



Σχολή Επιστημών Τροφίμων  
Τμήμα Επιστήμης και Τεχνολογίας Τροφίμων

Πρόγραμμα Μεταπτυχιακών Σπουδών  
**ΚΑΙΝΟΤΟΜΙΑ, ΠΟΙΟΤΗΤΑ ΚΑΙ ΑΣΦΑΛΕΙΑ ΤΡΟΦΙΜΩΝ**

Διευθυντής

Καθ. Τμήματος Επιστήμης και Τεχνολογίας Τροφίμων (ΠΑ.Δ.Α) Ιωάννης Τσάκνης

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ  
**Μελέτη υποβάθμισης εξαιρετικά παρθένων ελαιόλαδων με χρήση  
φασματομετρικών, φασματοσκοπικών και χρωματομετρικών  
μεθόδων**

ΟΝΟΜΑ ΦΟΙΤΗΤΗ/NAME OF STUDENT

ΜΑΣΤΡΟΔΗΜΟΥ ΔΑΦΝΗ/ MASTRODIMOU DAFNI

ΟΝΟΜΑ ΕΙΣΗΓΗΤΗ/NAME OF THE SUPERVISOR

ΕΙΡΗΝΗ ΣΤΡΑΘΗ/ EIRINI STRATH

ΑΙΓΑΛΕΩ/AIGALEO 2021





Faculty of Food Sciences  
Department of Food Science and Technology

Master of Science  
**FOOD INNOVATION, QUALITY AND SAFETY**

MSc THESIS

**A review on the spectroscopic, colorimetric and spectrophotometric methods of analysis of  
the quality degradation of extra virgin olive oil**

MASTRODIMOU DAFNI  
Registration Number: 19016  
e-mail: dafnimast@gmail.com  
SUPERVISOR: EIRINI STRATH

AIGALEO 2021

Έγινε δεκτή

Ο Διευθυντής του ΠΜΣ:

Οι υπογράφοντες δηλώνουμε ότι έχουμε εξετάσει τη μεταπτυχιακή διπλωματική εργασία (master thesis) με τίτλο **“Μελέτη υποβάθμισης εξαιρετικά παρθένων ελαιόλαδων με χρήση φασματομετρικών, φασματοσκοπικών και χρωματομετρικών μεθόδων”** που παρουσιάσθηκε από τον ή την **ΜΑΣΤΡΟΔΗΜΟΥ ΔΑΦΝΗ**, υποψηφίου για τον μεταπτυχιακό τίτλο σπουδών στην **ΚΑΙΝΟΤΟΜΙΑ, ΠΟΙΟΤΗΤΑ ΚΑΙ ΑΣΦΑΛΕΙΑ ΤΡΟΦΙΜΩΝ** και βεβαιώνουμε ότι γίνεται δεκτή.

Ημερομηνία  
17/06/2021

Όνομα επιβλέποντος  
ΕΙΡΗΝΗ ΣΤΡΑΤΗ

Ημερομηνία  
17/06/2021

Όνομα μέλους επιτροπής  
ΒΑΣΙΛΕΙΑ ΣΙΝΑΝΟΓΛΟΥ

Ημερομηνία  
17/06/2021

Όνομα μέλους επιτροπής  
ΠΑΝΑΓΙΩΤΗΣ ΖΟΥΜΠΟΥΛΑΚΗΣ

### **Δήλωση συγγραφέα μεταπτυχιακής εργασίας**

Ο/η κάτωθι υπογεγραμμένος/η Μαστροδήμου Δάφνη του Νικολάου με αριθμό μητρώου 19016 φοιτητής/τρια του Προγράμματος Μεταπτυχιακών Σπουδών «Καινοτομία, Ποιότητα και Ασφάλεια Τροφίμων» του Τμήματος Επιστήμης και Τεχνολογίας Τροφίμων της Σχολής Επιστημών Τροφίμων του Πανεπιστημίου Δυτικής Αττικής, δηλώνω ότι:

«Είμαι συγγραφέας αυτής της μεταπτυχιακής εργασίας και ότι κάθε βοήθεια την οποία είχα για την προετοιμασία της, είναι πλήρως αναγνωρισμένη και αναφέρεται στην εργασία. Επίσης, οι όποιες πηγές από τις οποίες έκανα 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, βεβαιώνω ότι αυτή η εργασία έχει συγγραφεί από μένα αποκλειστικά και αποτελεί προϊόν πνευματικής ιδιοκτησίας τόσο δικής μου, όσο και του Ιδρύματος.

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

Δεν επιθυμώ την απαγόρευση πρόσβασης στο πλήρες κείμενο της εργασίας μου.

**Ο/Η Δηλών/ούσα**



## Περίληψη

Η Ελλάδα κατατάσσεται τρίτη μετά την Ισπανία και την Ιταλία στην παραγωγή παρθένου ελαιολάδου στην Ευρώπη και το ελληνικό ελαιόλαδο είναι γνωστό για την εξαιρετική του ποιότητα και γεύση. Χάρη στην αφθονία, τη γεύση και τα οφέλη για την υγεία, το παρθένο ελαιόλαδο χρησιμοποιείται και ως λάδι μαγειρέματος με αποτέλεσμα την θερμική αποικοδόμηση του. Ο στόχος αυτής της εργασίας είναι να παρέχει πληροφορίες σχετικά με τους ποιοτικούς δείκτες του παρθένου και εξαιρετικά παρθένου ελαιολάδου (VOO και EVOO) και την ανάλυσή τους καθώς και την επίδραση της θερμικής επεξεργασίας στα μοναδικά ποιοτικά χαρακτηριστικά του.

Στο Κεφάλαιο 1 περιγράφεται συνοπτικά η διαδικασία παραγωγής, η σύσταση των ελαιολάδων και το νομοθετικό πλαίσιο για το ελαιόλαδο. Στο επόμενο κεφάλαιο (Κεφάλαιο 2) γίνεται ανασκόπηση της βιβλιογραφίας και των ερευνών που έχουν πραγματοποιηθεί στο θέμα της ποιοτικής υποβάθμισης των ελαιολάδων. Περιγράφονται οι μηχανισμοί των αντιδράσεων υποβάθμισης ποιότητας και αναλύονται οι πιο σημαντικοί ποιοτικοί παράγοντες (οξύτητα, αριθμός υπεροξειδίων, τιμή της  $p$ -ανισιδίνης, ολικές πολικές ενώσεις, δείκτες  $K_{232}$  και  $K_{270}$ , ολικές φαινόλες, δείκτης οξειδωτικής σταθερότητας, σύσταση λιπαρών οξέων, βιταμίνη E) βάσει των οποίων αξιολογείται η υποβάθμιση του ελαιόλαδου.

Στο Κεφάλαιο 3 αναλύονται οι συνήθεις τρόποι θερμικής επεξεργασίας του ελαιολάδου, αναφέρονται μελέτες που έχουν πραγματοποιηθεί και αξιολογούνται τα συμπεράσματά τους. Τέλος, στο Κεφάλαιο 4, αναφέρονται οι αναλυτικές μέθοδοι που χρησιμοποιούνται για τη μελέτη της ποιοτικής υποβάθμισης των ελαιολάδων (ογκομετρικές, χρωματομετρικές, φασματοφωτομετρικές,) και παρουσιάζεται η τεχνική της υπέρυθρης φασματοσκοπίας IR με συγκεκριμένες εφαρμογές ως εναλλακτική τεχνική ανάλυσης των βασικών ποιοτικών παραγόντων του ελαιολάδου.

## Abstract

Greece ranks third after Spain and Italy in the production of virgin olive oil while Greek olive oil is known for its excellent quality and taste. Thanks to its abundance, flavor and health benefits, virgin olive oil is also used as a cooking oil resulting in its thermal degradation. The aim of this work is to provide information on the quality indicators of virgin and extra virgin olive oil (VOO and EVOO) and their analysis as well as the effect of heat treatment on its unique quality characteristics.

Chapter 1 briefly describes the production process, the composition of the olive oils and the legal framework for olive oil. The next chapter (Chapter 2) is a review of the literature and research that has been carried out on the issue of quality degradation of olive oils. The mechanisms of quality degradation reactions are described and the main quality factors of olive oil are listed (acidity, peroxide value (PV), p-anisidine value, total polar compounds (TPC),  $K_{232}$  and  $K_{270}$ , total phenols (TP), oxidation stability index (OSI), fatty acid composition).

Chapter 3 analyzes the usual methods of heat treatment of olive oils (frying, baking, microwave), reviews studies that have been carried out and evaluates their conclusions.

Finally, Chapter 4 lists the analytical methods used to study the quality degradation of olive oils (volumetric, spectrophotometric, colorimetric) and presents the technique of IR infrared spectroscopy with specific applications as an alternative analytical technique.

## Συντομογραφίες / Abbreviations

ATR	Attenuated total reflection	Εξασθενημένη ολική ανάκλαση	-
CFAM	Cyclic fatty acid monomers	Μονομερή κυκλικά λιπαρά οξέα	-
DHPEA	Hydroxytyrosol	Υδροξυτυροσόλη	-
DPPH	Diphenyl-picrylhydrazyl	1,1 διφαινυλ-2- πικρυλυδραζύλιο	-
EVOO	Extra virgin olive oil	Εξαιρετικά Παρθένο Ελαιόλαδο	ΕΠΕ
FT-IR	Fourier transform infrared	Φασματοσκοπία Υπερθύρου με μετασχηματισμό Fourier	-
FFA	Free Fatty Acids	Ελεύθερα λιπαρά οξέα	-
FAME	Fatty acid methyl esters	Μεθυλεστέρες λιπαρών οξέων	-
FR	Frequent replenishment	Συχνή αναπλήρωση	-
GC	Gas chromatography	Αέρια χρωματογραφία	-
HDL	High density lipoprotein	Λιποπρωτεΐνη υψηλής πυκνότητας	-
LDL	Low-density lipoprotein;	Λιποπρωτεΐνη χαμηλής πυκνότητας	-
HPLC	High Performance Liquid Chromatography	Υγρή χρωματογραφία υψηλής απόδοσης	-
RP-HPLC	Reversed-phase HPLC	HPLC αντίστροφης φάσης	-
IR	Infrared	Υπέρυθρο	-
IOC	International Olive Council	Διεθνές Συμβούλιο Ελαιολάδου	ΔΣΕ
LDA	Linear discriminant analysis	Γραμμική διακριτική ανάλυση	-
MAG	Monoacylglycerol	Μονογλυκερίδιο	-
MS	Mass spectrometry	Φασματομετρία μάζας	-
NR	Null replenishment	Μηδενική αναπλήρωση	-
OO	Olive oil	Ελαιόλαδο	-
OSI	Oxygen stability index	Δείκτης οξειδωτικής σταθερότητας	-
p-ANV	p-Anisidine Value	Τιμή p-ανισιδίνης	-
PV	Peroxide value	Τιμή υπεροξειδίων	-
PCA	Principal component analysis	Ανάλυση κύριων συστατικών	-
PLS	Partial least squares	Μερική παλινδρόμηση ελαχίστων τετραγώνων	-
ROO	Refined olive oil	Εξευγενισμένο ελαιόλαδο	-
SPME	Solid phase microextraction	Μικροεκχύλιση στερεάς φάσης	-
TAG	Triacylglycerols	Τριγλυκερίδια	-
TPC	Total Polar Content	Ολικές πολικές ενώσεις	-
TOC	Triacylglycerol oligomer content	Ολιγομερή τριγλυκεριδίων	-
VOO	Virgin olive oil	Παρθένο ελαιόλαδο	-



## Περιεχόμενα

Περίληψη .....	V
Abstract.....	VI
Συντομογραφίες / Abbreviations .....	VII
<b>Κεφάλαιο 1: Ελαιόλαδο.....</b>	<b>1</b>
1.1. Παραγωγή.....	1
1.2. Κατηγορίες ελαιολάδου .....	4
1.3. Εξαιρετικά παρθένο ελαιόλαδο (EVOO).....	8
1.4. Χημική σύσταση.....	9
1.4.1. Φαινολικές ενώσεις.....	11
1.4.2. Τοκοφερόλες .....	13
1.5. Οφέλη στην υγεία.....	13
1.6. Αισθητηριακές ιδιότητες .....	15
1.7. Σκοπός έρευνας .....	16
<b>Κεφάλαιο 2: Ποιοτική υποβάθμιση ελαιολάδων .....</b>	<b>18</b>
2.1. Υδρόλυση.....	18
2.2. Οξείδωση ελαιόλαδου.....	19
2.2.1. Μηχανισμός οξείδωσης .....	20
2.3. Ποιοτικοί παράγοντες (κριτήρια ποιότητας) EVOO .....	24
2.3.1. Οξύτητα ελαιόλαδου (FFA- ελεύθερα λιπαρά οξέα) .....	27
2.3.2. Αριθμός υπεροξειδίων (PV).....	28
2.3.3. Τιμή p-ανισιδίνης (p-An).....	29
2.3.4. Συντελεστές απόσβεσης (K <sub>232</sub> , K <sub>270</sub> ) .....	29
2.3.5. Δείκτης οξειδωτικής σταθερότητας (OSI) .....	31
2.3.6. Ολικές φαινολικές ενώσεις (Total phenols-TP).....	33

2.3.7.	Σύσταση λιπαρών οξέων (FA composition).....	34
2.3.8.	Ολικές πολικές ενώσεις (TPC) .....	34
2.3.9.	Μονομερή κυκλικά λιπαρά οξέα (CFAM).....	36
2.3.10.	Βιταμίνη E .....	36
2.3.11.	Χρώμα .....	36
2.4.	Συσχέτιση ποιοτικών παραμέτρων.....	37
<b>Κεφάλαιο 3: Θερμική επεξεργασία με ΕΝΟΟ .....</b>		<b>40</b>
3.1.	Τηγάνισμα .....	41
3.1.1.	Τηγάνισμα σε βαθύ τηγάνι (Deep- frying) .....	42
3.1.2.	Τηγάνισμα σε ρηχό τηγάνι (pan-frying) .....	46
3.2.	Θερμική επεξεργασία σε συμβατικό φούρνο αέρα (conventional heating) .....	47
3.3.	Θερμική επεξεργασία σε μικροκύματα.....	48
3.4.	Μεταβολές κατά τη θερμική επεξεργασία.....	51
3.5.	Επιπτώσεις της θέρμανσης ελαιολάδου στα τρόφιμα.....	53
3.6.	Πλεονεκτήματα χρήσης παρθένου ελαιολάδου κατά τη θερμική επεξεργασία .....	55
<b>Κεφάλαιο 4: Αναλυτικές μέθοδοι που χρησιμοποιούνται για τη μελέτη της ποιοτικής υποβάθμισης των ελαιολάδων.....</b>		<b>58</b>
4.1.	Ογκομετρικές μέθοδοι.....	58
4.2.	Φασματοφωτομετρικές μέθοδοι .....	60
4.3.	Χρωματομετρία.....	62
4.4.	Υπέρυθρη φασματοσκοπία (Infrared Spectroscopy, IR) .....	65
4.4.1.	Εφαρμογές φασματοσκοπίας IR στην ανάλυση ελαιολάδου .....	70
4.4.2.	Χημειομετρία.....	72
4.4.3.	Χαρακτηρισμός φάσματος .....	74
4.4.4.	Προσδιορισμός οξύτητας μέσω IR.....	77

4.4.5.	Προσδιορισμός αριθμού υπεροξειδίων μέσω IR.....	78
4.4.6.	Προσδιορισμός της οξειδωτικής σταθερότητας μέσω IR.....	80
4.4.7.	Προσδιορισμός φαινολικού κλάσματος μέσω IR .....	87
4.4.8.	Προσδιορισμός του προφίλ λιπαρών οξέων μέσω IR.....	88
4.5.	Σύγκριση μεθόδων ανάλυσης ελαιολάδου .....	89
<b>Κεφάλαιο 5: Αναφορές .....</b>		<b>91</b>

## **Κατάλογος εικόνων:**

Εικόνα 1: Διαγραμματική απεικόνιση της παραγωγής ελαιολάδου σε φυγοκεντρικά συστήματα διαχωρισμού δύο και τριών φάσεων .....	2
Εικόνα 2: Φαινολικές ενώσεις στο εξαιρετικά παρθένο ελαιόλαδο και τυπικές τιμές από 116 δείγματα ελαίων.....	12
Εικόνα 3: Αντίδραση υδρόλυσης τριγλυκεριδίων.....	18
Εικόνα 4: Απλοποιημένο σχήμα οξείδωσης.....	22
Εικόνα 5: Οξείδωση παρουσία φωτός (φωτοξείδωση) .....	22
Εικόνα 6: Σχηματικό διάγραμμα του οργάνου μέτρησης του οξειδωτικού δείκτη σταθερότητας ελαίου (OSI).....	32
Εικόνα 7: Κλίμακα μεταβολής των χρωμάτων στο σύστημα Munsell.....	63
Εικόνα 8: σχηματική απεικόνιση συστήματος FTIR (Nicolet, 2001) .....	66
Εικόνα 9: Τρόπος εξαγωγής φασμάτων FTIR .....	68
Εικόνα 10: Σχηματική απεικόνιση μετάδοσης και φασματοσκοπίας ATR .....	69
Εικόνα 11: Αντίδραση τριφαινυλφωσφίνης (TPP) με υδροϋπεροξειδία για σχηματισμό τριφαινυλοφωσφινοξειδίου (TPPO) και αλκοόλης.....	79

## **Κατάλογος πινάκων:**

Πίνακας 1: Εμπορικές κατηγορίες ελαιολάδου ταξινομημένες σύμφωνα με το ποσοστό των ελεύθερων λιπαρών οξέων. ....	5
Πίνακας 2: Χαρακτηριστικά ποιότητας των ελαιολάδων και των πυρηνελαίων .....	7
Πίνακας 3: Η περιεκτικότητα του VOO σε μικροσυστατικά .....	10
Πίνακας 4: Σύσταση σε λιπαρά οξέα του παρθένου ελαιολάδου. ....	10
Πίνακας 7: Βιβλιογραφική ανασκόπηση ερευνών που μελετούν την ποιοτική υποβάθμιση του παρθένου και εξαιρετικά παρθένου ελαιολάδου μετά από θερμική επεξεργασία (παρουσία τροφίμου).....	25

Πίνακας 8: Βιβλιογραφική ανασκόπηση ερευνών που μελετούν την ποιοτική υποβάθμιση του παρθένου και εξαιρετικά παρθένου ελαιολάδου μετά από θερμική επεξεργασία (απουσία τροφίμου).....	26
Πίνακας 5: Περιορισμοί που καθορίζονται στον επίσημο κανονισμό για τα χρησιμοποιημένα στο τηγάνισμα λίπη και έλαια.....	35
Πίνακας 6: Συσχέτιση μεταξύ των παραμέτρων που αξιολογήθηκαν και του χρόνου τηγανίσματος.....	38
Πίνακας 9: Βιβλιογραφική ανασκόπηση μελετών που αφορούν το βαθύ τηγάνισμα ελαιόλαδου (deep- frying).....	43
Πίνακας 10: Βιβλιογραφική ανασκόπηση μελετών που αφορούν το ρηχό τηγάνισμα ελαιόλαδου (pan- frying).....	46
Πίνακας 11: Βιβλιογραφική ανασκόπηση μελετών ψησίματος και βρασμού ελαιολάδου.....	47
Πίνακας 12: Βιβλιογραφική ανασκόπηση μελετών θέρμανσης ελαιολάδου μέσω μικροκυμάτων. ....	49
Πίνακας 13: Μέθοδοι ανάλυσης ποιοτικών παραγόντων ελαιολάδου .....	59
Πίνακας 14: Φασματικές περιοχές υπέρυθρου .....	67
Πίνακας 15: Εφαρμογές της φασματοσκοπίας IR στην ανάλυση ελαιολάδου. ....	71
Πίνακας 16: Ταξινόμηση λειτουργικών ομάδων σε επιλεγμένους κυματαριθμούς και εκχώρηση ζωνών .....	75
Πίνακας 17: Ταξινόμηση λειτουργικών ομάδων σε επιλεγμένους κυματαριθμούς στο NIR... ..	76
Πίνακας 18: Σύγκριση μεθόδων ανάλυσης ποιοτικών παραγόντων ελαιολάδου. ....	89

### **Κατάλογος σχημάτων:**

Σχήμα 1: Μεταβολή ολικών πολικών ενώσεων (% TPC) σε σχέση με τις ώρες τηγανίσματος	39
Σχήμα 2: Μεταβολή τιμής p-ανισιδίνης σε σχέση με τις ώρες τηγανίσματος .....	39
Σχήμα 3: Μεταβολή τιμής οξύτητας (% FFA) σε σχέση με τις ώρες τηγανίσματος .....	39
Σχήμα 4: Φάσμα FTIR ενός εξαιρετικά παρθένου ελαιολάδου .....	74
Σχήμα 5: Φάσμα NIR μονοποικιλιακού εξαιρετικά παρθένου ελαιολάδου .....	76
Σχήμα 6: Τυπικό φάσμα ATR – FTIR ενός δείγματος ελαιολάδου .....	78

Σχήμα 7: Αλλαγές στην περιοχή μεταξύ 3600 και 3250 $\text{cm}^{-1}$ του υπέρυθρου φάσματος του ηλιελαίου σε διαφορετικές ημέρες της διαδικασίας οξείδωσης. ....	81
Σχήμα 8: Τιμές συχνότητας της κορυφής κοντά στα 3470 $\text{cm}^{-1}$ έναντι του χρόνου υπό οξειδωτικές συνθήκες. ....	82
Σχήμα 9: Τιμές συχνότητας της κορυφής κοντά στα 3006 $\text{cm}^{-1}$ έναντι του χρόνου υπό οξειδωτικές συνθήκες. ....	84
Σχήμα 10: Τιμές συχνότητας ζώνης κοντά στα 1746 $\text{cm}^{-1}$ έναντι του χρόνου υπό οξειδωτικές συνθήκες.....	85
Σχήμα 11: Φάσματα FTIR δύο εξαιρετικά παρθένων ελαιολάδων (a) EVOO1 και (b) EVOO3, πρίν (-) και μετά την αποθήκευση στους 90 °C για 35 ημέρες .....	86

## Κεφάλαιο 1: Ελαιόλαδο

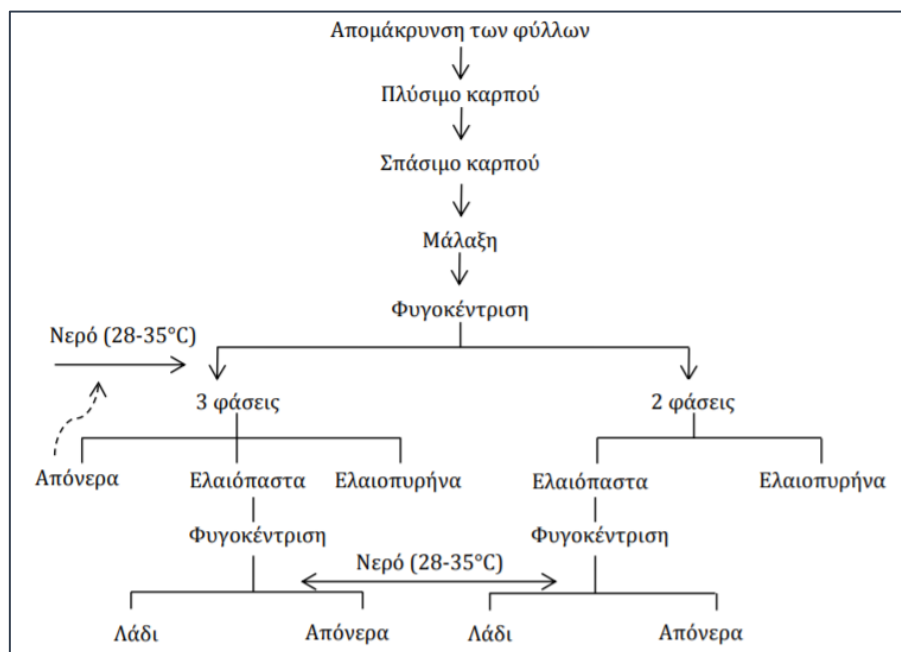
Το ελαιόλαδο είναι ο χυμός των φρούτων της ελιάς (*Olea europaea*) που παράγεται και καταναλώνεται στην περιοχή της Μεσογείου εδώ και χιλιετίες. Αν και υπάρχουν αρκετές παραλλαγές όσον αφορά τις διατροφικές συνήθειες μεταξύ των μεσογειακών χωρών, ένα κοινό χαρακτηριστικό τους είναι η υψηλή κατανάλωση ελαιολάδου, είτε προσθέτοντάς το ωμό σε σαλάτες, σε όσπρια και σε άλλα τρόφιμα είτε ως κύριο έλαιο μαγειρέματος. Σχεδόν η μισή από την ολική ποσότητα λιπαρής ύλης που καταναλώνεται στη μεσογειακή διατροφή προέρχεται από την κατανάλωση ελαιολάδου. Κατά μέσο όρο, 3 εκατομμύρια τόνοι ελαιολάδου παράγονται σε όλο τον κόσμο κάθε χρόνο. Περίπου 2 εκατομμύρια τόνοι αυτής της παραγωγής αφορούν την ΕΕ από την οποία εξάγονται περίπου 570.000 τόνους ετησίως. Η μεγαλύτερη παραγωγή ελαιολάδου αφορά τις χώρες: Ισπανία (66% της παραγωγής της ΕΕ), Ιταλία (15%), Ελλάδα (13%) και Πορτογαλία (5%). Η ΕΕ είναι επίσης ο μεγαλύτερος καταναλωτής ελαιολάδου, με περίπου 1,5 εκατομμύρια τόνους ελαιολάδου (50% της παγκόσμιας παραγωγής) να καταναλώνεται στην ΕΕ κάθε χρόνο. Συγκεκριμένα, η Ιταλία και η Ισπανία έχουν ετήσια κατανάλωση περίπου 500.000 τόνων η καθεμία, ενώ η Ελλάδα έχει τη μεγαλύτερη κατά κεφαλήν κατανάλωση στην ΕΕ, με περίπου 12 kg ανά άτομο ετησίως (Ευρωπαϊκή επιτροπή, 2020). Στην Ιταλία και την Ελλάδα, η πλειονότητα του λαδιού που καταναλώνεται είναι εξαιρετικά παρθένο ελαιόλαδο χάρη στα οφέλη και την γεύση του (Kalogeropoulos & Tsimidou, 2014).

### 1.1. Παραγωγή

Το δένδρο της ελιάς *Olea europaea* είναι από τις παλαιότερες καλλιέργειες και πηγή ελιών και ελαιόλαδου. Τα βασικά στάδια της μεθόδου εξαγωγής του ελαιολάδου από τον ελαιοκάρπο είναι τα εξής (Κώτσιου, 2015):

- Συγκομιδή του καρπού
- Αποφύλλωση-Πλύσιμο
- Έκθλιψη ή θραύση του ελαιοκάρπου
- Μάλαξη της ελαιοζύμης
- Διαχωρισμός του ελαιολάδου από την ελαιοζύμη

Πριν την εξαγωγή του ελαίου από τις ελιές, είναι πολύ σημαντικό αυτές να καθαριστούν σωστά, προκειμένου να διασφαλιστούν τα επίπεδα υγιεινής που απαιτούνται για ένα ελαιόλαδο υψηλής ποιότητας. Έπειτα, τα φρούτα συνθλίβονται μέχρι να σχηματιστεί μια πάστα (ελαιοζύμη), η οποία στη συνέχεια μαλάσσεται για να ευνοήσει την εκχύλιση ελαίου. Η παρασκευή ελαιοζύμης, όπου το λάδι εξάγεται μηχανικά από τις ελιές, είναι η πιο σημαντική φάση της διαδικασίας. Η επαφή της ελαιοζύμης με τον ατμοσφαιρικό αέρα πρέπει να αποφεύγεται κατά τη μάλαξη, όσο αυτό είναι δυνατόν, αλλά και στα άλλα στάδια της επεξεργασίας στο ελαιουργείο, γιατί προκαλεί απώλειες σε πτητικά αρωματικά συστατικά και έναρξη της οξειδωτικής τάγγισης. Επίσης, οι θερμοκρασίες κατά τη μάλαξη δεν θα πρέπει να υπερβαίνουν τους 27 °C διότι καταστρέφονται ορισμένα πτητικά συστατικά του ελαιολάδου στα οποία οφείλεται το χαρακτηριστικό του άρωμα. Παρατεταμένη μάλαξη μειώνει την περιεκτικότητα σε φαινολικά συστατικά, για αυτό η θερμοκρασία και ο χρόνος μάλαξης πρέπει να ρυθμίζονται έτσι ώστε να προκύπτει το καλύτερο δυνατό αποτέλεσμα. Τέλος, η ελαιώδης φάση διαχωρίζεται από τη στερεά φάση με φυγοκέντριση ή συμπίεση. Στην Εικόνα 1 απεικονίζεται διαγραμματικά η παραγωγή ελαιολάδου (Meenu et al., 2019; Santos et al., 2013).



Εικόνα 1: Διαγραμματική απεικόνιση της παραγωγής ελαιολάδου σε φυγοκεντρικά συστήματα διαχωρισμού δύο και τριών φάσεων (Κώτσιου, 2015).



Τα ελαιόλαδα που κυκλοφορούν στην αγορά διαφέρουν ως προς τη σύσταση των βιοδραστικών συστατικών ανάλογα με τη διαδικασία παρασκευής και εξευγενισμού, οπότε και καταλήγουμε σε διαφορετικούς τύπους λαδιών (Sánchez-Villegas & Sánchez-Tainta, 2018). Μόνο τα έλαια που λαμβάνονται αποκλειστικά με μηχανική εκχύλιση και δεν έχουν υποστεί άλλη επεξεργασία εκτός από πλύσιμο, μετάγγιση, φυγοκέντρηση ή διήθηση ονομάζονται παρθένα ελαιόλαδα, ενώ το εξαιρετικό παρθένο ελαιόλαδο έχει περαιτέρω αξιολόγηση ποιότητας. Επομένως, σε σύγκριση με άλλα κοινά φυτικά έλαια, που υποβάλλονται σε περαιτέρω διαδικασίες εξευγενισμού, το παρθένο ελαιόλαδο (VOO) και το εξαιρετικό παρθένο ελαιόλαδο (EVOO) διατηρούν πολλά από τα αρχικά συστατικά του καρπού. Έτσι, ενώ τα περισσότερα φυτικά έλαια που διατίθενται στο εμπόριο είναι κυρίως μίγματα τριγλυκεριδίων, το ελαιόλαδο παρουσιάζει και άλλα συστατικά, όπως χρωστικές, πτητικές ενώσεις, φαινολικές ενώσεις και σε μικρότερο βαθμό το σκουαλένιο (Santos et al., 2013).

Για την απόκτηση παρθένου ελαιόλαδου καλύτερης ποιότητας, απαιτούνται ελιές άριστης ποιότητας οι οποίες πρέπει να υποστούν επεξεργασία το συντομότερο δυνατό μετά τη συγκομιδή από τα δέντρα, προκειμένου να διατηρηθεί η οξείδωση και η οξύτητα σε χαμηλά επίπεδα. Τα ποιοτικά χαρακτηριστικά του παρθένου ελαιόλαδου εξαρτώνται επίσης από τις οξειδωτικές ενζυμικές αντιδράσεις που λαμβάνουν χώρα στην ελαιοζύμη κατά τη διαδικασία εκχύλισης. Στον πυρήνα της ελιάς υπάρχει υψηλή συγκέντρωση δύο ενζύμων, της πολυφαινολοξειδάσης (PPO-polyphenol oxidase) και της υπεροξειδάσης (POD-peroxidase). Τα ένζυμα αυτά καταλύουν την οξείδωση των φαινολικών ενώσεων με αποτέλεσμα τη μειωμένη συγκέντρωσή τους στο τελικό έλαιο (Amirante et al., 2006). Η διαδικασία εκπυρήνωσης των ελιών, δηλαδή η αφαίρεση του κουκουτσιού, πριν από την μάλαξη, μειώνει εν μέρει τη δραστηριότητα της υπεροξειδάσης στην ελαιοζύμη και κατά συνέπεια μειώνει την ενζυματική αποικοδόμηση των φαινολών στα έλαια, βελτιώνοντας την οξειδωτική σταθερότητα του ελαίου. Μέσω μηχανικής εκχύλισης ελαίου από ελαιοζύμη στην οποία έχει αφαιρεθεί ο πυρήνας προκύπτει έλαιο με μεγαλύτερη συγκέντρωση φαινολικών ενώσεων σε σχέση με αυτά που δεν έχει αφαιρεθεί ο πυρήνας. Αυτό οδηγεί σε αύξηση της

οξειδωτικής σταθερότητας και της θρεπτικής αξίας του παρθένου ελαιολάδου (Amirante et al., 2010; Amirante et al., 2006).

Σύμφωνα με τους Gomez-Caravaca et al. (2016), οι παράγοντες που επηρεάζουν τη σύσταση των μακρο- και μικρο-συστατικών του ελαιολάδου είναι:

- Η ποικιλία της ελιάς
- Οι αγρονομικές μεταβλητές (περιβαλλοντικές συνθήκες, μέθοδοι γεωργίας και συγκομιδής, καλλιεργητικές πρακτικές, στάδιο ωρίμανσης της ελιάς, κατάσταση υγείας του καρπού, περίοδος συγκομιδής)
- Οι τεχνολογικές μεταβλητές (διαδικασία παραλαβής, άλεση, μάλαξη και διαχωρισμός φάσεων)
- Οι παράμετροι αποθήκευσης και διανομής (χρόνος, θερμοκρασία, φως, συσκευασία)

## **1.2. Κατηγορίες ελαιολάδου**

Η ταξινόμηση των ελαιολάδων βασίζεται συνήθως σε χημικές παραμέτρους και αισθητηριακά χαρακτηριστικά που δίνουν μια γενική επισκόπηση της ποιότητας και της αυθεντικότητάς τους. Αυτά τα χαρακτηριστικά, ρυθμίζονται από διάφορους οργανισμούς, συμπεριλαμβανομένης της Ευρωπαϊκής Επιτροπής, του Διεθνούς Συμβουλίου Ελαιολάδου (ΔΟΕ, International Olive Oil Council (IOC) ή του Codex Alimentarius που ιδρύθηκε από τον Οργανισμό Τροφίμων και Γεωργίας (FAO) και του Παγκόσμιου Οργανισμού Υγείας (ΠΟΥ) (Santos et al., 2013). Συγκεκριμένα, τα ελαιόλαδα που χαρακτηρίζονται ως παρθένα η εξαιρετικά παρθένα πρέπει να τηρούν κάποιες προϋποθέσεις, όπως αυτές περιγράφονται στην ευρωπαϊκή νομοθεσία και να πληρούν χημικά και οργανοληπτικά χαρακτηριστικά ποιότητας και να συμμορφώνονται με εκείνα που καθορίζονται για την κάθε κατηγορία από το πρότυπο IOC (Kalogeropoulos & Chiou, 2017).

Τα ελεύθερα λιπαρά οξέα (FFA), εκφραζόμενα ως ελαϊκό οξύ, είναι ένα σημαντικό κριτήριο για την αξιολόγηση των φυτικών ελαίων που προορίζονται για ανθρώπινη κατανάλωση και αποτελούν σημαντική παράμετρο στην ταξινόμηση των EVOO και VOO. Αυτή η παράμετρος

είναι συνήθως χαμηλή σε εξευγενισμένα έλαια ενώ στα παρθένα ελαιόλαδα μπορεί να είναι υψηλότερη λόγω της απουσίας εξευγενισμού.

Πίνακας 1: Εμπορικές κατηγορίες ελαιολάδου ταξινομημένες σύμφωνα με το ποσοστό των ελεύθερων λιπαρών οξέων (σύμφωνα με τον κανονισμό (ΕΕ) αριθ. 2568/91 της Ε. Επιτροπής, Codex Alimentarius, 1981 και IOC, 2013).

Κατηγορία	Ελεύθερα λιπαρά οξέα (% ελαϊκού οξέος)		
	(ΕΥ) no. 2568/91; (και τροποποιήσεις)	Codex Alimentarius	IOC — International Olive Oil Council
Έξτρα παρθένο ελαιόλαδο	≤ 0,8	≤ 0,8	≤ 0,8
Παρθένο ελαιόλαδο	≤ 2,0	≤ 2,0	≤ 2,0
Εξευγενισμένο ελαιόλαδο	≤ 0,3	≤ 0,3	≤ 0,3
Ελαιόλαδο	≤ 1,0	≤ 1,0	≤ 1,0

Όταν η οξύτητα είναι υψηλότερη από τα όρια που επιβάλλονται, στον κανονισμό της Ευρωπαϊκής Επιτροπής (ΕΕ) αριθ. 2568/91 και στις μετέπειτα τροποποιήσεις, το VOO πρέπει να υποστεί βιομηχανικό εξευγενισμό (ραφινάρισμα) και να πωληθεί ως εξευγενισμένο ελαιόλαδο (refined olive oil-ROO) ή να αναμειχθεί με παρθένο ελαιόλαδο με την ονομασία «ελαιόλαδο» (olive oi-OO) (Santos et al., 2013).

Εκτός από την οξύτητα πρέπει επίσης και άλλα χημικά και οργανοληπτικά χαρακτηριστικά ποιότητας να συμμορφώνονται με εκείνα που καθορίζονται για αυτήν την κατηγορία στο πρότυπο IOC και στον Ευρωπαϊκό κανονισμό. Ο κανονισμός (ΕΟΚ) αριθ. 2568/91 της Επιτροπής ορίζει τα φυσικοχημικά και οργανοληπτικά χαρακτηριστικά των ελαιολάδων και των πυρηνέλαιων, καθώς και τις μεθόδους αξιολόγησης των χαρακτηριστικών αυτών. Συγκεκριμένα στον Πίνακα 2 παρουσιάζεται το παράρτημα Ι του εκτελεστικού κανονισμού όπου αναγράφονται τα χαρακτηριστικά του ελαιόλαδου κάθε κατηγορίας.

Εκτός από την τιμή των φυσικοχημικών χαρακτηριστικών, για τη κατηγοριοποίηση των ελαίων είναι σημαντική και η διαδικασία παραγωγής τους. Συγκεκριμένα το Διεθνές Συμβούλιο Ελαιόλαδου δημοσίευσε το 2011 τον “Οδηγό για τον προσδιορισμό των χαρακτηριστικών του ελαιόλαδου” τους βασικούς ορισμούς και τις διαδικασίες παραγωγής παρθένου ελαιόλαδου (IOC, 2011). Σύμφωνα με τον Οδηγό, τα παρθένα ελαιόλαδα είναι τα

έλαια που λαμβάνονται από τον καρπό της ελιάς (*Olea europaea* L.) αποκλειστικά με μηχανικά ή άλλα φυσικά μέσα υπό συνθήκες, ιδιαίτερα θερμικές συνθήκες, που δεν οδηγούν σε αλλοιώσεις στο λάδι και που δεν έχουν υποστεί καμία επεξεργασία εκτός από πλύσιμο, μετάγγιση, φυγοκέντρηση και διήθηση (IOC, 2011).

Μεταξύ των φυτικών ελαίων, το παρθένο ελαιόλαδο (VOO) και ειδικά το εξαιρετικά παρθένο ελαιόλαδο (EVOO) θεωρείται ως η υψηλότερη ποιότητα ελαιόλαδου, λόγω των θρεπτικών και αισθητηριακών χαρακτηριστικών του, που το καθιστούν μοναδικό και βασικό συστατικό της μεσογειακής διατροφής. Υπάρχουν τρεις διαφορετικές κατηγορίες παρθένων ελαιολάδων:

- Το εξαιρετικό παρθένο ελαιόλαδο είναι η κατηγορία με την υψηλότερη ποιότητα. Από οργανοληπτική άποψη, δεν εμφανίζει ελαττώματα και είναι φρουτώδες. Το επίπεδο οξύτητας δεν πρέπει να υπερβαίνει το 0,8 %.
- Το παρθένο ελαιόλαδο μπορεί να παρουσιάζει κάποια οργανοληπτικά ελαττώματα, αλλά σε πολύ χαμηλό επίπεδο. Η οξύτητά του δεν πρέπει να υπερβαίνει το 2 %.
- Το μειονεκτικό ελαιόλαδο είναι παρθένο ελαιόλαδο κατώτερης ποιότητας με οξύτητα πάνω από 2 %, χωρίς φρουτώδη χαρακτηριστικά και με ουσιώδη οργανοληπτικά ελαττώματα. Το μειονεκτικό ελαιόλαδο δεν προορίζεται να διατεθεί στην αγορά σε επίπεδο λιανικής πώλησης. Υποβάλλεται σε εξευγενισμό ή χρησιμοποιείται για βιομηχανικούς σκοπούς.

Οι ακόλουθες κατηγορίες ελαιολάδων δεν ανήκουν στα παρθένα ελαιόλαδα:

- Το εξευγενισμένο ελαιόλαδο είναι το προϊόν που προκύπτει από το ραφινάρισμα ελαττωματικού παρθένου ελαιολάδου (π.χ. μειονεκτικού ελαιολάδου). Δεν προορίζεται να διατεθεί στην αγορά σε επίπεδο λιανικής πώλησης. Έχει βαθμό οξύτητας έως 0,3 %.
- Το ελαιόλαδο που προκύπτει από την ανάμειξη ραφιναρισμένου ελαιολάδου με εξαιρετικό παρθένο και/ή παρθένο ελαιόλαδο. Έχει βαθμό οξύτητας έως 1 %.

Πίνακας 2: Χαρακτηριστικά ποιότητας των ελαιολάδων και των πυρηνελαίων (παράρτημα Ι του ΕΟΚ αριθ. 2568/91<sup>1</sup>)

Κατηγορία	Οξύτητα (%)	Αριθμός υπεροξειδίων (mEq O <sub>2</sub> /kg)	K <sub>232</sub>	K <sub>268</sub> ή K <sub>270</sub>	δ-K	Οργανοληπτική εξέταση		Αιθυλεστέρες λιπαρών οξέων (mg/kg)
						Διάμεση τιμή των ελαττωμάτων (Md)	Διάμεση τιμή του φρουτώδους (Mf)	
1. Εξαιρετικό παρθένο ελαιόλαδο	≤ 0,80	≤ 20,0	≤ 2,50	≤ 0,22	≤ 0,01	Md = 0,0	Mf > 0,0	≤ 35
2. Παρθένο ελαιόλαδο	≤ 2,0	≤ 20,0	≤ 2,60	≤ 0,25	≤ 0,01	Md ≤ 3,5	Mf > 0,0	—
3. Μειονεκτικό ελαιόλαδο (λαμπάντε)	> 2,0	—	—	—	—	Md > 3,5 (1)	—	—
4. Εξευγενισμένο ελαιόλαδο	≤ 0,30	≤ 5,0	—	≤ 1,25	≤ 0,16		—	—
5. Ελαιόλαδο αποτελούμενο από εξευγενισμένο ελαιόλαδο και παρθένα ελαιόλαδα	≤ 1,00	≤ 15,0	—	≤ 1,15	≤ 0,15		—	—
6. Ακατέργαστο πυρηνέλαιο	—	—	—	—	—		—	—
7. Εξευγενισμένο πυρηνέλαιο	≤ 0,30	≤ 5,0	—	≤ 2,00	≤ 0,20		—	—
8. Πυρηνέλαιο	≤ 1,00	≤ 15,0	—	≤ 1,70	≤ 0,18		—	—

<sup>1</sup> Την χρονική περίοδο που γράφτηκε η εργασία βρίσκεται σε ισχύ ο Εκτελεστικός κανονισμός (ΕΕ) 2019/1604 της Επιτροπής, της 27ης Σεπτεμβρίου 2019, για την τροποποίηση του κανονισμού (ΕΟΚ) αριθ. 2568/91

### 1.3. Εξαιρετικά παρθένο ελαιόλαδο (EVOO)

Το εξαιρετικά παρθένο ελαιόλαδο (EVOO) εκτιμάται παγκοσμίως για τα θρεπτικά, διατροφικά και οργανοληπτικά χαρακτηριστικά του. Είναι ένα θεμελιώδες συστατικό της μεσογειακής διατροφής και καταναλώνεται ευρέως. Το EVOO διακρίνεται ανάμεσα στα ελαιόλαδα λόγω των ανώτερων θρεπτικών του ιδιοτήτων, όπως την υψηλή αναλογία μονοακόρεστων και πολυακόρεστων λιπαρών οξέων καθώς και την παρουσία δευτερευόντων ενώσεων, όπως βιταμίνες και φαινολικές ενώσεις, οι οποίες αυξάνουν την πιθανή βιοδραστικότητά του, καθώς δρουν ως φυσικά αντιοξειδωτικά και μπορούν να συμβάλλουν στην πρόληψη πολλών ανθρώπινων ασθενειών (Meenu et al., 2019; Maggio et al., 2011; Bendini et al., 2007). Το EVOO περιέχει μεγάλο αριθμό πτητικών και μη πτητικών ενώσεων, κυρίως φαινολικών ενώσεων, που είναι υπεύθυνες για την άρωμα και την ιδιαίτερη γεύση του.

Στα πλεονεκτήματα του ελαιολάδου προστίθεται και η σταθερότητά του στην οξείδωση, η οποία οφείλεται στη σύστασή του και πιο συγκεκριμένα στο μονοακόρεστο ελαϊκό οξύ και στην παρουσία φυσικών αντιοξειδωτικών (Velasco & Dobarganes, 2002). Οι φαινολικές ενώσεις εκτός από το άρωμα και τη γεύση συμβάλλουν επίσης στη σταθερότητα του λαδιού και για αυτό το λόγο η διάρκεια ζωής του είναι υψηλότερη σε σχέση με άλλα φυτικά έλαια (Amirante, et al., 2006). Οι κυριότερες φαινολικές ενώσεις θεωρούνται αυτές που έχουν μια ομάδα κατεχόλης, όπως η υδροξυτυροσόλη και τα παράγωγά της (Bendini et al., 2007). Η διάρκεια ζωής του εξαιρετικά παρθένου ελαιολάδου είναι 18 μήνες από την ημερομηνία εμφιάλωσής του. Η σημαντικότερη αιτία της αλλοίωσης του ελαιολάδου και γενικά των λιπαρών υλών, κατά την αποθήκευση, είναι η οξείδωση και οι συνθήκες που την επηρεάζουν είναι η θερμοκρασία, το φως και η διαθεσιμότητα σε οξυγόνο (Gutiérrez & Fernández, 2002). Έτσι, κατά τη διάρκεια της αποθήκευσης του ελαιολάδου, οι συνθήκες θα πρέπει να είναι τέτοιες ώστε να διατηρούνται τόσο τα οργανοληπτικά του χαρακτηριστικά όσο και οι βιολογικές του ιδιότητες.

#### 1.4. Χημική σύσταση

Προκειμένου να κατανοήσουμε τη συμπεριφορά του ελαιολάδου υπό συνθήκες θερμικής επεξεργασίας, είναι θεμελιώδες να εξετάσουμε ορισμένα ζητήματα που αφορούν τη χημική του σύσταση.

Τα συστατικά του ελαιολάδου διακρίνονται σε σαπωνοποιήσιμα (τριγλυκερίδια, φωσφολιπίδια, ελεύθερα λιπαρά οξέα, κ.α) και ασαπωνοποίητα (υδρογονάνθρακες, αλειφατικές αλκοόλες, στερόλες, φαινόλες, κ.α). Το 98,0-99,5% περίπου των συστατικών είναι σαπωνοποιήσιμα και το υπόλοιπο μη σαπωνοποιήσιμα. Αξίζει να σημειωθεί ότι παρά το γεγονός ότι το μη σαπωνοποιήσιμο κλάσμα είναι ποσοτικά πολύ μικρότερο, τα συστατικά που περιλαμβάνονται σε αυτό διαδραματίζουν σημαντικό διατροφικό και βιολογικό ρόλο (Boskou et al., 2006; Κυριτσάκης 2007; Frankel, 2010).

Το ελαιόλαδο αποτελείται κυρίως από τριγλυκερίδια, τα οποία, μαζί με τα μονο- και διγλυκερίδια, αποτελούν το κύριο σαπωνοποιήσιμο τμήμα του. Εκτός από τα τριγλυκερίδια, το ελαιόλαδο περιέχει μικρές ποσότητες και από άλλα συστατικά που προέρχονται από τον ελαιόκαρπο ή σχηματίζονται κατά την παραλαβή, του όπως:

- Ελεύθερα λιπαρά οξέα (προϊόντα υδρόλυσης των τριγλυκεριδίων)
- Μονοακυλογλυκερόλες (MAGs) και διακυλογλυκερόλες (DAGs),
- Φαινολικές ενώσεις
- Φωσφατίδια (ή φωσφολιπίδια)
- Στερόλες
- Πτητικές ενώσεις
- Τοκοφερόλες (α, β, γ, δ),
- Χρωστικές (χλωροφύλλη, καροτενοειδή όπως β-καροτένιο και λουτεΐνη)
- Υδρογονάνθρακες
- Αλκοόλες
- Σκουαλένιο
- Τριτερπενικά οξέα
- Πρωτεΐνες

Στον Πίνακα 3, αναφέρεται η περιεκτικότητα του VOO σε μικροσυστατικά.

Πίνακας 3: Η περιεκτικότητα του VOO σε μικροσυστατικά

Μικροσυστατικό	Περιεχόμενο (mg/kg)	Αναφορά
Υδροξυ-πεντακυκλικά τριτερπενικά οξέα (ΗΡΤΑ)	9-583	(Boskou, 2009; Kalogeropoulos & Tsimidou, 2014)
Φυτοστερόλες	1000 -2000	(Boskou, et al., 2009; Lou-Bonafonte, et al., 2015)
Πολικές φαινολικές ενώσεις	50-1500	(Boskou, 2009; Kalogeropoulos & Tsimidou, 2014; Lou-Bonafonte, et al., 2015)
Σκουαλένιο	200-7500	(Kalogeropoulos & Tsimidou, 2014; Lou-Bonafonte, et al., 2015; Mateos, et al., 2003)
Τοκοφερόλες	55-370	(Boskou, Tsimidou, & Blekas, 2006)

Το ΕVOO αποτελεί ένα σύνθετο μείγμα τριγλυκεριδίων, δηλαδή τριεστέρων της γλυκερόλης με ανώτερα λιπαρά οξέα. Μερικά από τα λιπαρά οξέα είναι ακόρεστα, ενώ άλλα είναι κορεσμένα. Τα τριγλυκερίδια του ΕVOO περιέχουν μείγματα παλμιτικού, παλμιτελαϊκού, στεατικού, ελαϊκού, λινελαϊκού και λινολενικού οξέος και ίχνη μυριστικού, αραχιδικού, επταδεκανοϊκού και εικοσανοϊκού οξέος. Στον Πίνακα 4, αναφέρεται η περιεκτικότητα των κυριότερων λιπαρών οξέων που περιέχονται στα τριγλυκερίδια του παρθένου ελαιολάδου (VOO) (ΕΟΚ αριθ. 2568/91).

Πίνακας 4: Σύσταση σε λιπαρά οξέα του παρθένου ελαιολάδου (Χαρακτηριστικά καθαρότητας-ΕΟΚ 2568/91).

Λιπαρό οξύ	Κωδικοποίηση λιπαρού οξέος (αριθμός C: αριθμός διπλών δεσμών)	Περιεκτικότητα (% w/w)
Μυριστικό (Myristic acid)	14:0	≤ 0,03
Λινολενικό (Linolenic acid)	18:3 n-3	≤ 1,00
Αραχιδικό (Arachidonic acid)	20:0	≤ 0,60
Εικοσενικό	20:1	≤ 0,50
Βεχενικό (Docosahexaenoic acid)	22:0	≤ 0,20
Λιγνοκηρικό	24:0	≤ 0,20
Παλμιτικό (Palmitic acid)	16:0	7,50 έως 20,00
Παλμιτολεϊκό (Palmitoleic acid)	16:1 n-7	0,30 έως 3,50
Στεατικό (Stearic acid)	18:0	0,50 έως 5,00
Ελαϊκό (Oleic acid)	18:1 n-9	55,00 έως 83,00
Λινελαϊκό (Linoleic acid)	18:2 n-6	2,50 έως 21,00



Η διαφοροποίηση στην περιεκτικότητα σε λιπαρά οξέα των διαφορετικών παρθένων ελαιολάδων μπορεί να αποδοθεί σε διάφορους παράγοντες, συμπεριλαμβανομένων των κλιματικών συνθηκών, της ποικιλίας, του βαθμού ωρίμανσης και της ζώνης καλλιέργειας (Boskou et al., 2006b).

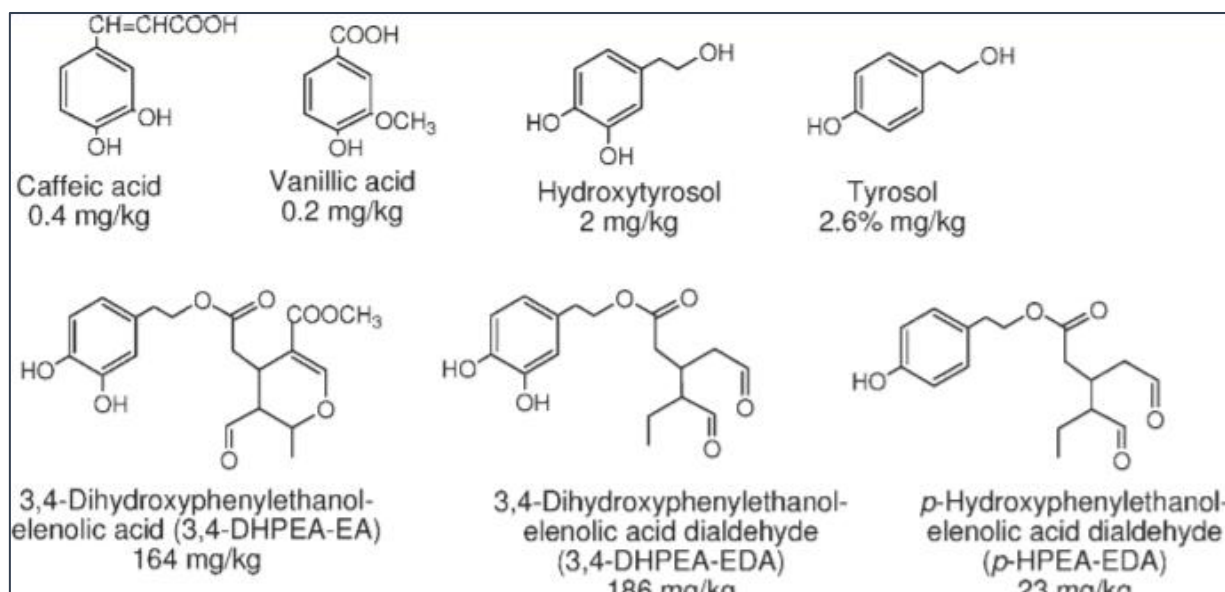
Έτσι, ορισμένα βασικά σημεία της χημικής δομής του ελαιολάδου είναι τα εξής. Πρώτον, το ελαιόλαδο συγκαταλέγεται μεταξύ των φυτικών ελαίων με την υψηλότερη περιεκτικότητα σε μονοακόρεστα λιπαρά οξέα (MUFA) στη σύστασή του, ως εκ τούτου είναι λιγότερο επιρρεπές στην οξείδωση σε σχέση με εκείνα με υψηλότερη περιεκτικότητα σε πολυακόρεστα λιπαρά οξέα (PUFA). Δεύτερον, το παρθένο και το εξαιρετικά παρθένο ελαιόλαδο δεν υποβάλλονται σε διαδικασία εξευγενισμού διατηρώντας έτσι τα σημαντικά συστατικά των φρούτων της ελιάς, συγκεκριμένα τις φαινολικές ενώσεις (π.χ. υδροξυτυροσόλη, τυροσόλη και ελαιοευρωπαΐνη/ oleuropein), χρωστικές (π.χ. χλωροφύλλη), υδρογονάνθρακες (π.χ. καροτένια και σκουαλένιο), στερόλες, φωσφολιπίδια, μονο- και διγλυκερίδια, λιπαρές αλκοόλες, κηροί και ποικίλες αρωματικές ενώσεις, που συμβάλλουν στη σταθερότητα και τη γεύση (flavor) του ελαιολάδου. Τρίτον, η σύσταση του ελαιολάδου εξαρτάται από διάφορες παραμέτρους, όπως η ποικιλία της ελιάς, οι εδαφοκλιματικές συνθήκες, η περίοδος, η τεχνική συγκομιδής, ο βαθμός ωρίμανσης των καρπών, η αφαίρεση φύλλων κ.λπ. καθιστώντας κάθε παρτίδα ελαιολάδου μοναδική και αυξάνοντας τις δυσκολίες κατά την προσπάθεια τυποποίησης των πειραματικών συνθηκών (Warner, 2002).

#### 1.4.1. Φαινολικές ενώσεις

Οι φαινολικές ενώσεις είναι μεγάλης σημασίας στο ελαιόλαδο λόγω της αντιοξειδωτικής τους δράσης και της θετικής επίδρασής τους στην υγεία. Αυτές οι ουσίες απομακρύνονται κατά τον εξευγενισμό, επομένως απουσιάζουν στα εξευγενισμένα φυτικά έλαια και είναι σε μικρότερη ποσότητα στα μείγματα ελαιολάδου με εξευγενισμένα ελαιόλαδα (ROO) σε σχέση με το παρθένο ελαιόλαδο. Η συγκέντρωση των φαινολικών ενώσεων στο ελαιόλαδο εξαρτάται από την ποικιλία της ελιάς και τις διαδικασίες συγκομιδής και παραλαβής του (Daskalaki et al., 2009).

Έχει αποδειχθεί ο συσχετισμός μεταξύ της οξειδωτικής σταθερότητας και της περιεκτικότητας σε φαινολικές ενώσεις του ελαίου, ενώ η περιεκτικότητα σε πολικές φαινολικές ενώσεις συγκεκριμένα αποδείχθηκε ότι είναι ο σημαντικότερος καθοριστικός παράγοντας της σταθερότητάς του, ενώ η συγκέντρωσή τους επηρεάζει τη διάρκεια ζωής του προϊόντος (Kalogeropoulos & Tsimidou, 2014; Amirante et al., 2010).

Στο ελαιόλαδο έχουν ανιχνευτεί περισσότερες από 30 φαινολικές ενώσεις, οι σημαντικότερες των οποίων φαίνονται στην Εικόνα 2 (Servili et al., 2004), οι οποίες είτε προέρχονται από τον καρπό και τα φύλλα της ελιάς, είτε σχηματίζονται κατά την παραλαβή του ελαιολάδου στο ελαιοτριβείο. Οι κύριες κατηγορίες φαινολικών ενώσεων στο παρθένο ελαιόλαδο είναι τα φλαβονοειδή, οι λιγνάνες (lignans), οι φαινολικές αλκοόλες, τα φαινολικά οξέα, οι απλές φαινόλες (υδροξυτυροσόλη, τυροσόλη, βανιλικό οξύ, *p*-κουμαρικό οξύ, φερυλικό οξύ) και σεκοϊριδοειδή (secoiridoids), με τις τρεις τελευταίες κατηγορίες να κυριαρχούν. Η υδροξυτυροσόλη (3,4-DHPEA) και η τυροσόλη (*p*-HPEA), προέρχονται επίσης από τους γλυκοζίτες της ελαιοευρωπαϊνης (oleuropein) τα οποία είναι ισχυρά αντιοξειδωτικά και δεσμεύουν τις ελεύθερες ρίζες (Servili & Montedoro, 2002).



Εικόνα 2: Φαινολικές ενώσεις στο εξαιρετικά παρθένο ελαιόλαδο και τυπικές τιμές από 116 δείγματα ελαίων (Servili & Montedoro, 2002).

#### 1.4.2. Τοκοφερόλες

Οι τοκοφερόλες, που είναι γνωστές και ως βιταμίνη E, έχουν ισχυρή αντιοξειδωτική δράση και η συγκέντρωσή τους στα ελληνικά ελαιόλαδα κυμαίνεται από 98 ως 370 mg/kg. Η α-τοκοφερόλη αποτελεί 90 % των ολικών τοκοφερολών. Το ενδιαφέρον για αυτά τα φυσικά αντιοξειδωτικά σχετίζεται με τη συμβολή τους στη σταθερότητα των λιπιδικών υποστρωμάτων. Λειτουργούν αντιοξειδωτικά και προστατεύουν το ελαιόλαδο από την οξείδωση. Ενώ η α-τοκοφερόλη παρουσιάζει αντιοξειδωτική δράση σε συνθήκες φωτοευαισθητοποιημένης οξείδωσης και αυτοοξείδωσης.

#### 1.5. Οφέλη στην υγεία

Το παρθένο (VOO) και το εξαιρετικά παρθένο (EVOO) ελαιόλαδο ξεχωρίζουν, ανάμεσα στα φυτικά έλαια, λόγω των θρεπτικών και οργανοληπτικών χαρακτηριστικών τους, που τα καθιστούν μοναδικά και βασικά συστατικά της μεσογειακής διατροφής. Σε σύγκριση με άλλα φυτικά έλαια που υπόκεινται σε διαδικασία εξευγενισμού, το EVOO είναι γνωστό για το ότι έχει υψηλότερη ποιότητα όσον αφορά την υγεία.

Επιδημιολογικές μελέτες έχουν δείξει ότι στις χώρες της Μεσογείου υπάρχουν μειωμένα περιστατικά εκδήλωσης της στεφανιαίας νόσου, γεγονός που συσχετίστηκε με την μεσογειακή διατροφή και την κατανάλωση ελαιολάδου (Conas, 2007). Το παρθένο ελαιόλαδο είναι αναπόσπαστο συστατικό της μεσογειακής διατροφής και συσσωρευμένα στοιχεία αποδεικνύουν τα οφέλη της κατανάλωσης ελαιολάδου στην υγεία, που περιλαμβάνουν μείωση των παραγόντων κινδύνου στεφανιαίας νόσου, πρόληψη διαφόρων τύπων καρκίνων (Elmagar et al., 2011; Trichoroulou et al., 2000) και τροποποίηση ανοσολογικών και φλεγμονωδών αποκρίσεων (Karaosmanoglu et al., 2010; Romero et al., 2007; Corona et al., 2009). Στο πλαίσιο της μεσογειακής διατροφής και των στεφανιαίων καρδιακών παθήσεων, έχει επίσης αποδειχθεί ότι το παρθένο ελαιόλαδο (VOO) πλούσιο σε φαινόλες αυξάνει την αντοχή της λιποπρωτεΐνης χαμηλής πυκνότητας LDL στην οξείδωση, τόσο in vitro όσο και in vivo (Bendini et al., 2007).

Η θρεπτική αξία και οι ευεργετικές ιδιότητες του παρθένου ελαιολάδου, αποδίδονται στη σύσταση των λιπαρών οξέων και συγκεκριμένα στην παρουσία μεγάλης ποσότητας

μονοακόρεστων λιπαρών οξέων (MUFAs), όπως ελαιϊκό οξύ. Το ελαιϊκό οξύ (C18: 1), το κύριο λιπαρό οξύ στο ελαιόλαδο, έχει διαπιστωθεί ότι αυξάνει την λιποπρωτεΐνη υψηλής πυκνότητας (HDL) και την αποπρωτεΐνη A1 ενώ μειώνει την λιποπρωτεΐνη χαμηλής πυκνότητας (LDL) και την αποπρωτεΐνη Β. Για το λόγο αυτό, το ελαιϊκό οξύ μπορεί να αποτρέψει καρδιαγγειακές παθήσεις (Ghandari et al., 2012). Ωστόσο οι ευεργετικές ιδιότητες του ελαιολάδου δεν περιορίζονται μόνο στην υψηλή περιεκτικότητα του σε MUFAs, αλλά αποδίδονται και στην παρουσία αρκετών δευτερευόντων συστατικών, συμπεριλαμβανομένων των αλειφατικών και τριτερπενικών αλκοολών, φαινολικών ενώσεων, στερολών (κυρίως β-σιτοστερόλη), υδρογονανθράκων, πτητικών ενώσεων, τοκοφερολών (κυρίως α-τοκοφερόλη), χρωστικών όπως χλωροφύλλη, καροτενοειδών (β-καροτένιο και λουτεΐνη) (Gomez-Caravaca et al., 2016).

Λόγω των παραπάνω, το ελαιόλαδο έχει χαρακτηριστεί ως λειτουργικό τρόφιμο με πολλά από τα συστατικά του να συμβάλλουν στη συνολική βιολογική του δράση (Stark & Madar, 2002). Έτσι, το 2011, η Ευρωπαϊκή Αρχή Ασφάλειας Τροφίμων (EFSA), βασισμένη σε καλά τεκμηριωμένες μελέτες (Conas et al. 2006; Torre-Carbot et al., 2010) ενέκρινε τον «ισχυρισμό υγείας» στο ελαιόλαδο, συγκεκριμένα ότι η διατροφική πρόσληψη των πολυφαινολών του ελαιολάδου προλαμβάνει την οξειδωση της LDL (EFSA, 2011). Τον Δεκέμβριο του 2012 ξεκίνησε η εφαρμογή του Κανονισμού (ΕΕ) 432/2012 της Ευρωπαϊκής Επιτροπής, ο οποίος θέσπισε κατάλογο επιτρεπόμενων «ισχυρισμών υγείας» που διατυπώνονται για τα τρόφιμα, μεταξύ των οποίων βρίσκεται και το ελαιόλαδο. Στον κατάλογο αυτό ορίζεται ότι μπορεί να αναγράφεται στις ετικέτες των ελαιολάδων ο εξής ισχυρισμός υγείας: «οι πολυφαινόλες του ελαιολάδου συμβάλλουν στην προστασία των λιπιδίων του αίματος από το οξειδωτικό στρες» (EC, 2012). Ο ισχυρισμός αυτός μπορεί να χρησιμοποιηθεί μόνο για ελαιόλαδα τα οποία περιέχουν τουλάχιστον 5 mg υδροξυτυροσόλης και παραγώγων αυτής ανά 20 g ελαιολάδου, δεδομένου ότι τα ευεργετικά αποτελέσματα εξασφαλίζονται με την ημερήσια πρόσληψη 20 g ελαιολάδου.

## 1.6. Αισθητηριακές ιδιότητες

Η μεγάλη αύξηση στη ζήτηση ελαιολάδου υψηλής ποιότητας δεν φαίνεται να συνδέεται μόνο με τις βιολογικές του ιδιότητες, αλλά και με τα ιδιαίτερα οργανοληπτικά του χαρακτηριστικά, που οφείλονται στις πτητικές και φαινολικές ενώσεις οι οποίες είναι υπεύθυνες για το άρωμα και τη γεύση αντίστοιχα (Κώτσιου, 2015). Το παρθένο ελαιόλαδο (VOO) είναι φημισμένο για τα οργανοληπτικά του χαρακτηριστικά. Η γεύση του είναι χαρακτηριστική και διαφέρει σημαντικά από εκείνη άλλων βρώσιμων λιπών και ελαίων. Ο συνδυασμός της γεύσης, της οσμής (απευθείας μέσω της μύτης ή έμμεσα μέσω της οπισθορινικής διαδρομής μέσω του στόματος) και των χημικών αποκρίσεων (πικάντικη-rungent, στυπτική, μεταλλική, δροσιστική ή καυτερή) προκαλεί την αίσθηση που γενικά θεωρείται ως «γεύση-flavor». Το παρθένο ελαιόλαδο (VOO), όταν παράγεται από φρέσκους και υγιείς καρπούς ελιάς (*Olea europaea*) και έχει υποστεί σωστή επεξεργασία και αποθήκευση, χαρακτηρίζεται από έναν μοναδικό συνδυασμό αρώματος και γεύσης επιθυμητό από τους καταναλωτές. Οι οργανοληπτικές ιδιότητες του παρθένου ελαιολάδου κατέχουν κυρίαρχο ρόλο στην αποδοχή του, λόγω της ευρείας χρήσης του ως καρύκευμα σε μαγειρεμένα και ιδιαίτερα σε ωμά τρόφιμα (Bendini et al., 2007).

Η αισθητηριακή ποιότητα του παρθένου ελαιολάδου σχετίζεται με τις φαινολικές και τις πτητικές του ενώσεις. Οι φαινολικές ενώσεις ευθύνονται άμεσα για την πικρή και έντονη (rungent) γεύση στο λάδι. Ενώ το άρωμα του ελαίου καθορίζεται από τις πτητικές ενώσεις, κυρίως αλειφατικές αλκοόλες, τερπένια χαμηλού μοριακού βάρους, κετόνες, αιθέρες, παράγωγα φουρανίου και θειοφαινίου και, το πιο σημαντικό, κορεσμένες και ακόρεστες αλκοόλες και αλδεΐδες ανθρακικής αλυσίδας C5, C6 και C9. Η απελευθέρωση των φαινολών και ο σχηματισμός πτητικών ενώσεων είναι δύο βασικές παράμετροι της ποιότητας του παρθένου ελαιολάδου που σχετίζονται άμεσα με τη διαδικασία μηχανικής παραλαβής. Σε αυτό το πλαίσιο, ο έλεγχος των ενδογενών ενζύμων του καρπού της ελιάς κατά τη διάρκεια της επεξεργασίας είναι το πιο κρίσιμο σημείο στη διαδικασία μηχανικής παραλαβής του ελαιολάδου (Amirante et al., 2010).

## 1.7. Σκοπός έρευνας

Το εξαιρετικό παρθένο ελαιόλαδο (EVOO) και το παρθένο ελαιόλαδο (VOO) είναι οι κατηγορίες ελαιόλαδου με την μεγαλύτερη αξία. Τα ποιοτικά τους χαρακτηριστικά μεγιστοποιούνται όταν καταναλώνονται χωρίς προηγουμένως να υποβληθούν σε θερμική επεξεργασία δηλαδή όταν το ελαιόλαδο προστίθεται ως τελικό καρύκευμα σε φρέσκες σαλάτες, σούπες ή άλλα πιάτα. Ωστόσο, το ελαιόλαδο χρησιμοποιείται και ως βάση μαγειρέματος, όπως στο ψήσιμο, το σοτάρισμα και το τηγάνισμα όπου εμφανίζονται επιπτώσεις στα χαρακτηριστικά του λόγω της θερμικής επεξεργασίας (Boskou, 2009; Waterman & Lockwood, 2007).

Το ελαιόλαδο θεωρείται οικονομικά σημαντικό προϊόν, ειδικά για τις χώρες παραγωγής της περιοχής της Μεσογείου. Έτσι, αρκετοί συγγραφείς έχουν ασχοληθεί με την επίδραση της θέρμανσης στις θρεπτικές και βιολογικές ιδιότητες του ελαιολάδου. Η γνώση αυτή είναι απαραίτητη, ώστε κάποιος να γνωρίζει τις κατάλληλες θερμοκρασίες και μεθόδους επεξεργασίας για κάθε κατηγορία ελαιόλαδου, την αλληλεπίδρασή του με το φαγητό που μαγειρεύεται και τον κατάλληλο χρόνο απόρριψης, με στόχο τη διατήρηση των αρχικών διατροφικών χαρακτηριστικών του ελαιολάδου (Santos et al., 2013). Λαμβάνοντας υπόψη τη σημασία του EVOO, έχει αναπτυχθεί πληθώρα τεχνικών ανάλυσης για το χαρακτηρισμό του.

Η παρούσα βιβλιογραφική ανασκόπηση έχει ως στόχο την ανασκόπηση των κυριότερων ερευνών που μελετούν την ποιοτική υποβάθμιση του εξαιρετικά παρθένου ελαιολάδου. Συγκεκριμένα μελετήθηκαν οι ποιοτικοί παράγοντες του ελαιολάδου και μέσω των ερευνών αντλήθηκαν συμπεράσματα για τη μεταβολή τους κατά τη θερμική επεξεργασία καθώς και τη συσχέτισή τους με εξωτερικές παραμέτρους (χρόνος θέρμανσης, θερμοκρασία). Ο στόχος είναι να οριστούν βασικές φυσικοχημικές μετρήσεις οι οποίες είναι αντιπροσωπευτικές της ποιοτικής αλλοίωσης του ελαίου κατά τη θέρμανση. Αφού οριστούν οι σημαντικές ποιοτικές παράμετροι, μελετάται η επίδραση των βασικών μεθόδων θερμικής επεξεργασίας (τηγάνισμα, ψήσιμο, μικροκύματα) στην υποβάθμιση του ελαιολάδου και αναλύονται οι μηχανισμοί αλλοίωσης του ελαίου ενώ παρουσιάζονται τα βασικά συμπεράσματα της ανασκόπησης.

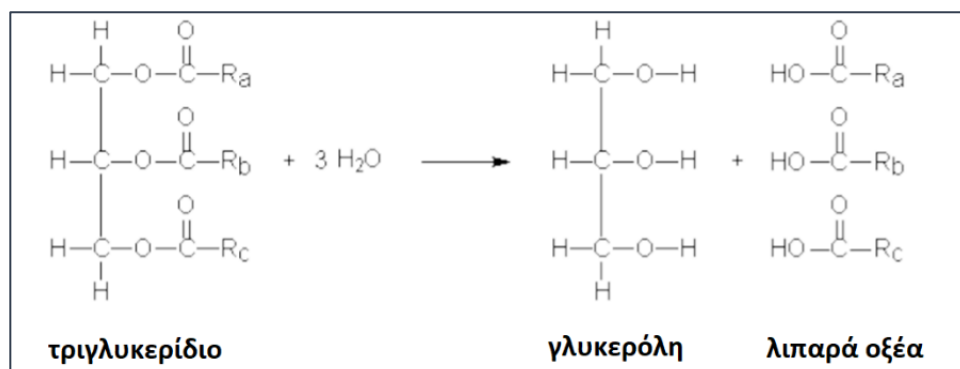
Τέλος, παρουσιάζονται και αναλύονται οι κλασικές τεχνικές ανάλυσης ελαιολάδου καθώς και η χρήση της φασματοσκοπίας IR στην ανάλυση των ποιοτικών παραγόντων του με στόχο να διερευνηθεί η ευκαιρία υιοθέτησης της ως γρήγορη μέθοδος ανάλυσης για τον έλεγχο των μαγειρεμένων ελαιολάδων.

## Κεφάλαιο 2: Ποιοτική υποβάθμιση ελαιολάδων

Οι κυριότερες αλλοιώσεις που υφίσταται το ελαιόλαδο είναι η υδρόλυση και η οξείδωση. Η υδρόλυση (ή λιπόλυση) λαμβάνει χώρα κυρίως κατά το χρόνο πριν από την παραλαβή του ελαιολάδου από τον ελαιόκαρπο, ενώ η οξείδωση παρατηρείται κυρίως κατά την παραλαβή του και ιδιαίτερα κατά την διάρκεια της αποθήκευσης όταν αυτή γίνεται σε ακατάλληλες συνθήκες. Η οξείδωση του ελαιολάδου, μπορεί να συμβεί σε συνθήκες απουσίας φωτός και ονομάζεται αυτοοξείδωση ή και παρουσία φωτός, με τη συμμετοχή χρωστικών ουσιών και ονομάζεται φωτοοξείδωση (Κώτσιου, 2015; Κυριτσάκης, 2007). Η οξείδωση των λιπιδίων έχει αναγνωριστεί ως το σημαντικότερο πρόβλημα που επηρεάζει τα βρώσιμα έλαια, καθώς είναι η αιτία σημαντικών αλλοιώσεων στα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά και στη διατροφική αξία του ελαιολάδου (Velasco & Dobarganes, 2002).

### 2.1. Υδρόλυση

Η υδρόλυση πραγματοποιείται κυρίως στα φρέσκα ελαιόλαδα κάτι που σημαίνει ότι η οξύτητα εξαιτίας της υδρόλυσης μπορεί να μεταβληθεί μόνο σε μικρό βαθμό μετά την εξαγωγή του ελαιολάδου από τον ελαιόκαρπο. Κατά την αντίδραση, υδρόλύεται ο εστερικός δεσμός του τριγλυκεριδίου, δίνοντας γλυκερίνη και μείγμα λιπαρών οξέων, όπως παρουσιάζεται στην Εικόνα 3, με αποτέλεσμα την αύξηση της οξύτητας και την αλλαγή των οργανοληπτικών χαρακτηριστικών του προϊόντος και την υποβάθμιση της ποιότητας και της εμπορικής αξίας του ελαιολάδου (Κανονισμός (ΕΟΚ) 2568/91, 1991).



Εικόνα 3: Αντίδραση υδρόλυσης τριγλυκεριδίων. Ra, Rb, Rc: αλκυλομάδες διαφορετικών οξέων.



Η έκταση της υδρόλυσης, και η επακόλουθη αύξηση της τιμής της οξύτητας του ελαιολάδου εξαρτάται κατά κύριο λόγο από την ποιοτική κατάσταση του ελαιοκάρπου από τον οποίο προέρχεται και μεταβάλλεται πολύ λίγο μετά την παραλαβή του απ' αυτόν. Υψηλή οξύτητα συνήθως σημαίνει ότι το ελαιόλαδο προέρχεται από ταλαιπωρημένο ελαιοκάρπο ή ακατάλληλες συνθήκες ελαιοποίησης. Η μικρή αύξηση της οξύτητας του ελαιολάδου, μετά την παραλαβή του από τον ελαιοκάρπο, οφείλεται κυρίως στην παρουσία υδρολυτικών ενζύμων και υγρασίας στο ίζημα (μούργα), που συγκεντρώνεται στον πυθμένα των δοχείων αποθήκευσης και διατήρησης (Κυριτσάκης, 2007; Li & Wang, 2018). Η υδρόλυση καταλύεται από το ένζυμο λιπάση που βρίσκεται στον καρπό της ελιάς και δρα λιπολυτικά, ειδικά στις θέσεις 1 και 3 των τριγλυκεριδίων. Η υδρόλυση του ελαιολάδου επηρεάζεται από διάφορους παράγοντες όπως ο βαθμός ωρίμανσης, η υγρασία, η θερμοκρασία, τα ένζυμα και οι μικροοργανισμοί. Συγκεκριμένα η λιπολυτική δράση του ενζύμου ευνοείται σε θερμοκρασίες μεγαλύτερες από 18-20°C (Κυριτσάκης, 2007; Κανονισμός ΕΟΚ 2568/91).

## **2.2. Οξείδωση ελαιόλαδου**

Η οξείδωση θεωρείται ως η κύρια αλλοίωση του ελαιόλαδου και οδηγεί στην ποιοτική του υποβάθμιση. Πρόκειται για μια αναπόφευκτη διαδικασία που ξεκινά μετά την εξαγωγή του ελαιολάδου ενώ γίνεται πιο έντονη κατά την αποθήκευση λαδιού. Η οξείδωση οδηγεί στο σχηματισμό προϊόντων με δυσάρεστη οσμή και γεύση, τα οποία υποβαθμίζουν την ποιότητα των λιπαρών υλών, ενώ σε προχωρημένο βαθμό οξείδωσης και σε μεγάλες ποσότητες τα προϊόντα αυτά μπορεί να θεωρηθούν τοξικά (Bendini et al., 2007; Ceci et al., 2017). Ακόμα, επιφέρει μεταβολές στις φυσικές ιδιότητες του ελαίου όπως είναι το ιξώδες (Κυριτσάκης, 2007).

Πρόκειται για σοβαρή αλλοίωση η οποία οφείλεται κατά κανόνα σε ακατάλληλες συνθήκες στις οποίες εκτίθεται το λάδι μετά την εξαγωγή του από το ελαιοτριβείο, όπως για παράδειγμα τοποθέτηση σε ακατάλληλα δοχεία αποθήκευσης ή έκθεση στον ήλιο κλπ. Η οξείδωση μπορεί να είναι ενζυματική, χημική ή φωτοχημική. Η ενζυματική οφείλεται στην δράση των λιποξειδασών, τα οποία είναι ένζυμα που βρίσκονται στον ελαιοκάρπο. Η χημική οξείδωση αντίθετα αφορά την οξείδωση η οποία γίνεται κατά την διάρκεια της συντήρησης

του ελαιολάδου, μέσω ενός μηχανισμού σχηματισμού ελεύθερων ριζών. Η δράση των λιποξειδασών ποικίλλει λόγω παραγόντων όπως η θερμοκρασία, ενώ η χημική οξείδωση ευνοείται από παράγοντες όπως το φως, η υψηλή θερμοκρασία, η παρουσία οξυγόνου αλλά και η παρουσία μεταλλικών στοιχείων.

### 2.2.1. Μηχανισμός οξείδωσης

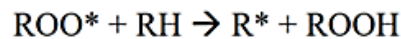
Η οξείδωση, συμβαίνει όταν τα ακόρεστα λιπαρά οξέα (λινελαϊκό και λινολενικό οξύ) έρθουν σε επαφή με το οξυγόνο, το οποίο αντιδρά είτε σε άτομο άνθρακα διπλού δεσμού, είτε στη μεθυλενική ομάδα σε α- θέση ως προς τον διπλό δεσμό (Matthäus, 2010). Αρχικά τα λιπίδια οξειδώνονται μέσω ριζών και σχηματίζονται τα υδροϋπεροξειδία, (πρωτογενή προϊόντα οξείδωσης), τα οποία είναι άοσμα και άγευστα και δεν προκαλούν αλλαγές στα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά. Τα υπεροξειδία υπόκεινται σε περαιτέρω οξείδωση ή αποδόμηση, μέσω ομολυτικής διάσπασης της ομάδας υδροϋπεροξειδίου, όπου παράγονται διάφορες πτητικές ενώσεις (αλδεΐδες, κετόνες, οξέα και αλκοόλες), γνωστές ως δευτερογενή προϊόντα οξείδωσης. Οι ενώσεις αυτές ευθύνονται για τυπικά δυσάρεστα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά και τις αρνητικές μεταβολές στη γεύση, στο άρωμα, στη θρεπτική αξία και τελικά στη συνολική ποιότητα του ελαιόλαδου (Bendini et al., 2007; Matthäus 2010; Κυριτσάκης, 2007).

#### 2.2.1.1. Οξείδωση απουσία φωτός (αυτοοξείδωση)

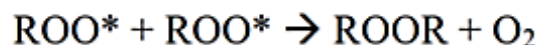
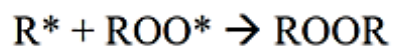
Ο μηχανισμός περιλαμβάνει τρία στάδια, την εισαγωγή, τη διάδοση και τον τερματισμό.



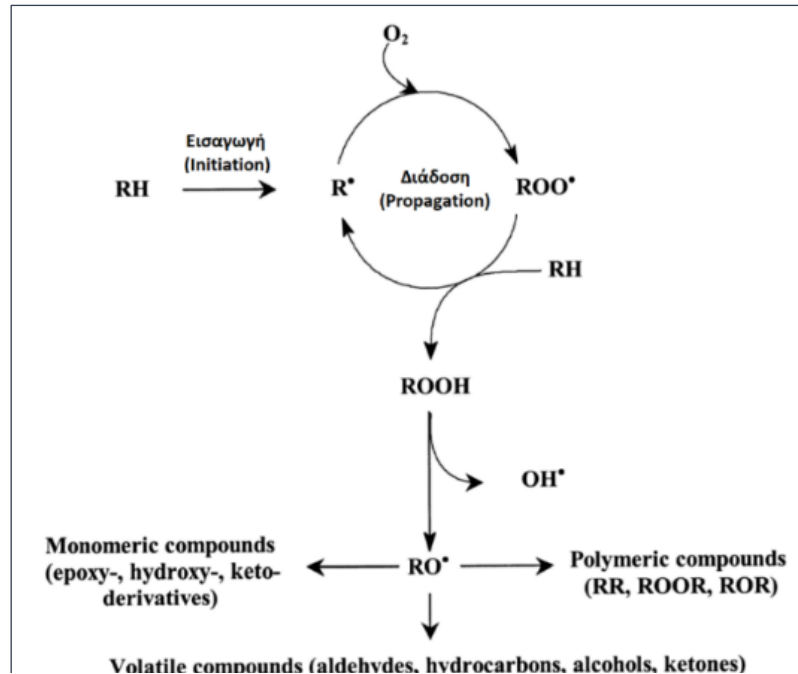
Ως εισαγωγή ορίζεται η χρονική περίοδος πριν την εμφάνιση της ανεπιθύμητης οσμής και γεύσης, όπου η κατανάλωση ατμοσφαιρικού οξυγόνου είναι σχετικά μικρή. Η οξείδωση αρχίζει με την απόσπαση ενός υδρογόνου από ένα μόριο ακόρεστου λιπαρού οξέος (RH), οπότε σχηματίζεται μία ελεύθερη ρίζα λιπαρού οξέος (R\*). Η θερμοκρασία, το φως, άλλες ελεύθερες ρίζες και μέταλλα παίζουν το ρόλο των εκκινήτων.



Στο στάδιο αυτό, η αντίδραση προχωράει με μεγαλύτερο ρυθμό, ενώ οργανοληπτικά το δείγμα αρχίζει να αποκτά την γεύση ταγγισμένου προϊόντος. Η σχηματιζόμενη ρίζα από το στάδιο έναρξης, αντιδρά με ένα μόριο οξυγόνου και δημιουργείται μία ρίζα υπεροξειδίου (ROO<sup>\*</sup>). Στη συνέχεια η ρίζα του υπεροξειδίου αντιδρά με άλλο μόριο λιπαρού οξέος (RH), το οποίο δεν είχε οξειδωθεί μέχρι εκείνη τη στιγμή. Έτσι δημιουργούνται υπεροξείδια και νέες ελεύθερες ρίζες. Τα υπεροξείδια είναι ασταθείς ενώσεις, διασπώνται εύκολα και έτσι παρέχουν ελεύθερες ρίζες για την δημιουργία νέων αλυσιδωτών αντιδράσεων. Από την διάσπαση των υπεροξειδίων, τα οποία δεν είναι σταθερά, παράγονται ένα πλήθος πτητικών οργανικών ενώσεων (δευτερογενή προϊόντα) με μικρό αριθμό ατόμων άνθρακα, οι οποίες είναι υπεύθυνες για την δυσάρεστη γεύση και οσμή που παρουσιάζουν οι οξειδωμένες λιπαρές ύλες. Επομένως τα ανεπιθύμητα χαρακτηριστικά των ταγγισμένων ελαιολάδων οφείλονται στα δευτερογενή προϊόντα και όχι στα υπεροξείδια τα οποία είναι μεγαλομοριακές ενώσεις και είναι πολύ δύσκολο να ανιχνευτούν από τα αισθητήρια όργανα του ανθρώπου.



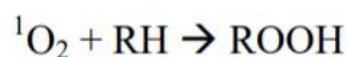
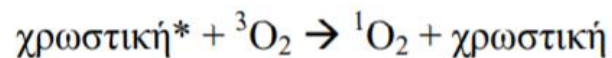
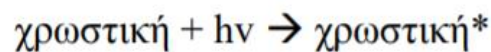
Στο στάδιο του τερματισμού οι δύο ρίζες των λιπαρών οξέων αντιδρούν μεταξύ τους, τα προϊόντα που σχηματίζονται είναι αδρανή και έτσι τερματίζεται η διάδοση. Οποιαδήποτε αντίδραση εμποδίζει το στάδιο της διάδοσης ή απομακρύνει τις ελεύθερες ρίζες από το σύστημα παίζει βασικό ρόλο στον τερματισμό.



Εικόνα 4: Απλοποιημένο σχήμα οξείδωσης. RH: μόριο ακόρεστου λιπαρού οξέος, R\* ελεύθερη ρίζα λιπαρού οξέος, ROO\*: ρίζα υπεροξειδίου, ROOR, RR, ROR: αδρανή προϊόντα (Velasco & Dobarganes, 2002).

#### 2.2.1.2. Οξείδωση παρουσία φωτός (φωτοξείδωση)

Οι περισσότερες λιπαρές ύλες περιέχουν φυσικές ενώσεις, οι οποίες ενεργοποιούνται κατά την έκθεση στο φως όπως είναι η χλωροφύλλη και η φαιοφυτίνη στο ελαιόλαδο. Η έκθεση της λιπαρής ύλης στο φως, μπορεί να προκαλέσει το σχηματισμό υδροϋπεροξειδίων, εφόσον υπάρχει διαθέσιμο οξυγόνο και φωτοευαίσθητοι ενώσεις. Οι αντιδράσεις που λαμβάνουν χώρα κατά την φωτοξείδωση του ελαιολάδου φαίνονται παρακάτω:



Εικόνα 5: όπου,  $h\nu$ : ηλιακή ενέργεια,  $\text{χρωστική}^*$ : ενεργοποιημένη χρωστική,  ${}^3\text{O}_2$ : οξυγόνο τριπλής κατάστασης,  ${}^1\text{O}_2$ : ενεργοποιημένο οξυγόνο απλής κατάστασης, RH: λιπαρό οξύ ROOH: υπεροξείδιο

Για να αρχίσει η φωτοξείδωση θα πρέπει οι χρωστικές, που περιέχει η λιπαρή ύλη, να έλθουν σε επαφή με φως. Η επαφή αυτή έχει σαν συνέπεια την απορρόφηση ενέργειας και στην συνέχεια απόδοση αυτής της ενέργειας στο οξυγόνο, που υπάρχει στον ελεύθερο χώρο των δοχείων συσκευασίας, είτε είναι διαλυμένο μέσα στο έλαιο. Η ενέργεια που απορροφάται οδηγεί στο σχηματισμό της απλής διεγερμένης μορφής οξυγόνου. Έπειτα το οξυγόνο αντιδρά απευθείας με το λιπίδιο και σχηματίζονται τα υπεροξειδία. Η ενεργοποιημένη μορφή οξυγόνου αντιδρά με το λινελαϊκό οξύ περίπου 1500 φορές γρηγορότερα σε σχέση με το κανονικό οξυγόνο. Τα υδροϋπεροξειδία που σχηματίζονται από το ενεργοποιημένο οξυγόνο αποσυντίθενται γρήγορα προς σχηματισμό αλκοξυ- και υπεροξυ- ριζών, τα οποία με τη σειρά τους επιταχύνουν την οξείδωση. Κατά την φωτοξείδωση επέρχεται πλήρης καταστροφή της χλωροφύλλης που υπάρχει στο ελαιόλαδο. Η οξείδωση των ακόρεστων λιπαρών οξέων μέσω της ενεργοποιημένης μορφής οξυγόνου μπορεί να ανασταλεί όταν υπάρχουν ενώσεις που αντιδρούν πιο γρήγορα με τον εκκινητή ή από καταστολείς (quenchers) που απενεργοποιούν την ενεργοποιημένη μορφή του οξυγόνου. Στα ελαιόλαδα μεταξύ των πιο αποτελεσματικών καταστολέων βρίσκεται η α-τοκοφερόλη και το β-καροτένιο (Κώτσιου, 2015; Psomiadou & Tsimidou, 2002).

#### 2.2.1.3. Παράγοντες που επιδρούν στην οξείδωση

Οι παράγοντες που επιδρούν στην οξείδωση του ελαιόλαδου μπορεί να είναι είτε εξωτερικοί είτε να σχετίζονται με τα επιμέρους συστατικά του. Το οξυγόνο, το φως, η θερμοκρασία, τα μέταλλα, οι χρωστικές ουσίες, η σύσταση ακόρεστων λιπαρών οξέων, καθώς και η ποσότητα και το είδος των φυσικών αντιοξειδωτικών, είναι όλοι παράγοντες που μπορούν να επηρεάσουν τον μηχανισμό ελευθέρων ριζών της διαδικασίας αυτοξείδωσης με διαφορετικό τρόπο.

Οι πιο σημαντικοί παράγοντες που επηρεάζουν την οξείδωση του ελαιόλαδου είναι η θερμοκρασία, το φως και η διαθεσιμότητα σε οξυγόνο. Σε υψηλές θερμοκρασίες, παρατηρείται αύξηση στο ρυθμό της οξείδωσης αλλά ταυτόχρονα και μείωση της διαλυτότητας του οξυγόνου στο ελαιόλαδο, ενώ σε χαμηλές ή μέτριες θερμοκρασίες, ο ρυθμός της οξείδωσης είναι αργός. Οι επιπτώσεις της θερμοκρασίας στην οξείδωση του

ελαιολάδου είναι ακόμη πιο σημαντικές στην περίπτωση που έχουμε συνδυασμό αυξημένης θερμοκρασίας με παρουσία οξυγόνου (Velasco & Dobarganes, 2002). Παρουσία οξυγόνου, έχουμε σχηματισμό υδροϋπεροξειδίων με μεγαλύτερο ρυθμό από τον ρυθμό αποσύνθεσής τους κάτι που οδηγεί στην παραγωγή καρβοξυλικών οξέων (Velasco & Dobarganes, 2002; Κυριτσάκης, 2007).

### **2.3. Ποιοτικοί παράγοντες (κριτήρια ποιότητας) ΕVOO**

Προκειμένου να προσδιοριστεί η ποιότητα του ελαιολάδου γίνεται μέτρηση ορισμένων φυσικοχημικών παραμέτρων ή αλλιώς, των κριτηρίων ποιότητας. Οι φυσικοχημικές παράμετροι για το ελαιόλαδο, σύμφωνα με τον Κανονισμό 2568/91 της Ευρωπαϊκής Ένωσης και σύμφωνα με το Εμπορικό Πρότυπο του Διεθνούς Συμβουλίου Ελαιολάδου είναι, μεταξύ άλλων, η ελεύθερη οξύτητα, ο αριθμός υπεροξειδίων και η απορρόφηση στο υπεριώδες (Κ270/Κ232/ΔΚ) (IOC, 2019; AOCS, 2017). Επιπλέον, για τα παρθένα ελαιόλαδα, στα κριτήρια ποιότητας συμπεριλαμβάνεται και η οργανοληπτική αξιολόγηση.

Ο κανονισμός αυτός ορίζει τα φυσικά και χημικά χαρακτηριστικά των ελαιολάδων και των πυρηνέλαιων, καθώς και τις μεθόδους προσδιορισμού των χαρακτηριστικών αυτών. Ωστόσο οι οριακές τιμές αυτές χρησιμοποιούνται για την κατηγοριοποίηση των ελαίων πριν τη θέρμανση, ενώ η νομοθεσία δεν ορίζει συγκεκριμένες οριακές τιμές μετά τη θερμική επεξεργασία ελαιολάδων. Ως εκ τούτου, παρά τη σημαντικότητα τους ως παραμέτρους ποιότητας για την ταξινόμηση του ελαιολάδου, οι πληροφορίες που παρέχονται για την αποδόμηση του ελαίου είναι λίγες σε σχέση με άλλες μεθόδους με πιο συνεπή αποτελέσματα (Casal et al., 2010).

Έτσι αποτελεί επιτακτική ανάγκη, ο προσδιορισμός συγκεκριμένων μετρήσεων και ορίων τιμών οι οποίες θα σχετίζονται με την θερμική επεξεργασία και την ποιότητα του ελαίου κατά τη διάρκεια της θέρμανσης. Μετά από εκτενή βιβλιογραφική έρευνα σχηματίστηκαν οι Πίνακες 7 και 8 στους οποίους παρουσιάζονται συνοπτικά οι έρευνες στις οποίες βασίστηκε αυτή η ανασκόπηση. Από αυτές εξήχθησαν βασικά συμπεράσματα για τους ποιοτικούς παράγοντες που πρέπει να παρακολουθούνται κατά τη θερμική επεξεργασία, καθώς και οι πληροφορίες που παρέχονται από την κάθε παράμετρο.

Πίνακας 5: Βιβλιογραφική ανασκόπηση ερευνών που μελετούν την ποιοτική υποβάθμιση του παρθένου και εξαιρετικά παρθένου ελαιολάδου μετά από θερμική επεξεργασία (παρουσία τροφίμου)

Είδος ελαίου	Τρόφιμο	Συνθήκες μαγειρέματος			Μετρήσεις (ποιοτικοί δείκτες)	Συμπεράσματα	Αναφορά
		Τύπος	Θερμοκρασία	Χρόνος			
EVOO vs άλλα	Προτηγανισμένες κατεψυγμένες πατάτες	Βαθύ τηγάνισμα	180 °C	75 min	<ul style="list-style-type: none"> <li>• FFA</li> <li>• PV</li> <li>• p-ανισιδίνη</li> <li>• IV</li> <li>• OSI</li> <li>• Σύσταση FA</li> <li>• Πτητικές ενώσεις</li> <li>• Τοκοφερόλη</li> </ul>	Το EVOO έδειξε υψηλή οξειδωτική σταθερότητα, διατήρηση των ακόρεστων λιπαρών οξέων και μικρό σχηματισμό FFA και καρβονυλικών ενώσεων. Επιπλέον, ελαϊκό οξύ, τοκοφερόλες και αρωματικές ενώσεις μεταφέρθηκαν από το EVOO στις τηγανητές πατάτες.	(Akil et al., 2015)
VOO και άλλα	Πατάτες	Βαθύ τηγάνισμα	190 °C	125 min	<ul style="list-style-type: none"> <li>• PV</li> <li>• K232, K270</li> <li>• Ολικές φαινόλες</li> <li>• TPC</li> <li>• Αντιοξειδωτική δράση</li> </ul>	Το TPC στα ελαιόλαδα αυξήθηκε σημαντικά με την αύξηση του χρόνου. Ο PV λάδι δεν υπερέβη τα 10 mg O <sub>2</sub> kg και μειώθηκε μετά από τηγάνισμα 125 λεπτών.	(Karakaya & Simsek, 2011)
VOO, άλλα και μείγματα	Πατάτες και φιλέτα μπακαλιάρου	Τηγάνισμα	175 °C	5 ημέρες 2 h/day	<ul style="list-style-type: none"> <li>• FFA</li> <li>• PV</li> <li>• TPC</li> <li>• IV</li> <li>• Σύσταση FA</li> <li>• Τοκοφερόλη</li> <li>• Χρώμα</li> <li>• Ξίωδες</li> </ul>	Η χαμηλότερη αλλοίωση σημειώθηκε στο ελαιόλαδο και η υψηλότερη στα αραβοσιτέλαια, ενώ το μείγμα ελαιολάδου / αραβοσιτέλαιου αποδείχθηκε καλό υποκατάστατο του ελαιολάδου.	(Chatzilazarou et al., 2006)
VOO vs άλλα	Πατάτες	Βαθύ τηγάνισμα	170 °C	120 min 10 τηγανίσματα	<ul style="list-style-type: none"> <li>• FFA</li> <li>• PV</li> <li>• K232 K268,</li> <li>• Ολικές φαινόλες</li> <li>• TPC</li> <li>• OSI</li> <li>• α-τοκοφερόλη</li> </ul>	Κανένα από τα λάδια δεν έφτασε το όριο των 25 ± 27% ολικών πολικών ενώσεων (TPC) ενώ το παρθένο ελαιόλαδο είχε καλύτερη απόδοση κατά τη διάρκεια του τηγανίσματος. Η αλλοίωση ήταν χειρότερη στο ρηχό τηγάνισμα από ό,τι στο βαθύ.	(Andrikopoulos et al., 2002)
		Ρηχό τηγάνισμα	170 °C	60 min 10 τηγανίσματα			
EVOO	Πατάτες	Βαθύ τηγάνισμα	180 °C	40 τηγανίσματα (10/ημέρα)	<ul style="list-style-type: none"> <li>• TPC</li> <li>• Συνολικά προϊόντα πολυμερισμού</li> </ul>	Η επίδραση της παρουσίας της πατάτας ήταν ασήμαντη σε χαμηλή αναλογία πατάτας προς λάδι και στατιστικά σημαντική (αλλά όχι αξιοσημείωτη) στην υψηλή αναλογία. Τα προϊόντα πολυμερισμού αυξήθηκαν γραμμικά κατά το τηγάνισμα και τη θέρμανση.	(Kalogianni et al., 2010)
VOO	Πατάτες	Βαθύ τηγάνισμα	180 °C	40 τηγανίσματα	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Ολικές φαινόλες</li> <li>• TPC</li> <li>• OSI</li> <li>• Σύσταση FA</li> <li>• Τοκοφερόλη</li> </ul>	Μελετήθηκαν έλαια από ελιές χαμηλής, μεσαίας και υψηλής ωριμότητας. Οι TPC, 7 ολιγομερή και πολικές-FAME αυξήθηκαν ενώ το λινολεϊκό οξύ, 8 πολυφαινόλες και οι τοκοφερόλες μειώθηκαν στα VOO μέσω του τηγανίσματος ενώ, η μεταβολή ήταν χαμηλότερη σε VOO που ελήφθη από ελιές χαμηλής ωριμότητας.	(Olivero-David et al., 2014)
EVOO vs ROO	Πατάτες	Βαθύ τηγάνισμα	180 °C	12 τηγανίσματα (2/ ημέρα)	<ul style="list-style-type: none"> <li>• TPC</li> <li>• Αντιοξειδωτική δράση</li> <li>• 3,4-DHPEA</li> <li>• p-HPEA και παράγωγα</li> </ul>	Η αντιοξειδωτική δράση μειώθηκε γρήγορα κατά τη διάρκεια των πρώτων έξι τηγανισμάτων ενώ η συγκέντρωση πολικών ενώσεων αυξήθηκε γρήγορα από την έκτη διαδικασία τηγανίσματος και μετά. Η υδροξυτυροσώλη μειώθηκε γρήγορα, ενώ η τυροσώλη ήταν πιο σταθερή.	(Gómez-Alonso et al., 2003)
EVOO vs άλλο	Πατάτες	Βαθύ τηγάνισμα	180 °C	75 τηγανίσματα (10/ ημέρα)	<ul style="list-style-type: none"> <li>• TPC</li> <li>• OTG (ολιγομερή πολικές ενώσεις)</li> <li>• Σύσταση FA</li> <li>• CFAM (κυκλικά μονομερή λιπαρού οξέος)</li> </ul>	Η CFAM απουσίαζε στο EVOO πριν τη θέρμανση και αυξήθηκε κατά τη θέρμανση η ποσότητα CFAM ήταν πιο χαμηλή σε τηγάνισμα φρέσκων πατατών σε σχέση με τη κατεψυγμένη τροφή. Τα TPC, ολιγομερή, OTG και CFAM αυξήθηκαν και η περιεκτικότητα σε λινολεϊκό οξύ και πολυφαινόλες μειώθηκαν. Οι αλλαγές που μετρήθηκαν στο EVOO, θεωρούνται μικρές.	(Romero et al., 2003)
EVOO	Κατεψυγμένα τρόφιμα	Βαθύ τηγάνισμα	180 °C	20 τηγανίσματα (2/ ημέρα)	<ul style="list-style-type: none"> <li>• TPC</li> <li>• Σύσταση πολικών ενώσεων</li> <li>• CFAM (κυκλικά μονομερή λιπαρού οξέος)</li> </ul>	Οι ολικές πολικές ενώσεις αυξήθηκαν στο χρησιμοποιημένο λάδι ενώ η θερμική αλλοίωση δείχνει καλή συσχέτιση με τη τιμή TPC (similar slopes). Η CFAM απουσίαζε στο αρχικό EVOO, και αυξήθηκε ως συνέπεια της θέρμανσης. Επιπλέον αποδείχθηκε πως η συχνή αναπλήρωση (FR) επιτρέπει μεγαλύτερο αριθμό τηγανισμάτων.	(Romero et al., 2000)
OO vs άλλα	Κατεψυγμένα προτηγανισμένα τρόφιμα	Βαθύ τηγάνισμα	180 °C	40 τηγανίσματα (2/ ημέρα)	<ul style="list-style-type: none"> <li>• TPC</li> <li>• TOC</li> </ul>	Οι τιμές TPC και το TOC συσχετίστηκαν με τον αριθμό τηγανίσματος. Βρέθηκε πως για 25% TPC (όριο απόρριψης) αντιστοιχεί με 11,3% TOC (10% όριο απόρριψης) για το ελαιόλαδο.	(Bastida & Sánchez-Muniz, 2002)
EVOO	Πατάτα, ντομάτα, μελιτζάνα, κολοκύθα	Βαθύ τηγάνισμα	80–100 °C	10 min	Τρόφιμο: <ul style="list-style-type: none"> <li>• Υγρασία</li> <li>• Λίπος</li> <li>• Ξηρά ύλη</li> </ul> Ελαιόλαδο: <ul style="list-style-type: none"> <li>• Ολικές φαινόλες</li> <li>• Φαινολική σύσταση</li> <li>• Αντιοξειδωτική δράση</li> </ul>	Κάθε μαγειρεμένο λαχανικό ανέπτυξε συγκεκριμένο προφίλ φαινολικών ενώσεων και αντιοξειδωτική δράση που προκύπτει από τα χαρακτηριστικά του ωμού λαχανικού και της τεχνικής μαγειρέματος. Το τηγάνισμα και το σοτάρισμα οδήγησαν σε αύξηση στην περιεκτικότητα φαινολικών, της αντιοξειδωτικής ικανότητας, του λίπους, και TPC των λαχανικών σε αντίθεση με το βράσιμο όπου τα φαινολικά μειώθηκαν. Η συσχέτιση μεταξύ της αντιοξειδωτικής ικανότητας και των φαινολικών (TP) ήταν σημαντική.	(Ramirez-Anaya et al., 2015; Ramirez-Anaya et al., 2019)
		Σοτάρισμα					
		Βράσιμο					
EVOO vs VOO vs άλλα	Λαχανικά, πατάτες και κρέας	Ψήσιμο	180 °C	60 min	<ul style="list-style-type: none"> <li>• K232</li> <li>• p-ανισιδίνη</li> <li>• Ολικές φαινόλες</li> <li>• TPC</li> <li>• Αντιοξειδωτική δράση</li> <li>• Τοκοφερόλη</li> </ul>	Το EVOO διαρκεί περισσότερο χάρη στο υψηλότερο φαινολικό περιεχόμενο. Τα δείγματα ελαίου που υποβλήθηκαν σε επεξεργασία χωρίς την παρουσία τροφίμων δείχνουν υψηλότερο επίπεδο οξείδωσης. Τα πολυφαινολικά συστατικά του ελαιολάδου μειώθηκαν με τη θερμική επεξεργασία ειδικά παρουσία τροφίμου.	(Silva, et al., 2010)
		Βράσιμο	100 °C	60 min			

Όπου: EVOO: Εξαιρετικά Παρθένο Ελαιόλαδο, VOO: Παρθένο Ελαιόλαδο, OO: Ελαιόλαδο, ROO: Εξευγενισμένο ελαιόλαδο, TPC: Ολικές πολικές ενώσεις, TOC: Ολιγομερή τριγλυκεριδίων, Σύσταση FA: σύσταση λιπαρών οξέων, FFA: ελεύθερα λιπαρά οξέα, PV: τιμή υπεροξειδίου, IV: τιμή ιωδίου, OSI: Δείκτης οξειδωτικής σταθερότητας, 3,4-DHPEA: υδροξυτυροσώλη, p-HPEA: τυροσώλη, CFAM: μονομερή κυκλικών λιπαρών οξέων.

Πίνακας 6: Βιβλιογραφική ανασκόπηση ερευνών που μελετούν την ποιοτική υποβάθμιση του παρθένου και εξαιρετικά παρθένου ελαιολάδου μετά από θερμική επεξεργασία (απουσία τροφίμου)

Είδος ελαίου	Συνθήκες μαγειρέματος			Μετρήσεις (ποιοτικοί δείκτες)	Συμπεράσματα	Αναφορά
	Τύπος	Θερμοκρασία	Χρόνος			
EVOO vs VOO vs OO vs άλλο	Βαθύ τηγάνισμα	170 °C	27 (9 h/ημέρα)	<ul style="list-style-type: none"> <li>• FFA</li> <li>• PV</li> <li>• K232 και K270</li> <li>• TPC</li> <li>• Ολικές φαινόλες</li> <li>• p-ανισιδίνη</li> <li>• Σύσταση FA</li> <li>• OSI</li> <li>• Τοκοφερόλες</li> </ul>	Η χημική σύσταση των ελαιολάδων, ιδιαίτερα η ποσότητα των φυσικών αντιοξειδωτικών, είναι σημαντικές παράμετροι στην προγνωστική συμπεριφορά τους κατά τη διάρκεια του τηγανίσματος. Το EVOO χαρακτηρίστηκε από μειωμένα επίπεδα οξειδωσης και υδρόλυσης, ωστόσο και η εμπορική κατηγορία «ελαιόλαδο» συμπεριφέρθηκε παρόμοια.	(Casal, et al., 2010)
EVOO	Βαθύ τηγάνισμα	180 °C	180 min	<ul style="list-style-type: none"> <li>• K232 και K270,</li> <li>• Σύσταση FA</li> <li>• OSI</li> <li>• Φάσμα IR</li> </ul>	Τα φασματοσκοπικά δεδομένα μετά από επεξεργασία μερικώς ελάχιστων τετραγώνων διέκριναν μεταξύ των διαφορετικών λαδιών και των διαφορετικών χρόνων θέρμανσης. Το δείγμα με την υψηλότερη τιμή OSI, την υψηλότερη περιεκτικότητα σε ελαϊκό οξύ και τις χαμηλότερες ποσότητες πολυακόρεστων FA είχε και την μικρότερη πτώση στην τιμή OSI, δηλαδή ήταν το πιο σταθερό στην οξείδωση.	(Maggio, et al., 2011).
EVOO	Βαθύ τηγάνισμα	170 °C	3 h	<ul style="list-style-type: none"> <li>• PV</li> <li>• Ολικές φαινόλες</li> <li>• Βιταμίνη E</li> </ul>	Τα αποτελέσματα της φασματοσκοπίας φθορισμού ήταν συγκρίσιμα με της HPLC για τη μέτρηση θερμικής υποβάθμισης του EVOO. Η θερμική οξείδωση του EVOO προκάλεσε εκθετική μείωση των υδρουπεροξειδίων, της υδροξυτυροσόλης και βιταμίνης E, ενώ η περιεκτικότητα σε τυροσόλη ήταν σχετικά σταθερή.	(Cheikhousman, et al., 2005)
EVOO vs ROO	Βαθύ τηγάνισμα	180 °C	180 min	<ul style="list-style-type: none"> <li>• PV</li> <li>• Φαινολικό προφίλ</li> <li>• OSI</li> </ul>	Ο δείκτης οξειδωτικής σταθερότητας (OSI) μειώθηκε από 25 σε 5 ώρες μετά από 3 ώρες θέρμανσης, ενώ η τιμή υπεροξειδίων έδειξε ελάχιστο μετά από 1 ώρα θέρμανσης. Η υδροξυτυροσόλη μειώθηκε ταχύτερα από άλλες φαινολικές ενώσεις ενώ οι λιγνάνες είναι πιο σταθερές.	(Carrasco-Pancorbo, et al., 2007)
VOO	Βαθύ τηγάνισμα	180 °C	60 min	<ul style="list-style-type: none"> <li>• FFA</li> <li>• PV</li> <li>• K232 και K270</li> <li>• Σύσταση FA</li> <li>• Υδροξυτυροσόλη</li> <li>• Τυροσόλη και παράγωγα</li> </ul>	Κατά το τηγάνισμα (180 °C) παρατηρήθηκε σημαντική μείωση της περιεκτικότητας σε φαινολικές ενώσεις. Ειδικά σε παράγωγα υδροξυτυροσόλης (90% μετά από 60 min) και, σε μικρότερο βαθμό, σε παράγωγα τυροσόλης ενώ δεν παρατηρήθηκαν αλλαγές στο περιεχόμενο των λιγνάνων. Κατά τη διάρκεια του βρασμού (100 °C, 2 ώρες), οι φαινολικές ενώσεις παρέμειναν σταθερές (μόνο 20% χάθηκαν).	(Daskalaki, et al., 2009)
EVOO vs OO	Βαθύ τηγάνισμα	160 °C 190 °C	120 min	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Πολυφαινόλες</li> <li>• Αντιοξειδωτική δράση</li> <li>• α-τοκοφερόλη</li> </ul>	Τα αποτελέσματα δείχνουν ότι η τη συνολική αντιοξειδωτική δράση των εμπορικών ελαίων οφείλεται κυρίως στην περιεκτικότητα σε φαινολικά και α-τοκοφερόλη. Τα πειράματα θέρμανσης δείχνουν ότι οι πολυφαινόλες του EVOO είναι αποτελεσματικοί σταθεροποιητές της α-τοκοφερόλης κατά τη θέρμανση του ελαιολάδου, συμβάλλοντας έτσι στη θρεπτική αξία των μαγειρεμένων τροφίμων.	(Pellegrini, et al., 2001)
EVOO vs OO vs άλλα	Βαθύ τηγάνισμα	160 °C 190 °C	2 h	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Αντιοξειδωτική δράση</li> </ul>	Αποδείχθηκε ότι το EVOO και το σογιέλαιο έχουν το υψηλότερο αντιοξειδωτικό δυναμικό και θερμική σταθερότητα. Για το EVOO, το αντιοξειδωτικό δυναμικό είναι αποτέλεσμα του συνδυασμού συγκεκριμένων αντιοξειδωτικών πολυφαινόλων, οι οποίες δρουν ως αποτελεσματικοί σταθεροποιητές της α-τοκοφερόλης.	(Valavanidis, et al., 2004)
EVOO, VOO	Φούρνος	100 °C	60	<ul style="list-style-type: none"> <li>• FFA</li> <li>• PV</li> <li>• Ολικές φαινόλες</li> <li>• α-τοκοφερόλη</li> <li>• Υδροξυτυροσόλη</li> <li>• Τυροσόλη και παράγωγα</li> </ul>	Τα παράγωγα υδροξυτυροσόλης είναι τα πρώτα αντιοξειδωτικά που χάνονται ενώ τα παράγωγα τυροσόλης φαίνεται να είναι οι πιο σταθερές ενώσεις. Η α-τοκοφερόλη έχει ενδιάμεσο ρυθμό απώλειας.	(Nissiotis & Tasioula-Margari, 2002)
EVOO	Φούρνος	180 °C	36 h	<ul style="list-style-type: none"> <li>• PV</li> <li>• K232 και K270</li> <li>• Ολικές φαινόλες</li> <li>• OSI</li> <li>• Σύσταση FA</li> <li>• Φαινολική σύσταση</li> <li>• Στερόλες</li> <li>• Τοκοφερόλη</li> <li>• Σκουαλένιο</li> </ul>	Μετά τη θερμική επεξεργασία αυξήθηκαν οι K <sub>232</sub> K <sub>270</sub> ενώ μειώθηκε η τιμή OSI και η τιμή PV μετά από 2 ώρες. Οι τοκοφερόλες και οι πολυφαινόλες έδειξαν το υψηλότερο ποσοστό αποδόμησης. Επιπλέον επηρεάστηκαν η υδροξυτυροσόλη, η 3,4-DHPEA-EDA, η 3,4-DHPEA-EA και τα φλαβονοειδή, ενώ λιγνάνες, τυροσόλη, p-HPEA-EDA και p-HPEA-EA επηρεάστηκαν λιγότερο, παρουσιάζοντας υψηλή σταθερότητα έναντι της οξείδωσης.	(Allouche, et al., 2007)
VOO και OO		180 °C	16 h	<ul style="list-style-type: none"> <li>• PV</li> <li>• Ολικές φαινόλες</li> <li>• TPC</li> <li>• Σύσταση FA</li> <li>• α-τοκοφερόλη</li> </ul>	Παρατηρείται γραμμική αύξηση της τιμής TPC με το χρόνο κατά τη διαδικασία θέρμανσης. Η αναλογία μεταξύ μονοακόρεστων και πολυακόρεστων λιπαρών οξέων έδειξε την υψηλότερη σχετική συμβολή στον ρυθμό μεταβολής TPC του ελαιολάδου ενώ τα συνολικά φαινολικά και η τιμή PV ήταν χαμηλότερες αλλά σημαντικές παράμετροι	(Farhoosh, et al., 2013)
EVOO		120 °C	180 min	<ul style="list-style-type: none"> <li>• PV</li> <li>• FFA</li> <li>• K<sub>232</sub> και K<sub>270</sub></li> <li>• Φασματοσκοπία φθορισμού</li> </ul>	Οι κορυφές φθορισμού που σχετίζονται με πολυφαινόλες, προϊόντα οξείδωσης και χλωροφύλλη ταυτοποιήθηκαν και παρακολούθηθηκαν και έγινε σύγκριση μεταξύ των διαφόρων ποικιλιών. Οι ποικιλίες με υψηλότερη συγκέντρωση πολυφαινόλων έδειξαν μεγαλύτερη αντίσταση στο σχηματισμό προϊόντων οξείδωσης.	(Rotich, et al., 2020)
VOO	Φούρνος	180 °C	1 h	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Ολικές φαινόλες</li> <li>• Φαινολική σύσταση</li> <li>• Αντιοξειδωτική δράση</li> </ul>	Όσον αφορά τις φαινολικές ενώσεις οι 3,4-DHPEA-EA, p-HPEA-EA και EA παρουσίασαν τις υψηλότερες μειώσεις μετά από θερμική επεξεργασία ενώ παρουσιάστηκε αύξηση των διαλδευδικών μορφών φαινολικών ενώσεων.	(Valli, et al., 2010)
EVOO	Μικροκύματα Φούρνος Μικροκύματα	750 W 200 °C 150W/500W	9 min  2,5-30 min	<ul style="list-style-type: none"> <li>• FFA</li> <li>• K<sub>270</sub></li> <li>• TPC</li> <li>• Ηλεκτρονική μύτη</li> </ul>	Η έντονη θέρμανση του EVOO με μικροκύματα αύξησε σημαντικά την ελεύθερη οξύτητα και τους ειδικούς συντελεστές απόσβεσης (K <sub>270</sub> ), και είχε ως αποτέλεσμα πιο σοβαρή απώλεια φαινολικών ενώσεων, σε σύγκριση με τη συμβατική θέρμανση.	(Kishimoto, 2019)
EVOO, DEO και μείγματα	Φούρνος Μικροκύματα	180 °C 750 W	1 h 15 min	<ul style="list-style-type: none"> <li>• FFA</li> <li>• PV</li> <li>• K<sub>270</sub></li> <li>• Ολικές φαινόλες</li> <li>• OSI</li> <li>• OFA οξειδωμένα λιπαρά οξέα</li> <li>• Πτητικές ενώσεις</li> <li>• Τοκοφερόλες</li> <li>• 1,2- και 1,3- (DAG)</li> </ul>	Η θερμική επεξεργασία σε φούρνο οδηγεί σε υψηλότερη οξειδωτική και υδρολυτική αποικοδόμηση των δειγμάτων σε σχέση με τη θέρμανση με μικροκύματα. Αυτά τα στοιχεία θα μπορούσαν να αποδοθούν στον μεγαλύτερο χρόνο θέρμανσης σε συμβατικό φούρνο. Επιπλέον πραγματοποιήθηκε οργανοληπτική δοκιμή (duo-trio), όπου οι δοκιμαστές δεν μπόρεσαν να διακρίνουν μεταξύ EVOO και DEO- deodorized ελαιόλαδο μετά από θέρμανση με φούρνο ενώ τα διέκριναν μετά από θέρμανση με μικροκύματα.	(Bendini, et al., 2009)
EVO, OO, ROO	Μικροκύματα	720 W (2450 Hz)		<ul style="list-style-type: none"> <li>• FFA</li> <li>• PV</li> <li>• p-ανισιδίνη</li> <li>• TPC</li> <li>• Νερό</li> </ul>	Η θέρμανση σε φούρνο μικροκυμάτων προκαλεί οξειδωτικές αλλοιώσεις, σε EVOO και OO. Η λιπόλυση ήταν σημαντική μόνο στους μεγαλύτερους χρόνους επεξεργασίας, ειδικά στο EVOO, και φάνηκε να σχετίζεται άμεσα με την περιεκτικότητα των ελαίων σε νερό.	(Cerretani, et al., 2009)

Όπου: EVOO: Εξαιρετικά Παρθένο Ελαιόλαδο, VOO: Παρθένο Ελαιόλαδο, OO: Ελαιόλαδο, ROO: Εξευγενισμένο ελαιόλαδο, TPC: Ολικές πολικές ενώσεις, TOC: Ολιγομερή τριγλυκεριδίων, Σύσταση FA: σύσταση λιπαρών οξέων, FFA: ελεύθερα λιπαρά οξέα, PV: τιμή υπεροξειδίου, IV: τιμή ιωδίου, OSI: Δείκτης οξειδωτικής σταθερότητας, 3,4-DHPEA: υδροξυτυροσόλη, p-HPEA: τυροσόλη, CFAM: μονομερή κυκλικών λιπαρών οξέων.



Σύμφωνα με τη βιβλιογραφία, οι πιο συνηθισμένες παράμετροι για την αξιολόγηση της θερμικής υποβάθμισης είναι, η μέτρηση της τιμής της οξύτητας, ο αριθμός των υπεροξειδίων (PV), η τιμή της ρ-ανισιδίνης, οι ολικές πολικές ενώσεις (TPC), οι δείκτες  $K_{232}$  και  $K_{270}$ , οι ολικές φαινόλες, η σύσταση των φαινολών και λιπαρών οξέων και η τοκοφερόλη. Οι αναλυτικές μέθοδοι που χρησιμοποιούνται για την αξιολόγηση των παραγόντων είναι ογκομετρικές (FFA, PV), χρωματογραφικές (σύσταση λιπαρών οξέων, φαινολών και πολικών ενώσεων) και φασματοφωτομετρικές ( $K_{232}$ ,  $K_{270}$ , ρ-ανισιδίνη, ολικές φαινολικές ενώσεις, αντιοξειδωτική ικανότητα) τεχνικές. Τα αποτελέσματα των μετρήσεων υποδηλώνουν συσχέτιση μεταξύ των παραμέτρων καθώς και εξάρτηση από την αναλυτική μέθοδο που εφαρμόζεται. Αξίζει να σημειωθεί πως στη βιβλιογραφία χρησιμοποιούνται, διαφορετικά είδη και ποσότητες ελαιολάδου που έχουν υποβληθεί σε διαφορετικές θερμικές επεξεργασίες σε διαφορετικά σκεύη, θερμοκρασίες μαγειρέματος (100-200°C), χρόνους θέρμανσης (10 λεπτά-36 ώρες) καθώς και με διαφορετικά τρόφιμα γεγονός που καθιστά δύσκολη τη σύγκριση των αποτελεσμάτων. Ωστόσο, είναι δυνατό να ληφθούν γενικές εκτιμήσεις.

### 2.3.1. Οξύτητα ελαιόλαδου (FFA- ελεύθερα λιπαρά οξέα)

Σύμφωνα με τον Κανονισμό 2568/91: «ως Ελεύθερη Οξύτητα στο ελαιόλαδο ορίζεται ο προσδιορισμός της περιεκτικότητας του ελαιολάδου σε ελεύθερα λιπαρά οξέα (FFA) και εκφράζεται σε γραμμάρια ελαιϊκού οξέος ανά 100 γραμμάρια ελαιολάδου>>. Η οξύτητα αποτελεί σημαντικό χαρακτηριστικό της ποιότητας του ελαιολάδου καθώς με βάση την τιμή διαχωρίζεται σε βρώσιμο (οξύτητα μικρότερη από 3,3%) και βιομηχανικό (οξύτητα μεγαλύτερη από 3,3%) (Κυριτσάκης, 2007). Αυτή η παράμετρος είναι συνήθως υψηλότερη στα παρθένα ελαιόλαδα λόγω της απουσίας εξευγενισμού και χαμηλή σε εξευγενισμένα έλαια. Όταν η οξύτητα είναι υψηλότερη από τα όρια που επιβάλλονται στον κανονισμό 2568/91, το παρθένο ελαιόλαδο πρέπει να εξευγενίζεται βιομηχανικά και να πωλείται ως εξευγενισμένο ελαιόλαδο (ROO) ή να αναμιγνύεται με παρθένο ελαιόλαδο με την ονομασία «ελαιόλαδο» (OO).

Η αύξηση της οξύτητας του ελαιολάδου οφείλεται στην υδρόλυση των τριγλυκεριδίων ενώ η τιμή των ελεύθερων λιπαρών οξέων (FFA) συσχετίζεται άμεσα με τα ανώτερα όρια θερμοκρασίας του ελαίου λόγω των χαμηλότερων σημείων βρασμού των ενώσεων αυτών (Santos et al., 2013). Τα ελεύθερα λιπαρά οξέα FFA αξιολογούνται με ογκομετρική μέτρηση της οξύτητας, σύμφωνα με τη νομοθεσία.

Κατά το μαγείρεμα των τροφίμων, η τιμή FFA αυξάνεται ελαφρώς αναλογικά με το χρόνο, πιθανότατα λόγω της περιεκτικότητας του τροφίμου σε υγρασία (Fritsch, 1981), ενώ κατά το προσομοιωμένο μαγείρεμα η υδρόλυση των τριγλυκεριδίων δεν αυξάνεται (Daskalaki et al., 2009).

Όσον αφορά την μέτρηση της οξύτητας ως μέθοδο αξιολόγησης της θερμικής υποβάθμισης κατά το τηγάνισμα, οι Casal et al., (2010) μέτρησαν τα FFA σε ελαιόλαδα διαφορετικών κατηγοριών. Όλα τα παρθένα ελαιόλαδα παρουσίασαν επίπεδα οξύτητας κάτω από 0,3 % πριν από τη θέρμανση και παρατηρήθηκε σταθερή αύξηση της οξύτητας, με τελικές τιμές μεταξύ 0,5% και 0,7% για όλα τα ελαιόλαδα, δηλαδή δεν επιτυγχάνεται το μέγιστο νομοθετικό όριο στην τιμή FFA για το EVOO γεγονός που συμφωνεί και με άλλες βιβλιογραφικές αναφορές (Andrikopoulos et al., 2002; Daskalaki et al., 2009). Οι ερευνητές χρησιμοποίησαν ως σημείο απόρριψης των ελαίων την τιμή 25% ολικών πολικών ενώσεων (TPC) και με βάση τις πληροφορίες που ελήφθησαν από αυτά τα πειράματα τηγανίσματος, η υδρόλυση των τριγλυκεριδίων μειώθηκε στο σημείο απόρριψης. Συμπέραναν λοιπόν πως η μέτρηση FFA αποτελεί μια παράμετρο με μικρή ικανότητα αξιολόγησης της πραγματικής θερμικής αποδόμησης των τηγανισμένων ελαίων (Casal et al., 2010). Παρομοίως και οι Andrikopoulos et al. (2002) κατέληξαν στο συμπέρασμα πως “ο προσδιορισμός της FFA με τιτλοδότηση δεν μπορεί να χρησιμοποιηθεί για τον προσδιορισμό της καταλληλότητας των ελαίων τηγανίσματος για περαιτέρω χρήση” (Fritsch, 1981).

### 2.3.2. Αριθμός υπεροξειδίων (PV)

Η οξείδωση αποτελεί βασικό κριτήριο ελέγχου ποιότητας του ελαιολάδου και γενικότερα των λιπαρών υλών. Ο βαθμός οξείδωσης των λιπαρών υλών μπορεί να εκτιμηθεί από τα πρωτογενή προϊόντα οξείδωσης, τα υδροϋπεροξειδία. Τα υπεροξειδία σχηματίζονται μετά

την αντίδραση των ακόρεστων ελεύθερων λιπαρών οξέων με οξυγόνο (Procida et al., 2009). Η τιμή του αριθμού των υπεροξειδίων (PV) μετράται ογκομετρικά σύμφωνα με την νομοθεσία.

Οι Daskalaki et al. (2009) ανέφεραν αύξηση της τιμής του αριθμού των υπεροξειδίων (PV) του παρθένου ελαιολάδου (VOO) για έως και 60 λεπτά στους 180°C. Ωστόσο, σε συνθήκες παρατεταμένης θέρμανσης του εξαιρετικά παρθένου ελαιολάδου (EVOO) (3 ώρες, 170 °C) παρατηρείται ολική μείωση του αριθμού υπεροξειδίων (Cheikhousman et al., 2005). Γνωρίζοντας ότι τα πρωτογενή αυτά προϊόντα είναι εξαιρετικά ασταθή και μετατρέπονται σε δευτερογενή, ένδειξη της χαμηλής τιμής PV δεν αποκλείει ότι η οξείδωση των λιπαρών οξέων έχει ήδη συμβεί. Συμβαίνει ειδικά σε θερμαινόμενα δείγματα, επειδή τα ασταθή υδροϋπεροξειδία σε υψηλές θερμοκρασίες και λόγω της μειωμένης διαθεσιμότητας οξυγόνου και των αλλαγών στην ισορροπία αντίδρασης οξείδωσης οδηγούνται σε μια σειρά αλυσιδωτών αντιδράσεων με αποτέλεσμα το σχηματισμό πτητικών προϊόντων δευτερογενούς οξείδωσης (Cerretani et al., 2009). Έτσι η τιμή υπεροξειδίων δεν συσχετίζεται πάντα άμεσα με την οξείδωση του δείγματος και από μόνη της δεν θεωρείται καλός δείκτης για τη μέτρηση της οξείδωσης (Oueslati, et al., 2020).

### 2.3.3. Τιμή p-ανισιδίνης (p-Av)

Η τιμή της p-ανισιδίνης συσχετίζεται καλά με την ποσότητα των προϊόντων δευτερογενούς οξείδωσης, δηλαδή των αλδευδών και αποτελεί ένα καλύτερο δείκτη της οξείδωσης των λιπαρών οξέων σε σχέση με τα ασταθή υπεροξειδία. Επομένως, για την ακριβή εκτίμηση της οξειδωτικής κατάστασης έχει προταθεί η τιμή υπεροξειδίων και η τιμή p-ανισιδίνης να ερμηνεύονται ταυτόχρονα (Casal, et al., 2010; Oueslati, et al., 2020).

### 2.3.4. Συντελεστές απόσβεσης ( $K_{232}$ , $K_{270}$ )

Η οξειδωτική κατάσταση των δειγμάτων μπορεί να αξιολογηθεί εργαστηριακά με φασματοφωτομετρική ανάλυση του ελαιολάδου. Η μέτρηση γίνεται στα μήκη κύματος 232 nm και 270 nm. Επειδή για τον υπολογισμό των απορροφήσεων εφαρμόζονται ειδικές συνθήκες, τους αποδίδεται ο χαρακτηρισμός ειδικό συντελεστής απορρόφησης (συμβατικά

παριστάμενοι με  $K$ ) ενώ ο δείκτης  $\Delta K$  ορίζεται ως μαθηματική σχέση υπολογισμού συντελεστών απορρόφησης (Κυριτσάκης, 2007). Στο παράρτημα ΙΧ του κανονισμού (ΕΟΚ) αριθ. 2568/91 περιγράφεται φασματοφωτομετρική εξέταση στο υπεριώδες. Το υπό εξέταση λίπος διαλύεται στον απαιτούμενο διαλύτη και μετά προσδιορίζεται η απόσβεση του διαλύματος στα καθοριζόμενα μήκη κύματος αναφορικά προς καθαρό διαλύτη. Οι ειδικές αποσβέσεις υπολογίζονται από τις φασματοφωτομετρικές αναγνώσεις.

Η απορρόφηση σε αυτά τα μήκη κύματος οφείλεται στην παρουσία συζυγών διενίων ( $K_{232}$ ) και τριενίων ( $K_{270}$ ) που προκύπτουν από διαδικασίες οξειδωσης κατά τη διάρκεια της θερμικής επεξεργασίας. Έτσι με την ανάλυση των δειγμάτων που θερμάνθηκαν σε διαφορετικούς χρόνους μπορεί να αξιολογηθεί η οξειδωτική σταθερότητα ενός δείγματος (Maggio et al., 2011; Dunn, 2008). Γενικά αυξημένη απορρόφηση δείχνει οξειδωμένο ή / και κακής ποιότητας λάδι (Κυριτσάκης, 2007).

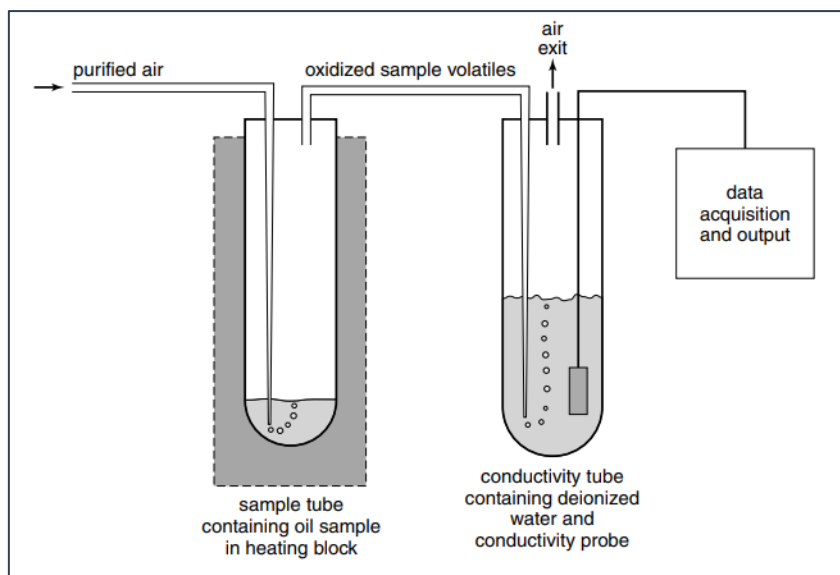
Κατά τη θερμική επεξεργασία, υπό συνθήκες προσομοιωμένου τηγανίσματος (Daskalaki et al., 2009) καθώς και παρουσία τροφίμου (Andrikopoulos et al., 2002; Casal et al., 2010), παρατηρείται αύξηση των τιμών των δεικτών, χωρίς εμφανείς διαφορές μεταξύ των τύπων ελαιολάδου και συχνά χωρίς σαφή σχέση με το χρόνο θέρμανσης. Ο ειδικός συντελεστής  $K_{232}$  αυξήθηκε στα αναλυθέντα δείγματα, παρουσιάζοντας μικρές διακυμάνσεις γύρω από ένα πλατό τιμών ωστόσο, χωρίς καμία να υπερβαίνει τη μέγιστη νόμιμη τιμή για αυτήν την παράμετρο. Ο ειδικός συντελεστής  $K_{270}$  αυξήθηκε πάνω από το όριο της νομοθεσίας λίγο μετά τις πρώτες ώρες τηγανίσματος και διατηρήθηκε σταθερός στη συνέχεια μέχρι το τέλος της μελέτης, χωρίς σαφείς διαφορές μεταξύ των υπό μελέτη ελαιολάδων (Casal et al., 2010). Οι Maggio et al. (2009) μετά από φασματοσκοπική και χημειομετρική μελέτη παρθένων ελαιολάδων που υπέστησαν θερμική επεξεργασία παρατήρησαν σημαντική αύξηση της  $K_{270}$  με θέρμανση καθώς μετά 30 λεπτά θερμικής επεξεργασίας, οι τιμές ήταν υψηλότερες από το νόμιμο όριο (Maggio et al., 2011). Ακόμα, αξίζει να σημειωθεί πως οι υψηλές τιμές των σταθερών  $K_{232}$  και  $K_{270}$  υπάρχει περίπτωση να οφείλονται στην ύπαρξη ραφιναρισμένων ελαιολάδων καθώς κατά τη διεργασία του ραφινάριατος (εξευγενισμού) προκύπτουν συζυγή διένια και τριένια (Κυριτσάκης, 2007). Κατά συνέπεια, αν γίνει προσδιορισμός του βαθμού οξειδωσης με συνδυασμό της μέτρησης του αριθμού των υπεροξειδίων και

φασματοφωτομετρικής μέτρησης των K, είναι δυνατόν να αποφανθούμε αν οι υψηλές τιμές K<sub>232</sub> και K<sub>270</sub> οφείλονται σε οξείδωση ή σε ύπαρξη ραφιναρισμένου ελαίου.

### 2.3.5. Δείκτης οξειδωτικής σταθερότητας (OSI)

Ο όρος οξειδωτική σταθερότητα αναφέρεται στην ευαισθησία ενός τροφίμου ή βρώσιμου ελαίου στην οξείδωση των λιπιδίων του, η οποία προκαλεί ταγγή οσμή και γεύση. Έτσι, ο δείκτης οξειδωτικής σταθερότητας λαδιού (Oxidative Stability Index, OSI) επιδιώκει να προβλέψει το χρονικό διάστημα που απαιτείται για να ταγγίσει ένα δείγμα. Η ανάλυση OSI μπορεί να χρησιμοποιηθεί για τη σύγκριση διαφόρων ελαίων, για την πρόβλεψη της διάρκειας ζωής τους, την αξιολόγηση της αποτελεσματικότητας των αντιοξειδωτικών, την επίδραση των προσμίξεων και την αξιολόγηση των διεργασιών ραφινάρισματος λιπών και ελαίων (Pike, 2001).

Γενικά, μια κοινή προσέγγιση για τον προσδιορισμό της οξειδωτικής σταθερότητας περιλαμβάνει την τοποθέτηση των δειγμάτων υπό επιταχυνόμενες συνθήκες αλλοίωσης (συχνά αυξημένη θερμοκρασία) και τη μέτρηση των προϊόντων οξείδωσης των λιπιδίων. Ο χρόνος πριν από την ταχεία αύξηση της οξείδωσης των λιπιδίων ονομάζεται περίοδος επαγωγής και όσο μεγαλύτερος είναι ο χρόνος επαγωγής, τόσο πιο σταθερό είναι το λάδι (Li & Wang, 2018). Οι τυπικές μέθοδοι που χρησιμοποιούνται από τη βιομηχανία φυτικών ελαίων και λιπών υπολογίζουν ισοθερμικά την περίοδο επαγωγής, ο τερματισμός της οποίας καθορίζεται από την ανίχνευση δευτερογενών προϊόντων οξείδωσής. Πιο συνηθισμένη μέθοδος είναι η δοκιμή Rancimat και OSI (AOCS, Cd 12b-92) και το όργανο μέτρησης απεικονίζεται στην Εικόνα 6. Η μέθοδος Rancimat αποτελεί μια αυτοματοποιημένη μέθοδος για τη μέτρηση της περιόδου επαγωγής η οποία διενεργείται με τη διέλευση αέρα μέσω δείγματος υπό υψηλή θερμοκρασία χρησιμοποιώντας το όργανο Rancimat. Ο αέρας και η θερμοκρασία βοηθούν στην ταχεία αποδόμηση των τριγλυκεριδίων σε πτητικά οργανικά οξέα. Το ρεύμα αέρα παρασύρει τα πτητικά οξέα από το λάδι σε ένα κελί αγωγιμότητας (conductivity cell) που περιέχει νερό όπου τα οξέα διαλυτοποιούνται ενώ μετράται η αγωγιμότητα του νερού. Η ταχεία αύξηση της αγωγιμότητας αντιστοιχεί στο σημείο επαγωγής ενώ ο χρόνος (ώρες) έως το σημείο επαγωγής είναι ο χρόνος OSI (Pike, 2001).



Εικόνα 6: Σχηματικό διάγραμμα του οργάνου μέτρησης του οξειδωτικού δείκτη σταθερότητας ελαίου (OSI)

Τα αποτελέσματα της μεθόδου συσχετίζονται καλά με τις τιμές των υπεροξειδίων κατά την αποθήκευση ελαίου σε θερμοκρασία δωματίου. Ωστόσο, τα αποτελέσματα της μεθόδου δεν μπορούν να ανταποκριθούν άμεσα σε πραγματικές συνθήκες μαγειρέματος (Andrikopoulos et al., 2002).

Για να κατανοηθούν οι αλλαγές στην οξειδωτική σταθερότητα κατά τη διάρκεια των πολλαπλών τηγανισμάτων, οι Casal et al. (2010) μέτρησαν με τη μέθοδο Rancimat δείγματα από κάθε τηγανιά. Η οξειδωτική σταθερότητα του EVOO διατηρήθηκε σχεδόν σταθερή μετά την 3η ώρα του τηγανίσματος, αλλά παρατηρήθηκε μια σαφής μείωση κατά την 6η ώρα (Casal et al., 2010). Σύμφωνα με τη βιβλιογραφία, η διαφορά στην οξειδωτική σταθερότητα σχετίζεται με τη σύσταση των λιπαρών οξέων των ελαίων. Έτσι αναμένεται δείγματα με υψηλή περιεκτικότητα σε ελαϊκό οξύ και τις χαμηλότερες ποσότητες πολυακόρεστων λιπαρών οξέων (λινολεϊκό και λινολενικό οξύ) να έχουν υψηλότερη τιμή χρόνου OSI (Maggio et al., 2011). Ένα άλλο ενδιαφέρον εύρημα ήταν ότι η σχέση μεταξύ Rancimat και ολικών πολικών ενώσεων (TPC) εξαρτάται από τη μέθοδο τηγανίσματος και το έλαιο που χρησιμοποιείται κατά το τηγάνισμα. Κατά τη διάρκεια του τηγανίσματος, παρατηρήθηκε σχεδόν γραμμική σχέση μεταξύ ποσοστού ολικών πολικών ενώσεων (TPC) και του χρόνου επαγωγής IT (h) για το VOO (Andrikopoulos et al., 2002).

### 2.3.6. Ολικές φαινολικές ενώσεις (Total phenols-TP)

Οι φαινολικές ενώσεις είναι από τις πιο μελετημένες χημικές ουσίες στο ελαιόλαδο, καθώς είναι σημαντικό να διατηρηθούν τα πιθανά βιοδραστικά χαρακτηριστικά του μετά την θερμική του επεξεργασία. Ορισμένοι συγγραφείς αξιολογούν το συνολικό φαινολικό περιεχόμενο, ενώ άλλοι ταυτοποιούν και ποσοτικοποιούν κάθε μεμονωμένη ένωση, δίνοντας περαιτέρω πληροφορίες σχετικά με τους μηχανισμούς αποικοδόμησης τους (Gómez-Alonso et al., 2003). Για την ποσοτικοποίηση των φαινολικών ενώσεων δεν υπάρχει ένας ενιαίος τρόπος έκφρασης και για το λόγο αυτό οι συγκεντρώσεις που δίνονται στη βιβλιογραφία τις περισσότερες φορές δεν είναι συγκρίσιμες (Pirisi et al., 2000). Ο ποσοτικός προσδιορισμός των ολικών φαινολικών ενώσεων, γίνεται συνήθως με χρωματομετρική μέθοδο βασισμένη στη χρήση του αντιδραστήριου Folin-Ciocalteu και τα αποτελέσματα εκφράζονται ως mg ισοδυνάμων καφεϊκού οξέος (CAE) ή ισοδύναμα γαλλικού οξέος (GAE) ανά kg λαδιού, ανάλογα με το πρότυπο που χρησιμοποιείται. Όσον αφορά τη συγκέντρωση των φαινολικών παρατηρείται μεγάλη μεταβλητότητα, που κυμαίνεται από 50 έως 1000 mg CAE/kg σε VOO από Ελλάδα, Ισραήλ, Ιταλία, Ισπανία και Τουρκία, με συνηθισμένες τιμές μεταξύ 100 και 300 mg CAE/kg (Kalogeropoulos & Tsimidou, 2014). Ωστόσο, για τα επιμέρους συστατικά του φαινολικού κλάσματος του παρθένου ελαιολάδου δεν υπάρχουν εμπορικά διαθέσιμα πρότυπα και έτσι έχουν προταθεί εναλλακτικές μέθοδοι για την ποσοτικοποίησή τους, συχνά με HPLC. Τα κύρια συστατικά του φαινολικού κλάσματος του ελαιολάδου είναι η υδροξυτυροσόλη, η τυροσόλη και τα παράγωγά τους (secoiridoids).

Οι ενώσεις αυτές επηρεάζονται από τη θερμική επεξεργασία, αλλά η απώλεια τους εξαρτάται από τη χημική τους δομή και πιθανώς από την αντιοξειδωτική τους δράση (Gómez-Alonso et al., 2003). Η υδροξυτυροσόλη και τα παράγωγά της αποικοδομούνται πολύ πιο σύντομα σε σχέση με την τυροσόλη και τα παράγωγά της τα οποία, είναι λιγότερο επιρρεπή σε υποβάθμιση (Gómez-Alonso et al., 2003). Γνωρίζοντας ότι η υδροξυτυροσόλη παρουσιάζει υψηλότερη αντιοξειδωτική δράση, θα μπορούσε κανείς να δικαιολογήσει την μεγάλη απώλεια λόγω της αντιοξειδωτικής της δράσης κατά το τηγάνισμα προστατεύοντας τα λιπίδια από την οξείδωση. Από την άλλη πλευρά, η τυροσόλη παρουσιάζει συγκριτικά χαμηλότερη αντιοξειδωτική ικανότητα, συνεπώς διατηρείται περισσότερο κατά τη διάρκεια

της θερμικής επεξεργασίας (Carrasco-Pancorbo et al., 2007; Cheikhousman et al., 2005; Daskalaki et al., 2009; Gómez-Alonso et al., 2003, Brenes et al. 2002).

Επιπλέον οι πολυφαινόλες του ΕVOO είναι αποτελεσματικοί σταθεροποιητές της α-τοκοφερόλης κατά τη θέρμανση του ελαιολάδου, συμβάλλοντας έτσι στη θρεπτική αξία των μαγειρεμένων τροφίμων. (Kalogianni et al., 2010; Casal et al., 2010). Ακόμα έχει βρεθεί θετική σημαντική συσχέτιση μεταξύ του φαινολικού περιεχόμενου εκχυλίσματος λαχανικών τηγανισμένων σε εξαιρετικά παρθένο ελαιόλαδο και της αντιοξειδωτικής τους ικανότητας μέσω μέτρησης DPPH (Ramírez-Anaya et al., 2015).

#### 2.3.7. Σύσταση λιπαρών οξέων (FA composition)

Η φύση των λιπαρών οξέων και ιδιαίτερα ο βαθμός ακορεστότητας τους, είναι μεταξύ των σημαντικότερων παραγόντων που καθορίζουν την οξειδωτική σταθερότητα. Οι πιο σημαντικές αλλαγές που βρέθηκαν στα λιπαρά οξέα τριγλυκεριδίων, κατά τη διάρκεια της θερμικής επεξεργασίας, είναι η μείωση στα ακόρεστα λιπαρά οξέα, η αύξηση των *trans*-ισομερών σε υψηλές θερμοκρασίες και ο σχηματισμός λιπαρών οξέων TG βραχείας αλυσίδας, συγκεκριμένα επτανοϊκού και οκτανοϊκού οξέος (Andrikopoulos et al., 2002; Chatzilazarou et al., 2006; Casal et al., 2010).

Σημαντικός παράγοντας που συμβάλλει στην πιθανή αλλαγή στη σύσταση των λιπαρών οξέων είναι το ίδιο το τρόφιμο, λόγω της αλληλεπίδρασης των υπάρχοντων λιπιδίων του τροφίμου με το ελαιόλαδο. Για παράδειγμα ο καταναλωτής μπορεί να χρησιμοποιήσει προτηγανισμένες πατάτες, τα λιπίδια των οποίων θα αναμειχθούν με το ελαιόλαδο, αλλάζοντας τη θερμική συμπεριφορά του. Το ίδιο μοτίβο ισχύει για τρόφιμα πλούσια σε λιπίδια, συμπεριλαμβανομένων ψαριών, των οποίων οι υψηλές ποσότητες PUFA μπορεί να αλλάξουν την απόδοση του ελαιολάδου (Casal et al., 2010).

#### 2.3.8. Ολικές πολικές ενώσεις (TPC)

Οι ολικές πολικές ενώσεις (Total Polar Content, TPC) αντιπροσωπεύουν όλα τα προϊόντα αποικοδόμησης λιπαρών οξέων με υψηλότερη πολικότητα από τα τριγλυκερίδια. Στο πολικό κλάσμα περιλαμβάνονται πολυμερή προϊόντα αποσύνθεσης. Τα πολυμερή (διμερή, τριμερή



και πολυμερισμένες ενώσεις) περιλαμβάνουν τα προϊόντα αποικοδόμησης των οποίων τα μοριακά βάρη είναι υψηλότερα από εκείνα των τριακυλογλυκερολών, ενώ τα προϊόντα αποσύνθεσης (μονο και διακυλογλυκερόλες, ελεύθερα λιπαρά οξέα, πτητικές ενώσεις και κυκλικά και μη κυκλικά μονομερή) αποτελούνται από προϊόντα αποικοδόμησης των οποίων τα μοριακά βάρη είναι χαμηλότερα από εκείνα των τριακυλογλυκερολών (Osawa et al., 2012).

Οι ολικές πολικές ενώσεις (TPC) αυξάνονται γραμμικά με το χρόνο τηγανίσματος, ενώ οι ποσότητες και οι ρυθμοί εξαρτώνται από τη σύσταση λαδιού. Για αυτό το λόγο η ποσοτικοποίηση των ολικών πολικών ενώσεων χρησιμοποιείται ως δείκτης υποβάθμισης του λίπους αν και ορισμένες ενώσεις που ορίζονται ως πολικά συστατικά δεν φαίνεται να αλλοιώνονται (π.χ. DAG, FFA που σχετίζονται με υδρολυτική αλλοίωση) (Bastida & Sánchez-Muniz, 2002). Οι μέθοδοι προσδιορισμού ολικών πολικών ενώσεων (TPC) και προσδιορισμού ολιγομερών τριακυλογλυκερόλης (TOC)) χρησιμοποιούνται εδώ και χρόνια ως κριτήριο αξιολόγησης της υποβάθμισης του ελαιολάδου κατά το τηγάνισμα με κρίσιμα όρια απόρριψης 25% TPC και 10% TOC. Σε κάποιες ευρωπαϊκές χώρες, το όριο απόρριψης για το τηγανητό λάδι έχει ρυθμιστεί μεταξύ 25-27% TPC, ενώ το όριο για την αντικατάσταση λαδιού έχει οριστεί σε 20% TPC (Andrikopoulos et al., 2002). Στον Πίνακα 5 παρουσιάζονται ενδεικτικά μερικά όρια απόρριψης ευρωπαϊκών χωρών, ωστόσο στην Ελλάδα δεν ορίζεται κάποιο τέτοιο όριο.

Πίνακας 7: Περιορισμοί που καθορίζονται στον επίσημο κανονισμό για τα χρησιμοποιημένα στο τηγάνισμα λίπη και έλαια

	Αυστρία	Βέλγιο	Γαλλία	Γερμανία	Ιταλία	Ισπανία
Πολικές ενώσεις (%)	27	25	25	24	25	25
Πολυμερή (%)	-	10	-	-	-	-
FFA (%)	2,5	2,5	-	2,0	-	-

Ο προσδιορισμός των ολικών πολικών ενώσεων (TPC) στα φρέσκα έλαια και στα έλαια μετά το τηγάνισμα πραγματοποιείται, σύμφωνα με τις πρότυπες μεθόδους, με χρωματογραφία στήλης ή και χρωματογραφία αποκλεισμού μεγέθους (HPLC–SEC), οι οποίες φαίνεται να είναι οι μέθοδοι αναφοράς στις περισσότερες δημοσιεύσεις. Ωστόσο, σε πραγματικές εγκαταστάσεις, όπως εστιατόρια και βιομηχανίες, αυτή η παράμετρος αξιολογείται συνήθως

με εμπορικές ταχείες δοκιμές, βασισμένες κυρίως σε χρωματομετρικές αναγνώσεις (π.χ. VERY-FRY® στα 490 nm (Χυ, 1999), οι οποίες έχει αποδειχθεί ότι έχουν καλή συσχέτιση με τις τιμές που λαμβάνονται από τα επίσημα πρότυπα και επιτρέπουν γρήγορες on-line μετρήσεις (Osawa et al., 2012; Casal et al., 2010).

#### 2.3.9. Μονομερή κυκλικά λιπαρά οξέα (CFAM)

Ανάμεσα στα προϊόντα αποικοδόμησης των λιπαρών οξέων, αναφέρεται ο σχηματισμός μονομερών κυκλικών λιπαρών οξέων (CFAM). Οι Romero et al. (2000, 2003) μελέτησαν το σχηματισμό CFAM κατά τη διάρκεια του τηγανίσματος EVOO. Τα CFAM αυξήθηκαν στο έλαιο με γραμμικό τρόπο κατά τη διάρκεια πολλαπλών τηγανισμάτων, ενώ μετά την προσθήκη φρέσκου ελαίου μεταξύ των τηγανισμάτων ο σχηματισμός CFAM ήταν 12% χαμηλότερος. Επίσης, σε έλαια μεγαλύτερης περιεκτικότητας σε λινελαϊκό οξύ σχηματίσθηκαν υψηλότερες ποσότητες CFAM (Casal et al., 2010).

#### 2.3.10. Βιταμίνη E

Η βιταμίνη E είναι ένα σημαντικό αντιοξειδωτικό σε όλα τα φυτικά έλαια. Ορισμένοι συγγραφείς επιβεβαιώνουν ότι οι πολυφαινόλες δρουν ως σταθεροποιητές της βιταμίνης E κατά τη θέρμανση του ελαιολάδου, δημιουργώντας μια αποτελεσματική ισορροπία οξειδωτικής προστασίας μεταξύ αυτών των δύο αντιοξειδωτικών οικογενειών. Ο ρυθμός αποικοδόμησης της βιταμίνης E κατά τη θέρμανση στους 170°C (προσομοίωση τηγανίσματος) ήταν χαμηλότερος από την υδροξυτυροσόλη, αλλά υψηλότερος από την τυροσόλη (Cheikhousman et al., 2005), με απώλειες έως και 70 % μετά από θέρμανση 3 ωρών. Παρομοίως με το προσομοιωμένο τηγάνισμα και στο τηγάνισμα φρέσκων πατατών (170°C), η απώλεια βιταμίνης E είναι επίσης γρήγορη, με εξάντληση της μετά από 3 έως 6 ώρες (Casal et al., 2010).

#### 2.3.11. Χρώμα

Το χρώμα του ελαιολάδου αποτελεί χαρακτηριστικό δείκτη ποιότητας. Διαφέρει συνήθως από ελαιόλαδο σε ελαιόλαδο και το επιθυμητό χρώμα είναι πρασινωπό προς

πρασινοκίτρινο (Κυρτσάκης, 1993). Το ελαιόλαδο έχει στη δομή του φυσικές χρωστικές, όπως χλωροφύλλη, καροτενοειδή, ξανθοφύλλη και λυκοπένιο. Το πρασινωπό χρώμα του παρθένου ελαιολάδου οφείλεται στην παρουσία των χρωστικών της χλωροφύλλης. Μεταξύ των ενώσεων χλωροφύλλης, η φαιοφυτίνη Α βρίσκεται σε αυξημένες ποσότητες στα ελαιόλαδα. Αντίθετα, η λουτεΐνη και το β-καροτένιο είναι οι κύριες «κίτρινες» χρωστικές ουσίες που ευθύνονται για το κιτρινωπό χρώμα του παρθένου ελαιολάδου. Κατά τη θερμική επεξεργασία του ελαιολάδου, όπως για παράδειγμα το μαγείρεμα, παρατηρούνται μεταβολές στο χρώμα του, λόγω της οξειδωσης της χλωροφύλλης κυρίως, αλλά και των υπολοίπων χρωστικών. Για τον υπολογισμό της μεταβολής αυτής χρησιμοποιείται χρωματόμετρο (χρωματομετρία). Λόγω της αντιοξειδωτικής φύσης των καροτενοειδών και της προ-οξειδωτικής δράσης των χλωροφυλλών και οι δύο παίζουν καθοριστικό ρόλο στην οξειδωτική σταθερότητα κατά την αποθήκευση (Mahesar et al., 2019).

#### **2.4. Συσχέτιση ποιοτικών παραμέτρων**

Οι Casal et al.(2010) ανέλυσαν τις σημαντικές παραμέτρους που μεταβάλλονται κατά το τηγάνισμα ελαιολάδου και υπολόγισαν τη συσχέτιση τους με το χρόνο τηγανίσματος (Πίνακας 6). Σημαντική συσχέτιση με το χρόνο παρουσίασαν οι ολικές πολικές ενώσεις (TPC), όπου αυξάνονταν ανάλογα με το χρόνο τηγανίσματος. Η οξύτητα, σε αντίθεση, παρουσίασε σημαντική συσχέτιση με το χρόνο μόνο στα δείγματα εξαιρετικά παρθένου ελαιολάδου αλλά όχι στο μείγμα ηλιέλαιου (SO). Ο σχηματισμός *trans* λιπαρών οξέων συσχετίσθηκε σημαντικά με το χρόνο τηγανίσματος ανεξάρτητα από την ταυτότητα του δείγματος. Η μείωση των πολυακόρεστων λιπαρών οξέων (PUFA) ήταν επίσης στατιστικά αισθητή, στα ελαιόλαδα. Μεταξύ των οξειδωτικών παραμέτρων που αξιολογήθηκαν, μόνο η *p*-ανισιδίνη συσχετίστηκε καλά με τις ώρες τηγανίσματος, αλλά με μεγαλύτερη σημασία στο φυτικό έλαιο (vegetable oil). Η μείωση της βιταμίνης Ε συσχετίστηκε επίσης με τις ώρες τηγανίσματος, με στατιστική σημασία μόνο στα δείγματα EVOO και φυτικού ελαίου (SO), κυρίως λόγω της πρώιμης απώλειας τους.

Πίνακας 8: Συσχέτιση μεταξύ των παραμέτρων που αξιολογήθηκαν και του χρόνου τηγανίσματος (Casal et al., 2010)

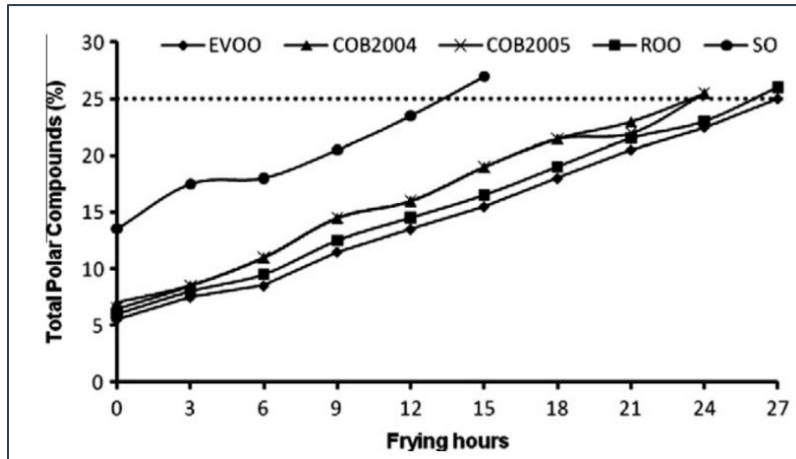
	EVOO		Μονοποικιλιακό EVOO (1)		Μονοποικιλιακό EVOO (2)		ROO		SO	
	r <sup>2</sup>	p	r <sup>2</sup>	p	r <sup>2</sup>	p	r <sup>2</sup>	p	r <sup>2</sup>	p
TPC	0,996	***	0,995	***	0,991	***	0,998	***	0,970	***
FA	0,913	***	0,919	***	0,939	***	0,905	***	0,428	n.s.
PV	0,318	n.s.	0,283	n.s.	0,061	n.s.	0,411	*	0,013	n.s.
p-AV	0,673	**	0,766	**	0,782	**	0,639	**	0,981	***
K <sub>232</sub>	0,412	*	0,483	*	0,228	n.s.	0,119	n.s.	0,393	n.s.
K <sub>270</sub>	0,328	n.s.	0,568	*	0,601	*	0,256	n.s.	0,801	*
ΔK	0,272	n.s.	0,198	n.s.	0,115	n.s.	0,412	*	0,878	**
ROS	0,601	**	0,680	**	0,525	*	0,569	*	0,685	*
SFA	0,559	*	0,881	***	0,990	***	0,814	***	0,873	**
MUFA	0,087	n.s.	0,309	n.s.	0,052	n.s.	0,030	n.s.	0,556	n.s.
PUFA	0,967	***	0,993	***	0,988	***	0,992	***	0,802	*
<i>Trans</i> FA	0,977	***	0,988	***	0,996	***	0,860	***	0,981	***
Vitamin E	0,997	*	0,635	n.s.	0,761	n.s.	0,987	n.s.	0,996	***
β-Carotene	0,297	n.s.	0,010	n.s.	0,615	*	0,717	**	-	-

n.s.=not significant. \* p ≤ 0,05. \*\* p ≤ 0,01. \*\*\* p ≤ 0,001.

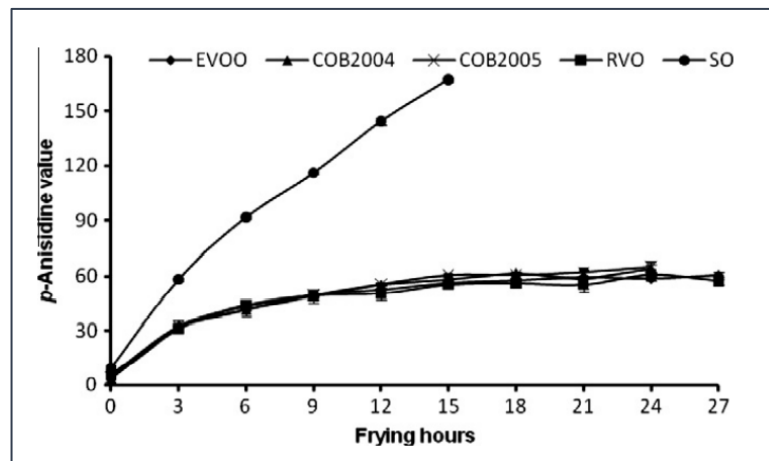
Στα Σχήματα 1, 2 και 3 φαίνονται οι μεταβολές για τις παραμέτρους TPC το οποίο ορίζει το σημείο απόρριψης<sup>2</sup>), την τιμή p-ανισιδίνης και την οξύτητα, αντίστοιχα, κατά το τηγάνισμα των διαφορετικών ελαίων.

Τα δύο μονοποικιλιακά εξαιρετικά παρθένα ελαιόλαδα (COB2004 και COB2005) έφτασαν το σημείο απόρριψης μετά από 24 ώρες, ακολούθησε το μείγμα ROO σε περίπου 26 ώρες (26% στις 27 ώρες), και τέλος το EVOO σε 27 ώρες τηγανίσματος. Το φυτικό έλαιο (SO) έφτασε το όριο TPC (27%) νωρίτερα, ήδη μετά την 15η ώρα τηγανίσματος.

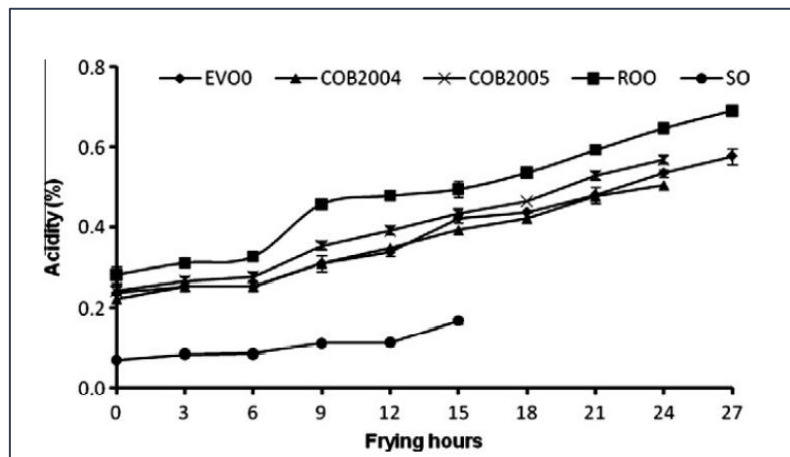
<sup>2</sup> Ως σημείο απόρριψης θεωρήθηκε το σημείο όπου η περιεκτικότητα σε ολικές πολικές ενώσεις ξεπερνά το ποσοστό 25-27%.



Σχήμα 1: Μεταβολή ολικών πολικών ενώσεων (% TPC) σε σχέση με τις ώρες τηγανίσματος



Σχήμα 2: Μεταβολή τιμής p-ανισιδίνης σε σχέση με τις ώρες τηγανίσματος



Σχήμα 3: Μεταβολή τιμής οξύτητας (% FFA) σε σχέση με τις ώρες τηγανίσματος

### Κεφάλαιο 3: Θερμική επεξεργασία με ΕΥΟΟ

Το παρθένο ελαιόλαδο, χάρη στην ξεχωριστή του γεύση και άρωμα, είναι ιδανικό για ωμή κατανάλωση (π.χ. σε σαλάτες), ωστόσο στις ελαιοπαραγωγικές χώρες τις Μεσογείου, λόγω της αφθονίας, το ελαιόλαδο συχνά χρησιμοποιείται και στο μαγείρεμα. Συγκεκριμένα, χρησιμοποιείται για τηγάνισμα, βράσιμο, ψήσιμο στο φούρνο, θέρμανση σε φούρνο μικροκυμάτων κοκ (Nissiotis & Tasioula-Margari, 2002).

Είναι γνωστό ότι τα έλαια αποικοδομούνται κατά την θερμική επεξεργασία και το ελαιόλαδο οξειδώνεται με αποτέλεσμα την αλλοίωση του. Ωστόσο, η υποβάθμισή του κατά τη θερμική επεξεργασία είναι ένα περίπλοκο ζήτημα από τη χημική άποψη, λόγω της τεράστιας ποσότητας διαφορετικών ενώσεων στη σύστασή του. Η μελέτη των αντιδράσεων αυτών είναι σημαντική και από την προοπτική των πιθανών επιπτώσεων στην υγεία, που προέρχονται από τις αντιδράσεις και τις αλληλεπιδράσεις που λαμβάνουν χώρα υπό θερμική επεξεργασία (Santos et al., 2013). Τα τρόφιμα απορροφούν τα θερμαινόμενα λίπη, με συνέπεια αυτά να γίνονται μέρος της διατροφής έτσι είναι ύψιστης σημασίας να γνωρίζουμε τη χημική σύσταση του ελαίου μετά την θερμική επεξεργασία. Ειδικά σε διαδικασίες θερμικής επεξεργασίας όπως το τηγάνισμα, όπου το λάδι χρησιμοποιείται πάνω από μια φορές, είναι σημαντικό να γνωρίζουμε ποια είναι τα όρια χρήσης κατά την ανακύκλωση λαδιών τηγανίσματος (Andrikopoulos et al., 2002).

Κάθε τύπος θερμικής επεξεργασίας έχει ιδιαίτερα χαρακτηριστικά όσον αφορά τη θερμοκρασία και το χρόνο μαγειρέματος. Παρακάτω συγκεντρώνονται και αναλύονται οι μελέτες που έχουν πραγματοποιηθεί μέχρι σήμερα για το μαγείρεμα με ελαιόλαδο, ομαδοποιημένες κατά μέθοδο επεξεργασίας. Για κάθε κατηγορία μαγειρέματος συγκρίνονται πραγματικό και προσομοιωμένο μαγείρεμα ενώ αναγράφονται οι αναλυτικές παράμετροι με τις οποίες οι ερευνητές αξιολόγησαν την αλλοίωση του ελαιολάδου καθώς και τα συμπεράσματα της κάθε μελέτης.

### 3.1. Τηγάνισμα

Το τηγάνισμα είναι μια από τις πιο δημοφιλείς διαδικασίες μαγειρέματος για την προετοιμασία φαγητού καθώς λόγω των μοναδικών οργανοληπτικών χαρακτηριστικών τους (γεύσης, υφής και εμφάνισης), τα τηγανητά τρόφιμα καταναλώνονται συχνά και με ευχαρίστηση. Το τηγάνισμα είναι μια γρήγορη, βολική και ενεργειακά αποδοτική μέθοδος μαγειρέματος που αυξάνει την γεύση λόγω της απορρόφησης λίπους, του σχηματισμού κρούστας και του σχηματισμού ευχάριστων γεύσεων και οσμών (Procida et al., 2009).

Από μαγειρικής απόψεως, το τηγάνισμα είναι μαγείρεμα σε ζεστό λάδι σε θερμοκρασίες που κυμαίνονται από 140-190°C. Οι παραλλαγές του τηγανίσματος σχετίζονται κυρίως με την ποσότητα λίπους που χρησιμοποιείται. Μια παραλλαγή τηγανίσματος είναι το βαθύ τηγάνισμα (deep-frying), όπου το φαγητό βυθίζεται εξ ολοκλήρου σε ζεστό λάδι (σε φριτέζες ή κατσαρόλες). Ενώ το ρηχό τηγάνισμα (pan-frying) πραγματοποιείται σε χαμηλό σκεύος όπως το τηγάνι το φαγητό μαγειρεύεται αφού έχει βυθιστεί μερικώς σε μια μικρή ποσότητα λαδιού (Santos et al., 2013).

Το τηγάνισμα είναι η πιο μελετημένη μέθοδος μαγειρέματος καθώς εφαρμόζεται ευρέως τόσο κατά το οικιακό μαγείρεμα όσο και σε βιομηχανικές εφαρμογές. Και οι δύο παραλλαγές τηγανίσματος έχουν δοκιμαστεί σε αρκετές εμπορικές ποιότητες ελαιολάδου, σε θερμοκρασίες που κυμαίνονται από 170 °C -180 °C σε πραγματικό τηγάνισμα, και από 160 °C-190 °C σε προσομοίωση τηγανίσματος, δηλαδή όταν το ελαιόλαδο θερμαίνεται απουσία τροφίμου. Ορισμένοι συγγραφείς μελέτησαν την επίδραση της προσθήκης φρέσκου λαδιού μεταξύ των τηγανισμάτων, στην απόδοση του λαδιού. Στους Πίνακες 9 και 10 παρουσιάζεται ανασκόπηση των μελετών που εστιάζουν στο βαθύ και το ρηχό τηγάνισμα και αναγράφονται οι διαφορετικές συνθήκες θερμοκρασίας, η αναπλήρωση ελαίου, ο τύπος ελαίου, το τρόφιμο καθώς και οι παράμετροι ποιότητας.

Σε συνθήκες τηγανίσματος, το λάδι εκτίθεται σε υψηλή θερμοκρασία, αέρα και υγρασία από το φαγητό. Τέτοιες συνθήκες προκαλούν αρκετές χημικές αντιδράσεις, συμπεριλαμβανομένης της οξειδωσης λόγω της παρουσίας οξυγόνου, της υδρόλυσης, του ισομερισμού, πολυμερισμού και θερμικής αποσύνθεσης λόγω υψηλής θερμοκρασίας. Καθώς προχωρούν οι

αντιδράσεις, το έλαιο υποβαθμίζεται και προκαλούνται αλλοιώσεις στα αισθητηριακά του χαρακτηριστικά αλλά και στις θρεπτικές του ιδιότητες (Kalogeropoulos & Chiou, 2017). Τα τηγανισμένα έλαια αποσυντίθενται προς ποικιλία πτητικών ενώσεων καθώς και μονομερών και πολυμερών προϊόντων. Αυτές, οι χημικές αντιδράσεις κατά τη διάρκεια του τηγανίσματος επηρεάζονται από τον τύπο και την ποιότητα του λαδιού, τις ιδιότητες των τροφίμων και την αναλογία τροφίμου/ελαίου, μεταξύ άλλων παραμέτρων, καθορίζοντας συνολικά την απόδοση του τηγανίσματος (Andrikopoulos et al., 2002).

Ακόμα, το τηγανητό φαγητό εμπλουτίζεται με τα αντιοξειδωτικά του ελαιολάδου, αρκεί το ελαιόλαδο να μην θερμαίνεται εκτενώς (Santos et al., 2013). Οι τάσεις αυτές για το παρθένο ελαιόλαδο ισχύουν τόσο στο ρηχό όσο και στο βαθύ τηγάνισμα. Ωστόσο μία ιδιαίτερη ανησυχία σχετικά με το ελαιόλαδο είναι πως παρά το γεγονός ότι είναι εξαιρετικά ανθεκτικό στη θερμική οξείδωση, τα βιοδραστικά χαρακτηριστικά του χάνονται κατά τη διάρκεια της διαδικασίας τηγανίσματος (Andrikopoulos et al., 2002).

### 3.1.1. Τηγάνισμα σε βαθύ τηγάνι (Deep-frying)

Το τηγάνισμα σε βαθύ τηγάνι (Deep-frying) είναι αρκετά δημοφιλής μέθοδος τηγανίσματος, σε εστιατόρια και στη βιομηχανία τροφίμων. Ενώ σε άλλες διαδικασίες μαγειρέματος το λάδι χρησιμοποιείται για μειωμένο αριθμό φορών, στο βαθύ τηγάνισμα συνήθως χρησιμοποιείται παρατεταμένα. Υπολογίζεται πως κατά το τυπικό τηγάνισμα, το λάδι χρησιμοποιείται συνήθως για έξι και σε μερικές περιπτώσεις για εννέα ή δέκα διαδοχικά τηγανίσματα (Andrikopoulos et al., 2002). Όταν το λάδι επαναχρησιμοποιηθεί για τηγάνισμα τότε, λόγω των υψηλών θερμοκρασιών και του παρατεταμένου χρονικού διαστήματος, τα λάδι αποικοδομείται προοδευτικά (Santos et al., 2013).

Ο χρόνος χρήσης του ελαίου εξαρτάται από την αποικοδόμηση που επιτυγχάνεται, η οποία αξιολογείται με οπτική και αισθητηριακή εκτίμηση ή από ποιοτικούς παράγοντες, όπως οι συνολικές πολικές ενώσεις.



Πίνακας 9: Βιβλιογραφική ανασκόπηση μελετών που αφορούν το βαθύ τηγάνισμα ελαιόλαδου (deep-frying)

Τύπος ελαίου	Τρόφιμα	Συνθήκες Θέρμανσης			Παράμετροι προς μέτρηση/Αποτελέσματα	Αναφορές
		Τemperatur	Χρόνος	Αναλογία		
VOO vs άλλα	Πατάτες	170 °C	10 τηγανίσματα (1 ημέρα)	NR	Ποιοτική υποβάθμιση*	(Andrikopoulos et al., 2002)
EVOO vs ROO	Πατάτες τηγανιτές	180 °C	12 τηγανίσματα (2/ ημέρα)	NR	Φαινολικά, αντιοξειδωτική δράση	(Gómez-Alonso et al., 2003)
EVOO vs άλλο	Πατάτες	180 °C	75 τηγανίσματα (10/ ημέρα)	FR	Σύνθεση λιπαρών οξέων, πολικές και φαινολικές ενώσεις, CFAM	(Romero et al., 2003)
EVOO	Κατεψυγμένα τρόφιμα	180 °C	20 τηγανίσματα (2/ ημέρα)	FR NR	Πολικές ενώσεις	(Romero et al., 2000)
EVOO vs VOO vs OO vs άλλο	-	170 °C	27 h (9 h/ ημέρα)	NR	Ποιοτική υποβάθμιση*/ οξειδωτική σταθερότητα	(Casal et al., 2010)
OO vs άλλα	Κατεψυγμένα και προτηγανισμένα τρόφιμα	180 °C	40 τηγανίσματα (2/ ημέρα)	FR	Πολικές ενώσεις	(Bastida & Muniz, 2002)
EVOO	Πατάτες	180 °C	40 τηγανίσματα (10/ ημέρα)	NR	Πολικές ενώσεις	(Kalogianni et al., 2010)
VOO	-	180 °C	5–25 h	NR	Φαινολικές ενώσεις	(Brenes et al., 2002)
EVOO vs OO vs άλλα	-	160–190 °C	2 h	NR	Αντιοξειδωτική δράση	(Valavanidis et al., 2004)
EVOO	-	170 °C	3 h	NR	Βιταμίνη E, πολυφαινόλες	(Cheikhousman et al., 2005)
EVOO vs ROO	-	180 °C	180 min	NR	φαινολική σύνθεση και αντιοξειδωτική δράση	(Carrasco et al., 2007)
VOO	-	180 °C	60 min	NR	Φαινολικές ενώσεις	(Daskalaki et al., 2009)
VOO	-	180 °C	60 min	NR	Πτητικές ενώσεις	(Procida et al., 2009)
EVOO vs άλλα	-	190 °C	40 h (8 h/ ημέρα)	NR	Πτητικές ενώσεις	(Uriarte & Guillén, 2010)
EVOO vs OO	-	160–190 °C	120 min	NR	Αντιοξειδωτική δράση	(Pellegrini N, et al., 2001)
EVOO	-	180 °C	180 min	NR	Σύνθεση λιπαρών οξέων, οξειδωτική σταθερότητα	(Maggio et al., 2011).
EVOO	Πατάτες, ντομάτα, μελιτζάνα, κολοκύθα	180°C	10 min Αναλογία 5:1	NR	Φαινολικά, αντιοξειδωτική δράση	(Ramirez et al., 2015)
VOO	-	180 °C	2,5-5 h	NR	Βιοδραστικές ενώσεις	(Oueslati et al., 2020).

\*Ποιοτική υποβάθμιση: ελεύθερα λιπαρά οξέα, αριθμός υπεροξειδίων, ρ-Ανισιδίνη, συντελεστές απόσβεσης, σύνθεση λιπαρών οξέων, πολικές ενώσεις, φαινολικές ενώσεις  
EVOO - έξτρα παρθένο ελαιόλαδο, OO – ελαιόλαδο, PO – πυρηνέλαιο, ROO - εξευγενισμένο ελαιόλαδο, VOO - παρθένο ελαιόλαδο, FR- συχνή αναπλήρωση, NR- μηδενική αναπλήρωση

Οι συνέπειες του τηγανίσματος στην ποιότητα των ελαίων υπολογίζεται κυρίως μέσω κλασικών μετρήσεων ποιότητας όπως η ελεύθερη οξύτητα, ο αριθμός υπεροξειδίων, η τιμή *p*-ανισιδίνης και οι ολικές πολικές ενώσεις. Υπό προσομοιωμένες συνθήκες τηγανίσματος, δηλαδή θέρμανση ελαίου στους 180 °C απουσία τροφίμου δεν αυξάνεται η υδρόλυση TAG (Daskalaki et al., 2009) ενώ παρουσία τροφίμου η τιμή ελεύθερων λιπαρών οξέων (FFA) αυξάνεται ελαφρώς και αναλογικά με το χρόνο τηγανίσματος. Η διαφορά αυτή πιθανότατα οφείλεται στην περιεκτικότητα των τροφίμων σε υγρασία (Andrikopoulos et al., 2002; Casal et al., 2010).

Όσον αφορά την τιμή υπεροξειδίου, οι Daskalaki et al. (2009) ανέφεραν αύξηση της τιμής του για το VOO για έως 60 λεπτά στους 180 °C ενώ για παρατεταμένη θέρμανση του EVOO (3 ώρες, 170 °C) όπως μετρήθηκε από τους Cheikhousman et al. (2005) η τελική τιμή PV ήταν μικρότερη της αρχικής, γεγονός που υποδεικνύει την μετατροπή των υπεροξειδίων σε δευτερογενή προϊόντα οξείδωσης. Η τιμή υπεροξειδίων επιβεβαιώθηκε και για τηγάνισμα παρουσία τροφίμων (Andrikopoulos et al., 2002; Casal et al. 2010). Οι Casal et al., (2010) συγκρίναν το ελαιόλαδο με το ηλιέλαιο και μέτρησαν πως οι αυξήσεις στις τιμές PV του ελαιόλαδου ήταν σημαντικά χαμηλότερες σε σύγκριση με το ηλιέλαιο, όταν αυτό υποβλήθηκε σε επεξεργασία υπό τις ίδιες συνθήκες τηγανίσματος. Όσον αφορά τα προϊόντα δευτερογενούς οξείδωσης, που αξιολογούνται από την τιμή *p*-ανισιδίνης, βρέθηκαν ισοδύναμες τάσεις και τιμές *p*-ανισιδίνης για διάφορα δείγματα EVOO και OO ενώ με βάση αυτήν την παράμετρο, το ηλιέλαιο παρουσίασε βαθμολογία οξείδωσης μετά από 3 ώρες, που ισοδυναμεί με περίπου 27 ώρες τηγανίσματος ελαιολάδου. Μελετήθηκε ακόμα και το παρατεταμένο τηγάνισμα πατατών (75 τηγανίσματα) με EVOO από τους Romero et al. (2003) όπου οι συγγραφείς πρόσθεταν φρέσκο ελαιόλαδο σε κάθε παρτίδα τηγανίσματος, συμβάλλοντας στη μειωμένη αποικοδόμηση του ελαίου, καθώς κάθε συνεδρία συμπληρώνεται με μια νέα ομάδα προστατευτικών ενώσεων ελαιολάδου.

Μια πιο ακριβής μέτρηση του βαθμού οξείδωσης και υδρόλυσης μπορεί να επιτευχθεί μετρώντας τις ολικές πολικές ενώσεις (TPC) καθώς η τιμή TPC αυξάνεται γραμμικά με το χρόνο τηγανίσματος. Υπό συνθήκες προσομοίωσης τηγανίσματος στους 180–190 °C, ο σχηματισμός TPC ελαιολάδου ήταν συγκριτικά χαμηλότερος από αυτόν για άλλα φυτικά έλαια με αυξημένο

βαθμό ακόρεστων ενώσεων, όπου το ελαιόλαδο διήρκησε από 24 ώρες έως και 33 ώρες θέρμανσης περισσότερο έως ότου επιτευχθεί το νόμιμο σημείο απόρριψης των 25% TPC (Brenes et al., 2002; Uriarte & Guillén, 2010). Υπό πραγματικές συνθήκες τηγανίσματος χρησιμοποιώντας χαμηλή αναλογία φαγητού: ελαίου, επιτυγχάνονται παρόμοια αποτελέσματα, με αυτά της προσομοιωμένης θέρμανσης, δηλαδή η παρουσία του τροφίμου δεν φάνηκε να επηρεάζει τις συνολικές ποσότητες TPC (Bastida et al., 2002; Casal et al., 2010; Kalogianni et al., 2010). Για υψηλότερες αναλογίες φαγητού: ελαίου, η επίδοση του ελαίου επιδεινώνεται (Kalogianni et al., 2010).

Ο σχηματισμός TPC στο EVOO φαίνεται αυξάνεται μετά την εξάντληση των φαινολικών ενώσεων, γεγονός που υποδηλώνει μεγαλύτερη ευαισθησία στην αποικοδόμηση του ελαίου από αυτό το σημείο προς τα εμπρός (Gómez-Alonso et al., 2003). Η προσθήκη φρέσκου EVOO κατά το τηγάνισμα, όπως προτείνεται από τους Romero et al. (2000) συμβάλει στην αυξημένη αντιοξειδωτική ικανότητα. Οι συγγραφείς συνέκριναν το τηγάνισμα πατάτας με και χωρίς αναπλήρωση, καταλήγοντας στο συμπέρασμα ότι η συχνή αναπλήρωση επέτρεψε υψηλότερο αριθμό τηγανισμάτων και σημαντικά χαμηλότερη θερμοξειδωτική μεταβολή, ιδιαίτερα όσον αφορά τις ποσότητες ολιγομερών.

Οι φαινολικές ενώσεις επηρεάζονται από τη θερμική επεξεργασία και η απώλεια τους εξαρτάται από τη χημική τους δομή και πιθανώς από την αντιοξειδωτική τους δράση (Gómez-Alonso et al., 2003). Τα κύρια συστατικά του φαινολικού κλάσματος ελαιολάδου είναι η υδροξυτυροσόλη, η τυροσόλη και τα παράγωγά τους. Η υδροξυτυροσόλη και τα παράγωγά τους χάνονται εκτενώς, με 50% μείωση στο EVOO μετά το τηγάνισμα φρέσκων πατατών για μόλις 10 λεπτά στους 180 °C ενώ, σχεδόν πλήρης αποδόμηση παρατηρείται μετά από 6 τηγανίσματα. Σε αντίθεση, η τυροσόλη και τα παράγωγά της είναι λιγότερο επιρρεπή στην θερμική επεξεργασία, διατηρώντας το 80% της αρχικής τους συγκέντρωσης ακόμη και μετά από 12 τηγανίσματα (Gómez-Alonso et al., 2003). Η διαφορά αυτή θα μπορούσε να αποδοθεί στην αντιοξειδωτική δράση των ενώσεων καθώς η υδροξυτυροσόλη παρουσιάζει υψηλότερη αντιοξειδωτική δράση σε σχέση με την τυροσόλη, προστατεύοντας τα λιπίδια από την οξείδωση κατά τη διάρκεια του τηγανίσματος (Carrasco-Pancorbo et al., 2007; Cheikhousman et al., 2005; Daskalaki et al., 2009; Gómez-Alonso et al., 2003).

### 3.1.2. Τηγάνισμα σε ρηχό τηγάνι (pan-frying)

Το τηγάνισμα σε ρηχό τηγάνι χρησιμοποιείται συχνά για οικιακό μαγείρεμα. Σε αντίθεση με το βαθύ τηγάνισμα όπου το τρόφιμο βυθίζεται στο έλαιο, κατά το ρηχό τηγάνισμα η αναλογία τροφίμου: ελαίου είναι υψηλότερη.

Πίνακας 10: Βιβλιογραφική ανασκόπηση μελετών που αφορούν το ρηχό τηγάνισμα ελαιόλαδου (pan-frying)

Τύπος ελαίου	Τρόφιμα	Συνθήκες θέρμανσης			Μετρήσεις	Αναφορές
VOO vs άλλα	Πατάτες	180 °C);	10 τηγανίσματα (1 day)	FR	Ποιοτική υποβάθμιση*	(Andrikorou et al., 2002)
VOO vs άλλα	Πατάτες	175 °C	8 τηγανίσματα (1 day)	NR	Πτητικές ενώσεις	(Boskou et al., 2006)
VOO	Ξιφίας και λαχανικά	170 °C	1 τηγανίσματα ανά φαγητό	NR	Φαινολικές ενώσεις	(Kalogeropoulos et al., 2007b)
EVOO, OO, SO,	Πατάτες	175±5C		NR	Φαινολικά, οξειδωτική σταθερότητα και μικροσυστατικά	(Chiou et al., 2009)
EVOO, SO	κρέας, πουλερικά, πατάτες	180±5 °C	6 min	NR	Φαινολικά, αντιοξειδωτική ικανότητα	(Szydłowska et al., 2012)
EVOO	-	180 °C;	15 min–60 min	NR	Πτητικές ενώσεις	(Messina et al., 2009)

\*Η ποιοτική υποβάθμιση: ελεύθερα λιπαρά οξέα, αριθμός υπεροξειδίων, p-Ανισιδίνη, συντελεστές απόσβεσης, σύνθεση λιπαρών οξέων, πολικές ενώσεις, φαινολικές ενώσεις  
 EVOO - έξτρα παρθένο ελαιόλαδο, OO – ελαιόλαδο, PO – πυρηνέλαιο, ROO - εξευγενισμένο ελαιόλαδο, VOO - παρθένο ελαιόλαδο, FR- συχνή αναπλήρωση, NR- μηδενική αναπλήρωση

Σε σύγκριση με το βαθύ τηγάνισμα, στο ρηχό τηγάνισμα παρατηρείται υψηλότερη υποβάθμιση του VOO, με αυξημένες τιμές FFA, PV, K<sub>232</sub>, K<sub>270</sub> και TPC (Andrikorou et al., 2002). Επιπλέον, παρατηρήθηκαν υψηλότερη απώλεια φυτοστερολών, φαινολικών ενώσεων και βιταμίνης E στο ρηχό τηγάνισμα, σε σχέση με το βαθύ, με και χωρίς την παρουσία τροφής (Andrikorou et al., 2002; Kalogeropoulos et al., 2007b; Messina et al., 2009). Η υψηλότερη αποικοδόμηση, μπορεί να εξηγηθεί από την υψηλότερη αναλογία τροφής: επιφάνεια επαφής ελαίου, που έχει ως αποτέλεσμα υψηλότερη έκθεση σε ατμοσφαιρικό οξυγόνο και χαμηλότερο έλεγχο θερμοκρασίας (Andrikorou et al., 2002). Ωστόσο, σε σύγκριση με το ελαιόλαδο, τα άλλα φυτικά έλαια, παρουσιάζουν υψηλότερους ρυθμούς οξείδωσης και αποικοδόμησης λόγω της αυξημένης περιεκτικότητας σε PUFA (Andrikorou et al., 2002).

### 3.2. Θερμική επεξεργασία σε συμβατικό φούρνο αέρα (conventional heating)

Το ψήσιμο με ελαιόλαδο είναι συνηθισμένο τόσο στην οικιακή όσο και στη βιομηχανική παρασκευή τροφίμων σε χώρες της Μεσογείου. Πρόκειται για μια μέθοδο μαγειρέματος όπου χρησιμοποιείται ξηρή θερμότητα. Ο ζεστός αέρας καλύπτει το φαγητό, το θερμαίνει ομοιόμορφα σε όλες τις πλευρές με θερμοκρασίες τουλάχιστον 150 °C. Κατά το ψήσιμο απαιτούνται ισοδύναμες ποσότητες λίπους με το ρηχό τηγάνισμα, ωστόσο η διαδικασία είναι πολύ επιρρεπής σε οξείδωση λόγω της υψηλότερης επιφάνειας έκθεσης σε συμβατικό ζεστό αέρα και μεγαλύτερους χρόνους επεξεργασίας (Santos et al., 2013). Στον Πίνακα 11 παρουσιάζονται οι βιβλιογραφικές αναφορές στις οποίες, συμβατικός φούρνος με θέρμανση με αέρα (air-convection heating) δοκιμάστηκε σε EVOO, VOO, OO και ROO, με θερμοκρασίες που κυμαίνονται από 180°C -230 °C, κυρίως υπό προσομοίωση θέρμανσης.

Πίνακας 11: Βιβλιογραφική ανασκόπηση μελετών ψησίματος και βρασμού ελαιολάδου.

Τύπος ελαίου	Τρόφιμα	Συνθήκες θέρμανσης		Μετρήσεις	Αναφορές
		Θερμοκρασία	Χρόνος		
VOO vs OO vs άλλα	-	180 °C	2 h	Ποιοτική υποβάθμιση*	(Albi, 1997)
EVOO vs OO	-	160–190 °C	30 min–120 min	Αντιοξειδωτική ικανότητα και φαινολικές ενώσεις	(Pellegrini et al., 2001)
OO	-	230 °C	36 min και 45 min	Πολικές ενώσεις	(Caponio et al., 2002)
VOO vs άλλα	-	230 °C	45 min	Ποιοτική υποβάθμιση*, σύσταση λιπαρών οξέων	(Caponio et al., 2003)
EVOO	-	180 °C	2–36 h	Ποιοτική υποβάθμιση*	(Allouche et al., 2007)
EVOO vs ROO	-	200 °C	3 min–30 min	Οξείδωση	(Mahmoud et al., 2009)
EVOO vs VOO vs άλλα	Κρέας και πατάτες	180 °C	60 min	Οξειδωτική σταθερότητα, φαινολικές ενώσεις, τοκοφερόλη	(Silva et al., 2010a)
EVOO vs VOO vs άλλα	Λαχανικά	180 °C	60 min	Οξειδωτική σταθερότητα, πολυφαινολικά	(Silva et al., 2010b)

\*Η ποιοτική υποβάθμιση: ελεύθερα λιπαρά οξέα, αριθμός υπεροξειδίων, p-Ανισιδίνη, συντελεστές απόσβεσης, σύνθεση λιπαρών οξέων, πολικές ενώσεις, φαινολικές ενώσεις  
EVOO - έξτρα παρθένο ελαιόλαδο, OO – ελαιόλαδο, PO – πυρηνέλαιο, ROO - εξευγενισμένο ελαιόλαδο, VOO - παρθένο ελαιόλαδο,

Παρατηρήθηκαν σαφείς τάσεις οξείδωσης μέσω μέτρησης του  $K_{232}$ , η τιμή του οποίου αυξήθηκε με το χρόνο έκθεσης (Albi et al., 1997, Allouche et al., 2007; Caronio et al., 2003; Mahmoud et al., 2009; Silva et al., 2010). Ωστόσο, όταν συγκρίνουμε με άλλα φυτικά έλαια με υψηλότερο βαθμό ακορεστότητας, το ελαιόλαδο παρουσιάζει μεγαλύτερη σταθερότητα στην οξείδωση κατά το ψήσιμο (Albi et al., 1997a; Caronio et al., 2003). Οι Silva et al. (2010a) μελέτησαν τη θέρμανση EVOO και άλλων φυτικών ελαίων παρουσία φαγητού (πατάτες και κρέας), όπου παρατηρήθηκαν χαμηλότεροι βαθμοί οξείδωσης τόσο για πρωτογενή όσο και για δευτερογενή προϊόντα οξείδωσης, υπογραμμίζοντας τη σημασία της μελέτης των θερμικών επιδράσεων σε πραγματικές συνθήκες μαγειρέματος.

Η σύνθεση λιπαρών οξέων επηρεάστηκε επίσης από συμβατική θέρμανση με αύξηση στις αναλογίες κορεσμένων/πολυακόρεστων λιπαρών οξέων (Albi et al., 1997a; Allouche et al., 2007; Caronio et al., 2003; Mahmoud et al., 2009). Οι ολικές πολικές ενώσεις (TPC) αυξήθηκαν με το χρόνο θέρμανσης, ιδιαίτερα τα ολιγοπολυμερή (Caronio et al., 2002). Επίσης, οι Albi et al. (1997a) μετά από θέρμανση στους 200 °C για 2 ώρες μέτρησαν χαμηλότερες ποσότητες TPC σε σύγκριση με τους Caronio et al. (2003) μετά από θέρμανσης στους 230 °C για 45 λεπτά. Η θερμοκρασία θέρμανσης φαίνεται να είναι καθοριστικός παράγοντας στο σχηματισμό του TPC. Παρουσία τροφής, που υποβλήθηκε σε επεξεργασία στους 180 °C για 1 ώρα, αναφέρθηκε μια μικρή αύξηση του TPC και δεν βρέθηκαν εμφανείς διαφορές μεταξύ EVOO, OO ή ROO (Silva et al., 2010a).

### **3.3. Θερμική επεξεργασία σε μικροκύματα**

Ενδιαφέρον παρουσιάζουν οι μεταβολές κατά τη θερμική επεξεργασία μέσω μικροκυμάτων. Έχουν διεξαχθεί πολλές έρευνες σχετικά με την επίδραση της θέρμανσης των μικροκυμάτων στη θερμο-οξειδωτική σταθερότητα των λιπών που υπόκεινται σε διάφορους χρόνους θέρμανσης και σε διαφορετική ισχύ μικροκυμάτων ενώ, αρκετοί ερευνητές έχουν μελετήσει και συγκρίνει τη θερμική επεξεργασία μέσω συμβατικής θέρμανσης και μέσω μικροκυμάτων. Στη βιβλιογραφία βρέθηκαν μόνο μελέτες προσομοίωσης, μερικές από τις οποίες παρουσιάζονται στον Πίνακα 12. Στις μελέτες αυτές το ελαιόλαδο θερμαίνεται ως έχει, συνήθως έως και 15 λεπτά, και χρησιμοποιώντας οικιακές συσκευές (συχνότητες 2450 MHz) σε

διαφορετική ισχύ, από 500 W-1100 W. Υπό θέρμανση μικροκυμάτων, οι θερμοκρασίες που επιτυγχάνονται δεν είναι ελεγχόμενες και οι περισσότεροι συγγραφείς δεν μπόρεσαν να παρέχουν ακριβή δεδομένα για τις θερμοκρασίες που επιτεύχθηκαν. Ωστόσο μερικοί ερευνητές μέτρησαν την θερμοκρασία μετά τη θέρμανση η οποία κυμαινόταν δραστικά (200-313 °C) ανάλογα το χρόνο θέρμανσης και τα Watt της συσκευής (Santos et al., 2013; Kalogeropoulos & Chiou, 2017).

Πίνακας 12: Βιβλιογραφική ανασκόπηση μελετών θέρμανσης ελαιολάδου μέσω μικροκυμάτων.

Τύπος ελαίου	Τρόφιμα	Συνθήκες θέρμανσης		Μετρήσεις	Αναφορές
		Ένταση (W)	Χρόνος (min)		
VOO vs OO vs άλλα	-	500 W	120 min	Ποιοτική υποβάθμιση*	(Albi et al., 1997)
EVOO	-	750 W	10 min	Ποιοτική υποβάθμιση*	(Cossignani et al., 1998)
VOO	-	500 W	5–10 min	Πολυφαινόλες	(Brenes et al., 2002)
OO	-	1100 W	12 και 15 min	Πολικές ενώσεις	(Caponio et al., 2002)
VOO vs άλλα	-	1100 W	15 min	Σύσταση λιπαρών οξέων	(Caponio et al., 2003)
EVOO vs OO vs PO	-	750 W	1,5–15 min	Οξειδωτική σταθερότητα και φαινολικές ενώσεις	(Cerretani et al., 2009)
EVOO vs ROO	-	500 W	3–30 min	Οξειδωτική σταθερότητα	(Mahmoud et al., 2009)
EVOO vs VOO	-	1000 W	1 -15 min	Ποιοτικοί παράγοντες	(Malheiro et al., 2009)
VOO	-	800 W	2- 15 min	Βιοδραστικές ενώσεις	(Oueslati et al., 2020).

\*Η ποιοτική υποβάθμιση μετράτε συνήθως με: ελεύθερα λιπαρά οξέα, αριθμός υπεροξειδίων, p-Ανισιδίνη, συντελεστές απόσβεσης, σύνθεση λιπαρών οξέων, πολικές ενώσεις, φαινολικές ενώσεις  
EVOO - έξτρα παρθένο ελαιόλαδο, OO – ελαιόλαδο, PO – πυρηνέλαιο, ROO - εξευγενισμένο ελαιόλαδο, VOO - παρθένο ελαιόλαδο.

Η οξείδωση του ελαιολάδου αξιολογήθηκε από όλους τους συγγραφείς, μετρώντας τον αριθμού υπεροξειδίων, την τιμή p-ανισιδίνης και τους συντελεστές απόσβεσης  $K_{232}$ ,  $K_{270}$ . Οι Cossignani et al.(1998) και Caponio et al. (2003), ανέφεραν σημαντικές αυξήσεις στον PV με τη θέρμανση μικροκυμάτων, ισοδύναμες με αυτές που παρατηρήθηκαν με τη συμβατική θέρμανση (230 °C). Όσον αφορά τον αριθμό υπεροξειδίου PV, οι Albi et al. (1997b) βρήκαν μια μικρή αύξηση στα VOO και OO, ενώ οι Mahmoud et al. (2009) μέτρησαν υψηλότερη αύξηση στο EVOO σε σύγκριση με το ROO. Οι Malheiro et al. (2009) μέτρησαν μικρή αύξηση στη τιμή υπεροξειδίων στα EVOO και VOO για 10 λεπτά (1000 W), ενώ για 15 λεπτά η τιμή υπεροξειδίων αυξήθηκε στο VOO πάνω από τα 20 meq/kg. Επίσης, σύμφωνα με τους Tan et al. (2001) και τους Cerretani et al. (2009), ο σχηματισμός υδροϋπεροξειδίων είναι υψηλότερος σε

χαμηλή ισχύ σε σχέση με ρυθμίσεις μεσαίας και υψηλής ισχύος, αποτελέσματα. Η τιμή ρ-ανισιδίνης φαίνεται να είναι καλύτερος δείκτης της οξειδωσης των λιπαρών οξέων, καθώς μετρήθηκε γενικευμένη αύξηση για όλες τις κατηγορίες ελαιολάδου (Cerretani et al., 2009). Οι  $K_{232}$  και  $K_{270}$  διατηρούνται σταθερές κατά τα πρώτα 5-10 λεπτά, ενώ μετά παρατηρείται σημαντική αύξηση (Mahmoud et al., 2009; Malheiro et al., 2009). Για τυπικούς χρόνους μαγειρέματος, δεν διαπιστώθηκαν διαφορές στις τιμές  $K_{232}$  και  $K_{270}$  μεταξύ της θέρμανσης με φούρνο μικροκυμάτων και της συμβατικής θέρμανση (Caronio et al., 2003). Για αυξημένους χρόνους επεξεργασίας, αναφέρθηκαν υψηλότερες τιμές για τη θέρμανση μικροκυμάτων (Albi et al., 1997a). Ωστόσο, σε σύγκριση με άλλα φυτικά έλαια, το ελαιόλαδο παρουσιάζει χαμηλότερες τιμές  $K_{232}$  και  $K_{270}$  (Caronio et al., 2003).

Όσον αφορά τη σύσταση λιπαρών οξέων, διαπιστώθηκε μείωση των ακόρεστων κλασμάτων (MUFA και PUFA) και μια φαινομενική αύξηση της περιεκτικότητας σε *trans* λιπαρά οξέα. Αυτές οι τιμές, ωστόσο, ήταν παρόμοιες με αυτές που παρατηρήθηκαν για τη συμβατική θέρμανση και χαμηλότερες για το ελαιόλαδο σε σχέση με έλαια χαμηλότερης ποιότητας (Santos et al., 2013).

Κατά τη θέρμανση ελαίου με μικροκύματα η υδρόλυση συνήθως μειώνεται, όπως αναφέρεται από τους Albi et al. (1997). Οι Malheiro et al. (2009) παρατήρησαν μικρές αυξήσεις FFA για 15 λεπτά θέρμανσης (1000 W) σε δύο EVOO και ένα VOO. Οι Cerretani et al. (2009) συνέκριναν τα EVOO, OO και πυρηνέλαιο και παρατήρησαν ότι η περιεκτικότητα σε FFA ήταν αρκετά σταθερή μέχρι πρώτα 10 λεπτά (720 W), αυξάνοντας σημαντικά στη συνέχεια, ιδιαίτερα για το EVOO. Όσον αφορά το EVOO, φαίνεται πως η αυξημένη περιεκτικότητα σε υγρασία, λόγω της απουσίας ραφινάρισματος, προωθεί την υδρόλυση TAG σε θερμοκρασίες υψηλότερες από 300 °C, καθώς αυτό είναι εκτός της συνηθισμένης περιοχής μαγειρέματος.

Οι Brenes et al. (2002), χρησιμοποιώντας EVOO και μόνο 10 λεπτά θέρμανσης στα 500 W, βρήκαν χαμηλότερη αύξηση ολικών πολικών ενώσεων (TPC) σε σχέση με έρευνες σε υψηλότερη ισχύ, που υποδηλώνει ότι η ισχύς επηρεάζει περισσότερο την υποβάθμιση TAG παρά ο χρόνος θέρμανσης.



Όσον αφορά τις φαινολικές ενώσεις, παρατηρήθηκαν μικρές απώλειες για μικρά χρονικά διαστήματα ενώ για παρατεταμένη θέρμανση στο εξαιρετικά παρθένο ελαιόλαδο παρατηρείται μεγαλύτερη αποικοδόμηση των φαινολών (Santos et al., 2013).

Ως εκ τούτου, οι επιδράσεις των μικροκυμάτων σε σχέση με τη συμβατική θέρμανση στα συστατικά του ελαίου αναμένεται να είναι εντελώς διαφορετική (Caronio et al., 2003; Santos et al., 2013; Oueslati et al., 2020). Όλες αυτές οι μελέτες πραγματοποιήθηκαν υπό συνθήκες προσομοιωμένου μαγειρέματος, χωρίς την παρουσία τροφίμου. Επομένως, ανάλογα με την υγρασία των τροφίμων, πιθανώς αναμένεται αύξηση του βαθμού υδρόλυσης. Απαιτείται περαιτέρω μελέτη σε πραγματικές συνθήκες επεξεργασίας για σωστά συμπεράσματα.

#### **3.4. Μεταβολές κατά τη θερμική επεξεργασία**

Η υποβάθμιση του ελαιολάδου υπό θερμική επεξεργασία είναι ένα περίπλοκο ζήτημα, λόγω της τεράστιας ποσότητας διαφορετικών ενώσεων στη σύνθεσή του. Αυτό το πρόβλημα έχει αξιολογηθεί δοκιμαστικά σε ποικίλες δημοσιευμένες μελέτες, χρησιμοποιώντας ένα πλήθος αναλυτικών μεθόδων, μερικές μειωμένης ειδικότητας και εκτός από πραγματικές οικιακές συνθήκες μαγειρέματος που σχετίζονται με το χρόνο, τη θερμοκρασία και την παρουσία φαγητού. Επομένως, για βιώσιμα συμπεράσματα, απαιτούνται αξιόπιστα μεθοδολογικά πρωτόκολλα και μέθοδοι δοκιμών για την αντιμετώπιση του πραγματικού φαινομένου μαγειρέματος στη σύνθεση του ελαιολάδου και συνεπώς των πιθανών βιοδιαθεσιμότητας και επιπτώσεων στην υγεία. Μετά από λεπτομερή μελέτη του παρθένου και εξαιρετικά ελαιολάδου κατά τη θερμική επεξεργασία σε διαφορετικές θερμοκρασίες και χρόνους λαμβάνονται τα παρακάτω γενικά συμπεράσματα:

Μετά από θερμική επεξεργασία, αναμένεται αλλαγή της σύστασης του ελαιόλαδου. Οι πιο συχνές αντιδράσεις υποβάθμισης περιλαμβάνουν, μεταξύ άλλων, υδρόλυση και πολυμερισμό τριγλυκεριδίων (TAG), οξείδωση λιπαρών οξέων και στερολών και απώλεια των φαινολικών ενώσεων (Warner, 2002). Συγκεκριμένα η αποικοδόμηση των φαινολικών ενώσεων φαίνεται να επηρεάζει τη σταθερότητα του ελαίου στην οξείδωση (Maggio et al., 2011). Η προοδευτική οξείδωση λιπιδίων προκαλεί αποσύνθεση των υδρουπεροξειδίων (πρωτογενή προϊόντα οξείδωσης) αποδίδοντας πολλαπλά δευτερεύοντα προϊόντα που χαρακτηρίζονται από

διαφορετικό μοριακό βάρος (MW), σε σχέση με τα αρχικά τριγλυκερίδια, και περιλαμβάνουν πτητικές ενώσεις (χαμηλότερο MW), οξειδωμένα τριγλυκερίδια (μέσο MW) και πολυμερή τριακυλογλυκερολών (υψηλότερο MW) (Procida et al., 2009).

Οι παραπάνω αντιδράσεις είναι συχνές σε όλα τα φυτικά έλαια, στο καθένα με συγκεκριμένους ρυθμούς, και χρησιμοποιούνται γενικά για την πρόβλεψη της αποικοδόμησης του λίπους (Warner, 2002). Ως εκ τούτου, οι πιο συνηθισμένες παράμετροι κατά τη δοκιμή θερμικής συμπεριφοράς των φυτικών ελαίων περιλαμβάνουν φυσικές μετρήσεις (χρώμα και πυκνότητα), καθώς και διάφορους χημικούς δείκτες όπως FFA, βαθμός πολυμερισμού, αναλογία κορεσμένων/ακόρεστων λιπαρών οξέων, αποδόμηση τοκοφερόλης και φαινολικών ενώσεων.

Εκτός από την απώλεια ευεργετικών ουσιών κατά τη διάρκεια της θερμικής επεξεργασίας, υπάρχει μεγάλη ανησυχία σχετικά με το σχηματισμό νέων ενώσεων συμπεριλαμβανομένων των οξειδωμένων λιπαρών οξέων και στερολών ή πολυμερών TAG, με πιθανή επίδρασή τους στην ανθρώπινη υγεία (Santos et al., 2013; Oueslati et al., 2020). Καθώς αυτές οι ενώσεις γίνονται μέρος της διατροφής αφού μπορούν να ληφθούν απευθείας από το αποικοδομημένο έλαιο. Έτσι, απαιτείται περαιτέρω έρευνα για το σχηματισμό τους και την οριοθέτηση οριακών τιμών για τη θερμική επεξεργασία.

Οι παράμετροι που αποδεδειγμένα επηρεάζουν την έκταση της οξείδωσης και τον ρυθμό και το βαθμό υποβάθμισης του ελαιολάδου κατά τη διάρκεια της θέρμανσης είναι η σύσταση του ελαίου, ο χρόνος, η θερμοκρασία και ο τύπος της θέρμανσης και στην περίπτωση που κάποια τρόφιμα έρχονται σε επαφή με το λάδι, η αναλογία μεταξύ τροφίμου:ελαίου (Maggio et al., 2011; Nissiotis & Tasioula-Margari, 2002). Συγκεκριμένα, η θερμοκρασία που επιτυγχάνεται κατά το μαγείρεμα είναι καθοριστικός παράγοντας για τα περισσότερα φυτικά έλαια και ειδικότερα για το παρθένο και εξαιρετικά παρθένο ελαιόλαδο. Υπό κανονικές συνθήκες μαγειρέματος, με θερμοκρασίες έως 180-190 °C δηλαδή οι συνηθισμένες θερμοκρασίες του τηγανίσματος και του ψησίματος, η απόδοση του ελαιολάδου είναι συγκρίσιμη ή καλύτερη από άλλα φυτικά έλαια. Ωστόσο, υπό θέρμανση με μικροκύματα, οι θερμοκρασίες είναι ανεξέλεγκτες και, με βάση τα δημοσιευμένα αποτελέσματα, όλα τα φυτικά έλαια υποβαθμίζονται πιο γρήγορα (Kalogeropoulos & Chiou, 2017; Santos et al., 2013).

### 3.5. Επιπτώσεις της θέρμανσης ελαιολάδου στα τρόφιμα

Παρόλο που οι περισσότερες έρευνες πραγματοποιούνται υπό προσομοιωμένες συνθήκες μαγειρέματος, δηλαδή το ελαιόλαδο θερμαίνεται απουσία τροφίμου, έχουν διενεργηθεί και αρκετές έρευνες σε πραγματικές συνθήκες. Η πλειοψηφία των ερευνών μελετούν το μαγείρεμα πατατών, κατεψυγμένων τροφίμων, λαχανικών καθώς και σε ελάχιστες περιπτώσεις του κρέατος και ψαριού. Στόχος είναι η μελέτη της επίδρασης του τροφίμου στο μαγείρεμα καθώς και η μελέτη κύριων φυσικοχημικών χαρακτηριστικών του τροφίμου μετά το μαγείρεμα (π.χ. αντιοξειδωτική ικανότητα, φαινολική σύσταση).

Κατά τη διάρκεια του τηγανίσματος, οι αλληλεπιδράσεις μεταξύ τροφίμων και ελαίου έχουν ως αποτέλεσμα πολλές φυσικές και χημικές τροποποιήσεις τόσο στο έλαιο όσο και στο τρόφιμο, μεταξύ των οποίων κυριαρχούν οι φυσικές αλλαγές. Οι κυριότερες αλλαγές περιλαμβάνουν την απώλεια υγρασίας, εμφάνιση σκούρου χρώματος, σχηματισμός κρούστας, ανάπτυξη γεύσης και αρώματος, την απορρόφηση ελαίου από τα τρόφιμα και τη μεταφορά των λιπιδίων του τροφίμου προς το έλαιο. Αυτές οι φυσικές αλλαγές συμβάλλουν σημαντικά στην υφή και την οσμή των τηγανισμένων τροφίμων. Ταυτόχρονα, η μετουσίωση των πρωτεϊνών και η ζελατινοποίηση του αμύλου που προκύπτει από τη θερμική επεξεργασία προκαλούν αλλαγές στη μικροδομή των τροφίμων και επηρεάζουν την πεπτικότητα των μακροθρεπτικών συστατικών. Από την άλλη, οι χημικές αντιδράσεις μεταξύ των κύριων συστατικών των τροφίμων και των ενώσεων οξειδωσης των πρωτεϊνών ή των αμινοξέων οδηγούν στο σχηματισμό ενώσεων που είναι κυρίως υπεύθυνες για το χρώμα και τη γεύση των τηγανισμένων προϊόντων. Οι ανεπιθύμητες γεύσεις στα τηγανητά τρόφιμα προέρχονται εν μέρει από την αποσύνθεση του ελαίου κατά το τηγάνισμα.

Η απορρόφηση ελαίου από τηγανητά τρόφιμα επηρεάζεται από διάφορους φυσικούς χημικούς παράγοντες καθώς και από τον τρόπο μαγειρέματος. Η ποιότητα του ελαίου, η θερμοκρασία και η διάρκεια του μαγειρέματος, η αρχική υγρασία και η περιεκτικότητα λιπαρών των τροφίμων και η επιφάνεια του τροφίμου είναι μεταξύ των βασικών παραγόντων που επηρεάζουν την απορρόφηση ελαίου. Συνήθως, κατά το τηγάνισμα η περιεκτικότητα σε έλαιο του τελικού τροφίμου κυμαίνεται από 13%-35%. Στην περίπτωση του τηγανίσματος άπαχων τροφίμων, όπως τα λαχανικά, αυτά απορροφούν το έλαιο με αποτέλεσμα να

μεταβάλλεται η λιπιδική σύνθεση του λαχανικού. Ενώ στην περίπτωση τηγανίσματος λιπαρών τροφών, όπως λιπαρά ψάρια ή λιπαρά κρέατα, η διαδικασία είναι πιο περίπλοκη. Σε αυτήν την περίπτωση, το λίπος περνά από το φαγητό στο έλαιο και το αντίστροφο, και οι αλλαγές στην ποσότητα και την ποιότητα του λίπους στο τελικό προϊόν δεν είναι εκτεταμένες. Στην περίπτωση τηγανίσματος άπαχου ψαριού ή κρέατος παρατηρείται μια ενδιάμεση κατάσταση σε σχέση με τις δύο προηγούμενες (Kalogeropoulos & Chiou, 2017).

Οι Ramirez-Anaya et al. (2015) μελέτησαν τη συμπεριφορά των φαινολικών ενώσεων σε διαφορετικά λαχανικά (πατάτες, μελιτζάνες, ντομάτα, κολοκύθες) και με διαφορετικές μεθόδους μαγειρέματος (βαθύ τηγάνισμα, ρηχό τηγάνισμα, βράσιμο water/oil και oil/water) με εξαιρετικά παρθένο ελαιόλαδο. Κάθε μαγειρεμένο λαχανικό ανέπτυξε ένα ειδικό προφίλ φαινολών, υγρασίας, λίπους, ξηράς ύλης και αντιοξειδωτικής δράσης που καθορίζεται από τα αρχικά χαρακτηριστικά του ωμού λαχανικού και την τεχνική μαγειρέματος.

Σε σύγκριση με τα ωμά λαχανικά, σημειώθηκαν αυξήσεις στο ολικό φαινολικό περιεχόμενο στα βαθύ τηγάνισμα και στα τέσσερα τηγανητά λαχανικά, στη σοταρισμένη κολοκύθα και στη βραστή μελιτζάνα. Αντίθετα, το ολικό φαινολικό περιεχόμενο μειώθηκε τόσο στην πατάτα όσο και στην κολοκύθα και στη ντομάτα με το βρασμό και στο σοτάρισμα πατάτας. Έτσι κατέληξαν στο συμπέρασμα πως οι υδροθερμικές διεργασίες έχουν δραστική επίδραση στο περιεχόμενο των υδατοδιαλυτών αντιοξειδωτικών, όπως οι φαινόλες, αλλά, αντιθέτως, στο βαθύ ή το επιφανειακό τηγάνισμα όπου το EVOO χρησιμοποιείται ως μέσο μεταφοράς θερμότητας, οι συγκεντρώσεις των φαινολικών ενώσεων στη μήτρα λαχανικών επηρεάζονται λιγότερο καθώς αυτές οι διεργασίες φαίνεται πως διατηρούν και εμπλουτίζουν τη φαινολική σύσταση.

Η αύξηση της συγκέντρωσης των φαινολικών ενώσεων που παρατηρείται στα λαχανικά που έχουν υποστεί επεξεργασία με EVOO είναι το αποτέλεσμα της ταυτόχρονης δράσης πολλών μηχανισμών. Μερικοί συγγραφείς έχουν αποδώσει τη μεταφορά των φαινολών στο τρόφιμο στην απορρόφηση του EVOO, μετά από μερική εξάτμιση της υγρασίας, καθώς είναι γνωστό ότι το τηγάνισμα είναι μια διαδικασία αφυδάτωσης κατά την οποία το νερό στα επιφανειακά στρώματα εξατμίζεται και το έλαιο εισέρχεται στους πόρους του τροφίμου. Ακόμα, έχει αποδειχθεί ότι υπάρχει αύξηση της διαθεσιμότητας των φαινολών που συνδέεται με τη μικροδομή των επεξεργασμένων λαχανικών σε σύγκριση με τα ωμά, είτε λόγω της θραύσης ή

της λύσης των κυτταρικών τοιχωμάτων και άλλων συστατικών των φυτικών κυττάρων είτε λόγω αποσύνθεσης των φαινολικών ενώσεων που συνδέονται με την κυτταρίνη και την πηκτίνη.

Όσον αφορά την αντιοξειδωτική ικανότητα των λαχανικών, όλες οι οικιακές τεχνικές επεξεργασίας αύξησαν την αντιοξειδωτική ικανότητα των τεσσάρων λαχανικών εκτός από το βραστό όπου παρατηρήθηκε πτώση είτε μη σημαντική αλλαγή. Έτσι, οι τεχνικές μαγειρέματος μπορούν να ταξινομηθούν με φθίνουσα σειρά με βάση την αντιοξειδωτική ικανότητα των λαχανικών ως εξής: τηγάνισμα> σοτάρισμα> βρασμός> ωμά (Ramirez-Anaya et al., 2015).

### **3.6. Πλεονεκτήματα χρήσης παρθένου ελαιολάδου κατά τη θερμική επεξεργασία**

Κάθε φυτικό έλαιο χαρακτηρίζεται από διαφορετική σταθερότητα έναντι της οξείδωσης, ανάλογα με τη σύνθεση λιπαρών οξέων, ιδιαίτερα τον βαθμό κορεσμού και τη σύνθεση των δευτερευόντων ενώσεων (Casal et al., 2010).

Τα παρθένα ελαιόλαδα είναι γενικά σταθερά στην οξείδωση λόγω του υψηλού προφίλ μονοακόρεστων λιπαρών οξέων (MUFA) και πιο συγκεκριμένα της υψηλής περιεκτικότητας σε ελαϊκό οξύ και της υψηλής ποσότητας βιοδραστικών συστατικών. Συγκεκριμένα, η ανάλυση των βασικών συστατικών επιβεβαιώνει ότι οι φαινόλες, ο λόγος ελαϊκού/λινολεϊκού οξέος και η τοκοφερόλη έχουν τη μέγιστη συσχέτιση με την οξειδωτική σταθερότητα (Bendini et al., 2007). Οι Aparicio et al. (1999) μέτρησαν μέσω της μεθόδου Rancimat την επίδραση διαφόρων ενώσεων στη σταθερότητα του παρθένου ελαιολάδου και παρουσίασαν την ποσοστιαία συμβολή κάθε χημικής μεταβλητής στη σταθερότητα. Η συμβολή των φαινολικών και ορθοδιφαινολικών ενώσεων στην σταθερότητα του VOO ήταν περίπου 51% και συγκεκριμένα το 30% αφορούσε τις φαινόλες και το 21% τις ο-διφαινόλες, η σύσταση των λιπαρών οξέων συνέβαλε σε ποσοστό 24%, και σε λιγότερο ποσοστό η α-τοκοφερόλη, τα καροτενοειδή και η χλωροφύλλη (Aparicio et al., 1999). Μερικές από τις κυριότερες φαινολικές ενώσεις που συμβάλλουν στην σταθερότητα είναι η υδροξυτυροσόλη, η ελαιοευρωπαϊνή (Oleuropein), τα σεκοϊριδοειδή, οι λιγνάνες, η υδροξυτυροσόλη (3,4-DHPEA), η τυροσόλη (p-HPEA) (Cinquanta et al., 2001; Maggio et al., 2011).

Οι φαινολικές ενώσεις συμβάλλουν στη σταθερότητα δίνοντας ένα άτομο υδρογόνου στις ελεύθερες λιπιδικές ρίζες που σχηματίζεται κατά στάδιο της διάδοσης (propagation) της οξειδωσης. Δρουν δηλαδή ως αντιοξειδωτικά παρεμποδίζοντας έτσι την οξειδωση του ελαιολάδου (Velasco & Dobarganes, 2002). Οι πολυφαινόλες κατηγοριοποιούνται σε λιπόφιλες και υδρόφιλες, ενώ οι υδρόφιλες παρέχουν μεγαλύτερη αντιοξειδωτική δράση στο ελαιόλαδο σε σχέση με τις λιπόφιλες (Bendini et al., 2007), καθώς αυτές οι ενώσεις εντοπίζονται στην επιφάνεια αέρα-λαδιού και έτσι παρέχουν πιο αποτελεσματική προστασία (Frankel, 1996; Kalogeropoulos & Tsimidou, 2014). Έτσι, σε σύγκριση με άλλα φυτικά έλαια με ισοδύναμες ποσότητες ελαϊκού οξέος, το παρθένο ελαιόλαδο παρουσιάζει καλύτερη θερμική σταθερότητα (Kalogeropoulos & Chiou, 2017).

Ενδιαφέρον παρουσιάζει το «ελαιόλαδο», ένα εμπορικό μείγμα ραφινρισμένου και παρθένου ελαιολάδου, που βιβλιογραφικά έχει αποδειχθεί πως συμπεριφέρεται παρόμοια με το παρθένο ελαιόλαδο. Αυτό τονίζει ότι, παρά την παρουσία εξευγενισμένου ελαιολάδου, εξακολουθούν να υπάρχουν οι πιο σημαντικές ενώσεις που συνεισφέρουν στην οξειδωτική του αντοχή, δηλαδή η βιταμίνη E, οι φαινόλες και το ελαϊκό οξύ (Casal et al., 2010).

Τα παρθένα ελαιόλαδα εξακολουθούν να είναι ευαίσθητα στην οξειδωση λόγω των πολυακόρεστων λιπαρών οξέων (PUFA) (5-9%) και των δευτερευόντων συστατικών, συμπεριλαμβανομένων των χλωροφυλλών, των καρροτενοειδών (> 10 mg/kg) και των μετάλλων (Fe, 0,5-3; Cu, 0,001-0,2 mg/kg), καθώς οι αλληλεπιδράσεις μεταξύ των δευτερευόντων συστατικών και ιχνοστοιχείων μπορεί να προκαλέσουν οξειδωση (Frankel, 2010; Ceci et al., 2017). Επιπλέον, φαίνεται πως η οξειδωση επιταχύνεται με την παρουσία ελεύθερων λιπαρών οξέων, ακόμα και σε πολύ χαμηλές συγκεντρώσεις. Η προοξειδωτική δράση των λιπαρών οξέων αποδίδεται στη καρβοξυλική ομάδα η οποία καταλύει τον σχηματισμό ελευθέρων ριζών και κατά συνέπεια τη διάσπαση μέρους των υπεροξειδίων που σχηματίζονται στο αρχικό στάδιο της αυτοοξειδωσης (Kalogeropoulos & Tsimidou, 2014).

Επιπλέον, οι βιοδραστικές ενώσεις του ελαιολάδου, όπως οι φαινολικές ενώσεις και οι τοκοφερόλες, χάνονται σταδιακά και σχεδόν εξαντλούνται μετά από μια σύντομη περίοδο θέρμανσης (Kalogeropoulos & Chiou, 2017). Από εκείνο το σημείο, τα περισσότερα πλεονεκτήματα του ελαιολάδου, σε σύγκριση με άλλα φυτικά έλαια, χάνονται. Έτσι,

αμφισβητείται συχνά η διατήρηση της ποιότητας του ελαιολάδου και των χαρακτηριστικών υγείας μετά τη θερμική επεξεργασία (Oueslati et al., 2020). Ωστόσο, η αναπλήρωση με φρέσκο παρθένο ελαιόλαδο πριν από κάθε παρτίδα τηγανίσματος μειώνει την αποικοδόμηση καθώς κάθε τηγάνισμα συμπληρώνεται με μια νέα ομάδα προστατευτικών ενώσεων ελαιολάδου. Έτσι, εάν κάποιος σκοπεύει να χρησιμοποιήσει το ελαιόλαδο για τα πιθανά οφέλη του για την υγεία, θα πρέπει να το χρησιμοποιήσει μόνο για περιορισμένο χρονικό διάστημα.

Εάν ο σκοπός είναι η επίτευξη μιας υψηλής σχέσης κόστους-αποτελεσματικότητας, όπως αναζητά η βιομηχανία τροφίμων, μπορούν να εφαρμοστούν δύο στρατηγικές:

- Η περιοδική ανανέωση με φρέσκο λάδι για εξισορρόπηση της αντιοξειδωτικής δεξαμενής και μείωση της υποβάθμισης του λαδιού
- Η χρήση μιγμάτων εξευγενισμένου και παρθένου ελαιολάδου που βρίσκονται στην αγορά με εμπορικό όνομα «ελαιόλαδο» (Santos et al., 2013).

## Κεφάλαιο 4: Αναλυτικές μέθοδοι που χρησιμοποιούνται για τη μελέτη της ποιοτικής υποβάθμισης των ελαιολάδων

Σήμερα το παρθένο και το εξαιρετικά παρθένο ελαιόλαδο (VOO και EVOO) αποτελούν τρόφιμα στα οποία πραγματοποιούνται μεγάλο αριθμό αναλυτικών δοκιμών που έχουν σχεδιαστεί για να διασφαλίσουν την ποιότητα και την αυθεντικότητα τους. Στον Πίνακα 13 παρουσιάζονται συνοπτικά οι αναλυτικές τεχνικές που χρησιμοποιούνται κατά πλειοψηφία στη βιβλιογραφία.

### 4.1. Ογκομετρικές μέθοδοι

Η ογκομέτρηση χρησιμοποιείται ως μέθοδος προσδιορισμού της οξύτητας και του αριθμού υπεροξειδίων.

Η οξύτητα υπολογίζεται με μέτρηση των ελεύθερων λιπαρών οξέων (FFA), ογκομετρικά σύμφωνα με τη νομοθεσία, και η μέθοδος ανάλυσης περιγράφεται στο παράρτημα II<sup>3</sup>, του (ΕΟΚ) αριθ. 2568/91. Συνοπτικά, το δείγμα διαλύεται σε μείγμα διαλυτών και τα περιεχόμενα ελεύθερα λιπαρά οξέα ογκομετρούνται χρησιμοποιώντας διάλυμα υδροξειδίου του καλίου ή νατρίου σε αιθανόλη.

Στο Παράρτημα III του κανονισμού περιγράφεται η μέθοδος προσδιορισμού του αριθμού υπεροξειδίων. Το δείγμα κατεργάζεται με διάλυμα οξικού οξέος και χλωροφορμίου και στη συνέχεια με διάλυμα ιωδιούχου καλίου. Έπειτα ακολουθεί τιτλοδότηση του ιωδίου που ελευθερώθηκε με πρότυπο διάλυμα θειοθειικού νατρίου. Ο αριθμός υπεροξειδίων εκφράζει την ποσότητα των υπεροξειδίων στο δείγμα, εκφραζόμενη σε χιλιοστοϊσοδύναμα ενεργού οξυγόνου ανά χιλιόγραμμο ελαίου (meq O<sub>2</sub>/kg ελαίου), που οξειδώνουν το ιωδιούχο κάλιο.

Ωστόσο αξίζει να σημειωθεί πως οι παραπάνω μέθοδοι απαιτούν υψηλή χρήση αντιδραστηρίων, μεγάλη ποσότητα δείγματος (5-10 g) και είναι χρονοβόρες. Επιπλέον χρησιμοποιούνται αντιδραστήρια που απαιτούν μεγάλη προσοχή, όπως ο εξαιρετικά εύφλεκτος διαιθυλαιθέρας που ο χειρισμός του γίνεται από εξειδικευμένο ανθρώπινο δυναμικό. Έτσι, κρίνεται αναγκαία η ανάπτυξη καινοτόμων ενόργανων τεχνικών με λιγότερη σπατάλη και ρίσκο.

---

<sup>3</sup> Την χρονική περίοδο που γράφτηκε η εργασία, βρίσκεται σε ισχύ ο εκτελεστικός κανονισμός (ΕΕ) 2015/1833 της Επιτροπής, της 12ης Οκτωβρίου 2015, για την τροποποίηση του κανονισμού (ΕΟΚ) αριθ. 2568/91



Πίνακας 13: Μέθοδοι ανάλυσης ποιοτικών παραγόντων ελαιολάδου

Παράμετρος	Αρχή μεθόδου/ων	Επίσημες μέθοδοι
<b>Οξύτητα (ελεύθερα λιπαρά οξέα FFA)</b>	Ογκομετρικός προσδιορισμών των ελεύθερων λιπαρών οξέων χρησιμοποιώντας διάλυμα υδροξειδίου του καλίου/ νατρίου.	EC Reg. No. 2568/9 (παρ.II), AOCS Official Method Cd 3d-63 IOC COI/T.20/Doc. No 34 IUPAC Standard 2.201
<b>Αριθμός υπεροξειδίων (PV)</b>	–Ο αριθμός υπεροξειδίων εκφραζόμενος σε mEq O <sub>2</sub> /kg προσδιορίζεται ογκομετρικά μέσω οξειδωσης του ιωδιούχου καλίου υπό τις συνθήκες της δοκιμής. –Uv-vis φασματοφωτομετρική μέθοδος με βάση την οξείδωση Fe (II)	EC Reg. No. 2568/9 (παρ. III) AOCS Official Method Cd 8b-90 IOC COI/T.20/Doc. No 34 IUPAC Standard 2.501
<b>Τιμή p-ανισιδίνης (p-Av)</b>	Φασματοφωτομετρικά: Αυτή η μέθοδος καθορίζει την ποσότητα των αλδευδών με αντίδραση τους με το αντιδραστήριο p-ανισιδίνης σε διάλυμα οξικού οξέος, και μέτρηση της απορρόφησης στα 350 nm.	AOCS Official Method Cd 18-90 IUPAC Standard 2.504
<b>Ειδικοί συντελεστές απόσβεσης (K<sub>232</sub> και K<sub>270</sub>)</b>	Φασματοφωτομετρικός προσδιορισμός συζευγμένων διενίων και τριενίων. Υπολογίζονται οι ειδικές αποσβέσεις σε μήκη κύματος 232 nm και 270 nm σε κυκλοεξάνιο, για συγκέντρωση 1 % w/v και με κυψελίδα των 10 mm	EC Reg. No. 2568/9 (παρ.IX) AOCS Official Method Ch 5-91 IOC COI/T.20/Doc. No 19 IUPAC Standard 2.206
<b>Ολικές φαινόλες (Total Phenols- TP)</b>	Φασματοφωτομετρικά, μετά από εκχύλιση, και προσθήκη του αντιδραστήριου Folin-Ciocalteu. Τα αποτελέσματα εκφράζονται ως ισοδύναμα γαλλικού οξέος (725 nm) ή mg/kg καφεϊκό οξύ (725-765-750 nm)	-
<b>Ολικές πολικές ενώσεις (Total Polar Compounds TPC)</b>	–Χρωματογραφία στήλης: διαχωρισμός μέσω χρωματογραφίας στήλης σε πολικές και μη πολικές ενώσεις, ακολουθούμενη από την έκλυση των μη πολικών ενώσεων. Οι πολικές ενώσεις προσδιορίζονται με υπολογισμό της διαφοράς μεταξύ του βάρους του δείγματος δοκιμής που προστίθεται στη στήλη και αυτού του μη πολικού κλάσματος που εκλύεται (Επίσημη μέθοδος). –Υγρή χρωματογραφία υψηλής απόδοσης - αποκλεισμού μεγέθους (HPLC-SEC ή HPSEC) για προσδιορισμό του των πολικών ενώσεων και ποσοτικοποίηση διαφορετικών ομάδων ενώσεων στο κλάσμα –Φασματοφωτομετρικά με απορρόφηση στα 490 nm (Xu, 2000) –διηλεκτρική σταθερά ή ηλεκτρική αγωγιμότητας με σημαντική συσχέτιση με την τιμή TPC –Rapid μέθοδοι και kit που κυκλοφορούν στην αγορά	AOCS Official Method Cd 20-91
<b>Σύσταση λιπαρών οξέων (FA composition)</b>	Προσδιορισμός των ελεύθερων και των δεσμευμένων λιπαρών οξέων μετά τη μετατροπή τους σε μεθυλεστέρες λιπαρών οξέων (FAME) με αέρια χρωματογραφία τριχοειδούς στήλης με ανιχνευτή ιονισμού φλόγας (FID)	EC Reg. No. 2568/9 (παρ. X) AOCS Official Method Ch 2-91 IOC COI/T.20/Doc. No 33 IUPAC Standard 2.301
<b>Φαινολική σύσταση</b>	HPLC με ανιχνευτή UV RP-HPLC	COI/T. 20/Doc. No 29/???
<b>Δείκτης οξειδωτικής σταθερότητας (Oxidative Stability Index- OSI)</b>	Παρακολουθήθηκε μέσω της περιόδου επαγωγής (ώρες) που καθορίζεται από όργανο μέτρησης οξειδωτικής σταθερότητας (συνήθως Rancimat)	AOCS Cd 12c-16
<b>Ολική αντιοξειδωτική ικανότητα (Total Antioxidant Activity-TAA)</b>	Φασματοφωτομετρικά με μέτρηση της μείωσης του χρώματος μετά από αντίδραση με ελεύθερη ρίζα DPPH στα 515 nm ή ABTS στα 734nm ή το σχηματισμό μπλε χρωματισμού μέσω της μεθόδου FRAP στα 593 nm	-
<b>Τοκοφερόλη</b>	HPLC	ISO 9936:2006 AOCS Official Method Ce 8-89
<b>Υδροξυτυροσόλη, τυροσόλη και παράγωγα</b>	RP-HPLC HPLC-MS	-
<b>Πτητικές ενώσεις</b>	DHS-GC-MS και SPME-GC-MS	AOCS Cg 4-94

## 4.2. Φασματοφωτομετρικές μέθοδοι

Η Φασματοφωτομετρία Υπεριώδους-Ορατού (UV-Vis) χρησιμοποιείται ευρέως στην ανάλυση VOO και EVOO λόγω της μεγάλης ευελιξίας, του εύχρηστου χειρισμού, της ικανότητας ανάλυσης πολλών δειγμάτων, της ταχύτητας και της δυνατότητας αυτοματοποίησης. Οι κυριότερες φασματοφωτομετρικές αναλύσεις του ελαιολάδου είναι:

- **Προσδιορισμός της τιμής ρ-ανισιδίνης**

Αυτή η μέθοδος χρησιμοποιείται για τον προσδιορισμό των προϊόντων δευτερογενούς οξείδωσης, επειδή καθορίζει την ποσότητα των αλδεϋδών ενός ελαίου, μέσω της αντίδρασης τους με την ρ-ανισιδίνη σε διάλυμα οξικού οξέος, και στη συνέχεια μετράται η απορρόφηση στα 350 nm (AOCS Official Method Cd 18-90).

- **Προσδιορισμός του αριθμού υπεροξειδίων**

Ο αριθμός υπεροξειδίων μπορεί να υπολογιστεί έμμεσα με χρωματομετρική μέθοδο. Τα υπεροξειδία του δείγματος οξειδώνουν τα ιόντα  $Fe^{2+}$  και τα ιόντα  $Fe^{3+}$  που προκύπτουν από την οξείδωση ομαδοποιούνται και σχηματίζουν ένα κόκκινο-καφέ σύμπλοκο. Η χρωματομετρική του ένταση, μετρούμενη στα 505 nm, είναι ευθέως ανάλογη με τη συγκέντρωση της τιμής των υπεροξειδίων στο δείγμα. Τα αποτελέσματα εκφράζονται ως  $meqO_2/Kg$  (Jiang et al., 1991).

- **Προσδιορισμός συνολικών φαινολικών ενώσεων**

Ο ποσοτικός προσδιορισμός των ολικών φαινολικών ενώσεων στο ελαιόλαδο πραγματοποιείται κυρίως με τη μέθοδο Folin-Ciocalteu, η οποία είναι ευρέως χρησιμοποιούμενη λόγω της απλότητας και την ταχύτητας της ανάλυσης. Πρόκειται για χρωματομετρική μέθοδο που βασίζεται στην αντίδραση του αντιδραστήριου Folin-Ciocalteu με τις ομάδες υδροξυλίου των φαινολικών ενώσεων. Η μέθοδος περιλαμβάνει εκχύλιση των φαινολικών ενώσεων και μέτρηση της απορρόφησης μετά την αντίδραση με το αντιδραστήριο Folin-Ciocalteu, το οποίο στην ανηγμένη μορφή του έχει μπλε χρώμα και μπορεί να μετρηθεί από 500 μέχρι 750 nm. Το μεγαλύτερο μειονέκτημα της μεθόδου είναι η μικρή εξειδίκευση, καθώς η αντίδραση μπορεί να συμβεί με οποιαδήποτε υδροξυλική φαινολική ομάδα που είναι δυνατόν να οξειδωθεί. Επιπλέον, η μέθοδος δεν κάνει διάκριση μεταξύ μεμονωμένων ενώσεων που διαφέρουν ως προς τη μοριακή μάζα (άρα δεν μπορεί να παρέχει

ποσοτικοποίηση για τις επιμέρους φαινολικές ενώσεις) και δομή (δηλαδή τον αριθμό των ενεργών ομάδων υδροξυλίου). Έτσι, δείγματα με συγκρίσιμο ολικό φαινολικό περιεχόμενο, αλλά διαφορετικό προφίλ, μπορεί να δώσουν πολύ διαφορετικό αποτέλεσμα ή και το αντίθετο. Από την άλλη, δεδομένου ότι η απορρόφηση εξαρτάται κυρίως από τον αριθμό των ομάδων υδροξυλίου, η συγκεκριμένη μέτρηση μπορεί να παρέχει άμεσες πληροφορίες σχετικά με τον αριθμό των αντιοξειδωτικών φαινολικών ομάδων και συνεπώς σχετίζεται με την οξειδωτική σταθερότητα του παρθένου ελαιολάδου (Blekas et al., 2002).

- **Προσδιορισμός αντιοξειδωτικής ικανότητας**

Η αντιοξειδωτική ικανότητα των ελαίων εκτιμάται κυρίως μέσω της ικανότητας δέσμευσης ελευθέρων ριζών. Βασίζεται στην ικανότητα αλληλεπίδρασης των αντιοξειδωτικών μορίων με την σταθερή αζωτούχα ρίζα 1,1 διφαινυλ-2-πικρυλυδραζύλιο (DPPH·). Όταν προστεθεί μια ουσία με αντιοξειδωτική δράση τότε η ρίζα (DPPH·) ανάγεται, και μετατρέπεται σε 1,1 διφαινυλ-2-πικρυλυδραζύλιο (DPPH:H). Η αναγωγή της ρίζας έχει ως αποτέλεσμα, την μεταβολή του χρώματος του διαλύματος, από μωβ σε κίτρινο, μεταβολή, που είναι ανάλογη της συγκέντρωσης της αντιοξειδωτικής ουσίας και την αντίστοιχη μείωση της απορρόφησης στα 517 nm. Ακόμα, μια αξιόπιστη, τεχνική είναι η δοκιμή δέσμευσης της κατιοντικής ρίζας του δις-αμμωνιακού άλατος του 2,2'-αζινο-δις-(3-αιθυλοβενζοθειαζολινο-6-σουλφονικού οξέος) ή ABTS. Όταν στο διάλυμα προστεθεί μια ουσία με αντιοξειδωτική δράση, τότε η ρίζα ABTS·+, ανάγεται με αποτέλεσμα τον αποχρωματισμό του διαλύματος σε βαθμό ανάλογο της συγκέντρωσης του αντιοξειδωτικού και συνέπεια την μείωση της οπτικής απορρόφησης στα 730 nm. Οι δοκιμές αυτές βρίσκουν ευρεία εφαρμογή, παρά το γεγονός ότι οι ρίζες που χρησιμοποιούνται δεν είναι πάντοτε συναφείς προς αυτές των ρεαλιστικών συνθηκών οξείδωσης και οι εφαρμοζόμενες συνθήκες δεν παρομοιάζουν πάντοτε με εκείνες που επικρατούν in vivo.

- **Προσδιορισμών δεικτών  $K_{232}$ ,  $K_{270}$**

Στο παράρτημα ΙΧ του κανονισμού (ΕΟΚ) αριθ. 2568/91 περιγράφεται η φασματοφωτομετρική εξέταση υπερϊώδους. Η απορρόφηση στα μήκη κύματος 232 και 270 nm οφείλεται στην παρουσία συζυγιακών διενίων και τριενίων. Έτσι, η ποιοτική υποβάθμιση των ελαιολάδων μπορεί να αξιολογηθεί εργαστηριακά με παρακολούθηση της τάσης των συζευγμένων διενίων

(K<sub>232</sub>) και τριενίων (K<sub>270</sub>) κατά τη διάρκεια της θερμικής επεξεργασίας και της ανάλυσης των δειγμάτων που θερμάνθηκαν για διαφορετικούς χρόνους μέσω της φασματοφωτομετρίας υπεριώδους σε μήκη κύματος 232 nm και 270 nm μετά από τις απαραίτητες αραιώσεις του δείγματος.

Η χαμηλή εκλεκτικότητα αυτής της τεχνικής της φασματοφωτομετρίας καθιστά την εφαρμογή της, χωρίς προεργασία, μια σχεδόν αδύνατη εργασία. Ωστόσο, χάρη στα πλεονεκτήματα της μεθόδου υπάρχει μεγάλο ενδιαφέρον για φασματοφωτομετρική ανάλυση στο ελαιόλαδο. Έτσι κυκλοφορούν καινοτόμα όργανα σχεδιασμένα έτσι ώστε να αναλύουν το ελαιόλαδο με ταχύτητα και ευκολία τα οποία παρουσιάζουν καλή συσχέτιση με τις πρότυπες μεθόδους, όπως:

- Το CDR FOODLAB: το οποίο χρησιμοποιώντας έτοιμα πρότυπα αντιδραστήρια μειώνει δραστικά το χρόνο επεξεργασίας του δείγματος και είναι ικανό να αναλύσει βασικούς ποιοτικούς παράγοντες (οξύτητα, υπεροξειδία, p-ανισιδίνη, φαινολικά, OSI)
- VERI-FRY®PRO quick test: για τη μέτρηση ολικών πολικών ενώσεων (TPC). Βασίζεται στη φασματοφωτομετρική απορρόφηση του δείγματος στα 490 nm ως δοκιμή για την αξιολόγηση της ποιότητας ελαίων τηγανίσματος. Τα αποτελέσματα των μετρήσεων συσχετίζονται σημαντικά με το χρόνο τηγανίσματος και τη συνολική περιεκτικότητα πολικών ενώσεων (Xu, 2000).

#### **4.3. Χρωματομετρία**

Η μέθοδος αυτή έχει ως στόχο την ανίχνευση τυχόν μεταβολής του χρώματος του ελαιολάδου, ύστερα από τη θερμική επεξεργασία ή την αποθήκευση για συγκεκριμένα χρονικά διαστήματα σε συγκεκριμένες θερμοκρασιακές συνθήκες.

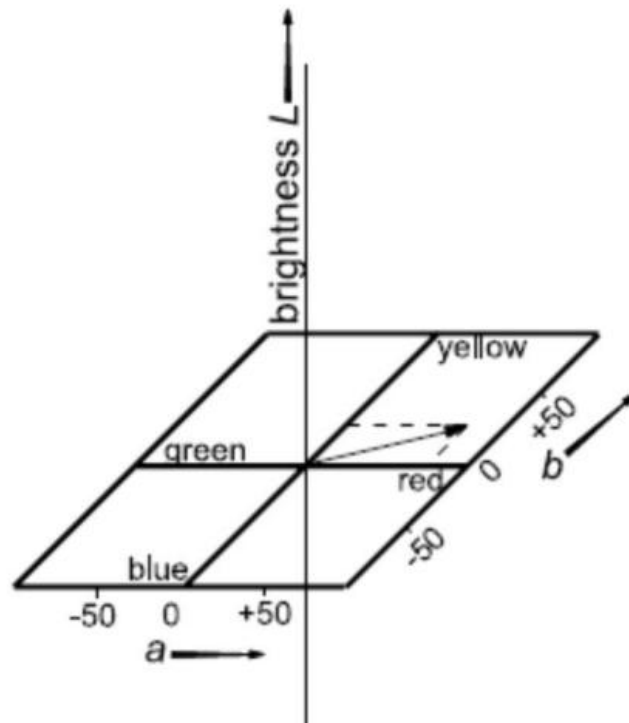
Το ελαιόλαδο έχει στη δομή του φυσικές χρωστικές, όπως χλωροφύλλη, καροτενοειδή, ξανθοφύλλη και λυκοπένιο. Κατά την αποθήκευση του ελαιολάδου σε υψηλές θερμοκρασίες, καθώς και κατά τη θερμική του επεξεργασία, όπως για παράδειγμα το μαγείρεμα, παρατηρούνται μεταβολές στο χρώμα του, λόγω της οξειδωσης της χλωροφύλλης κυρίως,

αλλά και των υπολοίπων χρωστικών. Για τον υπολογισμό της μεταβολής αυτή χρησιμοποιείται χρωματόμετρο.

Το χρωματόμετρο αποτελείται από:

1. Μία πηγή που παράγει δέσμη φωτός
2. Συνδυασμό φίλτρων που τροποποιούν την ενεργειακή διανομή του ανακλώμενου φωτός
3. Φωτοηλεκτρικό (οπτικό) ανιχνευτή που μετατρέπει το ανακλώμενο φως σε ηλεκτρικό αποτέλεσμα

Για την έκφραση των αποτελεσμάτων έχει επιλεγθεί η καταγραφή του χρώματος με την κλίμακα τριών συντεταγμένων  $L^*a^*b^*$  (σύστημα Munsell) όπου η συνιστώσα  $L^*$  αντιπροσωπεύει τη φωτεινότητα, με πολύ φωτεινό να μεταφράζεται ως  $L-100$  και το σκοτεινό ως  $L-0$ . Η συνιστώσα  $a^*$  αντιπροσωπεύει τη διαφορά μεταξύ του πράσινου ( $-a$ ) και του κόκκινου ( $+a$ ) και η συνιστώσα  $b^*$  αντιπροσωπεύει τη διαφορά μεταξύ του μπλε ( $-b$ ) και του κίτρινου ( $+b$ ). Στην Εικόνα 7 φαίνεται η μεταβολή των χρωμάτων στο σύστημα τριών συντεταγμένων  $L-a-b$ .



Εικόνα 7: Κλίμακα μεταβολής των χρωμάτων στο σύστημα Munsell (Figura & Texeira, 2007)

Η μεταβολή του χρώματος συμβολίζεται ως  $\Delta E$  και ισούται με:

$$\Delta E = \sqrt{(\Delta L)^2 + (\Delta a)^2 + (\Delta b)^2}$$

Όπου :

$\Delta L$  είναι η μεταβολή της φωτεινότητας του δείγματος σε σχέση με ένα τυφλό και ισούται με :

$$\Delta L = L_{\text{δείγματος}} - L_{\text{τυφλού}}$$

$\Delta a$  είναι η μεταβολή κόκκινου/πράσινου και ισούται με:  $\Delta a = a_{\text{δείγματος}} - a_{\text{τυφλού}}$

$\Delta b$  είναι η μεταβολή κίτρινου / μπλε και ισούται με:  $\Delta b = b_{\text{δείγματος}} - b_{\text{τυφλού}}$

#### 4.4. Υπέρυθρη φασματοσκοπία (Infrared Spectroscopy, IR)

Λόγω της σημαντικής οικονομικής αξίας του έξτρα παρθένου ελαιολάδου και της ανάγκης των συνεχών ποιοτικών αναλύσεων, η ανάπτυξη αναλυτικών τεχνικών σε αυτόν τον τομέα εξελίσσεται συνεχώς. Στόχος είναι να βρεθούν γρήγορες και έξυπνες τεχνικές προκειμένου να μειωθεί ο χρόνος ανάλυσης, η κατανάλωση αντιδραστηρίου, τα απόβλητα, ο εξοπλισμός υψηλού κόστους και το ανθρώπινο δυναμικό.

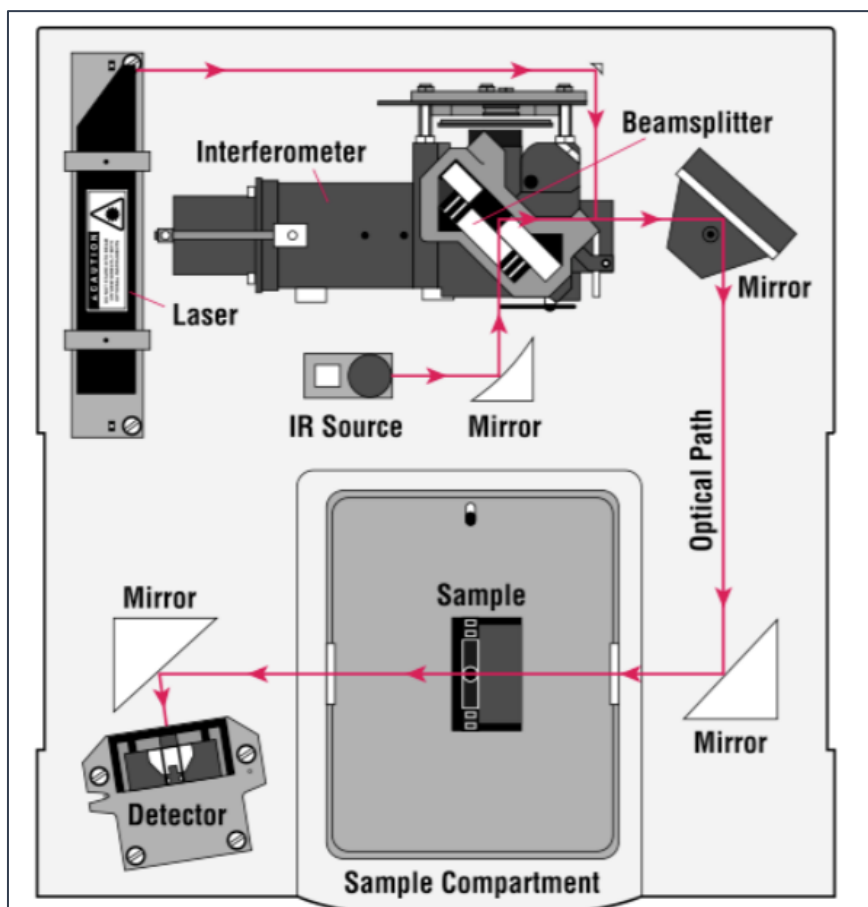
Τα τελευταία χρόνια, η φασματοσκοπία IR έχει αναδειχθεί ως πολύ ισχυρή τεχνική για τη διερεύνηση της δομής των συστατικών των τροφίμων και για την παρακολούθηση των μεταβολών στην ποιότητα τους. Μεταξύ των αναλυτικών τεχνικών, οι φασματοσκοπικές τεχνικές διαθέτουν πολλά βασικά πλεονεκτήματα όπως:

- Χαμηλό κόστος λειτουργίας
- Υψηλή ταχύτητα ανάλυσης
- Μη καταστρεπτική
- Καθόλου ή ελάχιστη προετοιμασία δείγματος πριν από την ανάλυση με αποτέλεσμα να μπορούν να χρησιμοποιηθούν σε γραμμή παραγωγής
- Υψηλή επαναληψιμότητα
- Μη τοξικά αντιδραστήρια και διαλύτες

Έτσι, το IR έχει ως αποτέλεσμα εξοικονόμηση χρόνου, κόστους και αύξηση της απόδοσης των δειγμάτων. Το κύριο μειονέκτημα της μεθόδου είναι η χρονοβόρα ανάλυση των δεδομένων και η κατασκευή μοντέλων βαθμονόμησης χρησιμοποιώντας δείγματα γνωστής σύνθεσης (Meenu et al., 2019; Maggio et al., 2011; Gomez et al., 2016).

Η φασματοσκοπία υπέρυθρου ανιχνεύει τα χαρακτηριστικά της δόνησης χημικών λειτουργικών ομάδων σε ένα δείγμα. Τα φάσματα απορρόφησης, εκπομπής και ανάκλασης των διαφόρων ουσιών οφείλονται σε μία ποικιλία ενεργειακών μεταβολών, οι οποίες είναι αποτέλεσμα μεταπτώσεων των μορίων από μία δονητική ή μία περιστροφική ενεργειακή κατάσταση σε μία άλλη. Όταν το υπέρυθρο φως αλληλοεπιδράσει με την ύλη, λόγω κινήσεων δόνησης-περιστροφής περί τους δεσμούς μεταξύ ατόμων ενώσεων, κάθε συγκεκριμένη δραστική χημική ομάδα ή δεσμός αναμένεται να απορροφήσει την υπέρυθρη ακτινοβολία σε

ένα συγκεκριμένο εύρος κυματαριθμών, ανάλογα με τη δομή του υπόλοιπου μορίου. Οι δονήσεις αυτές, που εμφανίζονται σε ένα φάσμα υπέρυθρου μπορούν να μας δώσουν την ταυτότητα των χημικών στοιχείων, που υπάρχουν στο δείγμα. Γι' αυτό το λόγο η συσχέτιση της θέσης της ταινίας του κυματαριθμού με τη χημική δομή χρησιμοποιείται για την ταυτοποίηση δραστικών ομάδων σε μόρια (Κώτσιου, 2015). Στην Εικόνα 8 φαίνεται η σχηματική απεικόνιση ενός συστήματος FTIR. Η απορρόφηση υπέρυθρης ακτινοβολίας από ένα οργανικό δείγμα σχετίζεται με τις δονήσεις των μορίων. Οι κινήσεις δόνησης οφείλονται στην ενέργεια που περιέχουν όλα τα μόρια κατανεμημένα στη δομή τους. Διακρίνονται σε δύο βασικές κατηγορίες, τις δονήσεις τάσης (stretching) και κάμψης (bending). Οι δονήσεις τάσης εκδηλώνονται σαν έκταση (επιμήκυνση) ή συστολή (επιβράχυνση) των δεσμών, ενώ οι δονήσεις κάμψης χαρακτηρίζονται από μεταβολή στη γωνία των δεσμών.



Εικόνα 8: Σχηματική απεικόνιση συστήματος FTIR (Nicolet, 2001)



Στην φασματοσκοπία IR μετράται η ένταση της προσπίπτουσας ακτινοβολίας, η οποία βρίσκεται στην περιοχή του υπέρυθρου, σε σχέση με το μήκος κύματος (κυματαριθμός) του φωτός. Βασιζόμενοι στον κυματαριθμό, μπορούμε να κατηγοριοποιήσουμε το φως υπέρυθρου σε άπω υπέρυθρο, σε μέσο υπέρυθρο, και σε εγγύς υπέρυθρο. Στον Πίνακα 14 παρέχονται τα όρια της κάθε περιοχής υπέρυθρου.

Πίνακας 14: Φασματικές περιοχές υπέρυθρου

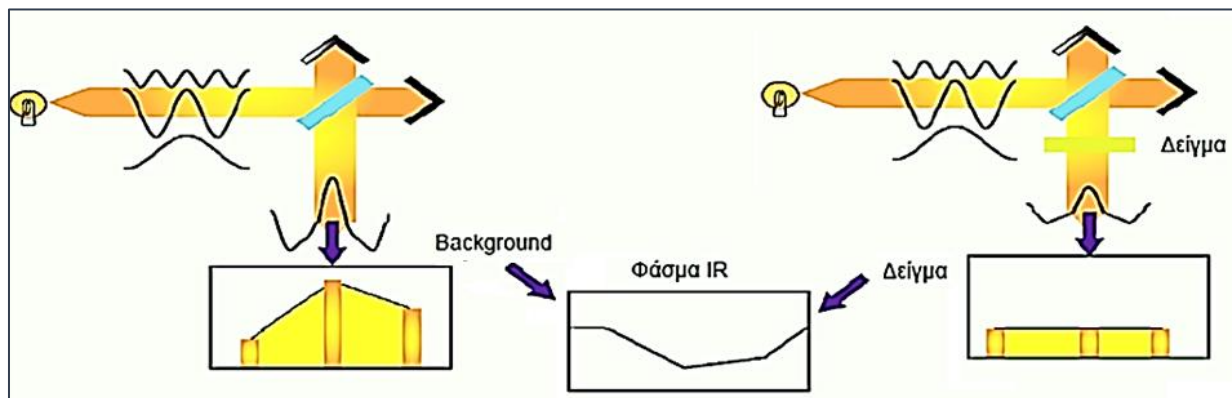
Περιοχή	Περιοχή μήκους κύματος (λ), μm	Περιοχή κυματάριθμών ( $\tilde{\nu}$ ) $\text{cm}^{-1}$	Περιοχή συχνοτήτων, Hz
Εγγύς (Near IR)	0,78-2,5	12800-4000	$3,8 \times 10^{14}$ - $1,2 \times 10^{14}$
Μέση (MIR)	2,5-5,0	4000-200	$1,2 \times 10^{14}$ - $6,0 \times 10^{12}$
Άπω (FIR)	5,0-1000	200-10	$6,0 \times 10^{12}$ - $3,0 \times 10^{11}$
Περισσότερο χρησιμοποιούμενη	2,5-1,5	4000-670	$1,2 \times 10^{14}$ - $2,0 \times 10^{13}$

Οι τεχνικές και οι εφαρμογές των μεθόδων που βασίζονται στις τρεις περιοχές του υπέρυθρου φάσματος διαφέρουν σημαντικά μεταξύ τους.

- Η φασματοσκοπία Εγγύς Υπέρυθρου (Near IR) επιτρέπει τη μελέτη των υπερτονικών (overtones) και των αρμονικών δονήσεων ή δονήσεων συνδυασμού (harmonic or combination vibrations). Στην εγγύς περιοχή τα φωτόμετρα και τα φασματόμετρα είναι παρόμοια σχεδιασμένα με αυτά του υπεριώδους ορατού και χρησιμοποιούνται για ποσοτικές αναλύσεις βιομηχανικών και αγροτικών υλικών και για έλεγχο διεργασιών παραγωγής. Το πιο σημαντικό πλεονέκτημα είναι η ικανότητά της να καθορίζει συγχρόνως διάφορα συστατικά σε ένα δείγμα τροφίμου μέσα σε σύντομο χρονικό διάστημα (Gomez et al., 2016).
- Η φασματοσκοπία mid-IR (MIR) προσδιορίζει τις τυπικές θεμελιώδεις δονήσεις που χρησιμοποιούνται για την αποσαφήνιση της μοριακής δομής του υπό εξέταση δείγματος.
- Η άπω υπέρυθρη περιοχή (FIR) παρέχει πληροφορίες για τις μοριακές περιστροφές και τις δονήσεις βαρέων ατόμων και κρυσταλλικού πλέγματος (δονήσεις υποκαταστάτη-μετάλλου). Συνήθως μελετώνται ανόργανες ουσίες επειδή οι απορροφήσεις από τις

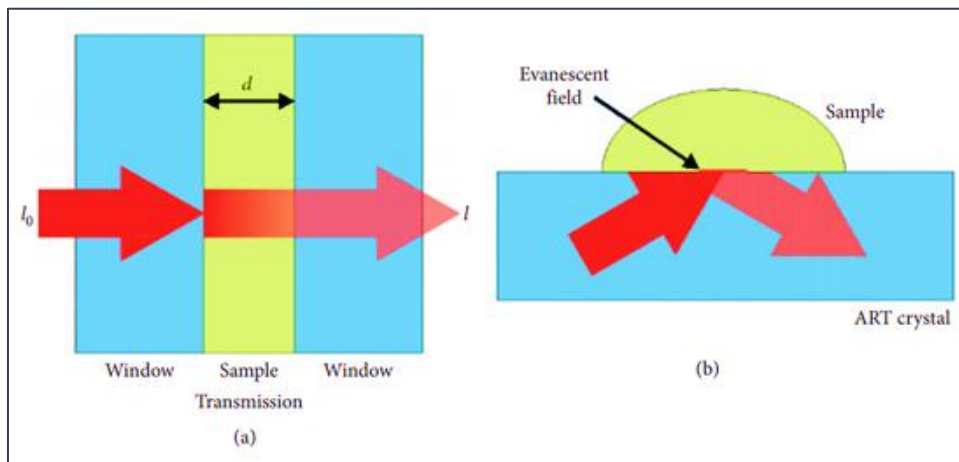
δονήσεις των δεσμών μεταξύ μετάλλων και ανόργανων ή οργανικών υποκαταστατών συμβαίνουν σε συχνότητες μικρότερες από  $650\text{ cm}^{-1}$ .

Οι περισσότερες εφαρμογές φασματοσκοπίας NIR και MIR έχουν γίνει σε συνδυασμό με μετασχηματισμό Fourier (FT), που ονομάζονται FT-NIR και FT-MIR ή FTIR, αντίστοιχα. Η ανάλυση κατά Fourier ή μετασχηματισμός Fourier είναι μια διαδικασία με την οποία αναλύεται μια πειραματικά λαμβανόμενη καμπύλη (ή μια μαθηματική συνάρτηση) σε ένα άθροισμα τριγωνομετρικών σειρών ημιτόνων και συνημίτονων, οι οποίες καλούνται σειρές Fourier. Η Φασματοσκοπία Υπερύθρου με Μετασχηματισμό Fourier (Fourier Transform IR Spectrometry, FTIR) μπορεί να μετρήσει πολλές συχνότητες ταυτόχρονα. Η μέθοδος βασίζεται στην καταγραφή του φάσματος με συμβολομετρικές μετρήσεις (interferometric measurements) από ένα όργανο που ονομάζεται ιντερφερόμετρο ή συμβολόμετρο. Τα φάσματα FTIR είναι φάσματα υψηλής ποιότητας, καθώς ο θόρυβος μειώνεται στο ελάχιστο, μέσα από επαναλαμβανόμενες σαρώσεις του φάσματος, διαδικασία κατά την οποία και οι εντάσεις των απορροφήσεων βελτιώνονται σημαντικά (Rodriguez-Saona & Allendorf, 2011). Ακόμα, προσφέρει τη δυνατότητα αφαίρεσης του ενός φάσματος από το άλλο για παράδειγμα φάσμα δείγματος και φάσμα αναφοράς – προσμίξεων (Εικόνα 9). Με τον τρόπο αυτόν καθίσταται δυνατή η ακριβής ανίχνευση ακόμη και των μικρότερων μεταβολών, που μπορεί να οφείλονται τόσο στην μεταβαλλόμενη σύσταση, όσο και στη φυσική κατάσταση του δείγματος. Έτσι, η φασματοσκοπία FTIR έχει μεγαλύτερη ακρίβεια, μεγαλύτερη ευαισθησία, υψηλότερη ενεργειακή απόδοση και ταχύτητα ανάλυσης.



Εικόνα 9: Τρόπος εξαγωγής φασμάτων FTIR

Η φασματοσκοπία FTIR σε συνδυασμό με Αποσβένουσα Ολική Ανάκλαση ATR (Attenuated Total Reflection) είναι ακόμα πιο εύκολη στη χρήση. Η υπεριώδης ακτινοβολία διαδίδεται μέσω υλικού με υψηλό δείκτη διάθλασης (συνήθως ZnSe), που ονομάζεται στοιχείο εσωτερικής ανάκλασης (Internal Reflection Element, IRE) πάνω στο οποίο τοποθετείται το δείγμα. Η ακτινοβολία υφίσταται ολική εσωτερική ανάκλαση στη γωνία  $\alpha$  σε αυτήν την επιφάνεια, έτσι ώστε το εξερχόμενο πεδίο να μπορεί να αλληλεπιδράσει με το δείγμα. Η δέσμη της υπέρυθρης ακτινοβολίας που προσπίπτει στον κρύσταλλο (συνήθως υπό γωνία  $45^\circ$ ) υφίσταται πολλαπλές ολική ανάκλαση στον κρύσταλλο. Η εσωτερική ολική ανάκλαση της ακτινοβολίας στη διεπιφάνεια μεταξύ των δύο μέσων με διαφορετικούς δείκτες διάθλασης έχει ως αποτέλεσμα τη δημιουργία ενός φθίνοντος κύματος (evanescent wave), το οποίο διεισδύει και εκτείνεται στο μέσο με τον χαμηλότερο δείκτη διάθλασης (δείγμα) και εξασθενεί (attenuates) στις περιοχές του υπέρυθρου ηλεκτρομαγνητικού φάσματος όπου το δείγμα απορροφά ενέργεια (Εικόνα 10).



Εικόνα 10: Σχηματική απεικόνιση μετάδοσης (α) και φασματοσκοπίας ATR (β) (Mahesar et al., 2019)

Στην ανάλυση τροφίμων, η προσέγγιση ATR είναι ιδιαίτερα σημαντική, καθώς δεν απαιτεί προετοιμασία δείγματος και ως εκ τούτου οι μετρήσεις μπορούν να πραγματοποιηθούν πολύ γρήγορα. Ο χρόνος μέτρησης ανά δείγμα είναι συνήθως σημαντικά κάτω από ένα λεπτό (Mahesar et al., 2019).

#### 4.4.1. Εφαρμογές φασματοσκοπίας IR στην ανάλυση ελαιολάδου

Στη βιβλιογραφία, η φασματοσκοπία FTIR έχει χρησιμοποιηθεί κυρίως σε μελέτες ταξινόμησης και ελέγχου νοθείας. Ωστόσο, αποκτά δημοτικότητα στην ποσοτική ανάλυση λόγω του γεγονότος ότι η εκπεμπόμενη ενέργεια IR είναι ανάλογη της συγκέντρωσης των ενώσεων που υπάρχουν σε ένα δείγμα (Unsu & Ozen, 2015). Έχουν διεξαχθεί μελέτες για τον έλεγχο της ταυτότητας φυτικών ελαίων, βουτύρων και μαργαρινών μέσω FT-IR με ανάλυση κύριων συνιστωσών και διακριτή ανάλυση. Αυτές οι πολυπαραγοντικές στατιστικές μέθοδοι, που εφαρμόζονται σε δεδομένα υπερύθρων, ταξινομούν τα φυτικά έλαια σύμφωνα με τα είδη των φυτών και είναι σε θέση να ανιχνεύσουν νοθεία με μεγάλο βαθμό ακρίβειας. Επιπλέον, έχει μελετηθεί και η σχέση μεταξύ της συχνότητας ορισμένων ζωνών και της σύστασης των δειγμάτων. Αυτές οι σχέσεις θα μπορούσαν να χρησιμοποιηθούν για να προβλέψουν την αναλογία των κύριων συνιστωσών των ελαίων καθώς και την παρακολούθηση διεργασιών οξείδωσης (Guillén & Cabo, 1997). Η φασματοσκοπία IR έχει χρησιμοποιηθεί επιτυχώς για τον καθορισμό ορισμένων παραμέτρων ελαίου, όπως η οξύτητα, ο αριθμός υπεροξειδίων και οξειδωτική σταθερότητα, οι φαινολικές ενώσεις και η περιεκτικότητα σε *cis-trans* λιπαρά οξέα. Στον Πίνακα 15 συνοψίζονται οι κύριες εφαρμογές της φασματοσκοπίας IR για τις βασικές αναλύσεις ποιοτικού ελέγχου των EVOO / VOO. Οι μελέτες αυτές δείχνουν ότι η φασματοσκοπία IR είναι μια πολλά υποσχόμενη, γρήγορη και οικονομικά αποδοτική προσέγγιση για την αξιολόγηση της ποιότητας του εξαιρετικά παρθένου ελαιολάδου και είναι μια εναλλακτική λύση στις χρονοβόρες συμβατικές αναλύσεις.

Αξίζει να σημειωθεί σαν μειονέκτημα πως σε πολύπλοκες μήτρες όπως τα τρόφιμα, ο προσδιορισμός μέσω φασματοσκοπίας μιας παραμέτρου η οποία σχετίζεται με ομάδα ενώσεων, και όχι με μία συγκεκριμένη ένωση, είναι περίπλοκη διαδικασία. Στις περισσότερες από αυτές τις περιπτώσεις, δεν υπάρχουν διαθέσιμα πρότυπα, τα φάσματα αποτελούνται από πολλές επικαλυπτόμενες ζώνες και καθαρά φάσματα των αναλυτών ενδιαφέροντος σπάνια είναι διαθέσιμα (Iñón et al., 2003). Έτσι, αναμένονται μελλοντικές έρευνες στις οποίες θα αναπτυχθούν μοντέλα βαθμονόμησης χρησιμοποιώντας ευρύ φάσμα δειγμάτων EVOO.

Πίνακας 15: Εφαρμογές της φασματοσκοπίας IR στην ανάλυση ελαιολάδου.

Χημική παράμετρος ποιότητας	Φασματοσκοπικές πληροφορίες	Αποτελέσματα / παρατηρήσεις	Αναφ.
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Ελεύθερα λιπαρά οξέα</li> </ul>	1775–1689 cm <sup>-1</sup> 1480–1050 cm <sup>-1</sup>	Η μέθοδος επιτρέπει σε κάποιον να αναλύσει δείγματα διαφορετικής προέλευσης και διαφορετικών κατηγοριών (έξτρα παρθένο, παρθένο και πυρηνέλαιο). Δεν παρατηρήθηκαν σημαντικές διαφορές μεταξύ των τιμών αναφοράς και των υπολογισμένων τιμών. Ωστόσο, για να επιτευχθούν καλά αποτελέσματα, απαιτείται διαχωρισμός του εύρους βαθμονόμησης σε δύο διαστήματα συγκέντρωσης FFA (0,1 έως 0,5% και 0,5 έως 2,1%)	(Bertran et al., 1999)
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Ταξινόμηση VOO υπό θερμικό στρες</li> </ul>	MIR 1245–1030 cm <sup>-1</sup> Vis–NIR 2200– 1325 cm <sup>-1</sup>	Η μέθοδος μπόρεσε να διακρίνει μεταξύ των θερμικών επεξεργασιών των ελαίων. Αυτή η προσέγγιση θα μπορούσε να είναι χρήσιμη για την παρακολούθηση της οξειδωτικής κατάστασης των ελαίων κατά το μαγείρεμα, τόσο σε βιομηχανική κλίμακα όσο και στον τομέα εστίασης.	(Maggio et al., 2011)
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Φρεσκάδα VOO</li> </ul>	FTIR/ATR 4000–550 cm <sup>-1</sup>	Αναλύθηκαν 91 δείγματα ελαίου (35 φρέσκο, 32 αποθήκευση 1 έτους, 24 αποθήκευση 2 ετών). Τα αποτελέσματα δείχνουν ότι τα αποτελέσματα της φασματοσκοπίας FTIR συμφωνούν με τις κλασικές μεθόδους. Ενώ, η FTIR PCA επιτρέπει καλύτερη διάκριση μεταξύ φρέσκων και οξειδωμένων ελαίων, σε σχέση με την PCA που εφαρμόζεται σε χημικά δεδομένα.	(Sinelli et al., 2007)
<p>On-line ποιοτικός έλεγχος και χαρακτηρισμός των VOO</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Οξύτητα</li> <li>• Ελαϊκό</li> <li>• Λινελαίου</li> </ul>	NIR 2500-750 cm <sup>-1</sup>	Η μέθοδος χρησιμοποιήθηκε για την παρακολούθηση των παραμέτρων κατά την παραγωγή και επεξεργασία παρθένου ελαιολάδου, σε πραγματικά ελαιοτριβεία και τα αποτελέσματα των δοκιμών δείχνουν ομοιότητα με τις εργαστηριακές μεθόδους αναφοράς.	(Jiménez et al., 2005)
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Οξειδωτική σταθερότητα</li> <li>• Χρωστικές</li> <li>• Σύνθεση λιπαρών οξέος</li> <li>• Φαινολική σύνθεση</li> </ul>	FT/MIR 4000-650 cm <sup>-1</sup>	Οι συντελεστές παλινδρόμησης για τα μοντέλα που αναπτύχθηκαν έδειξαν ότι η οξειδωτική σταθερότητα (0,99), η περιεκτικότητα σε χλωροφύλλη (0,98), ορισμένα κύρια λιπαρά οξέα (παλμιτικό (0,87), ελαϊκό (0,94) και λινελαϊκά οξέα (0,97), κορεσμένα (0,91), μονοακόρεστα (0,94) και πολυακόρεστα λιπαρά οξέα (0,97)), υδροξυτυροσόλη (0,97) και η συνολική φαινολική περιεκτικότητα (0,99) προβλέφθηκαν με επιτυχία.	(Uncu & Ozen, 2015)
<p>Ανίχνευση EVOO χαμηλής ποιότητας με</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Αξιολόγηση αλκυλεστέρων λιπαρών οξέων</li> </ul>	FT-MIR/ ATR 4000-700 cm <sup>-1</sup>	Η μεθοδολογία FTIR-PLS αποδείχθηκε χρήσιμη για αναλυτικές προβλέψεις των περιεχομένων FAME και FAEEs και την αναλογία μεταξύ αιθυλεστέρων και μεθυλεστέρων σε EVOO. Τα αποτελέσματα ήταν στατιστικά παρόμοια με τις επίσημες διαδικασίες.	(Valli et al., 2013)
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Περιεκτικότητα λίπους σε ελιές,</li> <li>• Υγρασία</li> <li>• Ελεύθερη οξύτητα ελαίου</li> </ul>	FT-NIR 12500-3600 cm <sup>-1</sup>	Συλλέχθηκαν δείγματα ελιάς (287) και ελαιολάδου (161) από τρία βιομηχανικά εργοστάσια που χρησιμοποιούν διαφορετική τεχνολογία εκχύλισης. Τα αποτελέσματα της ανάλυσης μέσω IR είναι παρόμοια με αυτά των εργαστηριακών μεθόδων αναφοράς, επιτρέποντας μια ταχεία και λιγότερο δαπανηρή ανάλυση διαλογής (screening analysis)..	(Bendini et al., 2007)
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Σύνθεση λιπαρών οξέος VOO</li> </ul>	FT-MIR/ ATR 4000-700 cm <sup>-1</sup>	Το ελαϊκό και λινελαϊκό οξύ προσδιορίστηκαν μέσω IR και τα αποτελέσματα της μεθόδου είναι συγκρίσιμα με τις επίσημες μεθόδους, με πλεονεκτήματα την ταχύτητα και το μικρότερο κόστος.	(Maggio et al., 2009)
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Ελεύθερα λιπαρά οξέα (FFA)</li> <li>• Πολυφαινόλες</li> <li>• Κύρια λιπαρά οξέα (FA)</li> <li>• PV</li> <li>• Παράμετροι χρόνου επαγωγής</li> </ul>	NIR 400-2500 cm <sup>-1</sup> φασματοσκοπία ανάκλασης	Χρησιμοποιήθηκαν 216 δείγματα ελαιολάδου από όλες τις ελαιοπαραγωγικές περιοχές της Αυστραλίας. Επιτεύχθηκαν υψηλά επίπεδα ακρίβειας στα μοντέλα για κύρια και δευτερεύοντα συστατικά.	(Mailer, 2004)
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Δείκτης σταθερότητας ελαιολάδου (OSI)</li> <li>• Ελεύθερα λιπαρά οξέα</li> <li>• Τιμή υπεροξειδίου</li> <li>• Συζευγμένα διένια</li> </ul>	Vis-NIR 350-2300 cm <sup>-1</sup>	Τα προγνωστικά μοντέλα που προέκυψαν από την επεξεργασία φασμάτων για τον προσδιορισμό των FFA, PV και συζευγμένων διένων και το OSI δείχνουν ικανοποιητική απόδοση σε δοκιμαστικά δείγματα.	(Cayuela et al., 2003)

#### 4.4.2. Χημειομετρία

Λόγω της ετερογένειας των τροφίμων παράγονται περίπλοκα φάσματα γεγονός που καθιστά δύσκολη την ανίχνευση και τον προσδιορισμό των δευτερευόντων συστατικών των δειγμάτων. Ωστόσο, η συσχέτιση του IR με τη χημειομετρία επιτρέπει την εξαγωγή σημαντικών και πολύτιμων πληροφοριών από πολύπλοκα σύνολα δεδομένων και είναι η μέθοδος επιλογής για την ποσοτικοποίηση των συστατικών των τροφίμων (Maggio et al., 2011). Ως χημειομετρία μπορεί να οριστεί η επιστήμη της εξαγωγής πληροφοριών από χημικά δεδομένα (φάσματα IR) μέσω μαθηματικής μοντελοποίησης δεδομένων. Σήμερα, η χημειομετρία εφαρμόζεται όλο και περισσότερο στην ανάλυση τροφίμων και έχει αποδειχθεί ως ένα ισχυρό εργαλείο για τη βιομηχανία ελαιολάδου καθώς μπορεί να εφαρμοστεί σε όλα τα διαφορετικά στάδια της παραγωγής EVOO / VOO, στον έλεγχο των πρώτων υλών, στην παρακολούθηση κατά τη διαδικασία παραγωγής και στον τελικό ποιοτικό έλεγχο. Ειδικά στην παραγωγή VOO και EVOO, η χημειομετρία βοηθά στην εύρεση δεικτών ποικιλίας, για την κατηγοριοποίηση των δειγμάτων ανάλογα με την ποικιλία/προέλευσή τους, για τη διασφάλιση της αυθεντικότητας και για τον εντοπισμό της νοθείας με άλλα έλαια (Gomez et al., 2016).

Ορισμένες τεχνικές χημειομετρίας που χρησιμοποιούνται συνήθως στα φάσματα FTIR είναι:

- Χειρισμός δεδομένων όπως παραγωγοποίηση, κανονικοποίηση, βασικές διορθώσεις (baseline corrections), τυπική κανονική διακύμανση
- Τεχνικές ταξινόμησης, όπως διακριτή ανάλυση (discriminant analysis, DA), ανάλυση βασικών συνιστωσών (principal component analysis, PCA) και ανάλυση συμπλέγματος
- Πολυπαραγοντικές μέθοδοι βαθμονόμησης, προκειμένου να συσχετιστούν τα φάσματα με τις ποσοτικοποιήσιμες ιδιότητες (συγκέντρωση) της αναλυόμενης ουσίας που μας ενδιαφέρει. Μερικά παραδείγματα είναι η πολλαπλή γραμμική παλινδρόμηση (multiple linear regression), η παλινδρόμηση βασικών συνιστωσών (principal component regression) και η παλινδρόμηση ελάχιστων τετραγώνων (partial least square regression) (Rohman, 2016).

Σε σύνθετα μίγματα, όπως τα τρόφιμα, μία από τις μεγαλύτερες δυσκολίες είναι η φασματική επικάλυψη. Για την επίλυση αυτού του προβλήματος, χρησιμοποιείται πολυπαραγοντική βαθμονόμηση (multivariate calibration). Έτσι, για την ανάλυση βρώσιμων ελαίων χρησιμοποιώντας φασματοσκοπία FTIR και πολυπαραγοντική βαθμονόμηση απαιτείται:

1. Προετοιμασία προτύπων ή καλά χαρακτηρισμένων δειγμάτων
2. Συλλογή φασμάτων FTIR υπό συγκεκριμένες συνθήκες
3. Επιλογή σετ βαθμονόμησης και επικύρωσης από τα πρότυπα ή χαρακτηρισμένα δείγματα που έχουν προηγουμένως προετοιμαστεί
4. Μοντελοποίηση βαθμονόμησης από σύνολα δεδομένων βαθμονόμησης (calibration modelling from calibration datasets)
5. Επικύρωση των μοντέλων βαθμονόμησης και αξιολόγηση του μοντέλου ως προς τα χαρακτηριστικά επικύρωσης (ακρίβεια, πιστότητα, ευαισθησία) και την ικανότητά του να προβλέπει τα άγνωστα δείγματα

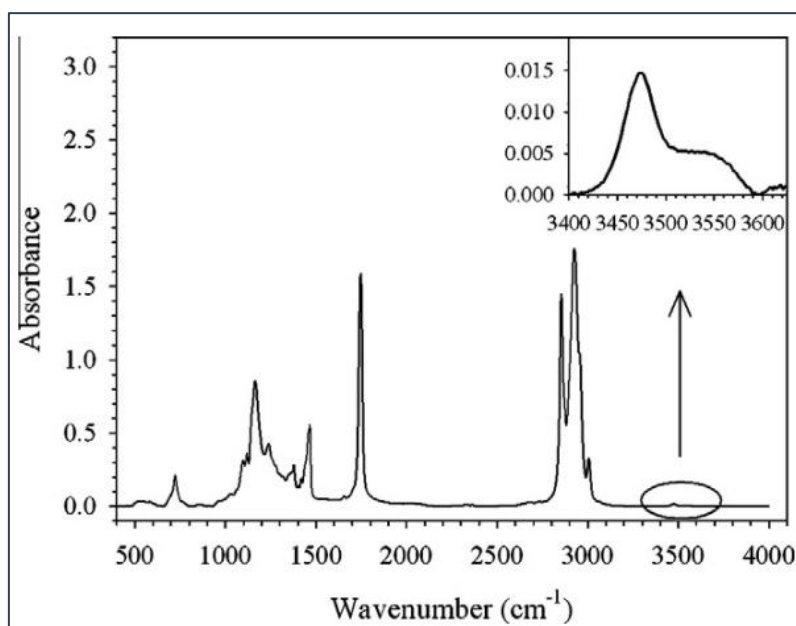
Η πιο ευρέως διαδεδομένη μέθοδος πολυπαραγοντικής ανάλυσης φασμάτων είναι η PLS. Η PLS είναι μια μέθοδος παλινδρόμησης που στοχεύει στην πρόβλεψη των μεταβλητών  $Y$  (FFA, TP, οξειδωτική σταθερότητα κ.α.) από τις μεταβλητές  $X$  (φάσματα IR) μεγιστοποιώντας τη συσχέτιση μεταξύ τους με ένα γραμμικό πολυμεταβλητό μοντέλο (linear multivariate model) ενώ απαιτεί από τους αναλύτες να συμμορφώνονται με τον Νόμο του Beer για να μετρηθεί μια ιδιότητα (Cerretani et al., 2010). Κατά την αξιολόγηση των αποτελεσμάτων ενός μοντέλου πρόβλεψης μέσω PLS, οι παρακάτω παράμετροι πρέπει να ληφθούν υπόψη. Ο συντελεστής παλινδρόμησης  $R^2$  (Regression coefficient) που παρέχει μια ιδέα για την αποτελεσματικότητα της πρόβλεψης. Οι τιμές  $R^2_{cal}$  της βαθμονόμησης (calibration) και  $R^2_{cv}$  της επικύρωσης (cross-validation) πρέπει να είναι κοντά στο ένα. Οι τιμές RMSEC (root mean square error of calibration) και RMSECV (root mean square error of cross-validation) σχετίζονται με το σφάλμα μεταξύ της μετρούμενης τιμής και της προβλεπόμενης τιμής σε κάθε βήμα βαθμονόμησης (calibration) και επικύρωσης (cross-validation), αντίστοιχα. Οι διαφορές μεταξύ των τιμών RMSEC και RMSECV θα πρέπει να είναι μικρές και κοντά στο μηδέν, δεδομένου ότι καθεμία από αυτές τις τιμές αποδίδεται σε σφάλμα.

#### 4.4.3. Χαρακτηρισμός φάσματος

Τα φάσματα FTIR μπορούν να χρησιμοποιηθούν για την παρακολούθηση των ποιοτικών παραμέτρων ελαιολάδου, καθώς οι αλλαγές των φασμάτων IR μπορούν να συσχετιστούν με την αλλαγή των φυσικοχημικών ιδιοτήτων τους. Τα φάσματα FTIR παρέχουν πληροφορίες σχετικά με τις λειτουργικές ομάδες του δείγματος. Στο Σχήμα 4 παρουσιάζεται ένα χαρακτηριστικό φάσμα FTIR εξαιρετικά παρθένου ελαιολάδου.

Υπάρχουν δύο ενδιαφέρουσες φασματικές περιοχές στα φάσματα FTIR: (i) από 700 έως 1500  $\text{cm}^{-1}$ , όπου παρατηρείται η δονητική δραστηριότητα των συζευγμένων δεσμών και των δονήσεων κάμψης των αλειφατικών ενώσεων και (ii) από 2800 έως 3800  $\text{cm}^{-1}$ , φαίνονται οι δονήσεις τάσης των λιπαρών οξέων και υδροϋπεροξειδίων (Guillen & Cabo, 2002).

Στα φάσματα MIR κυριαρχούν οι κορυφές στα 2924, 2852, 1743, 1463, 1377, 1238, 1163, 1114 και 1099  $\text{cm}^{-1}$ . Η απορρόφηση στα 2924 και 2852  $\text{cm}^{-1}$  οφείλεται σε ζώνες που προκύπτουν από δονήσεις  $-\text{CH}_2$ , ασύμμετρες και συμμετρικές, αντίστοιχα. Η μεγαλύτερη κορυφή στα 1743  $\text{cm}^{-1}$  προκύπτει από δονήσεις  $\text{C}=\text{O}$ . Οι ζώνες στα 1463 και 1377  $\text{cm}^{-1}$  προκύπτουν από δονήσεις παραμόρφωσης  $-\text{CH}_2$  και  $-\text{CH}_3$ , ενώ αυτές στις 1238, 1163, 1114, 1099  $\text{cm}^{-1}$  συνδέονται με τη δόνηση τάσης του  $\text{C}=\text{O}$ . Οι σημαντικότερες ζώνες φαίνονται στον Πίνακα 16 (Sinelli et al., 2010).



Σχήμα 4: Φάσμα FTIR ενός εξαιρετικά παρθένου ελαιολάδου (Navarra et al., 2011).

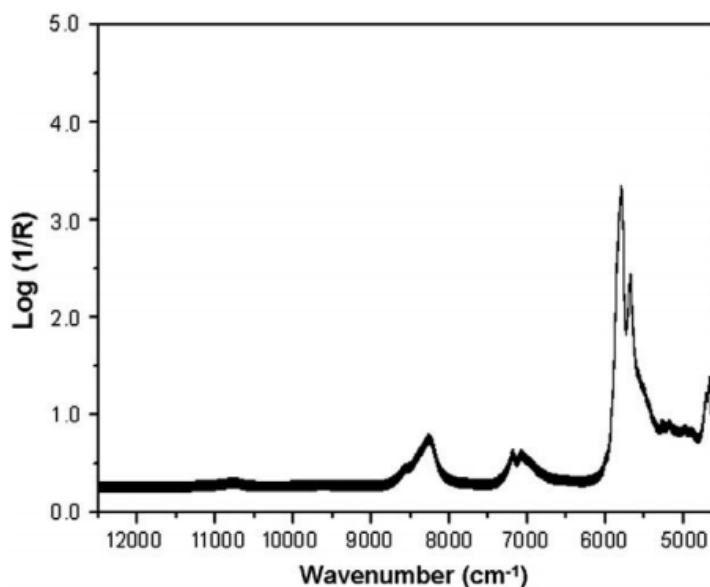


Σε ορισμένες από τις μελέτες που έχουν πραγματοποιηθεί λαμβάνεται υπόψη μόνο μια συγκεκριμένη περιοχή των φασμάτων: για παράδειγμα, στον προσδιορισμό των ελεύθερων λιπαρών οξέων, χρησιμοποιείται η ζώνη στα  $1743\text{ cm}^{-1}$ , ενώ η τιμή του υπεροξειδίου μπορεί να προσδιοριστεί στην περιοχή μεταξύ  $3750$  και  $3150\text{ cm}^{-1}$ . Ωστόσο, για τον προσδιορισμό άλλων δεικτών, όπως η τιμή του ιωδίου ή ο αριθμός σαπωνοποίησης, οι περιοχές που χρησιμοποιούνται είναι ευρύτερες και επιλέγονται μέσω χημειομετρικού λογισμικού, το οποίο γενικά βασίζεται στη μέθοδο ελάχιστων τετραγώνων.

Πίνακας 16: Ταξινόμηση λειτουργικών ομάδων σε επιλεγμένους κυματαριθμούς και εκχώρηση ζωνών

Κυματαριθμός ( $\text{cm}^{-1}$ )	Λειτουργική ομάδα και τρόπος δόνησης	Αναφορές
3500-3530 3445	Δόνηση τάσης των ομάδων OH (υπεροξειδία)	(Navarra et al., 2011; Guillén and Cabo, 2000)
3025 3023	=CH <i>trans</i> δόνηση τάσης =C-H <i>cis</i>	(Sinelli et al., 2010)
3006	=C-H δόνηση τάσης C-H δόνηση τάσης του <i>cis</i> -διπλού δεσμού	(Navarra et al., 2011; Vlachos et al., 2006)
2950-2972	C-H συμμετρική δόνηση τάσης της αλιφατικής ομάδας ( $\text{CH}_3$ )	(Sinelli et al., 2010; Vlachos et al., 2006)
2924	CH αντισυμμετρική δόνηση τάσης της αλιφατικής ομάδας ( $-\text{CH}_2-$ )	(Sinelli et al., 2010; Vlachos et al., 2006)
2852	CH( $-\text{CH}_2-$ ) Συμμετρική δόνηση τάσης	(Sinelli et al., 2010)
2761	CH δόνηση τάσης	(Sinelli et al., 2010)
1815	-C=O δόνηση τάσης	(Sinelli et al., 2010)
1743	Εστερική ομάδα των τριγλυκεριδίων	(Navarra et al., 2011; Vlachos, et al., 2006)
1653	-C=C- δόνηση τάσης <i>cis</i> -αλκένιων	(Sinelli et al., 2010; Vlachos et al., 2006)
1463	$-\text{CH}_2-\text{CH}_3$ Δόνηση παραμόρφωσης (scissoring) αλειφατικών ομάδες	(Sinelli et al., 2010; Vlachos et al., 2006)
1377/1385	H-C-H Συμμετρική δόνηση κάμψης	(Sinelli et al., 2010)
1222	-C-O, $-\text{CH}_2-$ δόνηση τάσης, κάμψης	(Kuligowski et al., 2010; Maggio et al., 2011)
1163	$\delta-\text{CH}_2-$ δόνηση σείσης (wagging)	(Navarra et al., 2011)
967-968	<i>trans</i> διπλούς δεσμούς	(Wójcicki et al.)
710	<i>cis</i> διπλούς δεσμούς, δόνηση κάμψης	(Wójcicki et al)

Στο Σχήμα 5 παρουσιάζεται ένα αντιπροσωπευτικό φάσμα NIR εξαιρετικά παρθένου ελαιολάδου.



Σχήμα 5: Φάσμα NIR μονοποικιλιακού εξαιρετικά παρθένου ελαιολάδου (Sinelli et al., 2010).

Για τα φάσματα NIR, οι κύριοι κυματαριθμοί που επιλέγονται βρίσκονται στις περιοχές  $7100-7000\text{ cm}^{-1}$ ,  $5800-5810\text{ cm}^{-1}$  και  $4970-4600\text{ cm}^{-1}$ , όπου υπάρχουν οι ζώνες απορρόφησης του O–H, C–H και C=O. Στον Πίνακα 17 παρουσιάζονται οι σημαντικότερες λειτουργικές ομάδες και οι κυματαριθμοί της περιοχής NIR

Πίνακας 17: Ταξινόμηση λειτουργικών ομάδων σε επιλεγμένους κυματαριθμούς στο NIR (Sinelli, et al., 2010).

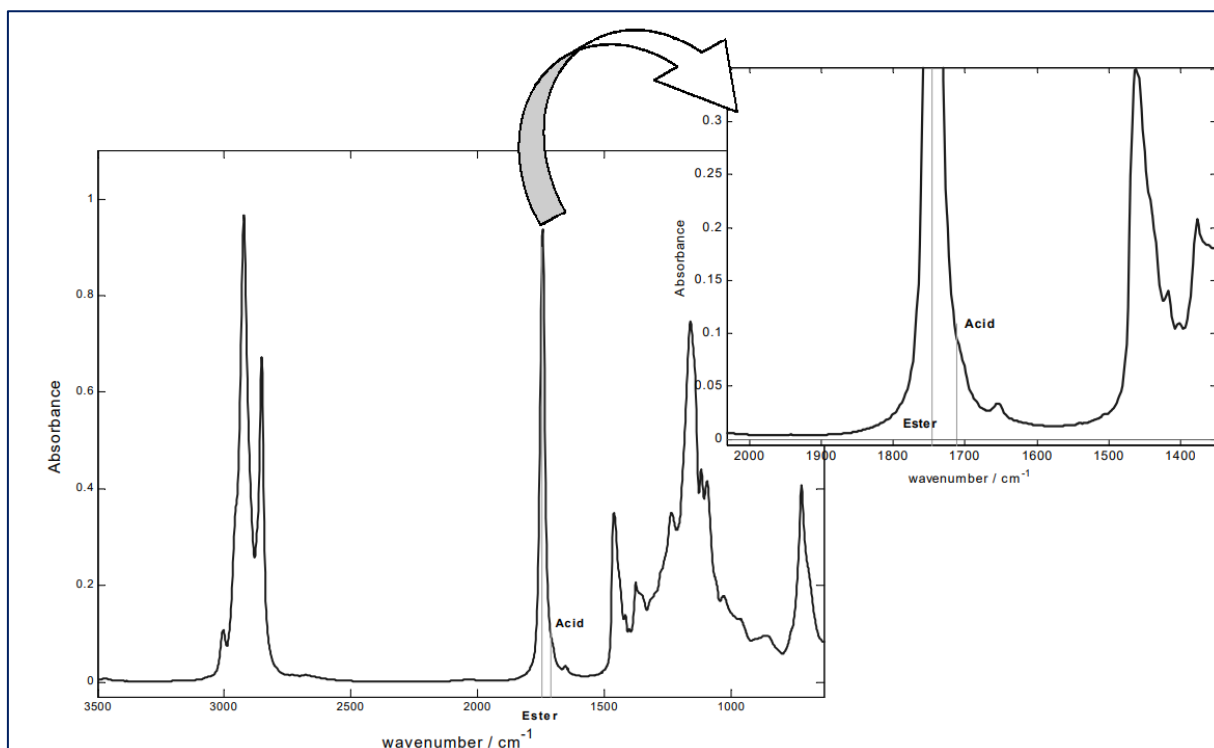
Κυματαριθμός ( $\text{cm}^{-1}$ )	Λειτουργικές ομάδες	Τρόπος δόνησης
8570 και 8260	–CH <sub>3</sub> –	2 <sup>η</sup> υπερτονική δόνηση τάσης C–H
8085	–CH <sub>2</sub> –	2 <sup>η</sup> υπερτονική δόνηση τάσης C–H
7282	CH <sub>3</sub> –	2C–H δόνηση τάσης + C–H παραμόρφωση
6842	–CH <sub>2</sub> –	2C–H δόνηση τάσης + C–H παραμόρφωση
5800	–CH <sub>2</sub> –	C–H 1 <sup>η</sup> υπερτονική
5790	–CH <sub>2</sub> –	1 <sup>η</sup> υπερτονική των δονήσεων C–H των ομάδων μεθυλίου, μεθυλενίου και αιθυλενίου.
5470, 5465, 5423	–CH <sub>2</sub> –	C–H 1 <sup>η</sup> υπερτονική
4945	–COOR	C–H δόνηση τάσης + C=O δόνηση τάσης.
4880	–COOR	C–H δόνηση τάσης+ C=O δόνηση τάσης (υπεροξειδία)

4648	-HC=CH-	=CH δόνηση τάσης
------	---------	------------------

Στην περιοχή NIR, οι κορυφές γύρω από τα  $8252\text{ cm}^{-1}$  προκύπτουν από τις δεύτερες υπερτονικές δονήσεις C-H, ενώ εκείνες στα  $7180$  και  $7075\text{ cm}^{-1}$  οφείλονται στη ζώνη συνδυασμού C-H. Οι κορυφές στα  $5787$  και  $5671\text{ cm}^{-1}$  προκύπτουν από την πρώτη υπερτονική των δονήσεων C-H των ομάδων μεθυλίου, μεθυλενίου και αιθυλενίου. Οι μικρές κορυφές στα  $4659$  και  $4572\text{ cm}^{-1}$  σχετίζεται με συνδυασμένες ζώνες C-H και C=O (combination bands) (Sinelli et al., 2010).

#### 4.4.4. Προσδιορισμός οξύτητας μέσω IR

Ο προσδιορισμός των ελεύθερων λιπαρών οξέων με φασματοσκοπία IR είναι εφικτός σε σχετικά υψηλή συγκέντρωση, αλλά παρεμποδίζεται από τη μερική επικάλυψη της κυρίαρχης κορυφής των εστέρων n-C=O (περίπου  $1746\text{ cm}^{-1}$ ) με αυτή των καρβονυλικών δεσμών των ελεύθερων λιπαρών οξέων n-C=O (περίπου  $1710\text{ cm}^{-1}$ ) (Σχήμα 6) (Iñón et al., 2003).



Σχήμα 6: Τυπικό φάσμα ATR – FTIR ενός δείγματος ελαιολάδου (περιεκτικότητα FFA=  $1,123 \pm 0,019\%$ ) (Iñón et al., 2003)

Έχει προταθεί επίσης μια άμεση μέθοδος μέτρησης βασισμένη σε μια πρότυπη διαδικασία προσθήκης όπου προστίθεται ελαϊκό οξύ στο λάδι και μετράται η ζώνη C=O στα  $1711 \text{ cm}^{-1}$  μετά την κατανομή (rationing) του φάσματος του δείγματος έναντι του ίδιου ελαίου χωρίς προσθήκη λιπαρών οξέων. Ωστόσο, η προσθήκη ορισμένων δειγμάτων με ένα μόνο λιπαρό οξύ μπορεί να μην είναι αντιπροσωπευτική του συνόλου. Επιπλέον, έχει προταθεί ο υπολογισμός οξύτητας με μια έμμεση διαδικασία, δηλαδή διαχωρίζοντας τα FFA του ελαίου μέσω εκχύλισης και αποπρωτονίωσής τους. Έτσι η απορρόφηση των FFA μετατοπίζεται από  $1710$  σε  $1570 \text{ cm}^{-1}$  ( $\text{COO}^-$ ) αποφεύγοντας αποτελεσματικά φασματικές παρεμβολές της ομάδας C=O που υπάρχει σε εστέρες, αλδεΐδες ή κετόνες (Iñón et al., 2003).

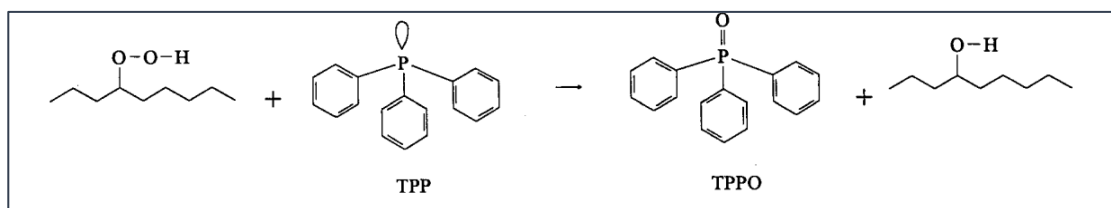
Οι Bertran et al. (1999) πρότειναν μια διαδικασία για τον προσδιορισμό των ελεύθερων λιπαρών οξέων (FFA) στο ελαιόλαδο μέσω FT-IR με ATR και μελέτησαν διάφορους τύπους και κατηγορίες ελαιολάδου και δείγματα διαφορετικής προέλευσης και ηλικίας, με περιεκτικότητα σε FFA μεταξύ 0,1 και 2,1%. Επίσης, μετρήθηκε η οξύτητα σε δείγματα ελαιολάδου μετά από θέρμανση στους  $250 \text{ }^\circ\text{C}$  για 2-3 ώρες για να ληφθούν δείγματα θερμικής καταπόνησης. Δεν παρατηρήθηκαν σημαντικές διαφορές μεταξύ των τιμών αναφοράς (ογκομέτρηση) και των υπολογισμένων τιμών. Ωστόσο, για να επιτευχθούν καλά αποτελέσματα, απαιτείται διαχωρισμός του εύρους βαθμονόμησης σε δύο διαστήματα συγκέντρωσης FFA (0,1 έως 0,5% και 0,5 έως 2,1%). Η μέθοδος αποδείχθηκε γρήγορη, με συνολικό χρόνο ανάλυσης 5 λεπτών, φιλική προς το περιβάλλον ενώ μπορεί να χρησιμοποιηθεί για δείγματα διαφορετικών κατηγοριών (έξτρα παρθένο, παρθένο και πυρηνέλαιο) και μετά από θερμική επεξεργασία.

#### 4.4.5. Προσδιορισμός αριθμού υπεροξειδίων μέσω IR

Το FTIR μπορεί να χρησιμεύσει για τον υπολογισμό του αριθμού υπεροξειδίων (PV), που χρησιμοποιείται ευρέως από τη βιομηχανία λιπών και ελαίων για την αξιολόγηση της οξειδωτικής κατάστασης και τη σταθερότητα τους.

Όσον αφορά την ανάπτυξη μεθοδολογίας PV, η πρώτη μέθοδος FTIR που αναπτύχθηκε βασίστηκε στη μέτρηση της χαρακτηριστικής ζώνης απορρόφησης O-H των

υδροϋπεροξειδίων στο mid-IR στα  $3444\text{ cm}^{-1}$ . Στη συνέχεια, αναπτύχθηκε μια απλούστερη και πιο ακριβής μέθοδος μέσω FTIR, με βάση την καλά χαρακτηρισμένη στοιχειομετρική αντίδραση της τριφαινυλοφωσφίνης (TPP) με υδροϋπεροξείδια για το σχηματισμό οξειδίου τριφαινυλοφωσφίνης (TPPO) όπως φαίνεται στην Εικόνα 11. Αυτή η αντίδραση είναι γρήγορη και πλήρης όταν υπάρχει περίσσεια TPP. Ο ακριβής ποσοτικός προσδιορισμός του TPPO επιτυγχάνεται εύκολα μετρώντας την ένταση της μοναδικής και έντονης ζώνης απορρόφησης του στα  $542\text{ cm}^{-1}$ . Η μέθοδος mid-IR που αναπτύχθηκε ήταν ακριβής, αναπαραγώγιμη και πολύ ευαίσθητη, με ικανότητα μέτρησης PV έως  $\sim 0,2$  PV.



Εικόνα 11: Αντίδραση τριφαινυλοφωσφίνης (TPP) με υδροϋπεροξείδια για σχηματισμό τριφαινυλοφωσφινολοξειδίου (TPPO) και αλκοόλης.

Με βάση την ίδια αντίδραση αναπτύχθηκε και η ανάλυση μέσω FT-NIR. Η ανάλυση αυτή γίνεται σε γυάλινα φιαλίδια μιας χρήσης και η τιμή PV προσδιορίζεται με φασματοσκοπική μέτρηση της μετατροπής της τριφαινυλοφωσφίνης (TPP) σε οξείδιο τριφαινυλοφωσφίνης (TPPO) όταν αντιδρά με υδροϋπεροξείδια. Το TPPO έχει παρόμοια χαρακτηριστικά φάσματος με το TPP, αλλά οι κύριες ζώνες μετατοπίζονται προς μικρότερα μήκη κύματος. Όταν το TPP αντιδρά με υδροϋπεροξείδια στο λάδι για την παραγωγή TPPO, τόσο το TPP όσο και το TPPO είναι ταυτόχρονα παρόντα στο λάδι και οι ζώνες αυτών των δύο συστατικών αλληλεπικαλύπτονται. Για το λόγο αυτό, ο ποσοτικός προσδιορισμός υπό αυτές τις συνθήκες απαιτεί τη χρήση πιο εξελιγμένων χημειομετρικών τεχνικών όπως η PLS. Έχει αναπτυχθεί βαθμονόμηση PLS με την παρασκευή μιγμάτων TPP και TPPO σε έλαια με μηδενική περιεκτικότητα PV. Η μέθοδος επικυρώθηκε με δείγματα που παρασκευάστηκαν με βαρυμετρική αραιώση οξειδωμένου ελαίου με έλαιο με μηδενικό PV. Τα δείγματα επικύρωσης αναλύθηκαν παράλληλα με τη χημική μέθοδο AOCS Cd 86-90. Η μέθοδος FT-NIR αποδείχθηκε ότι είναι πιο ακριβής στην παρακολούθηση PV, αλλά ελαφρώς λιγότερο

αναπαραγωγίμη επειδή βρίσκεται κοντά στο όριο ανίχνευσης. Η προτεινόμενη μέθοδος FT-NIR είναι απλή στη βαθμονόμηση και στην εφαρμογή και μπορεί να αυτοματοποιηθεί ώστε να επιτρέπει την ανάλυση ποιοτικού ελέγχου των βρώσιμων λιπών και ελαίων. Όσον αφορά τη διαδικασία ανάλυσης, η μέθοδος είναι αρκετά απλή, απαιτώντας μόνο τη ζύγιση του δείγματος στο φιαλίδιο, την προσθήκη μίας σταθερής ποσότητας TPP, ανάμιξη και σάρωση του φάσματος του δείγματος (Li et al., 2000).

#### 4.4.6. Προσδιορισμός της οξειδωτικής σταθερότητας μέσω IR

Οι μέθοδοι που χρησιμοποιούνται για τον προσδιορισμό του ρυθμού οξείδωσης σχετίζονται με τη μέτρηση της συγκέντρωσης των πρωτογενών ή/και των δευτερογενών προϊόντων οξείδωσης.

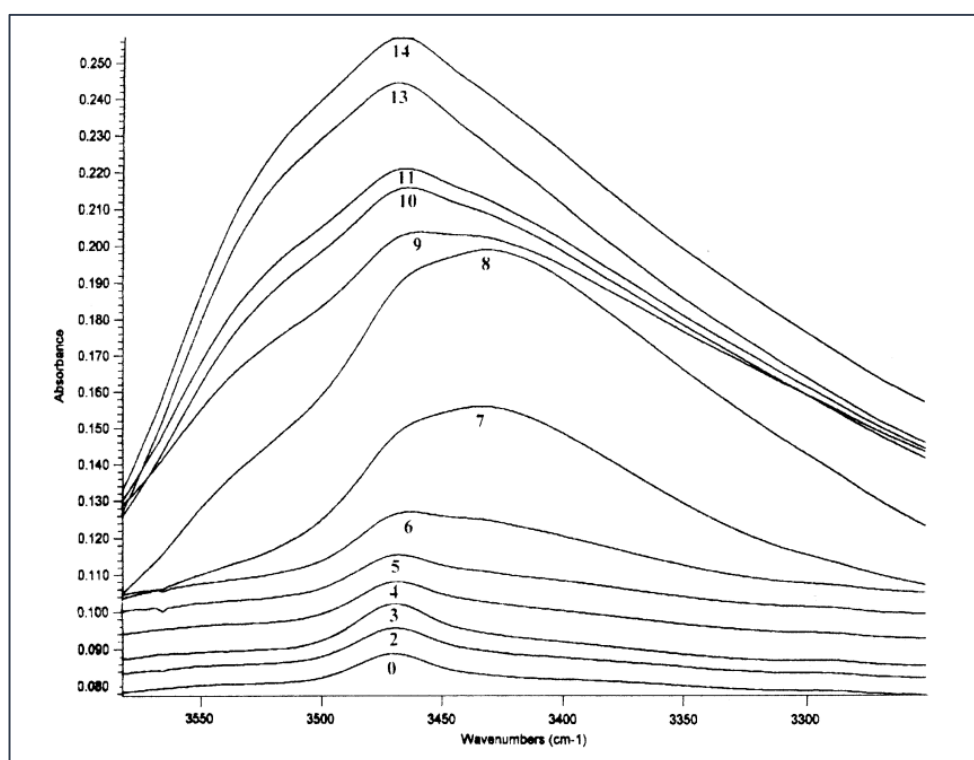
Οι (Guillen & Cabo, 2002) μελέτησαν κατά πόσο οι αλλαγές που παρατηρούνται στα φάσματα IR σχετίζονται με τις αλλαγές που παρατηρούνται στους δείκτες PV και AV και τη δυνατότητα να χρησιμοποιηθούν τα φασματοσκοπικά δεδομένα αντί των κλασικών τεχνικών. Τα δείγματα ελαίου τοποθετήθηκαν σε φούρνο, του οποίου η θερμοκρασία διατηρήθηκε στους 70 °C για 16 ημέρες. Πραγματοποίησαν περιοδικές μετρήσεις των τιμών PV, AV μέσω των κλασικών μεθόδων και λήφθηκαν υπέρυθρα φάσματα 4000 έως 500  $\text{cm}^{-1}$ .

Κατά την οξείδωση του ελαιολάδου μέσω IR παρατηρούνται αλλαγές στις μέγιστες εντάσεις στο φάσμα. Είναι γνωστό ότι οι ενώσεις που υπάρχουν σε ένα μείγμα σε πολύ χαμηλές αναλογίες δίνουν πολύ αδύναμες κορυφές που δεν είναι ανιχνεύσιμες στο υπέρυθρο φάσμα. Ως αποτέλεσμα, η ζώνη της λειτουργικής ομάδας του υδροϋπεροξειδίου κοντά στα 3444  $\text{cm}^{-1}$  δεν παρατηρείται στο υπέρυθρο φάσμα του μη οξειδωμένου ελαίου. Σε αυτήν την περιοχή υπάρχει, σε όλα τα φάσματα υπέρυθρου των μη οξειδωμένων ελαίων, μια ζώνη κοντά στα 3470  $\text{cm}^{-1}$  που σχετίζεται με την απορρόφηση του καρβονυλικού εστέρα.

Καθώς η διαδικασία οξείδωσης προχωρά, η συγκέντρωση των υδροϋπεροξειδίων στο δείγμα αυξάνεται όπως και η απορρόφησή της στο υπέρυθρο φάσμα. Αυτή η λειτουργική ομάδα δίνει μια ευρεία ζώνη, που επικαλύπτεται με εκείνη των εστέρων των γλυκεριδίων (glyceride ester groups), προκαλώντας μείωση της τιμής συχνότητας της αρχικής ζώνης γλυκεριδίου και αύξηση της απορρόφησής της. Η συχνότητα και η απορρόφηση αυτής της

ζώνης δίνουν πληροφορίες σχετικά με την παραγωγή υδροϋπεροξειδίων κατά τη διαδικασία οξείδωσης.

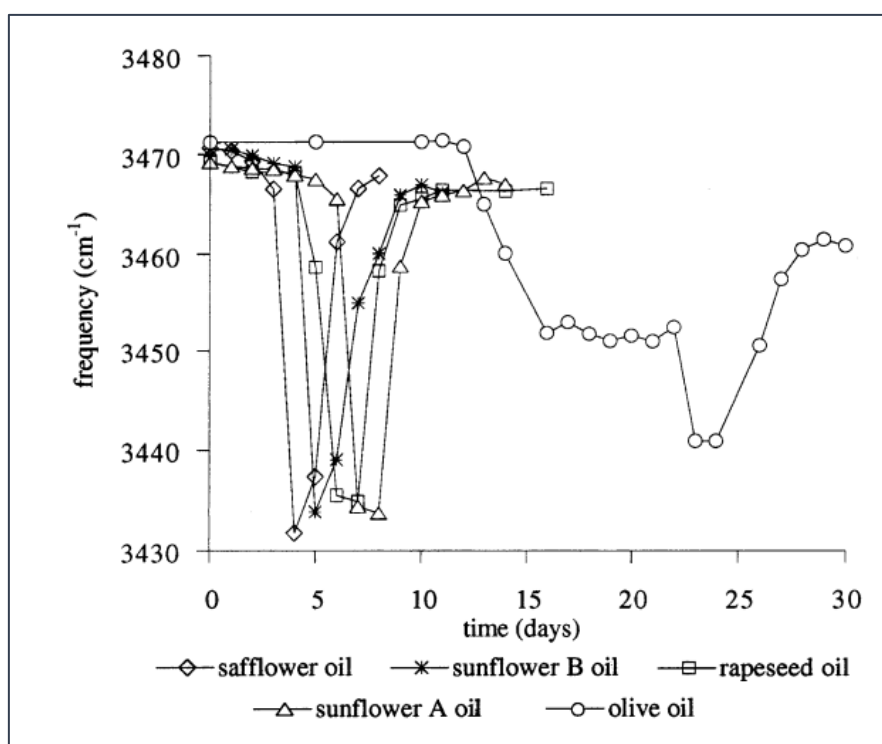
Σε προχωρημένα στάδια οξείδωσης, η συχνότητα αυτής της ζώνης υφίσταται νέα αλλαγή προς τιμές κοντά στις αρχικές, όμοιες με αυτές του μη οξειδωμένου λαδιού. Αυτό το γεγονός οφείλεται πιθανώς στη μείωση της συγκέντρωσης των υδροϋπεροξειδίων και στην εμφάνιση νέων κορυφών, περίπου στα  $3530\text{ cm}^{-1}$ , λόγω αλκοολών, δευτερογενών προϊόντων οξείδωσης, τα οποία αλληλεπικαλύπτονται με αυτά των ομάδων υδροϋπεροξειδίου (Guillen & Cabo, 2002).



Σχήμα 7: Αλλαγές στην περιοχή μεταξύ  $3600$  και  $3250\text{ cm}^{-1}$  του υπέρυθρου φάσματος του ηλιελαίου σε διαφορετικές ημέρες της διαδικασίας οξείδωσης (Guillen & Cabo, 2002).

Στο Σχήμα 7 φαίνεται η εξέλιξη αυτής της ζώνης στο υπέρυθρο φάσμα του ηλιελαίου κατά τη διάρκεια της διαδικασίας οξείδωσης (παρόμοια εξέλιξη παρατηρείται σε όλα τα έλαια συμπεριλαμβανομένου του ελαιολάδου). Τις πρώτες ημέρες της διαδικασίας δεν υπάρχουν εμφανείς αλλαγές στην κορυφή (Σχ. 6, ημέρες 0-5). Καθώς η οξείδωση προχωρά, η

συγκέντρωση υδροϋπεροξειδίων αυξάνεται και μετά την ημέρα 6 παρατηρούνται έντονες και ορατές αλλαγές, οι οποίες περιλαμβάνουν μετατόπιση της μέγιστης συχνότητας της ζώνης προς μικρότερες τιμές, όπως και διεύρυνση της ζώνης και αύξηση της έντασης (Σχ. 6, ημέρες 7-8). Σε προχωρημένα στάδια οξείδωσης, η συχνότητα αυτής της ζώνης υφίσταται μια νέα μετατόπιση προς τιμές κοντά στις αρχικές (Σχ. 6, ημέρες 9–14) λόγω μείωσης της συγκέντρωσης υδροϋπεροξειδίων. Επιπλέον, εμφανίζεται νέα ζώνη στα  $3530\text{ cm}^{-1}$ , λόγω αλκοολών, δευτερογενών προϊόντων οξείδωσης, που επικαλύπτεται με αυτήν των υδροϋπεροξειδίων.



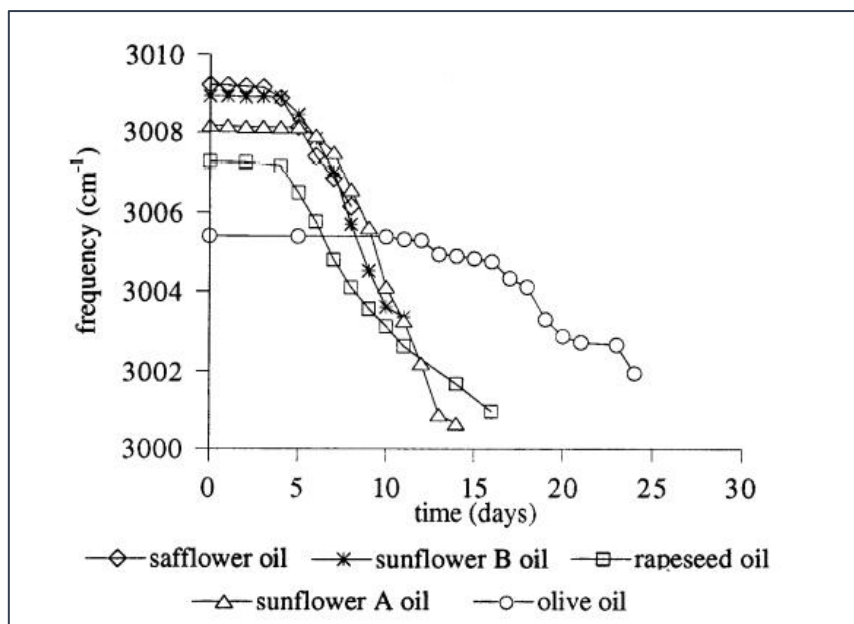
Σχήμα 8: Τιμές συχνότητας της κορυφής κοντά στα  $3470\text{ cm}^{-1}$  έναντι του χρόνου υπό οξειδωτικές συνθήκες (Guillen & Cabo, 2002).

Το Σχήμα 8 δείχνει τη διακύμανση της συχνότητας της κορυφής κοντά στα  $3470\text{ cm}^{-1}$  καθ' όλη τη διαδικασία οξείδωσης στα δείγματα λαδιού. Σε όλες τις περιπτώσεις υπάρχει μια χρονική περίοδος κατά την οποία η συχνότητα αυτής της κορυφής μειώνεται ελάχιστα (πρώτο στάδιο). Ενώ, στο τέλος αυτής της περιόδου η παραμόρφωση αυτής της ζώνης είναι σαφώς αισθητή με γυμνό μάτι. Στη συνέχεια, υπάρχει μια απότομη μείωση της συχνότητας



της ζώνης σε τιμές στα  $3444\text{ cm}^{-1}$ , που σχετίζεται με ομάδες υδροϋπεροξειδίου και έτσι ξεκινά το δεύτερο στάδιο όπου υπάρχει μια νέα αλλαγή της συχνότητας της ζώνης σε τιμές κοντά στο αρχικό. Η αρχή αυτού του δεύτερου σταδίου συμπίπτει με τις μέγιστες συγκεντρώσεις υδροϋπεροξειδίων στα δείγματα. Κατά συνέπεια, η διάρκεια του πρώτου σταδίου ή ο χρόνος που απαιτείται μέχρι να εμφανιστεί η απότομη αλλαγή στη συχνότητα αυτής της ζώνης, δηλαδή ο χρόνος μεταξύ πρώτου και δεύτερου σταδίου ή η αρχή του δεύτερου σταδίου, μπορεί να ληφθεί ως μέτρο της οξειδωτικής σταθερότητας. Από αυτά τα αποτελέσματα της έρευνας μπορεί να συναχθεί το συμπέρασμα ότι οι τιμές συχνότητας της κορυφής κοντά στα  $3440\text{-}3470\text{ cm}^{-1}$  μπορεί να προβλέψουν τις συγκεντρώσεις υδροϋπεροξειδίων και έχουν μεγάλο ενδιαφέρον για τον προσδιορισμό της οξειδωτικής σταθερότητας (Guillen & Cabo, 2002).

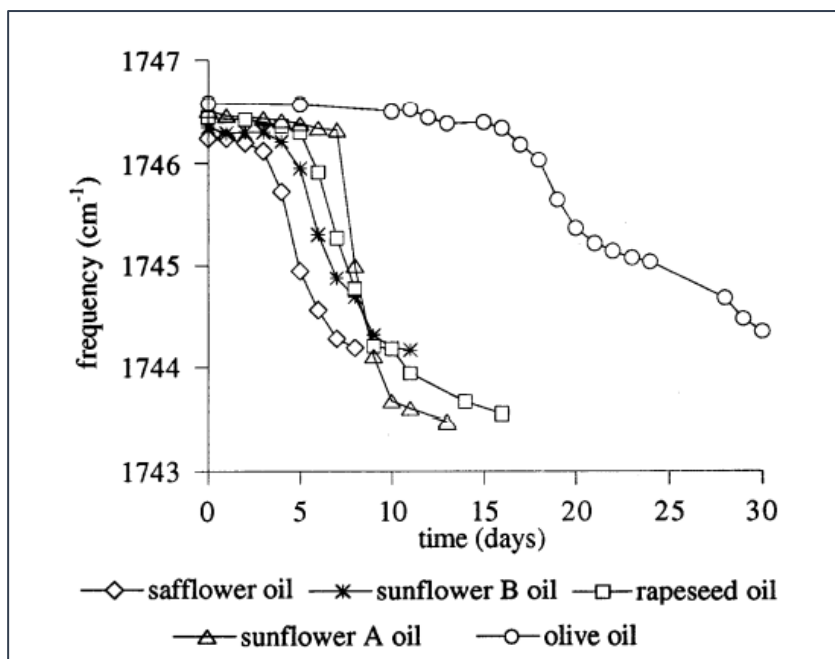
Στο φάσμα υπερύθρου κοντά στα  $3006\text{ cm}^{-1}$  εμφανίζεται η ζώνη των ομάδων  $\text{-CH}$  των *cis* διπλών δεσμών. Για δείγματα μη οξειδωμένου ελαίου έχει αποδειχθεί ότι η συχνότητα αυτής της ζώνης σχετίζεται με τη σύσταση του ελαίου. Τα έλαια με μεγάλη αναλογία πολυακόρεστων ακυλομάδων έχουν υψηλότερες τιμές συχνότητας από εκείνα με μεγάλο ποσοστό μονοακόρεστων ή κορεσμένων ακυλομάδων. Κατά τη διαδικασία οξείδωσης, παρατηρείται η μείωση των *cis* διπλών δεσμών, καθώς και ο ισομερισμός των *cis* σε *trans*, παράλληλα με την παραγωγή υδροϋπεροξειδίων, ενώ η συχνότητα και η απορρόφηση της ζώνης κοντά στα  $3006\text{ cm}^{-1}$  μεταβάλλεται καθώς προχωρά η διαδικασία οξείδωσης. Η συχνότητα αυτής της ζώνης παραμένει πρακτικά σταθερή κατά τη διάρκεια του πρώτου σταδίου, μετά το οποίο μειώνεται. Το Σχήμα 9 δείχνει την εξέλιξη της συχνότητας αυτής της ζώνης καθ' όλη τη διαδικασία οξείδωσης. Ο χρόνος κατά τον οποίο η συχνότητα αυτής της ζώνης αρχίζει να μειώνεται είναι επίσης μια μέτρηση της σταθερότητας του λαδιού, παρόμοια με τα PV ή AV (Guillen & Cabo, 2002).



Σχήμα 9: Τιμές συχνότητας της κορυφής κοντά στα  $3006\text{ cm}^{-1}$  έναντι του χρόνου υπό οξειδωτικές συνθήκες (Guillen & Cabo, 2002).

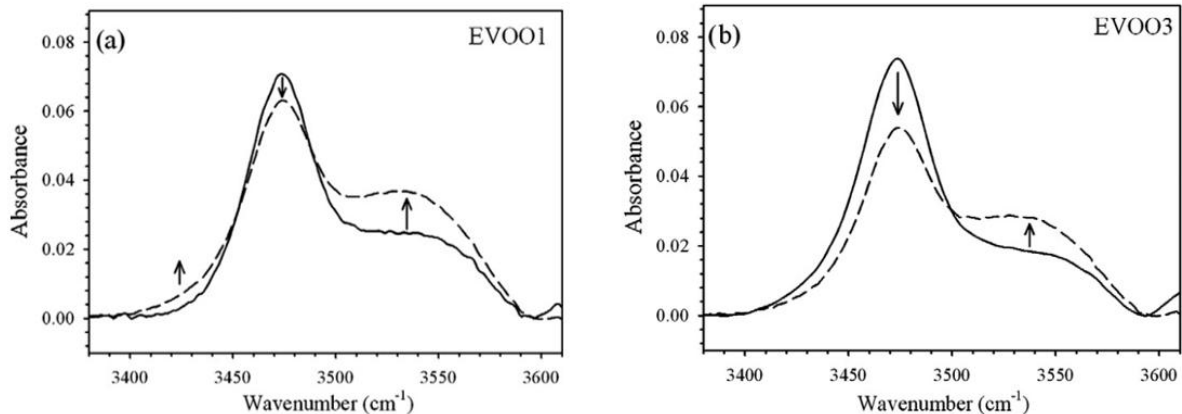
Έντονες αλλαγές παρατηρούνται και στην περιοχή δακτυλικού αποτυπώματος, ειδικά στους κυματαριθμούς  $968$  και  $986\text{ cm}^{-1}$  που αντιστοιχούν σε *trans* διπλούς δεσμούς. Επιπλέον, μειώνονται οι κορυφές στα  $3006\text{ cm}^{-1}$  και  $710\text{ cm}^{-1}$ , που αντιστοιχούν σε *cis* διπλούς δεσμούς (Guillen & Cabo, 2002). Υπάρχουν και κορυφές, κοντά στα  $1238$ ,  $1163$  και  $1118\text{ cm}^{-1}$  που σχετίζονται με τις δονήσεις τάσης των εστερικών C-O ομάδων, οι συχνότητες των οποίων δείχνουν μια εξέλιξη παρόμοια με αυτήν που παρατηρείται στη ζώνη γύρω από τα  $3006\text{ cm}^{-1}$ , καθ' όλη τη διάρκεια της διαδικασίας οξείδωσης.

Τα δείγματα μη οξειδωμένου ελαίου δείχνουν τη ζώνη των εστέρων των τριγλυκεριδίων στα  $1746\text{ cm}^{-1}$ . Κατά τη διάρκεια της οξείδωσης τα υδροϋπεροξειδία αποικοδομούνται σε δευτερεύοντα προϊόντα οξείδωσης, όπως αλδεΐδες και κετόνες, τα οποία δίνουν κορυφές κοντά στα  $1728\text{ cm}^{-1}$ . Αυτές οι κορυφές αλληλεπικαλύπτονται με αυτήν της εστερικής ομάδας στα  $1746\text{ cm}^{-1}$  προκαλώντας διεύρυνση της ζώνης και μείωση της συχνότητάς της. Οι κορυφές αυτές μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως δείκτης οξείδωσης. Η εξέλιξη της συχνότητας αυτής της ζώνης καθ' όλη τη διαδικασία οξείδωσης δίνεται στο Σχήμα 10.



Σχήμα 10: Τιμές συχνότητας ζώνης κοντά στα  $1746\text{ cm}^{-1}$  έναντι του χρόνου υπό οξειδωτικές συνθήκες.

Οι Navarra et al. (2011) μελέτησαν τη θερμική οξείδωση σε δείγματα εξαιρετικού παρθένου ελαιολάδου (35 μέρες στους 30, 60 και 90 °C) μέσω απορρόφησης FTIR. Παρακολούθησαν τις αλλαγές του προφίλ των κορυφών στα 967, 1119, 1163, 3006, 3470 και  $3530\text{ cm}^{-1}$  ως συνάρτηση του χρόνου θέρμανσης. Στα δείγματα ελαιολάδου, οι συχνότητες στα 1119 και  $1163\text{ cm}^{-1}$  έχουν αποδειχθεί ότι σχετίζονται με την ποσότητα των κορεσμένων ακυλομάδων και οι θέσεις αυτών των ζωνών σχετίζονται με το επίπεδο οξείδωσης του ελαίου. Η θερμική επεξεργασία προκάλεσε αλλαγές στα φάσματα FTIR στην περιοχή των κυματάριθμων  $3100\text{--}3600\text{ cm}^{-1}$ . Συγκεκριμένα, τα φάσματα IR, σε συμφωνία με τη βιβλιογραφία, δείχνουν ότι η διαδικασία οξείδωσης ξεκινά με το σχηματισμό υδροϋπεροξειδίων τα οποία αποικοδομούνται σχηματίζοντας δευτερεύοντα προϊόντα οξείδωσης (αλκοόλες, αλδεΐδες, κετόνες) που αποτυπώνονται από την τροποποίηση της κορυφής στα  $3530\text{ cm}^{-1}$ .



Σχήμα 11: Φάσματα FTIR δύο εξαιρετικά παρθένων ελαιολάδων (a) EVOO1 και (b) EVOO3, πριν (-) και μετά την αποθήκευση στους 90 °C για 35 ημέρες (--). Τα βέλη δείχνουν την κατεύθυνση των φασματικών αλλαγών που προκαλούνται από τη θερμότητα (Navarra et al., 2011).

Στο Σχήμα 11 φαίνονται δύο φάσματα IR για δυο διαφορετικά εξαιρετικά παρθένα ελαιόλαδα, μετά από θέρμανση στους 90 για 35 ημέρες. Φαίνεται η παρουσία ζωνών στα 3470 και 3530  $\text{cm}^{-1}$  περίπου. Η πρώτη αποδίδεται στην υπερτονική απορρόφηση του καρβονυλικού εστέρα της γλυκερόλης, η δεύτερη στην παρουσία δευτερογενών προϊόντων οξείδωσης, όπως αλκοόλες, αλδεΐδες ή κετόνες και συγκεκριμένα τη δόνηση τάσης των ομάδων OH. Αρχικά, η ζώνη στα 3468  $\text{cm}^{-1}$  γίνεται ευρύτερη και πιο έντονη λόγω του σχηματισμού υδροϋπεροξειδίων (3435  $\text{cm}^{-1}$ ). Η διαδικασία οξείδωσης συνεχίζεται με το σχηματισμό δευτερευόντων προϊόντων λόγω θέρμανσης. Αυτή η διαδικασία αποτυπώνεται στα φάσματα από την αύξηση απορρόφησης στα 3530  $\text{cm}^{-1}$  και τη σταδιακή ανάκτηση του σήματος 3468  $\text{cm}^{-1}$  (Navarra et al., 2011).

Οι Maggio et al. (2011) μελέτησαν παρθένο ελαιόλαδο μετά από θερμική επεξεργασία μέσω της φασματοσκοπίας IR και χημειομετρικής ανάλυσης. Ακόμα, ανέλυσαν τη σύσταση λιπαρών οξέων, την οξειδωτική σταθερότητα υπό εξαναγκασμένες συνθήκες (OSI), και τους ειδικούς συντελεστές απόσβεσης ( $K_{232}$  και  $K_{270}$ ). Σκοπός της έρευνας ήταν ο προσδιορισμός μέσω φασματοσκοπικής ανάλυσης των πιο σημαντικών ενώσεων κατά την οξείδωση και η δυνατότητα χρήσης των φασματοσκοπικών μεθόδων (Vis-NIR και FT-MIR) για τον έλεγχο των μαγειρεμένων ελαιολάδων. Μετά από επεξεργασία των φασμάτων μέσω PLS, βρέθηκαν δύο φασματικές ζώνες ως κύριες (1245-1180  $\text{cm}^{-1}$  και 1150-1030  $\text{cm}^{-1}$ ) στο MIR, ενώ μία

κύρια περιοχή εντοπίστηκε στο Vis-NIR (22.000-13.250  $\text{cm}^{-1}$ ). Αυτές οι περιοχές περιλαμβάνουν τις ζώνες που ανήκουν στα  $-\text{CH}_2-$  (1238  $\text{cm}^{-1}$ ), C–O (1238, 1138, 1118, 1097 και 1033  $\text{cm}^{-1}$ ), με την C–O να αναφέρεται ως μία από τις περιοχές που επηρεάζονται περισσότερο από την οξείδωση. Η επεξεργασία φασματοσκοπικών δεδομένων μέσω PLS μπόρεσε να διακρίνει μεταξύ των διαφορετικών ελαιολάδων και των διαφορετικών χρόνων θέρμανσης. Η προσέγγιση αυτή είναι χρήσιμη για την παρακολούθηση της οξειδωτικής κατάστασης των μαγειρεμένων ελαίων, τόσο σε βιομηχανική κλίμακα όσο και στον τομέα εστίασης τροφίμων (Maggio et al., 2011).

Οι αλλαγές που παρατηρούνται στα δεδομένα φασμάτων IR είναι χρήσιμοι δείκτες της οξειδωτικής σταθερότητας των βρώσιμων ελαίων καθώς σχετίζονται στενά με τις αλλαγές που παρατηρούνται στις τιμές του υπεροξειδίου και της ανισιδίνης κατά τη διάρκεια της οξείδωσης των δειγμάτων. Έτσι, επιτρέπει τον χαρακτηρισμό του σταδίου και του βαθμού οξείδωσης. Οι παραπάνω ερευνητές συμπέραναν πως η φασματοσκοπία FT-IR είναι ικανή να αντικαταστήσει τους κλασικούς δείκτες οξείδωσης κατά τον προσδιορισμό της οξειδωτικής σταθερότητας λόγω της απλότητας, του χαμηλού κόστους και της εξοικονόμησης χρόνου της μεθόδου.

#### 4.4.7. Προσδιορισμός φαινολικού κλάσματος μέσω IR

Οι Uncu και Ozen (2015) μελέτησαν τα συνολικά φαινολικά και τη φαινολική σύσταση ελαιολάδων με φασματοσκοπία FTIR στα 4000-650  $\text{cm}^{-1}$ . Κατασκευάστηκαν μοντέλα βαθμονόμησης PLS με στόχο να βρεθεί μια συσχέτιση μεταξύ των φασμάτων mid-IR και του περιεχομένου των φαινολικών ενώσεων στο ελαιόλαδο (φαινολικές αλκοόλες, φαινολικά οξέα, φλαβονοειδή και συνολικές φαινολικές ενώσεις). Οι φαινολικές αλκοόλες, τα φαινολικά οξέα, τα φλαβονοειδή και τα ολικά φαινολικά των ελαιολάδων οδήγησαν σε τέσσερα διαφορετικά μοντέλα βαθμονόμησης. Παρατηρήθηκαν καλά αποτελέσματα πρόβλεψης για τις συνολικές φαινολικές ενώσεις (σε σύγκριση με Folin Ciocalteu) και μεταξύ των φαινολικών ενώσεων η καλύτερη πρόβλεψη παρατηρείται για υδροξυτυροσόλη ενώ για τις υπόλοιπες φαινολικές ενώσεις δεν παρατηρήθηκαν σημαντικά αποτελέσματα (Uncu & Ozen, 2015).

Οι Mora-Ruiz et al. (2016) μελέτησαν τη εφαρμογή της φασματοσκοπίας NIR (12500–4000  $\text{cm}^{-1}$ ) και MIR (4000–375  $\text{cm}^{-1}$ ) για τη μελέτη πολικών φαινολικών ενώσεων παρθένου ελαιολάδου και για τις επιπτώσεις τους στην ποιότητα του λαδιού. Με βάση τη βιβλιογραφία, για τη φασματοσκοπία εγγύς υπέρυθρου (NIR), η καταλληλότερη φασματική περιοχή για τον προσδιορισμό της υδροξυτυροσόλης είναι στα 7500-6800  $\text{cm}^{-1}$ , που σχετίζεται με την πρώτη υπερτονική δόνηση τάσης του OH. Στην περίπτωση των παραγώγων τυροσόλης, η φασματική περιοχή που χρησιμοποιήθηκε ήταν 6100-4600  $\text{cm}^{-1}$  που αντιστοιχεί στην απορρόφηση της πρώτης υπερτονικής δόνησης τάσεως -OH. Ελήφθησαν ικανοποιητικά αποτελέσματα για τις συνολικές πολικές φαινολικές ενώσεις και τα παράγωγα υδροξυτυροσόλης και τυροσόλης με φασματοσκοπία NIR (Mora-Ruiz et al., 2016).

#### 4.4.8. Προσδιορισμός του προφίλ λιπαρών οξέων μέσω IR

Όντας τα κύρια συστατικά των ελαιολάδων, τα λιπαρά οξέα και τα τριγλυκερίδια τους κυριαρχούν στα φάσματα των ελαιολάδων. Οι Maggio et al. (2009) ανέφεραν μια ταχεία μέθοδο για τον προσδιορισμό του προφίλ λιπαρών οξέων των ελαιολάδων χρησιμοποιώντας φασματοσκοπία FTIR με ATR. Τα μοντέλα βαθμονόμησης λιπαρών οξέων (ελαϊκό οξύ, λινελαϊκό οξύ, SFA, MUFA και PUFA) δημιουργήθηκαν χρησιμοποιώντας παλινδρόμηση PLS στο φασματικό εύρος από 3033 έως 700  $\text{cm}^{-1}$ . Οι τιμές που ελήφθησαν για τον συντελεστή συσχέτισης για όλα τα μοντέλα ήταν στο εύρος 0,96-0,99 και η προτεινόμενη μέθοδος έδειξε αποτελέσματα συγκρίσιμα με αυτά που λαμβάνονται με την επίσημη μέθοδο, αλλά με το πλεονέκτημα ότι είναι πιο γρήγορη (Maggio et al., 2009). Επιπλέον οι Valli et al. (2013) επισήμαναν νέες παραμέτρους για την ανίχνευση χαμηλής ποιότητας εξαιρετικά παρθένου ελαιολάδου. Αυτές οι παράμετροι βασίστηκαν στη συνολική ποσότητα μεθυλ- και αιθυλεστέρων λιπαρών οξέων (FAMES + FAEEs) και την αναλογία τους (FAEEs/FAMES) εφαρμόζοντας παλινδρόμηση PLS στα φάσματα MIR. Τα φασματοσκοπικά δεδομένα συμφωνούσαν με τις προβλεπόμενες και τις πραγματικές τιμές αναφοράς των συνόλων δεδομένων βαθμονόμησης (Valli et al., 2013; Mahesar et al., 2019).

#### 4.5. Σύγκριση μεθόδων ανάλυσης ελαιολάδου

Στον Πίνακα 18 αναγράφονται συνοπτικά τα κυριότερα μειονεκτήματα και πλεονεκτήματα των ευρέως χρησιμοποιούμενων μεθόδων ανάλυσης του ελαιολάδου.

Πίνακας 18: Σύγκριση μεθόδων ανάλυσης ποιοτικής αλλοίωσης ελαιολάδου.

Μέθοδος ανάλυσης	Πλεονεκτήματα	Μειονεκτήματα
Ογκομετρική ανάλυση	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Πρότυπη μέθοδος</li> <li>2. Δεν απαιτείται εξειδικευμένος εξοπλισμός</li> <li>3. Απλή μεθοδολογία</li> </ol>	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Κατανάλωση αντιδραστηρίων</li> <li>2. Μεγάλη ποσότητα δείγματος</li> <li>3. Τοξικά αντιδραστήρια</li> <li>4. Χρονοβόρα μέθοδος</li> <li>5. Καταστρεπτική μέθοδος</li> </ol>
Φασματοφωτομετρία UV-VIS	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Απλή μεθοδολογία</li> <li>2. Ταχύτητα</li> <li>3. Ευελιξία</li> <li>4. Ικανότητα αυτοματοποίησης μέσω συγχρόνων μηχανημάτων (CDR, oxitester)</li> <li>5. Εύχρηστος χειρισμός</li> <li>6. Ικανότητας ανάλυσης πολλών δειγμάτων</li> </ol>	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Μικρή εκλεκτικότητα με αποτέλεσμα να απαιτείται προ-επεξεργασία</li> <li>2. Μικρή εξειδίκευση,</li> <li>3. Δεν παρέχει ποσοτικοποίηση για επιμέρους φαινολικές ενώσεις</li> <li>4. Κατανάλωση αντιδραστηρίων</li> <li>5. Καταστρεπτική μέθοδος</li> </ol>
Φασματοσκοπία υπέρυθρου (IR)	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Χαμηλό κόστος λειτουργίας</li> <li>2. Ταχύτητα</li> <li>3. Μη καταστρεπτική</li> <li>4. Καθόλου ή ελάχιστη προετοιμασία δείγματος</li> <li>5. Υψηλή επαναληψιμότητα</li> <li>6. Μη τοξικά αντιδραστήρια και διαλύτες</li> <li>7. Ικανότητας ανάλυσης πολλών δειγμάτων</li> </ol>	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Χρονοβόρα ανάλυση δεδομένων και κατασκευή μοντέλων βαθμονόμησης</li> </ol>
Αέρια χρωματογραφία (GC)	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Πρότυπη μέθοδος</li> <li>2. Υψηλή ευαισθησία και αποτελεσματικότητα</li> <li>3. Ακριβής</li> <li>4. Γρήγορος διαχωρισμός και ανάλυση</li> <li>5. Μικρή ποσότητα δείγματος</li> </ol>	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Χρονοβόρα εκχύλιση δείγματος</li> <li>2. Η υψηλή θερμοκρασία του φούρνου μπορεί να καταστρέψει το δείγμα, επομένως θα πρέπει να επιλεγεί προσεκτικά</li> <li>3. Καταστρεπτική μέθοδος</li> </ol>
Υγρή χρωματογραφία υψηλής απόδοσης (HPLC)	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Ακριβής και αναπαραγωγίμη</li> <li>2. Γρήγορη</li> <li>3. Υψηλή ευαισθησία</li> </ol>	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Υψηλό κόστος</li> <li>2. Χρονοβόρα εκχύλιση δείγματος</li> <li>3. Επίπονη ανάπτυξη νέων μεθόδων</li> <li>4. Καταστρεπτική μέθοδος</li> </ol>

Παρά το γεγονός πως για τη μέτρηση της ποιοτικής αλλοίωσης και της οξειδωτικής σταθερότητας των ελαιολάδων χρησιμοποιούνται ευρέως πολλές κλασικές μέθοδοι, η υπέρυθρη φασματοσκοπία μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την ίδια εργασία με πολλά πλεονεκτήματα:

- Το υπέρυθρο φάσμα μπορεί να δώσει πληροφορίες για τις διάφορες λειτουργικές ομάδες που υπάρχουν στο δείγμα σε σημαντικές αναλογίες
- Η ποσότητα του δείγματος ελαίου που απαιτείται για τη συλλογή ενός φάσματος είναι πολύ μικρή
- Η προετοιμασία του δείγματος και η συλλογή του φάσματος διαρκεί μόνο μερικά λεπτά
- Οι πηγές σφάλματος στην προετοιμασία του δείγματος, τη συλλογή φάσματος και τον προσδιορισμό συχνότητας και απορρόφησης είναι ελάχιστες, επειδή γίνονται αυτόματα και δεν απαιτείται προετοιμασία δείγματος
- Τέλος, το κόστος είναι επίσης ελάχιστο επειδή δεν απαιτούνται αντιδραστήρια

Για αυτούς τους λόγους η φασματοσκοπία υπέρυθρου μπορεί να αντικαταστήσει τις κλασικές μεθόδους, όχι μόνο στους ελέγχους ρουτίνας αλλά και στην έρευνα σχετικά με την οξειδωτική σταθερότητα ή την αντιοξειδωτική δράση των ελαίων. Οι φασματοσκοπικές τεχνικές (FTIR φασματοσκοπία) έχουν ξεπεράσει τα εγγενή μειονεκτήματα των κλασικών μεθόδων και αποτελούν μια πολλά υποσχόμενη αναλυτική τεχνική.

Ωστόσο, μέσω της φασματοσκοπία IR παράγεται τεράστια ποσότητα δεδομένων που απαιτούν ανάλυση, κυρίως μέσω χημειομετρίας, για να ανακτηθούν οι χρήσιμες πληροφορίες που απαιτεί δεξιοτέχνη και χρόνο. Η φασματοσκοπία IR χρησιμοποιείται για τον καθορισμό ορισμένων ποιοτικών παραμέτρων. Ωστόσο, για την ευρεία χρήση της είναι απαραίτητο να διεξαχθούν περαιτέρω έρευνες στις οποίες θα αναπτυχθούν μοντέλα βαθμονόμησης χρησιμοποιώντας ευρύ φάσμα δειγμάτων ελαιολάδου.



## Κεφάλαιο 5: Αναφορές

- Akil, E., Castelo Branco, V., Costa, A., Vendramini, A., Calado, V., & Torres, A. (2015). *Oxidative Stability and Changes in Chemical Composition of Extra Virgin Olive Oils After Short-Term Deep-Frying of French Fries*. *Journal of the American Oil Chemists' Society* (92), p. 409–421.
- Albi, T., Lanzón, A., Guinda, A., León, M., & Pérez-Camino, M. (1997). *Microwave and conventional heating effects on thermoxidative degradation of edible fats*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* (45), pp. 3795–3798.
- Allouche, Y., Jiménez, A., Gaforio, J., Uceda, M., & Beltrán, G. (2007). *How Heating Affects Extra Virgin Olive Oil Quality Indexes and Chemical Composition*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* (55), pp. 9646–9654.
- Amirante, P., Clodoveo, M., Dugo, G., Leone, A., & Tamborrino, A. (2006). *Virgin olive oil production from de-stoned pastes: A new technology to improve the shelf life of the product*. *Italian Journal of Food Science* (19), pp. 116-120.
- Amirante, P., Clodoveo, M., Tamborrino, A., Leone, A., & Paice, A. (2010). Chapter 8 - *Influence of the Crushing System: Phenol Content in Virgin Olive Oil Produced from Whole and De-stoned Pastes*. In V. Preedy, & R. Watson, *Olives and Olive Oil in Health and Disease Prevention* (pp. 69-76). Academic Press.
- Andrikopoulos, N., Kalogeropoulos, N., Falirea, A., & Barbagianni, M. (2002). *Performance of virgin olive oil and vegetable shortening during domestic deep-frying and pan-frying of potatoes*. *International Journal of Food Science and Technology* (32), pp. 177–190.
- AOCS. (2017). *Official methods and recommended practices of the AOCS* (7th. ed). Urbana, IL: American Oil Chemists Society.
- Aparicio, R., Roda, L., Albi, M., & Gutie´rrez, F. (1999). *Effect of Various Compounds on Virgin Olive Oil Stability Measured by Rancimat*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* (47), pp. 4150–4155.

- Bastida, S., & Sánchez-Muniz, F. (2002). *Polar content vs. TAG oligomer content in the frying-life assessment of monounsaturated and polyunsaturated oils used in deep-frying*. Journal of the American Oil Chemists' Society (79), pp. 447–451.
- Bendini, A., Cerretani, L., Carrasco-Pancorbo, A., Gómez-Caravaca, A., Segura-Carretero, A., Fernández-Gutiérrez, A., & Lercker, G. (2007). *Phenolic Molecules in Virgin Olive Oils: A Survey of Their Sensory Properties, Health Effects, Antioxidant Activity and Analytical Methods. An Overview of the Last Decade*. Molecules (12), pp. 1679-1719.
- Bendini, A., Cerretani, L., Virgilio, F., Belloni, P., Lercker, G., & Toschi, T. (2007). *In process monitoring in industrial olive mill by means of FT-NIR*. European Journal of Lipid Science and Technology (109), pp. 498-504.
- Bendini, A., Valli, E., Cerretani, L., Chiavaro, E., & Lercker, G. (2009). *Study on the Effects of Heating of Virgin Olive Oil Blended with Mildly Deodorized Olive Oil: Focus on the Hydrolytic and Oxidative State*. Journal of Agricultural and Food Chemistry (59), pp. 10055–10062.
- Bertran, E., Blanco, M., Coello, J., Iturriaga, H., MasPOCH, S., & Montoliu, I. (1999). *Determination of Olive Oil Free Fatty Acid by Fourier Transform Infrared Spectroscopy*. Journal of the American Oil Chemists' Society (56), pp. 611-617.
- Boskou, D. (2009). *Other important minor constituents*. Στο D. Boskou, Olive oil minor constituents and health. (pp. 11–54). CRC Press.
- Boskou, D., Tsimidou, M., & Blekas, G. (2006). *Olive oil composition*. Στο D. Boskou, Olive oil chemistry and technology 2nd ed. (pp. 41–72). American Oil Chemists' Society.
- Boskou, G., Salta, F., Chiou, A., Troullidou, E., & Andrikopoulos, N. (2006). *Content of trans, trans-2,4-decadienal in deep-fried and pan-fried potatoes*. European Journal of Lipid Science and Technology (108), pp. 109–115.
- Brenes, M., García, A., Dobarganes, M., Velasco, J., & Romero, C. (2002). *Influence of thermal treatments simulating cooking processes on the polyphenol content in virgin olive oil*. Journal of Agricultural and Food Chemistry (50), pp. 5962–5967.

Caldwell, J., Cooke, B., & Greer, M. (1669–1674). *High Performance Liquid Chromatography–Size Exclusion Chromatography for Rapid Analysis of Total Polar Compounds in Used Frying Oils*. *Journal of the American Oil Chemists' Society* (88), pp. 2011.

Caponio, F., Pasqualone, A., & Gomes, T. (2002). *Effects of conventional and microwave heating on the degradation of olive oil*. *European Food Research and Technology* (215), pp. 114–117.

Caponio, F., Pasqualone, A., & Gomes, T. (2003). *Changes in the fatty acid composition of vegetable oils in model doughs submitted to conventional or microwave heating*. *International Journal of Food Science and Technology* (38), pp. 481–486.

Carrasco-Pancorbo, A., Cerretani, L., Bendini, A., Segura-Carretero, A., Lercker, G., & Fernández-Gutiérrez, A. (2007). *Evaluation of the influence of thermal oxidation on the phenolic composition and on the antioxidant activity of extra-virgin olive oils*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* (55), pp. 4771–4780.

Casal, S., Malheiro, R., Sendas, A., Oliveira, B., & Pereira, J. (2010). *Olive oil stability under deep-frying conditions*. *Food and Chemical Toxicology* (48), pp. 2972–2979.

Cayuela Sanchez, J., Moreda, W., & García, J. (2003). *Rapid determination of olive oil oxidative stability and its major quality parameters using vis/NIR transmittance spectroscopy*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* (61), pp. 8056–8062.

CDR FOODLAB. (2021, 03 25). *Peroxide Value test in Fats and Oils*. Ανάκτηση από <https://www.cdrfoodlab.com/foods-beverages-analysis/peroxide-value-oils-fats/>

Ceci, L., Mattar, S., & Carelli, A. (2017). *Chemical quality and oxidative stability of extra virgin olive oils from San Juan province (Argentina)*. *Food Research International* (100), pp. 764–770.

Cerretani, L., Bendini, A., Rodriguez-Estrada, M., Vittadini, E., & Chiavaro, E. (2009). *Microwave heating of different commercial categories of olive oil: Part I. Effect on chemical oxidative stability indices and phenolic compounds*. *Food Chemistry* (115), pp. 1381–1388.

Cerretani, L., Giuliani, A., Maggio, R., Bendini, A., Toschi, T., & Cichelli, A. (2010). *Rapid FTIR determination of water, phenolics and antioxidant activity of olive oil*. *European Journal of Lipid Science and Technology* (112), pp. 1150–1157.

- Chatzilazarou, A., Gortzi, O., Lalas, S., Zoidis, E., & Tsaknis, J. (2006). *Physicochemical changes of olive oil and selected vegetable oils during frying*. *Journal of Food Lipids* (13), pp. 27-31.
- Cheikhousman, R., Zude, M., Bouveresse, D., Léger, C., Rutledge, D., & Birlouez-Aragon, I. (2005). *Fluorescence spectroscopy for monitoring deterioration of extra virgin olive oil during heating*. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* (382), pp. 1438–1443.
- Chiou, A., Kalogeropoulos, N., Boskou, G., & Salta, F. (2012). *Migration of health promoting microconstituents from frying vegetable oils to French fries*. *Food Chem* (133), pp. 1255–63.
- Chiou, A., Kalogeropoulos, N., Salta, F., Efstathiou, P., & Andrikopoulos, N. (2009). *Pan-frying of French fries in 3 different edible oils enriched with olive leaf extract: oxidative stability and fate of microconstituents*. *LWT -Food Science & Technology* (42), pp. 1090–7.
- Christy, A., Egeberg, P., & Østensen, E. (2003). *Simultaneous quantitative determination of isolated trans fatty acids and conjugated linoleic acids in oils and fats by chemometric analysis of the infrared profiles*. *Vibrational Spectroscopy* (33), pp. 37-48.
- Cinquanta, L., Esti, M., & Matteo, M. (2001). *Oxidative stability of virgin olive oils*. *JAOCS* (78), pp. 1197-1202.
- Cossignani, L., Simonetti, M., Neri, A., & Damiani, P. (1998). *Changes in olive oil composition due to microwave heating*. *Journal of the American Oil Chemists' Society* (75), pp. 931–937.
- Daskalaki, D., Kefi, G., Kotsiou, K., & Tasioula-Margari, M. (2009). *Evaluation of phenolic compounds degradation in virgin olive oil during storage and heating*. *Journal of Food and Nutrition Research* (48), pp. 31–41.
- Dunn, R. (2008). *Effect of Temperature on the Oil Stability Index (OSI) of Biodiesel*. *Energy & Fuels* (22), pp. 657–662.
- Farhoosh, R., Khodaparast, M., Sharif, A., & Rafiee, S. (2013). *Effect of Initial Quality and Compositional Parameters on Total Polar Compounds Formation during Continuous Heating of Olive Oil*. *Journal of Agriculture, Science and Technology* (15), pp. 527-535.
- Frankel, E. (2010). *Chemistry of Extra Virgin Olive Oil: Adulteration, Oxidative Stability, and Antioxidants*. *Journal of Agricultural Food Chemistry* (58), pp. 5991–6006.

- Fullana, A., Carbonell-Barrachina, A., & Sidhu, S. (2004). *Comparison of volatile aldehydes present in the cooking fumes of extra virgin olive, olive, and canola oils*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* (52), pp. 5207–5214.
- Ghanbari, R., Anwar, F., Alkharfy, K., Gilani, A.-H., & Saari, N. (2012). *Valuable Nutrients and Functional Bioactives in Different Parts of Olive (Olea europaea L.)—A Review*. *International Journal of Molecular Sciences* (13), pp. 3291-3340.
- Giuffrè, A., Capocasale, M., Macrì, R., Caracciolo, M., Zappia, C., & Poiana, M. (2020). *Volatile profiles of extra virgin olive oil, olive pomace oil, soybean oil and palm oil in different heating conditions*. *LWT - Food Science and Technology* (117), pp. 108631.
- Gómez-Alonso, S., Fregapane, G., Salvador, M., & Gordon, M. (2003). *Changes in phenolic composition and antioxidant activity of virgin olive oil during frying*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* (51), pp. 667–672.
- Gomez-Caravaca, A., Maggio, R., & Cerretani, L. (2016). *Chemometric applications to assess quality and critical parameters of virgin and extra-virgin olive oil. A review*. *Analytica Chimica Acta* pp. (913), 1-21.
- Guillen, M., & Cabo, N. (2002). *Fourier transform infrared spectra data versus peroxide and anisidine values to determine oxidative stability of edible oils*. *Food Chemistry* (77), pp. 503-510.
- Gutierrez, F., & Fernandez, J. (2007). *Determinant Parameters and Components in the Storage of Virgin Olive Oil. Prediction of Storage Time beyond Which the Oil Is No Longer of "Extra" Quality*. *Journal of the Science of Food and Agriculture* (87), pp. 2721–2727.
- Inarejos-García, A., Gomez-Alonso, S., Fregapane, G., & Salvador, M. (2013). *Evaluation of minor components, sensory characteristics and quality of virgin olive oil by near infrared (NIR) spectroscopy*. *Food Research International* (50), pp. 250-258.
- Iñón, F., Garrigues, J., Garrigues, S., Molina, A., & Guardia, M. (2003). *Selection of calibration set samples in determination of olive oil acidity by partial least squares–attenuated total reflectance–Fourier transform infrared spectroscopy*. *Analytica Chimica Acta* (489), pp. 59–75.

IOC. (2011, November). *Guide for the determination of the characteristics of oil-olives*. COI/OH/Doc. No 1. Ανάκτηση από <https://www.internationaloliveoil.org/what-we-do/chemistry-standardisation-unit/standards-and-methods/>

IOC. (2019). *Trade standard applying to olive oils and olive pomace oils*. COI/T.15/NC No 3/Rev. 13. Ανάκτηση από <https://www.internationaloliveoil.org/what-we-do/chemistry-standardisation-unit/standards-and-methods/>

Isbell, T., Abbott, T., & Carlson, K. (1999). *Oxidative stability index of vegetable oils in binary mixtures with meadowfoam oil*. *Industrial Crops and Products* (9), pp. 115-123.

Jiang, Z.-Y., Woollard, A., & Wolff, S. (1991). *Lipid hydroperoxide measurement by oxidation of Fe<sup>2+</sup> in the presence of xylenol orange. Comparison with the TBA assay and an iodometric method*. *Lipids* (26), pp. 853–856.

Jiménez Márquez, A., Molina Díaz, A., & Pascual Reguera, M. (2005). *Using optical NIR sensor for on-line virgin olive oils characterization*. *Sensors and Actuators B* (107), pp. 64-68.

Kalogeropoulos, N., & Chiou, A. (2017). *Virgin Olive Oil as Frying Oil*. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* (16), pp. 632-646.

Kalogeropoulos, N., & Tsimidou, M. (2014). *Antioxidants in Greek Virgin Olive Oils*. *Antioxidants* (3), pp. 387-413. doi:10.3390/antiox3020387

Kalogeropoulos, N., Chiou, A., Mylona, A., Ioannou, M., & Andrikopoulos, N. (2007a). *Recovery and distribution of natural antioxidants ( $\alpha$ -tocopherol, polyphenols and terpenic acids) after pan-frying of Mediterranean finfish in virgin olive oil*. *Food Chemistry* (100), pp. 509–517.

Kalogeropoulos, N., Mylona, A., Chiou, A., Ioannou, M., & Andrikopoulos, N. (2007b). *Retention and distribution of natural antioxidants ( $\alpha$ -tocopherol, polyphenols and terpenic acids) after shallow frying of vegetables in virgin olive oil*. *LWT- Food Science and Technology* (40), pp. 1008–1017.

Kalogianni, E., Karastogiannidou, C., & Karapantsios, T. (2010). *Effect of potato presence on the degradation of extra virgin olive oil during frying*. *International Journal of Food Science and Technology* (45), pp. 765–775.

- Karakaya, S., & Simsek, S. (2011). *Changes in Total Polar Compounds, Peroxide Value, Total Phenols and Antioxidant Activity of Various Oils Used in Deep Fat Frying*. *Journal of the American Oil Chemists' Society* (88), pp. 1361–1366.
- Kishimoto, N. (2019). *Microwave Heating Induces Oxidative Degradation of Extra Virgin Olive Oil*. *Food Science and Technology Research* (25), pp. 75-79.
- Kuligowski, J., Quintas, G., Garrigues, S., & Guardia, M. (2010). *Monitoring of Polymerized Triglycerides in Deep-Frying Oil by On-Line GPC-FTIR Spectrometry Using the Science Based Calibration Multivariate Approach*. *Chromatographia* (71), pp. 201–209.
- Jerma-García, M., Simó-Alfonso, E., Bendini, A., & Cerretani, L. (2009). *Rapid evaluation of oxidized fatty acid concentration in virgin olive oils using metal oxide semiconductor sensors and multiple linear regression*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* (57), pp. 9365-9369.
- Jerma-García, M., Simó-Alfonso, E., Bendini, A., & Cerretani, L. (2011). *Rapid evaluation of oxidised fatty acid concentration in virgin olive oil using Fourier-transform infrared spectroscopy and multiple linear regression*. *Food Chemistry* (124), pp. 679-684.
- Li, H., Voort, F., Ismail, A., & Cox, R. (2000). *Determination of Peroxide Value by Fourier Transform Near-Infrared Spectroscopy*. *Journal of the American Oil Chemists Society* (77), pp. 137-142.
- Li, X., & Wang, S. (2018). *Shelf Life of Extra Virgin Olive Oil and Its Prediction Models*. *Journal of Food Quality*, Article ID 1639260.
- Lou-Bonafonte, J., Gabas-Rivera, C., Navarro, M., & Osada, J. (2015). *PON1 and Mediterranean diet*. *Nutrients* (7), pp. 4068–4092.
- Lozano-Castellón, J., Vallverdú-Queralt, A., Fernando Rinaldi de Alvarenga, J., Illán, M., Torrado-Prat, X., & Lamuela-Raventós, R. (2020). *Domestic Sautéing with EVOO: Change in the Phenolic Profile*. *Antioxidants* (9,77).
- Maggio, R., Kaufman, T., Del-Carlo, M., Cerretani, L., Bendini, A., & Cichelli, A. (2009). *Monitoring of fatty acid composition in virgin olive oil by Fourier transformed infrared spectroscopy coupled with partial least squares*. *Food Chemistry* (114), pp. 1549-1554.

- Maggio, R., Valli, E., Bendini, A., Gómez-Caravaca, A., Toschi, T., & Cerretani, L. (2011). *A spectroscopic and chemometric study of virgin olive oils subjected to thermal stress*. *Food Chemistry* (127), pp. 216-221.
- Mahesar, S., Lucarini, M., Durazzo, A., Santini, A., Lampe, A., & Kiefer, J. (2019). *Application of Infrared Spectroscopy for Functional Compounds Evaluation in Olive Oil: A Current Snapshot: Review*. *Journal of Spectroscopy*, 1-12.
- Mahmoud, E., Dostálová, J., Pokorný, J., Lukešová, D., & Doležal, M. (2009). *Oxidation of olive oils during microwave and conventional heating for fast food preparation*. *Czech Journal of Food Sciences* (27), pp. 173–177.
- Mailer, R. (2004). *Rapid evaluation of olive oil quality by NIR reflectance spectroscopy*. *Journal of the American Oil Chemists' Society* (81), pp. 823-827.
- Malheiro, R., Oliveira, I., Vilas-Boas, M., Falcão, S., Bento, A., & Pereira, J. (2009). *Effect of microwave heating with different exposure times on physical and chemical parameters of olive oil*. *Food and Chemical Toxicology* (47), pp. 92–97.
- Mateos, R., Dominguez, M., Espartero, J., & Cert, A. (2003). *Antioxidant effect of phenolic compounds,  $\alpha$ -tocopherol and other minor components in virgin olive oil*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* (51), pp. 7170–7175.
- Meenu, M., Cai, Q., & Xu, B. (2019). *A critical review on analytical techniques to detect adulteration of extra virgin olive oil*. *Trends in Food Science & Technology* (91), pp. 391-408.
- Messina, V., Biolatto, A., Descalzo, A., Sancho, A., Baby, R., & Reça, N. (2009). *Effect of pan-frying in extra-virgin olive oil on odour profile, volatile compounds and vitamins*. *International Journal of Food Science and Technology* (44), pp. 552–559.
- Mora-Ruiz, M., Reboredo-Rodríguez, P., Salvador, M., Gonzalez-Barreiro, C., Cancho-Grande, B., Gandara, J., & Fregapane, G. (2016). *Assessment of polar phenolic compounds of virgin olive oil by NIR and mid-IR spectroscopy and their impact on quality*. *European Journal of Lipid Science and Technology* (118).



- Navarra, G., Cannas, M., D'Amico, M., Giacomazza, D., Militello, V., Vaccaro, L., & Leone, M. (2011). *Thermal oxidative process in extra-virgin olive oils studied by FTIR, rheology and time-resolved luminescence*. *Food Chemistry* (126), pp. 1226-1231.
- Nissiotis, M., & Tasioula-Margari, M. (2002). *Changes in antioxidant concentration of virgin olive oil during thermal oxidation*. *Food Chemistry* (77), pp. 371–376.
- Nunes, A., Martins, J., Barros, A., Galvis-Sanchez, A., & Delgadillo, I. (2009). *Estimation of olive oil acidity using FT-IR and partial least squares regression*. *Sensing and Instrumentation for Food Quality and Safety* (3), pp. 187–191.
- Olivero-David, R., Mena, C., Pérez-Jimenez, A., Sastre, B., Bastida, S., Marquez-Ruiz, G., & Sanchez-Muniz, F. (2014). *Influence of Picual olive ripening on the virgin olive oil alteration and stability during potato frying*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* (62), pp. 11637–1164.
- Osawa, C., Gonçalves, L., Gumerato, H., & Mendes, F. (2012). *Study of the effectiveness of quick tests based on physical properties for the evaluation of used frying oil*. *Food Control* (26), pp. 525-530.
- Oueslati, I., Taamalli, A., Loubiri, A., Arraez-Roman, D., Segura-Carretero, A., & Zarrouk, M. (2020). *Assessment of conventional and microwave heating effects on the variation of the bioactive compounds of Chetoui VOO using HPLC-DAD-ESI-TOF-MS*. *Arabian Journal of Chemistry* (13), pp. 954-965.
- Pellegrini, N., Visioli, F., Buratti, S., & Brighenti, F. (2001). *Direct analysis of total antioxidant activity of olive oil and studies on the influence of heating*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* (49), pp. 2532–2538.
- Pike, O. (2001). *Assessment of Oxidative Stability for Lipids*. *Current Protocols in Food Analytical Chemistry*, D2.3.1-D2.3.5.
- Procida, G., Cichelli, A., Compagnone, D., Maggio, R., Cerretani, L., & Carlo, M. (2009). *Influence of chemical composition of olive oil on the development of volatile compounds during frying*. *European Food Research and Technology* (230), pp. 217–229.

- Ramírez-Anaya, J., Castañeda-Saucedo, C., Olalla-Herrera, M., Villalón-Mir, M., López-García de la Serrana, H., & Samaniego-Sánchez, C. (2019). *Changes in the Antioxidant Properties of Extra Virgin Olive Oil after Cooking Typical Mediterranean Vegetables*. *Antioxidants* (8), 246.
- Ramirez-Anaya, J., Samaniego-Sanchez, C., Castaneda-Saucedo, M., Villalon-Mir, M., Serrana, H. (2015). *Phenols and the antioxidant capacity of Mediterranean vegetables prepared with extra virgin olive oil using different domestic cooking techniques*. *Food Chemistry* (188), pp. 430–438.
- Rohman, A. (2016). *Infrared spectroscopy for quantitative analysis and oil parameters of olive oil and virgin coconut oil: A Review*. *International Journal of Food Properties*.
- Romero, A., Cuesta, C., & Sánchez-Muniz, F. (2000). *Cyclic fatty acid monomers and thermoxidative alteration compounds formed during frying of frozen foods in extra virgin olive oil*. *Journal of the American Oil Chemists' Society* (77), pp. 1169–1175.
- Romero, A., Cuesta, C., & Sánchez-Muniz, F. (2003). *Cyclic FA monomers in high-oleic acid sunflower oil and extra virgin olive oil used in repeated frying of fresh potatoes*. *Journal of the American Oil Chemists' Society* (80), pp. 437–442.
- Rotich, V., Al Riza, D., Giametta, F., Suzuki, T., Ogawa, Y., & Kondo, N. (2020). *Thermal oxidation assessment of Italian extra virgin olive oil using an UltraViolet (UV) induced fluorescence imaging system*. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular* (237), pp. 118373.
- Sánchez-Villegas, A., & Sánchez-Tainta, A. (2018). Chapter 4 - *Virgin Olive Oil: A Mediterranean Diet Essential*. Στο A. Sánchez-Villegas, & A. Sánchez-Tainta, *The Prevention of Cardiovascular Disease Through the Mediterranean Diet* (pp. 59-87). Academic Press.
- Santos, C., Cruz, R., Cunha, S., & Casal, S. (2013). *Review: Effect of cooking on olive oil quality attributes*. *Food Research International* (54), pp. 2016-2024.
- Servili, M., & Montedoro, G. (2002). *Contribution of phenolic compounds to virgin olive oil quality*. *European Journal of Lipid Science and Technology* (104), pp. 602-613.

- Silva, L., Garcia, B., & Paiva-Martins, F. (2010). *Oxidative stability of olive oil and its polyphenolic compounds after boiling vegetable process*. *LWT- Food Science and Technology* (43), pp. 1336–1344.
- Sinelli, N., Casale, M., Egidio, V., Oliveri, P., Bassi, D., Tura, D., & Casiraghi, E. (2010). *Varietal discrimination of extra virgin olive oils by near and mid infrared spectroscopy*. *Food Research International* (43), pp. 2126-2131.
- Sinelli, N., Cerretani, L., Di Egidio, V., Bendini, A., & Casiraghi, E. (2010). *Application of near (NIR) infrared and mid (MIR) infrared spectroscopy as a rapid tool to classify extra virgin olive oil on the basis of fruity attribute intensity*. *Food Research International* (43), pp. 369–375.
- Sinelli, N., Cosio, S., Gigliotti, C., & Casiraghi, E. (2007). *Preliminary study on application of mid infrared spectroscopy for the evaluation of the virgin olive oil “freshness”*. *Analytica Chimica Acta* (598), pp. 128-134.
- Szydłowska-Czerniak, A., Tułodziecka, A., & Sztyk, E. (2012). *Determination of antioxidant capacity of unprocessed and processed food products by spectrophotometric methods*. *Food Analytical Methods* (5), pp. 807–13.
- Uncu, O., & Ozen, B. (2015). *Prediction of various chemical parameters of olive oils with Fourier transform infrared spectroscopy*. *LWT - Food Science and Technology* (63), pp. 1-7.
- Uriarte, P., & Guillén, M. (2010). *Formation of toxic alkylbenzenes in edible oils submitted to frying temperature. Influence of oil composition in main components*. *Food Research International* (43), pp. 2161–2170.
- Valavanidis, A., Nisiotou, C., Papageorgiou, Y., Kremli, I., Satravelas, N., & Zinieris, N. (2004). *Comparison of the radical scavenging potential of polar and lipidic fractions of olive oil and other vegetable oils under normal conditions and after thermal treatment*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* (52), pp. 2358–2365.
- Valli, E., Bendini, A., Cerretani, L., Fu, S., Segura-Carretero, A., & Cremonini, M. (2010). *Effects of Heating on Virgin Olive Oils and Their Blends: Focus on Modifications of Phenolic Fraction*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* (58), pp. 8158–8166.

- Valli, E., Bendini, A., Maggio, R., Cerretani, L., Toschi, T., & Casiraghi, E. (2013). *Detection of low-quality extra virgin olive oils by fatty acid alkyl esters evaluation: a preliminary and fast mid-infrared spectroscopy discrimination by a chemometric approach*. *International Journal of Food Science & Technology* (28), pp. 548-555.
- Velasco, J., & Dobarganes, C. (2002). *Oxidative stability of virgin olive oil*. *European Journal of Lipid Science and Technology* (104), pp. 661–676.
- Vlachos, N., Skopelitis, Y., Psaroudaki, M., Konstantinidou, V., Chatzilazarou, A., & Tegou, E. (2006). *Applications of Fourier transform-infrared spectroscopy to edible oils*. *Analytica Chimica Acta* (573–574), pp. 459–465.
- Warner, K. (2002). *Chemistry of Frying Oils*. Στο C. Akoh, & D. Min, *Food Lipids: Chemistry, Nutrition, and Biotechnology*, Second Edition (pp. 205–221). New York: Marcel Dekker.
- Wójcicki, K., Khmelinskii, I., & Sikorska, E. (2015). *Near and mid infrared spectroscopy and multivariate data analysis in studies of oxidation of edible oils*. *Food Chemistry* (187) , 416–423.
- Xu, X.-Q. (1999). *A Modified VERI-FRY® Quick Test for Measuring Total Polar Compounds in Deep-Frying Oils*. *JAOCS* (76), pp. 1087-1090.
- Xu, X.-Q. (2000). *A New Spectrophotometric Method for the Rapid Assessment of Deep-Frying Oil Quality*. *Journal of the American Oil Chemists' Society* (77), pp. 1083-1087.
- Κανονισμός (ΕΟΚ) 2568/91. (1991). Αριθ. 2568/91 σχετικά με τον προσδιορισμό των χαρακτηριστικών των ελαιολάδων και των πυρηνελαίων καθώς.
- Κώτσιου, Κ. (2015). *Μεταβολές των συστατικών του ελαιολάδου κατά την αποθήκευση και το μαγείρεμα*. Διδακτορική Διατριβή. Ιωάννινα: Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων, ΣΘΕ: Τμήμα Χημείας.