleic acid, while the extinction coefficients  $K_{232}$ ,  $K_{270}$  and DK index remained within the limits established for the "Extra Virgin Olive Oil" category. The Red, Yellow, Blue and Neutral color parameters of the samples ranged from 1.0-1.4, 35-38, 0 and 0.3-0.9 units on the Lovibond scale and the amount of chlorophyll and  $\beta$ -carotene increased in enriched samples A and B both at days 0 and 14. As for the volatile fraction determined by the SPME-GC-MS method, the addition of marjoram to extra virgin olive oil yielded new volatile compounds, enhancing the organoleptic profile and bioactivity of the olive oil. At the same time, it enhanced the existing volatile components of the olive oil, only on the day of enrichment. Total phenolic content, antiradical and antioxidant activity assessed by Folin-Ciocalteu, ABTS<sup>•+</sup> and FRAP methods, respectively, were not significantly affected by the enrichment. Finally, regarding the oxidative stability determined by the Rancimat method, an increase in the induction time of olive oil sample with the highest concentration level of marjoram, was observed in both time periods.

**Keywords:** Flavored infused olive oils, marjoram, Lovibond, SPME-GS-MS, Folin-Ciocalteu, ABTS<sup>•+</sup>, FRAP, Rancimat

# Περιεχόμενα

---

Περίληψη .....	vii
Abstract.....	ix
Κατάλογος εικόνων .....	xiii
Κατάλογος πινάκων .....	xv
Κατάλογος διαγραμμάτων και σχημάτων.....	xvi
<b>Κεφάλαιο 1. Ελαιόλαδο .....</b>	<b>1</b>
1.1 Γενικά.....	1
1.2 Κατηγορίες .....	1
1.3 Χημική σύσταση .....	2
1.3.1 Σαπωνοποιήσιμα συστατικά.....	3
1.3.1.1 Ελεύθερα λιπαρά οξέα.....	3
1.3.1.2 Γλυκερίδια.....	3
1.3.1.3 Φωσφατίδια .....	4
1.3.2 Ασαπωνοποίητα συστατικά.....	5
1.3.2.1 Στερόλες .....	5
1.3.2.2 Υδρογονάνθρακες .....	5
1.3.2.3 Αλειφατικές αλκοόλες.....	5
1.3.2.4 Τοκοφερόλες.....	6
1.3.2.5 Χρωστικές ουσίες .....	7
1.3.2.6 Φαινολικές ενώσεις.....	8
1.3.2.7 Πτητικές ενώσεις.....	11
1.4 Βιολογική αξία.....	12
<b>Κεφάλαιο 2. Εμπλουτισμένο ελαιόλαδο .....</b>	<b>14</b>
2.1 Γενικά.....	14
2.2 Δεδομένα για την αγορά .....	15
2.3 Επίδραση εμπλουτισμού .....	18
2.4 Μέθοδοι εμπλουτισμού.....	19
2.4.1 Μέθοδος με επαφή .....	19
2.4.2 Μέθοδος συνεκχύλισης .....	21
2.4.3 Μέθοδος με προσθήκη αιθέριων ελαίων.....	21
2.5 Εμπλουτιστικοί παράγοντες.....	23
<b>Κεφάλαιο 3. Ματζουράνα.....</b>	<b>26</b>

3.1 Γενικά.....	26
3.2 Χημική σύσταση .....	27
3.3 Βιολογική δράση και παρενέργειες.....	30
<b>Κεφάλαιο 4. Πειραματικό μέρος.....</b>	<b>32</b>
4.1 Σκοπός.....	32
4.2 Πρώτες Ύλεις.....	32
4.3 Μέθοδος εμπλουτισμού του ελαιολάδου .....	33
4.3.1 Εργαστηριακός εξοπλισμός.....	33
4.3.2 Πειραματική πορεία .....	33
4.4. Μέθοδος προσδιορισμού της οξύτητας .....	35
4.4.1 Αρχή μεθόδου.....	35
4.4.2 Εργαστηριακός εξοπλισμός.....	35
4.4.3 Πειραματική πορεία .....	36
4.5 Φασματοφωτομετρική εξέταση στο υπεριώδες.....	36
4.5.1 Αρχή μεθόδου.....	36
4.5.2 Εργαστηριακός εξοπλισμός.....	37
4.5.3 Πειραματική πορεία .....	37
4.6 Μέθοδος Lonibond® για τη μέτρηση χρώματος, χλωροφύλλης και β-καροτενίου .....	38
4.6.1 Αρχή μεθόδου.....	38
4.6.2 Εργαστηριακός εξοπλισμός.....	39
4.6.3 Πειραματική πορεία .....	39
4.7 Προσδιορισμός πτητικών ενώσεων δειγμάτων ελαιολάδου με GC-MS .....	40
4.7.1 Μικρο-εκχύλιση πτητικών ενώσεων με την τεχνική SPME (Solid Phase Microextraction).....	40
4.7.1.1 Εργαστηριακός εξοπλισμός.....	40
4.7.1.2 Πειραματική πορεία .....	41
4.7.2 Μέθοδος GC-MS (Gas Chromatography-Mass Spectrometry) .....	42
4.7.2.1 Αρχή μεθόδου .....	42
4.7.2.2 Εργαστηριακός εξοπλισμός.....	42
4.7.2.3 Πειραματική πορεία .....	42
4.8 Προσδιορισμός ολικού φαινολικού περιεχομένου, αντιριζικής και αντιοξειδωτικής δράσης δειγμάτων ελαιολάδου .....	44
4.8.1 Εκχύλιση φαινολικών ενώσεων δειγμάτων ελαιολάδου .....	44
4.8.1.1 Εργαστηριακός εξοπλισμός.....	44
4.8.1.2 Πειραματική πορεία .....	45

4.8.2 Προσδιορισμός ολικού φαινολικού περιεχομένου με τη μικρο-μέθοδο Folin-Ciocalteu.....	46
4.8.2.1 Αρχή μεθόδου .....	46
4.8.2.2 Εργαστηριακός εξοπλισμός.....	46
4.8.2.3 Πειραματική πορεία .....	47
4.8.3 Εκτίμηση της ικανότητας δέσμευσης/ανάσχεσης της σταθε- ρής ελεύθερης ρίζας ABTS <sup>•+</sup> [2,2'-αζινο-δισ(3-αιθυλοβεζοθειαζολινο-6-σουλφονικό οξύ)] .....	48
4.8.3.1 Αρχή μεθόδου .....	48
4.8.3.2 Εργαστηριακός εξοπλισμός.....	49
4.8.3.3 Πειραματική πορεία .....	49
4.8.4 Προσδιορισμός αντιοξειδωτικής δράσης με τη μέθοδο FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power).....	50
4.8.4.1 Αρχή μεθόδου .....	50
4.8.4.2 Εργαστηριακός εξοπλισμός.....	51
4.8.4.3 Πειραματική πορεία .....	51
4.9 Μέθοδος Rancimat.....	52
4.9.1 Αρχή μεθόδου.....	52
4.9.2 Εργαστηριακός εξοπλισμός.....	53
4.9.3 Πειραματική πορεία .....	53
<b>Στατιστική ανάλυση .....</b>	<b>54</b>
<b>Κεφάλαιο 5. Αποτελέσματα και συζήτηση .....</b>	<b>55</b>
5.1 Ποιοτικές παράμετροι ελαιολάδου .....	55
5.1.1 Προσδιορισμός οξύτητας .....	55
5.1.2 Συντελεστές ειδικής απορρόφησης στο υπεριώδες K <sub>232</sub> , K <sub>270</sub> και δείκτης ΔK .....	57
5.1.3 Χρωματικές παράμετροι, χλωροφύλλη και β-καροτένιο .....	59
5.2 Προσδιορισμός πτητικών ενώσεων με αέρια χρωματογραφία-φασματομετρία μάζας.....	62
5.3 Ολικό φαινολικό περιεχόμενο, αντιριζική και αντιοξειδωτική δράση.....	70
5.4 Εκτίμηση της οξειδωτικής σταθερότητας.....	72
<b>Συμπεράσματα.....</b>	<b>74</b>
<b>Υποδείξεις για περαιτέρω έρευνα .....</b>	<b>75</b>
<b>Βιβλιογραφικές αναφορές .....</b>	<b>76</b>

## Κατάλογος εικόνων

<b>Εικόνα 1.3.1.</b> Χημική δομή των επικρατέστερων κορεσμένων και ακόρεστων λιπαρών οξέων (Πηγή: <a href="https://www.mdpi.com/2227-9717/8/4/410">https://www.mdpi.com/2227-9717/8/4/410</a> ).....	3
<b>Εικόνα 1.3.2.</b> Χημική δομή της γλυκερόλης και των γλυκεριδίων (Πηγή: <a href="http://ecoursesonline.iasri.res.in/mod/page/view.php?id=983">http://ecoursesonline.iasri.res.in/mod/page/view.php?id=983</a> ).....	4
<b>Εικόνα 1.3.3.</b> Χημική δομή των τοκοφερολών (Πηγή: <a href="https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0021967301011013">https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0021967301011013</a> ). ....	6
<b>Εικόνα 1.3.4.</b> Χημική δομή των χλωροφυλλών (Πηγή: <a href="http://www.chm.bris.ac.uk/motm/chlorophyll/chlorophyll_h.htm">http://www.chm.bris.ac.uk/motm/chlorophyll/chlorophyll_h.htm</a> ). ....	7
<b>Εικόνα 1.3.5.</b> Χημική δομή του β-καροτενίου (Πηγή: <a href="https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Beta-carotene.svg">https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Beta-carotene.svg</a> ).....	8
<b>Εικόνα 1.3.6.</b> Κατηγορίες φαινολικών ενώσεων στο ελαιόλαδο (Finicelli et al., 2021). ....	9
<b>Εικόνα 1.3.7.</b> Χημική δομή των σεκοϊριδοειδών (Paiva-Martins & Kiritsakis, 2017).9	9
<b>Εικόνα 1.3.8.</b> Χημική δομή των φαινολικών αλκοολών (Paiva-Martins & Kiritsakis, 2017). ....	9
<b>Εικόνα 1.3.9.</b> Χημική δομή των φαινολικών οξέων (Boskou, 2011).....	10
<b>Εικόνα 1.3.10.</b> Χημική δομή των φλαβονοειδών (Paiva-Martins & Kiritsakis, 2017). ....	10
<b>Εικόνα 1.3.11.</b> Χημική δομή των λιγνανών (Paiva-Martins & Kiritsakis, 2017). ....	10
<b>Εικόνα 1.3.12.</b> Χημική δομή των υδροξυ-ισοχρωμανίων (Boskou, 2015). ....	10
<b>Εικόνα 1.3.13.</b> Η οδός της λιποξυγενάσης, η οποία εμπλέκεται στην παραγωγή των πτητικών συστατικών του ελαιολάδου (Genovese et al., 2021). ....	11
<b>Εικόνα 2.1.</b> Παραδείγματα ετικετών εμπλουτισμένων ελαιολάδων, που είναι εμπορικά διαθέσιμα. ....	15
<b>Εικόνα 2.4.</b> Σχηματική αναπαράσταση των διαφορετικών μεθόδων εμπλουτισμού: Α) μέθοδος συνεκχύλισης, Β) μέθοδος με επαφή, C) μέθοδος με προσθήκη αιθέριων ελαίων (Lamas et al., 2022). ....	22
<b>Εικόνα 2.5.</b> Εμπορικά διαθέσιμα ελαιόλαδα, εμπλουτισμένα με έναν παράγοντα από κάθε κατηγορία. ....	23
<b>Εικόνα 3.1.</b> Οι οπές (πόροι) στο φύλλωμα της ματζουράνας, απ' όπου ξεπροβάλλουν οι αδενώδεις τρίχες και εκκρίνεται το αιθέριο έλαιο (Πηγή: <a href="https://docplayer.gr/42519204-Oikogeneia-lamiaceae-i-labiatae-heilanthi.html">https://docplayer.gr/42519204-Oikogeneia-lamiaceae-i-labiatae-heilanthi.html</a> ). ....	26
<b>Εικόνα 3.2.1.</b> Παραγωγή θυμόλης και καρβακρόλης από τις πρόδρομες ενώσεις γ-τερπινένιο και π-κυμένιο (Πηγή: <a href="https://www.researchgate.net/figure/Thymol-and-carvacrol-chemical-structure-and-their-precursors_fig2_337362400">https://www.researchgate.net/figure/Thymol-and-carvacrol-chemical-structure-and-their-precursors_fig2_337362400</a> ). ....	29
<b>Εικόνα 3.2.2.</b> Κάποια από τα συστατικά του αιθέριου ελαίου της ματζουράνας από κάθε κατηγορία (Sellami et al., 2009; Bina & Rahimi, 2016; Kakouri et al., 2022; Şarer et al., 1982). ....	30
<b>Εικόνα 4.3.</b> Διαδικασία εμπλουτισμού εξαιρετικού παρθένου ελαιολάδου με ματζουράνα: Α) Εκχύλιση στο λουτρό υπερήχων, Β) Εμπλουτισμένο ελαιόλαδο μετά την εκχύλιση, Γ) Διήθηση, Δ) Φιάλες C, A και B προς αποθήκευση για 14 ημέρες (Προσωπικά αρχεία). ....	34

<b>Εικόνα 4.5.</b> Οι ογκομετρικές φιάλες με τα διαλύματα των δειγμάτων C, A και B και ένα στιγματότυπο κατά τη βαθμονόμηση του φασματοφωτόμετρου (Προσωπικά αρχεία). .....	38
<b>Εικόνα 4.6.</b> Στιγματότυπο κατά τη μέτρηση της χλωροφύλλης ενός εκ των δειγμάτων (Προσωπικό αρχείο).....	39
<b>Εικόνα 4.7.1.</b> Η έκθεση της ίνας στην αέρια φάση του δείγματος σχηματικά και πραγματικά (Πηγή: <a href="https://www.researchgate.net/publication/12075122_Air_Sampling_and_Analysis_of_Volatile_Organic_Compounds_with_Solid_Phase_Microextraction">https://www.researchgate.net/publication/12075122_Air_Sampling_and_Analysis_of_Volatile_Organic_Compounds_with_Solid_Phase_Microextraction</a> ; Προσωπικό αρχείο).....	41
<b>Εικόνα 4.7.2.</b> Η συσκευή SPME στο septum του εισαγωγέα και η συνολική διάταξη του GC-MS (Προσωπικά αρχεία). .....	44
<b>Εικόνα 4.8.1.</b> Διαδικασία εκχύλισης των φαινολικών ενώσεων: Α) Σωλήνας Falcon με δείγμα + μίγμα MeOH/H <sub>2</sub> O, Β) Αναδευτήρας Vortex, Γ) Ομογενοποιητής υπερήχων, Δ) Φυγόκεντρος, Ε) Σωλήνας Falcon με επισημασμένη την μεθανολική φάση (φαινολικές ενώσεις) (Προσωπικά αρχεία).....	45
<b>Εικόνα 4.8.2.</b> Τα δείγματα στο υδατόλουτρο και το φασματοφωτόμετρο στο οποίο θα οδηγηθούν (Προσωπικά αρχεία).....	48
<b>Εικόνα 4.8.3.</b> Τα δείγματα μετά το στάδιο της φασματοφωτομέτρησης (Προσωπικό αρχείο).....	50
<b>Εικόνα 4.8.4.</b> Τα δείγματα μετά το στάδιο της φασματοφωτομέτρησης (Προσωπικό αρχείο).....	52
<b>Εικόνα 4.9.</b> Η πειραματική διάταξη σχηματικά και πραγματικά (Manual 743 Rancimat, 2021; Προσωπικό αρχείο). .....	54

## Κατάλογος πινάκων

<b>Πίνακας 1.3.</b> Διαφορές στη χημική σύσταση των τοκοφερολών (Πηγή: <a href="https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0021967301011013">https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0021967301011013</a> ) .....	7
<b>Πίνακας 1.4.</b> Επίδραση των ασαπωνοποιήτων συστατικών του ελαιολάδου στην ανθρώπινη υγεία.....	12
<b>Πίνακας 3.3.</b> Επίδραση των συστατικών του αιθέριου ελαίου της <i>Origanum majorana</i> L. στην ανθρώπινη υγεία .....	31
<b>Πίνακας 5.1.1.</b> Η οξύτητα (% w/w σε ελαϊκό οξύ) των δειγμάτων ελαιολάδου .....	55
<b>Πίνακας 5.1.2.</b> Οι συντελεστές ειδικής απορρόφησης των δειγμάτων ελαιολάδου στο υπεριώδες .....	57
<b>Πίνακας 5.1.3.</b> Οι χρωματικές παράμετροι (R, Y, B και N), η χλωροφύλλη και το β-καροτένιο (ppb) των δειγμάτων ελαιολάδου στην κλίμακα Lovibond.....	59
<b>Πίνακας 5.2.</b> Οι πτητικές ενώσεις (mg/kg) που ταυτοποιήθηκαν στα δείγματα ελαιολάδου.....	62
<b>Πίνακας 5.3.</b> Το ολικό φαινολικό περιεχόμενο, η αντιριζική και η αντιοξειδωτική δράση των δειγμάτων ελαιολάδου .....	70
<b>Πίνακας 5.4.</b> Ο χρόνος επαγωγής (h) των δειγμάτων ελαιολάδου με τη μέθοδο Rancimat .....	72

## Κατάλογος διαγραμμάτων και σχημάτων

<b>Διάγραμμα 2.2.1.</b> Μερίδιο αγοράς εμπλουτισμένου ελαιολάδου (%) ανά γεωγραφική περιοχή (2018-2030) (Cognitive Market Research, 2021). .....	16
<b>Διάγραμμα 2.2.2.</b> Μερίδιο αγοράς εμπλουτισμένου ελαιολάδου (%) ανά εφαρμογή (2018-2030) (Cognitive Market Research, 2021). .....	17
<b>Διάγραμμα 2.2.3.</b> Ποσοστό βιβλιογραφικών αναφορών (1996-2022) που χρησιμοποίησαν την κάθε κατηγορία παραγόντων εμπλουτισμού (Lamas et al., 2022). .....	17
<b>Διάγραμμα 2.2.4.</b> Μερίδιο αγοράς εμπλουτισμένου ελαιολάδου (%) ανά είδος (2018-2030) (Cognitive Market Research, 2021). .....	18
<b>Διάγραμμα 2.5.</b> Συχνότητα χρήσης διάφορων μέσων εμπλουτισμού σε βιβλιογραφικές αναφορές (1996-2022) (Lamas et al., 2022). .....	25
<b>Σχήμα 5.2.</b> Χρωματογραφήματα (I) μη εμπλουτισμένου δείγματος ελαιολάδου (C <sub>0</sub> ) και (II) δείγματος ελαιολάδου εμπλουτισμένου με τη διπλάσια ποσότητα ματζουράνας (B <sub>0</sub> ). Η αρίθμηση των κορυφών αντιστοιχεί σε αυτή των ενώσεων του Πίνακα 5.2. (I.S.: εσωτερικό πρότυπο). .....	65
<b>Διάγραμμα 5.2.</b> Η μεταβολή του ολικού πτητικού κλάσματος των δειγμάτων ελαιολάδου στις μελετώμενες χρονικές περιόδους (I) συμπεριλαμβανόμενων των τερπενίων της ματζουράνας, (II) χωρίς να συμπεριλαμβάνονται τα τερπένια της ματζουράνας. ....	69
<b>Διάγραμμα 5.4.</b> Μεταβολή της ηλεκτρικής αγωγιμότητας του νερού συναρτήσει του χρόνου επαγωγής των δειγμάτων ελαιολάδου. ....	72



# Κεφάλαιο 1. Ελαιόλαδο

## 1.1 Γενικά

Το ελαιόλαδο είναι ίσως το πιο διαδεδομένο φυτικό έλαιο και παραλαμβάνεται μηχανικά από το σαρκώδες μέρος της ελιάς (*Olea europaea* L.), το μεσοκάρπιο, σε θερμοκρασίες που να μην προάγουν την αλλοίωση του ελαίου (Sakar & Gharby, 2022; Rogers, 2023; Guo et al., 2017; Νομοθέτημα Κώδικα Τροφίμων και Ποτών, 1987, Άρθρο 71). Όπως είναι ευρέως γνωστό, αποτελεί βασικό στοιχείο της διατροφής στις χώρες που περιβάλλουν τη Μεσόγειο Θάλασσα, αλλά έχει γίνει εξίσου δημοφιλές στους καταναλωτές της Βόρειας Ευρώπης, των ΗΠΑ, του Καναδά και άλλων χωρών. Η ολοένα αυξανόμενη δημοτικότητα οφείλεται στα πολυάριθμα οφέλη που προκύπτουν από την κατανάλωση του ελαιολάδου, τα οποία πηγάζουν από τη χημική του σύσταση (Boskou, 2011; Sakar & Gharby, 2022).

## 1.2 Κατηγορίες

Σύμφωνα με το πρότυπο COI/T.15/NC No 3/Rev.19 2022 του Διεθνούς Συμβουλίου Ελαιολάδου (IOC) (2022), το ελαιόλαδο χωρίζεται στις κατώθι ποιοτικές κατηγορίες:

1. **Παρθένο ελαιόλαδο:** Το έλαιο αυτό διακρίνεται περαιτέρω σε τέσσερις υποκατηγορίες:
  - **Εξαιρετικό Παρθένο Ελαιόλαδο:** Είναι το παρθένο ελαιόλαδο του οποίου η περιεκτικότητα σε ελεύθερα λιπαρά οξέα (οξύτητα), εκφρασμένη ως ελαϊκό οξύ, δεν υπερβαίνει τα 0,8 g ανά 100 g. Επιπλέον, χαρακτηρίζεται από ειδικές αποσβέσεις  $K_{232}$  και  $K_{270}$  μικρότερες ή ίσες των 2,50 και 0,22 αντίστοιχα, καθώς και από δείκτη ΔΚ μικρότερο ή ίσο του 0,01. Η υποκατηγορία αυτή συνιστά το υψηλότερης ποιότητας ελαιόλαδο (Kiritsakis & Markakis, 1988).
  - **Παρθένο Ελαιόλαδο:** Είναι το παρθένο ελαιόλαδο του οποίου η οξύτητα, εκφρασμένη ως ελαϊκό οξύ, δεν υπερβαίνει τα 2,0 g ανά 100 g. Επίσης, χαρακτηρίζεται από ειδικές αποσβέσεις  $K_{232}$  και  $K_{270}$  μικρότερες ή ίσες των 2,60 και 0,25 αντίστοιχα, καθώς και από δείκτη ΔΚ μικρότερο ή ίσο του 0,01.

- **Κοινό Παρθένο Ελαιόλαδο:** Είναι το παρθένο ελαιόλαδο του οποίου η περιεκτικότητα σε ελεύθερα λιπαρά οξέα, εκφρασμένη ως ελαϊκό οξύ, δεν υπερβαίνει τα 3,3 g ανά 100 g. Επιπρόσθετα, χαρακτηρίζεται από ειδική απόσβεση  $K_{270}$  μικρότερη ή ίση του 0,30, καθώς και από δείκτη ΔΚ μικρότερο ή ίσο του 0,01.
  - **Μειονεκτικό (Λαμπάντε) Παρθένο Ελαιόλαδο:** Είναι το παρθένο ελαιόλαδο του οποίου η οξύτητα, εκφρασμένη ως ελαϊκό οξύ, δεν υπερβαίνει τα 3,3 g ανά 100 g. Αυτή η υποκατηγορία προορίζεται για ραφινάρισμα ή για τεχνική χρήση.
2. **Εξευγενισμένο (Ραφιναρισμένο) Ελαιόλαδο:** Είναι το ελαιόλαδο που παραλαμβάνεται από παρθένα ελαιόλαδα μέσω εξευγενισμού (αποκομμίωση, εξουδετέρωση με υδροξείδιο του νατρίου, αποχρωματισμό, απόσμηση), οι μέθοδοι του οποίου δεν οδηγούν σε μεταβολές της αρχικής γλυκεριδικής δομής.
  3. **Ελαιόλαδο αποτελούμενο από εξευγενισμένο και παρθένο ελαιόλαδο:** Είναι το έλαιο που λαμβάνεται από ανάμειξη εξευγενισμένου ελαιολάδου και παρθένων ελαιολάδων, κατάλληλο για άμεση από τον άνθρωπο κατανάλωση.

### 1.3 Χημική σύσταση

Το ελαιόλαδο αποτελείται, κατά κύριο λόγο, από τριγλυκερίδια (~99%) και δευτερευόντως από ελεύθερα λιπαρά οξέα, μόνο- και διγλυκερίδια και διάφορα άλλα συστατικά, όπως φωσφατίδια, στερόλες, υδρογονάνθρακες, αλειφατικές αλκοόλες, τοκοφερόλες και χρωστικές ουσίες. Επιπλέον, περιέχει πληθώρα φαινολικών και πτητικών ενώσεων. Τα συστατικά αυτά κατατάσσονται σε δύο κατηγορίες:

1. τα σαπωνοποιήσιμα, στα οποία ανήκουν τα ελεύθερα λιπαρά οξέα, τα τριγλυκερίδια, τα μόνο- και διγλυκερίδια, και τα φωσφατίδια, και
2. τα ασαπωνοποιήτα, που περιλαμβάνουν τις στερόλες, τους υδρογονάνθρακες, τις αλειφατικές αλκοόλες, τις τοκοφερόλες, τις χρωστικές ουσίες, τις φαινολικές και τις πτητικές ενώσεις.

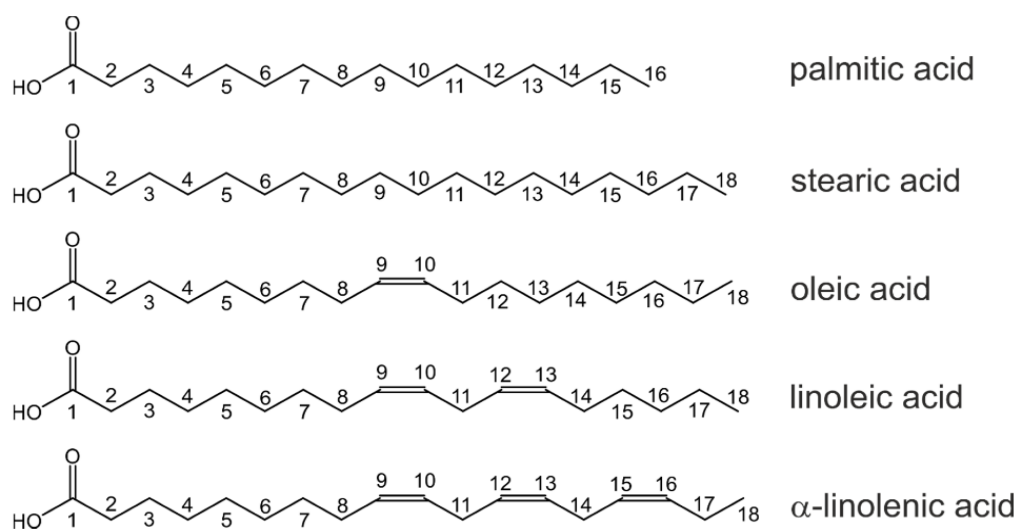
Τα ασαπωνοποιήτα συστατικά, παρ'ότι σε μικρή αναλογία, διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στη φυσιολογία των δράσεων του οργανισμού (Τσάκνης, 2018; De La Lastra et al., 2001).

### 1.3.1 Σαπωνοποιήσιμα συστατικά

#### 1.3.1.1 Ελεύθερα λιπαρά οξέα

Τα λιπαρά οξέα είναι μονοκαρβοξυλικά οξέα ευθείας αλυσίδας, τα οποία έχουν άρτιο (από τέσσερα έως είκοσι τέσσερα) ή σπανιότερα περιττό αριθμό ατόμων άνθρακα. Η καρβοξυλομάδα (-COOH) τους βρίσκεται στο άκρο της αλυσίδας και ανάλογα με το είδος του δεσμού που διαθέτουν διακρίνονται σε κορεσμένα και ακόρεστα (με έναν, δύο ή τρεις διπλούς δεσμούς) (Τσάκνης, 2018).

Από τα κορεσμένα λιπαρά οξέα σε μεγαλύτερη αναλογία βρίσκεται το παλμιτικό (C16:0), ακολουθούμενο από το στεατικό (C18:0), ενώ σε ελάχιστα ποσοστά απαντώνται το μυριστικό (C14:0), το δεκαεπτανικό (C17:0), το εικοσανοϊκό (C20:0), το βεχενικό (C22:0) και το λιγνοκηρικό (C24:0). Από τα ακόρεστα λιπαρά οξέα σε μεγαλύτερη αναλογία βρίσκεται το ελαϊκό (C18:1), ακολουθούμενο από το λινελαϊκό (C18:2) και το λινολενικό (C18:3), ενώ σε ελάχιστες ποσότητες απαντώνται το παλμιτελαϊκό (C16:1) και το αραχιδονικό (C20:4) (Τσάκνης, 2018; De La Lastra et al., 2001).



*Εικόνα 1.3.1.* Χημική δομή των επικρατέστερων κορεσμένων και ακόρεστων λιπαρών οξέων  
(Πηγή: <https://www.mdpi.com/2227-9717/8/4/410>).

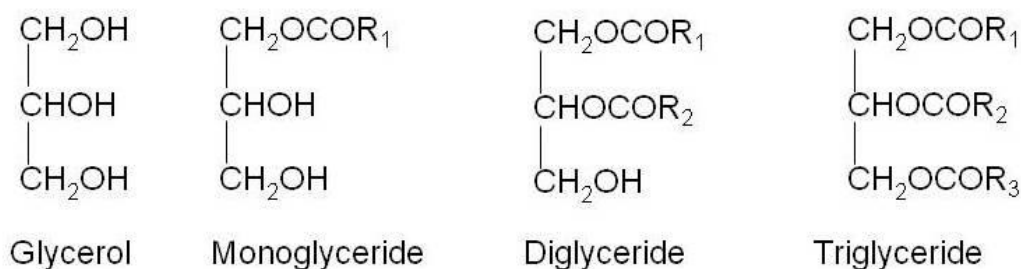
#### 1.3.1.2 Γλυκερίδια

Τα γλυκερίδια ή ακυλογλυκερόλες είναι εστέρες της τρισθενούς αλκοόλης γλυκερίνης ή γλυκερόλης με κορεσμένα ή με ακόρεστα λιπαρά οξέα. Ανάλογα με το πλήθος των

εστεροποιημένων υδροξυλίων της αλκοόλης χωρίζονται σε μόνο-, δι- και τριγλυκερίδια (Τσάκνης, 2018).

Τα τριγλυκερίδια ή τριακυλογλυκερόλες είναι ενώσεις, στις οποίες και τα τρία υδροξύλια της γλυκερόλης ενώνονται εστερικά με ισάριθμα μόρια λιπαρών οξέων (Εικόνα 1.3.2). Στο ελαιόλαδο τα σημαντικότερα εξ αυτών είναι η τριελαΐνη (EEE) (40-59%), η παλμιτοδιελαΐνη (ΠΕΕ) (12-20%), η λινολεϋλο-διελαΐνη (ΕΕΛ) (12,5-20%), η παλμιτο-λινολεϋλο-ελαΐνη (ΠΕΛ) (5,5-7%) και η στεατοδιελαΐνη (ΣΕΕ) (3-7%), όπου Ε = Ελαϊκό οξύ, Π = Παλμιτικό οξύ, Λ = Λινελαϊκό οξύ και Σ = Στεατικό οξύ.

Τα μόνο- και διγλυκερίδια σχηματίζονται κατά την εστεροποίηση της γλυκερόλης με ένα και δύο λιπαρά οξέα, αντίστοιχα, ή με μερική υδρόλυση των τριγλυκεριδίων. Η συγκέντρωση των μονογλυκεριδίων ή μονοακυλογλυκερολών στο ελαιόλαδο δεν ξεπερνά το 0,25%, ενώ το διγλυκεριδίων ή διακυλογλυκερολών κυμαίνεται μεταξύ του 1 με 2,8% (Τσάκνης, 2018; Boskou et al., 2006).



*Εικόνα 1.3.2.* Χημική δομή της γλυκερόλης και των γλυκεριδίων  
(Πηγή: <http://ecoursesonline.iasri.res.in/mod/page/view.php?id=983>).

### 1.3.1.3 Φωσφατίδια

Τα φωσφατίδια ή φωσφολιπίδια συνίστανται από μία πολυσθενή αλκοόλη, εστεροποιημένη με φωσφορικό οξύ και λιπαρά οξέα. Η αλκοόλη αυτή, συνήθως, είναι η γλυκερόλη ή η σφιγγοσίνη. Στην πρώτη περίπτωση τα φωσφατίδια ονομάζονται φωσφογλυκερίδια, ενώ στη δεύτερη σφιγγολιπίδια (Τσάκνης, 2018).

Στο ελαιόλαδο κύρια φωσφατίδια είναι η κεφαλίνη ή φωσφατιδυλοαιθανο-λαμίνη, η λεκιθίνη ή φωσφατιδοχολίνη και η φωσφατιδυλοϊνοσιτόλη, τα οποία ανήκουν στην κατηγορία των φωσφογλυκεριδίων (Boskou et al., 2006; Κυριτσάκης, 2007).

## **1.3.2 Ασαπωνοποίητα συστατικά**

### **1.3.2.1 Στερόλες**

Οι στερόλες είναι κυκλικές αλκοόλες μεγάλου μοριακού βάρους. Στο ελαιόλαδο βρίσκονται είτε ελεύθερες, είτε δεσμευμένες με τη μορφή εστέρων με λιπαρά οξέα και κατατάσσονται σε τέσσερις κατηγορίες: τις κοινές στερόλες ή 4α-απομεθυλεστερόλες, τις 4α-μεθυλοστερόλες, τις 4,4-διμεθυλοστερόλες ή τριτερπενικές αλκοόλες και τις τριτερπενικές διαλκοόλες (Κυριτσάκης, 2007).

Οι κυριότερες στερόλες του ελαιολάδου είναι η β-σιτοστερόλη η οποία συνιστά το 75-90% του συνολικού κλάσματος των στερολών, η Δ-5-αβεναστερόλη που καταλαμβάνει το 5-20% και η καμπεστερόλη σε ποσοστό 1-4%. Οι προαναφερόμενες αυτές στερόλες ανήκουν στην κατηγορία των κοινών στερολών (Τσάκνης, 2018; De La Lastra et al., 2001).

### **1.3.2.2 Υδρογονάνθρακες**

Στο ελαιόλαδο εμπεριέχονται διάφοροι υδρογονάνθρακες όπως n-αλκάνια (παραφίνες) με έντεκα έως τριάντα άτομα άνθρακα ( $C_{11}-C_{30}$ ), τερπενικοί υδρογονάνθρακες, καθώς και αρωματικοί πολυκυκλικοί υδρογονάνθρακες όπως το ναφθαλίνιο και το φαινανθρένιο. Ωστόσο, οι δύο υδρογονάνθρακες που βρίσκονται σε σημαντικές ποσότητες είναι το σκουαλένιο και το β-καροτένιο (Κυριτσάκης, 2007; Boskou, 2011).

Το σκουαλένιο είναι ένας πολυακόρεστος αλειφατικός τριτερπενικός υδρογονάνθρακας με τριάντα άτομα άνθρακα ( $C_{30}H_{50}$ ) (Τσάκνης, 2018). Συνιστά πρόδρομη ένωση της βιοσύνθεσης των στερολών και καταλαμβάνει περισσότερο από το 50% του ασαπωνοποίητου κλάσματος του ελαιολάδου (Paiva-Martins & Kiritsakis, 2017). Το β-καροτένιο θα αναλυθεί στην υποενότητα των χρωστικών ουσιών.

### **1.3.2.3 Αλειφατικές αλκοόλες**

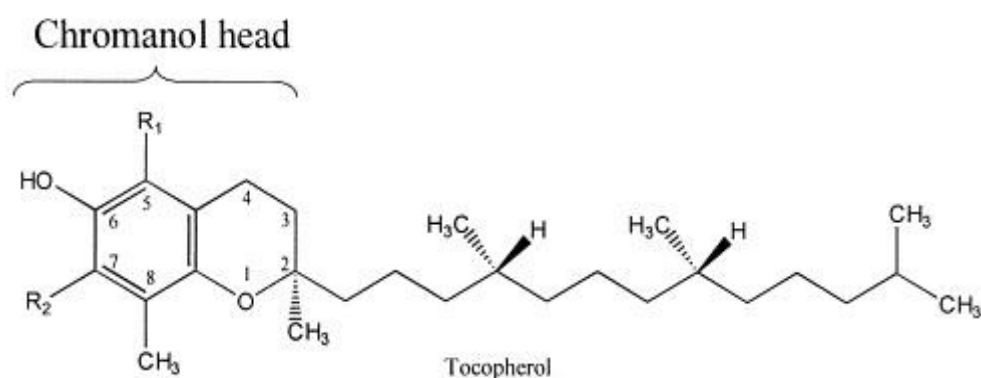
Κορεσμένες γραμμικές αλειφατικές αλκοόλες με άρτιο αριθμό ατόμων άνθρακα ( $C_{18}-C_{28}$ ) είναι παρούσες στο ελαιόλαδο σε δύο μορφές: την ελεύθερη και την εστεροποιημένη. Οι πιο σημαντικές είναι οι λιπαρές και οι διτερπενικές αλκοόλες.

Οι κύριες λιπαρές αλκοόλες που ανιχνεύονται στο ελαιόλαδο είναι η δοκοσανόλη, η τετρακοσανόλη, η εξακοσανόλη και η οκτακοσανόλη. Παρ'όλα αυτά, μπορεί να βρεθούν σε ίχνη και λιπαρές αλκοόλες με περιττό αριθμό ατόμων άνθρακα, όπως η τρικοσανόλη, η πεντακοσανόλη και η επτακοσανόλη. Όσον αφορά τις διτερπενικές αλκοόλες, δύο είναι αυτές που συνιστούν το κλάσμα των αλειφατικών αλκοολών: η φυτόλη και η γερανυλγερανιόλη (Paiva-Martins & Kiritsakis, 2017; Boskou et al., 2006).

#### 1.3.2.4 Τοκοφερόλες

Οι τοκοφερόλες είναι λιποδιαλυτές ενώσεις οι οποίες αποτελούνται από τη χρωμανόλη, δηλαδή μία ομάδα χρωμανίου με υδροξύλιο στη θέση 6, και από μία υδρόφοβη πλευρική αλυσίδα με δεκαέξι άτομα άνθρακα στη θέση 2 (Εικόνα 1.3.3) (Psomiadou et al., 2000; Gray et al., 2012). Υπάρχουν τέσσερις ομόλογες τοκοφερόλες, η α-, η β-, η γ- και η δ-, που διαφέρουν μεταξύ τους ως προς τον αριθμό ή τη θέση των μεθυλομάδων όπου έχουν στο μόριο τους (Πίνακας 1.3) (Psomiadou et al., 2000; Κυριτσάκης, 2007).

Στο ελαιόλαδο οι τοκοφερόλες αυτές βρίσκονται σε ελεύθερη (μη εστεροποιημένη) μορφή (Boskou, 2011), με την επικρατέστερη να είναι η α-τοκοφερόλη σε ποσοστό που φτάνει το 88,5% του συνόλου. Ακολουθούν η β- και η γ, καταλαμβάνοντας μαζί το 9,9% και στη συνέχεια η δ-, καλύπτοντας το 1,6% (Κυριτσάκης, 2007).



**Εικόνα 1.3.3.** Χημική δομή των τοκοφερολών  
(Πηγή: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0021967301011013>).

Πίνακας 1.3. Διαφορές στη χημική σύσταση των τοκοφερολών

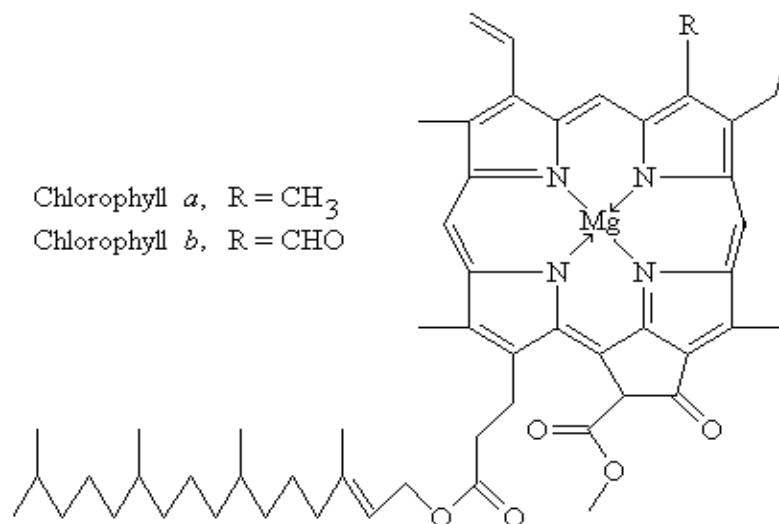
	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>
<b>α-tocopherol</b>	CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>
<b>β-tocopherol</b>	CH <sub>3</sub>	H
<b>γ-tocopherol</b>	H	CH <sub>3</sub>
<b>δ-tocopherol</b>	H	H

Πηγή: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0021967301011013>

### 1.3.2.5 Χρωστικές ουσίες

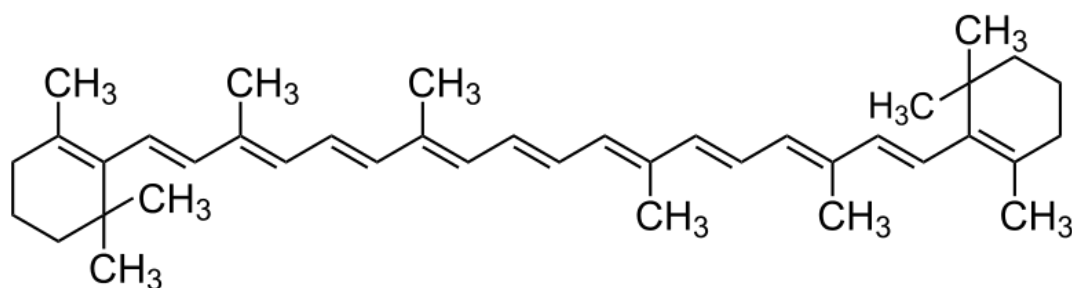
Η σύνθεση και η περιεκτικότητα των χρωστικών ουσιών επηρεάζουν το χρώμα του ελαιολάδου (Τσάκνης, 2018), το οποίο είναι μία μίξη πράσινου και κίτρινου λόγω της παρουσίας χλωροφυλλών και καροτενοειδών (Boskou, 2011).

Οι χλωροφύλλες είναι δύο: η α- και η β-. Η χλωροφύλλη α έχει κυανοπράσινο χρώμα, ενώ η β- κίτρινοπράσινο και είναι αυτές που ευθύνονται για την πράσινη απόχρωση του ελαιολάδου. Η χλωροφύλλη β έχει μία αλδεϋδική ομάδα στο τρίτο άτομο άνθρακα, σε αντίθεση με τη α- που έχει μία μεθυλομάδα (Εικόνα 1.3.4) (Κυριτσάκης, 2007). Και οι δύο χρωστικές παρουσία 2H<sup>+</sup> μετατρέπονται στις αντίστοιχες φαιοφυτίνες, απελευθερώνοντας Mg<sup>+</sup> (Τσάκνης, 2018).



Εικόνα 1.3.4. Χημική δομή των χλωροφυλλών  
(Πηγή: [http://www.chm.bris.ac.uk/motm/chlorophyll/chlorophyll\\_h.htm](http://www.chm.bris.ac.uk/motm/chlorophyll/chlorophyll_h.htm)).

Η κίτρινη απόχρωση του ελαιολάδου αποδίδεται στα καροτενοειδή, τα οποία διακρίνονται στα καροτένια και τις ξανθοφύλλες. Τα καροτένια (α-, β- και γ-) είναι ακόρεστοι υδρογονάνθρακες με μοριακό τύπο  $C_{40}H_{56}$ . Από αυτά επικρατέστερο στο ελαιόλαδο είναι το β-καροτένιο, καταλαμβάνοντας το 85% του συνόλου τους και ακολουθεί το α-καροτένιο με ποσοστό 15% (Κυριτσάκης, 2007). Οι ξανθοφύλλες αποτελούν οξυγονωμένα παράγωγα των καροτενοειδών (Petruzzello, 2022) και η κυριότερη από αυτές, στο ελαιόλαδο, είναι η λουτεΐνη ( $C_{40}H_{56}O_2$ ). Άλλες ξανθοφύλλες που είναι παρούσες, σε μικρές όμως ποσότητες, είναι η βιολαξανθίνη, η νεοξανθίνη κ.ά. (Κυριτσάκης, 2007; Boskou, 2011).



*Εικόνα 1.3.5.* Χημική δομή του β-καροτενίου  
(Πηγή: <https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Beta-carotene.svg>).

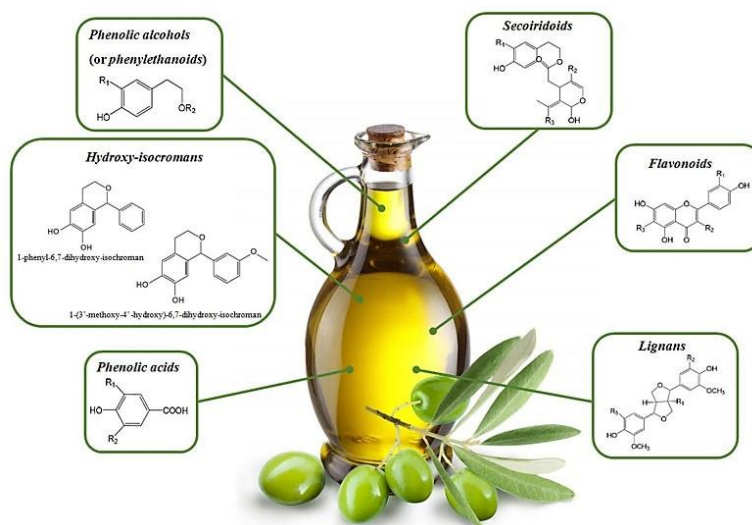
### 1.3.2.6 Φαινολικές ενώσεις

Οι φαινολικές ενώσεις είναι υδροξυπαράγωγα αρωματικών υδρογονανθράκων με τουλάχιστον ένα υδροξύλιο ενωμένο με άνθρακα του αρωματικού δακτυλίου (Τσάκης, 2018). Το φαινολικό κλάσμα του ελαιολάδου απαρτίζεται από πολυάριθμες ενώσεις, οι οποίες κατατάσσονται στις παρακάτω έξι κατηγορίες (Paiva-Martins & Kiritsakis, 2017; Finicelli et al., 2021):

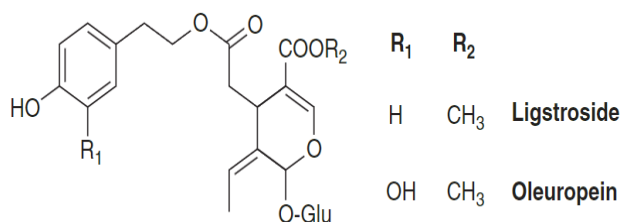
1. **Σεκοϊριδοειδή:** Σε αυτά ανήκουν η ελευρωπαΐνη, η λιγκστροσίδη, οι αγλυκόνες αυτών και τα παράγωγα των τελευταίων (Paiva-Martins & Kiritsakis, 2017; Guo et al., 2017).
2. **Φαινολικές αλκοόλες:** Στην κατηγορία αυτή υπάγονται η τυροσόλη και η υδροξυτυροσόλη οι οποίες αποτελούν τα κύρια συστατικά του φαινολικού κλάσματος, καθώς και τα παράγωγα αυτών (Paiva-Martins & Kiritsakis, 2017; Boskou, 2015).



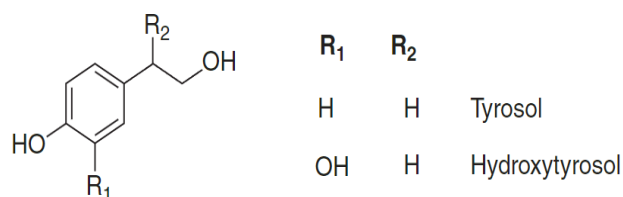
- 3. Φαινολικά οξέα:** Τα οξέα αυτά διακρίνονται σε δύο υποκατηγορίες: τα υδροξυβενζοϊκά και τα υδροξυκιναμικά. Στα πρώτα εμπίπτουν το p-υδροξυβενζοϊκό, το πρωτοκατεχικό, το βανιλλικό, το γαλλικό και το συρινγκικό οξύ, ενώ στα δεύτερα το καφεϊκό, το o- και p-κουμαρικό, το φερουλικό και το σιναπικό οξύ (Paiva-Martins & Kiritsakis, 2017; Finicelli et al., 2021).
- 4. Φλαβονοειδή:** Σε αυτά υπάγονται η λουτεολίνη και η απιγενίνη (Boskou, 2015; Guo et al., 2017).
- 5. Αιγνάνες:** Στην κατηγορία αυτή ανήκουν η 1-ακετοξυπινορεσινόλη, καθώς και η (+)-πινορεσινόλη (Finicelli et al., 2021; Guo et al., 2017; Boskou, 2015).
- 6. Υδροξυ-ισοχρωμάνια:** Οι ενώσεις που εμπίπτουν σε αυτή την κατηγορία είναι το 1-φαινυλ-6,7-διυδροξυϊσοχρωμάνιο και το 1-(3'-μεθοξυ-4'-υδροξυ)φαινυλ-6,7-διυδροξυ-ισοχρωμάνιο (Paiva-Martins & Kiritsakis, 2017; Finicelli et al., 2021).



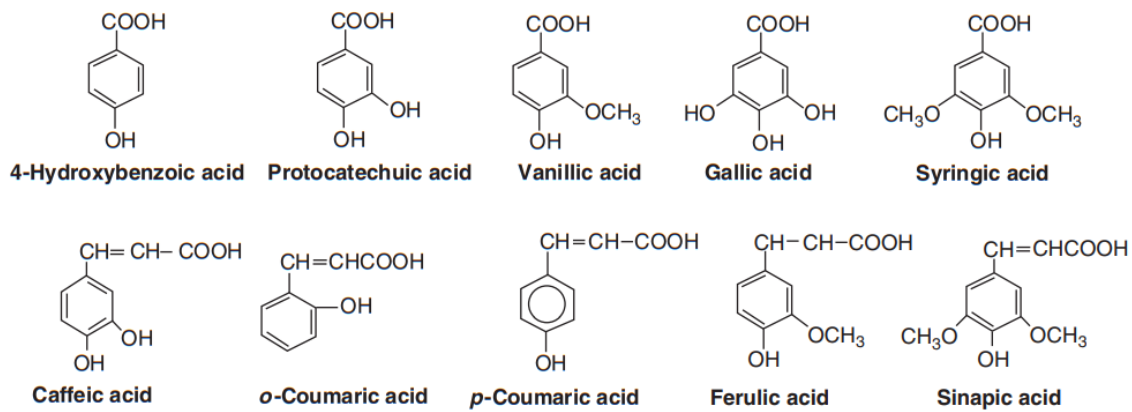
Εικόνα 1.3.6. Κατηγορίες φαινολικών ενώσεων στο ελαιόλαδο (Finicelli et al., 2021).



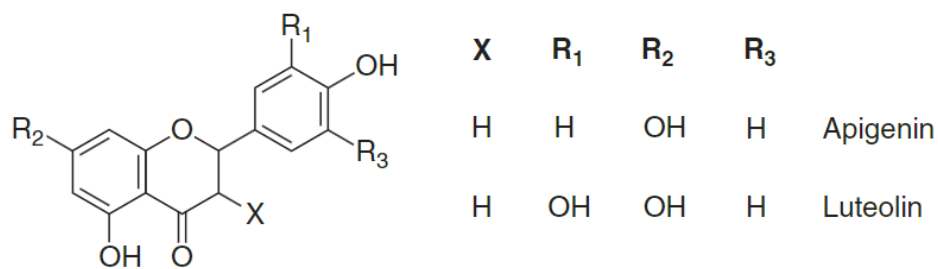
Εικόνα 1.3.7. Χημική δομή των σεκοϊριδοειδών (Paiva-Martins & Kiritsakis, 2017).



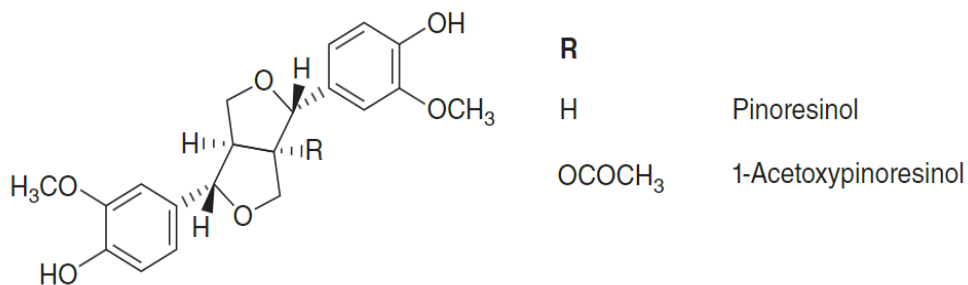
Εικόνα 1.3.8. Χημική δομή των φαινολικών αλκοολών (Paiva-Martins & Kiritsakis, 2017).



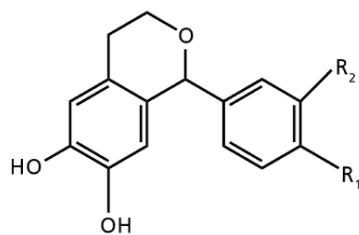
*Εικόνα 1.3.9.* Χημική δομή των φαινολικών οξέων (Boskou, 2011).



*Εικόνα 1.3.10.* Χημική δομή των φλαβονοειδών (Paiva-Martins & Kiritsakis, 2017).



*Εικόνα 1.3.11.* Χημική δομή των λιγνανών (Paiva-Martins & Kiritsakis, 2017).



1-Phenyl-6,7-dihydroxychroman R<sub>1</sub>R<sub>2</sub> = H

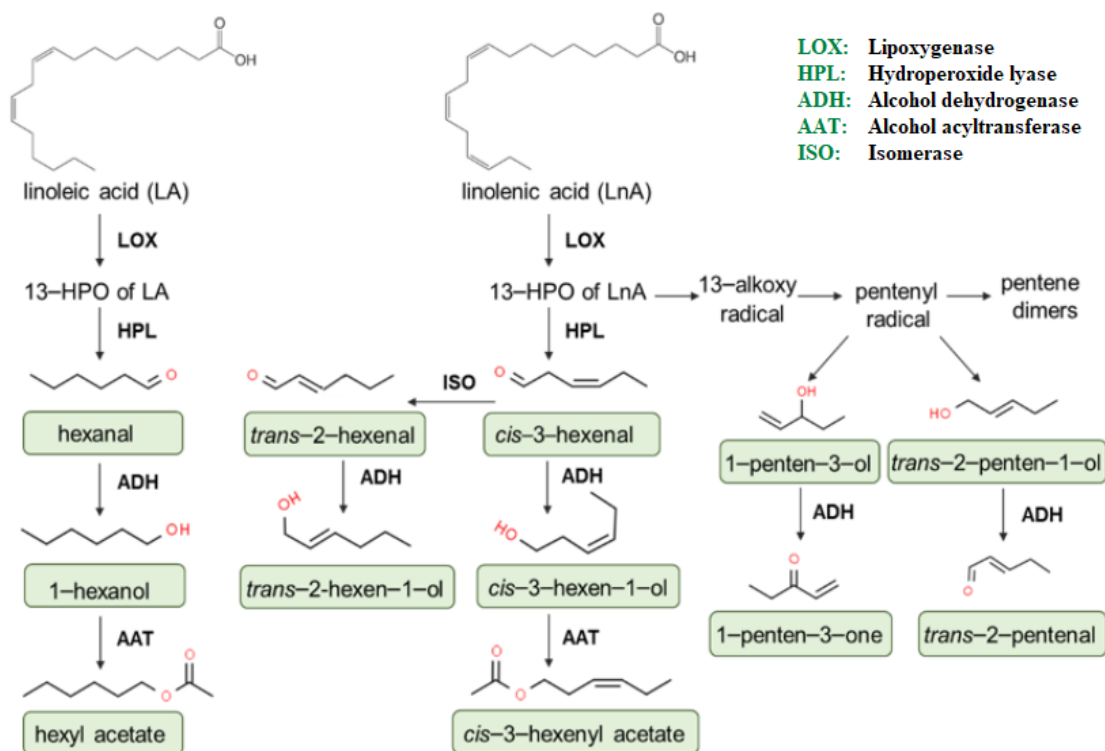
1-(3'-methoxy-4'-hydroxy)phenyl-6,7-dihydroxychroman R<sub>1</sub> = -OH, R<sub>2</sub> = -OCH<sub>3</sub>

*Εικόνα 1.3.12.* Χημική δομή των υδροξυ-ισοχρωμανίων (Boskou, 2015).

### 1.3.2.7 Πτητικές ενώσεις

Τα πτητικά συστατικά είναι ενώσεις μικρού μοριακού βάρους, στην παρουσία των οποίων οφείλεται το ξεχωριστό άρωμα του ελαιολάδου (Kalua et al., 2007). Συνολικά, έχουν ταυτοποιηθεί σε αυτό ποίκιλα τέτοια συστατικά όπως αλειφατικές και τερπενικές αλκοόλες, αλδεΐδες, κετόνες, αλειφατικοί και αρωματικοί υδρογονάνθρακες, αιθέρες, εστέρες, καθώς και παράγωγα του φουρανίου και του θειοφαινίου (Κυριτσάκης, 2007).

Από τα παραπάνω οι ενώσεις με πέντε και έξι άτομα άνθρακα είναι, ποσοτικά, οι πιο σημαντικές του πτητικού κλάσματος. Προκύπτουν ενζυμικά από τα πολυακόρεστα λιπαρά οξέα λινελαϊκό και λινολενικό, μέσω της οδού της λιποξυγενάσης (Paiva-Martins & Kiritsakis, 2017). Οι επικρατέστερες έχουν έξι άτομα άνθρακα και είναι η εξανάλη, η 1-εξανόλη, ο οξικός εξυλεστέρας, η *cis*-3-εξενάλη, η *cis*-3-εξεν-1-όλη, ο οξικός *cis*-3-εξενυλεστέρας, η *trans*-2-εξενάλη και η *trans*-2-εξεν-1-όλη. Τα πτητικά με πέντε άτομα άνθρακα προκύπτουν από την αντίδραση διάσπασης του 13-υδροϋπεροξειδίου του λινολενικού οξέος και είναι η 1-πεντεν-3-όλη, η 1-πεντεν-3-όνη, η *trans*-2-πεντεν-1-όλη, η *trans*-2-πεντενάλη, καθώς και τα διμερή του πεντενίου (Boskou et al., 2006; Genovese et al., 2021).



Εικόνα 1.3.13. Η οδός της λιποξυγενάσης, η οποία εμπλέκεται στην παραγωγή των πτητικών συστατικών του ελαιολάδου (Genovese et al., 2021).

## 1.4 Βιολογική αξία

Το ελαιόλαδο χαρακτηρίζεται από μία πληθώρα ευεργετικών δράσεων για την ανθρώπινη υγεία, μεταξύ των οποίων αναντίλεκτα ξεχωρίζουν η αντιοξειδωτική, η αντιφλεγμονώδης, η αντικαρκινική και η αντιμικροβιακή (Muzammil et al., 2021). Στον Πίνακα 1.4 συνοψίζονται οι παραπάνω δράσεις οι οποίες, όπως έχει ήδη αναφερθεί, πηγάζουν από τα ασαπωνοποίητα συστατικά του ελαιολάδου (Τσάκνης, 2018).

**Πίνακας 1.4.** Επίδραση των ασαπωνοποίητων συστατικών του ελαιολάδου στην ανθρώπινη υγεία

	Αντιοξειδωτική	Αντιφλεγμονώδη	Αντικαρκινική	Αντιμικροβιακή
Στερόλες	-	όλες και ειδικότερα η β-σιτοστερόλη (Aparicio & Harwood, 2013)	όλες και ειδικότερα η β-σιτοστερόλη (Τσάκνης, 2018; Κυριτσάκης, 2007)	-
Υδρογονάνθρακες	όλοι (Guo et al., 2017) και ειδικότερα τα σκουαλένιο (Boskou, 2011; Muzammil et al., 2021) και β-καροτένιο (Κυριτσάκης, 2007; Muzammil et al., 2021)	σκουαλένιο (Paiva-Martins & Kiritsakis, 2017; Muzammil et al., 2021)	σκουαλένιο (Τσάκνης, 2018; Κυριτσάκης, 2007), β-καροτένιο (Κυριτσάκης, 2007)	-
Αλειφατικές αλκοόλες	-	-	-	-
Τοκοφερόλες	όλες (Sakar & Gharby, 2022; Κυριτσάκης, 2007)	όλες (Guo et al., 2017) και ειδικότερα η α-τοκοφερόλη (Aparicio & Harwood, 2013)	όλες (Guo et al., 2017)	-
Χρωστικές ουσίες	όλες (Guo et al., 2017) και ειδικότερα τα β-καροτένιο και λουτεΐνη (Τσάκνης, 2018; Κυριτσάκης, 2007; Muzammil et al., 2021)	-	καροτενοειδή και ειδικότερα το β-καροτένιο (Κυριτσάκης, 2007)	-
Φαινολικές ενώσεις	όλες (Uylaşer & Yildiz, 2014) και ειδικότερα τα καφεϊκό οξύ (De La Lastra et al., 2001;	όλες και ειδικότερα η υδροξυτυροσόλη και η ελευρωπαΐνη (Τσάκνης, 2018)	όλες (Sakar & Gharby, 2022; Muzammil et al., 2021)	όλες (Uylaşer & Yildiz, 2014) και ειδικότερα η υδροξυτυροσόλη και

	Κυριτσάκης, 2007), φερουλικό οξύ (Κυριτσάκης, 2007), ελευρωπαϊνή (De La Lastra et al., 2001), υδροξυτυροσόλη (Boskou, 2011; Κυριτσάκης, 2007), φλαβονοειδή (Κυριτσάκης, 2007)			η ελευρωπαϊνή (Τσάκης, 2018)
Πτητικές ενώσεις	-	-	-	-

## Κεφάλαιο 2. Εμπλουτισμένο ελαιόλαδο

### 2.1 Γενικά

Η απαίτηση των καταναλωτών για νέα και διαφοροποιημένα προϊόντα, καθώς και η αυξανόμενη ανταγωνιστικότητα μεταξύ των ελαιοπαραγωγών ενθάρρυνε την εισαγωγή νέων προϊόντων στην αγορά του ελαιολάδου. Μεταξύ αυτών ξεχωρίζουν τα εμπλουτισμένα ελαιόλαδα, τα οποία κερδίζουν τώρα τελευταία ‘έδαφος’ στη βιομηχανία τροφίμων και ειδικότερα στον τομέα των γκουρμέ προϊόντων (Lamas et al., 2022; Ambrosewicz-Walacik & Tańska, 2015).

Ως εμπλουτισμένο ή αρωματικό μπορεί να οριστεί το ελαιόλαδο (σε γενικές γραμμές το εξαιρετικό παρθένο), το οποίο έχει υποστεί επεξεργασία με λαχανικά, βότανα, μπαχαρικά ή άλλα φρούτα ώστε να βελτιωθεί η διατροφική του αξία, να εμπλουτιστούν τα οργανοληπτικά του χαρακτηριστικά και να αυξηθεί η διάρκεια ζωής του στο ράφι (Baiano et al., 2010). Όπως αναφέρεται και παραπάνω για τον εμπλουτισμό, συνήθως, χρησιμοποιείται εξαιρετικό παρθένο ή παρθένο ελαιόλαδο (Lamas et al., 2022). Ωστόσο, για να θεωρείται ένα έλαιο παρθένο πρέπει να λαμβάνεται από τον ελαιόκαρπο αποκλειστικά με μηχανικές ή άλλες μεθόδους υπό συνθήκες ιδίως θερμικές, οι οποίες δε συνεπάγονται αλλοίωση του και να μην έχει υποστεί άλλη επεξεργασία πλην της πλύσης, της καθίζησης, της φυγοκέντρησης και της διήθησης (International Olive Council, 2021). Συνεπώς, εξ ορισμού, τα εμπλουτισμένα ελαιόλαδα δεν είναι εξαιρετικά παρθένα ή παρθένα (Lamas et al., 2022), αλλά θεωρούνται καρυκεύματα (seasonings) σύμφωνα με τα πρότυπα του Διεθνούς Συμβουλίου Ελαιολάδου (IOC). Άρα, στη συσκευασία ενός τέτοιου προϊόντος δε μπορεί να αναγράφεται ο όρος ‘ελαιόλαδο ή παρθένο ή έξτρα παρθένο ελαιόλαδο εμπλουτισμένο με ...’. Αντιθέτως, μπορεί να επισημαίνεται ως ‘καρύκευμα παρασκευασμένο από ελαιόλαδο και αρώματα, μπαχαρικά ή βότανα’, με την κατηγορία του ελαιολάδου και τον παράγοντα εμπλουτισμού που χρησιμοποιήθηκαν να αναφέρονται στη λίστα των συστατικών σύμφωνα με το γενικό πρότυπο Codex για την επισήμανση προ-συσκευασμένων τροφίμων (CODEX STAN 1-1985, Rev. 1-1991, amended in 2001). Στην πραγματικότητα, ωστόσο, λίγοι είναι οι παραγωγοί που ακολουθούν το προαναφερόμενο και αυτοί όχι επακριβώς (Baiano et al., 2010).



Εικόνα 2.1. Παραδείγματα ετικετών εμπλουτισμένων ελαιολάδων, που είναι εμπορικά διαθέσιμα.

Τα εμπλουτισμένα ελαιόλαδα εκτιμώνται ιδιαίτερα από τους καταναλωτές για την πλούσια γεύση τους, καθώς και τη γαστρονομική και μαγειρική τους χρησιμότητα (Clodoveo et al., 2016). Ειδικότερα, βρίσκουν ευρεία εφαρμογή ως ντιπ, μαρινάδες, σως, ντρέσινγκ για σαλάτες, στο ψέκασμα ξηρών καρπών και σνακ πριν το μαγείρεμα τους, στο ψήσιμο, στο τηγάνισμα κ.ά. (Baiano et al., 2010).

## 2.2 Δεδομένα για την αγορά

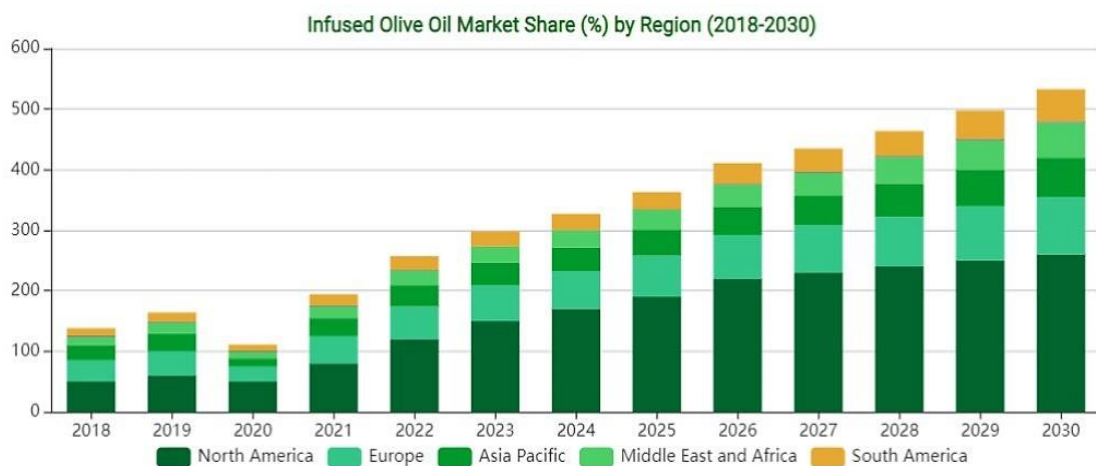
Στο χώρο του μάρκετινγκ, η αγορά των εμπλουτισμένων ελαιολάδων διακρίνεται σε διάφορες κατηγορίες με κριτήριο τα εξής:

1. **Είδος εμπλουτιστικού παράγοντα:** Με βάση αυτό υπάρχει η αγορά των ελαιολάδων που έχουν εμπλουτιστεί με βότανα και μπαχαρικά, η αγορά εκείνων που έχουν εμπλουτιστεί με φρούτα και αυτή των ελαιολάδων που έχουν ενσωματωμένους άλλους παράγοντες (π.χ. λαχανικά, μανιτάρια, αρώματα κ.ά.) (London IOOC, 2021; Cognitive Market Research, 2021; Dataintelo, 2021).
2. **Φύση ελαιολάδου:** Υπάρχει η αγορά των συμβατικών και αυτή των βιολογικών εμπλουτισμένων ελαιολάδων (Persistence Market Research, χ.η.).
3. **Εφαρμογή:** Με κριτήριο αυτή έχουμε την αγορά των εμπλουτισμένων ελαιολάδων για σχολεία και ινστιτούτα, την αγορά εκείνων για εστιατόρια και

ξενοδοχεία και την αγορά αυτών για άλλες εφαρμογές (London IOOC, 2021; Cognitive Market Research, 2021).

4. **Γεωγραφική περιοχή:** Υπάρχει η αγορά των εμπλουτισμένων ελαιολάδων στη Βόρεια Αμερική, στη Λατινική Αμερική, στην Ευρώπη, στην Ασία του Ειρηνικού ωκεανού και στη Μέση Ανατολή και Αφρική (London IOOC, 2021; Cognitive Market Research, 2021; Dataintelo, 2021; Persistence Market Research, χ.η.).

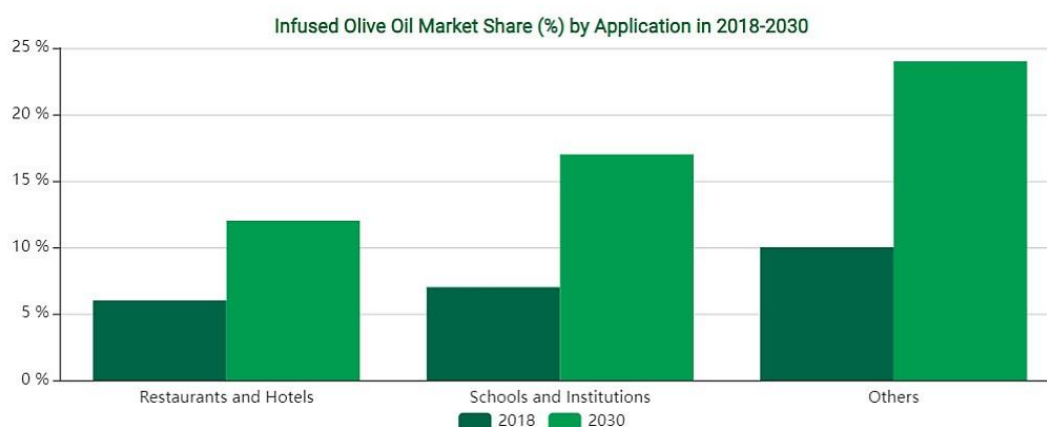
Τα εμπλουτισμένα ελαιόλαδα αντιπροσωπεύουν μόνο ένα μικρό ποσοστό της αγοράς του ελαιολάδου, αλλά ακόμη και αυτός ο μικρός αριθμός πωλήσεων μπορεί να είναι εξαιρετικά κερδοφόρος για τους λιανοπωλητές (Baiano et al., 2010). Μελέτες έχουν δείξει ότι σημαντικό μερίδιο στην αγορά αυτού του είδους ελαιολάδων κατέχουν, κυρίως, η Βόρεια Αμερική, η Ευρώπη και η Ασία του Ειρηνικού ωκεανού. Όπως φαίνεται στο Διάγραμμα 2.2.1, η Βόρεια Αμερική είναι εκείνη που καταλαμβάνει, και προβλέπεται πως θα συνεχίσει να καταλαμβάνει, το μεγαλύτερο μερίδιο αγοράς, ακολουθούμενη από τις υπόλοιπες (Cognitive Market Research, 2021). Αυτό θα μπορούσε να αποδοθεί σε δύο παράγοντες: αφενός, στο γεγονός ότι οι καταναλωτές εκεί δεν είναι εξοικειωμένοι με τη χρήση του αγνού ελαιολάδου και γι' αυτό είναι πιο πρόθυμοι να χρησιμοποιήσουν τα αρωματισμένα (Baiano et al., 2010). Αφετέρου, στο ότι η συγκεκριμένη γεωγραφική περιοχή χαρακτηρίζεται από μεγάλη κατανάλωση σνακ (Persistence Market Research, χ.η.), στα οποία τα εμπλουτισμένα ελαιόλαδα χρησιμοποιούνται ευρέως είτε ως συνοδευτικά (ντιπ) είτε για το ψέκασμα τους πριν το μαγείρεμα.



**Διάγραμμα 2.2.1.** Μερίδιο αγοράς εμπλουτισμένου ελαιολάδου (%) ανά γεωγραφική περιοχή (2018-2030) (Cognitive Market Research, 2021).

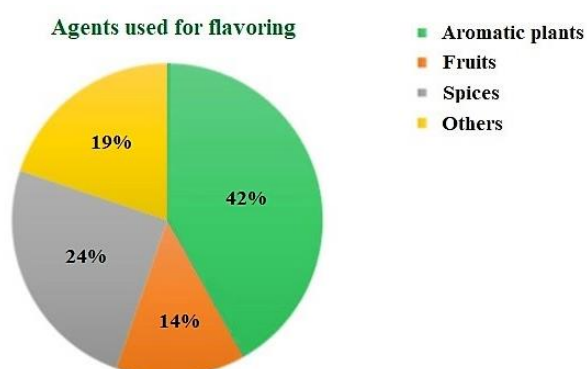


Όσον αφορά την αγορά των εμπλουτισμένων ελαιολάδων με κριτήριο την εφαρμογή, κυρίαρχο μερίδιο κατέχει η αγορά αυτών για άλλες εφαρμογές, ακολουθεί εκείνη για σχολεία και ιδρυματικά και τελευταία είναι αυτή για εστιατόρια και ξενοδοχεία. Η ίδια κατάταξη, με αυξημένα ωστόσο τα μερίδια αγοράς, προβλέπεται να υφίστανται και στο εγγύς μέλλον (Διάγραμμα 2.2.2) (Cognitive Market Research, 2021).

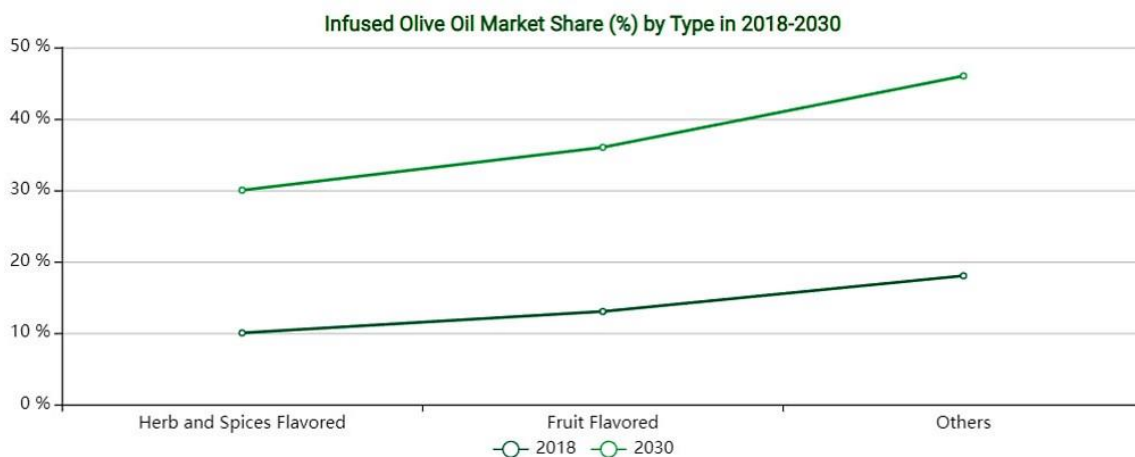


**Διάγραμμα 2.2.2.** Μερίδιο αγοράς εμπλουτισμένου ελαιολάδου (%) ανά εφαρμογή (2018-2030) (Cognitive Market Research, 2021).

Σύμφωνα με τους Lamas et al. (2022), οι παράγοντες που χρησιμοποιούνται πιο συχνά για τον εμπλουτισμό ελαιολάδων είναι κατά φθίνουσα σειρά τα αρωματικά φυτά ή βότανα, τα μπαχαρικά, διάφοροι άλλοι παράγοντες και τα φρούτα (Διάγραμμα 2.2.3). Παρ'όλα αυτά, η παραπάνω κατάταξη φαίνεται να μη συνάδει με το μερίδιο αγοράς που καταλαμβάνουν τα ελαιόλαδα με τους παράγοντες αυτούς. Ειδικότερα, όπως φαίνεται στο Διάγραμμα 2.2.4, το μεγαλύτερο μερίδιο καταλαμβάνει, και προβλέπεται πως θα συνεχίσει να καταλαμβάνει, η αγορά των εμπλουτισμένων ελαιολάδων με άλλους παράγοντες, ακολουθούμενη από αυτή των ελαιολάδων με φρούτα και από εκείνη των ελαίων με βότανα και μπαχαρικά (Cognitive Market Research, 2021).



**Διάγραμμα 2.2.3.** Ποσοστό βιβλιογραφικών αναφορών (1996-2022) που χρησιμοποίησαν την κάθε κατηγορία παραγόντων εμπλουτισμού (Lamas et al., 2022).



*Διάγραμμα 2.2.4.* Μερίδιο αγοράς εμπλουτισμένου ελαιολάδου (%) ανά είδος (2018-2030) (Cognitive Market Research, 2021).

### 2.3 Επίδραση εμπλουτισμού

Η επίδραση που έχει ο εμπλουτισμός στο ελαιόλαδο μπορεί να είναι θετική ή/και αρνητική. Αυτό αποδίδεται τόσο στην ποιότητα του ελαιολάδου, όσο και στη χημική σύσταση, την ποσότητα, την κατάσταση (φρέσκος ή αποξηραμένος, κονιοποιημένος ή ολόκληρος) και τις συνθήκες αποθήκευσης του εμπλουτιστικού παράγοντα. Επίσης, εξαρτάται από τη μέθοδο που θα χρησιμοποιηθεί για τον εμπλουτισμό, τις πειραματικές συνθήκες αυτής (π.χ. χρόνος και θερμοκρασία), καθώς και τις διεξαγόμενες αναλύσεις (Lamas et al., 2022; Reboredo-Rodríguez et al., 2017).

Τα πλεονεκτήματα του εμπλουτισμού ταυτίζονται με το σκοπό του, δηλαδή την ενίσχυση της χημικής σύστασης και του οργανοληπτικού προφίλ του ελαιολάδου. Ως διαδικασία, γενικά, εντείνει τα υπάρχοντα ή/και προσδίδει νέα αρώματα και γεύσεις, καλύπτοντας την αναζήτηση των καταναλωτών για νέες οργανοληπτικές αισθήσεις. Επιπρόσθετα, στην περίπτωση που συστατικά του ελαιολάδου όπως οι τοκοφερόλες, οι φαινολικές ενώσεις κ.ά. αυξηθούν λόγω του εμπλουτισμού, τότε ενισχύεται η διατροφική αξία και η διάρκεια ζωής του προϊόντος στο ράφι (Lamas et al., 2022; Sousa et al., 2015; Perestrelo et al., 2017).

Όσον αφορά τα μειονεκτήματα του εμπλουτισμού, ένα που παρουσιάζει ιδιαίτερο ενδιαφέρον είναι η πραγματοποίηση του με σκοπό την αλλαγή της εμπορικής ταξινόμησης του ελαιολάδου. Για παράδειγμα, ένα ελαιόλαδο που παρουσιάζει χημική

ποιότητα παρόμοια με αυτή του εξαιρετικού παρθένου ή του παρθένου μπορεί, λόγω οργανοληπτικής αξιολόγησης, να ταξινομηθεί ως λαμπάντε. Όμως, μέσω του εμπλουτισμού η ένταση των οργανοληπτικών του ελαττωμάτων μπορεί να καλυφθεί και έτσι αυτό να εμπορευματοποιηθεί ως εμπλουτισμένο ή παρθένο (Lamas et al., 2022). Άλλο μειονέκτημα αποτελεί ο υπερ-εμπλουτισμός λόγω προσθήκης μεγάλης συγκέντρωσης εμπλουτιστικού παράγοντα, η οποία καλύπτει πλήρως τη συνηθισμένη και εκτιμώμενη γεύση του ελαιολάδου και το καθιστά δυσάρεστο για τους καταναλωτές. Επιπλέον, υπάρχουν παράγοντες εμπλουτισμού που προάγουν μία προ-οξειδωτική δράση, με αποτέλεσμα τη μείωση της οξειδωτικής σταθερότητας του προϊόντος. Τέλος, ο παράγοντας που θα χρησιμοποιηθεί για τον εμπλουτισμό μπορεί να φέρει μικροοργανισμούς όπως μούχλα, ζυμομύκητες, βακτήρια, καθώς και βαρέα μέταλλα, τα οποία θα μεταφερθούν στο ελαιόλαδο (Lamas et al., 2022; Sousa et al., 2015).

## **2.4 Μέθοδοι εμπλουτισμού**

Υπάρχουν διάφορες μέθοδοι που χρησιμοποιούνται στην ελαιοποίηση με σκοπό τη διάχυση των βιοδραστικών και πτητικών ενώσεων των εμπλουτιστικών παραγόντων στο ελαιόλαδο. Σύμφωνα με τους Clodoneo et al. (2016), για την επιλογή της κατάλληλης μεθόδου λαμβάνονται υπόψη τα χημικά χαρακτηριστικά, το φαινολικό περιεχόμενο, καθώς και η αντιριζική δράση που είναι επιθυμητά για το τελικό προϊόν. Οι μέθοδοι εμπλουτισμού είναι, κυρίως, τριών ειδών: με επαφή, με συνεκχύλιση και με προσθήκη αιθέριων ελαίων (Lamas et al., 2022).

### **2.4.1 Μέθοδος με επαφή**

Η μέθοδος αυτή είναι η πιο κοινή και παραδοσιακή, που πραγματοποιούνται για ιδιωτική χρήση (Lamas et al., 2022; Issaoui et al., 2011). Πραγματοποιείται με την απ'ευθείας προσθήκη αρωματικών φυτών, μπαχαρικών, φρούτων ή άλλων παραγόντων στο ελαιόλαδο, τα οποία αφήνονται σε επαφή με αυτό για μεγάλο χρονικό διάστημα. Οι εμπλουτιστικοί παράγοντες προστίθενται είτε ως ολόκληρα μέρη της φυτικής ύλης είτε κονιοποιημένοι, σε φρέσκια ή αποξηραμένη μορφή. Έπειτα, το τελικό προϊόν τοποθετείται σε σκοτεινό αποθηκευτικό χώρο σε θερμοκρασία δωματίου, ώστε οι ενώσεις των εμπλουτιστικών παραγόντων να εκχυλίζονται σταδιακά και ανακινείται

κατά περιόδους, με τελικό και προαιρετικό στάδιο τη διήθησή του (Caporaso et al., 2013; Lamas et al., 2022). Σύμφωνα με πρόσφατες έρευνες, η μέθοδος με επαφή θεωρείται ως η λιγότερο προτιμητέα, καθώς είναι χρονοβόρα και παρουσιάζει ουδέτερη επίδραση στη χημική σύσταση του ελαιολάδου (Clodoveo et al., 2016). Σε βιομηχανικό επίπεδο, ωστόσο, εφαρμόζονται οι παρακάτω τεχνικές, με τις οποίες αντιμετωπίζονται τα παραπάνω αυτά μειονεκτήματα:

1. **Εκχύλιση με θέρμανση:** Μετά την προσθήκη του παράγοντα εμπλουτισμού, το ελαιολάδο οδηγείται σε υδατόλουτρο, θερμαίνεται σε θερμοκρασία 100 °C για 5 λεπτά και αποθηκεύεται για μερικές ώρες ή όλο το βράδυ, ώστε να ψυχθεί. Με τη θέρμανση επιταχύνεται η διαδικασία της εκχύλισης και άρα μειώνεται ο χρόνος του εμπλουτισμού (Kishimoto & Kashiwagi, 2020; Gruschow, 2020).
2. **Εκχύλιση με υπερήχους:** Το μίγμα του ελαιολάδου και του παράγοντα εμπλουτισμού τοποθετείται σε συσκευή υπερήχων η οποία εκπέμπει ηχητικά κύματα συχνοτήτων από 20-100 kHz, δηλαδή συχνοτήτων πέρα από την ανθρώπινη ακοή (Clodoveo et al., 2016; Assami et al., 2015; Azmir et al., 2013). Η διάρκεια επίδρασης των υπερήχων κυμαίνεται από μερικά λεπτά έως και κάποιες ώρες. Κατ'αυτό τον τρόπο, προκαλείται διάρρηξη του κυτταρικού τοιχώματος των φυτικών κυττάρων του παράγοντα λόγω της αυξημένης πίεσης και θερμοκρασίας, καθώς και των επιδράσεων ακουστικής σπηλαιώσης που εντοπίζονται κοντά στο κυτταρικό τοίχωμα. Η διάρρηξη έχει ως συνέπεια την πιο επιτυχημένη εκχύλιση των συστατικών του παράγοντα στη μάζα του ελαιολάδου (Azmir et al., 2013).
3. **Εκχύλιση με μικροκύματα:** Το μίγμα του ελαιολάδου και του εμπλουτιστικού παράγοντα τοποθετείται σε δοχείο κατάλληλο για μικροκύματα και εφαρμόζεται κυμαινόμενη ισχύς (90 έως 500 W) με κατάλληλο συνδυασμό χρόνων, ώστε να αποφευχθεί η παρατεταμένη θέρμανση. Ύστερα, το τελικό προϊόν ψύχεται στους 4 °C και τοποθετείται σε σκουρόχρωμες φιάλες. Η συγκεκριμένη τεχνική βοηθάει στη διάρρηξη της μεμβράνης του φυτικού κυττάρου του παράγοντα, με αποτέλεσμα την επιτάχυνση της διαδικασίας του εμπλουτισμού (Benmoussa et al., 2016).

## 2.4.2 Μέθοδος συνεκχύλισης

Σε αυτή τη μέθοδο ο παράγοντας εμπλουτισμού προστίθεται κατά τη έκθλιψη των πλυμένων ελαιόκαρπων είτε μαζί με αυτούς, είτε κατευθείαν στο σπαστήρα που παράγεται η ελαιοζύμη (Marx, 2023). Στη συνέχεια, μπορεί να εφαρμόζονται υπέρηχοι οι οποίοι λειτουργούν ως στάδιο προθέρμανσης της ελαιοζύμης, με σκοπό τη μείωση του χρόνου μάλαξης, αλλά και την καλύτερη εκχύλιση των βιοδραστικών ενώσεων του παράγοντα εμπλουτισμού (Clodoveo et al., 2016). Κατά τη διάρκεια της μάλαξης, η επιφάνεια επαφής μεταξύ των μικρών σταγονιδίων ελαιολάδου, που συσσωματώνονται, και του εμπλουτιστικού παράγοντα είναι μεγάλη, διευκολύνοντας την ενσωμάτωση των ενώσεων του παράγοντα στο ελαιόλαδο που θα εκχυλιστεί. Η διαδικασία παραλαβής του εμπλουτισμένου ελαιολάδου είναι ίδια με αυτή που ακολουθείται για τα παρθένα (Lamas et al., 2022).

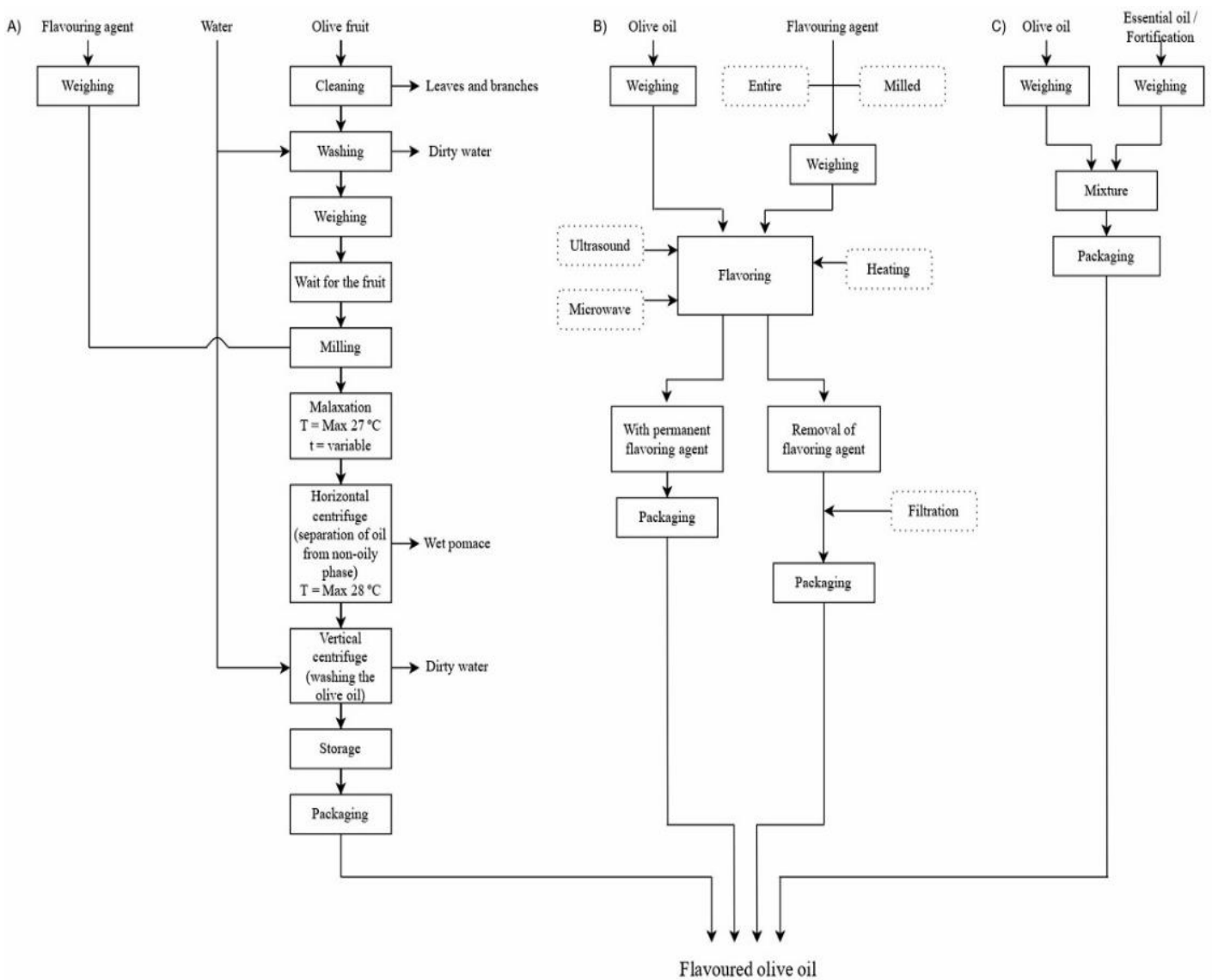
Σημαντικά πλεονεκτήματα της χρήσης υπέρηχων στη μέθοδο αυτή είναι η βελτιστοποίηση της συνολικής διαδικασίας του εμπλουτισμού, διευκολύνοντας τη διάχυση τόσο των πτητικών όσο και των φαινολικών ενώσεων των παραγόντων, καθώς και η θετική επίδραση στη χημική σύσταση του τελικού προϊόντος, αυξάνοντας το φαινολικό περιεχόμενο και την αντιριζική του δράση. Μάλιστα, η αύξηση των φαινολικών αποδίδεται, εν μέρει, στην αναστολή της πολυφαινυλοξειδάσης, η οποία ευθύνεται για την απώλειά τους στο ελαιόλαδο κατά τις συνήθεις συνθήκες μάλαξης (Clodoveo et al., 2016).

Συνολικά, η μέθοδος συνεκχύλισης είναι μία αποτελεσματική και οικονομικά επωφελής μέθοδος (Marx, 2023), στην οποία δεν πραγματοποιείται το τελικό στάδιο της διήθησης που, συνήθως, γίνεται στη μέθοδο με επαφή (Clodoveo et al., 2016). Αυτό συμβαίνει, διότι τόσο τα στερεά όσο και τα υγρά υπολείμματα του παράγοντα εμπλουτισμού απομακρύνονται μαζί με τα αντίστοιχα του ελαιόκαρπου κατά το στάδιο της φυγοκέντρισης (Baiano et al., 2010). Σε συνδυασμό με τους υπέρηχους, η μέθοδος αυτή παρουσιάζει υψηλές αποδόσεις σε εμπλουτισμένο ελαιόλαδο και σημαντική μείωση του χρόνου εμπλουτισμού (Clodoveo et al., 2016).

## 2.4.3 Μέθοδος με προσθήκη αιθέριων ελαίων

Στη μέθοδο αυτή χρησιμοποιούνται υψηλής καθαρότητας αιθέρια έλαια από αρωματικά φυτά, μπαχαρικά, φρούτα ή άλλους παράγοντες, τα οποία προστίθενται σε

ελεγχόμενες ποσότητες (π.χ. 0,05% w/w) στο ελαιόλαδο και αναμειγνύονται με αυτό (Lamas et al., 2022; Asensio et al., 2011). Τα αιθέρια έλαια μπορούν να ληφθούν με διάφορες μεθόδους όπως απόσταξη με νερό ή ατμό, εκχύλιση με οργανικό διαλύτη (π.χ. μεθανόλη) κ.ά. (Lamas et al., 2022; Baiano et al., 2010) και παρουσιάζουν σημαντική αντιοξειδωτική δράση, αυξάνοντας την οξειδωτική σταθερότητα του εμπλουτισμένου ελαιολάδου και προστατεύοντάς το κατά την έκθεση σε υψηλές θερμοκρασίες και ατμοσφαιρικό οξυγόνο (Lamas et al., 2022).



**Εικόνα 2.4.** Σχηματική αναπαράσταση των διαφορετικών μεθόδων εμπλουτισμού: Α) μέθοδος συνεκχύλισης, Β) μέθοδος με επαφή, C) μέθοδος με προσθήκη αιθέριων ελαίων (Lamas et al., 2022).

## 2.5 Εμπλουτιστικοί παράγοντες

Μια ευρεία ποικιλία εμπλουτιστικών παραγόντων είναι διαθέσιμη στην αγορά, ανάλογα με το χημικό και οργανοληπτικό προφίλ που επιθυμείται να διαμορφωθεί στο τελικό προϊόν. Οι συνηθέστερα χρησιμοποιούμενοι παράγοντες εμπλουτισμού διακρίνονται, κατά κύριο λόγο, στις εξής τέσσερις κατηγορίες (Lamas et al., 2022):

1. **Αρωματικά φυτά ή βότανα (φύλλα ή ολόκληρα υπέργεια μέρη)**, όπως η ρίγανη (Sousa et al., 2015), το δεντρολίβανο, ο βασιλικός (Soares et al., 2020), το θυμάρι (Lamas et al., 2022; Clodoveo et al., 2016), η ματζουράνα, το φασκόμηλο, η μέντα (Ayadi et al., 2009) κ.ά.,
2. **Μπαχαρικά**, όπως το σκόρδο (Kishimoto & Kashiwagi, 2020), η πιπεριά chili, το μπαχάρι (Sousa et al., 2015), η κανέλα (Rodrigues et al., 2021), το κύμινο (Assami et al., 2015), το κάρδαμο (Trabelsi et al., 2019) κ.ά.,
3. **Φρούτα (ως ξύσμα από τη φλούδα, ολόκληρα ή τεμαγισμένα)**, όπως το λεμόνι (Sacchi et al., 2017; Issaoui et al., 2011), το πορτοκάλι (Lamas et al., 2022), η φράουλα (Roascio-Albistur et al., 2019) κ.ά., και
4. **Άλλοι παράγοντες**, όπως τα λαχανικά (π.χ. καρότο) (Lamas et al., 2022; Yamani et al., 2020), οι ξηροί καρποί (ολόκληροι ή κονιοποιημένοι, π.χ. φιστίκι, φουντούκι) (González-Gamallo et al., 2021), τα απόβλητα των ελαιουργείων (π.χ. ελαιοζύμη, φύλλα ελαιόδεντρων, λύματα ελαιόμυλου) (Franco Pérez et al., 2018; Marx, 2023; Lamas et al., 2022), το τζίντζερ (Talib et al., 2020), η κάνναβη, η σοκολάτα (Lamas et al., 2022) κ.ά.

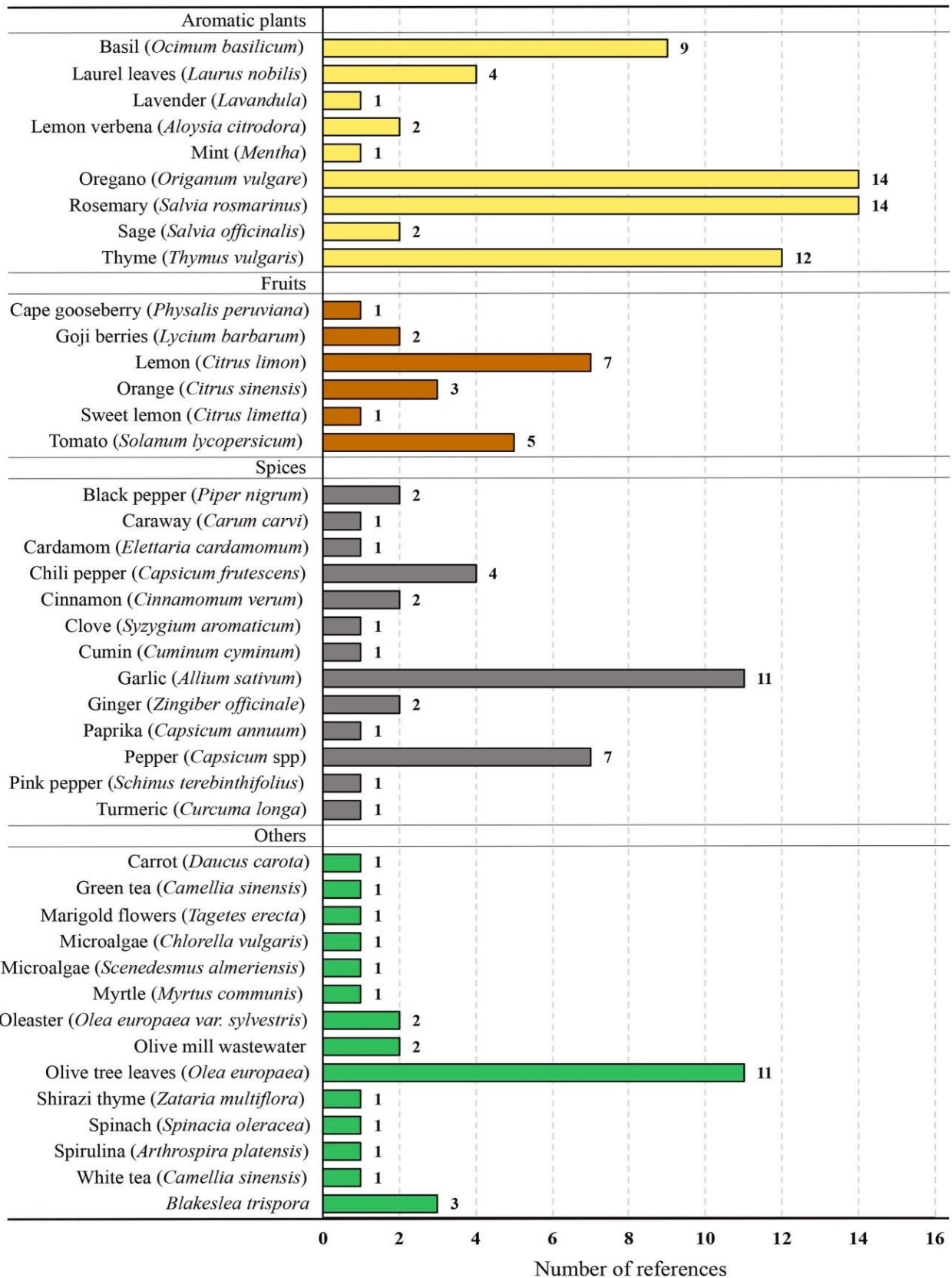


Εικόνα 2.5. Εμπορικά διαθέσιμα ελαιόλαδα, εμπλουτισμένα με έναν παράγοντα από κάθε κατηγορία.

Αυτά είναι μόνο μερικά παραδείγματα εμπλουτιστικών παραγόντων, ενώ στην πραγματικότητα υπάρχει πληθώρα διαφορετικών συνδυασμών. Η κατάσταση και η ποιότητα του παράγοντα εμπλουτισμού επιδρά σημαντικά στη γεύση και το άρωμα του τελικού προϊόντος. Για το λόγο αυτό, τα βότανα που πρόκειται να χρησιμοποιηθούν για εμπλουτισμό καλό είναι να μην έχουν ραντιστεί με φυτοφάρμακα και να καλλιεργούνται σε περιοχές όπου προστατεύονται από περιβαλλοντικούς ρύπους και επιμολύνσεις. Αντίστοιχα, τα νωπά φρούτα και λαχανικά πρέπει να είναι ώριμα, ακέραια και κατά το δυνατόν απαλλαγμένα από διαρρήξεις φλοιού, σήψη ή άλλες αλλοιώσεις. Τέλος, όσον αφορά τα μπαχαρικά, συστήνεται η χρήση ολόκληρων των κόκκων έναντι των κονιοποιημένων, ώστε να επιτευχθεί εντονότερο άρωμα και γεύση στο εμπλουτισμένο ελαιόλαδο. Η πρόταση αυτή προέρχεται από το γεγονός ότι κατά την άλεση πολλές πτητικές ενώσεις του παράγοντα διαχέονται, συμβάλλοντας στην απώλεια της έντασης του αρώματος του (Φραγκιαδάκης, 2021).

Όπως φαίνεται στο Διάγραμμα 2.5, οι πιο ευρέως χρησιμοποιούμενοι εμπλουτιστικοί παράγοντες ανήκουν στην κατηγορία των αρωματικών φυτών ή βοτάνων (42% των μελετώμενων αναφορών), καθώς αρκετοί ερευνητές έχουν ασχοληθεί με την προσθήκη ρίγανης, δεντρολίβανου και θυμαριού σε ελαιόλαδο, χρησιμοποιώντας είτε το αιθέριο έλαιο τους είτε διάφορα μέρη τους. Η διαδεδομένη χρήση των αρωματικών φυτών μπορεί να αποδοθεί σε ποικίλους παράγοντες, όπως η ευρεία γκάμα τους σε γεύσεις και αρώματα, η μεγάλη τους διαθεσιμότητα, η χαμηλή τους τιμή και η ευκολία στη χρήση τους. Όπως έχει ήδη αναφερθεί και στο υποκεφάλαιο 2.2 τα αρωματικά φυτά ακολουθούνται, ως προς τη χρήση για εμπλουτισμό, από τα μπαχαρικά (24% των μελετώμενων αναφορών), ύστερα από άλλους παράγοντες (19%) και τέλος από τα φρούτα (14%) (Lamas et al., 2022).





**Διάγραμμα 2.5.** Συχνότητα χρήσης διάφορων μέσων εμπλουτισμού σε βιβλιογραφικές αναφορές (1996-2022) (Lamas et al., 2022).

## Κεφάλαιο 3. Ματζουράνα

### 3.1 Γενικά

Η ματζουράνα (*Origanum majorana* L.) είναι αρωματικό φυτό της οικογένειας των Χειλανθών (*Lamiaceae* ή *Labiatae*), γνωστή ήδη από τα αρχαία χρόνια για τις θεραπευτικές της ιδιότητες. Είναι ένα ποώδες και πολυετές ή διετές (ανάλογα με το είδος του) φυτό, γηγενές της Ελλάδας, της Κύπρου, της Τουρκίας, της Ισπανίας και των χωρών της Βόρειας Αφρικής (Λιακοπούλου, 2017). Ανήκει στο γένος *Origanum*, όπως και η ρίγανη (*Origanum vulgare* L.), και γι'αυτό παρουσιάζουν βοτανική συγγένεια.

Ωστόσο, εμφανίζουν ορισμένες διαφορές στη μορφολογία, το άρωμα, τη γεύση κ.ά. (Κουτσός, 2019). Το άρωμα της ματζουράνας περιγράφεται ως γλυκό, ευχάριστα αρωματικό, ενώ η γεύση της χαρακτηρίζεται ως ημιποώδης με πικρή, ελαφρώς πικάντικη και καμφορώδη (Baranauskienė et al., 2005). Σε ύψος δεν ξεπερνά το μισό μέτρο, φέροντας κατακόρυφα, πολυδιακλαδιζόμενα στελέχη. Τα άνθη της είναι ερμαφρόδιτα, δηλαδή είτε αναπτύσσουν αρσενικά μέρη (στήμονες) που είναι υποπλασμένα

και άγονα είτε λειτουργούν ως θηλυκά. Η περίοδος ανθοφορίας της ματζουράνας ξεκινά στα τέλη του καλοκαιριού και αναπτύσσει ροζ ή λευκά άνθη. Τα φύλλα της είναι μικρά, σχεδόν στρογγυλά (καρδιόσχημα), γκριζοπράσινα και καλύπτονται από αδενώδεις τρίχες, απ'όπου εκκρίνεται αιθέριο έλαιο με έντονη αρωματική οσμή (Λιακοπούλου, 2017). Κλιματολογικά, η ματζουράνα ευδοκμεί σε θερμές και ηλιόλουστες θέσεις, ειδικά σε βραχώδη και ασβεστολιθικά εδάφη χαμηλής υγρασίας (De Martino et al., 2009). Παρ'όλα αυτά, καλλιεργείται και σε θερμοκήπια εύκρατων χωρών όπως της Γαλλίας, της Γερμανίας, της Ουγγαρίας και της Ολλανδίας (Baâtour et al., 2012), αλλά οι αποδόσεις σε σοδειά και αιθέριο έλαιο είναι μικρότερες. Το νερό που χρησιμοποιείται για την άρδευση της πρέπει να είναι συγκεκριμένης αλατότητας μέχρι 2000 ppm, διαφορετικά, σε μεγαλύτερες συγκεντρώσεις (4000-6000 ppm), προκαλούνται δυσμενείς επιπτώσεις ως προς την ανάπτυξη της (Shalan et al., 2006).



**Εικόνα 3.1.** Οι σπές (πόροι) στο φύλλωμα της ματζουράνας, απ' όπου ξεπροβάλλουν οι αδενώδεις τρίχες και εκκρίνεται το αιθέριο έλαιο  
(Πηγή: <https://docplayer.gr/42519204-Oikogeneia-lamiaceae-i-labiatae-heilanthi.html>).

Ο όρος «ματζουράνα» χρησιμοποιείται για να περιγραφούν δύο κατηγορίες φυτών της οικογένειας *Lamiaceae*, για τα οποία χρησιμοποιούνται τα ακόλουθα εμπειρικά ονόματα:

1. **«Γλυκιά ματζουράνα» (sweet marjoram):** σύνολο υποειδών του είδους *O. majorana* που ενδημούν σε διαφορετικές γεωγραφικές περιοχές. Αυτά είναι τα *Majorana hortensis* Moench, *Origanum onites* L. (Κάρπαθος, Ρόδος), *Origanum majorana* L. var. *tenuijolium* Weston (Κύπρος) και *Origanum dubium* Boiss (Πάφος της Κύπρου, Νάξος, Νότια Τουρκία) (Arnold et al., 1993; Baâtour et al., 2012).
2. **«Ισπανική ματζουράνα» (*Thymus mastichina* L.):** φυτά διαφορετικού γένους που, ωστόσο, διαθέτουν παρόμοια χημική σύσταση με το είδος *O. majorana*. Η «ισπανική ματζουράνα» φυτρώνει σε δάση της Ισπανίας και της Πορτογαλίας και έχει πιο δριμύ άρωμα από τη «γλυκιά» που θυμίζει ευκάλυπτο, λόγω της υψηλής συγκέντρωσης σε ευκαλυπτόλη (1,8-σινεόλη) (Kraśniewska et al., 2020).

### 3.2 Χημική σύσταση

Γενικά, η χημική σύσταση των αρωματικών φυτών εξετάζεται μέσω του αιθέριου ελαίου τους το οποίο, συνήθως, παραλαμβάνεται με απόσταξη. Τα αιθέρια έλαια είναι σύνθετα μίγματα, αποτελούμενα από πτητικές, συνήθως αρωματικές και άχρωμες ενώσεις, αδιάλυτες στο νερό και διαλυτές σε οργανικούς διαλύτες. Σε υψηλότερες συγκεντρώσεις παραλαμβάνονται από τα αναπαραγωγικά όργανα και τα νεαρά φύλλα του φυτού, συνιστώντας το 0,5-4% (v/w) του συνολικού του βάρους. Σύμφωνα, όμως, με τους Arnold et al. (1993), τα άνθη είναι τα πιο πλούσια σε αιθέριο έλαιο: 12,8% στο *O. majorana* var. *tenujolium*, 10,3% στο *O. dubium* και 4,4% στο *O. onites*. Κύρια συστατικά των αιθέριων ελαίων της οικογένειας των Χειλανθών είναι τα πτητικά τερπένια τα οποία διακρίνονται σε μονοτερπένια και σесκιτερπένια, οξυγονωμένα, υδρογονανθρακικά και αλκοολικά. Σε υψηλότερες περιεκτικότητες απαντώνται τα υδρογονανθρακικά και τα οξυγονωμένα μονοτερπένια (42,1%), ενώ σε μικρότερες τα οξυγονωμένα σесκιτερπένια. Επίσης, στα αιθέρια έλαια περιέχονται και παράγωγα των μονοτερπενίων, όπως εστέρες και αλκοόλες (24,3%). Τα μονοτερπένια και τα σесκιτερπένια είναι oligομερή του ισοπρενίου με μοριακό τύπο  $(C_5H_8)_n$ , ο οποίος για

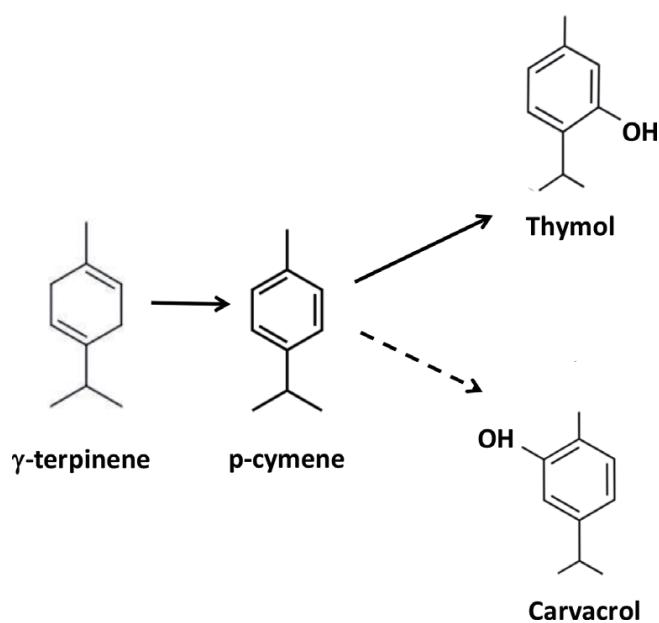
n = 2 αντιστοιχεί σε αυτόν των μονοτερπενίων ενώ για n = 3 σε αυτόν των σεσκιτερπενίων (Daferera et al., 2000; Kakouri et al., 2022).

Το αιθέριο έλαιο της *O. majorana* περιλαμβάνει και φαινολικές ενώσεις, οι οποίες διακρίνονται σε φαινόλες (14,2%), φαινολικά οξέα και φλαβονοειδή. Από εκχυλίσσεις των φύλλων της ματζουράνας, το φαινολικό της περιεχόμενο κυμαινόταν από 2,706 έως 6,834 mg/g ξηρού βάρους, καταγράφοντας την υψηλότερη συγκέντρωση στο τελικό στάδιο ανάπτυξης. Οι Sellami et al. (2009) απέδειξαν ότι τα φαινολικά οξέα κυριαρχούν κατά το πρώιμο στάδιο ανάπτυξης του φυτού, ενώ τα φλαβονοειδή στα υπόλοιπα. Λίγο πριν το τέλος της ανάπτυξης το φυτό συσσωρεύει φαινολικά, ώστε να προετοιμαστεί για τη λιγνοποίηση και να επιβραδυνθεί η ανάπτυξη του. Αφότου ολοκληρωθεί το στάδιο αυτό, προετοιμάζεται για ανθοφορία. Επιπρόσθετα, είναι γνωστή η συμμετοχή των φλαβονοειδών και των φαινολικών οξέων στους μηχανισμούς άμυνας του φυτού. Τέλος, η θυμόλη είναι, μαζί με την καρβακρόλη, υπεύθυνη για το φαινολικό χαρακτήρα του αιθέριου ελαίου, αν και εντοπίζονται σε μικρότερες συγκεντρώσεις (Sellami et al., 2009).

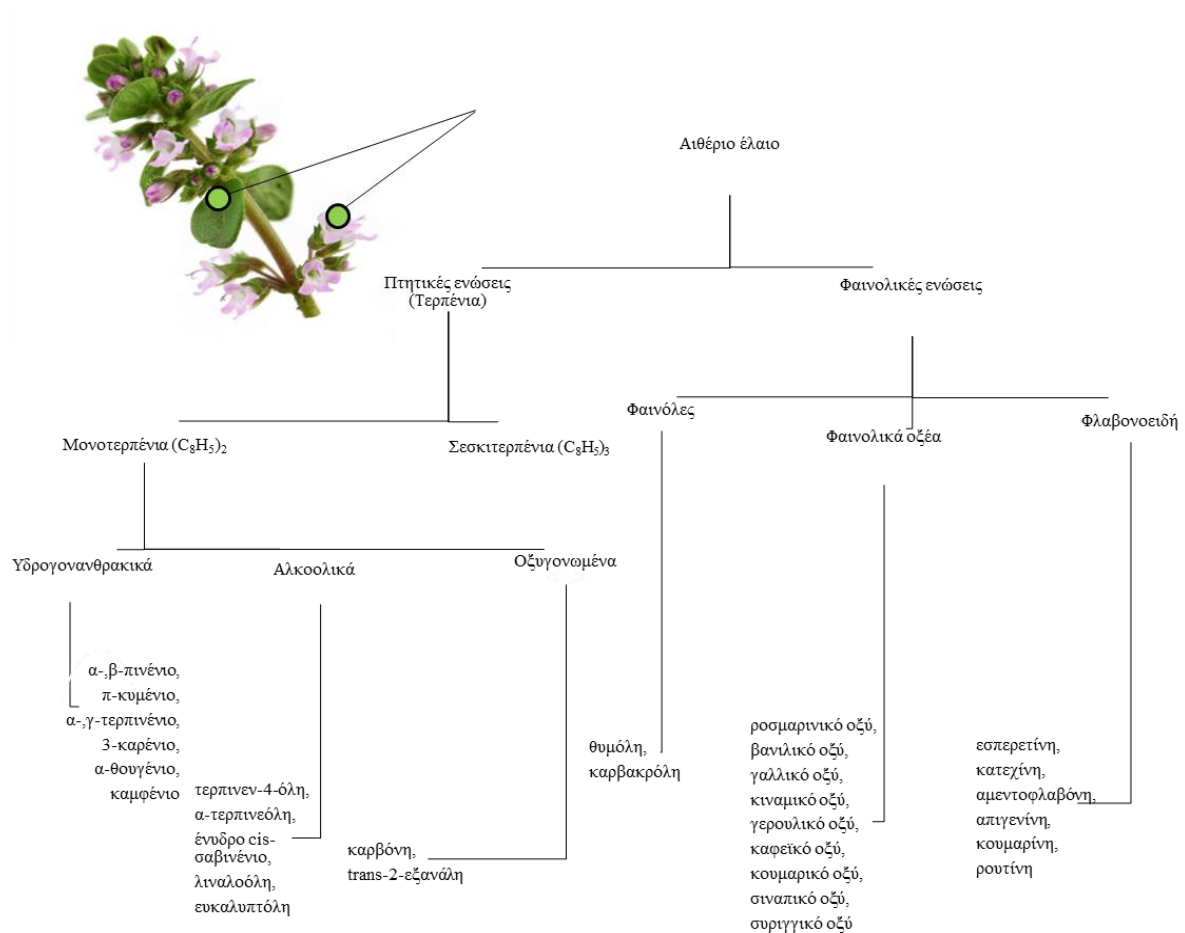
Βάσει βιβλιογραφικών δεδομένων, υπάρχουν τρεις διαφορετικοί χημειότυποι του είδους *O. majorana* L., οι οποίοι προκύπτουν λόγω γενετικών διαφορών από περιοχή σε περιοχή. Η γενετική αυτή ποικιλομορφία οδηγεί, αναπόφευκτα, σε διαφορές στη χημική σύσταση του αιθέριου ελαίου. Οι τρεις χημειότυποι διακρίνονται με βάση τις ομοιότητες ή διαφορές στη βιοσύνθεση ενός πλήθους ενώσεων και όχι στην ύπαρξη ή απουσία μιας ένωσης (Charai et al., 1996). Οι Fischer et al. (1987), αλλά και οι Komaitis et al. (1992) εντόπισαν τον πρώτο χημειότυπο με επικρατέστερο το αλκοολικό μονοτερπένιο 4-τερπινενόλη σε ποσοστό 37,1% και 4–46% v/w, αντίστοιχα. Το μονοτερπένιο αυτό συνηθίζεται να συνυπάρχει με το ένυδρο cis-σαβινένιο, καθώς τα δυο τους ευθύνονται για το οργανοληπτικό προφίλ της ματζουράνας. Στην προαναφερόμενη έρευνα των Fischer et al. (1987) βρέθηκε ότι το ένυδρο cis-σαβινένιο κυμαίνεται σε ποσοστό από 0,5–37% του συνολικού ελαίου. Τα υποείδη που ευδοκιμούν στην Ελλάδα, την Κύπρο (*O. majorana* var. *tenuijolium*), το Μαρόκο και την Τυνησία αντιστοιχούν στον εν λόγω χημειότυπο (Başer et al., 1993; Vera & Chane-Ming, 1999; Vági et al., 2004). Στη συνέχεια, οι Daferera et al. (2000) περιγράφουν έναν χημειότυπο με κύρια ένωση τη θυμόλη σε ποσοστό 14,0%, με καρβακρόλη 0,2%, 3-καρένιο 10,4%, 2-καρένιο 7,8%, 4-τερπινενόλη 7,8% και ένυδρο cis-σαβινένιο 6,0%. Σε γενικές γραμμές, η καρβακρόλη είναι πάντα παρούσα στο έλαιο που

παραλαμβάνεται από διάφορα όργανα της *O. majorana*, αν και σε μικρές περιεκτικότητες. Τέλος, έχει ταυτοποιηθεί και τρίτος χημειότυπος με υψηλή περιεκτικότητα σε καρβακρόλη (74,8% v/w). Μάλιστα, ο συγκεκριμένος χημειότυπος συναντάται περισσότερο στην Τουρκία από την οποία παραλαμβάνεται και έλαιο πλούσιο σε καρβακρόλη (78,3-79,5%) (Başer et al., 1993; Daferera et al., 2000; Vági et al., 2004), ενώ σε έρευνες με ματζουράνα από την Κούβα ανιχνεύθηκε υψηλή περιεκτικότητα σε θυμόλη (11,55%) (Pino et al., 1997). Επιπλέον, στον τρίτο χημειότυπο ανήκουν τα υποείδη *O. dubium* και *O. onites* με ποσοστό καρβακρόλης 81,0% και 81,6%, αντίστοιχα (Başer et al., 1993; Daferera et al., 2000; Vági et al., 2004).

Τα φύλλα της ματζουράνας συνίστανται από φυτικές ίνες σε ποσοστό 40% w/w, ενώ είναι πλούσια πηγή βιταμινών A, C και K καθώς και ιχνοστοιχείων Ca, K, P και Fe (Nutrient Optimiser, χ.η.).



**Εικόνα 3.2.1.** Παραγωγή θυμόλης και καρβακρόλης από τις πρόδρομες ενώσεις γ-τερπινένιο και π-κυμένιο (Πηγή: [https://www.researchgate.net/figure/Thymol-and-carvacrol-chemical-structure-and-their-precursors\\_fig2\\_337362400](https://www.researchgate.net/figure/Thymol-and-carvacrol-chemical-structure-and-their-precursors_fig2_337362400)).



**Εικόνα 3.2.2.** Κάποια από τα συστατικά του αιθέριου ελαίου της ματζουράνας από κάθε κατηγορία (Sellami et al., 2009; Bina & Rahimi, 2016; Kakouri et al., 2022; Şarer et al., 1982).

### 3.3 Βιολογική δράση και παρενέργειες

Όπως έχει ήδη αναφερθεί τα φυτά της οικογένειας των Χειλανθών είναι αρωματικά, δηλαδή παράγουν και αναδίδουν από διάφορα όργανα τους (π.χ. φύλλα, άνθη κ.ά.) αρωματικές ουσίες, οι οποίες χρησιμοποιούνται ευρέως στην φαρμακοποιία και τη μαγειρική. Οι ουσίες αυτές βιοσυντίθενται, ακολουθώντας κοινές μεταβολικές οδούς και παρουσιάζουν κοινό πρωτογενή και δευτερογενή μεταβολισμό. Για το λόγο αυτό, είναι γνωστές και ως δευτερογενείς μεταβολίτες. Το αιθέριο έλαιο της ματζουράνας, στο οποίο οφείλεται το χαρακτηριστικό της άρωμα, περιέχει πολυάριθμους δευτερογενείς μεταβολίτες με ποικίλη βιολογική δράση (Kakouri et al., 2022; Daferera et al., 2000). Στον Πίνακα 3.3 παρουσιάζονται οι πιο συνήθεις βιολογικές δράσεις του αιθέριου ελαίου της ματζουράνας.

**Πίνακας 3.3.** Επίδραση των συστατικών του αιθέριου ελαίου της *Origanum majorana* L. στην ανθρώπινη υγεία

	Αντιμικροβιακή	Αντιοξειδωτική	Αντιφλεγμονώδης (πεπτικό, αναπνευστικό σύστημα)	Αντικαρκινική	Καταπραϋντική/ Διεγερτική/ (μυοσκελετικό, νευρικό σύστημα)
<b>Πτητικές ενώσεις</b>	4-τερπινεόλη, ένυδρο cis- σαβινένιο, γ-τερπινένιο και π-κυμένιο  (Daferera et al., 2000, Benmoussa et al., 2016, Kakouri et al., 2022; Bina & Rahimi, 2016; Sivropoulou et al., 1996)	αλκοολικά, οξυγονωμένα και υδρογονανθρακικά μονοτερπένια της Εικόνας 3.2.2  (Benmoussa et al., 2016)	ένυδρο cis- σαβινένιο, λιναλοόλη και α- τερπινεόλη  (Bina & Rahimi, 2016)	-	-
<b>Φαινολικές ενώσεις</b>	ροσμαρινικό οξύ, καρβακρόλη και θυμόλη  (Sivropoulou et al., 1996)	όλες οι φαινολικές ενώσεις της Εικόνας 3.2.2  (Bina & Rahimi, 2016)	ροσμαρινικό οξύ, σιναιπικό οξύ, καφεϊκό οξύ, κουμαρικό οξύ, φερουλικό οξύ, συρινγικό οξύ και εσπερετίνη  (Hossain et al., 2008; Bina & Rahimi, 2016)	φλαβονοειδή και εσπερετίνη  (Bina & Rahimi, 2016)	ροσμαρινικό οξύ και εσπερετίνη  (Bina & Rahimi, 2016)

Η κατανάλωση ματζουράνας είναι ασφαλής σε μικρή ποσότητα για διατροφική χρήση. Παρ'όλα αυτά, μπορεί να προκαλέσει αλλεργικές αντιδράσεις αν δεν λαμβάνεται η απαραίτητη μέριμνα ή αν δεν υπάρχει η ενδεικνύομενη ιατρική παρακολούθηση για τον καθορισμό της δοσολογίας, εφόσον αποτελεί μέρος κάποιας θεραπείας. Άλλες παρενέργειες είναι η υπογλυκαιμία σε διαβητικά άτομα υπό φαρμακευτική αγωγή, καθώς και η επιδείνωση άσθματος ή εμφυσήματος. Τέλος, η χρήση ματζουράνας δε συνίσταται για εγκύους, θηλάζουσες και παιδιά (Μοσχοβάκη, 2016).

## Κεφάλαιο 4. Πειραματικό μέρος

### 4.1 Σκοπός

Η ματζουράνα είναι ένα αρκετά διαδεδομένο αρωματικό φυτό στις χώρες της Μεσογείου, με ενδιαφέρον χημικό και οργανοληπτικό προφίλ. Ως εκ τούτου, αποτελεί σημαντικό υποψήφιο για χρήση ως παράγοντας εμπλουτισμού του ελαιολάδου. Παρ'όλα αυτά, οι σχετικές με το προαναφερόμενο μελέτες είναι περιορισμένες. Σκοπός, λοιπόν, της εν λόγω πτυχιακής εργασίας ήταν ο εμπλουτισμός εξαιρετικού παρθένου ελαιολάδου με ματζουράνα του είδους *Origanum majorana* L., ώστε να μελετηθεί η επίδραση της στις ποιοτικές παραμέτρους, στο οργανοληπτικό προφίλ, στο ολικό φαινολικό περιεχόμενο, στην αντιριζική και αντιοξειδωτική δράση, καθώς και στην οξειδωτική σταθερότητα του τελικού προϊόντος. Προς υλοποίηση αυτού, πραγματοποιήθηκε εμπλουτισμός ελαιολάδου με δύο διαφορετικές συγκεντρώσεις ματζουράνας με επαφή υπό την επίδραση υπερήχων και διεξάχθηκαν αναλύσεις σε δύο διαφορετικά χρονικά διαστήματα (0 και 14 ημέρες). Οι αναλύσεις περιελάμβαναν τον προσδιορισμό των ποιοτικών παραμέτρων (οξύτητα, συντελεστές ειδικής απόσβεσης  $K_{232}$ ,  $K_{270}$ , ΔΚ, εκτίμηση χρώματος, χλωροφύλλης και β-καροτενίου με τη μέθοδο Lovibond), την ταυτοποίηση και τον προσδιορισμό πτητικών ενώσεων με αέρια χρωματογραφία-φασματομετρία μάζας (GC-MS), την εκτίμηση του ολικού φαινολικού περιεχομένου, της αντιριζικής και της αντιοξειδωτικής δράσης με τις μεθόδους Folin-Ciocalteu, ABTS<sup>•+</sup> και FRAP αντίστοιχα, καθώς και την εκτίμηση της οξειδωτικής σταθερότητας με τη μέθοδο Rancimat.

### 4.2 Πρώτες Ύλες

Το εξαιρετικό παρθένο ελαιόλαδο που χρησιμοποιήθηκε κατά τον εμπλουτισμό παράχθηκε από μονοποικιλιακούς ελαιόκαρπους, ποικιλίας Κορωνέϊκης, με τις εξής συνθήκες ελαιοποίησης: αναλογία αποβλήτων/ελαιοκάρπου 80:20 (w/w), ψυχρή έκθλιψη, παραμονή της ελαιοζύμης στο μαλακτήρα για χρονικό διάστημα 45-60 λεπτών χωρίς την προσθήκη νερού ανά kg ελαιοκάρπου και διαχωρισμός των συστατικών της ελαιοζύμης με διφασικό σύστημα. Από το ελαιόλαδο αυτό



παραλήφθηκαν για χρήση τρεις γυάλινες, άχρωμες φιάλες των 500 mL. Αναφορικά με τον εμπλουτιστικό παράγοντα, χρησιμοποιήθηκαν αποξηραμένα υπέργεια μέρη ματζουράνας του είδους *Origanum majorana* L. Αυτή καλλιεργήθηκε στην περιοχή της Μεγάλης Χώρας, που ανήκει στο Δήμο Αγρινίου του Νομού Αιτωλοακαρνανίας και συλλέχθηκε από την εταιρεία ΑΝΘΗΡ Α.Β.Ε.Ε., η οποία ειδικεύεται στην παραγωγή, επεξεργασία και εμπορία αποξηραμένων αρωματικών και φαρμακευτικών φυτών.

### **4.3 Μέθοδος εμπλουτισμού του ελαιολάδου**

#### **4.3.1 Εργαστηριακός εξοπλισμός**

##### **Δείγματα:**

- 3 άχρωμες, γυάλινες φιάλες των 500 mL με εξαιρετικό παρθένο ελαιόλαδο
- Υπέργεια μέρη ματζουράνας

##### **Υλικά:**

- Ποτήρια ζέσεως των 100 και 600 mL
- Γυάλινο χωνί διαμέτρου 10 cm
- Διηθητικό χαρτί Whatman™

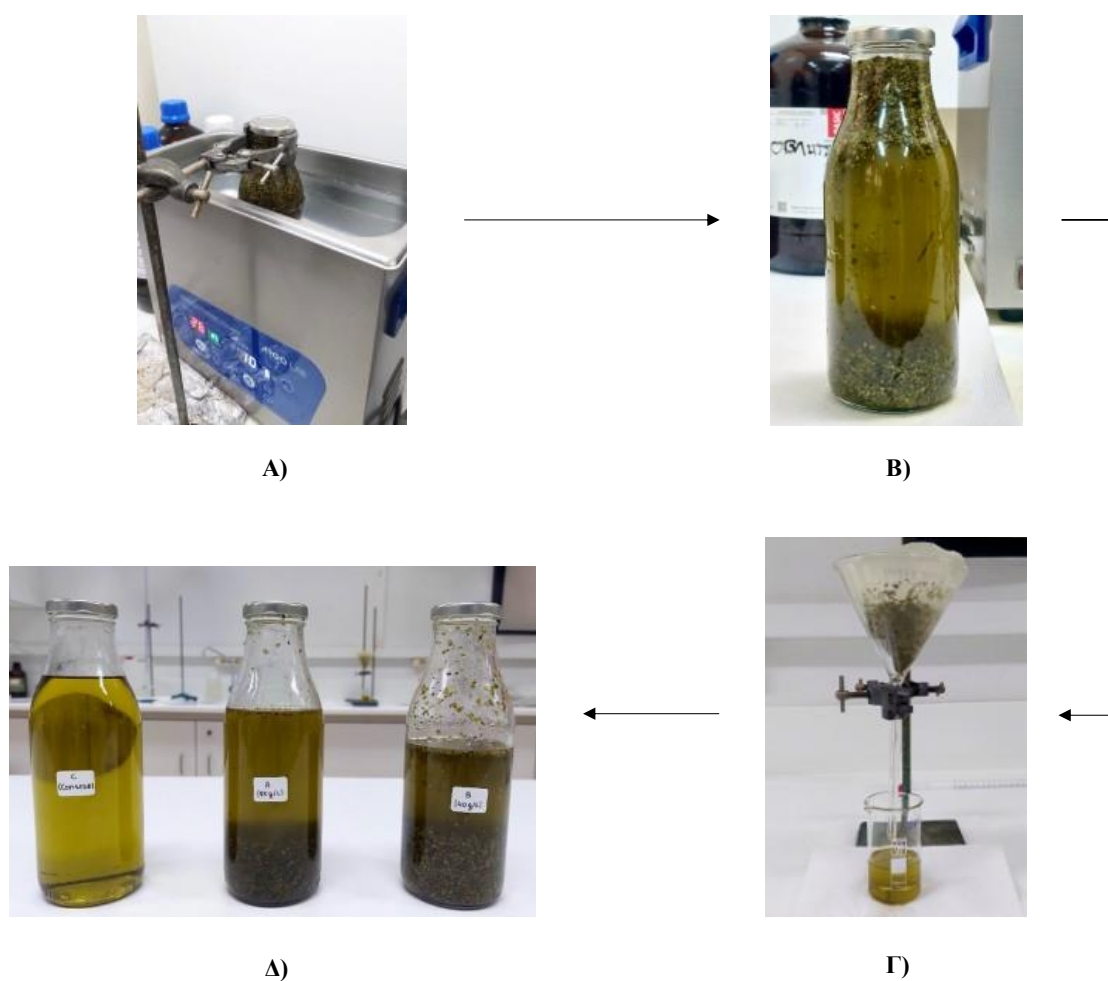
##### **Όργανα:**

- Αναλυτικός ζυγός PCE-BSK310 της PCE Instruments (Manchester, UK)
- Λουτρό υπερήχων DU-65 της ARGO LAB (Carpì, Italy)

#### **4.3.2 Πειραματική πορεία**

Η μέθοδος εμπλουτισμού που επιλέχθηκε ήταν με επαφή, εφαρμόζοντας υπερήχους. Αρχικά, μία από τις φιάλες του ελαιολάδου αποτέλεσε τον μάρτυρα (control) και ονομάστηκε C. Στις άλλες δύο έγινε προσθήκη του εμπλουτιστικού παράγοντα, ζυγίζοντας σε ποτήρια ζέσεως των 600 mL διαφορετικές ποσότητες αυτού, με σκοπό την παραλαβή εμπλουτισμένων ελαιολάδων διαφορετικών συγκεντρώσεων. Πιο συγκεκριμένα, παρασκευάστηκε ένα εμπλουτισμένο ελαιόλαδο συγκέντρωσης 20 g/L,

το οποίο ονομάστηκε A και ένα συγκέντρωσης 40 g/L, το οποίο ονομάστηκε B. Για την εκχύλιση των συστατικών της ματζουράνας σε αυτά χρησιμοποιήθηκε λουτρό υπερήχων, το οποίο συμπληρώθηκε με νερό μέχρι το αναγραφόμενο όριο λειτουργίας και ρυθμίστηκε σε θερμοκρασία 20 °C για χρόνο 15 λεπτών και επίπεδο 5 (P = 180 W). Οι φιάλες των εμπλουτισμένων ελαιολάδων A και B εμβαπτίστηκαν εντός του λουτρού υπερήχων και σταθεροποιήθηκαν με τη βοήθεια στατώ. Μετά το πέρας του σταδίου αυτού, ακολούθησε διήθηση με χρήση χαρτιού Whatman™ και τα διηθήματα συλλέχθηκαν σε ποτήρια ζέσεως των 100 mL. Δείγματα από τη φιάλη C και από τα διηθήματα των A και B αναλύθηκαν σε δύο διαφορετικές χρονικές περιόδους: την ημέρα του εμπλουτισμού (ημέρα 0) και μετά από 14 ημέρες αποθήκευσης σε σκοτεινό και δροσερό χώρο (ημέρα 14). Κατά αντιστοιχία, τα δείγματα ονομάστηκαν C<sub>0</sub>, A<sub>0</sub>, B<sub>0</sub> και C<sub>14</sub>, A<sub>14</sub>, B<sub>14</sub>.

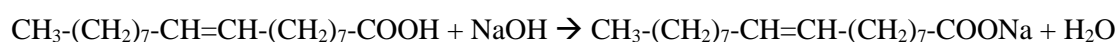


**Εικόνα 4.3.** Διαδικασία εμπλουτισμού εξαιρετικού παρθένου ελαιολάδου με ματζουράνα: Α) Εκχύλιση στο λουτρό υπερήχων, Β) Εμπλουτισμένο ελαιόλαδο μετά την εκχύλιση, Γ) Διήθηση, Δ) Φιάλες C, A και B προς αποθήκευση για 14 ημέρες (Προσωπικά αρχεία).

## 4.4. Μέθοδος προσδιορισμού της οξύτητας

### 4.4.1 Αρχή μεθόδου

Το δείγμα της λιπαρής ύλης διαλύεται σε μίγμα οργανικών διαλυτών και τα περιεχόμενα ελεύθερα λιπαρά οξέα ογκομετρούνται με τη χρήση διαλύματος NaOH (ή KOH) συγκέντρωσης 0,1 M. Η ποσότητα του αλκαλικού διαλύματος που καταναλώνεται αποτελεί μέτρο της οξύτητας της λιπαρής ύλης (COI/T.20/Doc. No 34/Rev.1 2017, 2017).



### 4.4.2 Εργαστηριακός εξοπλισμός

#### Δείγματα-Αντιδραστήρια:

- Δείγματα C, A και B
- Δυαδικό σύστημα διαλυτών αιθανόλης-διαιθυλαιθέρα (1:1, v/v), εξουδετερωμένο από υδατικό διάλυμα NaOH 0,1 M με χρήση δείκτη φαινολοφθαλεΐνης
- Υδατικό διάλυμα υδροξειδίου του νατρίου (NaOH) 0,1 M
- Διάλυμα φαινολοφθαλεΐνης 1% (w/v) σε αιθανόλη (EtOH)

#### Υλικά:

- Κωνικές φιάλες των 250 mL
- Πλαστικές πιπέτες Pasteur των 3 mL
- Ογκομετρικός κύλινδρος των 20 mL (περιείχε το μίγμα αιθανόλης-διαιθυλαιθέρα)
- Προχοΐδα των 50 mL με υποδιαιρέσεις ανά 0,1 mL

#### Όργανα:

- Αναλυτικός ζυγός PCE-BSK310 της PCE Instruments (Manchester, UK)

### 4.4.3 Πειραματική πορεία

Αρχικά, ζυγίστηκαν περίπου 2-3 g δείγματος με τη χρήση πιπέτας μέσα σε κωνική φιάλη και προστέθηκαν σε αυτήν 20 mL εξουδετερωμένου μίγματος αιθανόλης-διαιθυλαιθέρα. Ύστερα, το διάλυμα ογκομετρήθηκε με υδατικό διάλυμα NaOH, χρησιμοποιώντας ως δείκτη φαινολοφθαλεΐνη (3-4 σταγόνες). Το ρόδινο χρώμα αυτής επικράτησε επί τουλάχιστον 10 δευτερόλεπτα. Τέλος, η οξύτητα εκφράστηκε σε κατά βάρος εκατοστιαία αναλογία ελαϊκού οξέος σύμφωνα με τη σχέση (COI/T.20/Doc. No. 34/rev. 1 2017, 2017):

$$\% \text{ ελαϊκό οξύ} = V \times c \times \frac{M}{1000} \times \frac{100}{m} = \frac{V \times c \times M}{10 \times m}$$

όπου:

V = ο όγκος σε mL του τιτλοδοτημένου διαλύματος NaOH που χρησιμοποιήθηκε,

c = η ακριβής συγκέντρωση σε moles/L του τιτλοδοτημένου διαλύματος NaOH που χρησιμοποιήθηκε,

M = 282 g/mol, το γραμμομοριακό βάρος σε g/mole του ελαϊκού οξέος, και

m = η μάζα του δείγματος σε g

Η παραπάνω διαδικασία πραγματοποιήθηκε συνολικά τρεις φορές για κάθε ένα από τα δείγματα C, A και B.

## 4.5 Φασματοφωτομετρική εξέταση στο υπεριώδες

### 4.5.1 Αρχή μεθόδου

Το δείγμα της λιπαρής ύλης διαλύεται στον απαιτούμενο διαλύτη και στη συνέχεια μετράται η απορρόφηση του σε συγκεκριμένα μήκη κύματος έναντι του καθαρού διαλύτη. Οι ειδικές αποσβέσεις/απορροφήσεις στα μήκη κύματος 232 nm και 270 nm σε κυκλοεξάνιο υπολογίζονται για συγκέντρωση 1% (w/v) και με κυψελίδα των 10 mm (COI/T.20/Doc. No. 19/Rev. 5 2019, 2019).

## 4.5.2 Εργαστηριακός εξοπλισμός

### Δείγματα-Αντιδραστήρια:

- Δείγματα C, A και B
- Κυκλοεξάνιο (C<sub>6</sub>H<sub>12</sub>) κατάλληλο για φασματοφωτομετρία

### Υλικά:

- Ογκομετρικές φιάλες των 25 mL με πώμα
- Πλαστικές πιπέτες Pasteur των 3 mL
- Ογκομετρικός κύλινδρος των 20 mL (περιείχε το κυκλοεξάνιο)
- Κυψελίδες από χαλαζία πάχους 1 cm

### Όργανα:

- Αναλυτικός ζυγός PCE-BSK310 της PCE Instruments (Manchester, UK)
- Φασματοφωτόμετρο UV-Vis διπλής δέσμης SPECORD® 205 της Analytik Jena (Jena, Germany)

## 4.5.3 Πειραματική πορεία

Αρχικά, ζυγίστηκαν περίπου 0,25 g δείγματος ελαιολάδου με τη βοήθεια πιπέτας μέσα σε ογκομετρική φιάλη, η οποία ακολούθως συμπληρώθηκε μέχρι τη χαραγή με κυκλοεξάνιο. Έπειτα, δύο κυψελίδες συμπληρώθηκαν και αυτές με κυκλοεξάνιο και τοποθετήθηκαν στις θύρες του φασματοφωτόμετρου, για βαθμονόμηση του τελευταίου. Η κυψελίδα της πρώτης (μπροστά) θύρας αφαιρέθηκε, το περιεχόμενο της αποχύθηκε και συμπληρώθηκε με το διάλυμα του δείγματος, αφού προηγήθηκε ισχυρή ανάδευση της φιάλης. Τέλος, η κυψελίδα τοποθετήθηκε πίσω στη θύρα, λήφθηκαν οι απορροφήσεις του δείγματος C στα 232, 270 ( $\lambda_{\max}$ ), 266 ( $\lambda_{\max}-4$ ) και 274 ( $\lambda_{\max}+4$ ) nm και προσδιορίστηκε η τιμή  $\Delta K$  μέσω της σχέσης (COI/T.20/Doc. No. 19/Rev. 5 2019, 2019):

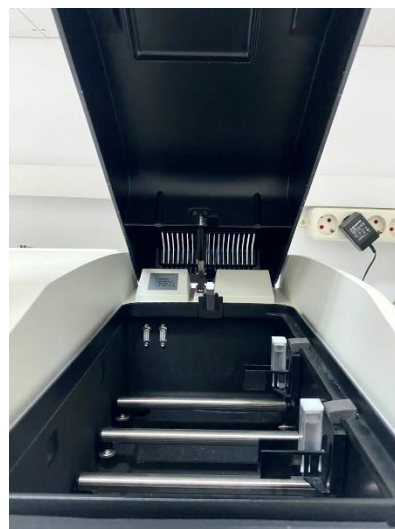
$$\Delta K = K_m - \left( \frac{K_{m-4} + K_{m+4}}{2} \right)$$

όπου:

$K_m$  = η ειδική απόσβεση στο μήκος κύματος του μέγιστου της καμπύλης απορρόφησης στην περιοχή των 270 nm,

$K_{m-4}$  = η ειδική απόσβεση σε μήκος κύματος κατά 4 nm κατώτερο από αυτό του  $K_m$ , και

$K_{m+4}$  = η ειδική απόσβεση σε μήκος κύματος κατά 4 nm ανώτερο από αυτό του  $K_m$ .



*Εικόνα 4.5.* Οι ογκομετρικές φιάλες με τα διαλύματα των δειγμάτων C, A και B και ένα στιγμιότυπο κατά τη βαθμονόμηση του φασματοφωτόμετρου (Προσωπικά αρχεία).

## 4.6 Μέθοδος Lovibond® για τη μέτρηση χρώματος, χλωροφύλλης και β-καροτενίου

### 4.6.1 Αρχή μεθόδου

Όταν το διαυγές δείγμα της λιπαρής ύλης φασματοφωτομετρηθεί στο ορατό, ένα μέρος της προσπίπτουσας σε αυτό ακτινοβολίας θα απορροφηθεί και το υπόλοιπο θα το διαπεράσει και θα ανιχνευτεί. Το ποσό της ακτινοβολίας που δεν θα απορροφηθεί εξαρτάται από το ίδιο το δείγμα και μπορεί, όταν συγκριθεί αυτόματα με ενσωματωμένη στο όργανο χρωματική κλίμακα, να δώσει πληροφορίες αναφορικά με το χρώμα του δείγματος. Επιπρόσθετα, μπορεί να ποσοτικοποιήσει τη χλωροφύλλη και το β-καροτένιο που περιέχονται στο δείγμα, καθώς οι χρωστικές αυτές ενώσεις είναι υπεύθυνες για το πράσινο και κίτρινο χρώμα αντίστοιχα (Lovibond, 2016).

## 4.6.2 Εργαστηριακός εξοπλισμός

### Δείγματα:

- Δείγματα ελαιολάδου

### Υλικά:

- Πλαστικές πιπέτες Pasteur των 3 mL
- Κυψελίδα από βοριοπυριτικό γυαλί πάχους 10 mm της Lovibond® The Tintometer Limited (Amesbury, UK)

### Όργανα:

- Επιτραπέζιο φασματοφωτόμετρο Lovibond® Model Fx της Lovibond® The Tintometer Limited (Amesbury, UK)

## 4.6.3 Πειραματική πορεία

Αρχικά, τέθηκε σε λειτουργία το φασματοφωτόμετρο και επιλέχθηκαν πάχος κυψελίδας ίσο με 10 mm και χρωματική κλίμακα Lovibond RYBN & Chlorophyll. Στη συνέχεια, πραγματοποιήθηκε βαθμονόμηση του οργάνου και κατόπιν η κυψελίδα συμπληρώθηκε με το δείγμα ελαιολάδου και τοποθετήθηκε στη θύρα για μέτρηση. Μόλις ολοκληρώθηκε το στάδιο αυτό, εμφανίστηκαν στην οθόνη οι χρωματικές παράμετροι R (Red), B (Blue), Y (Yellow) και N (Neutral), καθώς και η ποσότητα της χλωροφύλλης του δείγματος εκφρασμένη σε ppb. Ύστερα, επιλέχτηκε η χρωματική κλίμακα Lovibond RYBN & Beta Carotene και η διαδικασία επαναλήφθηκε, ώστε να ληφθούν και πάλι οι χρωματικές παράμετροι R, B, Y, N και η ποσότητα του β-καροτενίου του δείγματος (ppb) (The Tintometer Ltd., 2014).



*Εικόνα 4.6.* Στιγμιότυπο κατά τη μέτρηση της χλωροφύλλης ενός εκ των δειγμάτων (Προσωπικό αρχείο).

## **4.7 Προσδιορισμός πτητικών ενώσεων δειγμάτων ελαιολάδου με GC-MS**

### **4.7.1 Μικρο-εκχύλιση πτητικών ενώσεων με την τεχνική SPME (Solid Phase Microextraction)**

Η μικρο-εκχύλιση στερεάς φάσης (SPME) είναι μία απλή και γρήγορη τεχνική με την οποία επιτυγχάνεται προσρόφηση των πτητικών ενώσεων ενός δείγματος, χωρίς τη χρήση τοξικών για το προσωπικό διαλυτών. Για τη διεξαγωγή της χρησιμοποιείται ειδική συσκευή, που μοιάζει με τροποποιημένη σύριγγα. Αυτή περιέχει μία λεπτή ίνα κατασκευασμένη από τηγμένο διοξείδιο του πυριτίου, η οποία επικαλύπτεται με πολυμερικό υλικό (π.χ. διβινυλοβενζόλιο/καρβοξένιο/πολυδιμεθυλοσιλοξάνιο (DVB/CAR/PDMS)). Η SPME συνδυάζεται σε πολλές περιπτώσεις με την GC-MS (Vas & Vékéy, 2004), ως στάδιο προκατεργασίας των δειγμάτων.

#### **4.7.1.1 Εργαστηριακός εξοπλισμός**

##### **Δείγματα-Αντιδραστήρια:**

- Δείγματα ελαιολάδου
- Διάλυμα β-ιονόνης ως εσωτερικό πρότυπο

##### **Υλικά:**

- Γυάλινο φιαλίδιο των 15 mL με βιδωτό πώμα και παρέμβυσμα PTFE/σιλικόνης
- Σιφόνιο των 10 mL με πουάρ τριών βαλβίδων
- Αυτόματη πιπέτα μεταβλητού όγκου 0,5-10  $\mu$ L με τιπς
- Μαγνητάκι ανάδευσης
- Συσκευή SPME με ίνα διβινυλοβενζολίου/καρβοξενίου/πολυδιμεθυλοσιλοξάνιου (DVB/CAR/PDMS) μήκους 1 cm

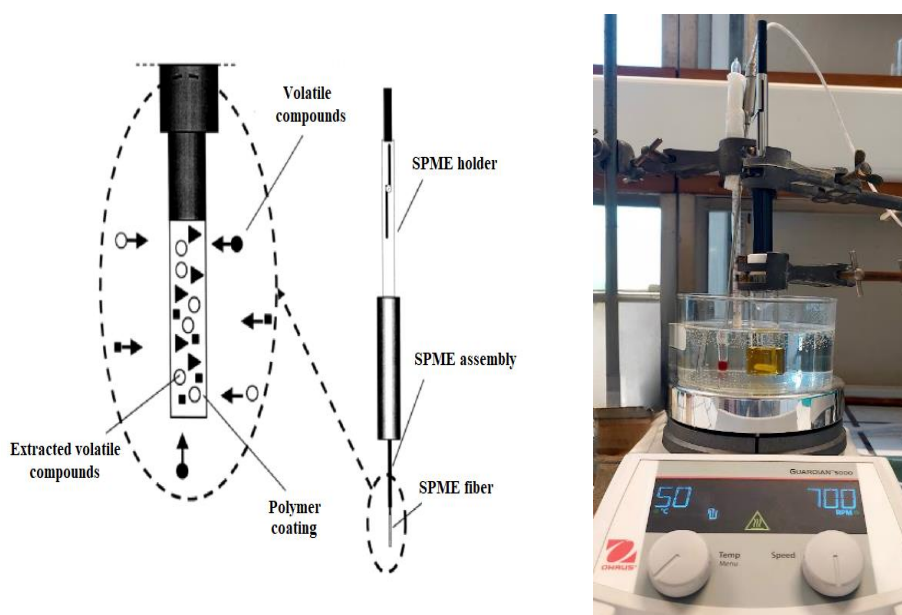
##### **Όργανα:**

- Αναλυτικός ζυγός Pioneer™ Analytical της OHAUS (Nänikon, Switzerland)
- Θερμοστατούμενο υδατόλουτρο ανάδευσης Guardian™ 5000 της OHAUS (Nänikon, Switzerland)



#### 4.7.1.2 Πειραματική πορεία

Αρχικά, ζυγίστηκαν 5 g δείγματος με τη χρήση σιφωνίου μέσα σε γυάλινο φιαλίδιο. Επίσης, προστέθηκε σε αυτό 1  $\mu\text{L}$   $\beta$ -ιονόνης μέσω πιπέτας, καθώς και ένα μαγνητάκι. Ύστερα, το φιαλίδιο οδηγήθηκε στο θερμοστατούμενο υδατόλουτρο ανάδευσης όπου και αφέθηκε για 30 λεπτά στους 50 °C με 700 rpm, ώστε να διαχυθούν στο εσωτερικό του διάκενο οι πτητικές ενώσεις του δείγματος. Παράλληλα, η συσκευή SPME τοποθετήθηκε στον αέριο χρωματογράφο-φασματοόμετρο μάζας (GC-MS) για 30 λεπτά, εκθέτοντας την ίνα στους 260 °C με σκοπό να ενεργοποιηθεί. Μετά το πέρας των 30 λεπτών, η συσκευή εισάχθηκε στο φιαλίδιο και η ίνα εκτέθηκε στην υπερκείμενη του δείγματος αέρια φάση για 15 λεπτά. Με τον τρόπο αυτό, οι πτητικές ενώσεις του τελευταίου αλληλεπίδρασαν με το πολυμερικό υλικό της ίνας και έτσι προσροφήθηκαν σε αυτήν. Τέλος, η ίνα ανασύρθηκε στη συσκευή, αυτή εξάχθηκε από το φιαλίδιο και οδηγήθηκε για ανάλυση στον GC-MS, αφού προηγήθηκε η διαδικασία 'clean' σε αυτόν (Revelou et al., 2020).



**Εικόνα 4.7.1.** Η έκθεση της ίνας στην αέρια φάση του δείγματος σχηματικά και πραγματικά (Πηγή: <https://www.researchgate.net/publication/12075122> Air Sampling and Analysis of Volatile Organic Compounds with Solid Phase Microextraction; Προσωπικό αρχείο).

## 4.7.2 Μέθοδος GC-MS (Gas Chromatography-Mass Spectrometry)

### 4.7.2.1 Αρχή μεθόδου

Οι πτητικές ενώσεις ενός δείγματος κινούνται με διαφορετικές ταχύτητες εντός της χρωματογραφικής στήλης, λόγω διαφορετικού σημείου ζέσεως και φυσικοχημικής συγγένειας με τη στατική φάση. Ως συνέπεια, εκλούνται διαδοχικά και έτσι διαχωρίζονται. Έπειτα, οι ενώσεις μεταφέρονται από τον αέριο χρωματογράφο (GC) στο φασματόμετρο μάζας (MS), όπου λειτουργεί ως ανιχνευτής. Σε αυτόν, συνήθως, βομβαρδίζονται από δέσμη ηλεκτρονίων υψηλής ενέργειας και προκύπτουν μοριακά ιόντα, τα οποία διαχωρίζονται, εξίσου, με βάση το λόγο μάζας προς φορτίο ( $m/z$ ) που αντιστοιχεί στο καθένα (Μπρατάκος, 2021). Η χρονική στιγμή κατά την οποία εμφανίζεται κάθε κορυφή στο χρωματογράφημα ονομάζεται χρόνος έκλουσης ( $t_R$  ή  $RT$ ) και είναι χαρακτηριστικός για κάθε συστατικό, ενώ το ύψος της κάθε κορυφής εξαρτάται από τον αριθμό των μοριακών ιόντων που ανιχνεύονται από τον MS (Turner, 2022).

### 4.7.2.2 Εργαστηριακός εξοπλισμός

#### Υλικά:

- Συσκευή SPME με ένα διβινυλοβενζολίου/καρβοξενίου/πολυδιμεθυλοσιλοξανίου (DVB/CAR/PDMS) μήκους 1 cm με προσροφημένες πτητικές ενώσεις
- Τριχοειδής στήλη Rtx-5MS από τηγμένο διοξείδιο του πυριτίου με στατική φάση διφαινυλο/διμέθυλο πολυσιλοξάνιο (diphenyl/dimethyl polysiloxane) 30 m × 0,25 mm × 0,25 μm της Restek (Bellefonte, PA, USA)

#### Όργανα:

- Αέριος χρωματογράφος Trace GC Ultra συζευγμένος με φασματόμετρο μάζας DSQ II της Thermo Fisher Scientific (Waltham, Massachusetts USA)

### 4.7.2.3 Πειραματική πορεία

Αρχικά, ενεργοποιήθηκε στον αέριο χρωματογράφο η λειτουργία 'clean' για 12,5 λεπτά, ώστε να καθαριστεί με το φέρον αέριο He (κινητή φάση). Μόλις ολοκληρώθηκε

η διαδικασία αυτή, ο φούρνος του GC αφέθηκε να ψυχθεί έως ότου φτάσει τους 40 °C. Στη συνέχεια και όπως έχει ήδη αναφερθεί, η συσκευή SPME τοποθετήθηκε στο septum του εισαγωγέα του οργάνου, εκθέτοντας την ίνα για 3 λεπτά στους 260 °C σε splitless λειτουργία εισαγωγέα. Με τον τρόπο αυτό, πραγματοποιήθηκε εκρόφιση των πτητικών ενώσεων του δείγματος στην τριχοειδή στήλη. Ακολούθως, η ίνα ανασύρθηκε στη συσκευή, αυτή εξάχθηκε από τον GC και ο εισαγωγέας άλλαξε σε λειτουργία split. Όταν έγινε αυτό, ξεκίνησε η ανάλυση η οποία διήρκησε 42,33 λεπτά και χαρακτηριζόταν από τις εξής συνθήκες: για τον GC, ο ρυθμός ροής του He ήταν ίσος με 1 mL/min, ενώ η στήλη διατηρήθηκε στους 40 °C για 6 λεπτά, θερμάνθηκε στους 120 °C με ρυθμό 5 °C/min, έπειτα στους 160 °C με ρυθμό 3 °C/min και τελικά στους 250 °C με ρυθμό 15 °C/min όπου παρέμεινε για 1 λεπτό. Όσον αφορά το φασματομέτρο-μάζας, ο ιοντισμός των πτητικών ενώσεων πραγματοποιήθηκε με τη βοήθεια ηλεκτρονίων ενέργειας 70 eV, ενώ οι θερμοκρασίες του τετραπόλου, της πηγής και της γραμμής μεταφοράς ήταν ίσες με 150 °C, 240 °C και 290 °C, αντίστοιχα. Στο τέλος της ανάλυσης λήφθηκε το χρωματογράφημα του δείγματος, το οποίο παρουσιάζει τους χρόνους έκλουσης των πτητικών του ενώσεων και συνοδεύεται από το φάσμα μάζας της κάθε ένωσης. Ο ποιοτικός προσδιορισμός των πτητικών ουσιών έγινε μέσω του λογισμικού NIST MS Search 2.0, συγκρίνοντας τα φάσματα μάζας και τους δείκτες κατακράτησης (RI) με αυτά της βιβλιοθήκης που παρέχεται από του Adams (2007). Οι τιμές RI υπολογίστηκαν χρησιμοποιώντας πρότυπα αλκανίων (C8-C20) της Supelco και την εξίσωση (10) από το άρθρο των Zellner et al. (2008). Ο ημι-ποσοτικός προσδιορισμός των ουσιών πραγματοποιήθηκε, διαιρώντας το εμβαδόν της κορυφής κάθε ένωσης με το εμβαδόν της κορυφής του εσωτερικού προτύπου και πολλαπλασιάζοντας το λόγο αυτό με τη προστιθέμενη στο δείγμα μάζα εσωτερικού προτύπου (Revelou et al., 2020).

Συνολικά, η διαδικασία SPME-GC-MS διεκπεραιώθηκε δύο φορές για κάθε ένα από τα δείγματα ελαιολάδου.



*Εικόνα 4.7.2.* Η συσκευή SPME στο septum του εισαγωγέα και η συνολική διάταξη του GC-MS (Προσωπικά αρχεία).

## **4.8 Προσδιορισμός ολικού φαινολικού περιεχομένου, αντιριζικής και αντιοξειδωτικής δράσης δειγμάτων ελαιολάδου**

### **4.8.1 Εκχύλιση φαινολικών ενώσεων δειγμάτων ελαιολάδου**

Η διαδικασία αυτή αποτελεί προκατεργασία των δειγμάτων ελαιολάδου, με σκοπό την παραλαβή των φαινολικών τους ενώσεων.

#### **4.8.1.1 Εργαστηριακός εξοπλισμός**

##### **Δείγματα-Αντιδραστήρια:**

- Δείγματα ελαιολάδου
- Μίγμα μεθανόλης/νερού (MeOH/H<sub>2</sub>O) 80:20 (v/v)
- Απεσταγμένο νερό

##### **Υλικά:**

- Πλαστικοί σωλήνες Falcon των 14 mL
- Σιφόνια των 10 mL με πουάρ τριών βαλβίδων

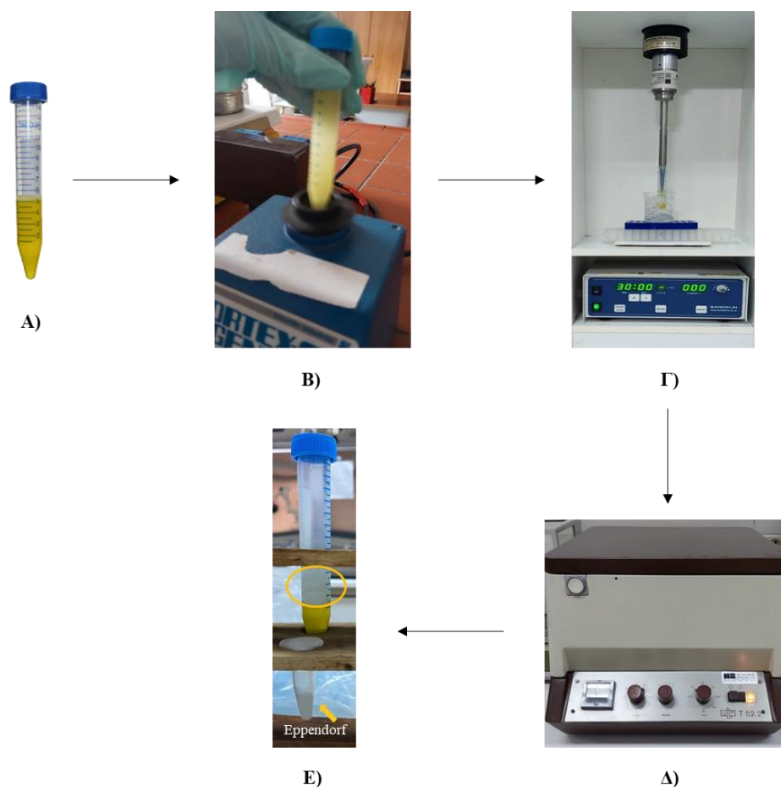
##### **Όργανα:**

- Αναλυτικός ζυγός PCE-BSK310 της PCE Instruments (Manchester, UK)

- Αναδευτήρας Vortex Genie 2 της Scientific Industries (Bohemia, New York, USA)
- Ομογενοποιητής υπερήχων Sonopuls HD 2070 της BANDELIN (Heinrichstraße, Berlin)
- Φυγόκεντρος T 52.2 της MLW

#### 4.8.1.2 Πειραματική πορεία

Αρχικά, ζυγίστηκαν περίπου 2 g δείγματος ελαιολάδου μέσα σε σωλήνα Falcon και προστέθηκαν σε αυτόν 4 mL μίγματος MeOH/H<sub>2</sub>O με τη χρήση σιφωνίων. Ύστερα από ανακίνηση, το δείγμα οδηγήθηκε στον αναδευτήρα Vortex και αφέθηκε σε αυτόν έως ότου να ομογενοποιηθεί. Ακολούθησε η τοποθέτηση του στον ομογενοποιητή υπερήχων σε ισχύ 100%, όπου και παρέμεινε για 30 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου. Μετά το πέρας αυτού του σταδίου, το δείγμα αφαιρέθηκε από τον ομογενοποιητή και ζυγίστηκε τόσο αυτό, όσο και μία σχεδόν ισόποση ποσότητα απεσταγμένου νερού (για εξισορρόπηση της φυγόκεντρου) σε έναν άλλον σωλήνα Falcon. Τέλος, οι δύο σωλήνες οδηγήθηκαν στη φυγόκεντρο και αφέθηκαν σε αυτήν για 15 λεπτά με 3500 rpm (Siano et al., 2022).



**Εικόνα 4.8.1.** Διαδικασία εκχύλισης των φαινολικών ενώσεων: Α) Σωλήνας Falcon με δείγμα + μίγμα MeOH/H<sub>2</sub>O, Β) Αναδευτήρας Vortex, Γ) Ομογενοποιητής υπερήχων, Δ) Φυγόκεντρος, Ε) Σωλήνας Falcon με επισημασμένη την μεθανολική φάση (φαινολικές ενώσεις) (Προσωπικά αρχεία).

## 4.8.2 Προσδιορισμός ολικού φαινολικού περιεχομένου με τη μικρο-μέθοδο Folin-Ciocalteu

### 4.8.2.1 Αρχή μεθόδου

Το αντιδραστήριο Folin-Ciocalteu (F-C) συνίσταται από φωσφοροβολφραμικό ( $H_3PW_{12}O_{40}$ ) και φωσφορομολυβδαινικό ( $H_3PMo_{12}O_{40}$ ) οξύ. Όταν βρεθεί σε αλκαλικό περιβάλλον με μία φαινολική ένωση η τελευταία οξειδώνεται, ενώ το αντιδραστήριο ανάγεται προς οξειδία που έχουν χαρακτηριστικό κυανό χρώμα. Η ένταση αυτού του χρώματος είναι ανάλογη του φαινολικού περιεχομένου του δείγματος (Lamuela-Raventós, 2017).



### 4.8.2.2 Εργαστηριακός εξοπλισμός

#### Δείγματα-Αντιδραστήρια:

- Εκχυλίσματα (μεθανολικές φάσεις) των δειγμάτων C, A και B
- Πρότυπη ουσία γαλλικό οξύ (GA)
- Μεθανόλη αναλυτικής καθαρότητας (MeOH) (για την παρασκευή των πρότυπων διαλυμάτων γαλλικού οξέος)
- Απεσταγμένο νερό
- Αντιδραστήριο Folin-Ciocalteu's phenol reagent (F-C)
- Κορεσμένο διάλυμα ανθρακικού νατρίου ( $Na_2CO_3$ )

#### Υλικά:

- Γυάλινες πιπέτες Pasteur με πουάρ
- Σωλήνες Eppendorf των 1,5 mL
- Πλαστικές κυψελίδες των 4 mL
- Σιφόνιο των 10 mL με πουάρ τριών βαλβίδων
- Αυτόματες πιπέτες μεταβλητού όγκου 10-100  $\mu$ L και 100-1000  $\mu$ L με τιπς

### **Όργανα:**

- Υδατόλουτρο WB-11 της witeg (Wertheim, Germany)
- Ψηφιακό φασματοφωτόμετρο Vis απλής δέσμης Spectro 23 της Labomed (La Cienega Blvd, Los Angeles, USA)

#### ***4.8.2.3 Πειραματική πορεία***

Αρχικά, τα εκχυλίσματα των τριών δειγμάτων μεταφέρθηκαν από τους σωλήνες Falcon σε σωλήνες Erpendorf με τη χρήση γυάλινων πιπετών Pasteur. Στη συνέχεια, για κάθε δείγμα χρησιμοποιήθηκαν τρεις κυψελίδες και τοποθετήθηκαν σε αυτές, χρησιμοποιώντας την κατάλληλη πιπέτα και σιφόνιο, 100  $\mu\text{L}$  εκχυλίσματος, 2,4 mL απεσταγμένου νερού και 200  $\mu\text{L}$  αντιδραστηρίου F-C. Ακολούθησε ισχυρή ανάδευση των κυψελίδων, προσθήκη 500  $\mu\text{L}$  κορεσμένου διαλύματος  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  σε κάθε μία από αυτές μετά από αναμονή 8 λεπτών και ξανά ανάδευση τους. Έπειτα, οι κυψελίδες οδηγήθηκαν στο υδατόλουτρο όπου και παρέμειναν για 30 λεπτά στους 40 °C, ώστε να αναπτυχθεί καλύτερα το επιθυμητό κυανό χρώμα. Μετά το πέρας του σταδίου αυτού, μετρήθηκε στο φασματοφωτόμετρο η απορρόφηση τους στα 750 nm. Το όργανο αυτό μηδενίστηκε με απεσταγμένο νερό, ενώ βαθμονομήθηκε με το τυφλό που παρασκευάστηκε με 2,4 mL απεσταγμένου νερού, 200  $\mu\text{L}$  αντιδραστηρίου F-C και 500  $\mu\text{L}$  κορεσμένου διαλύματος  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ . Τέλος, το ολικό φαινολικό περιεχόμενο (TPC) των δειγμάτων υπολογίστηκε σε ισοδύναμα γαλλικού οξέος (GAE) μέσω της εξίσωσης  $y = 0,0005x + 0,0783$ ,  $R^2 = 0,9989$  της πρότυπης καμπύλης του. Για την τελευταία χρησιμοποιήθηκαν πρότυπα διαλύματα γαλλικού οξέος συγκεντρώσεων από 25-2600 mg GA/L και ακολουθήθηκε η ίδια πορεία με τα δείγματα, με τη διαφορά ότι χρησιμοποιήθηκαν 10  $\mu\text{L}$  γαλλικού οξέος από κάθε πρότυπο και 2,5 mL απεσταγμένου νερού (Andreou et al., 2018).

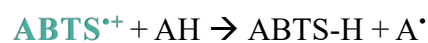
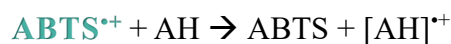


*Εικόνα 4.8.2.* Τα δείγματα στο υδατόλουτρο και το φασματοφωτόμετρο στο οποίο θα οδηγηθούν (Προσωπικά αρχεία).

### 4.8.3 Εκτίμηση της ικανότητας δέσμευσης/ανάσχεσης της σταθερής ελεύθερης ρίζας $ABTS^{*+}$ [2,2'-αζινο-δισ(3-αιθυλοβεξοθειαζολινο-6-σουλφονικό οξύ)]

#### 4.8.3.1 Αρχή μεθόδου

Παρουσία υπερθειικού νατρίου ( $Na_2S_2O_8$ ) ή άλλων οξειδωτικών το 2,2'-αζινο-δισ(3-αιθυλοβεξοθειαζολινο-6-σουλφονικό οξύ) (ABTS) οξειδώνεται προς τη μονοκατιοντική ρίζα  $ABTS^{*+}$ , η οποία έχει μπλε-πράσινο χρώμα και μέγιστο απορρόφησης στα 734 nm. Όταν αυτή αλληλεπιδράσει με μία αντιριζική ένωση (AH), τότε ανάγεται είτε μέσω μεταφοράς ενός ηλεκτρονίου, είτε μέσω μεταφοράς ενός ατόμου υδρογόνου από την AH. Ως αποτέλεσμα, η  $ABTS^{*+}$  μειώνεται ποσοτικά σε βαθμό ανάλογο της δραστηριότητας και της συγκέντρωσης της AH (Prior et al., 2005; Opitz et al., 2014).





#### 4.8.3.2 Εργαστηριακός εξοπλισμός

##### Δείγματα-Αντιδραστήρια:

- Εκχυλίσματα (μεθανολικές φάσεις) των δειγμάτων ελαιολάδου
- Απεσταγμένο νερό (για την παρασκευή του διαλύματος ABTS<sup>•+</sup>)
- Υπερθεικό νάτριο (Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>8</sub>) 2,45 mM (για την παρασκευή του διαλύματος ABTS<sup>•+</sup>)
- Αντιδραστήριο 2,2'-αζινο-δισ(3-αιθυλοβεζοθειαζολινο-6-σουλφονικού οξέος) (ABTS) 7,00 mM (για την παρασκευή του διαλύματος ABTS<sup>•+</sup>)
- Αιθανόλη αναλυτικής καθαρότητας (EtOH)
- Πρότυπη ουσία Trolox

##### Υλικά:

- Γυάλινες πιπέτες Pasteur με πουάρ
- Σωλήνες Eppendorf των 1,5 mL
- Πλαστικές κυψελίδες των 4 mL
- Αυτόματη πιπέτα μεταβλητού όγκου 10-100 μL με τιπς
- Σιφώνιο των 10 mL με πουάρ τριών βαλβίδων

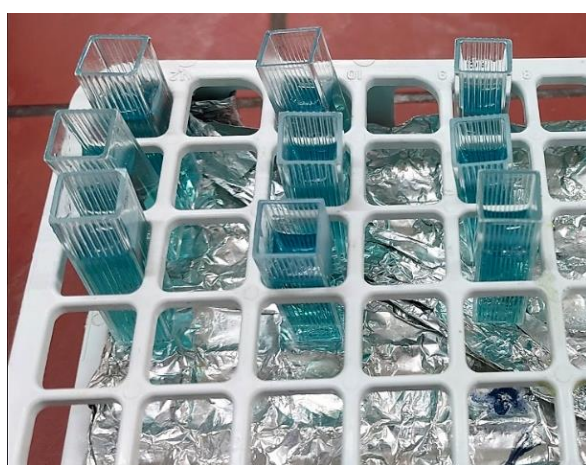
##### Όργανα:

- Ψηφιακό φασματοφωτόμετρο Vis απλής δέσμης Spectro 23 της Labomed (La Cienega Blvd, Los Angeles, USA)

#### 4.8.3.3 Πειραματική πορεία

Αρχικά, τα εκχυλίσματα των τριών δειγμάτων μεταφέρθηκαν από τους σωλήνες Falcon σε σωλήνες Eppendorf, χρησιμοποιώντας γυάλινες πιπέτες Pasteur. Επιπλέον, το διάλυμα της ABTS<sup>•+</sup> αραιώθηκε με EtOH, ώστε να δίνει  $A_{734\text{nm}} = 0,90 \pm 1,2$ . Ύστερα, για κάθε δείγμα ελαιολάδου χρησιμοποιήθηκαν τρεις κυψελίδες και τοποθετήθηκαν σε αυτές 100 μL εκχυλίσματος και 3 mL αραιωμένου διαλύματος ABTS<sup>•+</sup> με τη χρήση πιπέτας και σιφονίου, αντίστοιχα. Τα προκύπτοντα διαλύματα αναδεύτηκαν για 1

λεπτό και μετά την πάροδο 5 λεπτών μετρήθηκε στο φασματοφωτόμετρο η απορρόφηση τους στα 734 nm. Το φασματοφωτόμετρο μηδενίστηκε με EtOH, ενώ βαθμονομήθηκε με το τυφλό που παρασκευάστηκε με 3 mL αραιωμένου διαλύματος ABTS<sup>•+</sup>. Τέλος, η συγκέντρωση των αντιριζικών ενώσεων των δειγμάτων υπολογίστηκε σε ισοδύναμα Trolox (TE) μέσω της εξίσωσης  $y = 0,2876x - 0,002$ ,  $R^2 = 0,9995$  της πρότυπης καμπύλης του. Για την τελευταία χρησιμοποιήθηκαν πρότυπα διαλύματα Trolox συγκεντρώσεων από 0,20-1,5 mM και ακολουθήθηκε η ίδια πορεία με τα δείγματα, με τη διαφορά ότι χρησιμοποιήθηκαν 30  $\mu$ L Trolox από κάθε πρότυπο (Lantzouraki et al., 2015).



*Εικόνα 4.8.3.* Τα δείγματα μετά το στάδιο της φασματοφωτομέτρησης (Προσωπικό αρχείο).

#### **4.8.4 Προσδιορισμός αντιοξειδωτικής δράσης με τη μέθοδο FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power)**

##### **4.8.4.1 Αρχή μεθόδου**

Όταν το σύμπλοκο του τρισθενούς σιδήρου με 2,4,6-τρι-(2-πυριδυλ-)-τριαζίνη ( $\text{Fe}^{3+}$ -TPTZ) αλληλεπιδράσει με μία φαινολική αντιοξειδωτική ένωση (ArOH) σε χαμηλό pH, τότε ανάγεται σε δισθενή σίδηρο ( $\text{Fe}^{2+}$ -TPTZ) μέσω μεταφοράς ενός ηλεκτρονίου από την ArOH. Το τελικό προϊόν έχει έντονο μπλε χρώμα, μέγιστο απορρόφησης στα 593 nm και η αλλαγή στην απορρόφηση σχετίζεται με τη συγκέντρωση της ArOH (Rubio et al., 2016; Cerretani & Bendini, 2010).



#### **4.8.4.2 Εργαστηριακός εξοπλισμός**

##### **Δείγματα-Αντιδραστήρια:**

- Εκχυλίσματα (μεθανολικές φάσεις) των δειγμάτων ελαιολάδου
- Ρυθμιστικό διάλυμα  $\text{CH}_3\text{COOH}-\text{CH}_3\text{COONa}$  (για την παρασκευή του αντιδραστηρίου FRAP)
- Αραιωμένο με υδροχλώριο (HCl) διάλυμα 2,4,6-τρι-(2-πυριδυλ-)-τριαζίνης (TPTZ) 10 mM (για την παρασκευή του αντιδραστηρίου FRAP)
- Διάλυμα  $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  20 mM (για την παρασκευή του αντιδραστηρίου FRAP)
- Απεσταγμένο νερό
- Αντιδραστήριο FRAP
- Πρότυπη ουσία  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$

##### **Υλικά:**

- Γυάλινες πιπέτες Pasteur με πουάρ
- Σωλήνες Eppendorf των 1,5 mL
- Πλαστικές κυψελίδες των 4 mL
- Σιφόνιο των 10 mL με πουάρ τριών βαλβίδων
- Αυτόματες πιπέτες μεταβλητού όγκου 10-100  $\mu\text{L}$  και 100-1000  $\mu\text{L}$  με τιπς

##### **Όργανα:**

- Υδατόλουτρο WB-11 της witeg (Wertheim, Germany)
- Ψηφιακό φασματοφωτόμετρο Vis απλής δέσμης Spectro 23 της Labomed (La Cienega Blvd, Los Angeles, USA)

#### **4.8.4.3 Πειραματική πορεία**

Αρχικά, τα εκχυλίσματα των τριών δειγμάτων μεταφέρθηκαν με τη χρήση γυάλινων πιπετών Pasteur από τους σωλήνες Falcon σε σωλήνες Eppendorf. Στη συνέχεια, για κάθε δείγμα χρησιμοποιήθηκαν τρεις κυψελίδες και τοποθετήθηκαν σε αυτές 100  $\mu\text{L}$  εκχυλίσματος, 1,4 mL απεσταγμένου νερού, 500  $\mu\text{L}$  ρυθμιστικού διαλύματος και 900  $\mu\text{L}$  αντιδραστηρίου FRAP, χρησιμοποιώντας την κατάλληλη πιπέτα και σιφόνιο.

Ακολούθησε ανάδευση των κυβελίδων και τοποθέτηση τους στο υδατόλουτρο για 90 λεπτά στους 40 °C, ώστε να αναπτυχθεί καλύτερα το επιθυμητό μπλε χρώμα. Μόλις ολοκληρώθηκε το στάδιο αυτό, μετρήθηκε στο φασματοφωτόμετρο η απορρόφηση τους στα 595 nm. Το φασματοφωτόμετρο μηδενίστηκε με απεσταγμένο νερό, ενώ βαθμονομήθηκε με το τυφλό που παρασκευάστηκε με 1,4 mL απεσταγμένου νερού, 500 μL ρυθμιστικού διαλύματος και 900 μL αντιδραστηρίου FRAP. Τέλος, υπολογίστηκε η συγκέντρωση των φαινολικών αντιοξειδωτικών ενώσεων των δειγμάτων μέσω της εξίσωσης  $y = 0,0003x + 0,0081$ ,  $R^2 = 0,9969$  της πρότυπης καμπύλης του  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ . Για την τελευταία χρησιμοποιήθηκαν πρότυπα διαλύματα  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  συγκεντρώσεων από 50-1800 μM και ακολουθήθηκε η ίδια πορεία με τα δείγματα, με τη διαφορά ότι χρησιμοποιήθηκαν 50 μL  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  από κάθε πρότυπο και 1,95 mL απεσταγμένου νερού (Lantzouraki et al., 2016).



*Εικόνα 4.8.4.* Τα δείγματα μετά το στάδιο της φασματοφωτομέτρησης (Προσωπικό αρχείο).

## 4.9 Μέθοδος Rancimat

### 4.9.1 Αρχή μεθόδου

Η υποδοχή μέσα στην οποία τοποθετείται το δοχείο με το δείγμα προκαλεί θέρμανση αυτού σε σταθερή θερμοκρασία από 50-220 °C. Ως αποτέλεσμα, τα ακόρεστα λιπαρά οξέα του δείγματος οξειδώνονται και παράγονται τόσο πρωτογενή (υπεροξειδία), όσο και δευτερογενή πτητικά προϊόντα (π.χ. αλκοόλες, αλδεΐδες, καρβοξυλικά οξέα). Τα τελευταία, και κυρίως το φορμικό οξύ, μεταφέρονται μέσω ενός σωλήνα αέρα από το

δοχείο του δείγματος (δοχείο αντίδρασης) σε ένα άλλο δοχείο (δοχείο μέτρησης), που περιέχει απεσταγμένο νερό. Έτσι, λόγω απορρόφησης των πτητικών από το νερό, αυξάνεται η ηλεκτρική του αγωγιμότητα και αυτό καταγράφεται από ειδικό ηλεκτρόδιο. Ο χρόνος που μεσολαβεί μέχρι να σχηματιστούν τα δευτερογενή προϊόντα οξείδωσης, και άρα να αυξηθεί η ηλεκτρική αγωγιμότητα του νερού, ονομάζεται χρόνος ή διάστημα επαγωγής (Induction time) και είναι ενδεικτικός της οξειδωτικής σταθερότητας του δείγματος (Manual 743 Rancimat, 2021).

#### **4.9.2 Εργαστηριακός εξοπλισμός**

##### **Δείγματα-Αντιδραστήρια:**

- Δείγματα ελαιολάδου
- Απεσταγμένο νερό

##### **Υλικά:**

- Ποτήρι ζέσεως των 1000 mL
- Πλαστικές πιπέτες Pasteur των 3 mL
- Ογκομετρικός κύλινδρος των 100 mL

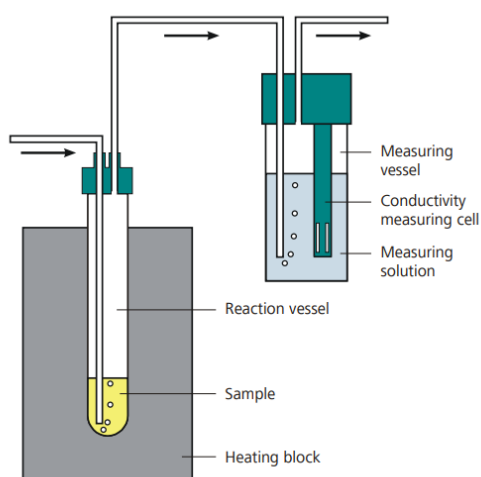
##### **Όργανα:**

- Ηλεκτρική εστία θέρμανσης/ανάδευσης M2D-Pro της ARGO LAB (Carpì MO, Italy)
- Αναλυτικός ζυγός PCE-BSK310 της PCE Instruments (Manchester, UK)
- Συσκευή 743 Rancimat της Metrohm (Herisau, Switzerland)

#### **4.9.3 Πειραματική πορεία**

Αρχικά, το απεσταγμένο νερό τοποθετήθηκε στο ποτήρι ζέσεως και θερμάνθηκε για 45 λεπτά. Μετά το πέρας του χρόνου αυτού, το νερό ψύχθηκε σε θερμοκρασία δωματίου για 15 λεπτά, ενώ ταυτόχρονα ζυγίστηκαν περίπου 3 g ελαίου από κάθε δείγμα μέσα στα δοχεία αντίδρασης, με τη χρήση τριών διαφορετικών πιπετών. Έπειτα, χρησιμοποιώντας ογκομετρικό κύλινδρο τοποθετήθηκαν 60 mL απεσταγμένου νερού σε κάθε δοχείο μέτρησης και ακολούθησε η συναρμολόγηση των εξαρτημάτων της

συσκευής, καθώς και η πραγματοποίηση των κατάλληλων συνδέσεων σύμφωνα με τις οδηγίες του εγχειριδίου χρήσης. Μόλις επιτεύχθηκε στη συσκευή η προεπιλεγμένη θερμοκρασία των 121,6 °C, τα δοχεία αντίδρασης τοποθετήθηκαν στις κατάλληλες υποδοχές και ξεκίνησε η διαδικασία της μέτρησης. Τέλος, λήφθηκαν οι καμπύλες που παρουσιάζουν τη μεταβολή της ηλεκτρικής αγωγιμότητας του νερού συναρτήσει του χρόνου επαγωγής του κάθε δείγματος (Manual 743 Rancimat, 2021).



*Εικόνα 4.9.* Η πειραματική διάταξη σχηματικά και πραγματικά (Manual 743 Rancimat, 2021; Προσωπικό αρχείο).

## Στατιστική ανάλυση

Τα αποτελέσματα του προσδιορισμού της οξύτητας, του ολικού φαινολικού περιεχομένου, της αντιριζικής και της αντιοξειδωτικής δράσης αναλύθηκαν με τη χρήση του λογισμικού Statistica 7.0, εφαρμόζοντας το Tuckey test για επίπεδο σημαντικότητας  $p < 0,05$ .

## Κεφάλαιο 5. Αποτελέσματα και συζήτηση

Στο παρόν κεφάλαιο παρατίθενται τα αποτελέσματα των αναλύσεων που διεξήχθησαν στα προς μελέτη δείγματα. Κρίνεται αναγκαίο να τονιστεί ότι σε καμία ανάλυση, πλην της SPME-GC-MS, δεν παρατηρήθηκε σημαντική διαφορά μεταξύ των τιμών των δειγμάτων C<sub>0</sub> και C<sub>14</sub>, με συνέπεια να μην συμπεριληφθούν οι τιμές του C<sub>14</sub> παρακάτω.

### 5.1 Ποιοτικές παράμετροι ελαιολάδου

#### 5.1.1 Προσδιορισμός οξύτητας

Πίνακας 5.1.1. Η οξύτητα (% w/w σε ελαϊκό οξύ) των δειγμάτων ελαιολάδου

Δείγματα ελαιολάδου	Οξύτητα (% w/w σε ελαϊκό οξύ) Μέσος όρος ± Τυπική απόκλιση (n = 3)
Δείγμα C <sub>0</sub>	0,56 ± 0,00 <sup>a</sup>
Δείγμα A <sub>0</sub>	0,56 ± 0,00 <sup>a</sup>
Δείγμα B <sub>0</sub>	0,55 ± 0,01 <sup>a</sup>
Δείγμα A <sub>14</sub>	0,50 ± 0,07 <sup>a</sup>
Δείγμα B <sub>14</sub>	0,59 ± 0,08 <sup>a</sup>

Διαφορετικά γράμματα μετά από κάθε τιμή υποδεικνύουν στατιστικά σημαντική διαφορά (p < 0,05).

Στον Πίνακα 5.1.1 παρουσιάζεται ο προσδιορισμός της οξύτητας των δειγμάτων ελαιολάδου. Η οξύτητα του ελαιολάδου οφείλεται στην παρουσία ελεύθερων λιπαρών οξέων, τα οποία προέρχονται από την υδρολυτική διάσπαση των τριγλυκεριδίων του (Καλογερόπουλος, 2020). Η υδρόλυση προκαλείται από τη δράση ενδογενών λιπολυτικών ενζύμων (λιπάσες), καθώς και από εξωγενείς παράγοντες όπως η έκθεση σε περιβάλλον υγρασίας ή θέρμανσης (Τσάκνης, 2018; Abenoza & Sánchez-Gimeno, 2021; Taleb et al., 2016). Με την πυροδότηση της παραγωγής ελεύθερων λιπαρών οξέων μειώνεται η σταθερότητα του ελαιολάδου, με συνέπεια την επακόλουθη μείωση του χρόνου ζωής του (Asensio et al., 2013). Σύμφωνα με το πρότυπο COI/T.15/NC No 3/Rev.19 2022 του Διεθνούς Συμβουλίου Ελαιολάδου (IOC) (2022), η ελεύθερη

οξύτητα καθώς και οι ειδικές αποσβέσεις K<sub>232</sub>, K<sub>270</sub> και ο δείκτης ΔΚ που θα αξιολογηθούν παρακάτω αποτελούν ποιοτικές παραμέτρους του ελαιολάδου, οι οποίες κυμαίνονται σε συγκεκριμένα όρια και διαμορφώνουν τις διαφορετικές κατηγορίες εμπορίας του.

Βάσει των αποτελεσμάτων του Πίνακα 5.1.1, δεν παρατηρήθηκε σε καμία χρονική περίοδο στατιστικά σημαντική ( $p < 0,05$ ) διαφορά ούτε μεταξύ των δειγμάτων διαφορετικής συγκέντρωσης εμπλουτισμού, αλλά ούτε και μεταξύ αυτών και του μάρτυρα. Ακόμα, όλες οι τιμές οξύτητας των δειγμάτων δεν ξεπερνούσαν την τιμή 0,80% w/w σε ελαιϊκό οξύ, δηλαδή το ανώτατο επιτρεπτό όριο που έχει θεσπιστεί από το IOC για την κατηγορία του «Εξαιρετικού Παρθένου Ελαιολάδου» (COI/T.15/NC No 3/ Rev.19 2022, 2022).

Ανάλογη επίδραση στην οξύτητα παρατηρείται και σε άλλες μελέτες εμπλουτισμού εξαιρετικών παρθένων ελαιολάδων, χρησιμοποιώντας αρωματικά φυτά της οικογένειας *Lamiaceae* με πιο κοντινή συγγένεια με το είδος *Origanum majorana* L. της εν λόγω εργασίας. Ειδικότερα, σε έρευνα των Bobiano et al. (2019) μελετήθηκε η επίδραση της προσθήκης τριών διαφορετικών συγκεντρώσεων ρίγανης (*Origanum vulgare* L.) σε εξαιρετικά παρθένα ελαιόλαδα, με τη μέθοδο της επαφής για χρονικό διάστημα 15 ημερών. Στα πορίσματα της έρευνάς τους αναφέρουν ότι η προσθήκη ρίγανης επηρέασε ελαφρώς την οξύτητα του ελαιολάδου, διατηρώντας την, ωστόσο, σε χαμηλά επίπεδα (0,15-0,17%). Παρ'όλα αυτά, δεν διαπίστωσαν ξεκάθαρη συσχέτιση αυτής της προσθήκης με τις ποιοτικές παραμέτρους του ελαιολάδου, ενώ διατείνονταν ότι οι μεταβολές που παρατηρούνταν στην οξύτητα οφείλονταν, σε μεγάλο βαθμό, στην αρχική κατάσταση του ελαίου και λιγότερο στην προσθήκη και τη συγκέντρωση του αρωματικού φυτού. Παρόμοια πορίσματα εξήγαγαν και οι Peres et al. (2021), οι οποίοι συνεκχύλισαν ελιές με ισπανική ματζουράνα (*Thymus mastichina* L.) και παρατήρησαν ότι η οξύτητα των εμπλουτισμένων ελαιολάδων που αποθηκεύτηκαν για 6 μήνες στο σκοτάδι παρέμεινε σχεδόν αμετάβλητη (0,17-0,21%).



### 5.1.2 Συντελεστές ειδικής απορρόφησης στο υπεριώδες K<sub>232</sub>, K<sub>270</sub> και δείκτης ΔK

Πίνακας 5.1.2. Οι συντελεστές ειδικής απορρόφησης των δειγμάτων ελαιολάδου στο υπεριώδες

Δείγματα ελαιολάδου	Συντελεστές ειδικής απορρόφησης στο υπεριώδες				
	K <sub>232</sub>	K <sub>270</sub>	K <sub>266</sub>	K <sub>274</sub>	ΔK
Δείγμα C <sub>0</sub>	1,26	0,10	0,10	0,09	0,000
Δείγμα A <sub>0</sub>	1,78	0,09	0,09	0,08	0,000
Δείγμα B <sub>0</sub>	1,45	0,18	0,19	0,17	-0,005
Δείγμα A <sub>14</sub>	2,25	0,15	0,23	0,15	-0,038
Δείγμα B <sub>14</sub>	1,37	0,24	0,22	0,24	0,016

Στον Πίνακα 5.1.2 παρατίθενται οι ειδικές αποσβέσεις K<sub>232</sub> και K<sub>270</sub>, καθώς και ο δείκτης ΔK των δειγμάτων ελαιολάδου που μελετήθηκαν. Επίσης, παρουσιάζονται οι αποσβέσεις K<sub>266</sub> και K<sub>274</sub>, οι οποίες χρησιμοποιήθηκαν για τον υπολογισμό του δείκτη ΔK. Ο προσδιορισμός των ειδικών αποσβέσεων K<sub>232</sub> και K<sub>270</sub> είναι αντιπροσωπευτικός της οξειδωτικής κατάστασης του ελαιολάδου. Πιο συγκεκριμένα, ο συντελεστής K<sub>232</sub> σχετίζεται με το σχηματισμό συζυγών διενίων, δηλαδή πρωτογενών προϊόντων οξείδωσης, ενώ ο K<sub>270</sub> με την παραγωγή δευτερογενών προϊόντων οξείδωσης όπως συζυγών τριενίων και καρβονυλικών ενώσεων. Οι ενώσεις αυτές είναι υπεύθυνες για την ανάπτυξη δυσάρεστων οσμών και γεύσεων στο ελαιόλαδο, καθιστώντας το μη ποιοτικό και ασφαλές για ανθρώπινη κατανάλωση (Asensio et al., 2013; Τσάκνης, 2018). Συγχρόνως, συνηθίζεται να πραγματοποιείται και ο προσδιορισμός του δείκτη ΔK που στο παρελθόν χρησιμοποιούνταν για τον έλεγχο νοθείας του ελαιολάδου, ενώ πλέον συγκαταλέγεται στις ποιοτικές παραμέτρους του (Τσάκνης, 2018) μαζί με τις ειδικές αποσβέσεις K<sub>232</sub>, K<sub>270</sub> και την οξύτητα.

Σύμφωνα με τα αποτελέσματα του Πίνακα 5.1.2, η ειδική απόσβεση K<sub>232</sub> σε όλα τα δείγματα δεν ξεπέρασε το 2,50, δηλαδή το ανώτατο επιτρεπτό όριο που έχει θεσπιστεί από το Διεθνές Συμβούλιο Ελαιολάδου (IOC) για την κατηγορία του «Εξαιρετικού Παρθένου Ελαιολάδου» (COI/T.15/NC No 3/Rev.19 2022, 2022).

Αναφορικά με την ειδική απόσβεση  $K_{270}$ , η τιμή της σε όλα τα δείγματα έμπιπτε στην κατηγορία του «Εξαιρετικού Παρθένου Ελαιολάδου», καθώς δεν ξεπερνούσε το ανώτατο όριο του 0,22. Εξαιρέση στο παραπάνω αποτέλεσε το δείγμα  $B_{14}$ , όπου  $0,24 > 0,22$  και άρα μεταβαίνει στην κατηγορία του «Παρθένου Ελαιολάδου» με ανώτατο αποδεκτό όριο το 0,26 (COI/T.15/NC No 3/Rev.19 2022, 2022).

Ως προς το δείκτη ΔΚ, όλα τα δείγματα βρίσκονταν εντός των θεσμοθετημένων προδιαγραφών για την κατηγορία «Εξαιρετικό Παρθένο Ελαιόλαδο», λαμβάνοντας τιμές κάτω του 0,01. Εξαιρέση αποτέλεσε και πάλι το δείγμα  $B_{14}$ , του οποίου ο δείκτης ΔΚ ξεπερνούσε ελάχιστα το προαναφερόμενο όριο ( $0,016 > 0,01$ ) και μετέπιπτε οριακά στην επόμενη κατηγορία του «Παρθένου Ελαιολάδου» (COI/T.15/NC No 3/Rev.19 2022, 2022).

Βάσει μελετών στο εν λόγω θέμα, η αύξηση των ειδικών αποσβέσεων  $K_{232}$  και  $K_{270}$  έπειτα από 14 ημέρες αποθήκευσης είναι αναμενόμενη. Πιο συγκεκριμένα, παρόμοια εξελικτική πορεία παρατηρήθηκε και σε ελαιόλαδα εμπλουτισμένα με ρίγανη τριών διαφορετικών συγκεντρώσεων στην έρευνα των Gambacorta et al. (2007). Όσον αφορά τη μείωση της ειδικής απόσβεσης  $K_{232}$  που παρατηρήθηκε στο δείγμα Β μετά από 14 ημέρες, θα μπορούσε να αποδοθεί στην αντιοξειδωτική δράση ορισμένων ενώσεων που προέρχονταν από τον εμπλουτιστικό παράγοντα και μετανάστευσαν στο ελαιόλαδο, ως αποτέλεσμα του εμπλουτισμού και της αποθήκευσης στο σκοτάδι (Ayadi et al., 2009). Ειδικότερα, οι Asensio et al. (2013) αναφέρουν ότι οι ισομερείς φαινόλες θυμόλη και καρβακρόλη και το μονοτερπένιο τερπινεν-4-όλη, που είναι χαρακτηριστικές ενώσεις του αιθέριου ελαίου του φυτού *Origanum majorana* L., διαθέτουν σημαντική αντιοξειδωτική δράση, ενώ οι Milenković et al. (2021) έκριναν την θυμόλη πιο αποτελεσματική στη δράση της λόγω της διαφορετικής θέσης του υδροξυλίου (-OH) σε σχέση με την καρβακρόλη. Στη μελέτη των Peres et al. (2021) γνωστοποιείται ότι εάν οι τιμές των ποιοτικών παραμέτρων των μη εμπλουτισμένων ελαιολάδων είναι εξαρχής σχετικά μεγάλες, τότε οι αντίστοιχες των εμπλουτισμένων πιθανόν να είναι μεγαλύτερες και να ξεπεράσουν τα ανώτατα νομοθετικά όρια για την κατηγορία «Εξαιρετικό Παρθένο Ελαιόλαδο». Κάτι ανάλογο παρατηρήθηκε και σε αυτή την έρευνα και πιο συγκεκριμένα στο συντελεστή  $K_{270}$  του δείγματος  $B_{14}$ , το οποίο κατέβηκε εμπορική κατηγορία χωρίς, όμως, να καθίσταται μη ποιοτικό ή ασφαλές για ανθρώπινη κατανάλωση. Αντιθέτως, στη μελέτη των Ayadi et al. (2009), οι τιμές των  $K_{232}$  και  $K_{270}$  που λήφθηκαν για

δείγματα ελαιολάδων εμπλουτισμένων με θυμάρι ήταν αισθητά μικρότερες σε σχέση με αυτές του μάρτυρα και η μείωση αυτή αποδόθηκε στην παρουσία πλήθους βιοδραστικών ενώσεων του εμπλουτιστικού παράγοντα, οι οποίες έδρασαν ως εξωγενή αντιοξειδωτικά με συνεργιστικό τρόπο, προστατεύοντας τα ενδογενή αντιοξειδωτικά του ελαιολάδου από την οξείδωση (Peñalvo et al., 2016). Τέλος, από την ίδια έρευνα εξάγεται το συμπέρασμα ότι τα εμπλουτισμένα και τα μη εμπλουτισμένα ελαιόλαδα παρουσιάζουν διαφορετική εξέλιξη και κινητική των αντιδράσεων που σχετίζονται με την αυτοοξείδωση.

### 5.1.3 Χρωματικές παράμετροι, χλωροφύλλη και β-καροτένιο

*Πίνακας 5.1.3.* Οι χρωματικές παράμετροι (R, Y, B και N), η χλωροφύλλη και το β-καροτένιο (ppb) των δειγμάτων ελαιολάδου στην κλίμακα Lovibond

Χρωματική κλίμακα	Χρωματικές παράμετροι	Δείγματα ελαιολάδου				
		C <sub>0</sub>	A <sub>0</sub>	B <sub>0</sub>	A <sub>14</sub>	B <sub>14</sub>
<b>Lovibond RBYN &amp; Chlorophyll</b>	<b>R</b>	1,0	1,2	1,3	1,3	1,2
	<b>Y</b>	35,5	35	35,5	36	38
	<b>B</b>	0	0	0	0	0
	<b>N</b>	0,3	0,3	0,8	0,6	0,5
	<b>Chlorophyll (ppb)</b>	6842	6863	6923	6861	7314
<b>Lovibond RBYN &amp; beta Carotene</b>	<b>R</b>	1,1	1,2	1,4	1,4	1,3
	<b>Y</b>	35,5	35	35,5	35,5	38
	<b>B</b>	0	0	0	0	0
	<b>N</b>	0,5	0,3	0,9	0,5	0,9
	<b>beta Carotene (ppb)</b>	44849	44855	45173	45045	46329

Στον Πίνακα 5.1.3 παρουσιάζονται οι χρωματικές παράμετροι Red (R), Yellow (Y), Blue (B) και Neutral (N) των μελετώμενων δειγμάτων ελαιολάδου. Επιπλέον, παρατίθενται η ποσότητα της χλωροφύλλης και του β-καροτενίου αυτών, εκφρασμένη

σε μέρη ανά δισεκατομμύριο (ppb). Όπως έχει ήδη αναφερθεί στο θεωρητικό μέρος, οι χλωροφύλλες και τα καροτενοειδή συνιστούν χρωστικές ουσίες του ελαιολάδου, στις οποίες αποδίδεται η πράσινη και η κίτρινη απόχρωσή του αντίστοιχα. Παράλληλα, λόγω της αντιοξειδωτικής τους δράσης στο σκοτάδι και της προ-οξειδωτικής τους δράσης στο φως επηρεάζουν σε ένα βαθμό την οξειδωτική του σταθερότητα (Ayadi et al., 2009; Kasimoglu et al., 2018). Συνολικά, το χρώμα του ελαιολάδου αποτελεί οργανοληπτικό χαρακτηριστικό μείζονος σημασίας για το καταναλωτικό κοινό, αν και δεν προσδιορίζεται βάσει της θεσμοθετημένης οργανοληπτικής αξιολόγησης (Ayadi et al., 2009; COI/T.20/Doc. No 5/Rev. 2 2020, 2020). Σύμφωνα με τους Brotosudarmo et al. (2018), οι χλωροπλάστες των φυτικών κυττάρων βιοσυνθέτουν τόσο χλωροφύλλες, όσο και καροτενοειδή. Δεδομένου, λοιπόν, ότι τα δείγματα Α και Β εμπλουτίστηκαν με ματζουράνα και μάλιστα το Β με μεγαλύτερη συγκέντρωση αυτής, η ποσότητα της χλωροφύλλης και του β-καροτενίου αναμένεται να ακολουθεί την εξής κατάταξη μεταξύ των δειγμάτων:  $B > A > C$ .

Παρατηρώντας τα αποτελέσματα του Πίνακα 5.1.3, την ημέρα του εμπλουτισμού πράγματι καταγράφηκε αύξηση της περιεχόμενης χλωροφύλλης στα εμπλουτισμένα δείγματα συγκριτικά με το μάρτυρα. Μετά από 14 ημέρες αποθήκευσης, τα επίπεδα της χλωροφύλλης στο  $A_{14}$  παρέμειναν σχετικά σταθερά, ενώ στο  $B_{14}$  εκχυλίστηκαν ακόμα 472 ppb χλωροφύλλης σε σχέση με το μάρτυρα και 391 ppb σε σχέση με το ίδιο δείγμα την ημέρα του εμπλουτισμού.

Όσον αφορά την ποσότητα του β-καροτενίου, την ημέρα του εμπλουτισμού παρατηρήθηκε, όπως αναμενόταν, αύξηση αυτής στα εμπλουτισμένα δείγματα συγκριτικά με το μάρτυρα. Ύστερα από 14 ημέρες αποθήκευσης, το β-καροτένιο του  $A_{14}$  ήταν αυξημένο κατά 196 ppb και 190 ppb σε σχέση με το μάρτυρα και με το  $A_0$ , αντίστοιχα. Συγχρόνως, στο  $B_{14}$  εκχυλίστηκαν ακόμα 1480 ppb β-καροτενίου συγκριτικά με το μάρτυρα και 1156 ppb συγκριτικά με το ίδιο δείγμα την ημέρα του εμπλουτισμού.

Παρόμοια ευρήματα στην περιεχόμενη χλωροφύλλη και β-καροτένιο, λόγω της προσθήκης εμπλουτιστικού παράγοντα, υπήρξε και στην έρευνα των Damechki et al. (2001). Πιο συγκεκριμένα, μελετήθηκε η επίδραση του εμπλουτισμού εξαιρετικού παρθένου ελαιολάδου με ρίγανη και δεντρολίβανο έπειτα από αποθήκευση αυτού υπό συνθήκες σκότους και φωτός. Στην περίπτωση της αποθήκευσης στο σκοτάδι,

παρατηρήθηκε σταδιακή αύξηση των χρωστικών τόσο με την προσθήκη ρίγανης όσο και με την προσθήκη δεντρολίβανου, μόνο που με το τελευταίο η παρατηρούμενη αύξηση ήταν πιο μικρή. Σε άλλη μελέτη, οι Keramat et al. (2018) εμπλούτισαν παρθένο ελαιόλαδο με το αιθέριο έλαιο του αρωματικού φυτού *Zataria multiflora* B., που ανήκει στην οικογένεια των Χειλανθών, και παρατήρησαν ότι μετά από 16 ημέρες αποθήκευσης οι περιεχόμενες στα εμπλουτισμένα δείγματα χρωστικές αυξήθηκαν συγκριτικά με το μάρτυρα, αλλά παρέμειναν στατιστικά σταθερές σε σχέση με τις αντίστοιχες την ημέρα 0.

## 5.2 Προσδιορισμός πτητικών ενώσεων με αέρια χρωματογραφία-φασματομετρία μάζας

Πίνακας 5.2. Οι πτητικές ενώσεις (mg/kg) που ταυτοποιήθηκαν στα δείγματα ελαιολάδου

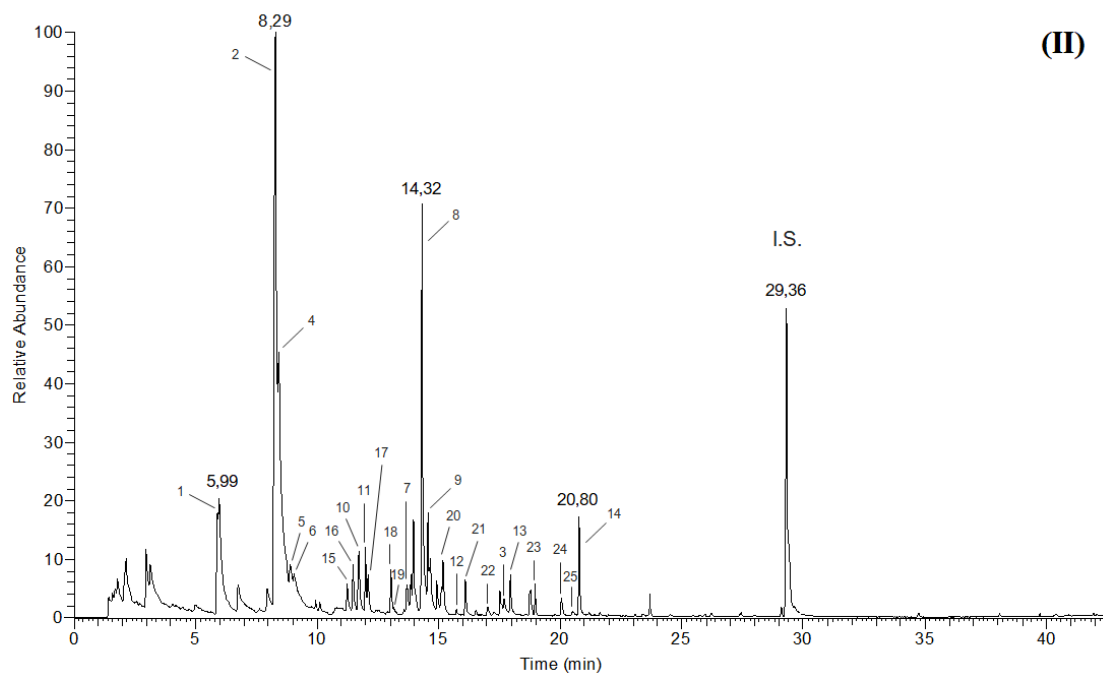
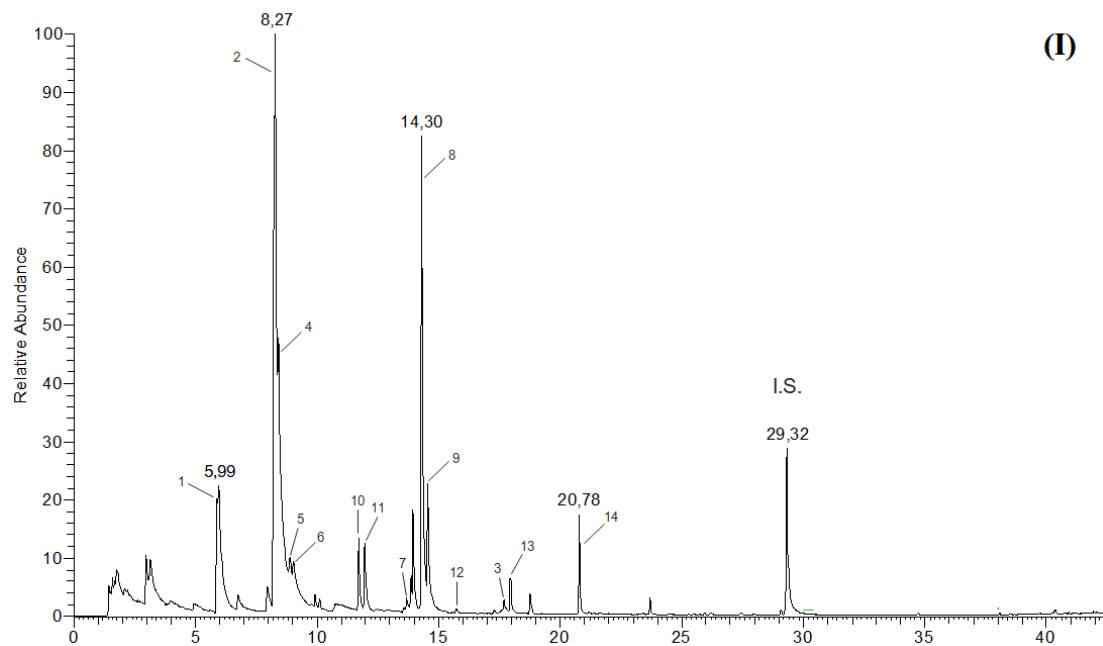
Κορυφή	Πτητική ένωση	RI πειρ.	RI βιβλ.	RT	Δείγματα ελαιολάδου					
					C <sub>0</sub> (mg/kg)	C <sub>14</sub> (mg/kg)	A <sub>0</sub> (mg/kg)	A <sub>14</sub> (mg/kg)	B <sub>0</sub> (mg/kg)	B <sub>14</sub> (mg/kg)
<b>Αλδεΐδες</b>										
1	cis-3-εξενάλη	<800	797	5,91	6,33 ± 2,01	4,88 ± 0,43	7,91 ± 0,30	4,87 ± 0,10	7,14 ± 1,50	3,89 ± 0,90
2	trans-2-εξενάλη	849	846	8,28	49,51 ± 13,31	64,92 ± 0,98	70,06 ± 5,94	72,79 ± 1,58	75,87 ± 15,49	62,25 ± 6,40
3	Νονανάλη	1105	1100	17,69	1,35 ± 0,03	1,70 ± 0,06	1,98 ± 0,13	1,76 ± 0,01	2,03 ± 1,12	2,15 ± 0,06
<b>Σύνολο:</b>					<b>57,19 ± 26,48</b>	<b>71,50 ± 35,62</b>	<b>79,95 ± 37,71</b>	<b>79,42 ± 40,14</b>	<b>85,04 ± 41,24</b>	<b>68,29 ± 34,21</b>
<b>Αλκοόλες</b>										
4	3-εξεν-1-όλη	852	847	8,42	42,45 ± 16,28	55,35 ± 4,63	58,36 ± 4,70	52,09 ± 2,40	59,41 ± 15,20	44,25 ± 6,49
5	trans-2-εξεν-1-όλη	864	851	8,90	5,96 ± 1,82	6,84 ± 1,03	7,91 ± 0,62	6,80 ± 0,56	7,35 ± 1,62	6,03 ± 1,14
6	1-εξανόλη	868	863	9,06	10,44 ± 4,88	13,47 ± 0,83	14,33 ± 1,34	11,78 ± 1,85	12,54 ± 2,71	10,22 ± 0,84
<b>Σύνολο:</b>					<b>58,85 ± 19,90</b>	<b>75,66 ± 26,30</b>	<b>80,60 ± 27,46</b>	<b>70,67 ± 24,84</b>	<b>79,30 ± 28,68</b>	<b>60,50 ± 20,96</b>

Κετόνες										
7	6-μεθυλο-5-επτεν-2- όνη	984	989	13,57	<b>0,22 ± 0,01</b>	<b>0,25 ± 0,02</b>	<b>0,17 ± 0,03</b>	<b>0,30 ± 0,09</b>	<b>0,25 ± 0,11</b>	<b>0,33 ± 0,02</b>
Εστέρες										
8	Οξικός cis-3- εξενυλεστέρας	1004	1004	14,31	30,38 ± 8,32	34,37 ± 2,52	39,65 ± 5,12	35,12 ± 2,01	35,62 ± 10,67	32,65 ± 3,07
9	Οξικός εξυλεστέρας	1012	1007	14,57	10,28 ± 3,09	12,82 ± 1,05	10,32 ± 1,55	10,15 ± 3,04	9,07 ± 0,11	7,22 ± 0,72
<b>Σύνολο:</b>					<b>40,66 ± 14,21</b>	<b>47,19 ± 15,24</b>	<b>49,97 ± 20,74</b>	<b>45,27 ± 17,66</b>	<b>44,69 ± 18,77</b>	<b>39,87 ± 17,98</b>
Υδρογονάνθρακες										
10	3-αιθυλο-1,5- οκταδιένιο ισομερές 1	936	930	11,73	3,83 ± 1,22	4,61 ± 0,59	5,23 ± 0,53	4,57 ± 0,24	5,04 ± 1,59	3,93 ± 0,30
11	3-αιθυλο-1,5- οκταδιένιο ισομερές 2	943	930	12,00	4,12 ± 1,33	4,90 ± 0,63	4,80 ± 0,40	4,03 ± 0,10	4,35 ± 1,15	3,36 ± 0,27
12	trans-β-οκιμένιο	1047	1044	15,74	0,26 ± 0,05	0,42 ± 0,04	0,40 ± 0,05	0,36 ± 0,00	0,45 ± 0,11	0,36 ± 0,02
13	2-αιθενυλο-1,1- διμεθυλο-3-μεθυλενο- κυκλοεξάνιο	1114	–	17,96	2,43 ± 0,40	2,92 ± 0,19	3,26 ± 0,05	2,60 ± 0,02	3,19 ± 1,30	2,81 ± 0,12
14	Μεθυλοκυκλοδεκάνιο	1205	1202	20,79	4,42 ± 0,95	5,11 ± 0,25	5,74 ± 0,25	4,19 ± 0,11	6,43 ± 2,05	5,73 ± 0,33
<b>Σύνολο:</b>					<b>15,06 ± 1,72</b>	<b>17,96 ± 1,97</b>	<b>19,43 ± 2,16</b>	<b>15,75 ± 1,73</b>	<b>19,46 ± 6,67</b>	<b>16,19 ± 1,95</b>

Τερπένια										
15	α-θουγένιο	923	920	11,25	–	–	2,72 ± 0,42	4,22 ± 0,31	2,46 ± 0,87	3,34 ± 0,14
16	α-πινένιο	929	932	11,50	–	–	1,67 ± 0,24	2,56 ± 0,27	3,84 ± 1,14	3,38 ± 0,06
17	Καμφένιο	946	946	12,11	–	–	1,54 ± 0,03	1,83 ± 0,11	3,47 ± 1,17	2,51 ± 0,15
18	Σαβινένιο	970	969	13,04	–	–	2,87 ± 0,11	6,23 ± 0,18	3,19 ± 0,51	5,67 ± 0,50
19	β-πινένιο	974	974	13,22	–	–	0,24 ± 0,03	0,32 ± 0,05	0,29 ± 0,40	0,37 ± 0,11
20	Ευκαλυπτόλη	1028	1026	15,17	–	–	3,76 ± 0,76	3,89 ± 0,79	3,42 ± 2,85	5,08 ± 0,14
21	γ-τερπινένιο	1085	1086	16,12	–	–	2,86 ± 0,32	4,52 ± 0,03	2,73 ± 0,78	3,67 ± 0,28
22	Τερπινολένιο	1085	1086	17,03	–	–	0,69 ± 0,00	1,00 ± 0,01	0,68 ± 0,21	0,79 ± 0,00
23	(+)-καμφορά	1146	1141	18,97	–	–	0,71 ± 0,01	0,77 ± 0,01	1,98 ± 0,60	1,58 ± 0,02
24	(-)-τερπινεν-4-όλη	1181	1174	20,05	–	–	1,52 ± 0,03	2,76 ± 0,03	1,71 ± 0,60	3,69 ± 0,17
25	α-τερπινεόλη	1196	1186	20,52	–	–	0,37 ± 0,07	0,58 ± 0,03	0,50 ± 0,30	1,14 ± 0,06
<b>Σύνολο:</b>					–	–	<b>18,95 ± 1,18</b>	<b>28,68 ± 1,92</b>	<b>24,27 ± 1,27</b>	<b>31,22 ± 1,73</b>
<b>Ολικό πτητικό κλάσμα:</b>					<b>171,98 ± 27,15</b>	<b>212,56 ± 34,22</b>	<b>249,07 ± 34,01</b>	<b>240,09 ± 31,03</b>	<b>253,01 ± 34,11</b>	<b>216,40 ± 25,87</b>

Τα αποτελέσματα που παρουσιάζονται αφορούν το μέσο όρο ± τυπική απόκλιση (n = 2). Οι επισημασμένες με bold μαύρο χρώμα μετρήσεις πρόκειται για το άθροισμα των ενώσεων κάθε κατηγορίας την ημέρα του εμπλουτισμού, ενώ οι επισημασμένες με bold πορτοκαλί χρώμα το άθροισμα μετά από 14 ημέρες αποθήκευσης.





**Σχήμα 5.2.** Χρωματογραφήματα (I) μη εμπλουτισμένου δείγματος ελαιολάδου (C<sub>0</sub>) και (II) δείγματος ελαιολάδου εμπλουτισμένου με τη διπλάσια ποσότητα ματζουράνας (B<sub>0</sub>). Η αρίθμηση των κορυφών αντιστοιχεί σε αυτή των ενώσεων του Πίνακα 5.2. (I.S.: εσωτερικό πρότυπο).

Στον Πίνακα 5.2 παρουσιάζονται οι πτητικές ενώσεις των δειγμάτων ελαιολάδου που ανιχνεύτηκαν και ημι-ποσοτικοποιήθηκαν με βάση το εσωτερικό πρότυπο β-ιονόνη, εκφρασμένες σε mg ανά kg δείγματος. Τα πτητικά συστατικά ανήκουν στις τάξεις των αλδευδών, αλκοολών, κετονών, εστέρων, υδρογονανθράκων και τερπενίων και είναι τοποθετημένα σε κάθε μία από αυτές κατά σειρά αυξανόμενου χρόνου έκλυσης.

Επιπρόσθετα, παρατίθενται τα χρωματογραφήματα του μάρτυρα και του δείγματος εμπλουτισμένου με 40 g/L ματζουράνας (B<sub>0</sub>). Όπως έχει ήδη αναφερθεί στο θεωρητικό μέρος, τόσο το ελαιόλαδο όσο και η ματζουράνα περιέχουν πολυάριθμες πτητικές ενώσεις, οι οποίες διαμορφώνουν το ξεχωριστό οργανοληπτικό προφίλ τους. Στο ελαιόλαδο τα επικρατέστερα πτητικά είναι αυτά που προκύπτουν ενζυμικά μέσω της οδού της λιποξυγενάσης, όπως είναι οι αλδεΐδες 1 και 2, οι αλκοόλες 4-6 και οι εστέρες 8 και 9 του Πίνακα 5.2, ενώ το πτητικό κλάσμα της ματζουράνας συνίσταται από τερπένια, όπως είναι οι ενώσεις 15-25 του ίδιου πίνακα.

Την ημέρα του εμπλουτισμού, παρατηρήθηκε ότι μεγαλύτερη ολική συγκέντρωση αλδεϋδών παρουσίαζε το δείγμα με τη διπλάσια ποσότητα ματζουράνας (B<sub>0</sub>), ακολουθούμενο από αυτό με τη μισή ποσότητα (A<sub>0</sub>) και τελικά από το μάρτυρα. Ειδικότερα, το B<sub>0</sub> αύξησε συνολικά τις αλδεΐδες κατά 49% περίπου συγκριτικά με το μάρτυρα, ενώ το A<sub>0</sub> κατά 40% περίπου. Ωστόσο, η συγκέντρωση των αλδεϋδών δε φάνηκε να ακολουθεί το ίδιο μοτίβο μετά από 14 ημέρες αποθήκευσης. Πιο συγκεκριμένα, μεγαλύτερη ολική συγκέντρωση αυτών παρουσίαζε το δείγμα με τη μισή ποσότητα (A<sub>14</sub>), ύστερα το δείγμα με τη διπλάσια (B<sub>14</sub>), ενώ ο μάρτυρας παρουσίαζε τη μικρότερη. Κατά τη σύγκριση των δύο χρονικών περιόδων για κάθε δείγμα, παρατηρήθηκε ότι οι αλδεΐδες του μάρτυρα συνολικά αυξήθηκαν στο μεσοδιάστημα 0-14 ημερών κατά 25% περίπου, ενώ των εμπλουτισμένων δειγμάτων (A και B) μειώθηκαν κατά 0,7% και 20% περίπου, αντίστοιχα.

Βάσει των αποτελεσμάτων που αφορούν τις πτητικές αλκοόλες, την ημέρα του εμπλουτισμού τα δείγματα A και B αύξησαν συνολικά τις αλκοόλες κατά το ίδιο περίπου ποσοστό σε σχέση με το μάρτυρα (37% και 35% αντίστοιχα). Παρ'όλα αυτά, έπειτα από 14 ημέρες αποθήκευσης ο μάρτυρας ήταν αυτός με τη μεγαλύτερη ολική συγκέντρωση αλκοολών και μετά ακολουθούσαν, κατά φθίνουσα σειρά συγκέντρωσης, τα δείγματα A και B. Συγκρίνοντας τις δύο χρονικές περιόδους για κάθε δείγμα, παρατηρήθηκε και πάλι ότι το σύνολο των αλκοολών του μάρτυρα αυξήθηκε στο μεσοδιάστημα 0-14 ημερών κατά 29% περίπου, ενώ των εμπλουτισμένων δειγμάτων μειώθηκε κατά 12% και 24% περίπου, αντίστοιχα.

Αναφορικά με τη μοναδική κετόνη που ανιχνεύτηκε, την 6-μεθυλο-5-επτεν-2-όνη, την ημέρα του εμπλουτισμού η συγκέντρωσή της ήταν μεγαλύτερη στο δείγμα B<sub>0</sub>, έπειτα στο μάρτυρα και μικρότερη ήταν στο δείγμα A<sub>0</sub>. Ωστόσο, η παραπάνω

εικόνα διέφερε ύστερα από 14 ημέρες αποθήκευσης, καθώς το B<sub>14</sub> αύξησε την κετόνη αυτή κατά 32% περίπου συγκριτικά με το μάρτυρα, ενώ το A<sub>14</sub> κατά 20% περίπου. Κατά τη σύγκριση των δύο χρονικών περιόδων για κάθε δείγμα, παρατηρήθηκε ότι η 6-μεθυλο-5-επτεν-2-όνη τόσο του μάρτυρα, όσο και των εμπλουτισμένων δειγμάτων αυξήθηκε στο μεσοδιάστημα 0-14 ημερών κατά 14%, 76% και 32% περίπου, αντίστοιχα.

Την ημέρα του εμπλουτισμού, παρατηρήθηκε ότι το δείγμα A αύξησε συνολικά τους εστέρες κατά 23% περίπου σε σχέση με το μάρτυρα, ενώ το δείγμα B κατά 10% περίπου. Παρ'όλα αυτά, έπειτα από 14 ημέρες αποθήκευσης ο μάρτυρας ήταν αυτός με τη μεγαλύτερη ολική συγκέντρωση εστέρων και μετά ακολουθούσαν κατά φθίνον τρόπο τα δείγματα A και B. Συγκρίνοντας τις δύο χρονικές περιόδους για κάθε δείγμα, παρατηρήθηκε ότι το σύνολο των εστέρων του μάρτυρα αυξήθηκε στο μεσοδιάστημα 0-14 ημερών κατά 16% περίπου, ενώ των εμπλουτισμένων δειγμάτων μειώθηκε κατά 9% και 11% περίπου, αντίστοιχα.

Παρατηρώντας τα αποτελέσματα που αφορούν τους πτητικούς υδρογονάνθρακες, την ημέρα του εμπλουτισμού τα δείγματα A<sub>0</sub> και B<sub>0</sub> αύξησαν συνολικά τους υδρογονάνθρακες με τον ίδιο τρόπο (κατά 29%) συγκριτικά με το μάρτυρα. Ωστόσο, η συμπεριφορά των δειγμάτων φάνηκε να είναι διαφορετική ύστερα από 14 ημέρες αποθήκευσης. Ειδικότερα, μεγαλύτερη ολική συγκέντρωση αυτών παρουσίαζε ο μάρτυρας, έπειτα ακολουθούσε το δείγμα με τη διπλάσια ποσότητα ματζουράνας (B<sub>14</sub>), ενώ αυτό με τη μισή ποσότητα (A<sub>14</sub>) παρουσίαζε τη μικρότερη. Κατά τη σύγκριση των δύο χρονικών περιόδων για κάθε δείγμα, παρατηρήθηκε και πάλι ότι οι υδρογονάνθρακες του μάρτυρα αυξήθηκαν στο μεσοδιάστημα 0-14 ημερών κατά 19% περίπου, ενώ των εμπλουτισμένων δειγμάτων μειώθηκαν κατά το ίδιο περίπου ποσοστό (19% και 17% αντίστοιχα).

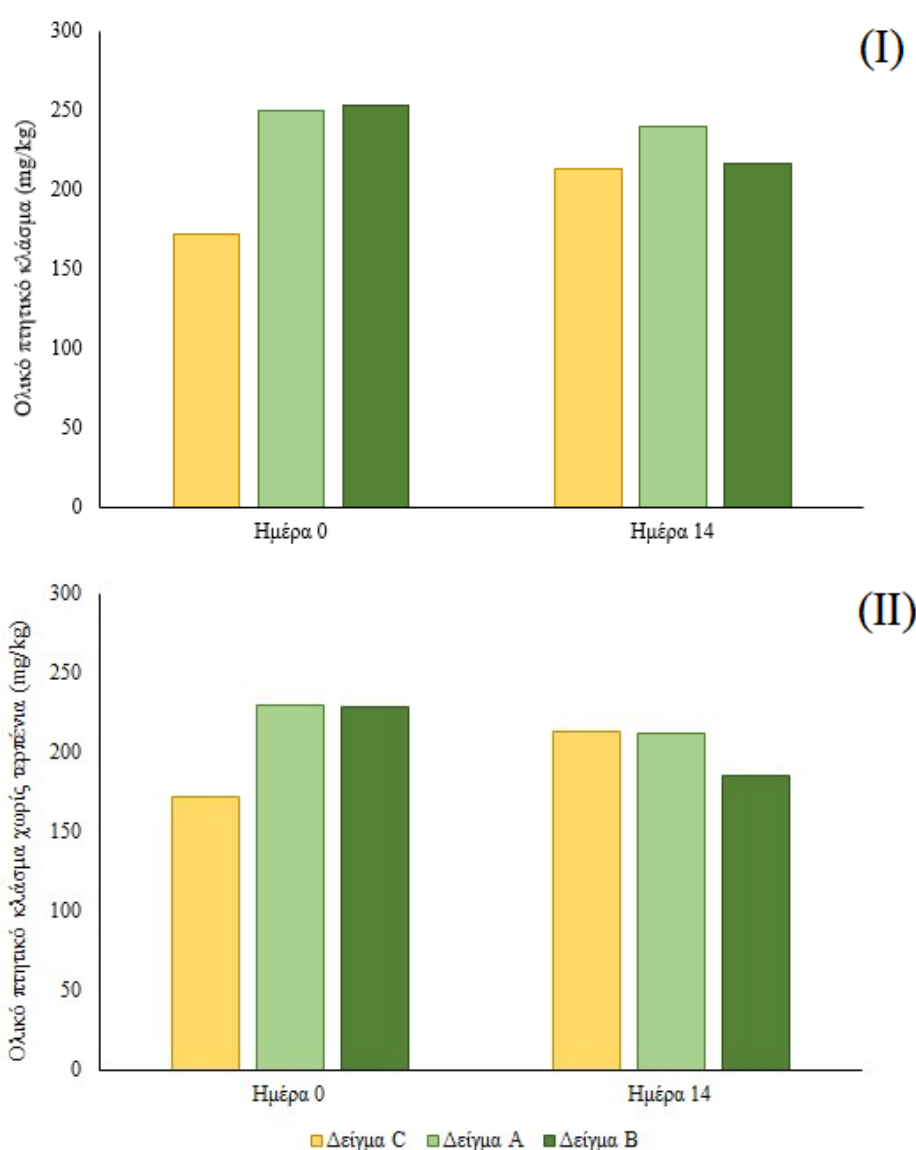
Η αύξηση του συνόλου των πτητικών αλδευδών, αλκοολών και εστέρων που παρατηρήθηκε στο μάρτυρα με την πάροδο του χρόνου αναφέρεται ως εύρημα και σε έρευνα της Kotsiou & Tasioula-Margari (2014), οι οποίες μελέτησαν την επίδραση του χρόνου αποθήκευσης στις πτητικές ενώσεις παρθένων ελαιολάδων από διαφορετικές ποικιλίες ελιάς. Αυτό που παρατήρησαν ήταν ότι σε όλες τις ποικιλίες, συμπεριλαμβανομένης και της Κορωνέϊκης, οι προαναφερόμενες ενώσεις συνολικά αυξήθηκαν τους πρώτους 6 μήνες αποθήκευσης. Συνεπώς, τα ευρήματα για τις

αυξημένες αλδεΐδες, αλκοόλες και εστέρες του C<sub>14</sub> θα μπορούσαν να αποδοθούν στην ποικιλία της ελιάς. Επιπλέον, η μείωση του ολικού περιεχομένου σε αλδεΐδες, αλκοόλες, εστέρες και υδρογονάνθρακες που παρατηρήθηκε στα εμπλουτισμένα δείγματα ελαιολάδου πιθανόν να οφείλεται σε απώλεια πτητικών κατά την αποθήκευση (Soares et al., 2020).

Όσον αφορά τα τερπένια, δηλαδή τα πτητικά που δεν απαντώνται φυσικά στο ελαιόλαδο αλλά προέρχονται από τη ματζουράνα, παρατηρήθηκε ότι και στις δύο χρονικές περιόδους το δείγμα Β παρουσίαζε μεγαλύτερη ολική συγκέντρωση αυτών σε σχέση με το Α, το οποίο ήταν αναμενόμενο μιας και περιέχει τη διπλάσια ποσότητα ματζουράνας. Συγκρίνοντας τις δύο χρονικές περιόδους, παρατηρήθηκε αύξηση των τερπενίων κατά 51% μεταξύ του δειγμάτων Α<sub>14</sub> και Α<sub>0</sub> και κατά 29% περίπου μεταξύ των Β<sub>14</sub> και Β<sub>0</sub>. Παρόλο που το ποσοστό αύξησης των ενώσεων αυτών στο Β<sub>14</sub> ήταν μικρότερο από ότι στο Α<sub>14</sub>, το ολικό του περιεχόμενο παρέμενε μεγαλύτερο. Όπως έχει ήδη αναφερθεί στο θεωρητικό μέρος, τα τερπένια της ματζουράνας χαρακτηρίζονται από διάφορες βιολογικές δράσεις όπως αντιμικροβιακή, αντιοξειδωτική, αντιφλεγμονώδη, καθώς και από αναλγητική, αντιπυρετική, κατά του έλκους κ.ά. (Bouyahya et al., 2021). Αυτό καταδεικνύει ότι ο εμπλουτισμός ελαιολάδου με αρωματικά φυτά συμβάλει στην ενίσχυση όχι μόνο του οργανοληπτικού του προφίλ, αλλά και των οφελών στην υγεία του καταναλωτή. Τα ανιχνευόμενα τερπένια 15-25 του Πίνακα 5.2 έχουν όλα ταυτοποιηθεί, εξίσου, και από άλλους επιστήμονες (Sellami et al., 2009; Bina & Rahimi, 2016; Kakouri et al., 2022; Şarer et al., 1982; Daferera et al., 2000).

Απ'όλες τις πτητικές ενώσεις που ανιχνεύτηκαν στην εν λόγω εργασία, αυτές που βρέθηκαν σε υψηλότερες συγκεντρώσεις σε όλα τα δείγματα ελαιολάδου ήταν η αλδεΐδη *trans*-2-εξενάλη, οι αλκοόλες 3-εξεν-1-όλη και 1-εξανόλη και οι εστέρες οξικός *cis*-3-εξενυλεστέρας και οξικός εξυλεστέρας. Η *trans*-2-εξενάλη παράγεται από την *cis*-3-εξενάλη κατά την οδό της λιποξυγενάσης, ύστερα από την επίδραση του ενζύμου ισομεράση (Genovese et al., 2021) και ευθύνεται για την αρωματική νότα 'πικραμύγδαλο', 'πικρό', 'πράσινο', 'κομμένο γρασίδι' και 'πράσινο μήλο' του ελαιολάδου (Kiritsakis, 1998; Kotsiou & Tasioula-Margari, 2015). Ως προς τις αλκοόλες 3-εξεν-1-όλη και 1-εξανόλη της οδού της λιποξυγενάσης, αυτές χαρακτηρίζονται από μικρότερη οργανοληπτική σημασία σε σχέση με την *trans*-2-εξενάλη, λόγω του υψηλότερου κατωφλιού οσμής τους (Kotsiou & Tasioula-Margari, 2015). Παρ'όλα αυτά, στην 3-εξεν-1-όλη αποδίδεται το άρωμα της 'μπανάνας', της

‘πράσινης μπανάνας’ και του ‘πράσινου’ του ελαιολάδου, ενώ στην 1-εξανόλη αυτό του ‘φρουτώδους’, του ‘αρωματικού’, του ‘μαλακού’ και του ‘πράσινου’ (Kiritsakis, 1998; Kotsiou & Tasioula-Margari, 2015). Ο οξικός cis-3-εξενυλεστέρας και ο οξικός εξυλεστέρας προκύπτουν από την cis-3-εξεν-1-όλη και την 1-εξανόλη αντίστοιχα, έπειτα από την επίδραση του ενζύμου αλκοολική ακυλτρανσφεράση κατά την οδό της λιποξυγενάσης (Genovese et al., 2021). Οι αρωματικές νότες που προσφέρουν οι προαναφερόμενοι εστέρες στο ελαιόλαδο χαρακτηρίζονται ως ‘πράσινη μπανάνα’, ‘πράσινα φύλλα’, ‘πράσινη’, ‘φρουτώδης’, ‘λουλουδάτη’ και ‘γλυκιά’ (Kotsiou & Tasioula-Margari, 2015).



**Διάγραμμα 5.2.** Η μεταβολή του ολικού πτητικού κλάσματος των δειγμάτων ελαιολάδου στις μελετώμενες χρονικές περιόδους (I) συμπεριλαμβανόμενων των τερπενίων της ματζουράνας, (II) χωρίς να συμπεριλαμβάνονται τα τερπένια της ματζουράνας.

### 5.3 Ολικό φαινολικό περιεχόμενο, αντιριζική και αντιοξειδωτική δράση

Πίνακας 5.3. Το ολικό φαινολικό περιεχόμενο, η αντιριζική και η αντιοξειδωτική δράση των δειγμάτων ελαιολάδου

Δείγματα ελαιολάδου	Ολικό φαινολικό περιεχόμενο (mg GAE/g δείγματος) Μέσος όρος ± Τυπική απόκλιση (n = 7)	Αντιριζική δράση (mg Trolox/g δείγματος) Μέσος όρος ± Τυπική απόκλιση (n = 3)	Αντιοξειδωτική δράση (mg Fe <sup>2+</sup> /g δείγματος) Μέσος όρος ± Τυπική απόκλιση (n = 3)
Δείγμα C <sub>0</sub>	0,15 ± 0,03 <sup>a</sup>	0,20 ± 0,01 <sup>ab</sup>	1,35 ± 0,10 <sup>ab</sup>
Δείγμα A <sub>0</sub>	0,19 ± 0,05 <sup>b</sup>	0,19 ± 0,01 <sup>a</sup>	1,58 ± 0,14 <sup>b</sup>
Δείγμα B <sub>0</sub>	0,22 ± 0,02 <sup>b</sup>	0,24 ± 0,01 <sup>b</sup>	1,40 ± 0,10 <sup>ab</sup>
Δείγμα A <sub>14</sub>	0,19 ± 0,02 <sup>ab</sup>	0,21 ± 0,02 <sup>ab</sup>	1,42 ± 0,10 <sup>ab</sup>
Δείγμα B <sub>14</sub>	0,15 ± 0,02 <sup>a</sup>	0,20 ± 0,01 <sup>a</sup>	1,24 ± 0,05 <sup>a</sup>

Διαφορετικά γράμματα μετά από κάθε τιμή κατά μήκος της ίδιας στήλης υποδεικνύουν στατιστικά σημαντική διαφορά (p < 0,05).

Στον Πίνακα 5.3 παρατίθενται τα αποτελέσματα του ολικού φαινολικού περιεχομένου με τη μέθοδο Folin-Ciocalteu, καθώς και της αντιριζικής και αντιοξειδωτικής δράσης με τις δοκιμές ABTS<sup>+</sup> και FRAP, εκφρασμένα σε mg GAE ανά g δείγματος, mg Trolox ανά g δείγματος και mg Fe<sup>2+</sup> ανά g δείγματος αντίστοιχα. Όπως έχει ήδη αναφερθεί στο θεωρητικό μέρος, τόσο το ελαιόλαδο όσο και η ματζουράνα περιέχουν ποικίλες ενώσεις με αντιριζική και αντιοξειδωτική δράση, με τις κυριότερες να είναι οι φαινολικές. Αν και οι προαναφερόμενες δράσεις περιγράφουν διαφορετικές αρχές δραστηριότητας, και οι δύο χαρακτηρίζουν την ικανότητα μιας ουσίας ή ενός μίγματος ουσιών να ενεργεί ως αντιοξειδωτικό (Kuraeva & Kotenkova, 2021). Γενικά, τα αντιοξειδωτικά έχουν την ικανότητα να τερματίζουν τις αλυσιδωτές αντιδράσεις που ξεκινούν λόγω παραγωγής ελεύθερων ριζών κατά την οξείδωση, αναστέλλοντας περαιτέρω αντιδράσεις και επεκτείνοντας με τον τρόπο αυτό τη διάρκεια ζωής του ελαιολάδου στο ράφι (Τσάκνης, 2018; Basuny, 2019).

Παρατηρώντας τα αποτελέσματα της μεθόδου Folin-Ciocalteu, φαίνεται πως την ημέρα του εμπλουτισμού το δείγμα B<sub>0</sub> χαρακτηρίζονταν από στατιστικά με-

γαλύτερο ολικό φαινολικό περιεχόμενο σε σχέση με το μάρτυρα, αλλά όχι σε σχέση με το A<sub>0</sub> όπως αναμενόταν. Την ίδια συμπεριφορά παρουσίασε και το δείγμα A<sub>0</sub> συγκριτικά με το μάρτυρα. Το αυξημένο ολικό φαινολικό περιεχόμενο (TPC) των εμπλουτισμένων δειγμάτων, όμως, δεν συσχετίζεται με τα αποτελέσματα των δοκιμών ABTS<sup>•+</sup> και FRAP. Αυτό πιθανόν να οφείλεται σε δύο παράγοντες: αφενός, μπορεί οι φαινολικές ενώσεις να συνιστούν κύριους εκπροσώπους των αντιοξειδωτικών, αλλά δεν είναι οι μοναδικοί συνεισφέροντες (Sousa et al., 2015; Baiano et al., 2009). Συνεπώς, άλλες ενώσεις θα μπορούσαν να έχουν αντισταθμίσει αυτή την αύξηση, διατηρώντας τη συνολική αντιριζική και αντιοξειδωτική δράση σταθερή. Αφετέρου, οι δράσεις αυτές των φαινολικών εξαρτώνται όχι μόνο από τη συγκέντρωσή τους, αλλά και από την ειδική χημική δομή τους (π.χ βαθμός υδροξυλίωσης, έκταση συζυγίας κ.ά.) (Baiano et al., 2009; Moazzen et al., 2022). Έτσι, μπορεί μεν η συγκέντρωση των ολικών φαινολικών να αυξήθηκε, αλλά η δομή τους να μην ευνόησε την αντιοξειδωτική ή αντιριζική δράση τους. Έπειτα από 14 ημέρες αποθήκευσης, δεν παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά στο ολικό φαινολικό περιεχόμενο του δείγματος B<sub>14</sub> και του μάρτυρα. Αυτό που παρατηρήθηκε, παρ'όλα αυτά, ήταν ότι το B<sub>14</sub> χαρακτηριζόταν από στατιστικά μικρότερο TPC σε σχέση με το B<sub>0</sub>. Σύμφωνα με την Kotsiou & Tasioula-Margari (2016), οι φαινολικές ενώσεις του ελαιολάδου υφίστανται ποιοτικές και ποσοτικές μεταβολές κατά την αποθήκευση, λόγω διάφορων αντιδράσεων που λαμβάνουν χώρα όπως οξειδωτικές, υδρολυτικές κ.ά. Συνεπώς, ενδέχεται οι φαινολικές ενώσεις του ελαιολάδου ή και της ματζουράνας του B<sub>14</sub> να μειώθηκαν με την πάροδο του χρόνου, έχοντας αντίκτυπο στο συνολικό του TPC. Όσον αφορά το δείγμα με τη μισή ποσότητα ματζουράνας (A<sub>14</sub>) και λαμβάνοντας υπόψη τη στατιστική, το ολικό φαινολικό του περιεχόμενο μετά την αποθήκευση δεν ήταν σημαντικά διαφορετικό από αυτό του μάρτυρα, αλλά ούτε και από αυτό που παρουσίαζε την ημέρα του εμπλουτισμού.

Βάσει των αποτελεσμάτων της μεθόδου ABTS<sup>•+</sup>, την ημέρα του εμπλουτισμού το δείγμα B<sub>0</sub> χαρακτηρίζονταν από στατιστικά μεγαλύτερη αντιριζική δράση συγκριτικά με το A<sub>0</sub>, αλλά όχι σε σχέση με το μάρτυρα όπως αναμενόταν. Την ίδια συμπεριφορά παρουσίασε και το δείγμα A<sub>0</sub> συγκριτικά με το μάρτυρα. Ύστερα από 14 ημέρες αποθήκευσης, παρατηρήθηκε ότι η αντιριζική δράση του δείγματος B<sub>14</sub> διέφερε στατιστικά σημαντικά από αυτή του μάρτυρα. Ωστόσο, παρουσίαζε στατιστικά μικρότερη αντιριζική δράση συγκριτικά με το B<sub>0</sub>. Το εύρημα αυτό πιθανόν να οφείλεται

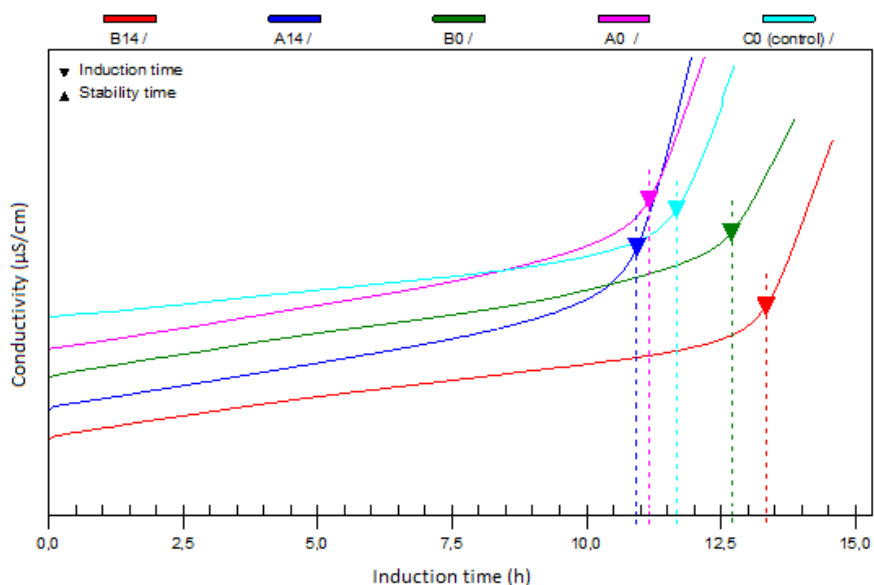
στο ότι οι αντιριζικές ενώσεις του ελαιολάδου, ή και της ματζουράνας, του B<sub>14</sub> υπέστησαν αποικοδόμηση κατά την αποθήκευση (Haouhay et al., 2016). Αναφορικά με το δείγμα με τη μισή ποσότητα ματζουράνας (A<sub>14</sub>), η αντιριζική του δράση μετά την αποθήκευση δεν ήταν στατιστικά διαφορετική από αυτή του μάρτυρα, αλλά ούτε και από αυτή που παρουσίαζε την ημέρα του εμπλουτισμού.

Από τα αποτελέσματα της δοκιμής FRAP και λαμβάνοντας υπόψη τη στατιστική, φαίνεται πως δεν υπήρξε σημαντική διαφορά στην αντιοξειδωτική δράση ούτε μεταξύ των εμπλουτισμένων δειγμάτων, αλλά ούτε και μεταξύ αυτών και του μάρτυρα σε καμία από τις δύο χρονικές περιόδους.

## 5.4 Εκτίμηση της οξειδωτικής σταθερότητας

**Πίνακας 5.4.** Ο χρόνος επαγωγής (h) των δειγμάτων ελαιολάδου με τη μέθοδο Rancimat

Δείγματα ελαιολάδου	Χρόνος επαγωγής (h)
Δείγμα C <sub>0</sub>	11,67
Δείγμα A <sub>0</sub>	11,16
Δείγμα B <sub>0</sub>	12,70
Δείγμα A <sub>14</sub>	10,94
Δείγμα B <sub>14</sub>	13,34



**Διάγραμμα 5.4.** Μεταβολή της ηλεκτρικής αγωγιμότητας του νερού συναρτήσει του χρόνου επαγωγής των δειγμάτων ελαιολάδου.



Στη μέθοδο Rancimat, όπως έχει ήδη αναφερθεί στο υποκεφάλαιο 4.9, η ηλεκτρική αγωγιμότητα του νερού που υπάρχει στα δοχεία μέτρησης παραμένει σταθερή, έως ότου παραχθούν τα δευτερογενή προϊόντα οξείδωσης των δειγμάτων όπου και αυξάνεται απότομα. Η μεταβολή αυτή παρουσιάζεται στο Διάγραμμα 5.4. Στον Πίνακα 5.4 παρατίθενται οι χρόνοι επαγωγής των δειγμάτων ελαιολάδου, εκφρασμένοι σε ώρες. Ο χρόνος επαγωγής ενός δείγματος είναι ενδεικτικός της οξειδωτικής του σταθερότητας που σημαίνει ότι όσο μεγαλύτερος είναι, τόσο πιο σταθερό είναι το δείγμα κατά την οξείδωση. Ένα προϊόν με αυξημένη οξειδωτική σταθερότητα χαρακτηρίζεται, κατά ακολουθία, και από μεγαλύτερη διάρκεια ζωής στο ράφι (Lamas et al., 2022; Baiano et al., 2010).

Κατά τον εμπλουτισμό, ενώσεις με αντιοξειδωτική δράση μεταναστεύουν από τον εμπλουτιστικό παράγοντα στο ελαιόλαδο, ενισχύοντας με τον τρόπο αυτό τη σταθερότητα του ενάντια στο φαινόμενο της οξείδωσης (Rodrigues et al., 2021; Ayadi et al., 2009; Baiano et al., 2009). Άρα, την ημέρα του εμπλουτισμού μεγαλύτερη οξειδωτική σταθερότητα αναμένεται να παρουσιάζει το δείγμα με τη διπλάσια ποσότητα ματζουράνας ( $B_0$ ), έπειτα να ακολουθεί το δείγμα με τη μισή ποσότητα ( $A_0$ ) και τελικά ο μάρτυρας ( $C_0$ ). Πράγματι, παρατηρήθηκε ότι το δείγμα  $B_0$  ήταν οξειδωτικά σταθερότερο από το μάρτυρα, καθώς ο χρόνος επαγωγής του ήταν κατά 9% περίπου αυξημένος. Ωστόσο, το δείγμα  $A_0$  δεν παρουσίασε μεγαλύτερη σταθερότητα στην οξείδωση από το μάρτυρα, όπως αναμενόταν. Σύμφωνα με τους Sousa et al. (2015), η αυξημένη σταθερότητα στην οξείδωση συσχετίζεται περισσότερο με αυξημένο φαινολικό περιεχόμενο. Έτσι, το εύρημα για το  $B_0$  θα μπορούσε να αποδοθεί στο αυξημένο TPC του, που παρατηρείται από τα αποτελέσματα της ανάλυσης Folin-Ciocalteu (Πίνακας 5.3). Ύστερα από 14 ημέρες αποθήκευσης, παρατηρήθηκε ότι το δείγμα  $B_{14}$  ήταν οξειδωτικά σταθερότερο τόσο από το μάρτυρα όσο και από το  $B_0$ , μιας και ο χρόνος επαγωγής του ήταν κατά 14% και 5% περίπου αυξημένος, αντίστοιχα. Ωστόσο, το δείγμα  $A_{14}$  δεν παρουσίασε μεγαλύτερη σταθερότητα στην οξείδωση ούτε από το μάρτυρα, αλλά ούτε και από το  $A_0$  όπως αναμενόταν. Η αυξημένη οξειδωτική σταθερότητα του  $B_{14}$  δε φαίνεται να συνάδει με το φαινολικό του περιεχόμενο, όπως συνέβαινε την ημέρα του εμπλουτισμού (Πίνακας 5.3). Στην περίπτωση αυτή, το εύρημα για το δεδομένο δείγμα θα μπορούσε να αποδοθεί σε άλλες ενώσεις, διαφορετικές των φαινολικών (Sousa et al., 2015).

## Συμπεράσματα

Συνοψίζοντας, ο εμπλουτισμός Εξαιρετικού Παρθένου Ελαιολάδου με υπέργεια τμήματα του φυτού *O. majorana* οδήγησε στα εξής συμπεράσματα:

Όσον αφορά τις ποιοτικές παραμέτρους του ελαιολάδου:

- Η οξύτητα των εμπλουτισμένων δειγμάτων παρέμεινε στατιστικά σταθερή, με την προσθήκη είτε 20 g/L είτε 40 g/L ματζουράνας, διατηρώντας τα στην εμπορική κατηγορία «Εξαιρετικό Παρθένο Ελαιόλαδο» και στις δύο χρονικές περιόδους.
- Οι ειδικές αποσβέσεις  $K_{232}$ ,  $K_{270}$  και ο δείκτης ΔΚ αυξήθηκαν στα δείγματα Α και Β τόσο την ημέρα 0 όσο και την ημέρα 14, παραμένοντας, ωστόσο, εντός των ορίων για την εμπορική κατηγορία «Εξαιρετικό Παρθένο Ελαιόλαδο». Εξαίρεση στο παραπάνω αποτέλεσε το δείγμα Β<sub>14</sub>, του οποίου οι τιμές  $K_{270}$  και ΔΚ ξεπέρασαν ελάχιστα τα θεσμοθετημένα όρια, με αποτέλεσμα να μεταβαίνει στην επόμενη ποιοτική κατηγορία.
- Οι χρωματικές παράμετροι, η περιεχόμενη χλωροφύλλη, αλλά και το β-καροτένιο αυξήθηκαν στα εμπλουτισμένα δείγματα και στις δύο χρονικές περιόδους, ιδίως με την προσθήκη των 40 g/L ματζουράνας.

Αναφορικά με το πτητικό προφίλ:

- Η ματζουράνα προσέδωσε στα δείγματα Α και Β ποίκιλα τερπένια, τα οποία συνέβαλαν στην ενίσχυση του οργανοληπτικού προφίλ και της βιοδραστικότητας του ελαιολάδου. Συγκεκριμένα, οι ενώσεις αυτές συνολικά αυξήθηκαν και στα δύο δείγματα στο μεσοδιάστημα 0-14 ημερών, με το δείγμα Β να διατηρεί την υψηλότερη συγκέντρωση και στις δύο χρονικές περιόδους. Από την άλλη, ο εμπλουτισμός είχε θετική επίδραση την ημέρα 0 στις πτητικές ενώσεις που απαντώνται φυσικά στο ελαιόλαδο, αλλά όχι μετά από 14 ημέρες αποθήκευσης.

Ως προς το ολικό φαινολικό περιεχόμενο, την αντιριζική και την αντιοξειδωτική δράση:

- Καμία από τις δύο συγκεντρώσεις ματζουράνας δεν επηρέασε σημαντικά το ολικό φαινολικό περιεχόμενο, την αντιριζική και την αντιοξειδωτική δράση των εμπλουτισμένων δειγμάτων, αφού έπειτα από 14 ημέρες αποθήκευσης μειώθηκαν ή διατηρήθηκαν σταθερά.

Όσον αφορά την οξειδωτική σταθερότητα:

- Η μεγαλύτερη συγκέντρωση ματζουράνας (40 g/L) επέφερε αύξηση της οξειδωτικής σταθερότητας του ελαιολάδου και στα δύο χρονικά διαστήματα που μελετήθηκαν.

## **Υποδείξεις για περαιτέρω έρευνα**

Η μελέτη του εμπλουτισμού ελαιολάδου με ματζουράνα παρουσιάζει ιδιαίτερο ενδιαφέρον τόσο από ερευνητικής πλευράς, όσο και σε βιομηχανικό επίπεδο με σκοπό τη μαζική παραγωγή ενός τέτοιου προϊόντος. Γι' αυτό, προτείνεται η πραγματοποίηση περαιτέρω ερευνητικής δραστηριότητας, εφαρμόζοντας διαφορετικές συνθήκες. Ειδικότερα, θα μπορούσαν να διεξαχθούν πειράματα με περισσότερες μελετώμενες συγκεντρώσεις ματζουράνας (π.χ. μεταξύ 20–40 g/L, >40 g/L), ώστε να διερευνηθεί εκτενέστερα η επίδραση του εμπλουτιστικού παράγοντα, αλλά και ποια συγκέντρωση παρουσιάζει τις βέλτιστες και επιθυμητές τιμές ως προς κάποια συγκεκριμένη ιδιότητα του εμπλουτισμένου ελαιολάδου. Επιπλέον, η παράταση του χρόνου αποθήκευσης και κατ' επέκταση των αναλύσεων που πραγματοποιήθηκαν κρίνεται απαραίτητη, καθώς θα παρουσίαζε μεγάλο ενδιαφέρον ο τρόπος με τον οποίο θα μεταβάλλονταν πολλές από τις ανωτέρω τιμές με την επίδραση του χρόνου. Ακόμη, η περαιτέρω ενασχόληση και με τις υπόλοιπες μεθόδους εμπλουτισμού που προαναφέρθηκαν στο υποκεφάλαιο 2.4 θα οδηγούσε σε σαφή συμπεράσματα, όσον αφορά τη βελτιστοποίηση των διαδικασιών παραγωγής του εν λόγω προϊόντος σε βιομηχανική κλίμακα. Τέλος, προτείνεται η προσθήκη ματζουράνας και σε ελαιόλαδα διαφορετικής κατηγορίας (π.χ. εξευγενισμένο) ή ακόμα και σε άλλου είδους έλαια (π.χ. πυρηνέλαιο), ώστε να μελετηθεί η επίδραση του εμπλουτισμού στα χαρακτηριστικά αυτών των ελαίων.

## Βιβλιογραφικές αναφορές

### ΞΕΝΟΓΛΩΣΣΕΣ

1. Abenoza, M., & Sánchez-Gimeno, A. C. (2021). Increasing the stability of Empeltre olive oils by aromatization with rosemary (*Rosmarinus officinalis*) and garlic (*Allium sativum*). *International Journal of Gastronomy and Food Science*, 24, 100333. <https://doi.org/10.1016/j.ijgfs.2021.100333>
2. Adams, R. P. (2007). Identification of Essential Oil Components By Gas Chromatography/Mass Spectrometry. 4<sup>th</sup> ed. Allured, Carol Stream, IL
3. Ambrosewicz-Walacik, M., & Tańska, M. (2015). Stability of flavored olive oils under different storage conditions. ResearchGate. Retrieved from [https://www.researchgate.net/publication/306287206\\_Stability\\_of\\_flavored\\_olive\\_oils\\_under\\_different\\_storage\\_conditions](https://www.researchgate.net/publication/306287206_Stability_of_flavored_olive_oils_under_different_storage_conditions)
4. Andreou, V., Strati, I. F., Fotakis, C., Liouni, M., Zoumpoulakis, P., & Sinanoglou, V. J. (2018). Herbal distillates: A new era of grape marc distillates with enriched antioxidant profile. *Food Chemistry*, 253, 171–178. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.01.162>
5. Aparicio, R., & Harwood, J. L. (2013). Handbook of olive Oil. *Springer eBooks*. <https://doi.org/10.1007/978-1-4614-7777-8>
6. Arnold, N., Bellomaria, B., Valentini, G., & Arnold, H. (1993). Comparative Study of the Essential Oils from Three Species of Origanum Growing Wild in the Eastern Mediterranean Region. *Journal of Essential Oil Research*, 5(1), 71–77. <https://doi.org/10.1080/10412905.1993.9698172>
7. Asensio, C. M., Nepote, V., & Grosso, N. (2011). Chemical Stability of Extra-Virgin Olive Oil Added with Oregano Essential Oil. *Journal of Food Science*, 76(7), S445–S450. <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2011.02332.x>
8. Asensio, C. M., Nepote, V., & Grosso, N. (2013). Consumers' acceptance and quality stability of olive oil flavoured with essential oils of different oregano species. *International Journal of Food Science and Technology*, n/a. <https://doi.org/10.1111/ijfs.12233>
9. Assami, K., Chemat, S., Meklati, B. Y., & Chemat, F. (2015). Ultrasound-Assisted Aromatisation with Condiments as an Enabling Technique for Olive Oil

- Flavouring and Shelf Life Enhancement. *Food Analytical Methods*, 9(4), 982–990. <https://doi.org/10.1007/s12161-015-0273-9>
10. Ayadi, M., Grati-Kamoun, N., & Attia, H. (2009). Physico-chemical change and heat stability of extra virgin olive oils flavoured by selected Tunisian aromatic plants. *Food and Chemical Toxicology*, 47(10), 2613–2619. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2009.07.024>
  11. Azmir, J., Zaidul, I., Rahman, M. M., Sharif, K., Mohamed, A. S., Sahena, F., Jahurul, M. H. A., Ghafoor, K., Norulaini, N. A. N., & Omar, A. (2013). Techniques for extraction of bioactive compounds from plant materials: A review. *Journal of Food Engineering*, 117(4), 426–436. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2013.01.014>
  12. Baâtour, O., Tarchoune, I., Mahmoudi, H., Nassri, N., Abidi, W., Kaddour, R., Hamdaoui, G., Nasri-Ayachi, M., Lachaâl, M., & Marzouk, B. (2012). Culture conditions and salt effects on essential oil composition of sweet marjoram (*Origanum majorana*) from Tunisia. *Acta Pharmaceutica*, 62(2), 251–261. <https://doi.org/10.2478/v10007-012-0019-9>
  13. Baiano, A., Gambacorta, G., & La Notte, E. (2010). Aromatization of olive oil. ResearchGate. Retrieved from [https://www.researchgate.net/publication/285828043\\_Aromatization\\_of\\_olive\\_oil](https://www.researchgate.net/publication/285828043_Aromatization_of_olive_oil)
  14. Baiano, A., Terracone, C., Gambacorta, G., & La Notte, E. (2009). Changes in Quality Indices, Phenolic Content and Antioxidant Activity of Flavored Olive Oils during Storage. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 86(11), 1083. <https://doi.org/10.1007/s11746-009-1446-8>
  15. Baranauskienė, R., Venskutonis, P. R., & Demyttenaere, J. (2005). Sensory and instrumental evaluation of sweet marjoram (*Origanum majorana* L.) aroma. *Flavour and Fragrance Journal*, 20(5), 492–500. <https://doi.org/10.1002/ffj.1478>
  16. Başer, K. H. C., Kırimer, N., & Tümen, G. (1993). Composition of the Essential Oil of *Origanum majorana* L. from Turkey. *Journal of Essential Oil Research*, 5(5), 577–579. <https://doi.org/10.1080/10412905.1993.9698283>
  17. Basuny, A. M. (2019). Antioxidants in olive oil. In IntechOpen eBooks. <https://doi.org/10.5772/intechopen.84540>
  18. Benmoussa, H., Farhat, A., Elfalleh, W., Di Maio, I., Servili, M., & Romdhane, M. (2016). A Rapid Application to Flavor the Olive Oil with Dried *Rosmarinus*

- officinalis L. Leaves: Microwave-Assisted Maceration. *Journal of Food Processing and Preservation*, 41(3), e12885. <https://doi.org/10.1111/jfpp.12885>
19. Bina, F., & Rahimi, R. (2016). Sweet Marjoram. *Journal of Evidence-Based Complementary & Alternative Medicine*, 22(1), 175–185. <https://doi.org/10.1177/2156587216650793>
20. Bobiano, M., Rodrigues, N., Madureira, M., Dias, L. G., Veloso, A. C. A., Pereira, J. A., & Peres, A. M. (2019). Unmasking Sensory Defects of Olive Oils Flavored with Basil and Oregano Using an Electronic Tongue-Chemometric Tool. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 96(7), 751–760. <https://doi.org/10.1002/aocs.12249>
21. Boskou, D. (2011). Olive Oil. In *Wiley-Blackwell eBooks* (pp. 243–271). <https://doi.org/10.1002/9781444339925.ch9>
22. Boskou, D. (2015). Olive and olive oil bioactive constituents. ResearchGate. Retrieved from [https://www.researchgate.net/publication/303431184\\_Olive\\_and\\_Olive\\_Oil\\_Bioactive\\_Constituents](https://www.researchgate.net/publication/303431184_Olive_and_Olive_Oil_Bioactive_Constituents)
23. Boskou, D., Blekas, G., & Tsimidou, M. Z. (2006). Olive Oil Composition. In *AOCS Press eBooks* (pp. 41–72). <https://doi.org/10.1016/b978-1-893997-88-2.50008-0>
24. Bouyahya, A., Chamkhi, I., Benali, T., Guaouguaou, F., Balahbib, A., Omari, N. E., Taha, D., Belmehdi, O., Ghokhan, Z. & Menyiy, N. E. (2021). Traditional use, phytochemistry, toxicology, and pharmacology of *Origanum majorana* L. *Journal of Ethnopharmacology*, 265, 113318. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2020.113318>
25. Brotosudarmo, T. H. P., Limantara, L., Chandra, R. D., & Heriyanto. (2018). Chloroplast pigments: Structure, function, assembly and characterization. In *IntechOpen eBooks*. <https://doi.org/10.5772/intechopen.75672>
26. Caporaso, N., Paduano, A., Nicoletti, G., & Sacchi, R. (2013). Capsaicinoids, antioxidant activity, and volatile compounds in olive oil flavored with dried chili pepper (*Capsicum annuum*). *European Journal of Lipid Science and Technology*, 115(12), 1434–1442. <https://doi.org/10.1002/ejlt.201300158>
27. Cerretani, L., & Bendini, A. (2010). Rapid assays to evaluate the antioxidant capacity of phenols in virgin olive oil. In *Elsevier eBooks* (pp. 625–635). <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-374420-3.00067-x>

28. Charai, M., Mosaddak, M., & Faid, M. (1996). Chemical Composition and Antimicrobial Activities of Two Aromatic Plants: *Origanum majorana* L. and *O. compactum* Benth. *Journal of Essential Oil Research*, 8(6), 657–664.  
<https://doi.org/10.1080/10412905.1996.9701036>
29. Clodoveo, M. L., Dipalmo, T., Crupi, P., Durante, V., Pesce, V., Maiellaro, I., Lovece, A., Mercurio, A., Laghezza, A., Corbo, F., & Franchini, C. (2016). Comparison between different flavored olive oil production techniques: healthy value and process efficiency. *Plant Foods for Human Nutrition*, 71(1), 81–87.  
<https://doi.org/10.1007/s11130-016-0528-7>
30. Cognitive Market Research. (2021). Infused Olive Oil Market Report 2023, Market size, share, growth, CAGR, Forecast, revenue. Retrieved from <https://www.cognitivemarketresearch.com/infused-olive-oil-market-report>
31. Daferera, D., Ziogas, B. N., & Polissiou, M. G. (2000). GC-MS Analysis of Essential Oils from Some Greek Aromatic Plants and Their Fungitoxicity on *Penicillium digitatum*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48(6), 2576–2581. <https://doi.org/10.1021/jf990835x>
32. Damechki, M., Sotiropoulou, S., & Tsimidou, M. Z. (2001). Antioxidant and pro-oxidant factors in oregano and rosemary gourmet olive oils. *Grasas Y Aceites*, 52(3–4). <https://doi.org/10.3989/gya.2001.v52.i3-4.359>
33. Dataintelo. (2021). Infused Olive Oil Sales Market Report | Global Forecast From 2023 To 2031. Retrieved from <https://dataintelo.com/report/global-infused-olive-oil-sales-market/?fbclid=IwAR0KjRjnIhFJQ6VP8t7mb1EZ8FmWt1c-S8pcUM4N9paEre6mWZpjQ-rRzCw>
34. De La Lastra, C. A., Barranco, M., Motilva, V., & Jm, H. (2001). Mediterranean Diet and Health Biological Importance of Olive Oil. *Current Pharmaceutical Design*, 7(10), 933–950. <https://doi.org/10.2174/1381612013397654>
35. De Martino, L., De Feo, V., Formisano, C., Mignola, E., & Senatore, F. (2009). Chemical Composition and Antimicrobial Activity of the Essential Oils from Three Chemotypes of *Origanum vulgare* L. ssp. *hirtum* (Link) Ietswaart Growing Wild in Campania (Southern Italy). *Molecules*, 14(8), 2735–2746.  
<https://doi.org/10.3390/molecules14082735>
36. Finicelli, M., Squillaro, T., Galderisi, U., & Peluso, G. (2021). Polyphenols, the healthy brand of olive oil: Insights and perspectives. *Nutrients*, 13(11), 3831.  
<https://doi.org/10.3390/nu13113831>

37. Fischer, N., Nitz, S., & Drawert, F. (1987). Original flavour compounds and the essential oil composition of marjoram (*Majorana hortensis moench*). *Flavour and Fragrance Journal*, 2(2), 55–61. <https://doi.org/10.1002/ffj.2730020204>
38. Franco Pérez, M. Y, Benito Moreno, J. M., & Escudero Barbero, I. (2018). Extraction and recovery of phenolic compounds from olive leaves. Retrieved from <https://riubu.ubu.es/handle/10259/4930>
39. Gambacorta, G., Faccia, M., Pati, S., Lamacchia, C., Baiano, A., & La Notte, E. (2007). CHANGES IN THE CHEMICAL AND SENSORIAL PROFILE OF EXTRA VIRGIN OLIVE OILS FLAVORED WITH HERBS AND SPICES DURING STORAGE. *Journal of Food Lipids*, 14(2), 202–215. <https://doi.org/10.1111/j.1745-4522.2007.00080.x>
40. Genovese, A., Caporaso, N., & Sacchi, R. (2021). Flavor Chemistry of virgin olive oil: An Overview. *Applied Sciences*, 11(4), 1639. <https://doi.org/10.3390/app11041639>
41. González-Gamallo, S., Desamparados Salvador, M. L. E., & Fregapane, G. (2021). Design and characteristics of novel sensory and nutritionally oriented olive, seed, and nut virgin oils' blendings. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 123(8), 2100008. <https://doi.org/10.1002/ejlt.202100008>
42. Gray, D., Brameld, J. M., & Tucker, G. E. (2012). Vitamins C and E. *Phytonutrients*, 146–172. <https://doi.org/10.1002/9781118253649.ch5>
43. Gruschow, A. (2020). A Comparison of Antioxidant Potential, Total Phenolic Content, and Cannabidiol (CBD) Content of Cannabis Infused Hemp, MCT, and Olive Oils. *Theses, Dissertations and Culminating Projects*. 472. <https://digitalcommons.montclair.edu/etd/472>
44. Guo, Z., Xiangze, J., Zheng, Z., Lu, X., Zheng, Y., Zheng, B., & Xiao, J. (2017). Chemical composition and nutritional function of olive (*Olea europaea* L.): a review. *Phytochemistry Reviews*, 17(5), 1091–1110. <https://doi.org/10.1007/s11101-017-9526-0>
45. Haouhay, H. E., Sanchez, C. S., Asehraou, A., Mir, M. V., & De La Serrana, H. L. G. (2016). Effects of Storage Conditions on Antioxidant Capacity of Olive Oil Produced in Mills without Auto-Control Systems. Retrieved from <https://austinpublishinggroup.com/food-sciences/fulltext/afs-v1-id1016.php>
46. Hossain, M. B., Brunton, N. P., Barry-Ryan, C., Martin-Diana, A. B., & Wilkinson, M. G. (2008). Antioxidant activity of spice extracts and phenolics in



- comparison to synthetic antioxidants. ResearchGate. Retrieved from [https://www.researchgate.net/publication/230667265\\_Antioxidant\\_activity\\_of\\_spiice\\_extracts\\_and\\_phenolics\\_in\\_comparison\\_to\\_synthetic\\_antioxidant](https://www.researchgate.net/publication/230667265_Antioxidant_activity_of_spiice_extracts_and_phenolics_in_comparison_to_synthetic_antioxidant)
47. International Olive Council. (2021). Olive oil. Retrieved from <https://www.internationaloliveoil.org/olive-world/olive-oil/>
48. International Olive Council. (2017). COI/T.20/Doc. No 34/Rev. 1 2017. Determination of Free Fatty Acids, cold method. Retrieved from <https://www.internationaloliveoil.org/wp-content/uploads/2019/11/COI-T.20-Doc.-No-34-Rev.-1-2017.pdf>
49. International Olive Council. (2019). COI/T.20/Doc. No. 19/Rev. 5 2019. Spectrophotometric investigation in the ultraviolet. Retrieved from <https://www.internationaloliveoil.org/wp-content/uploads/2019/11/Method-COI-T.20-Doc.-No-19-Rev.-5-2019-2.pdf>
50. International Olive Council. (2020). COI/T.20/Doc. No. 5/Rev. 2 2020. Sensory analysis of olive oil standard glass for oil tasting. Retrieved from <https://www.internationaloliveoil.org/wp-content/uploads/2020/05/COI-T.20-Doc5-Rev2-2020-EN.pdf>
51. International Olive Council. (2022). COI/T.15/NC No. 3/Rev. 19 2022. Trade standard applying to olive oils and olive pomace oils. Retrieved from [https://www.internationaloliveoil.org/wp-content/uploads/2022/12/Norme-commerciale-REV-19\\_ENK.pdf](https://www.internationaloliveoil.org/wp-content/uploads/2022/12/Norme-commerciale-REV-19_ENK.pdf)
52. Issaoui, M., Flamini, G., Hajajj, M. E., Cioni, P. L., & Hammami, M. (2011). Oxidative evolution of virgin and flavored olive oils under thermo-oxidation processes. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 88(9), 1339–1350. <https://doi.org/10.1007/s11746-011-1800-5>
53. Kalua, C. M., Allen, M. S., Bedgood, D. R., Bishop, A. G., Prenzler, P. D., & Robards, K. (2007). Olive oil volatile compounds, flavour development and quality: A critical review. *Food Chemistry*, 100(1), 273–286. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.09.059>
54. Kakouri, E., Daferera, D., Kanakis, C. D., Revelou, P.K., Kaparakou, E. H., Dervisoglou, S., Perdikis, D. & Tarantilis, P. A. (2022). Origanum majorana Essential Oil—A Review of Its Chemical Profile and Pesticide Activity. *Life*, 12(12), 1982. <https://doi.org/10.3390/life12121982>

55. Kasimoglu, Z., Tontul, I., Soylu, A., Gulen, K., & Topuz, A. (2018). The oxidative stability of flavoured virgin olive oil: the effect of the water activity of rosemary. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 12(3), 2080–2086. <https://doi.org/10.1007/s11694-018-9822-4>
56. Keramat, M., Golmakani, M., Aminlari, M., & Shekarforoush, S. S. (2018). Improving Oxidative Stability of Virgin Olive Oil: Comparison of Zataria Multiflora Essential Oil with  $\alpha$ -Tocopherol. *Nutrition and Food Sciences Research*, 5(2), 19–28. <https://doi.org/10.29252/nfsr.5.2.19>
57. Kiritsakis, A. (1998). Flavor components of olive oil-A review. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 75(6), 673–681. <https://doi.org/10.1007/s11746-998-0205-6>
58. Kiritsakis, A., & Markakis, P. (1988). Olive oil: A review. In *Advances in food research* (pp. 453–482). Academic Press. [https://doi.org/10.1016/s0065-2628\(08\)60170-6](https://doi.org/10.1016/s0065-2628(08)60170-6)
59. Kishimoto, N., & Kashiwagi, A. (2020). Evaluation of the Process of Flavoring Olive Oil with Garlic. *Food Science and Technology Research*, 26(5), 605–610. <https://doi.org/10.3136/fstr.26.605>
60. Komaitis, M., Ifanti-Papatragianni, N., & Melissari-Panagiotou, E. (1992). Composition of the essential oil of marjoram (*Origanum majorana* L.). *Food Chemistry*, 45(2), 117–118. [https://doi.org/10.1016/0308-8146\(92\)90020-3](https://doi.org/10.1016/0308-8146(92)90020-3)
61. Kotsiou, K., & Tasioula-Margari, M. (2014). Changes occurring in the volatile composition of Greek virgin olive oils during storage: Oil variety influences stability. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 117(4), 514–522. <https://doi.org/10.1002/ejlt.201400231>
62. Kotsiou, K., & Tasioula-Margari, M. (2016). Monitoring the phenolic compounds of Greek extra-virgin olive oils during storage. *Food Chemistry*, 200, 255–262. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.12.090>
63. Kraśniewska, K., Kosakowska, O., Pobiega, K., & Gniewosz, M. (2020). The Influence of Two-Component Mixtures from Spanish Origanum Oil with Spanish Marjoram Oil or Coriander Oil on Antilisterial Activity and Sensory Quality of a Fresh Cut Vegetable Mixture. *Foods*, 9(12), 1740. <https://doi.org/10.3390/foods9121740>

64. Kupaeva, N. V., & Kotenkova, E. (2021). Current view on the assessment of antioxidant and antiradical activities: A mini review. *IOP Conference Series*, 854(1), 012048. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/854/1/012048>
65. Lamas, S. C., Rodrigues, N. M. M., Peres, A. M., & Pereira, J. A. (2022). Flavoured and fortified olive oils - Pros and cons. *Trends in Food Science and Technology*, 124, 108–127. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2022.04.013>
66. Lamuela-Raventós, R. M. (2017). Folin-Ciocalteu method for the measurement of total phenolic content and antioxidant capacity. In John Wiley & Sons, Ltd eBooks (pp. 107–115). <https://doi.org/10.1002/9781119135388.ch6>
67. Lantzouraki, D. Z., Sinanoglou, V. J., Zoumpoulakis, P., Glamočlija, J., Ćirić, A., Soković, M., Heropoulos, G., & Proestos, C. (2015). Antiradical–antimicrobial activity and phenolic profile of pomegranate (*Punica granatum* L.) juices from different cultivars: a comparative study. *RSC Advances*, 5(4), 2602–2614. <https://doi.org/10.1039/c4ra11795f>
68. Lantzouraki, D. Z., Sinanoglou, V. J., Zoumpoulakis, P., & Proestos, C. (2016). Comparison of the Antioxidant and Antiradical Activity of Pomegranate (*Punica granatum* L.) by Ultrasound-Assisted and Classical Extraction. *Analytical Letters*, 49(7), 969–978. <https://doi.org/10.1080/00032719.2015.1038550>
69. London IOOC. (2021). Infused olive oil competition – Infused (flavored) olive oil. Retrieved from [https://www.londonoliveoil.com/infused-olive-oils-competition/?fbclid=IwAR1rjhqXdraerj2E25RA28jT-f2loXsYwjlbnDUUA3BBdG6AalKm7xVN\\_FU](https://www.londonoliveoil.com/infused-olive-oils-competition/?fbclid=IwAR1rjhqXdraerj2E25RA28jT-f2loXsYwjlbnDUUA3BBdG6AalKm7xVN_FU)
70. Lovibond. (2016). Understanding Colour Communication. Retrieved from [https://www.lovibond.com/file-download/f24061\\_en](https://www.lovibond.com/file-download/f24061_en)
71. Manual 743 Rancimat. (2021). Retrieved from <https://www.metrohm.com/en/products/8/7438/87438003.html>
72. Marx, Í. M. G. (2023). Co-extraction technique Improves functional capacity and health-related benefits of olive oils: a mini review. *Foods*, 12(8), 1667. <https://doi.org/10.3390/foods12081667>
73. Milenković, L., Ilić, Z. S., Šunić, L., Tmušić, N., Stanojević, L. P., Stanojević, J., & Cvetković, D. (2021). Modification of light intensity influence essential oils content, composition and antioxidant activity of thyme, marjoram and oregano. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 28(11), 6532–6543. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2021.07.018>

74. Moazzen, A., Öztinen, N., Ak-Sakalli, E., & Koşar, M. (2022). Structure-antiradical activity relationships of 25 natural antioxidant phenolic compounds from different classes. *Heliyon*, 8(9), e10467. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2022.e10467>
75. Muzammil, S., Kanwal, H., Shahzad, T., Hussain, S., Nadeem, H., Rasul, I., Imran, M., Afzal, M., Iftikhar, K., & Siddique, M. H. (2021). Olive oil. In Elsevier eBooks (pp. 17–29). <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-821886-0.00009-9>
76. NutrientOptimiser. (n.d.). Nutrition facts for marjoram, recommended daily values and analysis. Retrieved from <https://nutrientoptimiser.com/nutritional-value-spices-marjoram-dried/>
77. Opitz, S. E. W., Smrke, S., Goodman, B. A., & Yeretizian, C. (2014). Methodology for the measurement of antioxidant capacity of coffee. In Elsevier eBooks (pp. 253–264). <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-404738-9.00026-x>
78. Paiva-Martins, F., & Kiritsakis, A. (2017). Olive fruit and olive oil composition and their functional compounds. In John Wiley & Sons, Ltd eBooks (pp. 81–115). <https://doi.org/10.1002/9781119135340.ch5>
79. Peñalvo, G. C., Robledo, V. R., Callado, C. S., Santander-Ortega, M. J., Castro-Vázquez, L., Lozano, M., & Arroyo-Jiménez, M. (2016). Improving green enrichment of virgin olive oil by oregano. Effects on antioxidants. *Food Chemistry*, 197, 509–515. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.11.002>
80. Peres, F. C., Roldão, M., Mourato, M., Martins, L. L., & Ferreira-Dias, S. (2021). Co-Processed Olive Oils with *Thymus mastichina* L.—New Product Optimization. *Life*, 11(10), 1048. <https://doi.org/10.3390/life11101048>
81. Perestrelo, R., Silva, C., Silva, P., & Câmara, J. (2017). Global volatile profile of virgin olive oils flavoured by aromatic/medicinal plants. *Food Chemistry*, 227, 111–121. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.01.090>
82. Persistence Market Research. (n.d.). Infused olive oil market. Retrieved from [https://www.persistencemarketresearch.com/market-research/infused-olive-oil-market.asp?fbclid=IwAR0\\_6\\_gs1IyDW8G7xZcCUIVmrCFPBU8KSM2KNIQ5pCJVCu-WrjEEoNJEEdM8](https://www.persistencemarketresearch.com/market-research/infused-olive-oil-market.asp?fbclid=IwAR0_6_gs1IyDW8G7xZcCUIVmrCFPBU8KSM2KNIQ5pCJVCu-WrjEEoNJEEdM8)
83. Petruzzello, M. (2022). Carotenoid | Definition, Description, Functions, Examples, & Facts. Encyclopedia Britannica. Retrieved from <https://www.britannica.com/science/carotenoid>

- 84.** Pino, J. A., Rosado, A., Estarrón, M., & Fuentes, V. (1997). Essential Oil of Majoram (*Origanum majorana* L.) Grown in Cuba. *Journal of Essential Oil Research*, 9(4), 479–480. <https://doi.org/10.1080/10412905.1997.9700757>
- 85.** Prior, R. L., Wu, X., & Schaich, K. M. (2005). Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(10), 4290–4302. <https://doi.org/10.1021/jf0502698>
- 86.** Psomiadou, E., Tsimidou, M. Z., & Boskou, D. (2000).  $\alpha$ -Tocopherol Content of Greek Virgin Olive Oils. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48(5), 1770–1775. <https://doi.org/10.1021/jf990993o>
- 87.** Reboredo-Rodríguez, P., Figueiredo-González, M., González-Barreiro, C., Simal-Gándara, J., Salvador, M., Cancho-Grande, B., & Fregapane, G. (2017). State of the Art on Functional Virgin Olive Oils Enriched with Bioactive Compounds and Their Properties. *International Journal of Molecular Sciences*, 18(3), 668. <https://doi.org/10.3390/ijms18030668>
- 88.** Revelou, P. K., Pappa, C., Kakouri, E., Kanakis, C. D., Papadopoulos, G. K., Pappas, C. S., & Tarantilis, P. A. (2020). Discrimination of botanical origin of olive oil from selected Greek cultivars by SPME-GC - MS and ATR-FTIR spectroscopy combined with chemometrics. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 101(7), 2994–3002. <https://doi.org/10.1002/jsfa.10932>
- 89.** Roascio-Albistur, A., Gámbaro, A., & Ivankovich, C. (2019). Consumers' perception of olive oil-based dressings evaluated by complementary techniques: Focus group and word association. *International Journal of Gastronomy and Food Science*, 18, 100176. <https://doi.org/10.1016/j.ijgfs.2019.100176>
- 90.** Rodrigues, N., Silva, K., Veloso, A. C. A., Pereira, J. A., & Peres A. M. (2021). The use of electronic nose as alternative non-destructive technique to discriminate flavored and unflavored olive oils. *Foods*, 10(11), 2886. <https://doi.org/10.3390/foods10112886>
- 91.** Rogers, K. (2023). Olive oil | Facts, Types, Production, & Uses. *Encyclopedia Britannica*. Retrieved from <https://www.britannica.com/topic/olive-oil>
- 92.** Rubio, C. P., Hernández-Ruiz, J., Martínez-Subiela, S., Tvarijonaviciute, A., & Cerón, J. J. (2016). Spectrophotometric assays for total antioxidant capacity (TAC) in dog serum: an update. *BMC Veterinary Research*, 12(1). <https://doi.org/10.1186/s12917-016-0792-7>

93. Sacchi, R., Della Medaglia, D., Paduano, A., Caporaso, N., & Genovese, A. (2017). Characterisation of lemon-flavoured olive oils. *Lebensmittel-Wissenschaft & Technologie*, 79, 326–332. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.01.025>
94. Sakar, E. H., & Gharby, S. (2022). Olive Oil: Extraction Technology, Chemical Composition, and Enrichment Using Natural Additives. In *IntechOpen eBooks*. <https://doi.org/10.5772/intechopen.102701>
95. Şarer, E., Scheffer, J. J. C., & Svendsen, A. B. (1982). Monoterpenes in the Essential Oil of *Origanum majorana*. *Planta Medica*, 46(12), 236–239. <https://doi.org/10.1055/s-2007-971222>
96. Sellami, I. H., Maamouri, E., Chahed, T., Wannes, W. A., Kchouk, M. E., & Marzouk, B. (2009). Effect of growth stage on the content and composition of the essential oil and phenolic fraction of sweet marjoram (*Origanum majorana* L.). *Industrial Crops and Products*, 30(3), 395–402. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2009.07.010>
97. Shalan, M. N., Abdel-Latif, T. A. T., & El-Ghadban, E. A. E. (2006). Effect of water salinity and some nutritional compounds on the growth and production of sweet marjoram plants (*Majorana hortensis* L.). *Egyptian Journal of Agricultural Research*, 84(3), 959–975. <https://doi.org/10.21608/ejar.2006.232209>
98. Sivropoulou, A., Papanikolaou, E., Nikolaou, C., Kokkini, S., Lanaras, T., & Arsenakis, M. (1996). Antimicrobial and Cytotoxic Activities of *Origanum* Essential Oils. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 44(5), 1202–1205. <https://doi.org/10.1021/jf950540t>
99. Siano, F., Vasca, E., & Picariello, G. (2022). Accurate determination of total biophenols in unfractionated extra-virgin olive oil with the fast blue BB assay. *Food Chemistry*, 370, 130990. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.130990>
100. Soares, V. P., Fagundes, M. B., Guerra, D., Leães, Y. S. V., Speroni, C. S., Robalo, S. S., Emanuelli, T., Chichoski, A. J., Wagner, R., Barin, J. S., Bertuol, D. A., & Ballus, C. A. (2020). Ultrasound assisted maceration for improving the aromatization of extra-virgin olive oil with rosemary and basil. *Food Research International*, 135, 109305. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.109305>
101. Sousa, A., Casal, S., Malheiro, R., Lamas, H., Bento, A., & Pereira, J. A. (2015). Aromatized olive oils: Influence of flavouring in quality, composition, stability, antioxidants, and antiradical potential. *Lebensmittel-Wissenschaft & Technologie*, 60(1), 22–28. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2014.08.026>

- 102.** Taleb, S. A., Boutoial, K., Kzaiber, F., & Abdelkhalek, O. (2016). Effect of Aromatization by Aromatic Plants on the Physicochemical, Sensorial and Oxidative Stability of Moroccan Virgin Olive Oil ResearchGate. Retrieved from [https://www.researchgate.net/publication/311642476\\_Effect\\_of\\_Aromatization\\_by\\_Aromatic\\_Plants\\_on\\_the\\_Physicochemical\\_Sensorial\\_and\\_Oxidative\\_Stability\\_of\\_Moroccan\\_Virgin\\_Olive\\_Oil](https://www.researchgate.net/publication/311642476_Effect_of_Aromatization_by_Aromatic_Plants_on_the_Physicochemical_Sensorial_and_Oxidative_Stability_of_Moroccan_Virgin_Olive_Oil)
- 103.** Talib, W. H., Al-Ataby, I. A., Mahmud, A. I., Jawarneh, S., Kury, L. T. A., & Al-Yasari, I. H. (2020). The impact of herbal infusion consumption on oxidative stress and cancer: The good, the bad, the misunderstood. *Molecules*, 25(18), 4207. <https://doi.org/10.3390/molecules25184207>
- 104.** The Tintometer Ltd. (2014). Operator Instruction Manual Lovibond Model Fx. Retrieved from [https://www.lovibond.com/ix\\_pim\\_assets/ColourMeasurement/Instruction\\_Manuals/Model\\_Fx/Anleitung/169198%20-%20Lovibond%20Model%20Fx%20User%20manual%20V2\\_8\\_GB.pdf](https://www.lovibond.com/ix_pim_assets/ColourMeasurement/Instruction_Manuals/Model_Fx/Anleitung/169198%20-%20Lovibond%20Model%20Fx%20User%20manual%20V2_8_GB.pdf)
- 105.** Trabelsi, N., Nalbene, L., Marotta, S. M., Taamalli, A., Abaza, L., & Giarratana, F. (2019). Effectiveness of five flavored Tunisian olive oils on Anisakis larvae type 1: application of cinnamon and rosemary oil in industrial anchovy marinating process. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 99(10), 4808–4815. <https://doi.org/10.1002/jsfa.9736>
- 106.** Turner, D. (2022). GC-MS Principle, Instrument and Analyses and GC-MS/MS. Analysis & Separations From Technology Networks. Retrieved from <https://www.technologynetworks.com/analysis/articles/gc-ms-principle-instrument-and-analyses-and-gc-msms-362513>
- 107.** Uylaşer, V., & Yildiz, G. (2014). The historical development and nutritional importance of olive and olive oil constituted an important part of the Mediterranean diet. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 54(8), 1092–1101. <https://doi.org/10.1080/10408398.2011.626874>
- 108.** Vági, E., Rapavi, E., Hadolin, M., Perédi, K., Balázs, A., Blázovics, A. A., & Simándi, B. (2004). Phenolic and Triterpenoid Antioxidants from *Origanum majorana* L. Herb and Extracts Obtained with Different Solvents. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(1), 17–21. <https://doi.org/10.1021/jf048777p>

109. Vas, G., & Vékey, K. (2004). Solid-phase microextraction: a powerful sample preparation tool prior to mass spectrometric analysis. *Journal of Mass Spectrometry*, 39(3), 233–254. <https://doi.org/10.1002/jms.606>
110. Vera, R., & Chane-Ming, J. (1999). Chemical composition of the essential oil of marjoram (*Origanum majorana* L.) from Reunion Island. *Food Chemistry*, 66(2), 143–145. [https://doi.org/10.1016/s0308-8146\(98\)00018-1](https://doi.org/10.1016/s0308-8146(98)00018-1)
111. Yamani, M. E., Sakar, E. H., Boussakouran, A., & Rharrabti, Y. (2020). Activity of two natural additives in improving the stability of virgin olive oil quality during storage. *OCL*, 27, 44. <https://doi.org/10.1051/ocl/2020039>
112. Zellner, B. D., Bicchi, C., Dugo, P., Rubiolo, P., Dugo, G., & Mondello, L. (2008). Linear retention indices in gas chromatographic analysis: a review. *Flavour and Fragrance Journal*, 23(5), 297–314. <https://doi.org/10.1002/ffj.1887>

## ΕΛΛΗΝΙΚΕΣ

- Καλογερόπουλος, Ν. (2020). Εξέταση ελαιολάδου. Ανακτήθηκε από <https://eclass.hua.gr/modules/document/file.php/DIET162/%CE%95%CE%BE%CE%AD%CF%84%CE%B1%CF%83%CE%B7%20%CE%95%CE%BB%CE%B1%CE%B9%CE%BF%CE%BB%CE%AC%CE%B4%CE%BF%CF%85.pdf>
- Κουτσός, Θ. Β. (2019). Αρωματικά και Φαρμακευτικά Φυτά. Πειραιά Θεσσαλονίκης: ΕΚΔΟΣΕΙΣ ΖΗΤΗ
- Κυριτσάκης, Α. Κ. (2007). Ελαιόλαδο. ΣΥΜΒΑΤΙΚΟ ΚΑΙ ΒΙΟΛΟΓΙΚΟ ΒΡΩΣΙΜΗ ΕΛΙΑ – ΠΑΣΤΑ ΕΛΙΑΣ. 4η έκδ. Θεσσαλονίκη: ΑγροΤύπος
- Λιακοπούλου, Ι. (2017). Οικογένεια LAMIACEAE (ή LABIATAE): Χειλανθή. Ανακτήθηκε από [https://docplayer.gr/42519204-Oikogeneia-lamiaceae-i-labiatae-heilanthi.html?fbclid=IwAR1XdRhktXG-\\_uj0jUAmM6eoZe6GYX3JNhcEeiSvlCIgTmR4rGPHhbqWl8A](https://docplayer.gr/42519204-Oikogeneia-lamiaceae-i-labiatae-heilanthi.html?fbclid=IwAR1XdRhktXG-_uj0jUAmM6eoZe6GYX3JNhcEeiSvlCIgTmR4rGPHhbqWl8A)
- Μοσχοβάκη, Α. (2016). Ματζουράνα: Χρήση και παρενέργειες. Ανακτήθηκε από <https://www.healthyliving.gr/2016/02/22/matzourana-xrhsh-parenergeies/>
- Μπρατάκος, Μ. Σ. (2021). ΕΝΟΡΓΑΝΗ ΧΗΜΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ ΕΦΑΡΜΟΓΕΣ ΣΕ ΤΡΟΦΙΜΑ ΚΑΙ ΠΟΤΑ. Αθήνα: ΕΚΔΟΣΕΙΣ ΠΑΠΑΖΗΣΗ
- Νομοθέτημα Κώδικα Τροφίμων και Ποτών 1987. Άρθρο 71. Ανακτήθηκε από <https://ministryofjustice.gr/wp->



content/uploads/2019/10/%CE%9A%CF%8E%CE%B4%CE%B9%CE%BA%CE  
%B1%CF%82-  
%CE%A4%CF%81%CE%BF%CF%86%CE%AF%CE%BC%CF%89%CE%BD  
-%CE%BA%CE%B1%CE%B9-  
%CE%A0%CE%BF%CF%84%CF%8E%CE%BD.pdf

8. Τσάκης, Ι. (2018). ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑ – ΠΟΙΟΤΗΤΑ ΛΙΠΩΝ ΚΑΙ ΛΑΔΙΩΝ.  
Θεσσαλονίκη: ΕΚΔΟΣΕΙΣ ΤΖΙΟΛΑ
9. Φραγκιαδάκης, Γ. Α. (2021). Αρωματισμένο ελαιόλαδο. Ανακτήθηκε από  
<https://www.crete.gov.gr/wp-content/uploads/2022/06/elaiolado-.pdf>