



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΠΕΛΟΠΟΝΝΗΣΟΥ
ΣΧΟΛΗ ΓΕΩΠΟΝΙΑΣ ΚΑΙ ΤΡΟΦΙΜΩΝ
ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΚΑΙ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ

ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ
ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑ ΚΑΙ ΠΟΙΟΤΗΤΑ ΕΠΙΤΡΑΠΕΖΙΑΣ ΕΛΙΑΣ ΚΑΙ
ΕΛΑΙΟΛΑΔΟΥ

Η ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑ ΤΗΣ ΜΙΚΡΟ ΕΝΘΥΛΑΚΩΣΗΣ ΣΤΗ ΣΤΗΡΙΞΗ ΤΗΣ
ΑΥΘΕΝΤΙΚΟΤΗΤΑΣ ΤΟΥ ΕΛΑΙΟΛΑΔΟΥ

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

ΒΕΡΟΥΤΗΣ ΔΗΜΗΤΡΙΟΣ

Που υποβάλλεται στο καθηγητικό σώμα για τη μερική εκπλήρωση των υποχρεώσεων
απόκτησης Διπλώματος Μεταπτυχιακών Σπουδών στην «Τεχνολογία και Ποιότητα
Επιτραπέζιας Ελιάς και Ελαιολάδου» του Τμήματος Επιστήμης και Τεχνολογίας
Τροφίμων του Πανεπιστημίου Πελοποννήσου

ΕΠΙΒΛΕΠΩΝ: ΖΑΚΥΝΘΙΝΟΣ ΓΕΩΡΓΙΟΣ

ΚΑΛΑΜΑΤΑ
2022



UNIVERSITY OF PELOPONNESE
SCHOOL OF AGRICULTURE AND FOOD
DEPARTMENT OF FOOD SCIENCE AND TECHNOLOGY

MASTER OF SCIENCE (M.SC.) IN
TECHNOLOGY AND QUALITY OF TABLE OLIVES AND OLIVE
OIL

THE TECHNOLOGY OF MICRO ENCAPSULATION IN SUPPORT OF OLIVE
OIL AUTHENTICITY

Master Thesis

VEROUTIS DIMITRIS

Submitted to the faculty for the partial fulfillment of the obligations to obtain a
Postgraduate Diploma in "Technology and Quality of Table Olive and Olive Oil" of
the Department of Food Science and Technology of the University of Peloponnese

SUPERVISOR: ZAKYNTHINOS GEORGIOS

KALAMATA
2022

*Η μελέτη είναι αφιερωμένη στους γονείς μου,
την οικογένειά μου και τους ανθρώπους που είναι γύρω μου, για την κατανόηση,
την αγάπη και την υλική συμπαράσταση που μου παρείχαν καθ' όλη τη διάρκεια
των σπουδών μου.*

*Επίσης θα ήθελα να εκφράσω τις θερμές ευχαριστίες μου στον επιβλέποντα
καθηγητή Ζακυνθινό Γιώργο για την ευκαιρία που μου έδωσε να πραγματοποιήσω
αυτή τη μελέτη, καθώς και για την πολύτιμη καθοδήγηση, στήριξη και βοήθειά του
κατά την συγγραφή της μελέτης αυτής.*

Περιεχόμενα

ΠΕΡΙΛΗΨΗ	6
ABSTRACT	7
ΕΙΣΑΓΩΓΗ.....	8
Κεφάλαιο 1° : Ελαιόλαδο : σημασία και παραγωγική διαδικασία	9
1.1 Ιστορικά στοιχεία	9
1.2 Ορισμός ελαιόλαδου και τύποι.....	15
➤ Παρθένο ελαιόλαδο	15
➤ Ελαιόλαδο λαμπαντε	16
➤ Εξευγενισμένο ελαιόλαδο	16
1.3 Παραγωγική διαδικασία	16
Κεφάλαιο 2° : Παράγοντες ποιότητας και μεταβολές στο χρόνο	22
2.1 Λιπαρά οξέα	22
2.2 Στερόλες	22
2.3 Φαινολικά συστατικά	23
2.3 Χρωστικές	25
2.4 Τοκοφερόλες	28
2.5 Οξείδωση και λιπόλυση ελαιόλαδου	29
2.4.1 Ενζυματική αποικοδόμηση ελαιόλαδου	34
2.4.2 Αυτοοξείδωση λιπιδίων	35
2.4.3 Φωτοοξείδωση.....	37
2.4.4 Προϊόντα οξείδωσης.....	38
2.4.5 Μεταβολή χρωστικών ουσιών.....	40
2.5 Αυθεντικότητα ελαιόλαδου	41
2.6 Μέθοδοι ανίχνευσης αυθεντικότητας ελαιόλαδου	44
2.7 Ανίχνευση ουσιών	50
2.7.1 Ανίχνευση τιμής υπεροξειδίων (Peroxide Value, PV)	50
2.7.2 Ανίχνευση αιθελεστέρων και λιπαρών οξέων	51
2.7.3 Σύνθεση σε στερόλες.....	52
2.7.4 Σύνθεση σε κήρους και τριτερπενικές αλκοόλες	53
2.7.5 Οργανοληπτική αξιολόγηση.....	53
2.8 Προβλήματα αυθεντικότητας	54
Κεφάλαιο 3° : Μικροενθυλάκωση.....	55
3.1 Ιστορικά στοιχεία	55

3.2 Ορισμός – τι είναι.....	56
3.3 Τεχνικές μικροενθυλάκωσης.....	59
3.3.1 Ξήρανση με ψεκασμό.....	60
3.3.2 Ψύξη με ψεκασμό.....	63
3.3.3 Διαχωρισμός κολλοειδούς.....	63
3.3.4 Γαλακτωματοποίηση μέσω εξάτμισης.....	64
3.3.5 Ξήρανση με ψύξη (λυοφιλίωση).....	65
3.3.6 Εξώθηση.....	66
3.3.7 Συσσωμάτωση.....	68
3.3.8 Νανοκαθίζηση.....	70
3.3.9 Ιονική ζελατινοποίηση.....	71
3.4 Μηχανισμός απελευθέρωσης – εξώθησης ουσίας.....	71
3.5 Υλικό τοιχώματος.....	73
3.6 Εφαρμογές στην βιομηχανία τροφίμων.....	75
3.7 Προοπτικές και προβλήματα.....	76
Κεφάλαιο 4 ^ο : Εφαρμογή μικροενθυλάκωσης στο ελαιόλαδο.....	78
4.1 Μικροενθυλάκωση ελαιόλαδου.....	78
4.2 Μικροενθυλάκωση αντιοξειδωτικών συστατικών.....	79
4.3 Μικροενθυλάκωση προβιοτικών.....	80
4.4 Μικροενθυλάκωση υδροξυτορυσόλης.....	81
4.5 Μικροενθυλάκωση πρωτεϊνών.....	83
Συμπεράσματα.....	84
Βιβλιογραφία.....	89

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η ενθυλάκωση είναι μια διαδικασία με την οποία μικρά σωματίδια βασικών προϊόντων συσκευάζονται μέσα σε ένα υλικό για να σχηματίσουν μικροθυλάκια. Η ενθυλάκωση χρησιμοποιείται για μία μεγάλη ποικιλία μεθόδων όπως για παράδειγμα η προστασία των βρώσιμων ελαίων από οξείδωση και αύξηση της θρεπτικής αξίας των βρώσιμων ελαίων όπως το ελαιόλαδο.

Το ελαιόλαδο αποτελεί ένα από τα βασικότερα τρόφιμα της ανθρώπινης διατροφής. Το ελαιόλαδο παράγεται στις Μεσογειακές χώρες με την Ελλάδα να είναι μία από τις σημαντικότερες παραγωγικές χώρες ελαιόλαδου με την καλλιέργεια των ελαιόδεντρων και την παραγωγή ελαιόλαδου να λαμβάνει χώρα από την αρχαιότητα.

Λόγω της υψηλής οικονομικής και διατροφικής του αξίας το ελαιόλαδο αρκετά συχνά νοθεύεται με άλλα έλαια χαμηλότερης ποιότητας. Αυτό το φαινόμενο οδηγεί σε εξαπάτηση των καταναλωτών για αύξηση του περιθωρίου κέρδους.

Ο εντοπισμός του νοθευμένου ελαιόλαδου αποτελεί ένα σημαντικό εργαλείο για την μείωση του φαινομένου αυτού. Ο εντοπισμός του νοθευμένου ελαιόλαδου μπορεί να πραγματοποιηθεί με αρκετές μεθόδους συμπεριλαμβανόμενης και της ενθυλάκωσης. Η ενθυλάκωση αποτελεί μία μέθοδο που μπορεί να χρησιμοποιηθεί για τον εντοπισμό του νοθευμένου ελαιόλαδου. Αυτό μπορεί να πραγματοποιηθεί μέσω από την ενθυλάκωση ουσιών στο ελαιόλαδο οι οποίες μπορούν να αναλυθούν και να ποσοτικοποιηθούν ώστε να εκτιμηθεί πιθανώς η ύπαρξη νοθείας.

Λέξεις κλειδιά : ελαιόλαδο, αυθεντικότητα, ποιότητα, οξείδωση, υποβάθμιση, διάρκεια ζωής

ABSTRACT

Encapsulation is a process by which small particles are packed into a wall material to form micro-capsules. The encapsulation is used for a wide variety of methods such as protecting edible oils from oxidation and increasing the nutritional value of edible oils such as olive oil.

Olive oil is one of the most important foods in the human diet. Olive oil is produced in the Mediterranean countries with Greece being one of the most important olive oil producing countries with the cultivation of olive trees and the production of olive oil taking place since antiquity.

Due to its high economic and nutritional value, olive oil is quite often adulterated with other oils of lower quality. This phenomenon apart from the fact that it leads to deception of consumers to increase the profit margin.

Detecting adulterated olive oil is an important tool to reduce this phenomenon. The detection of adulterated olive oil can be accomplished by several methods including encapsulation. Encapsulation is a method that can be used to detect adulterated olive oil. This can be done by encapsulating substances in olive oil which can be analyzed and quantified to possibly assess for fraud.

Keywords: olive oil, authenticity, quality, oxidation, degradation, shelf life

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Υπάρχει μια αυξανόμενη ζήτηση για θρεπτικά και υγιεινά τρόφιμα στην αγορά και αυτό το γεγονός οδήγησε τη βιομηχανία τροφίμων να εστιάσει την έρευνά τους σε προϊόντα με τέτοια χαρακτηριστικά.

Το ελαιόλαδο αποτελεί ένα από τα πιο υγιεινά τρόφιμα, αποτελεί βασικό συστατικό της μεσογειακής διατροφής και χαρακτηρίζεται από μία πληθώρα οφέλων για την υγεία. Η υψηλή περιεκτικότητα σε μονο- (ελαϊκό οξύ) και πολυακόρεστα (λινολικά) λιπαρά οξέα και φαινολικές ενώσεις που υπάρχουν στο ελαιόλαδο προσφέρουν αρκετά ευεργετικά αποτελέσματα στην υγεία εκτός από τα διατροφικά του οφέλη.

Παράλληλα το ελαιόλαδο περιέχει κι άλλες ενώσεις, όπως για παράδειγμα οι τοκοφερόλες, οι οποίες του προσδίδουν ιδιαίτερα οργανοληπτικά και αντιοξειδωτικά χαρακτηριστικά. Όμως οι ενώσεις αυτές μπορούν αρκετά εύκολα να υποβαθμιστούν λόγω των μεταβολών που πραγματοποιούνται στο ελαιόλαδο κατά την αποθήκευσή του.

Ωστόσο, ένα από τα μεγαλύτερα προβλήματα με έλαια πλούσια σε μονο και πολυακόρεστα λιπαρά οξέα είναι η οξείδωση η οποία οδηγεί στη διαμόρφωση πτητικών ενώσεων που προκαλούν την δημιουργία ανεπιθύμητων ελεύθερων ριζών. Ως εκ τούτου η μικροενθυλάκωση αποτελεί την πιο βολική λύση για την προστασία των ιδιοτήτων του ελαιόλαδου, αποτρέποντας την οξείδωση, αυξάνοντας τη διάρκεια ζωής και παρέχοντάς του την δυνατότητα να χρησιμοποιηθεί ευρέως.

Για την αντιμετώπιση της υποβάθμισης της ποιότητας των βρώσιμων ελαίων έχουν χρησιμοποιηθεί μία ποικιλία μεθόδων. Μία από αυτές είναι η ενθυλάκωση. Η ενθυλάκωση αποτελεί μία πρόσφατη προσέγγιση στην προστασία των δραστικών ουσιών των βρώσιμων ελαίων, όπως για παράδειγμα οι αντιοξειδωτικές ουσίες,

Τα τελευταία χρόνια όμως η τεχνολογική πρόοδος έχει δώσει την δυνατότητα δημιουργίας θυλακίων πολύ μικρού μεγέθους μέσω της τεχνικής της μικροενθυλάκωσης. Με την διαδικασία αυτή μπορούν να διατηρηθούν πολύ μικρού μοριακού βάρους ενώσεις όπως για παράδειγμα μόρια γενετικού υλικού.

Η τεχνική της ενθυλάκωσης και μικροενθυλάκωσης χρησιμοποιείται αρκετά συχνά στην βιομηχανία τροφίμων προσφέροντας αρκετά οφέλη.

Κεφάλαιο 1^ο : Ελαιόλαδο : σημασία και παραγωγική διαδικασία

1.1 Ιστορικά στοιχεία

Η ελιά είναι από τα παλαιότερα γνωστά καλλιεργημένα δέντρα στον κόσμο (Liphschitz et al. 1991). Στο παρελθόν, ήταν το σύμβολο της φιλίας και της ειρήνης μεταξύ των εθνών ενώ ήδη από τον 7ο αιώνα π.Χ., στους νικητές των Ολυμπιακών Αγώνων απονεμήθηκαν στεφάνια από κλαδιά ελιάς.

Ο θρησκευτικός ρόλος της ελιάς αποδίδεται τόσο στην ελληνική μυθολογία όσο και στην Παλαιά Διαθήκη. Ένας από τους μύθους αφορά την προέλευση του ονόματος της πόλης της Αθήνας. Στη σύγκρουση για την κατοχή της ευρύτερης περιοχής (Αττικής) μεταξύ Ποσειδώνα, Θεού της θάλασσας και σεισμών και Αθηνάς, Θεάς της σοφίας, η Αθηνά κέρδισε, ως δώρο της μιας ελιάς θεωρήθηκε πολύτιμη συγκριτικά με την αλμυρή πηγή του Ποσειδώνα. Στην Παλαιά Διαθήκη, ο Νώε απελευθέρωσε ένα περιστέρι, το οποίο επέστρεψε κρατώντας ένα κλαδί ελιάς, ένα σημάδι του νερού που υποχωρούσε και ένα σύμβολο της αποκατάστασης της ειρήνης μεταξύ του Θεού και των ανθρώπων (Kapellakis et al., 2008).

Είναι γνωστά περισσότερα από 30 είδη ελαιόδεντρων. Ωστόσο, η προέλευση του είδους έχει γίνει αντικείμενο πολλών συζητήσεων. Αν και απολιθώματα που χρονολογούνται από την Τριτογενή περίοδο (πριν από 1 εκατομμύριο χρόνια) αποδεικνύουν την ύπαρξη προγόνου της ελιάς στην Ιταλία (Boskou 1996), φαίνεται βέβαιο ότι η ελιά, όπως είναι γνωστό σήμερα, είχε την προέλευσή της περίπου 5.000 χρόνια αργότερα η περιοχή που αντιστοιχεί στην αρχαία Περσία και τη Μεσοποταμία και από εκεί εξαπλώθηκε στη Συρία και την Παλαιστίνη. Οι άνθρωποι που ζούσαν σε αυτές τις περιοχές ανέπτυξαν την καλλιέργεια της ελιάς και στη συνέχεια την έφεραν στη βόρεια Αφρική δια μέσω της ξηράς ή της θάλασσας. Όμως ορισμένοι πιστεύουν πως το ελαιόδεντρο προέρχεται από την Αφρική καθώς οι αρχαίοι Αιγύπτιοι συνήθιζαν να καλλιεργούσαν ελιές.

Οι Φοίνικες ήταν υπεύθυνοι για τη διάδοση της ελιάς στις δυτικές περιοχές της Μεσογείου καθώς πραγματοποιούσαν εμπόριο με άλλα θαλάσσια κέντρα της Μεσογείου. Γύρω στον 28ο αιώνα π.Χ., άρχισε να φτάνει στα ελληνικά νησιά, τη Λιβύη και την Καρχηδόνα η καλλιέργεια της ελιάς.

Οι Έλληνες ίδρυσαν αποικίες σε άλλα μέρη της λεκάνης της Μεσογείου, όπως στην Ισπανία, και ως εκ τούτου εισήγαγαν την καλλιέργεια ελιάς σε αυτές τις περιοχές (de Graaff και Errpink 1999). Η πρώτη σημαντική βελτίωση στην καλλιέργεια της ελιάς συνέβη τον 8ο και 7ο αιώνα π.Χ., όταν η ελιά καλλιεργήθηκε συστηματικότερα.



Εικόνα 1.1 : Σκηνή συγκομιδῆς ελαιόκαρπων Πηγή : <https://www.greekgastronomyguide.gr/wp-content/uploads/2017/04/elaiolado-collection-8-byzantio.jpg>

Αργότερα οι Ρωμαῖοι ανακάλυψαν την ελιά μέσω των επαφών τους με ελληνικές αποικίες στην Ιταλία. Παρόλο που δεν ήταν θαυμαστές της ελιάς και του ελαιόλαδου, οι Ρωμαῖοι ήταν υπεύθυνοι για την εξάπλωση της καλλιέργειας των ελαιόδεντρων σε όλη την αυτοκρατορία τους. Οι Ρωμαῖοι χρησιμοποιούσαν ελαιόλαδο στα λουτρά τους και ως καύσιμο, αλλά όχι για κατανάλωση καθώς το θεωρούσαν προϊόν μέτριας ποιότητας. Η άνοδος της Ρωμαϊκῆς Αυτοκρατορίας και η κατάκτηση της Ελλάδας, της Μικρᾶς Ασίας και της Αιγύπτου αύξησαν τα κανάλια εμπορίας γύρω από τη Μεσόγειο Θάλασσα και το ελαιόλαδο έγινε πολύ πιο σημαντικό, όχι μόνο ως βασικό τρόφιμο, αλλά και ως φαρμακευτική και ως πηγή ενέργειας.

Τον 5ο αιώνα μ.Χ., η επέκταση της ελαιοκαλλιέργειας αναζωπυρώθηκε ξανά όταν οι θαλάσσιες αποικίες ξεκίνησαν να αναπτύσσονται και πάλι. Τον 15ο αιώνα μ.Χ., ιεραπόστολοι και πρώιμοι άποικοι εισήγαγαν αμπέλια και ελιές στην Αμερική που είχε ανακαλυφθεί πρόσφατα. Τα αμπέλια εξαπλώθηκαν παντού, αλλά οι ελιές καλλιεργήθηκαν μόνο σε περιορισμένες περιοχές στη Χιλή, την Αργεντινή και την Καλιφόρνια, περιοχές με παρόμοιες κλιματολογικές συνθήκες με αυτές της Μεσογείου.

Το ελαιόλαδο ανακαλύφθηκε από τον πρωτόγονο άνθρωπο καθώς παρατήρησε πως οι καρποί ελιάς παράγουν ένα ελαιώδες υγρό όταν συμπιέζονται. Η επέκταση της καλλιέργειας της ελιάς ακολούθησε μια επακόλουθη επέκταση και ανάπτυξη διαδικασιών εξαγωγής ελαιόλαδου. Από περίπου 5000 π.Χ. οι άνθρωποι συνέλεξαν και συμπίεσαν τις ελιές με την χρήση πέτρας ενώ ταυτόχρονα συνέλεγαν το παραγόμενο ελαιόλαδο (Di Giocacchino 2000). Μέσα από την έξοδο μιας άκλινης λεκάνης πέτρας, η πάστα ελιάς συλλέχθηκε σε μικρό δοχείο και, μετά την προσθήκη ζεστού νερού, το ελαιόλαδο συλλέχθηκε από την επιφάνεια, ως ελαφρύτερο από το νερό και μεταφερόταν σε δοχεία αποθήκευσης. Λόγω του γεγονότος ότι οι άνθρωποι παρήγαγαν αρκετό λάδι για να καλύψουν τις προσωπικές τους ανάγκες, τα εργοστάσια παραγωγής ελαιολάδου βρίσκονταν αρχικά σε σπίτια και λειτουργούσαν από μέλη κάθε οικογένειας. Αυτό επιβεβαιώθηκε κατά την Εποχή του Χαλκού στην Κρήτη (Κορακα2005), όπως υποδηλώνεται από τα πέτρινα εργαλεία που ανακαλύφθηκαν σε εκείνη την περιοχή όπως τα παπούτσια και τις τοιχογραφίες που βρέθηκαν στα αγροκτήματα και στα Παλάτια της Φαιστού και της Κνωσού (περ. 15ος αιώνας π.Χ.). Πέτρινα εργαλεία βρέθηκαν επίσης σε άλλες χώρες γύρω από τη Μεσόγειο Θάλασσα, όπως το Ισραήλ και η Παλαιστίνη, Κύπρο και Συρία.

Κατά τη μυκηναϊκή εποχή (μεταξύ 1450 π.Χ. και 1150 π.Χ. περίπου), η διαδικασία που χρησιμοποιήθηκε στην παραγωγή ελαιολάδου ήταν παρόμοια με εκείνη της εποχής του Χαλκού. Ωστόσο, γλωσσικές ενδείξεις αποκάλυψαν ότι υφάσματα, παρόμοια με αυτά που χρησιμοποιούσαν οι Αιγύπτιοι χρησιμοποιήθηκαν στη διαδικασία παραγωγής ελαιολάδου. Οι θρυμματισμένες ελιές τοποθετήθηκαν σε υφαντά χαλάκια και στύβονταν πάνω από τους κάδους που καθίζανανε. Αυτή η μέθοδος χρησιμοποιήθηκε και στην ελληνιστική περίοδο (Kapellakis et al., 2008).

Ωστόσο, όσο περνούσε ο καιρός, τέτοιες μέθοδοι παραγωγής δεν ήταν κατάλληλες για την κάλυψη της αυξημένης ζήτησης για ελαιόλαδο, λόγω των αυξημένων καναλιών εμπορίας της Ρωμαϊκής Αυτοκρατορίας γύρω από τη Μεσόγειο Θάλασσα. Οι Ρωμαίοι συνέβαλαν στην τεχνολογική εξέλιξη της επεξεργασίας της ελιάς επιταχύνοντας τη λειτουργία σύνθλιψης με ένα μύλο όπου ονομαζόταν *τραπετο*. ο ξύλινο ή σιδερένιο βιδωτό πιεστήριο, που χρησιμοποιήθηκε για πρώτη φορά από τους Έλληνες (50 π.Χ.) και αργότερα βελτιώθηκε και διαδόθηκε από τους Ρωμαίους, αντιπροσώπευε σημαντική πρόοδο στην επεξεργασία ελιάς (Harwood, 2000).



Εικόνα 1.2 : Παραδοσιακός πετρόμυλος άλεσης ελαιόκαρπων Πηγή : <https://gift.kleacks-cdn.com/wp-content/uploads/2016/06/olio-extrav-storia.jpg>

Κατά την περίοδο που ακολούθησε η πτώση της Ρωμαϊκής Αυτοκρατορίας και η εισβολή των Βαρβάρων, δεν ευνόησαν την πραγματοποίηση καινοτομιών στην επεξεργασία των ελαιόκαρπων, όπου πραγματοποιούνταν με την βοήθεια πιεστηρίων. Στην πραγματικότητα κατά την βυζαντινή εποχή η παραγωγή ελαιόλαδου ήταν αρκετά περιορισμένη. Κατά την Ενετοκρατία, η παραγωγή ελαιολάδου αυξήθηκε, καθώς οι Βενετοί συνήθιζαν να ενθαρρύνουν την καλλιέργεια της ελιάς και την παραγωγή λαδιού στα κατεχόμενα εδάφη τους (Kapellakis et al., 2008).

Μέχρι τους προηγούμενους τρεις αιώνες, η παραγωγή ελαιολάδου ήταν ακόμα μια πολύ δύσκολη διαδικασία και απαιτήθηκε μεγάλη φυσική προσπάθεια για τη σύνθλιψη της ελιάς. Ωστόσο, η κατάσταση βελτιώθηκε με την ανακάλυψη περιστρεφόμενων τροχών που κινούνταν με την βοήθεια ζώων. Η πάστα που παραγόταν μετά τη σύνθλιψη των ελαιόκαρπων ενώνονταν με νερό προκειμένου να επιτευχθεί καλύτερος διαχωρισμός του ελαιολάδου και στη συνέχεια τοποθετούνταν σε διαφράγματα τα οποία τοποθετούνταν το ένα πάνω στο άλλο. στην κάτω πλευρά του πιεστηρίου. Στη συνέχεια, μετά την άσκηση πίεσης, μίγμα λαδιού και νερού εξαγόταν σε μια σειρά λίθινων δεξαμενών, όπου συλλέχθηκε λάδι από την επιφάνεια.

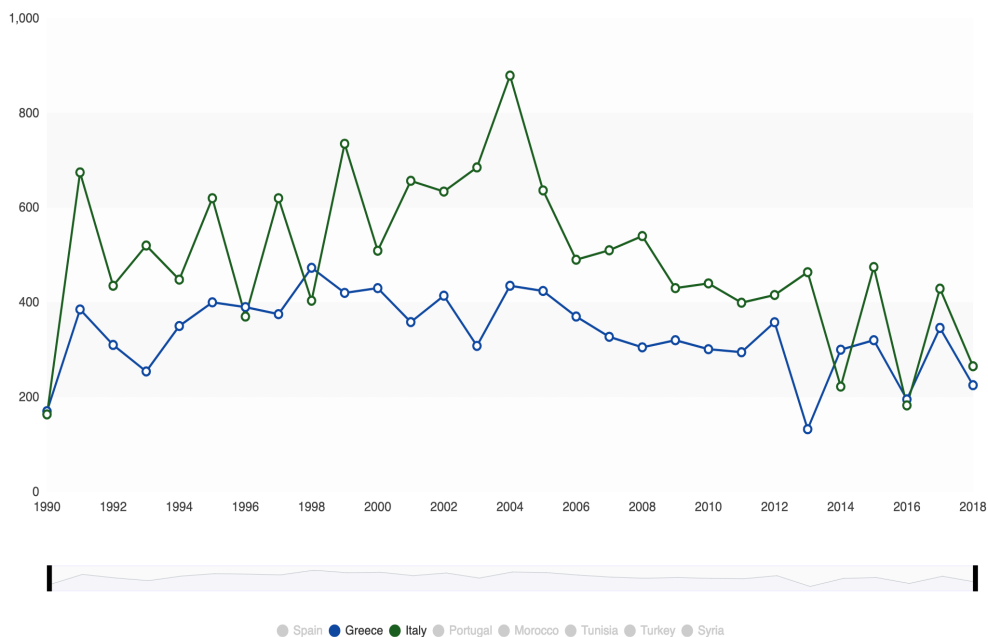
Σημαντική ανάπτυξη στα συστήματα εξαγωγής ελαιολάδου σημειώθηκε το 1795 από τον Τζόζεφ Γκράχαμ, ο οποίος εφηύρε τα υδραυλικά συστήματα πίεσης. Η επέκταση, ωστόσο, συνέβη κατά το δεύτερο μισό του 20ού αιώνα, όπου έχουν γίνει πολλές τεχνολογικές βελτιώσεις και καινοτομίες. Οι διαχωριστές ελαιολάδου έχουν αντικαταστήσει τις παραδοσιακές μεθόδους και η παραγωγικότητα έχει αυξηθεί με την ευρεία υιοθέτηση των υδραυλικών συστημάτων πίεσης (Kapellakis et al., 2008).

Ωστόσο, ακόμη και με αυτήν την τεχνολογία, η παραγωγικότητα δεν ήταν ικανοποιητική. Σήμερα, η αυξημένη χρήση φυγοκέντρωσης και όχι διήθησης ως μέθοδος διαχωρισμού, έχει ως αποτέλεσμα ένα λάδι υψηλότερης ποιότητας και απόδοσης. Σήμερα, υπάρχουν 600 εκατομμύρια παραγωγικές ελιές στον πλανήτη, που καταλαμβάνουν μια επιφάνεια 7 εκατομμυρίων εκταρίων (Alcaide & Nefzaoui, 1996).

Το ελαιόλαδο παράγεται σε εκείνες τις περιοχές του κόσμου όπου οι κλιματολογικές συνθήκες είναι εξίσου ευνοϊκές με αυτές που επικρατούν στις μεσογειακές χώρες. Η περιοχή της Μεσογείου αντιπροσωπεύει τουλάχιστον το 97% της παγκόσμιας παραγωγής. Οι κυριότερες χώρες παραγωγής ελιάς είναι η Ισπανία, η Ιταλία, η Ελλάδα, η Τυνησία, η Τουρκία, το Μαρόκο, η Πορτογαλία, η Συρία και η Αλγερία. Το δέντρο καλλιεργείται επίσης στη Γαλλία, τη Γιουγκοσλαβία, την Κύπρο, την Αίγυπτο, το Ισραήλ, τη Λιβύη, την Ιορδανία, τον Λίβανο, την Αργεντινή, τη Χιλή, το Μεξικό, το Περού, τις ΗΠΑ και την Αυστραλία ενώ το ελαιόλαδο καταναλώνεται ευρέως στα πλαίσια μίας υγιεινής διατροφής ενώ χρησιμοποιείται για θρησκευτικούς καθώς και για φαρμακευτικούς σκοπούς.

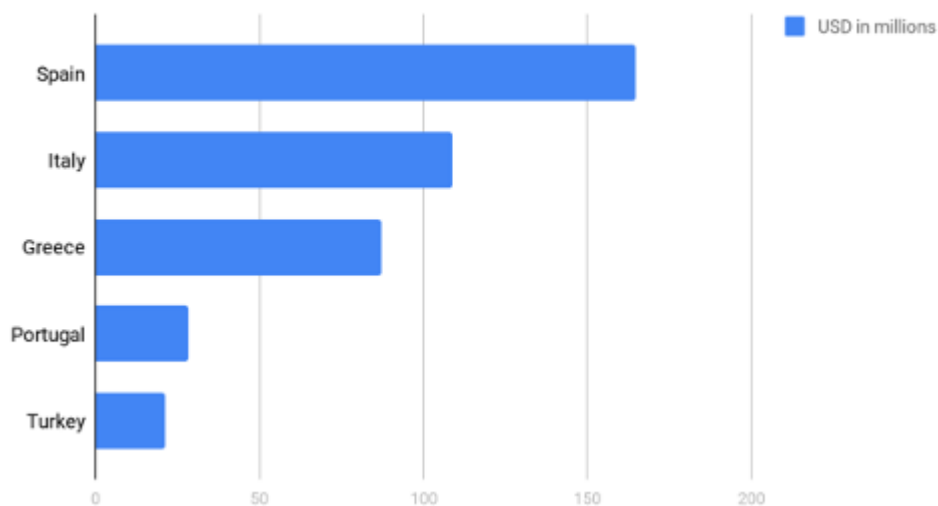
Olive Oil Production Leaders

Source: International Olive Council



Εικόνα 1.3 : Μεταβολή της παραγωγής ελαιόλαδου για την Ιταλία κι Ελλάδα Πηγή : International Olive Council

Largest Exporters of Olive Oil Worldwide in 2018



Εικόνα 1.4 : Κυριότεροι εξαγωγείς ελαιόλαδου σε παγκόσμιο επίπεδο Πηγή : Global Marketing Associates

Όσον αφορά την εξαγωγή ελληνικού ελαιόλαδου για το 2019 είναι οι κύριες χώρες εξαγωγής είναι οι εξής :

- Ιταλία με μερίδιο 57% (156 εκατομμύρια €)
- Ισπανία με μερίδιο 21% (56,62 εκατομμύρια €)
- Ελλάδα με μερίδιο 12,7% (34,65 εκατομμύρια €)
- Γαλλία με μερίδιο 2,76% (7.51 εκατομμύρια €)
- Τυνησία με μερίδιο 1,74% (4,74 εκατομμύρια €)
- Αυστρία (2,08 εκατομμύρια €)
- Τουρκία (1,96 εκατομμύρια €)
- Πορτογαλία (1,50 εκατομμύρια €)
- Ολλανδία (1,27 εκατομμύρια €)
- Πολωνία (556.880 €)

1.2 Ορισμός ελαιόλαδου και τύποι

Το ελαιόλαδο διακρίνεται σε ορισμένες ποικιλίες κατηγορίες με βάση διάφορα διεθνή στάνταρ όπως αυτά προβλέπονται από κανονισμούς που ορίζονται από το Διεθνές Συμβούλιο Ελαιόλαδου (International Olive Council).

➤ Εξαιρετικά παρθένο ελαιόλαδο

Το εξαιρετικά παρθένο ελαιόλαδο παρουσιάζει μηδενικά ελαττώματα και μεγαλύτερα από μηδενικά θετικά χαρακτηριστικά. Το εξαιρετικά παρθένο ελαιόλαδο πρέπει επίσης να έχει ποσοστό ελεύθερης οξύτητας μικρότερο από 0,8 και συμμορφώνεται με όλα τα πρότυπα που αναφέρονται στην κατηγορία του. Αυτή η κατηγορία ελαιόλαδο καταλαμβάνει τις υψηλότερες βαθμολογίες σε διαγωνισμούς. Το εξαιρετικό παρθένο ελαιόλαδο πρέπει να είναι διαυγές και να έχει οργανοληπτικά χαρακτηριστικά που αντικατοπτρίζουν τον καρπό που χρησιμοποιήθηκε για την παρασκευή του. Όμως λόγω της πολύπλοκης σύστασής τους τα εξαιρετικά παρθένα ελαιόλαδα μπορεί να παρουσιάζουν σημαντικές διαφορές το ένα από το άλλο.

➤ Παρθένο ελαιόλαδο

Αυτό το ελαιόλαδο παρουσιάζει μηδενικά ελαττώματα έως 2,5 και η ελεύθερη οξύτητα είναι κάτω του 2%, και συμμορφώνεται με όλα τα άλλα πρότυπα στην

κατηγορία του. Αυτά τα ελαιόλαδα χαρακτηρίζονται από ελαφρώς υψηλότερη οξύτητα από το εξαιρετικά παρθένο ελαιόλαδο.

➤ Ελαιόλαδο λαμπαντε

Πρόκειται για ελαιόλαδο με σοβαρά ελαττώματα (μεγαλύτερα από 6,0) ή ελεύθερη οξύτητα μεγαλύτερη από 3,3%, και το οποίο συμμορφώνεται με τα άλλα πρότυπα εντός της κατηγορία του. Δεν είναι κατάλληλο για κατανάλωση από τον άνθρωπο και πρέπει να εξευγενιστεί. Αυτό το ελαιόλαδο παράγεται από κακής ποιότητας καρπούς ή ακατάλληλο χειρισμό κατά την επεξεργασία ενώ δεν είναι βρώσιμο

➤ Εξευγενισμένο ελαιόλαδο

Το εξευγενισμένο ελαιόλαδο είναι εκείνο που λαμβάνεται από παρθένα ελαιόλαδα με εξευγενισμό και δεν μεταβάλλουν την αρχική δομή των γλυκεριδίων. Έχει ελεύθερη οξύτητα μικρότερη από 0,3 και πρέπει να συμμορφώνεται με τα πρότυπα της κατηγορίας του. Το εξευγενισμένο ελαιόλαδο δεν πρέπει να προέρχεται από εκχύλισμα με διαλύτη. Η διαδικασία διύλισης συνήθως συνίσταται στην επεξεργασία παρθένου ελαίου / λαμπαντέ με υδροξείδιο του νατρίου για την εξουδετέρωση της ελεύθερης οξύτητας, με ξήρανση, απομάκρυνση οσμών, χρώματος και διήθησης.

Σε αυτή την διαδικασία το ελαιόλαδο μπορεί να θερμανθεί έως και στους 220°C υπό κενό για την αφαίρεση όλων των πτητικών συστατικών. Το εξευγενισμένο ελαιόλαδο είναι συνήθως άοσμο

1.3 Παραγωγική διαδικασία

Το ελαιόλαδο εντοπίζεται με τη μορφή μικρών σταγόνων στα κενά των μεσοκαρπικών κυττάρων στον καρπό της ελιάς. Είναι επίσης διασκορπισμένο σε μικρότερο βαθμό στο κολλοειδές σύστημα του κυτταροπλάσματος του κυττάρου και σε μικρότερο βαθμό στο ενδοσπέρμιο των γιγάρτων. Κατά την επεξεργασία του ελαιόλαδου απελευθερώνεται το μεγαλύτερο μέρος του ελαίου που εντοπίζεται στον ελαιόκαρπο όμως είναι απαραίτητο να χρησιμοποιηθεί και νερό σε διάφορα παραγωγικά στάδια για την παραγωγή του ελαιόκαρπου (Kapellakis et al., 2008).

Το νερό χρησιμοποιείται στο πλύσιμο, στην ανάμειξη (όταν οι ελιές είναι εντελώς στεγνές) και στην αραίωση της πάστας, και στο τέλος του διαχωρισμού του ελαιόλαδου. Το νερό που χρησιμοποιείται σε αυτά τα στάδια αντιστοιχεί σε 10%, 40% και 20% του αρχικού βάρους, αντίστοιχα. Για να φανεί η μαζική απόδοση,

παράγεται 1 κιλό ελαιόλαδο μετά από επεξεργασία περίπου 5 κιλών ελιών. Τα κύρια βήματα επεξεργασίας που απαιτούνται για την απόκτηση ελαιολάδου περιλαμβάνουν :

- Αφαίρεση φύλλων και πλύσιμο
- Σύνθλιψη
- Ανάμειξη
- Διαχωρισμός ελαιόλαδου
- Φυγοκέντρωση ελαιόλαδου

Υπάρχουν τρία διαφορετικά συστήματα, ανάλογα με τη μέθοδο εκχύλισης: (α) πίεση, (β) φυγοκέντρωση και (γ) διαδικασία επιλογής φιλτραρίσματος (διήθηση).

➤ **Αφαίρεση φύλλων και πλύσιμο**

Μετά τη συλλογή τους από τους οπωρώνες, οι ελιές τοποθετούνται σε μια μεγάλη χοάνη τροφοδοσίας που είναι προσαρτημένη σε μια κινούμενη ταινία. Η αφαίρεση των φύλλων και το πλύσιμο είναι απαραίτητα για να αφαιρεθούν από τις ελιές όλα τα ξένα υλικά που θα μπορούσαν να είναι επιβλαβή για τα μηχανήματα ή να μολύνουν το προϊόν, π.χ η παρουσία φύλλων μεταφέρει πικρή γεύση στο λάδι.

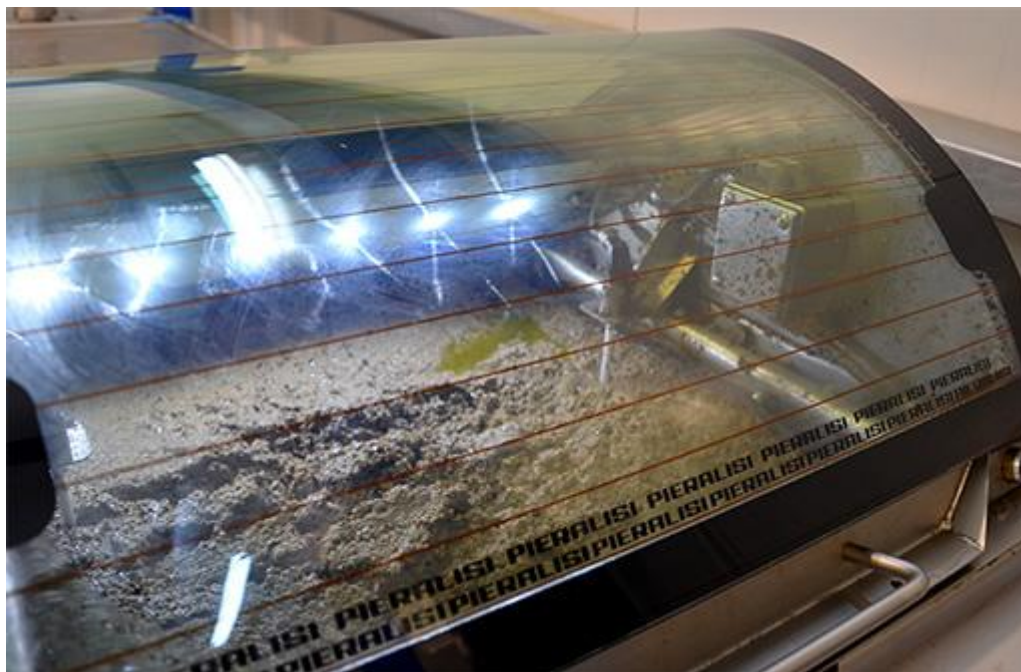
➤ **Σύνθλιψη**

Η σύνθλιψη είναι το πρώτο κύριο βήμα στην επεξεργασία των ελαιόκαρπων. Σκοπός της σύνθλιψης είναι το σχίσιμο των κυττάρων του ελαιόκαρπου ώστε να διευκολυνθεί η απελευθέρωση του λαδιού από τα κενοτόπια. Η σύνθλιψη πραγματοποιείται στον σπαστήρα όπου αποτελείται από δύο ή τρεις τροχούς που περιστρέφονται με μεγάλη ταχύτητα συνθλίβοντας τις ελιές.

➤ **Μάλαξη**

Αφού ο καρπός της ελιάς θρυμματιστεί, η προκύπτουσα πάστα αναμιγνύεται. Η ανάμειξη ή η χαλάρωση συνεπάγεται ανάδευση του πολτού ελιάς αργά και συνεχώς για περίπου 30 λεπτά. Ο σκοπός αυτής της διαδικασίας είναι η αύξηση του ποσοστού διαθέσιμου ελαιόλαδου. Βοηθά επίσης στη συσσώρευση μικρών σταγόνων λαδιού σε μεγαλύτερες, διευκολύνοντας έτσι τον διαχωρισμό των φάσεων λαδιού και νερού. Συμβάλλει επίσης στη διάσπαση των σταγόνων γαλακτώματος ελαίου/νερού. Οι

μαλακκτήρες διαφέρουν ως προς το σχήμα, το μέγεθος και τη διάταξη μεταξύ των ελαιοτριβείων. Για την αποφυγή της οξειδωσης κατασκευάζονται από ανοξείδωση χάλυβα. Ανάλογα με τον προσανατολισμό τους, διακρίνονται σε κάθετους και οριζόντιους μαλακκτήρες με τους πρώτους να χρησιμοποιούνται λιγότερο (Karellakis et al., 2008).



Εικόνα 1.5 : Μαλακτήρας ελαιόλαδου Πηγή : https://karapatas-olivepress.gr/images/malaktiras_ladiou.jpg

Οι βασικές μονάδες της συσκευής είναι κυλινδρικά δοχεία με περιστρεφόμενες λεπίδες και διπλά τοιχώματα. Μια περιστρεφόμενη έλικα με πολλά φτερά αναμιγνύει την πάστα, συνήθως σε χαμηλές ταχύτητες (19-20 στροφές / λεπτό) ανάλογα με την πάστα. Για τις ελιές που έχουν φθάσει στην ωριμότητα, αρκούν 20-30 λεπτά μ'αάξης. Για μεγαλύτερη αποτελεσματικότητα οι μαλακκτήρες έχουν διπλά τοιχώματα για την κυκλοφορία του νερού θέρμανσης. Μια αύξηση της θερμοκρασίας έχει ως αποτέλεσμα χαμηλότερο ιξώδες του ελαίου και μεγαλύτερη απόδοση ελαιολάδου. Ωστόσο, η θερμοκρασία του νερού δεν πρέπει να υπερβαίνει τους 30°C για να αποφευχθεί η καταστροφή των πτητικών συστατικών, η αλλαγή του χρώματος του λαδιού σε κοκκινωπό και η αύξηση της οξύτητας. Για να αποφευχθούν οι παραπάνω αρνητικές επιπτώσεις, οι σύγχρονοι μαλακκτήρες είναι εξοπλισμένοι με αυτόματους θερμοστάτες.

➤ **Εξαγωγή ελαιόλαδου,**

Τα κύρια συστατικά της πάστας ελιάς πριν από αυτό το βήμα: ελαιόλαδο, μικρά κομμάτια πυρήνα νερό και κυτταρικά υπολείμματα των θρυμματισμένων ελιών. Τρεις διαφορετικές διαδικασίες εκχύλισης μπορούν να εφαρμοστούν για τον διαχωρισμό του λαδιού από τα άλλα συστατικά. Αυτά είναι η διαδικασία πίεσης, φυγοκέντρωσης και επιλεκτικής διήθησης

Διαδικασία πίεσης. Όπως αναφέρθηκε προηγουμένως, η διαδικασία πίεσης είναι η παλαιότερη και πιο διαδεδομένη μέθοδος για την επεξεργασία ελαιόκαρπων για την απόκτηση ελαιόλαδου. Με σημαντικές τροποποιήσεις, ειδικά κατά το δεύτερο μισό του προηγούμενου αιώνα, εξακολουθεί να χρησιμοποιείται σήμερα. Η εφεύρεση της υδραυλικής πρέσας ήταν μια επανάσταση για τη λειτουργία των παλαιών μύλων και οι υδραυλικές πρέσες εξακολουθούν να χρησιμοποιούνται σε βελτιωμένους παραδοσιακούς μύλους. Τα μηχανήματα που χρησιμοποιούνται για αυτήν τη διαδικασία έχουν βελτιωθεί και είναι πιο ισχυρά και αξιόπιστα. Η πάστα ελιάς πάχους 2-3 εκατοστών λαμβάνεται από τα προηγούμενα στάδια, τοποθετούνται ομοιόμορφα σε ελάσματα, τα οποία στη συνέχεια τοποθετούνται σε κινούμενες μονάδες (καροτσάκια) με κεντρικό άξονα. Ένας μεταλλικός δίσκος και ένα πανί χωρίς πάστα τοποθετούνται μετά από κάθε 3-4 διάφραγμα για να επιτευχθεί ομοιόμορφη εφαρμογή και πιο σταθερό φορτίο. Στη συνέχεια, η κινούμενη μονάδα μαζί με το φορτίο της τοποθετείται κάτω από μια μονάδα υδραυλικής πίεσης. Κατά την εφαρμογή πίεσης, οι υγρές φάσεις (λάδι και νερό) διαπερνούν τον ελαιοπυρήνα (Kapellakis et al., 2008).

Διαδικασία φυγοκέντρωσης. Η φυγοκέντρωση είναι σχετικά νέα διαδικασία για τον διαχωρισμό του λαδιού από την πάστα ελιάς. Βασίζεται στις διαφορές στην πυκνότητα των συστατικών της πάστας ελιάς (ελαιόλαδο, νερό και αδιάλυτα στερεά). Ο διαχωρισμός επιτυγχάνεται μέσω οριζόντιας φυγοκέντρωσης (καράφα). Μετά τη σύνθλιψη και την ανάμειξη, το ελαιόλαδο είτε είναι εντελώς ελεύθερο είτε έχει τη μορφή μικρών σταγονιδίων μέσα σε μικρογέλες, είτε γαλακτωματοποιείται στην υδατική φάση. Το ελαιόλαδο διαχωρίζεται με τη φυγόκεντρο, ενώ το λάδι που είναι κλειδωμένο στα μικροζέλια απελευθερώνεται με προσθήκη νερού. Τα καράφια αποτελούνται από ένα κυλινδρικό κωνικό μπολ. Στο εσωτερικό υπάρχει ένα κοίλο, παρόμοιο σχήμα συστατικό με ελικοειδείς λεπίδες. Μια μικρή διαφορά μεταξύ της

ταχύτητας με την οποία περιστρέφεται το μπολ και της ταχύτητας με την οποία η εσωτερική βίδα περιστρέφεται έχει ως αποτέλεσμα τη μετακίνηση του πυρήνα στο ένα άκρο της φυγόκεντρου, ενώ τα άλλα δύο συστατικά της πάστας ελιάς (λύματα ελαίου και ελαιοτριβείου-OMW) ωθούνται το άλλο άκρο. Κάθε καράφα έχει μέγιστη χωρητικότητα ανάλογα με τα κατασκευαστικά χαρακτηριστικά του. Σε γενικές γραμμές, αυτή η χωρητικότητα κυμαίνεται από 1,5 έως 6,5 τόνους την ώρα. Όταν ξεπεραστεί αυτή η χωρητικότητα, η απόδοση δεν είναι αποτελεσματική, γεγονός που έχει ως αποτέλεσμα τον κακό διαχωρισμό του λαδιού από τον ελαιοπυρήνα.

Ένας παράγοντας που επηρεάζει την απόδοση του λαδιού είναι η ποσότητα νερού που προστίθεται στην πάστα. Η βέλτιστη ποσότητα νερού που απαιτείται για την αραιώση της πάστας καθορίζεται από τα χαρακτηριστικά της πάστας ελιάς και της φυγοκέντρωσης. Εκτιμάται εμπειρικά παρατηρώντας το λάδι, το οποίο πρέπει να είναι καθαρό, και το νερό, το οποίο δεν πρέπει να είναι πολύ παχύρρευστο, όπως ρέουν από το καράβι. Τα κύρια πλεονεκτήματα των φυγοκεντρικών συστημάτων επεξεργασίας είναι (Kapellakis et al., 2008) :

Απαιτείται περιορισμένη εργασία, καθώς η διαδικασία είναι συνεχής και αυτοματοποιημένη. Χρησιμοποιούνται πάντα υλικά από ανοξείδωτο χάλυβα και το λάδι προστατεύεται καλά από τη μόλυνση εξαλείφεται η μόλυνση του λαδιού. Καλύτερη απόδοση απόδοσης, καθώς συλλέγεται το μεγαλύτερο μέρος του λαδιού. Τα κύρια μειονεκτήματα των φυγοκεντρικών συστημάτων επεξεργασίας είναι Απαιτούνται νερό και ενέργεια, ενώ μια σημαντική επιρροή φαινολών (φυσικά αντιοξειδωτικά) χάνεται κατά τη διαδικασία της φυγοκέντρωσης στο ελαιοπυρήνα. Ο ελαιοπυρήνας περιέχει υψηλό ποσοστό υγρασίας ενώ η αυξημένη παραγωγή ελαιοπυρήνα είναι περίπου 50% μεγαλύτερη από την διαδικασία πίεσης.

Οι καράφες μπορούν να λειτουργήσουν είτε ως τριφασικά είτε ως διφασικά συστήματα. Τα διφασικά συστήματα παράγουν πυρηνέλαιο, ελαιόλαδο κι ελαιοπυρήνα σε ποσοστό 40%, 20% και 100% του βάρους των ελιών, αντίστοιχα, ενώ τα διφασικά συστήματα παράγουν καλύτερης ποιότητας ελαιόλαδο καθώς δεν καταναλώνουν νερό για τον διαχωρισμό του ελαίου.

Η διαδικασία φιλτραρίσματος χρησιμοποιείται σε συνδυασμό με την φυγοκέντρωση για τον διαχωρισμό του ελαιολάδου από τον πολτό ελιάς. Βασίζεται στη διαφορετική επιφανειακή τάση λαδιού και νερού που έρχονται σε επαφή με μια χαλύβδινη πλάκα.

Όταν το χαλύβδινο πιάτο βυθιστεί σε πάστα ελιάς, θα λιώσει με λάδι λόγω της χαμηλότερης επιφανειακής τάσης του λαδιού από αυτή του νερού. Αποτελείται από μία ή περισσότερες μονάδες που μπορούν να χειριστούν περίπου 350–370 κιλά πάστα ελιάς, καθένα από τα οποία έχει μια μονάδα τριψίματος από ανοξείδωτο χάλυβα στο κάτω μέρος.

Ανεξάρτητα από τη διαδικασία που εφαρμόζεται για τον διαχωρισμό του ελαίου από τα άλλα συστατικά του καρπού της ελιάς, απαιτείται μια τελική φυγοκέντρηση του ελαιόαλδου. Ο διαχωρισμός λαμβάνει χώρα σε μια κατακόρυφη μονάδα φυγοκέντρησης που περιστρέφεται σε μικρότερες ταχύτητες από την προηγούμενη φυγοκέντρηση. Αυτή η μονάδα αποτελείται από ένα στάσιμο μέρος και ένα κινητό μέρος το οποίο περιστρέφεται πολύ γρήγορα. Ένας μεγάλος αριθμός δίσκων σε σχήμα κώνου είναι προσαρτημένοι στη φυγόκεντρη μονάδα. Η υγρή φάση κατανέμεται στη συνολική επιφάνεια σε λεπτές στιβάδες και η φυγοκέντρηση στις κάθετες φυγοκεντρίσεις προκαλεί τον τελικό διαχωρισμό του λαδιού από το νερό και άλλες ουσίες.

Κεφάλαιο 2^ο : Παράγοντες ποιότητας και μεταβολές στο χρόνο

2.1 Λιπαρά οξέα

Το ελαιόλαδο περιέχει κυρίως παλμιτικό οξύ (16: 0), υπογεϊκό οξύ (16: 1ω9), παλμιτολεϊκό οξύ (16: 1ω7), μαργαρικό οξύ (17: 0), μαργαρολεϊκό οξύ (17: 1), στεατικό οξύ (18: 0), ελαϊκό οξύ (18: 1ω9), cis -vacenic acid (18: 1ω7), λινολεϊκό οξύ (18: 2), αραχιδικό οξύ (20: 0), άλφα -λινολενικό οξύ (18: 3), εικοζονοϊκό οξύ (20 : 1), μπεενικό οξύ (22: 0) και λιγνοκερικό οξύ (24: 0). Από τα δεδομένα λιπαρά οξέα, το ελαϊκό οξύ βρίσκεται στην υψηλότερη συγκέντρωση (Kelebek, Kesen, & Selli, 2015) ακολουθούμενο από παλμιτικό οξύ, λινολεϊκό οξύ και στεατικό οξύ. Το προφίλ λιπαρών οξέων του ελαιολάδου ποικίλλει σε σχέση με την ωρίμανση των ελιών. ο ελαϊκό οξύ υπερिशύει των λιπαρών οξέων σε όλα τα στάδια (άγουρα, ημι - ώριμα και ώριμα) της ωρίμανσης. Το παλμιτικό οξύ και το ελαϊκό οξύ διαπιστώνεται ότι είναι σημαντικά υψηλότερα στο ανώριμο στάδιο. Ωστόσο, το παλμιτολεϊκό οξύ, το στεατικό οξύ και το λινολεϊκό οξύ είναι κυρίαρχα στο στάδιο της ώριμης ανάπτυξης.

2.2 Στερόλες

Οι φυτικές στερόλες είναι συλλογικά γνωστές ως φυτοστερόλες, που υπάρχουν κυρίως ως ελεύθερες στερόλες και στερόλες εστέρων λιπαρών οξέων, με β-σιτοστερόλη, καμπεστερόλη, μπρασικαστερόλη, και η στιγμαστερόλη ως οι κύριες ενώσεις που προσδιορίζονται στα φυτικά έλαια (Zambiazzi 1997). Οι κύριες στερόλες ελαιολάδου είναι η β-σιτοστερόλη, Δ5 -βαναστερόλη και καμπεστερόλη. Βρίσκονται επίσης πολλές άλλες στερόλες, αλλά υπάρχουν σε μικρότερες ποσότητες. Η συνολική περιεκτικότητα σε στερόλη στα ελαιόλαδα είναι της τάξης των 180–265 mg/100 g (Mariani et al. 1993).

Οι στερόλες δείχνουν φυσικές αντιοξειδωτικές δραστηριότητες στα τρόφιμα (Choe and Min 2009). Φαίνεται όμως ότι είναι αναποτελεσματικές σε χαμηλές θερμοκρασίες και υπό συνθήκες ταχείας δοκιμής αποθήκευσης, αν και η επίδρασή τους στη σταθερότητα του λαδιού σε υψηλές θερμοκρασίες, όπου δρουν ως αναστολείς των αντιδράσεων πολυμερισμού. Όμως οι φυτοστερόλες μπορούν να βελτιώσουν την σταθερότητα κατά την θέρμανση του ελαιόλαδο.

Έχει επίσης αποδειχθεί η προ-οξειδωτική δράση ορισμένων στερολών. Βρέθηκε ότι η προσθήκη 5 % σιτοστερόλης προκάλεσε διπλάσια αύξηση του ρυθμού οξείδωσης του τριστεαρίνη θερμαίνεται στους 120 ° C. Στο ελαιόλαδο με μείωση της περιεκτικότητας σε στερόλες παρατηρήθηκε σημαντική αύξηση της οξείδωσης του ελαιόλαδου. Κατά την αποθήκευση του ελαιόλαδου περίπου το 30-40% των στερολών οξειδώνονται ενώ κατά το τηγάνισμα σχεδόν όλες οι στερόλες μετασχηματίζονται σε οξειδία υψηλού μοριακού βάρους (Rudzinska et al. 2009).

2.3 Φαινολικά συστατικά

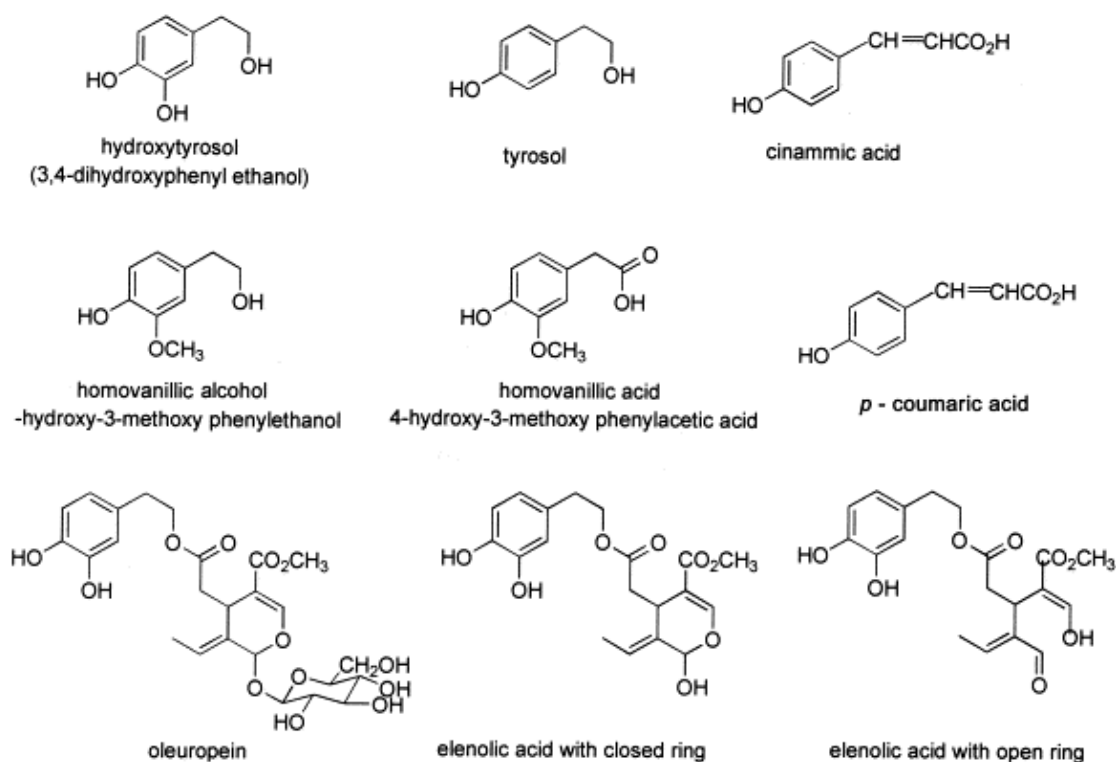
Οι πολυφαινόλες αποτελούν την ενεργό υδρόφιλη αντιοξειδωτική ομάδα ενώσεων ελαιόλαδο. Οι περισσότερες υδρόφιλες φαινόλες στο ελαιόλαδο ανήκουν αποκλειστικά στα είδη της *Olea europaea*. Οι φαινολικές ενώσεις του ελαιόλαδου χωρίζονται σε μεγάλες σε μικρές και μικρές φαινόλες ανάλογα με τη σύνθεσή τους (Cicerale et al., 2008).

Οι τρεις φαινολικές ενώσεις σε υψηλότερη συγκέντρωση στο ελαιόλαδο είναι η γλυκοσιδική ελαιοευρίνη, η υδροξυτυροσόλη (3,4-διυδροξυφαινολολ αιθανόλη) και η τυροσόλη. Αυτές οι τρεις ενώσεις σχετίζονται δομικά. Η υδροξυτυροσόλη και η τυροσόλη είναι δομικά ταυτόσημες εκτός από το ότι η υδροξυτυροσόλη διαθέτει μια επιπλέον ομάδα υδροξυλίου στη μετα-θέση. Η ελαιοευρωπαϊνή είναι ένας εστέρας που αποτελείται από υδροξυτυροσόλη και ελενολικό οξύ. Η ελαιοευροπεΐνη είναι η κύρια φαινολική ένωση στους καρπούς της ελιάς, η οποία μπορεί να είναι έως και 14% στα αποξηραμένα φρούτα, η υδροξυτυροσόλη είναι το κύριο φαινολικό συστατικό στο ελαιόλαδο. Καθώς ο καρπός της ελιάς ωριμάζει, η συγκέντρωση της ελαιοευρεΐνης μειώνεται και η υδροξυτυροσόλη, αυξάνεται ένα προϊόν υδρόλυσης της ελαιοευρίνης (Ryan et al., 1999).

Τα επίπεδα υδροξυτυροσόλης, τυροσόλης, βανιλικού οξέος, ρ-κουμαρικού οξέος, λουτεολίνης και απιγενίνης είναι υψηλότερα σε δείγματα πρώιμης συγκομιδής (Franco et al., 2014).

Το κυρίαρχο σεκοϊριδοειδές που υπάρχει στα φρέσκα φρούτα της ελιάς είναι η ελαιοευρωπαϊκή, η οποία ευθύνεται για την πικρή γεύση της. Η υδροξυτυροσόλη είναι το κύριο προϊόν αποικοδόμησης της ελαιοευρωπαϊκής, ο οποίος είναι ο λόγος που η συγκέντρωσή του σε ελιές ή φύλλα ελιάς αυξάνεται κατά την ωρίμανση ή την

επεξεργασία (Rahmanian, Jafari, & Wani, 2015). Η αποθήκευση του έξτρα παρθένου ελαιόλαδου για 24 μήνες προκαλεί έως και 31% μείωση των συνολικών φαινολικών ενώσεων, η οποία οφείλεται στη μείωση των δευτεροειδών παραγώγων που υφίστανται διαδικασίες υδρόλυσης και οξείδωσης για την παραγωγή υδροξυτυροσόλης και τυροσόλης.



Εικόνα 2.1 : Τα κυριότερα πολυφαινολικά συστατικά του ελαιόλαδου Πηγή :

Οι φυσικές πολυφαινολικές ενώσεις είναι είτε απλά φαινολικά συστατικά είτε εστέρες είτε πιο πολύπλοκα μόρια. Για παράδειγμα, λακτόνες, χαλκόνες και φλαβονοειδή έχουν όλα αντιοξειδωτική δράση και προστατεύουν τα φυτικά έλαια από την οξείδωση.

Οι φαινολικές ενώσεις εντοπίζονται στο μεσοκάρπιο του ελαιόλαδου όμως είναι υδατοδιαλυτές. Η ποσότητα των φαινολικών ενώσεων μπορεί να επηρεαστεί από διάφορους παράγοντες συμπεριλαμβανομένης της ποικιλίας ελιάς και βαθμού ωριμότητας, καθώς και από τις τεχνολογίες παραγωγής και εξαγωγής ελαιόλαδου (GallinaToschi et al. 2005).

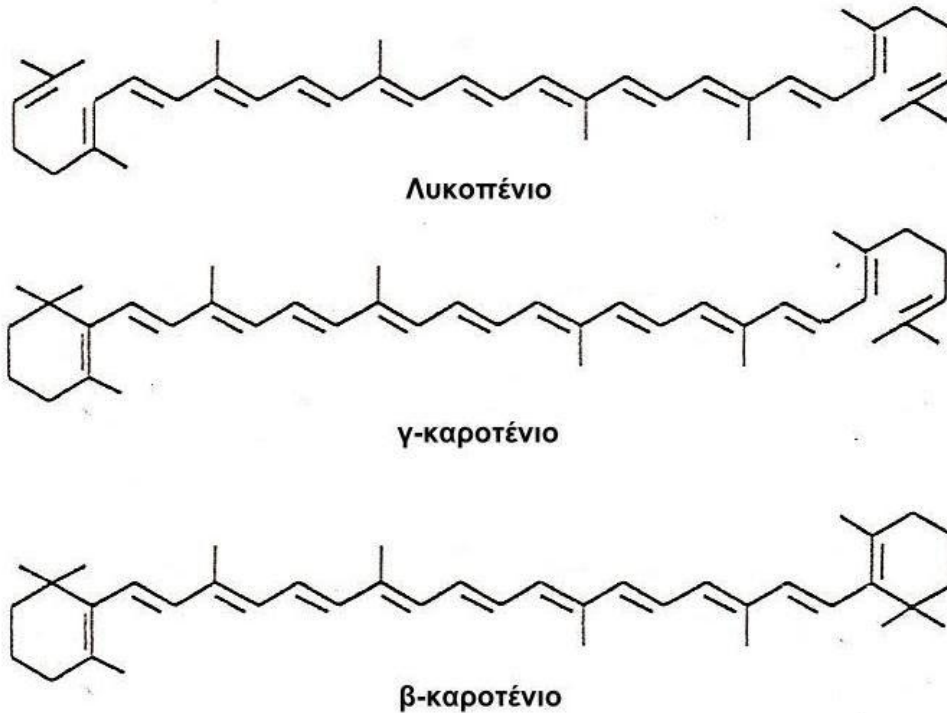
Οι πολυφαινόλες και οι τοκοφερόλες είναι οι δύο κύριες ομάδες φαινολικών ενώσεων που λειτουργούν ως κύρια αντιοξειδωτικά για να αναστείλουν την οξείδωση στα παρθένα ελαιόλαδα. Η αντιοξειδωτική δράση των ενώσεων αυτών σχετίζεται με την ικανότητά τους να εξαλείφουν ελεύθερες ρίζες δίνοντας ένα άτομο υδρογόνου στην λιπιδική ρίζα που σχηματίζεται κατά την οξείδωση των λιπιδίων. Αυτά δρουν σαν διακόπτες της αλυσίδας δίνοντας ένα ριζικό υδρογόνο σε ρίζες αλκυλοπεροξυλίου σχηματίζοντας μία σταθερή ρίζα.

Οι φυσικές πολυφαινόλες εντοπίζονται είτε σαν απλές ενώσεις όπως τα φαινολικά οξέα ή εστέρες τους είτε σαν πιο πολύπλοκες ενώσεις. Για παράδειγμα, λακτόνες, χαλκόνες και φλαβονοειδή έχουν όλα αντιοξειδωτική δράση και προστατεύουν τα φυτικά έλαια από την οξείδωση. Η παρατεταμένη διάρκεια ζωής του παρθένου ελαιόλαδου συγκριτικά με άλλα φυτικά έλαια αποδίδεται στην παρουσία φαινολικών.

Η παρουσία υδρόφιλων φαινολικών ενώσεων στο παρθένο ελαιόλαδο και η υψηλή αντιοξειδωτική τους δράση μπορούν να εξηγηθούν από το γεγονός ότι τα πολικά αντιοξειδωτικά είναι πιο αποτελεσματικά στα μη πολικά λιπίδια ενώ τα μη πολικά αντιοξειδωτικά είναι πιο ενεργά στα πολικά λιπίδια γαλακτώματα (Bendini et al. 2007).

2.3 Χρωστικές

Το χρώμα του ελαιόλαδου αποδίδεται στη λιπόφιλη χλωροφύλλη και τις καροτενοειδείς χρωστικές που υπάρχουν στους καρπούς της ελιάς (Montealegre et al., 2010). Οι πράσινες ελιές με υψηλή περιεκτικότητα σε χλωροφύλλη δίνουν πρασινωπό χρώμα στα έλαια ενώ οι ώριμες ελιές αποδίδουν κιτρινωπά έλαια λόγω της υψηλότερης περιεκτικότητάς τους σε καροτενοειδή. Ως αποτέλεσμα, ο συνδυασμός και οι αναλογίες αυτών των χρωστικών καθορίζουν το χρώμα των ελαιόλαδων.



Εικόνα 2.2 : Τα κυριότερα καροτενοειδή Πηγή : http://4.bp.blogspot.com/-4H_36FkyQHc/Tb0-p7RdITI/AAAAAAAAAB0/2wVN2K5_vNY/w1200-h630-p-k-no-nu/3CAR.jpg

Τα ελαιόλαδα περιέχουν συγκριτικά πλούσια ποικιλία καροτενοειδών (β-καροτίνη, λουτεΐνη, βιολαξανθίνη, νεοξανθίνη και άλλες ξανθοφύλλες) και παράγωγα χλωροφύλλης (χλωροφύλλη α και β, φαιοφυτίνη α και β και άλλα δευτερεύοντα παράγωγα) (Lazzerini & Domenici, 2017). Το επίπεδο αυτών των χρωστικών στο ελαιόλαδο θα μπορούσε να φτάσει σχεδόν τα 100 ppm. Οι κύριες χρωστικές αναφέρθηκαν ως φαιοφυτίνη α (έως 25 ppm), ακολουθούμενη από β-καροτίνη (έως 15 ppm) και λουτεΐνη (έως 10 ppm) (Lazzerini et al., 2016). Ωστόσο, τα ποσά μπορεί να διαφέρουν ανάλογα με διάφορους παράγοντες. Οι κύριοι παράγοντες που επηρεάζουν τη συγκέντρωση κάθε χρωστικής που βρίσκονται στα ελαιόλαδα σχετίζονται άμεσα με τα φυσικοχημικά χαρακτηριστικά των καρπών της ελιάς και βασίζονται στη βοτανική και γεωγραφική προέλευση, στις περιβαλλοντικές συνθήκες (κλίμα και/ή άρδευση) καθώς και στη διαδικασία εκχύλισης (κυρίως χαλάρωση).

Ο ρυθμός εξάλειψης των ελεύθερων ριζών οξυγόνου σχετίζεται με τον αριθμό των συζευγμένων διπλών δεσμών που εντοπίζονται στην αλυσίδα πολυενίου του καροτενοειδούς και αυξάνεται όταν ο αριθμός αυτών των δεσμών αυξάνεται. Η

κανθραξανθίνη δείχνει τη μεγαλύτερη αντιοξειδωτική δραστηριότητα και ακολουθείται από το β-καροτένιο. Σε επίπεδα 5-20 ppm, το β-καροτένιο είχε την υψηλότερη ισχύ στην προστασία του ελαιόλαδου από οξείδωση συγκριτικά με την χλωροφύλλη όμως το προστατευτικό αποτέλεσμα δεν παρατηρήθηκε κατά την αποθήκευση χωρίς φως.

Λόγω της πιθανής λειτουργίας τους ως φυσικού φίλτρου φωτός, τα καροτενοειδή αποτελεσματικά απορροφούν φως με μήκη κύματος μεταξύ 400 και 500 nm. Αν και τα καροτένια είναι ενώσεις αποτελεσματικές στην προστασία από τη φωτοοξείδωση, αναμένεται η αποδόμησή τους από υπεροξειδία λιπιδίων λόγω της οξειδωτικής ευαισθησίας των υδροξυ ομάδων και του συζευγμένου συστήματος διπλού δεσμού στο μόριο καροτενοειδών. Τα καροτενοειδή είτε μπορούν να λειτουργήσουν σαν απλοί αποσβέστες του οξυγόνου είτε οξειδώνονται προστατεύοντας έτσι το ελαιόλαδο από οξείδωση. Ορισμένες μελέτες υποδεικνύουν ότι το β-καροτένιο μπορεί να δράσει ως αποτελεσματικός αναστολέας της φωτοοξείδωσης σε φυτικά έλαια μόνο όταν υπάρχουν τοκοφερόλες (Warner and Frankel 1987). Επιπλέον, ελλείψει φωτός, τα καροτενοειδή ή τα προϊόντα οξείδωσης τους μπορεί να λειτουργήσουν ως προοξειδωτικά σε φυτικά έλαια (Lee and Kim 1992). Το κλάσμα των καροτενοειδών φαίνεται να παρουσιάζει χαμηλότερη θερμοκή σταθερότητα από τις χλωροφύλλες (Del Carlo et al. 2010).

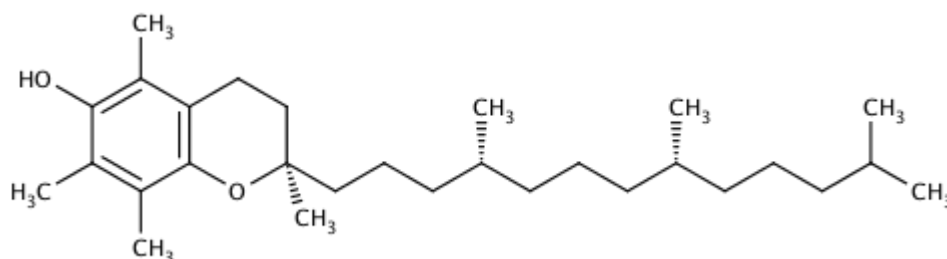
Οι χλωροφύλλες και τα παράγωγά τους υπάρχουν στα ελαιόλαδα σε μεταβλητές ποσότητες. Το προφίλ του παρθένου ελαιόλαδου καθορίζεται από τις πράσινες χρωστικές που εντοπίζονται αρχικά στα φρούτα και τα παράγωγά τους που σχηματίζονται κατά την άλεση και την μάλαξη της πάστας. Οι χλωροφύλλες α και β βρίσκονται αρχικά στους ελαιόκαρπους και μετατρέπονται σε πιο σταθερές χρωστικές ουσίες τις φαιοφυτίνες και στη συνέχεια πυροφαιοφυτίνες, οι οποίες είναι τα προϊόντα της απομάκρυνσης της ομάδας καρβοξυμεθυλίου. Αυτές οι δομικές αλλαγές στην ομάδα των χρωμοφόρων των χλωροφυλλών επηρεάζουν το χρώμα του ελαιόλαδου το οποίο από έντονο πράσινο μεταβάλλεται σε χρυσοπό και τελικά σε κίτρινο. Η περιεκτικότητα σε χλωροφύλλη και τα παράγωγά τους εξαρτώνται από το στάδιο ωριμότητας του καρπού και μειώνονται από την αρχή έως και το τέλος της περιόδου συγκομιδής του ελαιόκαρπου.

Οι χλωροφύλλες και οι φαιοφυτίνες έχουν προ-οξειδωτική δράση παρουσία φωτός. Λειτουργούν ως καταλύτες στον σχηματισμό οξυγόνου το οποίο μπορεί άμεσα να αλληλεπιδράσει με τους διπλούς δεσμούς του ελαϊκού, λινολεϊκού ή λινολενικού λιπαρού οξέος, δημιουργώντας έτσι αντιδραστικά είδη οξυγόνου. Έτσι, οι χλωροφύλλες και οι χρωστικές που παράγονται από αυτές ενισχύονται τις πρώτες φάσεις της διαδικασίας αυτοοξειδωσης και δημιουργούν υδροϋπεροξειδία αλλυλίου (Giuliani et al. 2011).

Η οξειδωτική σταθερότητα του ελαιολάδου επηρεάζεται σε μεγάλο βαθμό από την παρουσία χλωροφύλλης και τα παράγωγά τους, ιδιαίτερα παρουσία φωτός (Interesse et al. 1971). Αυτές οι ενώσεις έχουν την ικανότητα να μεταφέρουν ενέργεια από το φως στα χημικά μόρια. Αρκετές έρευνες έχουν δείξει την προ-οξειδωτική δράση της χλωροφύλλης και των παραγώγων τους σε ελαιόλαδο κατά την διάρκεια της έκθεσής του στο φως. Η ποσότητα της χλωροφύλλης που προστίθεται στο ελαιόλαδο μειώνει την οξειδωτική του σταθερότητα κατά την διάρκεια αποθήκευσης στο φως. Αυτοί οι φωτοευαισθητοποιητές θα μπορούσαν να εμφανίσουν ελαφρώς αντιοξειδωτικές δράσεις στο ελαιόλαδο στο σκοτάδι πιθανώς με την δώρηση υδρογόνου για να σπάσει τις αλυσιδωτές αντιδράσεις των ελεύθερων ριζών. Η σχετική προ-οξειδωτική δράση των φαιοφορβιδίων, των φαιοφυτινών και των χλωροφύλλης βρέθηκε να είναι 1,3: 1, 1: 1, αντίστοιχα, όταν μετρήθηκε με οξείδωση με λινολεϊκού μεθυλεστέρα (Endo et al. 1984).

2.4 Τοκοφερόλες

Οι τοκοφερόλες αποτελούν τη λιπόφιλη αντιοξειδωτική ομάδα του ελαιολάδου και διακρίνονται για την αποτελεσματική αναστολή της οξείδωσης των λιπιδίων σε όλα τα φυτικά έλαια. Το άλφα ισομερές των τοκοφερόλων είναι το κύριο ενδογενές αντιοξειδωτικό που υπάρχει στο ελαιόλαδο και βρίσκεται σε περιεκτικότητα 12-150ppm. Ελαιόλαδου που παράγεται από ελαιοπυρήνα παρουσιάζει υψηλότερες τιμές τοκοφερόλης.



Εικόνα 2.3 : Τοκοφερόλες Πηγή : <https://lh3.googleusercontent.com/proxy/nmfv6jPsZsY5vc1Apf2hHDtmh2foBvj6ZSgfvJ1Ov63mwpbdnjeb0VdzYH3lk52U-15abYawXnaOKrAEE7IxwnxNeIGLWQ>

Οι τοκοφερόλες θεωρείται γενικά πως είναι τα κύρια φυσικά αντιοξειδωτικά που υπάρχουν στα περισσότερα φυτικά έλαια. Ωστόσο στο παρθένο ελαιόλαδο ανταγωνίζονται τις πολυφαινόλες στα αρχικά στάδια της οξείδωσης και η συμβολή τους στη σταθερότητα του θεωρείται πως είναι μικρής σημασίας συγκριτικά με τις πολυφαινόλες. Οι αντιοξειδωτικές τους δραστηριότητες εξαρτώνται κυρίως από τη συγκέντρωσή τους καθώς και την παρουσία συνεργιστικών ενώσεων.

Έχουν αναφερθεί τοκοφερόλες να ενεργούν ουσιαστικά ως δότες πρωτονίων και να δρουν σαν παράγοντες εξάλειψης ελεύθερων ριζών βάση το οξειδοαναγωγικό σύστημα τοκοφερόλης-τοκοφερόλης ημικινόνης (Sayago et al. 2007). Η μέγιστη δραστηριότητά τους παρατηρήθηκε σε ποσότητες μεταξύ 400 και 600 ppm.

Οι τοκοφερόλες δρουν εξαλείφοντας επίσης και τις ρίζες οξυγόνου μέσω ενός μηχανισμού απόσβεσης και μεταφοράς φορτίου. Οι τοκοφερόλες αύξησαν την οξειδωτική σταθερότητα των φυτικών ελαίων κατά τη διάρκεια της αποθήκευσης με φως και όταν υπήρχε χλωροφύλλη. Η αντιοξειδωτική δράση των τοκοφερολών μειώνεται από την α-τοκοφερόλη σε β- και γ- τοκοφερόλη.

Σε επίδραση εξωτερικών παραγόντων η περιεκτικότητα σε τοκοφερόλες μειώνεται. Ταυτόχρονα η κατάσταση της ωριμότητας των ελαιόκαρπων επιδρά καθοριστικά στην περιεκτικότητα σε τοκοφερόλες των ελαιολάδων, έτσι ώστε το ελαιόλαδο που λαμβάνεται από πράσινους ελαιόκαρπους να είναι πιο πλούσιο σε τοκοφερόλες από αυτό που προέρχεται από ώριμους ελαιόκαρπους (Beltran et al., 2005).

2.5 Οξείδωση και λιπόλυση ελαιόλαδου

Τα λιπίδια τροφίμων είναι συνήθως πολύπλοκα μείγματα που μπορούν να επηρεαστούν από εξωτερικές μεταβλητές επιφέρει αλλαγές στη χημική τους σύνθεση που μπορεί να σχετίζονται με απώλεια των οργανοληπτικών τους χαρακτηριστικών και της θρεπτικής τους κατάστασης.

Οι κύριες διαδικασίες που οδηγούν σε αποικοδόμηση των λιπιδίων είναι η λιπόλυση και η οξειδωτική τάγγιση ή οξείδωση.

Αν και λιπόλυση, η οποία προκαλείται από την απελευθέρωση του ελεύθερου λιπαρά οξέα (FFAs) από τα γλυκερίδια, είναι εξαιρετικά σημαντικά για τον προσδιορισμό των οργανοληπτικών χαρακτηριστικών ενός τροφίμου, είναι απίθανο να έχει κάποια διατροφική σημασία επειδή τα λίπη σε κάθε περίπτωση υδρολύονται ενζυματικά στο λεπτό έντερο πριν απορροφηθούν. Σε ορισμένες περιπτώσεις η υδρολυτική οξύτητα θεωρείται επιθυμητή. Ωστόσο, η οξείδωση οδηγεί στο σχηματισμό τόσο δυσάρεστων όσο και τοξικών ενώσεων και έτσι είναι διατροφικά ανεπιθύμητο.

Η οξείδωση των λιπιδίων έχει αναγνωριστεί ως το κύριο πρόβλημα που επηρεάζει τα βρώσιμα έλαια, καθώς είναι η αιτία σημαντικών επιδεινωτικών αλλαγών στη χημική, αισθητηριακή και θρεπτικές ιδιότητες (Velasco and Dobarganes 2002). Η αυτοοξείδωση και η φωτοοξυγόνωση προχωρούν λόγω της παρουσίας οξυγόνου στον αέρα και είναι ουσιαστικά αναπόφευκτες διαδικασίες. Η κατανόηση της οξείδωσης των λιπιδίων έχει εμποδιστεί από το γεγονός ότι τα λιπίδια είναι συνήθως πολύπλοκα μείγματα που περιέχουν δευτερεύοντα συστατικά που μπορεί καταλύουν ή αναστέλλουν την οξείδωση και επειδή τα πρωτογενή προϊόντα οξείδωσης είναι ασταθή και μετατρέπονται εύκολα σε δευτερεύοντα προϊόντα (Knothe et al. 2007).

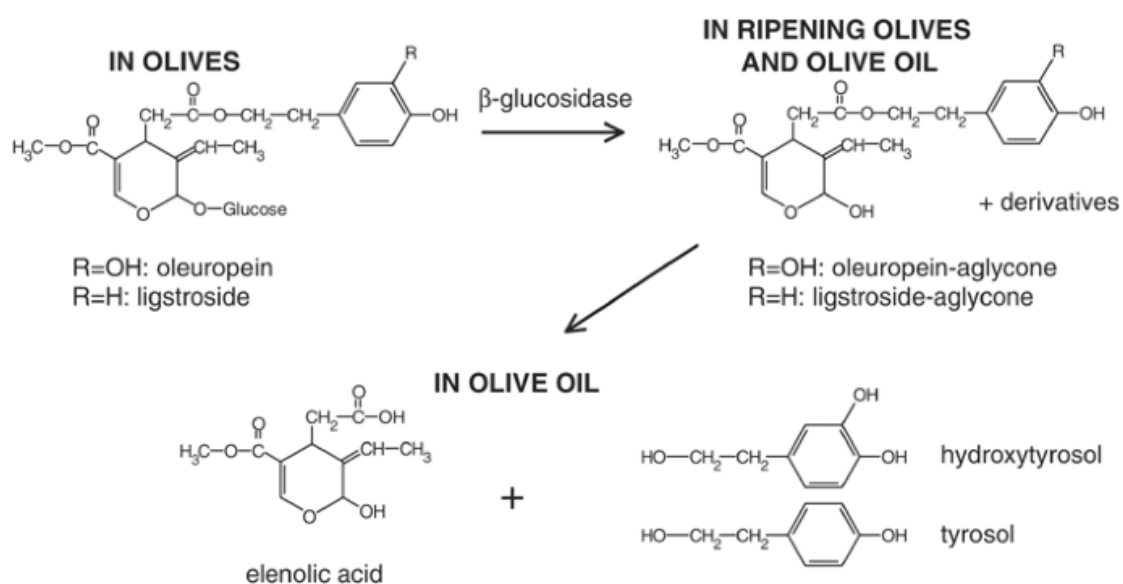
Καθώς τα λιπίδια οξειδώνονται, μπορούν να σχηματίσουν υδροϋπεροξειδία, τα οποία είναι ευαίσθητα σε περαιτέρω οξείδωση ή αποσύνθεση σε προϊόντα δευτερογενούς αντίδρασης όπως αλδεύδες, κετόνες, οξέα και αλκοόλες. Σε πολλές περιπτώσεις, αυτές οι ενώσεις επηρεάζουν αρνητικά γεύση, άρωμα, γεύση, θρεπτική αξία και συνολική ποιότητα.

Πολλά καταλυτικά συστήματα μπορούν να οξειδώσουν τα λιπίδια. Μεταξύ αυτών είναι το φως, θερμοκρασία, ένζυμα, μέταλλα, μεταλλοπρωτεΐνες και μικροοργανισμοί. Οι περισσότερες από αυτές τις αντιδράσεις περιλαμβάνουν την δημιουργία κάποιου είδους ελεύθερων ριζών ή αντιδραστικών ειδών οξυγόνου.

Η οξείδωση μπορεί να πραγματοποιηθεί είτε στο σκοτάδι (αυτοοξείδωση) είτε παρουσία φωτός (φωτοοξείδωση) με τις δύο διεργασίες να διαφέρουν ως προς την οξειδωτική οδό λόγω της δράσης των εξωτερικών μεταβλητών.

Το παρθένο ελαιόλαδο (Virgin Olive Oil, VOO) είναι ένα από τα λίγα έλαια που καταναλώνονται χωρίς καμία χημική παρέμβαση και παρουσιάζει υψηλή αντοχή στην οξειδωτική αλλοίωση λόγω της σύνθεσης λιπαρών οξέων που χαρακτηρίζεται από

υψηλή αναλογία μονοακόρεστων και πολυακόρεστων λιπαρών οξέων και υψηλά επίπεδα ουσιών με αντιοξειδωτική δράση οι οποίες είναι κυρίως πολυφαινόλες και τοκοφερόλες. Οι περισσότερες από αυτές τις δευτερεύουσες ενώσεις μειώνονται δραστικά κατά την διαδικασία επεξεργασίας του ελαιόλαδου με αποτέλεσμα στα παρθένα ελαιόλαδα η παρουσία τους να είναι υψηλότερη. Ωστόσο, ακόμη και αν το VOO έχει γενικά υψηλή αντίσταση στην οξείδωση, μερικές δευτερεύουσες ενώσεις που επίσης εξαλείφονται κατά τη δύλιση, δηλαδή, τα ελεύθερα λιπαρά οξέα και οι φωτοευαίσθητες ουσίες μπορούν να δράσουν προοξειδωτικά και κατά συνέπεια να μεταβάλλουν την σταθερότητα των διαφορετικών VOOs (Velasco και Dobarganes 2002).



Εικόνα 2.4 : Μεταβολές στην ωρίμανση ελαιόλαδου Πηγή : https://media.springernature.com/lw685/springer-static/image/art%3A10.1038%2Fsj.ejcn.1601917/MediaObjects/41430_2004_Article_BF1601917_Fig1_HTML.gif

Η λιπόλυση του ελαιόλαδου συνήθως ξεκινά ενώ το ελαιόλαδο βρίσκεται στους καρπούς, ενώ η οξείδωση πραγματοποιείται κυρίως κατά την διαδικασία εξαγωγής και αποθήκευσης του ελαιόλαδου. Η επίδραση των διεργασιών μετά τη συγκομιδή και την αποθήκευση προωθούν σταδιακά την οξείδωση των λιπιδίων με αποτέλεσμα την μείωση της σταθερότητας και της διάρκειας ζωής του ελαιόλαδου λόγω της δημιουργίας οργανικών χημικών ουσιών και της υπεροξειδωσης που πραγματοποιείται. Η επίδραση των διεργασιών μετά τη συγκομιδή, η αποθήκευση και η επεξεργασία των πρώτων υλών κατά την οξείδωση των λιπιδίων είναι

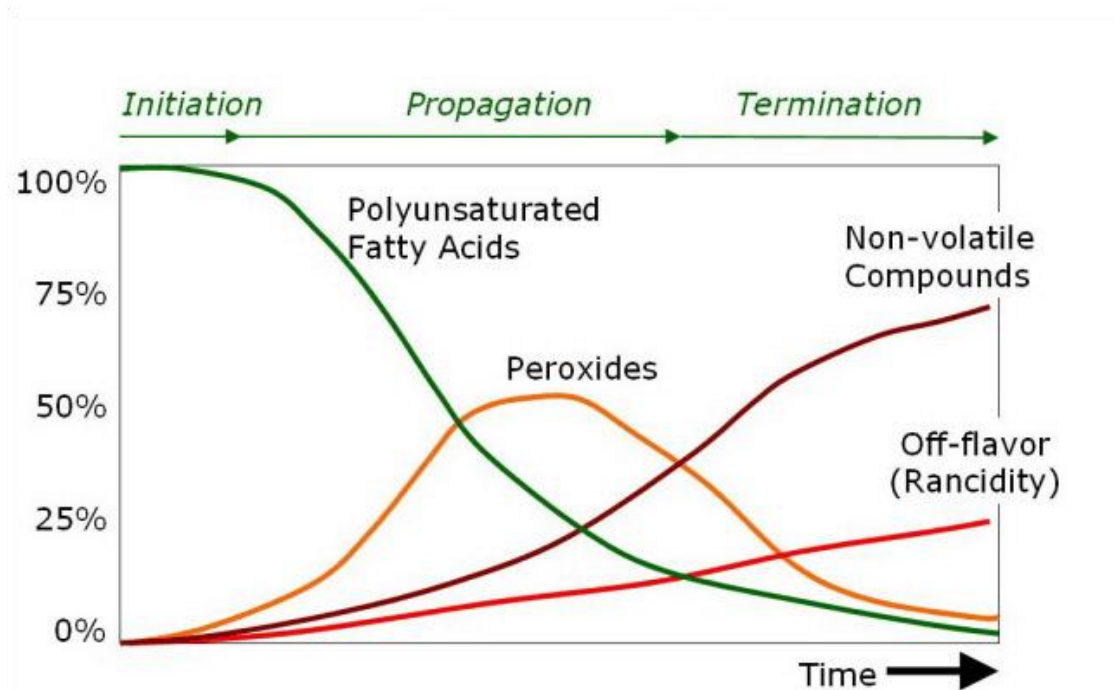
έχει μεγάλο ενδιαφέρον στην περίπτωση του ελαιολάδου. Το ελαιόλαδο οξειδώνεται όταν έρθει σε επαφή με το οξυγόνο αν και ορισμένες ουσίες επιβραδύνουν την οξείδωση (αντιοξειδωτικά) υπάρχουν στον φυτικό ιστό. Η τελική σύνθεση των VOOs είναι το αποτέλεσμα ενός μεγάλου αριθμού μεταβλητών που επηρεάζουν όλα τα στάδια από το σχηματισμό ελαίου στην ελιά μέχρι την κατανάλωση του. Μερικές από αυτές τις μεταβλητές έχουν σημαντικές επιπτώσεις στη συγκέντρωση των ενώσεων που τροποποιούν τη σταθερότητα προς την οξείδωση και μπορούν να διαιρεθούν ως εξής :

- Μεταβλητές που επιδρούν πριν την εξαγωγή ελαιόλαδου : πολυάριθμοι παράγοντες όπως, για παράδειγμα, ποικιλία ελιάς, περιβαλλοντικές, κλιματικές, συνθήκες εδάφους και καλλιέργειας, ηλικία δέντρου, η ωριμότητα της ελιάς και η υγεία της ελιάς εμπλέκονται στις διαφορές στη σύνθεση VOO κατά τον σχηματισμό του στους καρπούς
- Μεταβλητές που δρουν κατά την εξαγωγή ελαιόλαδου συμπεριλαμβανομένης της επιρροής των διαφόρων στάδια της διαδικασίας όπως άλεση, παρασκευή πάστας ελιάς, εκχύλιση ελαίου σύστημα και φιλτράρισμα της ποιότητας και της σταθερότητας των VOO.
- Μεταβλητές που δρουν μετά την εκχύλιση ελαίου κατά την αποθήκευση : μόλις το ελαιόλαδο παραχθεί η οξειδωτική υποβάθμισή του ξεκινάει και επηρεάζεται από εξωτερικές μεταβλητές κατά την αποθήκευσή του μεταξύ των οποίων είναι οι διαθεσιμότητα οξυγόνου, θερμοκρασία και πιθανή μόλυνση.

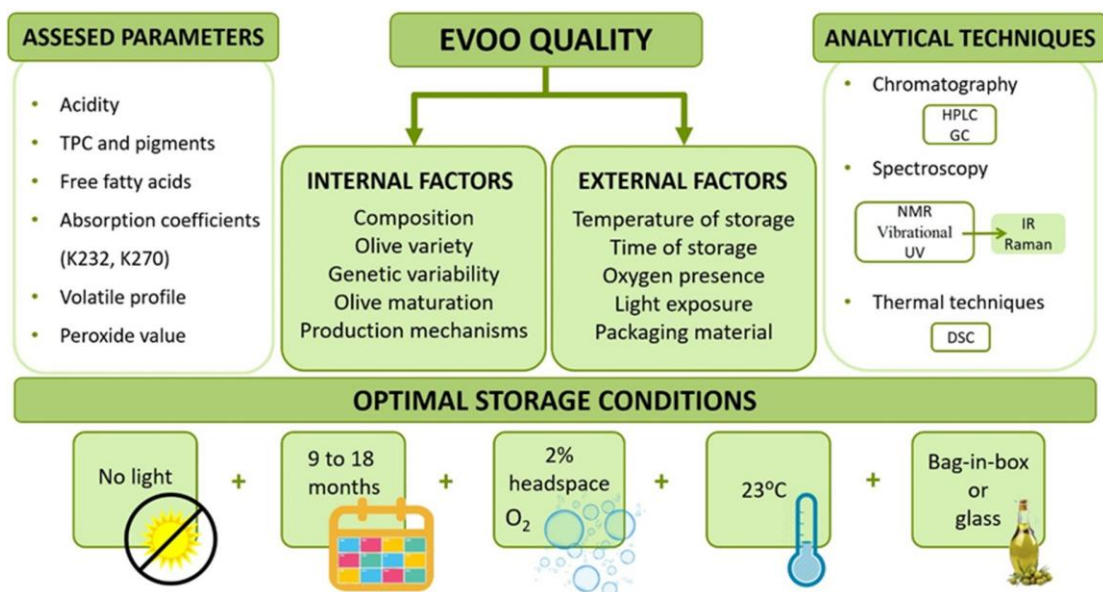
Γενικότερα το εξαιρετικά παρθένο ελαιόλαδο, όπως και το παρθένο ελαιόλαδο, θεωρείται ανθεκτικό στην οξειδωτική αποδόμηση λόγω της χαμηλής περιεκτικότητας σε πολυακόρεστα λιπαρά οξέα (PUFAs). Χαρακτηρίζεται από υψηλή αναλογία μονοακόρεστων προς πολυακόρεστα λιπαρά οξέα και από την παρουσία φυσικού αντιοξειδωτικού δευτερεύοντος συστατικά όπως α-τοκοφερόλη και φαινολικές ενώσεις: υδροξυτυροσόλη, τυροσόλη, καφεϊκό οξύ και άλλα.

Η παρουσία λινολεϊκών και μικρών ποσοτήτων λινολενικών οξέων καθιστά το ελαιόλαδο ευαίσθητο σε οξείδωση, παρόμοιο με άλλα φυτικά έλαια. Οι περισσότερες από τις ανεπιθύμητες αλλαγές στο ελαιόλαδο μπορούν να αποδοθούν στις αντιδράσεις που προκαλούνται από οξειδωτική αποικοδόμηση. Το ποσοστό αυτών των αντιδράσεων επηρεάζεται από πολλούς παράγοντες.

Η παρουσία οξυγόνου στον αέρα είναι ο κύριος παράγοντας που προκαλεί επιδείνωση της ποιότητας του λαδιού. Η οξειδωτική αποικοδόμηση στο ελαιόλαδο είναι η πιο σημαντική αιτία αρνητικών αλλαγών και συμβαίνει τόσο από ενζυματικές όσο και από χημικές οδούς.



Εικόνα 2.5 : Μεταβολές στα χαρακτηριστικά του ελαιόλαδου με την πάροδο του χρόνου Πηγή : <https://morocco-gold.com/wp-content/uploads/2019/12/olive-oil-oxidation.png>



Εικόνα 2.6 : Παράμετροι που επηρεάζουν την ποιότητα και διατηρησιμότητα ελαιόλαδου Πηγή : Jimenez-Lopez et al., (2020)

2.4.1 Ενζυματική αποικοδόμηση ελαιόλαδου

Τυπικά, διαφορετικά ένζυμα εμπλέκονται στην οξειδωτική αποσύνθεση των ακόρεστων λιπαρών οξέων. Η αλληλουχία ξεκινά με την υδρόλυση διαφόρων ακυλγλυκεριδίων από απελευθερώνονται λιπάσες, λιπολυτικές ακυλο υδρολάσες και φωσφολιπάσες και ελεύθερα PUFA. Στη συνέχεια, συγκεκριμένες λιποξυγενάσες μετατρέπουν τα ακόρεστα λιπαρά οξέα σε δύο κύρια υδροϋπεροξειδία, δηλαδή 9 και 13 ισομερή, τα οποία έχουν κακή σταθερότητα. Στο τελευταίο βήμα της ενζυματικής αποικοδόμησης του ελαιόλαδου, λυάσες, ισομεράσες και αφυδρογονάσες αποικοδομούν τα υδροϋπεροξειδία σε μια ποικιλία πτητικών και μη πτητικών προϊόντων.

Το VOO είναι μοναδικό επειδή οι ίδιες ενζυματικές διεργασίες είναι επίσης υπεύθυνες για το σχηματισμό της γνήσιας και εκτιμημένης γεύσης του. Στις ελιές ο σχηματισμός των 13-υδροϋπεροξειδίων από λινολεϊκό και λινολενικό οξύ προωθείται, οδηγώντας σε σχηματισμός αλδεϋδών C6 και αλκοολών, οι οποίοι είναι οι κύριοι συντελεστές της αισθητηριακής αντίληψης του VOO. Τα ακόρεστα λιπαρά οξέα, ιδιαίτερα λινολεϊκά και λινολενικά στα φυτά, είναι τα προτιμώμενα υποστρώματα που οξειδώνονται από λιποξυγενάσες. Ένας συγκεκριμένος τύπος λιποξυγενάσης είναι ικανός να καταλύσει την οξείδωση ακόρεστων λιπαρών οξέων όταν αυτά αποτελούν μέρος των τριγλυκεριδίων (Christopher et al. 1972). Για αποτελεσματικό και υψηλό ρυθμό οξείδωσης, ένζυμα που εμπλέκονται στην οξειδωτική η υποβάθμιση του PUFA απαιτεί τη συνεχή παρουσία οξυγόνου.

Έλλειψη οξυγόνου δεν τερματίζει την οξειδωτική αποικοδόμηση αφού ορισμένες λιποξυγενάσες και άλλα ένζυμα που εμπλέκονται μπορούν να οξειδώσουν τα λιπαρά οξέα απουσία οξυγόνου, σε αυτή την περίπτωση σχηματίζοντας ελεύθερες ρίζες αντί υδροϋπεροξειδίων (Feussner et al. 2001). Η παρουσία του ίχνους ποσότητες υδροϋπεροξειδίων επιταχύνει την οξείδωση των ακόρεστων λιπαρών οξέων κατά λιποξυγενάση, ιδιαίτερα υπό αναερόβιες συνθήκες.

Τα ένζυμα που καταλύουν την αποικοδόμηση PUFA είναι πολύ ενεργά κατά την ωρίμανση της ελιάς. Κατά τη συγκομιδή, αποθήκευση και επεξεργασία της ελιάς, η ζημιά στον καρπό συμβαίνει συχνά και το περιεχόμενο των σπασμένων κυττάρων

εκτίθεται σε ενζυμική δραστηριότητα που διεγείρει οξυγόνο. Κατά την παραγωγή του VOO αυτά τα μονοπάτια ενεργοποιούνται με σχετικά υψηλό ρυθμό, σχηματίζοντας επιθυμητές πτητικές ενώσεις, όταν οι ελιές θρυμματίζονται και πιέζονται με λάδι. Το προφίλ των πτητικών ενώσεων άθικτων και κομμένων ελιών είναι αρκετά διαφορετικό, με τις πτητικές ενώσεις να παράγονται από τη δράση της λιποξυγενάσης και άλλων ενζύμων αμέσως μετά την κοπή των ελιών, εκθέτοντας έτσι τα περιεχόμενα των κυττάρων στο οξυγόνο.

Είναι αξιοσημείωτο ότι σε άθικτους καρπούς υπάρχουν σημαντικές ποσότητες υδρογονανθράκων. Ωστόσο, τυπικές πτητικές ενώσεις VOO, όπως η εξανάλη και η εξαν-1-όλη, παρατηρήθηκαν σε πολύ χαμηλά επίπεδα, υποδεικνύοντας ότι σχηματίζονται από οξειδωτική αποικοδόμηση των PUFA όταν τα κύτταρα της ελιάς έχουν υποστεί βλάβη.

Τα ένζυμα διάσπασης μπορούν να είναι εγγενή στον καρπό/φυτό της ελιάς, ενώ τα ένζυμα δεν μπορούν να αποκλειστούν ως πρόσθετος παράγοντας αλλοίωσης. Ο σχηματισμός μικρών ποσοτήτων υδροϋπεροξειδίων μπορούν να έχουν επιταχυνόμενη επίδραση στην οξείδωση στο έτοιμο ελαιόλαδο. Οι ελεύθερες ρίζες που σχηματίζονται από την αποσύνθεση των υδροϋπεροξειδίων μπορούν να αποκλιμακώσουν περαιτέρω την οξείδωση, προκαλώντας νωρίτερα τον σχηματισμό των ενζύμων αυτών, προκαλώντας νωρίτερα από το αναμενόμενο την οξείδωση του ελαιόλαδου μειώνοντας την σταθερότητά του κατά την αποθήκευση.

2.4.2 Αυτοοξείδωση λιπιδίων

Τις τελευταίες δεκαετίες έχουν γραφτεί πολλές περιεκτικές κριτικές για τον μηχανισμό οξείδωσης των λιπιδίων. Πολλοί καταλύτες ή εκκινητές επιταχύνουν την οξείδωση των λιπιδίων. Αυτά περιλαμβάνουν το φως, τη θερμοκρασία, τα ένζυμα, τα μέταλλα, τις μεταλλοπρωτεΐνες, τις χρωστικές και τους μικροοργανισμούς. Σε αυτές τις αντιδράσεις οι ελεύθερες ρίζες ή σχηματίζονται αντιδραστικά είδη οξυγόνου όπως το απλό οξυγόνο. Τα κύρια υποστρώματα για αυτές τις αντιδράσεις είναι ακόρεστα λιπαρά οξέα και οξυγόνο. Ο μηχανισμός ελεύθερης ρίζας οξείδωσης των λιπιδίων χωρίζεται συνήθως σε τρία στάδια: έναρξη, διάδοση και τερματισμός (Ingold 1969). Στο στάδιο έναρξης σχηματίζονται άμεσα οι ελεύθερες ρίζες από λιπαρά οξέα με τη βοήθεια εκκινητών όπως θερμοκρασία, φως, άλλες ελεύθερες ρίζες και βαρέα μέταλλα.

Όπως αναφέρθηκε προηγουμένως, η οξείδωση λιπαρών οξέων μπορεί να προχωρήσει στον σχηματισμό ριζών με επίκεντρο τον άνθρακα σταθεροποιώντας την αυθόρμητη αναδιάταξη για τον σχηματισμό συζευγμένων διενίων. Κατά το στάδιο της διάδοσης, οι ρίζες λιπιδίων αντιδρούν με το οξυγόνο για να σχηματίσουν ελεύθερες ρίζες υπεροξυλίων. Σε αυτό το στάδιο σχηματίζονται οι ρίζες υπεροξειδίου που αντιδρούν με ένα άλλο μόριο λιπιδίου, σχηματίζοντας μια λιπιδική ρίζα και ένα υδροϋπεροξειδίο.

Σε αυτό το στάδιο λιπιδίων ο σχηματισμός ριζών και υδροϋπεροξειδίου είναι αυτοκαταλυτικός και εξελίσσεται με γρήγορο ρυθμό. Τα υδροϋπεροξειδία που σχηματίζονται δεν είναι σταθερά και αποσυντίθενται εύκολα για να παράγουν μια μεγάλη ποικιλία μη πτητικών και πτητικών προϊόντων. Μεταξύ αυτών των προϊόντων, υπάρχουν και ριζικά παρόν που μπορεί να ξεκινήσει ή να διεγείρει τη διαδικασία οξείδωσης.

Τα πτητικά και μη πτητικά προϊόντα που σχηματίζονται μπορούν να αποσυντεθούν και να οξειδωθούν περαιτέρω για να παραχθεί ολόκληρη η σειρά δευτερογενών προϊόντων. Με την πάροδο του χρόνου η ποσότητα των PUFA μειώνεται, ενώ η αναλογία των υδροϋπεροξειδίων αυξάνεται. Ωστόσο, η εμφάνιση ενώσεων χωρίς γεύση καθυστερεί επειδή αυτά είναι δευτερεύοντα προϊόντα οξείδωσης και σχηματίζονται όταν αποσυντίθενται τα πρωτογενή οξειδία. Ο σχηματισμός μη πτητικών προϊόντων οξείδωσης ξεκινά νωρίτερα αφού οι κύριες ενώσεις οξείδωσης ανήκουν σε αυτήν την ομάδα. Όλα αυτά τα προϊόντα επηρεάζουν άμεσα την ποιότητα των ελαίων και πολλά από αυτά είναι η κύρια αιτία σχηματισμός εκτός γεύσης και αλλαγές στη γεύση, όπως περιγράφηκε νωρίτερα για ενζυματική οξείδωση.

Κατά τη διάρκεια του σταδίου τερματισμού, οι ρίζες αντιδρούν μεταξύ τους και σχηματίζονται μη ριζικά προϊόντα. Κάθε αντίδραση που εμποδίζει τον πολλαπλασιασμό της υπεροξειδωσίας ή τον σταματά. Οι ελεύθερες ρίζες από το σύστημα παίζουν βασικό ρόλο στον μηχανισμό τερματισμού. Τα αντιοξειδωτικά που σπάνε αλυσίδες, όπως τα φαινολικά συστατικά, αντιδρούν με λιπιδικές ρίζες και σχηματίζουν μη αντιδραστικές ρίζες, σταματώντας την αλυσίδα διάδοσης. Παραδείγματα φαινολικών αντιοξειδωτικών περιλαμβάνουν τοκοφερόλες, βουτυλιωμένες υδροκινόνες και γαλλικό προπύλιο.

Ο ρυθμός αποσύνθεσης του υδροϋπεροξειδίου σχετίζεται με τον αριθμό των διπλών δεσμών στο οξειδωμένο λιπαρό οξύ. Τα λινολενικά υδροϋπεροξειδία αποσυντίθενται ταχύτερα από το λινολεϊκό και το ελαϊκό και μπορούν επίσης να διαδώσουν την οξείδωση άλλων λιπαρών οξέων. Το ποσοστό λιπαρών οξέων προσδιορίστηκε με περιοδική απομάκρυνση των κλασμάτων κατά τη διάρκεια της οξειδωτικής διαδικασίας από 0 έως 33 ώρες οξείδωσης (Morales et al. 1997). Η ποσοτικοποίηση βασίστηκε στο κύριο κορεσμένο οξύ (C 16: 0) που υπήρχε αρχικά για να δείξει το πραγματικό περιεχόμενο αναλλοίωτων λιπαρών οξέων.

Όπως ήταν αναμενόμενο, κυρίως τα ακόρεστα λιπαρά οξέα άλλαξαν κατά τη διάρκεια της διαδικασίας. Έτσι τα ελαϊκά, λινολεϊκά και λινολενικά οξέα ήταν αυτά που επλήγησαν περισσότερο. Το λινολενικό οξύ έδειξε ταχύτερη αποσύνθεση από το λινολεϊκό οξύ, ακολουθούμενο από μονοακόρεστα λιπαρά οξέα, τα οποία έδειξαν παρόμοια συμπεριφορά. Η πιο σημαντική μείωση παρατηρήθηκε μετά από 21 ώρες οξείδωσης, όταν ανιχνεύθηκε η υψηλότερη ποσότητα πτητικών. Το λινολενικό οξύ πρακτικά εξαφανίστηκε μετά από 33 ώρες οξείδωσης, η περιεκτικότητα σε λινολεϊκό οξύ μειώθηκε δραστικά και το ελαϊκό οξύ επηρεάστηκε επίσης από την οξειδωτική αλλοίωση. Αυτά τα αποτελέσματα ήταν σύμφωνο με τις πτητικές ενώσεις που βρέθηκαν στα οξειδωμένα δείγματα, καθώς πολλές αλδεύδες ανιχνεύθηκαν μετά από 21 ώρες οξείδωσης. Οι συγκεντρώσεις τους αυξήθηκαν περαιτέρω τις επόμενες ώρες, πράγμα που σημαίνει ότι τα κύρια πτητικά προϊόντα αποσύνθεσης που βρέθηκαν σε οξειδωμένα ελαιόλαδα παράχθηκαν από μονοϋδροϋπεροξειδία των ακόρεστων ελαϊκών, λινολεϊκών και λινολενικών λιπαρών οξέων καθώς η συνολική περιεκτικότητα σε αναλλοίωτα λιπαρά οξέα μειώθηκε από 98,2 % (0 ώρες) έως 80,8 % (21 ώρες) και, αργότερα, έως 49,2 % (33 ώρες).

2.4.3 Φωτοοξείδωση

Η φωτοοξείδωση χει αναγνωριστεί ως η πιο επιζήμια για την οξειδωτική σταθερότητα φυτικών ελαίων. Τα περισσότερα έλαια περιέχουν φυσικούς φωτοευαισθητοποιητές που ενεργοποιούνται όταν τα έλαια εκτίθενται στο φως κατά την επεξεργασία και την εμπορική διανομή (Carlsson et al. 1976). Η έκθεση στο φως μπορεί να προκαλέσει το σχηματισμό υδροϋπεροξειδίων όταν υπάρχουν και οξυγόνο και φωτοευαισθητοποιητής. Συνήθως, η ποσότητα οξυγόνου διαλυμένο σε λάδι ως αποτέλεσμα της επεξεργασίας είναι αρκετό για να οξειδώσει το λάδι σε ένα εμπορικό δοχείο σε τιμή PV 10 meq/kg.

Πιο επιζήμια είναι η αντίδραση ενός διεγερμένου ευαισθητοποιητή με οξυγόνο βασικής κατάστασης για να σχηματιστεί απλό οξυγόνο. Η μεταβίβαση της ενέργειας σε έναν δέκτη, ένα ακόρεστο λιπαρό οξύ, προκαλεί το σχηματισμό ενός υδροϋπεροξειδίου. Έχει βρεθεί ότι το απλό οξυγόνο αντιδρά με το λινολεϊκό οξύ περίπου 1.500 φορές ταχύτερο από το κανονικό οξυγόνο (Rawls and Van Santen 1970). Επομένως, αυτό το αντιδραστικό συστατικό ορίζεται ως ο σημαντικότερος εκκινητής της ελεύθερης ρίζας αυτοοξειδωση φυτικών ελαίων. Η αποτελεσματικότητα της εκκίνησης του φωτός είναι αντίστροφα ανάλογα με το μήκος κύματος, όπου τα μικρότερα μήκη κύματος είναι τα πιο αποτελεσματικά. Αυτή η διαδικασία διαδίδεται από τον μηχανισμό ελεύθερων ριζών που συζητήθηκε προηγουμένως, και σχηματίζονται παρόμοια υδροϋπεροξειδία. Το απλό οξυγόνο παράγεται συχνότερα από τη δραστηριότητα των φυσικών φωτοευαισθητοποιητών όπως η χλωροφύλλη, τα προϊόντα αποικοδόμησής της και άλλες χρωστικές που συνήθως υπάρχουν τα ελαιόλαδα.

Τα υδροϋπεροξειδία που σχηματίζονται από απλή οξείδωση οξυγόνου διασπώνται εύκολα για να σχηματίσουν μια ποικιλία αλκοξυ και υπεροξυ ριζών, οι οποίες με τη σειρά τους επιταχύνουν την αυτοοξείδωση των ελεύθερων ριζών. Η οξείδωση ακόρεστων λιπαρών οξέων από απλό οξυγόνο μπορεί να ανασταλεί από ενώσεις που αντιδρούν γρηγορότερα με αυτόν τον εκκινητή ή τους αποσβέστες που απενεργοποιούν το οξυγόνο στην βασική τους μορφή. Οι ενώσεις αυτές (αντιοξειδωτικά) είναι γνωστά ως α-τοκοφερόλη και β-καροτένιο ενώ άλλα γνωστά αντιοξειδωτικά περιλαμβάνουν τα αμινοξέα, πρωτεΐνες, σουλφίδια, φαινόλες και παράγοντες χηλίωσης μετάλλων.

2.4.4 Προϊόντα οξείδωσης

Τα κύρια προϊόντα οξείδωσης που σχηματίζονται από ακόρεστα λιπαρά οξέα είναι διάφορα ισομερή υδροϋπεροξειδίων των οποίων ο σχηματισμός εξαρτάται από τον αριθμό των διπλών δεσμών και του μηχανισμού οξείδωσης.

Το λινολενικό οξύ παράγει τον μεγαλύτερο αριθμό ισομερών υδροϋπεροξειδίου κατά τη διάρκεια και των δύο μηχανισμών οξείδωσης νακολουθούμενο από λινολεϊκό και ελαϊκό οξύ. Η φωτοοξείδωση βρέθηκε να είναι η πιο αποτελεσματική οξείδωση, ιδιαίτερα για το λινολενικό οξύ όπου σχηματίστηκαν τα περισσότερα ισομερή.

Ταυτόχρονα σχηματίζονται προϊόντα λιπαρών οξέων με συζευγμένες διαμορφώσεις διπλού δεσμού.

Μεταξύ των φυτικών ελαίων, το ελαιόλαδο περιέχει μια ποικιλία από δευτερεύοντα συστατικά που μπορούν

επηρεάζεται επίσης από το οξυγόνο που υπάρχει στο λάδι και μπορεί να υποστεί οξειδωτική αποικοδόμηση, η οποία οδηγεί στο σχηματισμό μιας ποικιλίας προϊόντων οξείδωσης. Η χλωροφύλλη, ένας δείκτης ποιότητας ελαιολάδου, επηρεάζεται από την οξείδωση στη σχηματίζουσα αλυσίδα από υδροξυπεροξειδία και προϊόντα αποικοδόμησης υδροξέων μικρού μορίου. Αυτά τα προϊόντα αλλάζουν το χρώμα του ελαίου και σχηματίζουν ρίζες που, με τη σειρά τους, μπορεί να προκαλέσουν οξείδωση άλλων συστατικών ελαίου (Rontani et al. 2007).

Οι φυτοστερόλες αποτελούν συνήθως την πλειοψηφία των δευτερευόντων συστατικών στα φυτικά έλαια συμπεριλαμβανομένου του ελαιολάδου. Αυτά τα συστατικά είναι επιρρεπή σε οξειδωτική αποικοδόμηση, σχηματίζοντας μια ποικιλία οξειδίων που ανήκουν στις ακόλουθες ομάδες συστατικών: εποξειδία,

κετο, παράγωγα υδροξυ. Κάθε μία από αυτές τις ενώσεις σχηματίζεται μέσω ενός μηχανισμού ελεύθερων ριζών παρόμοιο με αυτόν που περιγράφηκε νωρίτερα για τα λιπαρά οξέα.

Τα οξειδία είναι ασταθή και διασπώνται σχηματίζοντας μία ποικιλία ελεύθερων ριζών και συστατικών που προσδίδουν αρνητικά οργανοληπτικά χαρακτηριστικά στο ελαιόλαδο. Τα οξειδία είναι ασταθή και διασπώνται σχηματίζοντας μια ποικιλία ελεύθερων ριζών και εκτός γεύσης συστατικά, παρόμοια σε δομή με αυτά που σχηματίζονται κατά την αποδόμηση των λιπαρών οξέων (Rudzinska et al. 2009).

Οι πρωτογενείς ενώσεις οξείδωσης είναι ασταθείς και εύκολα διασπώνται σε μια ποικιλία ενώσεων με χαμηλότερο μοριακό βάρος από το λιπαρό οξύ από το οποίο προέρχονται. Μεταξύ των προϊόντων αποικοδόμησης, σχηματίζονται τα πιο αρωματικά συστατικά που είναι τα περισσότερα επιζήμια για την ποιότητα όταν αναπτύσσεται η οξύτητα σε έλαια, λίπη, ελαιούχους σπόρους και ελαιόλαδο.

Μια άλλη ομάδα προϊόντων αποικοδόμησης υδροϋπεροξειδίου είναι μη πτητικά μόρια υδροξυ οξέων, κετοξέων και υδροξυαλδεϋδων. Αυτές οι ενώσεις συνήθως

θεωρείται ότι είναι οι πιο επιζήμιες για την ανθρώπινη υγεία. Όλα τα προϊόντα οξειδωτικής αποικοδόμησης είναι πολύ δραστικές χημικά ενώσεις και είναι πρόδρομοι σχηματισμού ολιγομερών και μια ποικιλία προϊόντων αλληλεπίδρασης.

2.4.5 Μεταβολή χρωστικών ουσιών

Η περιεκτικότητα σε χρωστικές ουσίες του ελαιολάδου θα μπορούσε επίσης να είναι ευαίσθητη σε αλλοιώσεις και απάτες (Lazzerini et al., 2016). Η παράνομη προσθήκη τεχνητών χρωστικών στο ελαιόλαδο για την αποφυγή τυχόν απώλειας χρώματος λόγω εξυγениσμού εξακολουθεί να είναι μια κοινή μέθοδος νοθείας. Οι ευρωπαϊκοί κανονισμοί δεν επιτρέπουν την προσθήκη χρωστικών σε λάδια και/ή λίπη ζωικής ή φυτικής προέλευσης.

Επομένως, εάν εντοπιστεί τεχνητό χρώμα στο ελαιόλαδο, η κατάσταση αυτή θεωρείται νοθεία. Ως πρασινωπό χρώμα, τα σύμπλοκα χλωροφύλλης χαλκού γνωστά ως E – 141i, λαμβάνονται με εξαγωγή διαλύτη από φυτικές πηγές. Το πρόσθετο E – 141i παράγεται με την προσθήκη αλάτων Cu^{+2} στις χρωστικές στις οποίες το εσωτερικό ιόν ιόντων Mg^{+2} αντικαθίσταται με το πιο σταθερό Cu^{+2} προκαλώντας το σχηματισμό παραγώγων χαλκού -χλωροφύλλης και έχει χρησιμοποιηθεί κυρίως στις απάτες του ελαιολάδου λόγω των σταθερών χρωματικών χαρακτηριστικών του κατά την επεξεργασία και αποθήκευση (Gandul-Rojas et al., 2016).

Οι μελέτες νοθείας σχετικά με τις χρωστικές χρωστικών στα ελαιόλαδα έδειξαν ότι η Cu-πυροφαιοφυτίνη a ήταν το κύριο συστατικό μεταξύ των παραγώγων χαλκού-χλωροφύλλης. Φυσικά, σχεδόν κανένα από αυτά τα παράγωγα δεν υπάρχει στα ελαιόλαδα. Επομένως, η ανίχνευση της παρουσίας οποιασδήποτε από αυτές τις ενώσεις αποκαλύπτει τη νοθεία του ελαίου.

2.5 Νοθεία και αυθεντικότητα ελαιόλαδου

Η τροφή είναι μία από τις βασικές ανάγκες κάθε ζωντανού όντος και αποτελείται από υδατάνθρακες, νερό, λίπη και πρωτεΐνες, τα οποία μπορούν να καταναλωθούν ή να πιουν τα ζώα, συμπεριλαμβανομένων των ανθρώπων, για διατροφή ή ευχαρίστηση. Τα προϊόντα διατροφής ήταν πάντα ευάλωτα σε δόλια πρόσμιξη ή νοθεία με φθηνότερα κατώτερα υλικά με σκοπό την αύξηση του περιθωρίου κέρδους και την μείωση του κόστους παραγωγής (Choudhay et al., 2020).

Αναλυτικότερα ο κύριος λόγος νοθείας είναι η αύξηση του εισοδήματος καθώς και η αύξηση του όγκου του παραγόμενου προϊόντος. Παρόλο που η αύξηση των περιθωρίων κέρδους προκάλεσε νόθευση από ορισμένους εγωιστές παραγωγούς, μεταποιητές και εμπόρους λιανικής, η κύρια αιτία για τη νόθευση είναι η ανεντιμότητα και η έλλειψη τυχαίας αξιολόγησης ποιότητας στα ύποπτα προϊόντα (Asrat and Zelalem, 2014).

Καθώς ο παγκόσμιος πληθυσμός αυξάνεται με ανησυχητικό ρυθμό, τα τρόφιμα συχνά νοθεύονται για να καλύψουν τις ανάγκες αυτού του αυξανόμενου πληθυσμού και να τροφοδοτήσουν τον πληθυσμό μεγάλης κλίμακας. Ένα άλλο κίνητρο για παραποίηση και νόθευση αγαθών και υπηρεσιών είναι η εξωτερική ανάθεση σε παραγωγούς offshore.

Η εξωτερική ανάθεση κατέστη δυνατή επειδή συγκριτικά η εργασία είναι φθηνή σε ορισμένες χώρες και αυτό είναι επίσης που κάνει εύκολη την παραποίηση προϊόντων, καθώς το κόστος παραγωγής είναι πολύ μικρότερο (Sicra, 2012).

Η νοθεία είναι παρούσα στην κοινωνία από πολύ καιρό, αλλά δεν έγινε αντιληπτή λόγω της μικρής χρήσης της και του χαμηλού αντίκτυπου της. Αλλά στην παρούσα εποχή, η οικονομική νοθεία είναι ένα μακροπρόθεσμο πρόβλημα που επηρεάζει τη βιομηχανία τροφίμων στο πιο δραστικό της επίπεδο (Choudhay et al., 2020).

Η νοθεία των τροφίμων παγκοσμίως αποτελεί μείζον ζήτημα για την υγεία και την ασφάλεια. Έχουν αναφερθεί πολυάριθμες περιπτώσεις τροφικής δηλητηρίασης και ζητημάτων υγείας λόγω εσφαλμένης επισήμανσης τροφίμων ή ανάμειξης με μη αποδεκτά συστατικά.

Γενικότερα η νοθεία πραγματοποιείται κυρίως για οικονομικά κίνητρα και πραγματοποιείται με δύο μορφές :

- Με την πώληση ακατάλληλων για κατανάλωση τροφίμων μετά την ημερομηνία λήξης
- Για την εσκεμμένη εσφαλμένη επισήμανση τροφίμων, όπου προϊόντα έχουν υποκατασταθεί από εναλλακτικά συστατικά χαμηλότερου κόστους τα οποία δεν αναγράφονται στην ετικέτα.

Σε εθνικό καθώς και διεθνές επίπεδο δεν εντοπίζεται ένας κοινός ορισμός σχετικά με την νοθεία και αυθεντικότητα του ελαιόλαδου. Όμως έχουν θεσπιστεί νόμοι ώστε να παρέχονται στους καταναλωτές ασφαλή και μη νοθευμένα τρόφιμα. Όμως γενικά, η νοθεία για τα τρόφιμα καλύπτει περιπτώσεις όπου υπάρχει παραβίαση της νομοθεσίας για τα τρόφιμα που διαπράττεται σκόπιμα για την επιδίωξη οικονομικού ή χρηματοοικονομικού κέρδους μέσω εξαπάτησης των καταναλωτών (Choudhay et al., 2020).

Η δυνατότητα παράδοσης ασφαλών και αυθεντικών τροφίμων αποτελεί ύψιστη προτεραιότητα για τους παραγωγούς. Ωστόσο, συχνά λόγω του πολύπλοκου δικτύου προμηθευτών, υπάρχει μεγάλη πιθανότητα ακούσιας μόλυνσης των τροφίμων. Η σκόπιμη μόλυνση που οφείλεται σε οικονομικό κέρδος έχει γίνει επίσης πιο δύσκολο να εντοπιστεί και να εντοπιστεί. Ως αποτέλεσμα, η ευπάθεια των προϊόντων και οι εγγενείς κίνδυνοι για την απάτη στα τρόφιμα είναι σημαντική ανησυχία (Choudhay et al., 2020).

2.5.1 Γνωστά παραδείγματα νοθείας στο ελαιόλαδο

Το ελαιόλαδο αποτελεί το πιο νοθευμένο τρόφιμο, με το μεγαλύτερο μέρος των νοθειών να πραγματοποιείται σε αυτό.

Ο Οργανισμός Καταναλωτών και Χρηστών (OCU), ένας ανεξάρτητος οργανισμός ευαισθητοποίησης των καταναλωτών στην Ισπανία, δοκιμάζει τα EVOO με τις μεγαλύτερες πωλήσεις κάθε πέντε χρόνια τα κατατάσσει ως προς την ποιότητα. Το 2018, 20 από τα 41 λάδια που δοκιμάστηκαν δεν πληρούσαν τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά για να ονομαστούν «Έξτρα Παρθένα Ελαιόλαδα». Μερικά από τα προϊόντα που φέρουν την επισήμανση EVOO ήταν στην πραγματικότητα παρθένα ή ακόμα και λαμπάντε. Το 2016, το ιταλικό υπουργείο Υγείας επιθεώρησε 4158 δείγματα ελαιολάδου. Διαπιστώθηκε πως το 11,8% όλων των προϊόντων είχαν παρατυπίες, οι οποίες, εκτός από νοθεία, περιελάμβαναν τη χρήση αδήλωτων προσθέτων τροφίμων και την πώληση πλαστών εμπορευμάτων (Olio d'oliva, 2016).

Το κύριο χαρακτηριστικό νοθείας είναι το μη ορθά δηλωμένο ή αραιωμένο έξτρα παρθένο ελαιόλαδο (EVOO). Το EVOO αποτελεί την σημαντικότερη κατηγορία ελαιόλαδου και πιο ακριβή. Στη χειρότερη περίπτωση το EVOO αραιώνεται με φθηνά φυτικά/σπορέλαια ή χαμηλότερης ποιότητας, εξευγενισμένα ελαιόλαδα (Duraipandian et al., 2019). Τα έλαια που χρησιμοποιούνται συχνά δεν πληρούν ούτε το χημικό ούτε το οργανοληπτικό πρότυπο του EVOO με την υψηλότερη τιμή. Τα παρθένα ή εξευγενισμένα ελαιόλαδα που χρησιμοποιούνται οδηγούν σε πιο φτωχά οργανοληπτικά χαρακτηριστικά και πολύ χαμηλότερο επίπεδο αντιοξειδωτικό, για τα οποία και φημίζεται το EVOO.

Η αυθεντικότητα ή η καθαρότητα του EVOO έχει άμεσο αντίκτυπο στην εμπιστοσύνη και τη στάση των καταναλωτών απέναντι στο προϊόν και μπορεί ακόμη και να θέσει κινδύνους για την υγεία του καταναλωτή όταν νοθεύεται. Οι καταναλωτές μπορεί να πιστεύουν ότι έχουν τα οργανοληπτικά και διατροφικά οφέλη του EVOO, αλλά στην πραγματικότητα καταναλώνουν ένα κατώτερο προϊόν. Άλλο παρθένο λάδι χαμηλότερου κόστους μπορεί επίσης να περιέχει εξευγενισμένο λάδι ή πυρηνέλαιο για να έχει μεγαλύτερη οικονομική απόδοση για τον παραγωγό.

Σε αυτές τις περιπτώσεις, το νοθεύον μπορεί να περιέχει προϊόντα από εκχύλιση ή εξευγενισμό με διαλύτη που δεν είναι χαρακτηριστικά του ελαιόλαδου, συμπεριλαμβανομένων ιχνών διαλύτη εξανίου ή trans λιπαρών οξέων και εστέρες γλυκιδυλικών λιπαρών οξέων. Τα trans λιπαρά οξέα και οι εστέρες λιπαρών οξέων παράγονται σε υψηλή θερμοκρασία. Λόγω της καρκινογόνου ιδιότητας της γλυκιδόλης, μια τιμή ανοχής 1 ppm έχει καθοριστεί πρόσφατα στην Ευρώπη για την ποιότητα των ελαίων τροφίμων.

Η αυξανόμενη ζήτηση σε EVOO οδηγεί σε αύξηση της τιμής του με αποτέλεσμα να διαθέτει μεγαλύτερη τιμή συγκριτικά με άλλα φθηνότερα έλαια όπως τα φυτικά έλαια, τα σπορέλαια και το εξευγενισμένο ελαιόλαδο.

Τα σπορέλαια είναι σημαντικά λιγότερο ακριβά από το ελαιόλαδο και χρησιμοποιούνται συνήθως ως προσμείξεις για μείγματα EVOO ή ραφινρισμένου ελαιόλαδου.

Τα πιο κοινά σπορέλαια περιλαμβάνουν έλαια canola/σογιέλαια/αραβοσιτέλαια. Το μείγμα σπορελαίων και EVOO παράγει ένα προϊόν που έχει διαφορετικό προφίλ λιπαρών οξέων από αυτό του EVOO. Είναι επίσης πιθανό να έχει μειωμένα

αντιοξειδωτικά, καθώς τα σπορέλαια είναι γενικά εξευγενισμένα. Τα έλαια με βάση τους ξηρούς καρπούς χρησιμοποιούνται επίσης για τη νόθευση μιγμάτων EVOO και ραφινρισμένου ελαιολάδου. Συγκεκριμένα, έχει αναφερθεί ότι χρησιμοποιείται φουντουκέλαιο σε μείγματα με ιταλικό ελαιόλαδο. Το φουντουκέλαιο προκαλεί ανησυχία για τις αρχές, καθώς είναι δύσκολο να ανιχνευθούν επίπεδα κάτω του 10% στο EVOO (Fakhri & Qadir, 2011).

Η χλωροφύλλη, χρωστική που προσδίδει το πράσινο χαρακτηριστικό χρώμα, εντοπίζεται σε υψηλότερες τιμές στο εκχυλισμένο ελαιόλαδο προσδίδοντάς τους φρεσκάδα. Στα ραφινρισμένα ή παλαιότερα ελαιόλαδα το χρώμα είναι λιγότερο έντονο. Η χλωροφύλλη μπορεί να τροποποιηθεί χημικά με χαλκό για να παραχθεί μια χρωστική ουσία με μόνιμο πράσινο χρώμα και αυτό μπορεί να προστεθεί στο παλιό ελαιόλαδο για να προσδώσει μία αίσθηση φρεσκάδας και υψηλότερης ποιότητας (Granitto et al., 2016).

Παρομοίως, η πορτοκαλί χρωστική β-καροτίνη έχει βρεθεί ότι προστίθεται στο ελαιόλαδο για να δώσει ένα πιο επιθυμητό χρώμα. Το EVOO έχει αρκετά μεγάλη διάρκεια ζωής σε σύγκριση με άλλα έλαια και θα αλλοιωθεί με την πάροδο του χρόνου καθώς εξαντλούνται τα αντιοξειδωτικά και αυξάνεται η τιμή του υπεροξειδίου και των ελεύθερων λιπαρών οξέων. Η ωφέλιμη ζωή του EVOO μπορεί να κυμαίνεται από 12 έως 24 μήνες, ανάλογα με την ποιότητα του καρπού και του λαδιού όταν αυτό αποθηκεύεται σε μη βέλτιστες συνθήκες. Αυτό το έλαιο μπορεί να φέρει την αναγράφει μία ημερομηνία που υπερβαίνει την διάρκεια ζωής του ελαιόλαδου ή το ελαιόλαδο μπορεί να πωληθεί ως EVOO, παρόλο που η ποιότητά του έχει μειωθεί. Η πώληση αυτού του λαδιού είναι επίσης δόλια, καθώς δεν παρέχει την υγεία αναμενόμενα οφέλη και θρεπτική αξία του EVOO και δηλώνονται στην ετικέτα (Hooper, 2008).

2.5.2 Τυχαίες και σκόπιμες νοθείες

➤ Τυχαία εσφαλμένη επισήμανση:

Το ελαιόλαδο μπορεί να επισημανθεί ως EVOO και να κυκλοφορήσει ως τέτοιο χωρίς κάποιον έλεγχο. Ωστόσο αυτό το έλαιο ενδέχεται να μην πληροί τις παραμέτρους ποιότητας του EVOO εάν οι ελαιόκαρποι ήταν κακής ποιότητας ή το ελαιόλαδο εκτέθηκε σε μη βέλτιστες συνθήκες αποθήκευσης όπως η υψηλή θερμοκρασία και το φως.

Για να αποφευχθεί αυτή η κατάσταση, είναι απαραίτητο το ελαιόλαδο να ελέγχεται κατά τη στιγμή της εμφιάλωσης, να είναι σωστά αποθηκευμένο και να καθοριστεί η ημερομηνία «χρήσης έως» ώστε να υπάρχει επαρκές περιθώριο σφάλματος ώστε να διασφαλίζεται ότι το λάδι δεν αλλοιώνεται κάτω από το πρότυπο EVOO πριν φτάσει σε αυτήν την ημερομηνία.

Ακόμη και με σωστή αποθήκευση, το EVOO θα αλλοιωθεί με την πάροδο του χρόνου και το λάδι θα χάσει την ποιότητα που απαιτείται για το EVOO. Το ελαιόλαδο επηρεάζεται από τη θερμοκρασία, το φως και το οξυγόνο. Η σωστή αποθήκευση περιλαμβάνει τη συσκευασία σε αεροστεγή δοχεία, κατά προτίμηση αδιαπέραστα από το φως και την αποθήκευσή τους σε περιβάλλοντα ελεγχόμενης θερμοκρασίας.⁶⁶ Αν και η μείωση της ποιότητας μπορεί να μην γίνει αντιληπτή από τον παραγωγό, η αποτυχία ανάλυσης του λαδιού για τον προσδιορισμό της συμμόρφωσής του δεν αποτελεί δικαιολογία για την εμπορία ελαιολάδου ως EVOO εάν δεν εμπίπτει στις προδιαγραφές (Mailer, 2010).

Υπάρχουν περιπτώσεις όπου το ελαιόλαδο απλά δεν πληροί ορισμένα διεθνή πρότυπα, όχι επειδή οι καρποί είναι ελαττωματικοί, αλλά επειδή τα πρότυπα δεν επιτρέπουν τις περιβαλλοντικές παραλλαγές και τις διαφορές στις ποικιλίες.⁶⁹ Ποικιλίες όπως η *Olea europaea cv «Barnea»* έχουν βρέθηκε ότι περιέχει υψηλότερα επίπεδα καμπεστερόλης από αυτά που επιτρέπονται στα πρότυπα της IOC (International Olive Council, Διεθνής Οργανισμός Ελαιόλαδου) κι επομένως το παραγόμενο ελαιόλαδο δεν θεωρείται σαν «ελαιόλαδο» παρόλο που παράγεται από ελαιόκαρπους. Αυτό είναι ένα πρόβλημα που πρέπει να αντιμετωπιστεί από οργανισμούς που εναρμονίζουν τα πρότυπα για να επιτρέψουν τη φυσική γεωγραφική διαφοροποίηση των χαρακτηριστικών του ελαιόλαδου.

Έτσι το παραγόμενο ελαιόλαδο μπορεί να μην πληροί τα πρότυπα που έχουν τεθεί χωρίς να έχει πραγματοποιηθεί κάποια νοθεία.

➤ Σκόπιμη νοθεία

Η σκόπιμη νόθευση γίνεται συνήθως για οικονομικό όφελος ή, όπως συνήθως αναφέρεται, νοθεία με οικονομικά κίνητρα και μπορεί να γίνει με τους εξής τρόπους : παραδείγματα:

Η προσθήκη οποιασδήποτε κατηγορίας ελαιολάδου εκτός του EVOO σε προϊόντα που φέρουν την ένδειξη ότι αποτελούνται αποκλειστικά από EVOO. Η συνήθης νοθεία σε αυτήν την κατηγορία περιλαμβάνει την προσθήκη εξευγενισμένου λαδιού στο EVOO. Μερικές φορές το πυρηνέλαιο προστίθεται στο EVOO για να μεγιστοποιηθούν οι οικονομικές αποδόσεις (Frankel et al., 2011).

Η προσθήκη παλαιού και υποβαθμισμένου λαδιού, το οποίο μπορεί προηγουμένως να ήταν EVOO, προστέθηκε στο προϊόν EVOO για να εξαντληθεί το παλιό απόθεμα αυτού του λαδιού της EVOO. Ωστόσο, μπορεί να προστεθεί σε ένα επίπεδο ώστε να διατηρείται το νέο προϊόν πάνω από το πρότυπο για ορισμένες παραμέτρους. Και στις δύο περιπτώσεις, η προσθήκη αυτών των προϊόντων είναι δόλια. Τα πρόσθετα, εξ ορισμού απαγορεύονται στο EVOO. Προσθέτοντας μια μέτρια ποσότητα (για παράδειγμα 30%) EVOO στο λάδι canola, το προϊόν που προκύπτει μπορεί να έχει τα οπτικά και αισθητηριακά χαρακτηριστικά όμοια με το EVOO. Χωρίς εργαστηριακή ανάλυση, όπως ανάλυση GC του προφίλ λιπαρών οξέων, αυτό πιθανότατα δεν θα ανιχνευθεί.

Η επισήμανση ενός ελαιολάδου χαμηλής ποιότητας ή ενός μείγματος οτιδήποτε άλλου εκτός από το EVOO ως EVOO είναι σκόπιμη απάτη. Οι περισσότερες χώρες έχουν κανονισμούς για την επισήμανση δοχείων που προορίζονται για άμεση πώληση στους καταναλωτές. Η IOC παρέχει επίσης οδηγίες για την επισήμανση. Η ετικέτα πρέπει να περιέχει τα ακόλουθα: Το όνομα του προϊόντος: EVOO, παρθένο ελαιόλαδο, συνηθισμένο παρθένο ελαιόλαδο, εξευγενισμένο ελαιόλαδο, ελαιόλαδο, εξευγενισμένο πυρηνέλαιο ή πυρηνέλαιο, χώρα προέλευσης, Ημερομηνία σήμανση και συνθήκες αποθήκευσης, Ημερομηνία ελάχιστης ανθεκτικότητας (καλύτερη πριν από την «ημερομηνία»).

2.5.3 Νοθεία και προβλήματα ασφάλειας του ελαιόλαδου

Ο θάνατος περισσότερων από 600 ανθρώπων στην Ισπανία το 1981 ήταν ίσως το χειρότερο αποτέλεσμα νοθείας ελαιόλαδου στην ιστορία λόγω της εμφάνισης του «σύνδρομο τοξικού ελαίου». Πιστεύεται ότι ήταν το αποτέλεσμα της κατανάλωσης μολυσμένου λαδιού canola που προοριζόταν για βιομηχανική χρήση το οποίο πωλήθηκε στην Ισπανία σαν ελαιόλαδο. Αν και τέτοιες περιπτώσεις είναι εξαιρετικά σπάνιες, δείχνει τα πιθανά αποτελέσματα της ανάμειξης ξένων προϊόντων με

ελαιόλαδο ή οποιοδήποτε τρόφιμο, χωρίς να αναγράφεται στην ετικέτα ποιο είναι το προϊόν ουσιαστικά περιέχει (Gelri et al., 2002).

Γενικότερα είναι απίθανο να προκληθούν ασθένειες από την νοθεία του ελαιόλαδου με άλλα έλαια ή ακόμα και με έλαια που έχει παρέλθει η ημερομηνία λήξης τους. Ωστόσο, η αραίωση του ελαιολάδου με πυρηνέλαιο μπορεί να οδηγήσει σε μεγαλύτερη έκθεση σε καρκινογόνους πολυαρωματικούς υδρογονάνθρακες (PAH) όπου η κατανάλωσή τους θα πρέπει να είναι χαμηλότερη από 2,0 ppb βενζο(α)πυρένιο και 10,0 ppb άθροισμα βενζο(α)πυρενίου, βενζο(α)ανθρακενίου, βενζο(β)φλουορανθενίου και χρυσενίου. Η παρουσία των PAH σχετίζεται με την χρήση διαλύτη στο ελαιόλαδο για την εκχύλισή του.

Όμως το πιο κοινό πρόβλημα στην νοθεία του ελαιόλαδου είναι προβλήματα που σχετίζονται με την αραίωση ή και απώλεια θρεπτικών συστατικών του για τα οποία και αγοράζονται ορισμένα είδη ελαιόλαδου (π.χ. Έξτρα Παρθένο Ελαιόλαδο). Οι καταναλωτές ελαιολάδου αναμειγμένου με εξευγενισμένα ελαιόλαδα ή σπορέλαια, τα οποία περιέχουν πολύ λίγα από αυτά τα ευεργετικά θρεπτικά συστατικά, δεν γνωρίζουν πως το προϊόν που αγοράζουν δεν ανταποκρίνεται στα ποιοτικά κριτήρια που έχουν τεθεί.

Ένα άλλο πρόβλημα που σχετίζεται με την νοθεία του ελαιόλαδου είναι οι επιπτώσεις της κατανάλωσης ταγγισμένου ελαιόλαδου στην υγεία. Αν και οι επιπτώσεις της κατανάλωσης τάγγισμένου ελαίου δεν έχουν μελετηθεί λεπτομερώς, μπορεί να υπάρχουν ορισμένες δυσμενείς επιπτώσεις στην ανθρώπινη υγεία. Όμως το αλλοιωμένο ελαιόλαδο έχει μειωμένη θρεπτική αξία σε σύγκριση με το γνήσιο λάδι λόγω της αποδόμησης ευεργετικών συστατικών όπως τα αντιοξειδωτικά και οι χρωστικές, και ο καταναλωτής εκτίθεται σε δευτερογενή προϊόντα φθοράς που προκαλούνται από τη γήρανση ή από διύλιση. Αυτά τα προϊόντα οξείδωσης περιλαμβάνουν μια σειρά από αλδεΐδες που είναι υπεύθυνες για τις δυσάρεστες οσμές του ταγγισμένου ελαιόλαδου (Schwingshackl, & Hoffmann, 2014).

2.6 Μέθοδοι ανίχνευσης αυθεντικότητας ελαιόλαδου

Η επιστημονική κοινότητα αντιμετωπίζει όλο και περισσότερο τα ζητήματα που σχετίζονται με τη νοθεία του ελαιόλαδου προκειμένου να διασφαλιστεί η ποιότητά του τόσο για οικονομικούς όσο και για λόγους υγείας. Η οικονομική αξία του

ελαιόλαδου και ιδιαίτερα των ελαιόλαδων υψηλής ποιότητας όπως το EVOO, οδήγησαν στην δημιουργία μίας σειράς μεθόδων ανίχνευσης της νοθείας του ελαιόλαδου.

Οι διάφορες μορφές νοθείας και/ή απάτης απαιτούν μια σειρά εξίσου περίπλοκων δοκιμών για τον προσδιορισμό των αποκλίσεων από τα αυθεντικά προϊόντα. Επομένως, υπάρχουν πολλές δοκιμές που χρησιμοποιούνται για συγκεκριμένους σκοπούς για να καθοριστεί εάν το λάδι είναι νόμιμο. Οι μέθοδοι μπορούν να χωριστούν σε διάφορες ομάδες ανάλογα με το είδος της νοθείας.

Σε αρκετές περιπτώσεις η αισθητηριακή ανάλυση μπορεί να μην είναι αρκετά ευαίσθητη για ανίχνευση της καθαρότητας του EVOO. Έχουν εφαρμοστεί αρκετές τεχνικές εφαρμόζεται για τον εντοπισμό της γνησιότητας του EVOO, συμπεριλαμβανομένης της φασματομετρίας μάζας, της χρωματογραφίας αερίου, υγρή χρωματογραφία υψηλής απόδοσης, χρωματογραφία τριχοειδών αερίων και πυρηνική μαγνητική φασματοσκοπία συντονισμού. Αν και αυτές οι μέθοδοι είναι πολύ ισχυρές και παρέχουν πολύ χαμηλά όρια ανίχνευσης, είναι χρονοβόρα και δαπανηρά, απαιτώντας ειδικά εργαστήρια και εκπαιδευμένους επαγγελματίες. Ως εκ τούτου, υπάρχει μια αυξανόμενη ζήτηση για ανάπτυξη μιας γρήγορης, ευαίσθητης, φορητής, εύχρηστη και οικονομικά αποδοτική διαδικτυακή αναλυτική προσέγγιση για τον ποσοτικό προσδιορισμό είτε της καθαρότητας είτε νοθείας του EVOO και ενδεχομένως των προσθέτων σε αυτό .

Οι αναλυτικές μέθοδοι που υιοθετήθηκαν στο πλαίσιο των κανονισμών της ΕΕ και των προτύπων της προέρχονται από μεθόδους που είχαν αναπτυχθεί προηγουμένως σε μεμονωμένα κράτη μέλη. Αυτές οι μέθοδοι υποβλήθηκαν σε ορισμένες ενημερώσεις, λαμβάνοντας υπόψη τις βελτιώσεις στα αναλυτικά όργανα (π.χ. αντικατάσταση συσκευασμένων στηλών με τριχοειδείς στήλες σε αέρια χρωματογραφία), σε εκτιμήσεις σχετικά με την τοξικότητα του διαλύτη ή μέσω της δυνατότητας βελτίωσης της μεθόδου.

Ανάλογα με τους διαφορετικούς τύπους νοθείας μπορούν να χρησιμοποιηθούν και διαφορετικές μέθοδοι :

Ελαιόλαδο που παράγεται από ελαιόκαρπους κακής ποιότητας : Εάν ο καρπός καταστραφεί από ασθένειες, ζημιές από παγετό, έντομα ή απλώς από σκληρές

συνθήκες συγκομιδής και αποθήκευσης, θα υπάρξει αύξηση στα ελεύθερα λιπαρά οξέα και πιθανώς αυξημένη τιμή υπεροξειδίου. Σε αυτήν την περίπτωση, θα πρέπει να εκτιμηθεί η τιμή των υπεροξειδίων.

Ελαιόλαδο κακής ποιότητας με σήμανση EVOO : Το ελαιόλαδο πρέπει να πληροί ορισμένα κριτήρια για να χαρακτηριστεί ως EVOO. Ειδικότερα, πρέπει να πληροί τις αισθητηριακές απαιτήσεις και να μην παρουσιάζει κανένα ελλάτωμα. Πρέπει επίσης να είναι εντός των προβλεπόμενων ορίων για τα ελεύθερα λιπαρά οξέα, την τιμή του υπεροξειδίου και της απορρόφησης της υπεριώδους ακτινοβολίας. Ως εκ τούτου μπορούν να μετρηθούν οι τιμές υπεροξειδίων, τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά και η απορρόφηση στο υπεριώδες.

Εξευγενισμένο ελαιόλαδο που επισημαίνεται ως παρθένο ελαιόλαδο : Το λάδι εξευγενίζεται γενικά για την απομάκρυνση ανεπιθύμητων συστατικών όπως τα ελεύθερα λιπαρά οξέα και τα υπεροξειδία, τα οποία είναι αποτέλεσμα της φθοράς του λαδιού. Η διύλιση μπορεί επίσης να χρησιμοποιηθεί για την αφαίρεση φυσικών χρωστικών και/ή προϊόντων που μπορεί να δώσουν στο αργό έλαιο δυσάρεστη οσμή ή οσμή, όπως στην περίπτωση του ακατέργαστου κραμβέλαιου. Ο καθαρισμός έχει γενικά τρία στάδια: εξευγενισμό, λεύκανση και απόσμηση (RBD). Αυτά τα βήματα, ιδιαίτερα η απόσμηση, περιλαμβάνουν εφαρμογή θερμότητας στο λάδι. Όταν το λάδι θερμαίνεται, υπάρχουν ορισμένες κοινές αλλαγές που μπορούν να εντοπιστούν με δοκιμή. Τα λιπαρά οξέα, τα οποία αποτελούν την πλειοψηφία του ελαίου, μπορούν να αλλάξουν τη διάταξή τους από cis σε trans λιπαρά οξέα. Η θέρμανση επηρεάζει επίσης την ποσότητα των στιγμαστιδιενίων. Για τον προσδιορισμό της παρουσίας ραφιναρισμένου ελαιόλαδου στο δείγμα θα πρέπει να πραγματοποιηθεί ανάλυση της περιεκτικότητας των trans λιπαρών οξέων (%) και ανάλυση της περιεκτικότητας σε στιγμασταδιένιο.

EVOO αναμειγμένο με σπορέλαια κι άλλα φυτικά έλαια : Τα σπορέλαια είναι συχνά εξευγενισμένα και επομένως οι δοκιμές που εφαρμόζονται σε εξευγενισμένο λάδι θα ισχύουν και εδώ. Ωστόσο, μια καταλληλότερη δοκιμή θα ήταν η μέτρηση παραμέτρων ειδικών για μεμονωμένα είδη. Για παράδειγμα, η σύνθεση των λιπαρών οξέων και το προφίλ στερόλης είναι γενικά αναλύσεις που δείχνουν την παρουσία συγκεκριμένων ειδών φυτικών ελαίων. Το λάδι canola, για παράδειγμα, έχει περίπου 5-10% λινολενικό οξύ στο προφίλ των λιπαρών οξέων, ενώ το ελαιόλαδο έχει

λιγότερο από 1% σύμφωνα με τα πρότυπα της IOC. ο λάδι canola περιέχει επίσης μια φυτοστερόλη που ονομάζεται brassicasterol. Η βρασικαστερόλη δεν υπάρχει σε είδη φυτών εκτός από εκείνα του γένους Brassica της οικογένειας Brassicaceae. Μπορεί να εφαρμοστεί μια σειρά δοκιμών για τον προσδιορισμό της παρουσίας ελαίων σπόρων ή ξηρών καρπών με βάση τη σύνθεση λιπαρών οξέων και τις στερόλες.

Παλιό ή αποθηκευμένο ελαιόλαδο σε μη βέλτιστες συνθήκες που πωλείται ως EVOO: Το λάδι αποδομείται με την πάροδο του χρόνου και τα υποπροϊόντα είναι γενικά παρόμοια με αυτά που παρατηρούνται σε λάδια που έχουν θερμανθεί. Η θέρμανση προκαλεί επιτάχυνση της γήρανσης. Ορισμένες από τις δοκιμές που χρησιμοποιούνται για το εξευγενισμένο λάδι μπορούν επίσης να χρησιμοποιηθούν για τη δοκιμή παλιού ή κακώς αποθηκευμένου λαδιού. Τα ελεύθερα λιπαρά οξέα μπορεί να αυξηθούν ελαφρώς με την πάροδο του χρόνου. Τα αισθητηριακά χαρακτηριστικά θα αλλάξουν με τη μείωση της καρπότητας και την αύξηση των ελαττωμάτων καθώς το λάδι γίνεται ταγγό. Οι αναλογίες PPP και DAG αλλάζουν επίσης και αυτές οι δοκιμές είναι ιδιαίτερα χρήσιμες για τον προσδιορισμό της γήρανσης ή των κακών συνθηκών αποθήκευσης (Ayton et al., 2012).

2.7 Ανίχνευση ουσιών

2.7.1 Ανίχνευση τιμής υπεροξειδίων (Peroxide Value, PV)

Η PV είναι πιθανώς μία από τις παλαιότερες αναλυτικές δοκιμές που χρησιμοποιούνται για την αξιολόγηση της ποιότητας των λιπών και των ελαίων. Το PV σχετίζεται μόνο με τα πρωτογενή προϊόντα οξείδωσης, επομένως δεν παρέχει εξαντλητική αναπαράσταση της οξειδωτικής κατάστασης ενός ελαίου (π.χ. δευτερογενείς ενώσεις σχηματίζονται επίσης κατά τη διάρκεια της οξειδωτικής διαδικασίας). Εν συντομία, η μέθοδος (Καν. (ΕΟΚ) 2568/91) βασίζεται σε μια οξειδοαναγωγική αντίδραση μεταξύ υπεροξειδίου και ιόντος ιωδίου, η οποία οξειδώνεται σε μοριακό ιώδιο. Στην αρχική μέθοδο το έλαιο διαλύεται σε μίγμα χλωροφορμίου (που διαλύει το έλαιο) και οξικού οξέος (για να παράσχει το μέσο όξινης αντίδρασης απαραίτητο για να λάβει χώρα η οξειδοαναγωγική αντίδραση). Διαδοχικά, προστίθεται κορεσμένο διάλυμα ιωδίου καλίου και στην αρχική μέθοδο η

αντίδραση λαμβάνει χώρα για 5 λεπτά στο σκοτάδι. Αργότερα, το ISO (ISO, 2003) τροποποίησε τη δοκιμή αντικαθιστώντας το τοξικό χλωροφόρμιο με ισοοκτάνιο και περιορίζοντας τον χρόνο αντίδρασης στο 1 λεπτό. Το κύριο μειονέκτημα όταν χρησιμοποιείται ισοοκτάνιο, αντί για χλωροφόρμιο, είναι το γεγονός ότι η προσθήκη νερού προκαλεί αναστροφή των φάσεων με την τιτλοδοτούμενη να παραμένει στον πυθμένα της φιάλης καθιστώντας αναγκαία την εφαρμογή πολύ αποτελεσματικής ανάμιξης κατά σειρά για ακριβή τιτλοδότηση. Για αυτό το μειονέκτημα, η ΔΟΕ, επίσης, μετά από μερικές συνεργατικές δοκιμές, επέστρεψε στη χρήση χλωροφορμίου ως διαλύτη. Ένα άλλο πρόβλημα είναι ότι η αξιολόγηση του δείκτη υπεροξειδίων επηρεάζεται έντονα από την ποσότητα του δείγματος που χρησιμοποιείται για τον προσδιορισμό. Ως εκ τούτου, είναι ιδιαίτερα σημαντικό να μεριμνήσουμε για τη σωστή ποσότητα δείγματος που θα σταθμιστεί (ανάλογα με την αναμενόμενη τιμή υπεροξειδίου, όπως συνιστάται στο παράρτημα ΙΙΙ του κανονισμού. (ΕΟΚ) 2568/91).

2.7.2 Ανίχνευση αιθελεστέρων και λιπαρών οξέων

Η ποιότητα του λαδιού εξαρτάται τόσο από τις γεωργικές πτυχές όσο και από τις πρακτικές παραγωγής. Το περιεχόμενο σε αιθυλεστέρες και λιπαρά οξέα σχετίζεται με ελαιόκαρπους που μπορεί να έχουν υποστεί ζυμωτικές διαδικασίες στην περίπτωση της αιθανόλης, ενώ οι υδρολυτικές διεργασίες που συνδέονται με τη δραστηριότητα της πηκτίνης εστεράσης απελευθερώνουν μεθανόλη. Δεδομένου ότι οι διαδικασίες ζύμωσης πιστεύεται ότι σχετίζονται μόνο με τα ελεύθερα λιπαρά οξέα και αιθελεστέρες η παράμετρος άλλαξε το 2013 σε αυτές τις ενώσεις με όριο 40mg/kg, το οποίο στη συνέχεια μειώθηκε σε 35mg/kg μετά από συζήτηση εντός της ομάδας χημικών ειδικών της IOC. Χαμηλής ποιότητας ελαιόλαδα με ελαφρά οργανοληπτικά ελαττώματα μπορεί να υποβληθούν σε παράνομες πρακτικές, όπως εξουδετέρωση και/ή απαλή απόσπηση σε χαμηλή θερμοκρασία, για να αποκρύψουν τις αρνητικές τους ιδιότητες. Αυτή η πρακτική είναι δύσκολο να εντοπιστεί και έχουν προταθεί αρκετές μέθοδοι, αν και οι περισσότερες έχουν παράγει αναξιόπιστα αποτελέσματα λόγω του γεγονότος ότι χρησιμοποιούνται διαφορετικές τεχνολογίες, οδηγώντας στο σχηματισμό μιας ποικιλίας διαφορετικών ενώσεων δεικτών. Σε μια προσπάθεια επίλυσης αυτού του προβλήματος, προτάθηκε ο προσδιορισμός του περιεχομένου σε αιθυλεστέρες και ελεύθερα λιπαρά οξέα (Pérez-Camino, Cert, Romero-Segura, Cert-Trujillo, & Moreda, 2008). Πιστεύεται ότι η απαλή απόσπηση που χρησιμοποιείται δεν αφαιρεί τους αιθυλεστέρες και τα ελεύθερα λιπαρά οξέα.

Από την άλλη πλευρά, δεν έχουν όλα τα έλαια που υποβάλλονται σε μαλακή απόσπηση υψηλή περιεκτικότητα σε αιθυλεστέρες και λιπαρά οξέα είναι προφανώς δείκτες για ορισμένα και όχι για όλα τα έλαια που υποβάλλονται σε απαλή απόσπηση.

Η μέθοδος υιοθετήθηκε από τη IOC το 2010 και από την ΕΕ (τροποποιητικός κανονισμός (ΕΟΚ) 2568/91). Η μέθοδος έχει τροποποιηθεί αρκετές φορές: για παράδειγμα, όπως αναφέρεται στην ιστοσελίδα της IOC προτάθηκε μείωση της ποσότητας σιλικόνης καθώς και η χρήση η-εξανίου για την εξάλειψη του κλάσματος υδρογονανθράκων. Το τελευταίο είναι ένα σημαντικό ζήτημα, αφού οι υδρογονάνθρακες μπορούν να εκλούσουν στην ίδια περιοχή του χρωματογράφου με το αιθυλεστέρα και τα ελεύθερα λιπαρά οξέα και η καθαρότητα του διαλύτη είναι ένα βασικό σημείο στην ανάλυση. Όπως αναφέρθηκε προηγουμένως, η ποσότητα αιθυλεστέρες και ελευθέρων λιπαρών οξέων αυξήθηκε με την πάροδο του χρόνου (Gómez-Coca et al., 2016).

2.7.3 Σύνθεση σε στερόλες

Δεδομένου ότι η γενετική βελτίωση των βρώσιμων σπορέλαιων τροποποιεί βαθιά τη σύνθεση λιπαρών οξέων, έχει δοθεί προσοχή στη σύνθεση στερόλης και ο προσδιορισμός αυτών των ενώσεων έχει γίνει ένα ισχυρό εργαλείο για την εκτίμηση της καθαρότητάς τους. Η επίσημη μέθοδος της ΕΕ για τον προσδιορισμό των στερολών εφαρμόζει τη μέθοδο της ΔΟΕ με τη χρήση τριχοειδούς στήλης GC αντί για συσκευασμένη στήλη. Η μέθοδος περιλαμβάνει ένα βήμα σαπωνοποίησης με διάλυμα ΚΟΗ σε μεθανόλη, που ακολουθείται από εκχύλιση υγρού-υγρού με διαιθυλαιθέρα, καθαρισμό της μη σαπωνοποιήσιμης ύλης με χρωματογραφία λεπτής στιβάδας (TLC), παρασκευή παραγώγων τριμεθυλοσιλυλίου και ανάλυση GC-FID. Όπως αναθεωρήθηκε από τους Παναγιωτόπουλο και Τσιμίδου (Παναγιωτοπούλου & Τσιμίδου, 2002) διαφορετικές προσεγγίσεις, βασισμένες κυρίως στη χρήση εξαγωγής στερεάς φάσης, έχουν διερευνηθεί για να επιταχυνθεί η προετοιμασία του δείγματος.

Το ISO 12228: 2009 (περιλαμβάνεται στο πρότυπο Codex) είχε ως σκοπό μια μέθοδο να παρακάμψει την εκχύλιση διαλύτη, αντικαθιστώντας την με εκχύλιση στερεάς φάσης (SPE) σε οξειδίο αργιλίου. Ωστόσο, μια υποσημείωση αναφέρει ότι τα αποτελέσματα που λαμβάνονται με αυτήν τη μέθοδο μπορούν να οδηγήσουν σε διαφορετικά αποτελέσματα από αυτά που προκύπτουν με εκχύλιση υγρού-υγρού:

εξαιτίας αυτού, αργότερα δημοσιεύθηκε το μέρος 2 της μεθόδου (ISO, 2014), αφιερωμένο σε ΟΟ και πυρηνέλαιο μόνο.

2.7.4 Σύνθεση σε κήρους και τριτερπενικές αλκοόλες

Ο αναλυτικός προσδιορισμός της σύνθεσης λιπαρών οξέων και στερόλης κατέστησε δυνατή την ανίχνευση της παρουσίας σπορέλαιων (όταν δεν αφαιρέθηκαν οι στερόλες). Μια άλλη πιθανή απάτη είναι το μείγμα μεταξύ πυρηνέλαιων και εξευγενισμένων ΟΟ, έτσι ώστε να μην προκύψουν προβλήματα με την παρουσία λιπαρών οξέων τρανς-ισομερή και στιγμασταδιένια.

Από τις αρχές της δεκαετίας του '70, η ερυθροδιόλη και η ουβαόλη, δύο τριτερπενικές διαλκοόλες, των οποίων η συγκέντρωση είναι πολύ υψηλή σε πυρήνα, καθώς υπάρχουν κυρίως στο δέρμα των φρούτων, έχουν χρησιμοποιηθεί ως πιθανοί δείκτες πυρηνέλαιο.

Ορίστηκε όριο 4,5% (υπολογιζόμενο στο άθροισμα των στερολών και της ερυθροδιόλης συν ουβαόλης). Λόγω του γεγονότος ότι οι απατεώνες άρχισαν να αφαιρούν αυτές τις ενώσεις, η αξιολόγηση του περιεχομένου σε κήρους έχει προταθεί σαν μέθοδος εντοπισμού της αυθεντικότητας των ελαιόλαδων. Η επιστημονική βάση ήταν ότι η συγκέντρωση των κεριών είναι δεκαπλάσια σε έλαια που εξάγονται από διαλύτες σε σχέση με τα έλαια που εκχυλίστηκαν υπό πίεση και ότι οποιαδήποτε προσπάθεια απομάκρυνσής τους θα οδηγούσε σε σημαντική απώλεια ελαιόλαδου.

2.7.5 Οργανοληπτική αξιολόγηση

Ένα παρθένο ελαιόλαδο που λαμβάνεται από ελιές μόνο με μηχανικές-φυσικές διαδικασίες (σύνθλιψη, μαλάκωση, φυγοκέντρωση, διήθηση) και χωρίς πρόσθετο εξευγενισμό, έχει αισθητήριο προφίλ που συνδέεται στενά με την ποιότητα της πρώτης ύλης, δηλαδή τις ελιές. Πράγματι, οποιαδήποτε βλάβη και επακόλουθη δραστηριότητα μικροοργανισμών και ενζύμων, η οποία μπορεί να προκαλέσει υδρόλυση τριακυλογλυκερόλης, οξειδωση των λιπαρών οξέων, ζύμωση σακχάρων και αποικοδόμηση αμινοξέων, παράγει μόρια που επηρεάζουν το προφίλ σύνθεσης του παρθένου ελαιόλαδου κυρίως των φαινολικών και πτητικών ενώσεων (Cayuela et al., 2015).

Στο πλαίσιο της ρύθμισης των τροφίμων, δεν υπάρχει κανένα άλλο φαγητό εκτός από το παρθένο ελαιόλαδο των οποίων οι κατηγορίες καθορίζονται από διαφορετικά διεθνή πρότυπα συμπεριλαμβανόμενης της οργανοληπτικής αξιολόγησης. Η οργανοληπτική αξιολόγηση των παρθένων ΟΟ με τη μεθοδολογία "IOC Panel test" (IOOC/T.20/Doc. Ap. 3, 1987) εφαρμόζεται με νόμιμο σκοπό από τις αρχές της δεκαετίας του '90 στην Ευρώπη (Καν. (ΕΟΚ) 2568/ 91), και συγκεκριμένα για την ταξινόμηση ενός δείγματος σε μια εμπορική κατηγορία. Με τα χρόνια, έχει υποστεί πολλές αναθεωρήσεις, ως αποτέλεσμα μιας συνεχούς μελέτης των επιδόσεών του. Στην πραγματικότητα, δεδομένου ότι το πιο σημαντικό αποτέλεσμα για την αισθητηριακή ανάλυση ενός παρθένου ελαιόλαδου είναι ο καθορισμός της ποιότητας του, ο εντοπισμός του κύριου αντιληπτού ελαττώματος και η αξιολόγηση της έντασής του, καθώς και η φρουτώδης ιδιότητα, είναι τα κύρια αποτελέσματα (Conte et al., 2020).

2.8 Προβλήματα αυθεντικότητας

Έχει αποδειχθεί ότι η απάτη ήταν μέρος εμπορικών συναλλαγών, με τον έναν ή τον άλλο τρόπο, δεδομένου ότι ασκούνταν στο μακρινό παρελθόν, και σήμερα το ελαιόλαδο εξακολουθεί να θεωρείται ευάλωτο προϊόν ως προς την αυθεντικότητα. Η απάτη μπορεί να σημαίνει καταστροφή για πολλούς παράγοντες στην αγορά ελαιολάδου όπως οι αγρότες και οι πωλητές, αν και ο καταναλωτής είναι ο τελευταίος που επηρεάζεται από αυτό το ανέντιμο συμπεριφορά. Τα μέσα μαζικής ενημέρωσης, στην πραγματικότητα, συνήθως δεν κάνουν διάκριση μεταξύ των ηθοποιών τροφίμων που μεταφέρουν σκόπιμα εξάλειψη αυτής της παράνομης και ανέντιμης δραστηριότητας και εκείνων που επηρεάζονται απλώς από μια εφάπαξ ακούσια αποτυχία στον ποιοτικό έλεγχο. Έτσι, απαιτείται η αυθεντικότητα του προϊόντος σε ολόκληρη την αγορά τροφίμων ερώτηση όταν τα μέσα μαζικής ενημέρωσης δημοσιεύουν ειδήσεις σχετικά με την απάτη, με τον πραγματικό κίνδυνο που ενδέχεται να έχουν οι καταναλωτές να έχουν αποφασίσει να μην καταναλώσουν άλλο ελαιόλαδο, παρόλο που η πιθανή απάτη δεν αποτελεί απειλή στη δημόσια υγεία. Η αντίληψη του καταναλωτή για το προϊόν μπορεί να επηρεαστεί αρνητικά παρά την αυστηρή ελέγχους που επιβάλλονται σε αυτό το προϊόν σήμερα.

Σε αρκετές περιπτώσεις δεν υπάρχουν αξιόπιστες μέθοδοι και πληροφορίες για τον εντοπισμό της νοθείας του ελαιόλαδου. Προκειμένου να εντοπιστούν πιθανά

προβλήματα στη πιστοποίηση ταυτότητας του ελαιόλαδου σε εκείνες τις περιπτώσεις νοθείας που περιγράφονται για να αποδείξουν τις δυνατότητες μιας νέας μεθόδου/τεχνολογίας, αλλά που δεν υπάρχουν στον πραγματικό κόσμο επειδή δεν είναι οικονομικά πρέπει να παραλειφθεί για να αποφευχθεί η σύγχυση. Αυτή θα ήταν η περίπτωση των μειγμάτων με περισσότερα ακριβά έλαια ή με έλαια που ανιχνεύονται εύκολα με υπάρχουσες μεθόδους

Ένα άλλο σχετικό ζήτημα γνησιότητας που αποκτά σημασία είναι η αυθεντικότητα της γεωγραφικής προέλευση. Δεδομένου ότι η παραγωγή σήμερα κινείται πέρα από τις μεσογειακές χώρες (ΗΠΑ, Αυστραλία, Αργεντινή, Χιλή, Νότια Αφρική) κ.λπ., και οι καταναλωτές γνωρίζουν τα εμπορικές συναλλαγές μεταξύ χωρών, απαιτούν περισσότερες πληροφορίες σχετικά με τη γεωγραφική προέλευση. Το γεγονός ότι η προέλευση μερικές φορές παρουσιάζεται ως πρόσθετη αξία στο προϊόν (ανεξάρτητα από το πραγματική ποιότητα) σε μια στρατηγική μάρκετινγκ έχει οδηγήσει σε πρόβλημα γνησιότητας που σχετίζεται με λανθασμένη επισήμανση. Έτσι, σήμερα, εάν η δηλωμένη προέλευση στην ετικέτα δεν ταιριάζει με τη νέα προέλευση, τότε θεωρείται ότι το λάδι αποτυγχάνει σαφώς στην ακεραιότητά του. Δεν υπάρχουν τυπικές μέθοδοι σε αυτή τη σχέση. Ωστόσο, η δημιουργία μιας μεγάλης βάσης δεδομένων με σημαντικές και δευτερεύουσες ενώσεις και έχει προταθεί η εφαρμογή συστήματος εμπειρογνομόνων για γεωγραφικό χαρακτηρισμό.

Κεφάλαιο 3^ο : Μικροενθυλάκωση

3.1 Ιστορικά στοιχεία

Η τεχνολογία μικροενθυλάκωσης παρουσιάστηκε για πρώτη φορά από τους Green και Schleicher τη δεκαετία του 1950 με κατοχύρωση διπλώματος ευρεσιτεχνίας για την παρασκευή καψουλών που περιέχουν βαφές, οι οποίες αναπτύχθηκαν για να ενσωματωθούν στο χαρτί για σκοπούς αντιγραφής (Ghosh, 2006).

Σήμερα, η μικροενθυλάκωση όπως περιγράφηκε παραπάνω, επιτρέπει την προστασία ευαίσθητων μικρο-μεγεθών ουσιών από το εξωτερικό περιβάλλον επιτρέποντας μια ελεγχόμενη απελευθέρωση αυτών των μικρο-ουσιών. Το δραστικό συστατικό που ονομάζεται επίσης και σαν πυρηνικό υλικό προστατεύεται προσωρινά ή μόνιμα εντός

ενός «κελύφους» ενός δεύτερου υλικού που χαρακτηρίζεται σαν το υλικό ενθυλάκωσης.

Η μελέτη και η εφαρμογή της μικροενθυλάκωσης ξεκίνησε αρχικά τη δεκαετία του 1930 για τη δημιουργία χαρτιών αντιγραφής άνθρακα. Έκτοτε χρησιμοποιήθηκε εκτενώς σε πολλές βιομηχανικές εφαρμογές, συμπεριλαμβανομένων φαρμακευτικών προϊόντων, καλλυντικών και υφασμάτων, η εφαρμογή του στη βιομηχανία τροφίμων έχει αναγνωριστεί σχετικά πρόσφατα. Η μικροενθυλάκωση θεωρείται δαπανηρή διαδικασία.

3.2 Ορισμός – τι είναι

Η μικροενθυλάκωση είναι μια διαδικασία εγκλεισμού υλικών μικρού μεγέθους σε ένα πολυμερές «κέλυφος». Το υλικό που θα ενθυλακωθεί μπορεί να αναφέρεται ως εσωτερική φάση, πυρηνικό υλικό, ωφέλιμο φορτίο ή ενεργός παράγοντας ενώ το υλικό ενθυλάκωσης μπορεί να αναφέρεται ως μεμβράνη, υλικό φορέα, επικάλυψη, κέλυφος, μήτρα, εξωτερική φάση ή υλικό τοιχώματος (Zuidam & Shimoni, 2010).

Ο όρος «μικροκάψουλα» υποδηλώνει την δομή πυρήνα-τοιχώματος. Η μικροκάψουλα υποδηλώνει την δομή του πυρήνα-τοιχώματος. Ο πυρήνας είναι επικαλυμμένος με το υλικό του τοιχώματος στην περίπτωση σχηματισμού μικρών κάψουλων ενώ σε συστήματα μητρικού υλικού, το πυρηνικό υλικό είναι ενσωματωμένο σε ένα συνεχές δίκτυο υλικού μήτρας που στερείται διακριτικού εξωτερικού τοίχου (Augustin and Hemar, 2009). Η ασκούμενη πίεση μπορεί να οδηγήσει σε θραύση των καψουλών και συνεπώς στην απελευθέρωση του περιεχομένου της. Στην περίπτωση συστημάτων μητρικού υλικού ο δραστικός παράγοντας διασκορπίζεται πάνω από το υλικό φορέα είτε με τη μορφή μικρών σταγονιδίων είτε πιο ομοιογενώς (Zuidam & Shimoni, 2010). Οι κάψουλες μπορούν να είναι μονοπυρηνικές όπου ένα υλικό πυρήνα είναι εγκλωβισμένο από ένα κέλυφος ή μπορούν να συγκεντρωθούν όταν μια κάψουλα αποτελείται από πολλαπλούς πυρήνες (Nazzaro et al., 2012) ή μπορούν να είναι πολυπυρηνικές. Οι κάψουλες μπορούν να είναι σφαιρικές, κυλινδρικές, οβάλ και ακανόνιστου σχήματος.

Η μικροενθυλάκωση στα τρόφιμα στοχεύει στη διατήρηση πολύτιμων και ευαίσθητων συστατικών προστατεύοντάς τα από τις δυσμενείς περιβαλλοντικές συνθήκες, στην παράταση της διάρκειας ζωής και στην εξασφάλιση της παράδοσης

του εγκλεισμένου υλικού στην τοποθεσία-στόχο την επιθυμητή στιγμή (Sobel et al. , 2014). Για παράδειγμα, προστασία πολυακόρεστων λιπαρών οξέων και βιταμινών από οξείδωση και προστασία προβιοτικών κατά τη γαστρική διέλευση. Επιπλέον, η μικροενθυλάκωση έχει τη δυνατότητα να προστατεύσει ευαίσθητες ενώσεις, να διατηρήσει τις επιθυμητές γεύσεις και αρώματα ή να καλύψει τη δυσάρεστη εμφάνιση (Huang, Yu, & Ru, 2010).

Η τεχνική μικροενθυλάκωσης μπορεί να διευκολύνει τον βολικό χειρισμό των υλικών επιτρέποντας τη μετατροπή ενός υγρού υλικού τροφίμων σε μια στερεή ή σκόνη ελεύθερης ροής ή αντίστροφα. Ένα επιπλέον πλεονέκτημα της μικροενθυλάκωσης είναι η παροχή μιας κατάλληλης συγκέντρωσης και συνεπούς διασποράς του βασικού υλικού. Αυτές οι λειτουργίες έχουν αξιοποιηθεί ευρέως στην παράδοση φαρμάκων και εμβολίων στους φαρμακευτικούς τομείς και χρησιμοποιούνται όλο και περισσότερο για να προσθέσουν αξία στα νέα προϊόντα διατροφής στη βιομηχανία τροφίμων.

Οι κύριοι σκοποί της ενθυλάκωσης είναι οι εξής (Fang & Bhandari, 2012) :

- Προστασία του βασικού υλικού από περιβαλλοντικούς παράγοντες (οξυγόνο, θερμοκρασία, φως, υγρασία, pH κ.λπ.)
- Ελεγχόμενη απελευθέρωση των βασικών υλικών
- Κάλυψη ανεπιθύμητων οσμών δ) Βελτίωση του χειρισμού και τη σωστή ροή των βασικών υλικών

Εκτός από τους παραπάνω στόχους ο κύριος σκοπός της ενθυλάκωσης των ελαίων και λιπιδίων είναι η αποτροπή της οξείδωσης με αποτέλεσμα την παράταση της διάρκειας ζωής των προϊόντων.

Η επιλογή της κατάλληλης μεθόδου ενθυλάκωσης εξαρτάται από ορισμένες παραμέτρους: μέσο μέγεθος σωματιδίων, φυσικοχημικά χαρακτηριστικά υλικών πυρήνα και τοιχώματος, εφαρμογή ενθυλακωμένου υλικού, σύστημα απελευθέρωσης καψουλών, εμπορική ικανότητα παραγωγής και κόστος (I Re, 1989).

Το μέγεθος σταγονιδίων γαλακτώματος επηρεάζεται κυρίως από την πίεση ομογενοποίησης γαλακτώματος. Οι Hogan et al. (2001) συμπέραναν πως η μέση διάμετρος των σταγονιδίων μειώθηκε από 0,93 σε 0,38 μm , όταν η πίεση ομογενοποίησης αυξήθηκε από 10 σε 50 MPa. Παρόμοια, οι Holgado et al. [29]

έλαβαν μικρότερα και πιο ομοιόμορφα σταγονίδια λαδιού με αυξημένη πίεση ομογενοποίησης.

Η μέθοδος γαλακτωματοποίησης επηρεάζει επίσης την αποτελεσματικότητα ενθυλάκωσης και το μέγεθος των σωματιδίων στην ενθυλάκωση ελαίου με ξήρανση με ψεκάσμό. Σύμφωνα με τους Κορ et al. (2015) η ομογενοποίηση με υπέρηχους οδήγησε σε χαμηλότερη ΕΕ του έξτρα παρθένου ελαιόλαδου και σε μικρότερα σωματίδια συγκριτικά με άλλες μεθόδους ενθυλάκωσης.

Από την άλλη πλευρά, η σύνθεση του γαλακτώματος είναι ένας άλλος βασικός παράγοντας για τη σταθερότητα του γαλακτώματος. Επομένως, τα υλικά του τοιχώματος πρέπει να έχουν γαλακτωματοποιητικές ιδιότητες. Έχει αναφερθεί πως οι υδατάνθρακες, οι πρωτεΐνες ή ο συνδυασμός αυτών χρησιμοποιούνται γενικά ως υλικά τοιχώματος για την ενθυλάκωση ελαίου. Οι κύριες λειτουργίες των υδατανθράκων στην ενθυλάκωση είναι η προώθηση των ιδιοτήτων ξήρανσης της μήτρας του τοίχου με την αύξηση του σχηματισμού ξηρού φλοιού πάνω από τα σταγονίδια ξήρανσης (Kagami et al., 2003).

Διαπιστώθηκε πως τα γαλακτώματα που παρασκευάζονται με αραβικό κόμμι είναι πιο σταθερά από τα γαλακτώματα με μαλτοδεξτρίνη καθώς το αραβικό κόμμι δρα σαν γαλακτωματοποιητής λόγω της πρωτεϊνικής του ύλης. Επιπλέον, η αύξηση της ισοδύναμης δεξτρόζης (DE) των υδατανθράκων έχει προστατευτική δράση έναντι της οξείδωσης (Kagami et al., 2003). Αυτό συμβαίνει επειδή η διάμετρος των θυλακίων αυξάνει, καθώς αυξάνονται οι τιμές των υδατανθράκων.

Για τη βελτίωση των γαλακτωματοποιητικών χαρακτηριστικών, γενικά, οι υδατάνθρακες χρησιμοποιούνται με πρωτεΐνες για την ενθυλάκωση ελαίων. Παρ'όλα αυτά, η σταθερότητα του γαλακτώματος που σταθεροποιείται από πρωτεΐνες επηρεάζεται από το pH του γαλακτώματος. Συγκεκριμένα, η ικανότητα γαλακτωματοποίησης των πρωτεϊνών είναι ελάχιστη στο ισοηλεκτρικό τους σημείο (Huynh et al., 2008). Επιπλέον, σε ορισμένες περιπτώσεις, μπορεί να παρατηρηθούν ανταγωνιστικές επιδράσεις μεταξύ πρωτεϊνών και υδατανθράκων. Οι Tontul και Toruz (2013) διαπίστωσαν ότι ο συνδυασμός καζεΐνης με νάτριο και αραβικό κόμμι οδήγησαν στη χαμηλότερη διάμετρο των θυλακίων για το λιναρόσπορο, ενώ το συμπύκνωμα πρωτεΐνης ορού γάλακτος αύξησε την διάμετρο των θυλακίων. Ομοίως, οι Goyal et al. (2015) ανέφεραν ότι ο συνδυασμός πρωτεΐνης ορού γάλακτος-

συνδυασμός λακτόζης ως υλικό τοιχώματος είχε ως αποτέλεσμα υψηλότερη απόδοση σε θυλάκια λιναρόσπορου από τον συνδυασμό καζεϊνικού νατρίου-λακτόζης.

Το μέγεθος, το σχήμα και η ομαλότητα των στεγνωμένων με ψεκασμό σωματιδίων επηρεάζονται από την περιεκτικότητα σε γαλάκτωμα σε ξηρή ουσία. Οι Turchiuli et al. (2005) διαπίστωσαν πως η μέση διάμετρος σωματιδίων αυξήθηκε από 18 σε 85 μm , όταν η συνολική περιεκτικότητα σε γαλάκτωμα στερεού αυξήθηκε από 30% σε 50%. Επιπλέον, οι Sahin-Nadeem και Özen (2014) διαπίστωσαν ότι η ενσωμάτωση πρωτεϊνών ορού γάλακτος σε μίγμα υλικού τοίχου με βάση υδατάνθρακες αύξησε την ομαλότητα των επιφανειών των σωματιδίων για την ενθυλάκωση ελαίου σπόρου ροδιού. Αντίθετα, οι Botrel et al. (2014) διαπίστωσαν πως η μερική αντικατάσταση της απομονωμένης πρωτεΐνης ορού γάλακτος με ινουλίνη βελτίωσε τα ιξωδοελαστικά χαρακτηριστικά του υλικού του τοιχώματος των θυλακίων τα οποία περιείχαν ιχθυέλαιο ως υλικό πυρήνα. Ωστόσο σε γενικές γραμμές τα μικροθυλάκια που περιλαμβάνουν υλικά τοιχώματος με βάση πολυσακχαρίτες έχουν αξιοσημείωτες επιφανειακές διακυμάνσεις ενώ τα θυλάκια με βάση την πρωτεΐνη ορού γάλακτος εμφανίζουν πιο ομαλή επιφάνεια. Επίσης τα μικροθυλάκια με μικρότερο πορώδες έχουν λιγότερους χώρους μεταξύ των σωματιδίων που εμποδίζουν τις αντιδράσεις οξείδωσης (Santana et al., 2013).

3.3 Τεχνικές μικροενθυλάκωσης

Η μικροενθυλάκωση είναι ένας πολυεπιστημονικός τομέας που περιλαμβάνει τη γνώση και τις τεχνικές της φυσικής, της φυσικής χημείας, της χημείας των πολυμερών, της χημείας των κolloειδών, της βιοχημείας, της βιοτεχνολογίας και της επιστήμης των υλικών. Οι μέθοδοι παρασκευής μικροκαψουλών χωρίζονται σε δύο μεγάλες διαδικασίες : φυσικές και χημικές.

Ένα υγρό ή ένα αέριο χρησιμοποιείται κανονικά ως μέσο εναιώρησης. Ο διαμετωπικός και επί τόπου πολυμερισμός, η πολύπλοκη περιποίηση και η εξάτμιση του διαλύτη από τεχνολογίες γαλακτωμάτων χρησιμοποιούν υγρά ενώ το αέριο χρησιμοποιείται στην επίστρωση ρευστοποιημένης κλίνης, στην ξήρανση με ψεκασμό ή στην ψύξη με ψεκασμό και στην εξώθηση (Schrooyen, van der Meer, & De Kruijff, 2001). Οι φυσικές μέθοδοι περιλαμβάνουν ψύξη με ψεκασμό, ξήρανση με ψεκασμό, επίστρωση ρευστής κλίνης, επίστρωση ταψιού, ψεκασμό περιστροφικού δίσκου και συνεξώθηση, ενώ η χημική διαδικασία περιλαμβάνει διαχωρισμό φάσεων,

απλή και πολύπλοκη συντήρηση και πολυμερισμό επιφανειών. Η πλειοψηφία των διαδικασιών περιλαμβάνει την παραγωγή σταγονιδίων από τα ενεργά υλικά πυρήνα (σε μορφή αερίου, υγρού ή σκόνης) και στη συνέχεια περιβάλλουν τα σταγονίδια με ενθυλάκωση υλικών σε αέρια ή υγρή φάση, με εξαίρεση την παρασκευή λιποσωμάτων, εξώθηση τήγματος, και η χρήση φυσικών εγκλωβίζει όπως κύτταρα ζύμης (Zuidam & Shimoni, 2010).

3.3.1 Ξήρανση με ψεκασμό

Η ξήρανση με ψεκασμό είναι η παλαιότερη και πιο διαδεδομένη τεχνική ενθυλάκωσης, η οποία πιστεύεται ότι χρησιμοποιήθηκε αρχικά τη δεκαετία του 1930 για να εγκλωβίσει γεύσεις στο κόμμι ακακίας. Είναι η πιο συχνά χρησιμοποιούμενη μέθοδος μικροενθυλάκωσης λόγω της ικανότητάς της να εξατμίζει γρήγορα την υγρασία και να διατηρεί χαμηλή θερμοκρασία στα σωματίδια. Αυτή η μέθοδος χρησιμοποιείται ευρέως για την ενθυλάκωση ελαίων, αρωμάτων και αρωμάτων και θεωρείται κατάλληλη για την ενθυλάκωση ενός αριθμού υγρών και στερεών υλικών. Η αποξηραμένη με ψεκασμό λακτόζη εισήχθη στη φαρμακευτική αγορά τη δεκαετία του 1960 και χρησιμοποιήθηκε για άμεση συμπίεση, διασπορά στερεών καθώς και για παραγωγή ξηρών σκονών (White et al., 2005).

Η ενθυλάκωση με ξήρανση με ψεκασμό είναι οικονομική και αποδοτική μέθοδος όπου βοηθάει στην τροποποίηση του αρχικού διαλύματος. Ταυτόχρονα τα ευαίσθητα στην θερμότητα τρόφιμα μπορούν να επεξεργαστούν χωρίς μεταβολές στα χαρακτηριστικά τους. Λόγω αυτών των πλεονεκτημάτων, η ξήρανση με ψεκασμό προτιμάται συνήθως για την ενθυλάκωση ελαίων όμως θα πρέπει να δίνεται προσοχή ώστε να αποφεύγεται η οξειδωση των ελαίων.

Τα γενικά βήματα για μικροενθυλάκωση στη μέθοδο ξήρανσης με ψεκασμό περιλαμβάνουν ομογενοποίηση των βασικών υλικών και υλικών τοιχώματος για τη δημιουργία γαλακτώματος που ακολουθείται από ψεκασμό στο θάλαμο ξήρανσης. Συνήθως, τα υλικά τοιχώματος που χρησιμοποιούνται στη μέθοδο ξήρανσης με ψεκασμό είναι πολυσακχαρίτες και πρωτεΐνες. Η ενσωμάτωση με άλλες τεχνικές μπορεί να αυξήσει το εύρος εφαρμογών της ξήρανσης με ψεκασμό.

Το κύριο χαρακτηριστικό της μεθόδου ξήρανσης με ψεκασμό είναι ο σχηματισμός συγκεκριμένων σωματιδίων. Πράγματι, η ηλεκτρονική μικροσκόπηση σάρωσης που χρησιμοποίησαν οι Tonon et al. (2011) σε μικροσωματίδια λιναρόσπορου

αποκάλυψαν το σχηματισμό κοίλων σωματιδίων, δηλαδή σωματιδίων με κοίλες και συρρικνωμένες επιφάνειες.

Σε μια μελέτη που πραγματοποιήθηκε από τους De-Oliveira et al. (2014) τα νανοσωματίδια έχουν φτάσει σε ένα επίπεδο μέγιστης απελευθέρωσης περίπου 30-50 ώρες από την δημιουργία τους.

Τα σωματίδια που παράγονται με τη διαδικασία ξήρανσης με ψεκασμό παρέχουν υψηλή σταθερότητα στα ενθυλαωμένα έλαια. Σε αυτό το πλαίσιο, οι Hoyos-Ieyva et al. (2019) ερεύνησαν την οξειδωτική σταθερότητα του αμυγδαλέλαιου πριν και μετά την ενθυλάκωση σε μικροκάψουλες αμύλου. Διαπίστωσαν ότι αυτά τα συστήματα παρείχαν μεγαλύτερη προστασία έναντι της οξείδωσης σε σύγκριση με το ακαμυγδαλέλαιο λόγω της σχετικά ελαττωμένης πορώδους του υλικού, το οποίο με τη σειρά του περιορίζει την έκθεση του ελαίου σε συνθήκες καταπόνησης κατά την αποθήκευση.

Παρά την απαιτούμενη υψηλή θερμοκρασία, η μέθοδος ξήρανσης με ψεκασμό χρησιμοποιείται ευρέως για να ενθυλακώσει είτε φυτικά είτε αιθέρια έλαια. Αυτό σχετίζεται με το γεγονός πως μειώνεται ο χρόνος επαφής μεταξύ θερμού αέρα και φυτικού ελαίου, και έτσι η εξάτμιση συμβαίνει μεταξύ 15 και 30 δευτερολέπτων και λαμβάνει χώρα στην επιφάνεια του σωματιδίου. Ως εκ τούτου, τα έλαια δεν φτάνουν ποτέ τη θερμοκρασία εισόδου του αερίου ξήρανσης.

Ο σχηματισμός σταθερού γαλακτώματος είναι το κρίσιμο βήμα για την ενθυλάκωση με ξήρανση με ψεκασμό. Η ανεπαρκής γαλακτωματοποίηση προκαλεί την δημιουργία μεγαλύτερων σταγονιδίων και αστάθεια του γαλακτώματος με αποτέλεσμα την χαμηλότερη απόδοση ενθυλάκωσης. Τα μικρότερα σφαιρίδια-κάψουλες ελαίου περικλείονται καλύτερα στο υλικό τοιχώματος κι έτσι οι δυνάμεις έλξης μειώνονται μεταξύ των σφαιριδίων. Ως εκ τούτου λαμβάνονται πιο σταθερά γαλακτώματα. Ομοίως η περιεκτικότητα σε στερεά έχει άμεση επίδραση στο μέγεθος σταγονιδίων του γαλακτώματος. Έτσι όταν αυξάνεται η συνολική περιεκτικότητα σε στερεά το υγαλακτώματος τα μεγέθη των σταγονιδίων γαλακτώματος μειώνονται. Αυτός ο αντίκτυπος μπορεί να σχετίζεται με αυξημένο ιξώδες γαλακτώματος ή επαρκή ποσότητα διαλύματος υλικών τοίχου για να περιβάλλει αποτελεσματικά τα σταγονίδια. Ωστόσο, το υψηλό ιξώδες του γαλακτώματος είναι επιθυμητό σε κάποιο βαθμό επειδή μπορεί να οδηγήσει σε προβλήματα απόφραξης του

χρησιμοποιούμενου εξοπλισμού καθώς η επεξεργασία και η ψεκασμός γαλακτωμάτων με ιξώδη υψηλότερα από 200 mPa σε στεγνωτήριο ψεκασμού είναι αρκετά πιο δύσκολη. Οι Gharsallaoui et al., (2007) ανέφερε ότι η διάμετρος του αρχικού σταγονιδίου πρέπει να είναι μεταξύ 1 - 100 μm. Μεγαλύτερα σταγονίδια γαλακτώματος μπορεί να σπάσουν κατά το στάδιο ψεκασμού της ξήρανσης με ψεκασμό και αυτό προκαλεί μεγάλες ποσότητες μη ενθυλακωμένων επιφανειακών ελαίων (Jafari et al., 2008).

Ο δείκτης διαλυτότητας στο νερό (WSI) είναι ένα σημαντικό κριτήριο για τα προϊόντα αποξηραμένης σκόνης για την ενίσχυση της ενσωμάτωσής τους σε άλλα τρόφιμα. Έχει αποδειχθεί ότι οι σκόνες σε κρυσταλλική κατάσταση έχουν χαμηλότερη αλληλεπίδραση με το νερό, ενώ τα άμορφα στερεά περιέχουν πολικές ενεργειακές θέσεις που έχουν ικανότητα σύνδεσης με δεσμούς υδρογόνου με το νερό. Οι μη ομοιόμορφες σκόνες έχουν μεγαλύτερη διαλυτότητες και είναι πιο υγροσκοπικές. Αυτή η παράμετρος επηρεάζεται επίσης από τη συγκέντρωση ελαίου. Καθώς αυξάνεται η ποσότητα λαδιού, αυξάνεται η υδροφοβία του προϊόντος. Ωστόσο, αυτό οδηγεί σε μείωση της αλληλεπίδρασης με το νερό και έτσι, η διαλυτότητα μειώνεται (de Barros et al., 2014). Από την άλλη πλευρά, μικρά και πολικά υλικά τοιχώματος με υδρόφιλες ιδιότητες όπως η ινουλίνη βελτιώνουν τη διαλυτότητα των καψουλών αποξηραμένου ελαίου με ψεκασμό (Botrel et al., 2014).

Η περιεκτικότητα σε υγρασία και η δραστηριότητα του νερού (a_w) είναι κρίσιμοι παράγοντες για τη σταθερότητα των αποθηκευμένων προϊόντων. Η περιεκτικότητα σε υγρασία των θυλακίων αποξηραμένων ελαίων είναι κοντά στο μέγιστο εύρος υγρασίας για αποξηραμένα προϊόντα, δηλαδή στο 3 - 4%. Η θερμοκρασία εισόδου του αέρα ξήρανσης, ο ρυθμός ροής αέρα ψεκασμού και η ρύθμιση της αντλίας ήταν οι κύριοι παράγοντες για την περιεκτικότητα σε υγρασία. Μικροθυλάκια με υψηλότερη περιεκτικότητα σε υγρασία και a_w αποκτήθηκαν όταν η πίεση ομογενοποίησης μειώθηκε από 600 bar σε 400 bar. Η οξειδωση των λιπιδίων είναι συνήθως ελάχιστη σε εύρος a_w 0,20 - 0,40 για πολλά τρόφιμα. Επιπλέον, οι Carvalho et al., (2014) κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι τα μικροσωματίδια του αποξηραμένου με σπρέι ελαίου καφέ με a_w κάτω ή ίσα με 0,20 παρουσίασαν χαμηλότερη οξειδωτική σταθερότητα.

3.3.2 Ψύξη με ψεκασμό

Κατά την ψύξη με ψεκασμό, ένα ομοιογενές μείγμα πυρήνων και λιωμένων λιπιδικών υλικών επικάλυψης ψεκάζεται μέσω ψεκαστήρα σε ψυχρό αέρα κάτω από το σημείο τήξης των λιπιδίων. Ο ψυχμένος ή παγωμένος αέρας στερεοποιεί το λιπίδιο γύρω από τα σωματίδια του πυρήνα. Τυπικά υλικά επικάλυψης σε ψύξη με ψεκασμό θα ήταν ένα λιπίδιο ή τα υδρόφοβα παράγωγά του με ένα αρκετά υψηλό σημείο τήξης, όπου πυρήνας θα ήταν υδρόφιλα υλικά όπως υδατοδιαλυτές βιταμίνες και ένζυμα (Desai & Jin Park, 2005).

Η χρήση αυτής της μεθόδου είναι δυνατή για την δημιουργία μικροκαψουλών με υδρόφοβους πυρήνες και υδρόφοβο τοίχωμα. Μια άλλη προσέγγιση είναι η μικροενθλάκωση διπλής στρώσης. Ο υδρόφοβος πυρήνας επικαλύπτεται πρώτα με ένα υδρόφιλο στρώμα χρησιμοποιώντας ξήρανση με ψεκασμό και στη συνέχεια επικαλύπτεται ξανά με ένα υδρόφοβο στρώμα χρησιμοποιώντας ψύξη με ψεκασμό. Αυτή η προσέγγιση δοκιμάστηκε σε ιχθυέλαιο, λάδι sachalol (Fadini et al., 2018) και προβιοτικά (Arslan-Tontul & Erbas, 2017).

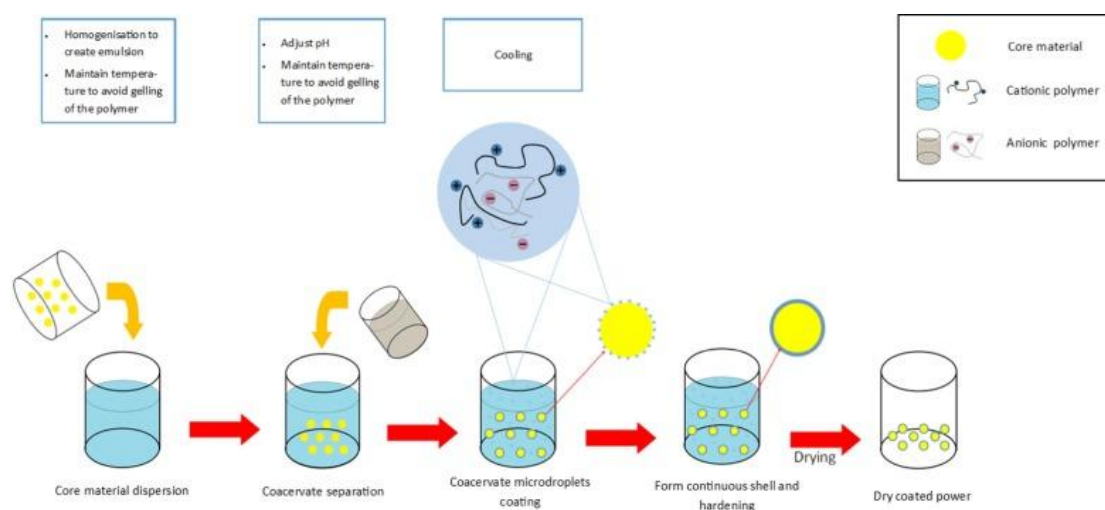
3.3.3 Διαχωρισμός κολλοειδούς

Ο διαχωρισμός των κολλοειδών συστημάτων περιλαμβάνει τον διαχωρισμό του κολλοειδούς διαλύματος σε δύο υγρές φάσεις. Υπάρχουν δύο διαδικασίες διαχωρισμού : οι απλές και οι πολύπλοκες. Ο απλός διαχωρισμός χρησιμοποιεί ένα μόνο πολυμερές για να σχηματίσει έναν παράγοντα διάλυσης, με τον παράγοντα διάλυσης να είναι ακετόνη ή αλκοόλη. Ο απλός διαχωρισμός είναι λιγότερο μελετημένος στα τρόφιμα.

Στο πολύπλοκο διαχωρισμό δύο ή περισσότερα διαλύματα πολυμερών με αντίθετα φορτία αλληλεπιδρούν ηλεκτροστατικά μεταξύ τους σε νερό με αποτέλεσμα δύο μη αναμίξιμες υγρές φάσεις: την πυκνή φάση πλούσια σε πολυμερή και τη συνεχή φάση φτωχή σε πολυμερή. Το πρώτο μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως επίστρωση για ένα ευρύ φάσμα βασικών υλικών.

Η βασική διαδικασία περιλαμβάνει διάφορα στάδια. Τα βασικά υλικά διανέμονται πρώτα σε ένα κατιονικό διάλυμα πολυμερούς νερού (κανονικά μια πρωτεΐνη). Στη συνέχεια προστίθεται ένα ανιονικό πολυμερές διάλυμα (συνήθως ένας υδατάνθρακας). Με τη ρύθμιση του pH και της θερμοκρασίας, αρχίζουν να διαχωρίζονται μικροσταγονίδια από το πολυμερές. Όταν παρουσιάζονται αδιάλυτα

στο νερό βασικά υλικά, σχηματίζονται μικροσταγονίδια για να αλληλεπιδράσουν με την επιφάνεια του πυρήνα και σχηματίζουν σταδιακά ένα συνεχές κέλυφος. Ένας παράγοντας εγκάρσιας σύνδεσης όπως η τρανσγλουταμινάση και η γλουταραλδευδη χρησιμοποιούνται συχνά για την ενίσχυση της γέλης. Η σύνθετη τεχνική διαχωρισμού μπορεί να εφαρμοστεί σε πολλές αδιάλυτες στο νερό ενώσεις όπως λιπαρά οξέα, λιποδιαλυτές βιταμίνες και γευστικές ουσίες.



Εικόνα 3.1 : Σχηματική αναπαράσταση του σύνθετου διαχωρισμού στην διαδικασία ενθυλάκωσης Πηγή : Kim et al., (2017)

3.3.4 Γαλακτωματοποίηση μέσω εξάτμισης

Η μέθοδος γαλακτωματοποίησης μέσω εξάτμισης έχει προταθεί από τους Vanderhoff και Asser (1979). Με αυτή τη διαδικασία, ένα οργανικό διάλυμα αποτελούμενο από πολυμερές και έλαιο γαλακτωματοποιείται με ένα μίγμα μη διαλυτών υπό υψηλή τάση διάτμησης (π.χ. με ομογενοποίηση με την χρήση υπερήχων). Μετά από αυτό, ο οργανικός διαλύτης εξατμίζεται είτε με συνεχή μαγνητική ανάδευση σε θερμοκρασία δωματίου είτε υπό μειωμένη πίεση που οδηγεί στο σχηματισμό νανοσωματιδίων. (Rodríguez et al., 2016). Αυτή η τεχνική έχει χρησιμοποιηθεί για να ενθυλακώσει τόσο αιθέρια όσο και φυτικά έλαια.

Η τεχνική εξάτμισης γαλακτώματος παράγει νανοσωματίδια με υψηλότερο EE% και μικρότερη μέση διάμετρο, σε σύγκριση με την τεχνική ξήρανσης με ψεκασμό. Σε αυτό το πλαίσιο, οι Gomes et al. (2011α) ανέφεραν μέγεθος σωματιδίων 179,3 και 173,8 nm με EE% 98 και 92% για νανοσωματίδια που περιέχουν εγενόλη και τρανσ-κιναμαλδεύση αντίστοιχα.

Τα νανοσωματίδια που παρασκευάζονται με διαδικασία εξάτμισης γαλακτώματος παρουσίασαν μοτίβο απελευθέρωσης *in vitro* παρόμοιο με αυτό των σωματιδίων που παράγονται με ξήρανση με ψεκασμό.

Αρκετές παράμετροι μπορεί να επηρεάσουν τις ιδιότητες των νανοσωματιδίων. Οι Freiburger et al. (2015) ερεύνησαν την επίδραση του τύπου πολυμερούς (πολυ (3-υδροξυβουτυρικό-συν-3-υδροξυβαλερικό)/πολυλακτίδιο), μηχανισμό διασποράς (ομογενοποίηση υ ψηλής διάτμησης) και αναλογία πολυμερούς "ελαίου για το μέσο μέγεθος και ανάκτηση λαδιού βιοσυμβατών νανοσωματιδίων που περιέχουν έλαιο καφέ. Η στατιστική ανάλυση έδειξε μη σημαντική επίδραση των πειραματικών παραγόντων στο μέγεθος των νανοσωματιδίων εντός του πειραματικού εύρους. Ενώ για την ανάκτηση του ελαίου καφέ, η ανάλυση έδειξε μεγαλύτερη σημασία. Λιγότερο έλαιο χάθηκε κατά την πτητικοποίηση όταν χρησιμοποιήθηκαν υπέρηχοι καθώς ο απαιτούμενος χρόνος διασποράς (3 λεπτά) ήταν μικρότερος σε σύγκριση με τον χρόνο παραγωγής (10 λεπτά).

Όσον αφορά την αναλογία πολυμερούς: λάδι, η αύξηση της ποσότητας πολυμερούς οδηγεί στην αύξηση του ιξώδους του διαλύματος με αποτέλεσμα την αποτελεσματική προστασία του λαδιού από τη θερμότητα που παράγεται κατά την ομογενοποίηση.

Έτσι η μέθοδος μπορεί να χρησιμοποιηθεί για να ενθυλακώσει τόσο αιθέρια όσο και φυτικά έλαια. Παρόλο που παρέχει υψηλό EE%, αυτή η μέθοδος χρησιμοποιείται λιγότερο για την ενθυλάκωση φυτικών ελαίων, σε σύγκριση με την τεχνική ξήρανσης με ψεκασμό. Ο πιθανός λόγος πίσω από αυτό είναι η πιθανή συγχώνευση σταγονιδίων κατά την εξάτμιση που μπορεί να οδηγήσει σε διασπορά σωματιδίων και στην ανάγκη για μια διαδικασία υψηλής διάτμησης.

3.3.5 Ξήρανση με ψύξη (λυοφιλίωση)

Η ξήρανση με κατάψυξη, η οποία είναι πιο γνωστή ως λυοφιλίωση αποτελείται από τρία στάδια. Πρώτον, το προϊόν καταψύχεται και στη συνέχεια, ο πάγος εξαχνώνεται υπό κενό. Τέλος, το μη κατεψυγμένο αφαιρείται με εξάτμιση σε συνθήκες μειωμένης πίεσης.

Τα πλεονεκτήματα της λυοφιλίωσης είναι τα εξής :

α) Μειωμένη φθορά των θερμοευαίσθητων συνθέσεων (ακόρεστα λιπαρά οξέα, τοκοφερόλες κ.λπ.)

β) Ελεγχόμενη υγρασία των τελικών προϊόντων

γ) Ευκολότερη ανασύσταση μικροουλακίου αποξηραμένου ελαίου

Παρά τα πλεονεκτήματα αυτά, το υψηλό κόστος λειτουργίας, ο μεγάλος χρόνος επεξεργασίας και η ανοιχτή πορώδης δομή του τελικού προϊόντος περιορίζουν την εφαρμογή αυτής της τεχνολογίας στη βιομηχανία τροφίμων. Επιπλέον, η αποτελεσματικότητα ενθυλάκωσης με λυοφιλίωση δεν είναι τόσο υψηλή όσο η ξήρανση με ψεκασμό.

Ο ρυθμός ψύξης αποτελεί μία σημαντική παράμετρο για τα θυλάκια αποξηραμένων ελαίων. Οι Heinzelmann et al., (2000) ανέφεραν πως ο αργός ρυθμός ψύξης οδήγησε σε αύξηση της διάρκειας ζωής των μικροθυλακίων ιχθυέλαιου.

Οι χαμηλότερες θερμοκρασίες ψύξης προκαλούν μετακίνηση των διασκορπισμένων σταγονιδίων λαδιού στη συνεχή φάση και έτσι, αυτά τα σταγονίδια ελαίου συσσωματώνονται. Η αποτελεσματικότητα της ενθυλάκωσης επηρεάζεται αρνητικά από τη διάσπαση του γαλακτώματος.

3.3.6 Εξώθηση

Η πρώτη εφαρμογή της εξώθησης εμφανίστηκε στα τέλη της δεκαετίας του 1950 στη βιομηχανία αρωμάτων. Παρά την πρόωμη ανακάλυψη, η εμπορική εξώθηση για τη μικροενθυλάκωση των ενεργών παραγόντων είναι μια σχετικά λιγότερο χρησιμοποιούμενη διαδικασία στη βιομηχανία τροφίμων (Sobel, 2014).

Στην διαδικασία εξώθησης, ένα υλικό πυρήνα ενσωματώνεται σε λιωμένη μάζα υδατανθράκων και στη συνέχεια το μίγμα εξωθείται και συλλέγεται σε ένα λουτρό αφυδατωμένου διαλύματος. Η επίστρωση σκληραίνει στο λουτρό, στη συνέχεια διαχωρίζεται και ξηραίνεται.

Τα πιο κοινά υλικά κάλυψης που χρησιμοποιούνται περιλαμβάνουν την γλυκόζη, σιρόπι γλυκόζης, σακχαρόζη, μαλτοδεξτρίνη και γλυκερίνη, τα οποία μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως μεμονωμένα ή ως μείγμα ενώσεων. Το κύριο πλεονέκτημα αυτής της μεθόδου είναι η προστασία των βασικών ενώσεων από το οξυγόνο καθώς απομονώνονται εντελώς από τον αέρα από το υλικό τοιχώματος.

Μερικοί θεώρησαν τη συνεξώθηση ως ξεχωριστή τεχνολογία για την εξώθηση (Gouin, 2004). Από την άποψη της μηχανικής, η συνεξώθηση είναι μια παραλλαγή της

τεχνολογίας εξώθησης που επιτρέπει την πολυεπίπεδη κατασκευή ενός υλικού. Στην συνεξώθηση μία μήτρα υλικού τοιχώματος που περιέχει πυρήνες σχηματίζεται πριν από την εξώθηση. Στην συνεξώθηση τα πυρηνικά υλικά και τα υλικά του τοιχώματος εγχέονται μέσω ξεχωριστών οδών στο εσωτερικό και εξωτερικό τμήμα ενός διπλού ακροφυσίου ρευστού. Τα συνδυασμένα υλικά στη συνέχεια εξωθούνται και σχηματίζουν σφαίρες λόγω της αστάθειάς τους. Ένα από τα πλεονεκτήματα της συνεξώθησης είναι οι δυνατότητες παραγωγής μικροκαψουλών πολλαπλών στρωμάτων.

Το λιποσώμα ανακαλύφθηκε για πρώτη φορά από τον Alec Bangham το 1965. Τα λιποσώματα είναι κυστίδια φτιαγμένα από διπλή στιβάδα κυρίως αποτελούμενα από φωσφολιπίδια, τα οποία σχηματίζονται ως αποτέλεσμα διασποράς φωσφολιπιδίων σε υδατικό διάλυμα και έκθεσης σε υψηλούς ρυθμούς διάτμησης μέσω μικροφθορισμού ή κολλοειδούς επεξεργασίας. Τα φωσφολιπίδια έχουν αμφιπαθητικά χαρακτηριστικά, πράγμα που σημαίνει ότι περιέχουν υδρόφιλες και υδρόφοβες ομάδες κεφαλής. Το πολικό άκρο μπορεί να συνδεθεί με υδατοδιαλυτά σωματίδια, ενώ το μη πολικό άκρο συνδέεται με λιποδιαλυτά σωματίδια. Όταν εναιωρούνται σε υδατικό διάλυμα που περιέχει υδατοδιαλυτά μόρια πυρήνα, τα φωσφολιπίδια σχηματίζουν φύλλο πρώτα καθώς τα μη πολικά άκρα τους ευθυγραμμίζονται μεταξύ τους και στη συνέχεια σχηματίζουν μια σφαίρα (λιπόσωμα) με τα υδρόφιλα άκρα τους μέσα στη σφαίρα, παγιδεύοντας μέρος του υδατικού διαλύματος με τα βασικά υλικά. Ένα πλεονέκτημα αυτής της μεθόδου είναι ότι επιτρέπει στο υλικό πυρήνα να διατηρήσει υψηλή δραστηριότητα νερού, όπου οι άλλες μέθοδοι που συζητήθηκαν παραπάνω στέρησαν το νερό από τον πυρήνα στη διαδικασία (Mirafzali, Thomas, & Tallua, 2014). Αυτό είναι σημαντικό για εφαρμογές που απαιτούν υψηλή δραστηριότητα νερού για να είναι ενεργός ο πυρήνας, όπως ένζυμα και προβιοτικά. Τα φωσφολιπίδια είναι άφθονα λιπίδια μεμβράνης που εμφανίστηκαν φυσικά σε ζωικά κύτταρα, κάτι που έδωσε στο λιπόσωμα ένα άλλο πλεονέκτημα στη βιοσυμβατότητα. Λόγω αυτού του πλεονεκτήματος, το λιπόσωμα έγινε ένα χρήσιμο σύστημα χορήγησης φαρμάκων (Li et al., 2019).

Πολλές μελέτες χρησιμοποιούν λιπόσωμα για να ενθυλακώσουν ενώσεις και βιταμίνες όπως για παράδειγμα η νιασίνη, καθώς κι ένζυμα ελέγχοντας την διαδικασία ωρίμανσης ή οξειδωσης ουσιών.

3.3.7 Συσσωμάτωση

Ο διαχωρισμός φάσης της υγρής φάσης ενός υδατικού διαλύματος υδροκολλοειδών υπό ελεγχόμενες συνθήκες (ρύθμιση με αλλαγή του pH ή της θερμοκρασίας του διαλύματος και/ή προσθήκη μικρο ιόντων) και απόθεση της προκύπτουσας φάσης, γνωστής ως συσσωμάτωμα, ονομάζεται συσσωμάτωση. Ο διαχωρισμός υγρής-υγρής φάσης ονομάζεται «συσσωμάτωση», ενώ ο διαχωρισμός στερεάς-υγρής φάσης ονομάζεται «καθίζηση» (Wang et al., 2007).

Τα κύρια στάδια της συσσωμάτωσης είναι τα εξής :

- 1) το υλικό του πυρήνα γαλακτωματοποιείται μέσα σε ένα υδατικό διάλυμα που αποτελείται από δύο πολυμερή σε θερμοκρασία πήκτωσης πρωτεΐνης πάνω από ζελέ και πάνω από ισοηλεκτρικό pH πρωτεΐνης
- 2) σχηματίζονται μη αναμίξιμες φάσεις
- 3) εναποτίθενται/εναποτίθενται υγρό πολυμερές γύρω από το υλικό πυρήνα
- 4) τα μικροθυλάκια σταθεροποιούνται μέσω παραγόντων διασταύρωσης διαφόρων διαδικασιών ξήρανσης όπως ξήρανση με ψεκασμό ή ξήρανση με ψύξη

Υπάρχουν δύο τύποι συσσωμάτωσης : η απλή συσσωμάτωση που περιλαμβάνει ένα πολυμερές κι ένα σύνθετο συσσωμάτωμα και η πολύπλοκη συσσωμάτωση που αποτελείται από δύο μη αναμίξιμες υγρές φάσεις με αντίθετα φορτισμένα ιόντα. Η διαδικασία της σύνθετης συσσωμάτωσης γενικά προτιμάται για την ενθυλάκωση βιοδραστικών συστατικών στα τρόφιμα.

Κυρίως, ένα θραύσμα πρωτεΐνης όπως η ζελατίνη ή η πρωτεΐνη ορού γάλακτος και ένα τμήμα υδατανθράκων όπως η κυτταρίνη, το αραβικό κόμμι, η χιτοζάνη ή η καραγενάνη χρησιμοποιούνται ως βιοπολυμερή στην διαδικασία της συσσωμάτωσης. Ο σχηματισμός συμπλεγμάτων πρωτεϊνών/υδατανθράκων και συσσωματωμάτων εξαρτάται από πολλούς παράγοντες όπως :

- ιοντική ισχύ
- pH
- θερμοκρασία διαλύματος
- μοριακά βάρη
- συνολική συγκέντρωση και πυκνότητα φορτίου των βιοπολυμερών

- αναλογία πρωτεΐνης προς υδατάνθρακες
- πίεση και ανάδευση συσσωματώματος

Με την διαδικασία της συσσωμάτωσης μπορούν να σχηματιστούν μονοπυρηνικά ή πολυπυρηνικά θυλάκια. Στα μονοπυρηνικά θυλάκια το πυρηνικό υλικό περικλείεται από συσσωματώματα ενώ τα πολυπυρηνικά θυλάκια περιλαμβάνουν γαλακτωματοποιημένους δύο ξεχωριστούς πυρήνες. Τα μονοπυρηνικά θυλάκια μπορούν να παρέχουν το υλικό του πυρήνα ακόμα και όταν μόνο ένα μέρος του υλικού του τοιχώματος έχει υποστεί ζημιά ενώ αντίθετα τα πολυπυρηνικά θυλάκια μπορούν να αποδώσουν πυρηνικό υλικό ακόμα και όταν το υλικό του τοιχώματός τους έχει υποστεί πλήρη ζημιά (Dong et al., 2007). Λόγω αυτού του γεγονότος ο σχηματισμός πολυπυρηνικών θυλακίων είναι επιθυμητός για την παράταση της διάρκειας ζωής των ευαίσθητων συστατικών τροφίμων.

Η υπεροχή της συσσωμάτωσης έναντι των άλλων τεχνικών ενθυλάκωσης ελαίων είναι το γεγονός πως παράγουν μικρότερη ποσότητα σκόνης ακόμα και σε επίπεδα υψηλής ποσότητας ελαίου στον πυρήνα (Kralovec et al., 2012).

Η συγκέντρωση και η σύνθεση των υλικών τοιχώματος, η ταχύτητα ανάδευσης και το pH θα πρέπει να βελτιστοποιηθούν για να ληφθούν σφαιρικά και διαυγή θυλάκια. Ωστόσο, αναμφίβολα, το pH είναι ο πιο σημαντικός παράγοντας στη μέθοδο εσυσσωμάτωσης. Το κατάλληλο εύρος pH εξαρτάται από τους τύπους και τα φορτία των βιοπολυμερών. Ενώ οι Weinbreck et al. (2004) διαπίστωσαν ότι μια ομαλή στρώση πρωτεΐνης ορού γάλακτος - κόμμι αραβικού κόμβου σχηματίστηκε σε pH 4, pH 5 επιλέχθηκε ως το καλύτερο σημείο λειτουργίας για τα πολυμερή χιτοζάνης – ζελατίνης (Aziz et al., 2016). Δεύτερον, ο ρυθμός ανάδευσης και η ταχύτητα ομογενοποίησης παίζουν σημαντικό ρόλο. Οι Aziz et al., (2014) ανέφεραν μια μείωση στις διαστάσεις των μικροθυλακίων και μία αύξηση της αναλογίας των μονοπυρηνικών θυλακίων σε αύξηση της ταχύτητας ανάδευσης. Ο κύριος λόγος αύξησης της ποσότητας των μονοπυρηνικών θυλακίων είναι ο ανεπαρκής χρόνος επαφής μεταξύ των σταγονιδίων ελαίου λόγω του υψηλού επιπέδου στροβολισμού που προκαλείται από τον υψηλότερο ρυθμό ανάδευσης (Lemetter et al., 2009). Εάν υπάρχει αρκετός χρόνος επαφής, τα σταγονίδια ελαίου μπορούν να προσεγγίσουν το ένα το άλλο και δύο ή περισσότερα σταγονίδια ελαίου μπορούν να συνδυαστούν σε

ένα θυλάκιο (πολυπυρηνικό θυλάκιο). Όλες αυτές οι παράμετροι εν τέλει θα πρέπει να προσαρμόζονται ανάλογα με τα απαιτούμενα χαρακτηριστικά των θυλακίων.

Η μικροενθυλάκωση με συσσωμάτωση, όπως και οι άλλες τεχνικές, συμβάλλει στην προστασία των ελαίων από ανεπιθύμητες αλλαγές κατά την αποθήκευση. Κατά τη διάρκεια μιας αποθήκευσης 40 ημερών σε κρύο νερό, μόνο το 7% του ελαίου μέντας διατηρήθηκε από μικροθυλάκια που παράχθηκαν με συσσωμάτωσης που αποτελούνταν από ζελατίνη και αραβικό κόμμι (Dong et al., 2011). Από την άλλη πλευρά οι Wang et al, (2014) έλαβαν θυλάκια με εξαιρετικά υψηλή περιεκτικότητα σε έλαιο με εφαρμογή συσσωμάτωσης με την χρήση ζελατίνης και εξαμεταφωσφορικού νατρίου. Αυτά τα μικροθυλάκια έδειξαν 2 φορές μεγαλύτερη σταθερότητα στην οξείδωση συγκριτικά με το απλό έλαιο.

3.3.8 Νανοκαθίζηση

Η νανοκαθίζηση είναι μια απλή, γρήγορη και ολοένα και πιο δημοφιλής τεχνική για την παρασκευή νανοσωματιδίων (Almoustafa et al., 2017). Αναφέρθηκε αρχικά από τους Fessi et al. (1989) και βασίζεται στην επιφανειακή εναπόθεση πολυμερών ως αποτέλεσμα της μετατόπισης ενός υδατοαναμίξιμου διαλύτη από ένα λιπόφιλο διάλυμα. Αυτή η μέθοδος έχει χρησιμοποιηθεί ευρέως για να ενθυλακώσει φυτικά έλαια.

Τα νανοσωματίδια που παράγονται με διαδικασία νανοκαθίζησης είχαν μικρό μέγεθος σωματιδίων, περιορισμένη κατανομή με υψηλό EE%. Οι Iannitelli et al. (2011) ανέπτυξαν νανοκάψουλες με καρβακρόλυ με σφαιρικό σχήμα και μικρό μέγεθος σωματιδίων και κανονική κατανομή.

Όσον αφορά το μέγεθος των σωματιδίων, οι Esfandyari-Manesh et al. (2013) συνέκριναν την μέθοδο νανοκαθίζησης με την μέθοδο γαλακτωματοποίηση μέσω εξάτμισης και διαπίστωσαν πως τα σωματίδια που παράγονται με νανοκαθίζηση είχαν μικρότερη μέση διάμετρο (158 και 126 nm για την ανεθόλη και το καρβόνη, αντίστοιχα) και στενότερη κατανομή μεγέθους (0,08). Η υψηλή διάμετρος των νανοσωματιδίων που παρασκευάστηκαν με αυτή τη μέθοδο αποδόθηκε στη δυσκολία αμοιβαίας διασποράς της φάσης που είναι παχύρρευστη λόγω της παρουσίας μεγάλης ποσότητας ελαίου και πολυμερούς.

Σύμφωνα με την βιβλιογραφία για την ανάπτυξη μικροκάψουλων με τις κατάλληλες φυσικοχημικές ιδιότητες πρέπει να λαμβάνονται υπόψιν πολλοί παράγοντες. Ο τύπος και η ποσότητα πολυμερούς έχουν κρίσιμη επίδραση στο μέσο μέγεθος των νανοσωματιδίων. Οι Khoobdel et al., (2017) αναφέρουν πως η αύξηση της ποσότητας πολυμερούς, οδηγεί στην αύξηση του πάχους του κελύφους των σωματιδίων και στην αύξηση της μέσης διαμέτρου τους, αντί να αυξάνει τον αριθμό τους.

3.3.9 Ιονική ζελατινοποίηση

Προκειμένου να αποφευχθεί η χρήση τοξικού οργανικού διαλύτη ή δυνάμεις υψηλής διάτμησης, οι Calvo et al. (1997) πρότειναν μία νέα προσέγγιση στην διαδικασία μικροενθυλάκωσης που ονομάζεται ιονική πήξη ή συντήρηση. Το αλγινικό άλας, ένας ανιονικός πολυσακχαρίτης και η χιτοζάνη, ένας κατιονικός πολυηλεκτρολύτης, χρησιμοποιούνται εκτενώς για σκοπούς ιοντικής πήξης. Αυτοί οι πολυηλεκτρολύτες μπορούν να αλληλεπιδράσουν με παράγοντες διασταύρωσης όπως το τριπολυφωσφορικό που έχουν αντίθετο φορτίο μέσω ηλεκτροστατικής αλληλεπίδρασης και να συγκεντρωθούν σε νανοσωματίδια (Yang et al., 2015).

Η συντήρηση συνίσταται στη μετάβαση από υγρή σε πηκτή κατά τη συμπλοκοποίηση μεταξύ των αντίθετα φορτισμένων μορίων σε καθορισμένες τιμές pH που οδηγούν στο σχηματισμό σωματιδίων νανο-μεγέθους.

Πρόσφατα, παρασκευάστηκαν νανοσωματίδια χιτοζάνης με κανέλα διασυνδεδεμένα με τριπολυφωσφορικό με τη μέθοδο της συντήρησης και τα λαμβανόμενα σωματίδια είχαν μικρή μέση διάμετρο (80-100 nm). Η ενθυλάκωση κάρδαμου σε νανοσωματίδια με βάση την χιτοζάνη οδήγησε στη δημιουργία σωματιδίων με μέσο μέγεθος που κυμαίνεται μεταξύ 50 και 100 nm, δυναμικό ζέτας άνω των +50 mV και υψηλό EE% που ήταν μεγαλύτερο από 90% (Jamil et al., 2016).

3.4 Μηχανισμός απελευθέρωσης – εξώθησης ουσίας

Αν και ο κύριος σκοπός της μικροενθυλάκωσης είναι η προστασία των βασικών υλικών από περιβαλλοντικά στοιχεία, δεν έχει νόημα εάν οι πυρήνες δεν μπορούν να απελευθερωθούν ή να απελευθερωθούν σε λάθος χρόνο ή τόπο. Επομένως, ο μηχανισμός απελευθέρωσης του πυρήνα στον κατάλληλο τόπο και χρόνο είναι εξίσου σημαντικός με την ικανότητα προστασίας για μικροενθυλάκωση.

Ο κύριος παράγοντας του ρυθμού απελευθέρωσης σχετίζεται με τις αλληλεπιδράσεις μεταξύ του φορέα και των βασικών υλικών. Επιπλέον, άλλοι παράγοντες που επηρεάζουν την απελευθέρωση του πυρήνα είναι η μεταβλητότητα του πυρήνα, η αναλογία του πυρήνα και του υλικού του τοίχου, το μέγεθος των σωματιδίων και το ιξώδες του υλικού του τοιχώματος των κάψουλων.

Η ελεγχόμενη απελευθέρωση είναι μια στρατηγική για την απελευθέρωση βιοενεργού παράγοντα στην τοποθεσία -στόχο, στο ρυθμό -στόχο και την ώρα -στόχο. Το προφίλ απελευθέρωσης μιας μικροκάψουλας περιγράφει τους ενεργοποιητές απελευθέρωσης και την κινητική απελευθέρωσης.

Ορισμένοι από τους παράγοντες ενεργοποίησης της απελευθέρωσης, όπως τα ένζυμα, το pH και η θερμοκρασία, είναι μεμονωμένοι μηχανισμοί, καθώς μπορούν να ελέγχονται ανεξάρτητα μεταξύ τους σε διάφορες καταστάσεις παράδοσης.

Διάχυση : συμβαίνει ειδικά όταν το κέλυφος της μικροκάψουλας είναι άθικτο. Το υγρό διάλυσης διαλύει τον πυρήνα διεισδύοντας στο υλικό του τοίχου οδηγώντας σε διαρροή μέσω των πόρων ή των διάμεσων διαύλων (Gunder, Lippold, & Lippold, 1995). Ο πυρήνας μπορεί να απελευθερωθεί με ή χωρίς διόγκωση του κελύφους. Στην πράξη, ο ρυθμός διάχυσης επηρεάζεται επίσης από τον τύπο του υλικού πυρήνα και του υλικού του τοίχου, τον τύπο/μέγεθος/σχήμα της μικροκάψουλας (Siermann & Siermann, 2012).

Όσμωση : το πολυμερές κέλυφος της μικροκάψουλας μοιάζει με ημιπερατή μεμβράνη. Η διαφορά οσμωτικής πίεσης μεταξύ του εσωτερικού και του εξωτερικού της μικροκάψουλας οδηγεί στην κίνηση του πυρήνα μέσω μικρών πόρων στο κέλυφος (Singh et al., 2010).

Βιοαποικοδόμηση : σε μηχανισμό απελευθέρωσης βιοαποικοδόμησης, ένζυμα όπως πρωτεάσες και λιπάσες υδρολύουν πρωτεΐνες ή λιπίδια, αντίστοιχα, οδηγούν στην απελευθέρωση του πυρήνα.

pH : το pH μπορεί να αλλάξει τη διαλυτότητα του υλικού του τοίχου αλλάζοντας το pH του περιβάλλοντος. Για παράδειγμα, η μικροενθυλάκωση με βάση τον μηχανισμό απελευθέρωσης pH επιτρέπει την απελευθέρωση της ριβοφλαβίνης στο έντερο όπου το pH είναι αλκαλικό, παρακάμπτοντας το όξινο pH του στομάχου (de Farias et al., 2018).

Θερμοκρασία : η μεταβολή της θερμοκρασίας επιτρέπει την απελευθέρωση του πυρήνα. Αυτός ο μηχανισμός βασίζεται σε δύο έννοιες: απελευθέρωση ευαίσθητη στη θερμοκρασία και απελευθέρωση ενεργοποιημένη με σύντηξη. Το πρώτο βασίζεται στην επέκταση ή κατάρρευση του υλικού του τοίχου σε κρίσιμη θερμοκρασία, ενώ το δεύτερο βασίζεται στο λιώσιμο του υλικού του τοίχου όταν η θερμοκρασία αυξάνεται.

Πίεση : η απελευθέρωση ενεργοποιείται όταν ασκείται πίεση στο υλικό του πυρήνα.

3.5 Υλικό επικάλυψης

Η επιλογή του υλικού επικάλυψης είναι ζωτικής σημασίας καθώς επηρεάζει την αποτελεσματικότητα και τη σταθερότητα της μικροκάψουλας. Το καταλληλότερο υλικό ενθυλάκωσης για εφαρμογές τροφίμων πρέπει να έχει τις ακόλουθες ιδιότητες: μη αντιδραστικό με τον πυρήνα, ικανό να σφραγίσει και να διατηρήσει τον πυρήνα άθικτο μέσα στην κάψουλα, ικανό να προστατεύσει αποτελεσματικά τον πυρήνα από δυσμενείς περιβαλλοντικές συνθήκες, να μην έχει δυσάρεστη γεύση, βρώσιμο και μη τοξικό και οικονομικά βιώσιμο (McClements et al., 2007).

Γενικά, το ιδανικό υλικό επικάλυψης θα πρέπει να έχει μη συμβατές φυσικές ιδιότητες στον πυρήνα, όπως υδρόφοβο υλικό τοιχώματος και υδρόφιλος πυρήνας ή το αντίστροφο. Σε αρκετές περιπτώσεις χρησιμοποιείται ένας συνδυασμός υλικών επικάλυψης με διάφορα επίπεδα επιτυχίας.

Την τελευταία δεκαετία, πολύ λίγα υλικά επικάλυψης ήταν γνωστό ότι ήταν προδιαγραφής ποιότητας τροφίμων. Έχοντας υπόψη την απαίτηση ότι, για την προστασία των βιταμινών στα προϊόντα τροφίμων, το σύστημα παράδοσης πρέπει να προέρχεται από επιτρεπόμενα συστατικά τροφίμων μέσω ρυθμιζόμενων συστημάτων επεξεργασίας τροφίμων. Πρόσφατα, έχουν παρατηρηθεί περισσότερες μελέτες σε βρώσιμα υλικά επικάλυψης

Η επιλογή των υλικών τοιχώματος καθορίζεται γενικότερα κατά την επιλογή τεχνικών για μικροενθυλάκωση βιταμινών: α) αποφυγή θερμότητας, μηχανικής καταπόνησης και οξυγόνου, β) ασφαλή για την παραγωγή τροφίμων, γ) κλιμακούμενη, δ) φθηνή στη λειτουργία. Οι διαφορετικές εφαρμογές θα απαιτούσαν επίσης μεμονωμένα κριτήρια όπως η φυσική μορφή του τελικού προϊόντος, το μέγεθος/δομή/μορφολογία σωματιδίων και η διαλυτότητα σε νερό/λάδι. Για μια

εφαρμογή για ενσωμάτωση βιταμινών σε θερμικά επεξεργασμένα τρόφιμα όπως κουτιά, μια επιλογή κατάλληλων τεχνικών είναι κρίσιμη, καθώς είναι ευαίσθητα σε πολλά στοιχεία που συμβαίνουν συνήθως σε διαδικασίες, ιδιαίτερα σε θερμότητα.

Ωστόσο, οι τεχνικές χαμηλής θερμοκρασίας, συμπεριλαμβανομένης της ψύξης με ψεκασμό και ο εγκλωβισμός λιποσωμάτων, χρησιμοποιήθηκαν περισσότερο όταν τα λιπίδια/λίπη είναι υλικά τοιχώματος που θα χάσουν τις προστατευτικές τους ιδιότητες όταν θερμαίνονται. Επομένως, μη θερμικές τεχνικές θα ήταν οι πλέον κατάλληλες για αυτήν την εφαρμογή. Η ξήρανση με ψεκασμό κενού περιορίζει την θέρμανση και την απαίτηση στο οξυγόνο και χρησιμοποιείται με επιτυχία για την παραγωγή βιώσιμων ξηρών προβιοτικών (Semyonov, Ramon, & Shimoní, 2011).

Αναλυτικότερα τα πιο συνηθισμένα υλικά τοιχώματος μπορούν να χωριστούν σε τρεις κύριες ομάδες :

➤ **Υδατάνθρακες**

- Υδατάνθρακες φυτικής προέλευσης όπως μαλτοδεξτρίνη, άμυλο, κυτταρίνη, αραβικό κόμμι, γαλακτομανάνη, κυκλοδεξ-τριν, πηκτίνη
- Υδατάνθρακες με προέλευση τους θαλάσσιους οργανισμούς όπως τα αλιγινικά άλατα
- Μικροβιακοί ή ζωικοί υδατάνθρακες όπως η ξανθάνη, γελλάνη, δεξτράνη, χιτοζάνη

➤ **Πρωτεΐνες**

- Πρωτεΐνες φυτικής προέλευσης όπως πρωτεΐνη σόγιας, πρωτεΐνη μπιζελιού, πρωτεΐνη κριθαριού, ζεΐνη, γλουτένη
- Πρωτεΐνες ζωικής προέλευσης όπως καζεΐνη, πρωτεΐνη ορού γάλακτος, ζελατίνη

➤ **Λιπίδια και κήροι** όπως το λίπος γάλακτος, φωσφολιπίδια και κερι μέλισσας

Η επιλογή των κατάλληλων υλικών τοίχου εξαρτάται από τις ιδιότητες του βασικού υλικού και των τελικών καψουλών. Ένα βέλτιστο υλικό τοιχώματος θα πρέπει να έχει τα ακόλουθα χαρακτηριστικά (Nedovic et al., 2013) :

- Να είναι φθηνό
- Να έχει χαμηλό ιξώδες
- Να έχει καλές γαλακτωματοποιητικές ιδιότητες και σταθερότητα γαλακτώματος

- Να έχει την ικανότητα να διατηρεί το βασικό υλικό στη δομή του χωρίς καμία δραστηριότητα κατά την επεξεργασία ή την αποθήκευση
- Ελεγχόμενη απελευθέρωση υλικού πυρήνα
- Προστασία του πυρηνικού υλικού από οποιεσδήποτε περιβαλλοντικές συνθήκες ιδιαίτερα από οξυγόνο, υγρασία και φώς

Η αποτελεσματικότητα της ενθυλάκωσης, η οποία επηρεάζει την οξειδωτική σταθερότητα των ενθυλακωμένων ελαίων, εξαρτάται εν μέρει από τα συστατικά του τοιχώματος των θυλακίων. Για παράδειγμα, η γ-κυκλοδεξτρίνη βρέθηκε να είναι πιο αποτελεσματική σε σύγκριση με τη β-κυκλοδεξτρίνη όσον αφορά τη βελτίωση της σταθερότητας του γαλακτώματος και, επομένως, την αποτελεσματικότητα της ενθυλάκωσης (Na et al., 2011).

Οι Mehmet et al., (2010) δήλωσαν πως τα θυλάκια ιχθυέλαιου που περιείχαν πουλλουλάνη είχαν καλύτερη οξειδωτική σταθερότητα από εκείνα που περιείχαν λακτόζη λόγω της ικανότητας της πουλλουλάνης να σχηματίζει ισχυρά πολυμερή με ελάχιστη διαπερατότητα σε οξυγόνο.

3.6 Εφαρμογές στην βιομηχανία τροφίμων

Η βιομηχανία τροφίμων, αμέσως μετά την βιομηχανία φαρμάκων, αποτελεί την βιομηχανία όπου χρησιμοποιείται ευρέως η τεχνολογία μικροενθυλάκωσης. Οι όλο και πιο απαιτητικοί καταναλωτές και οι απαιτήσεις προϊόντων είναι τα κύρια κίνητρα για έρευνα μικροενθυλάκωσης που προορίζεται για τη βιομηχανία τροφίμων.

Οι απαιτήσεις των καταναλωτών καθώς και η αυξανόμενη ζήτηση για λειτουργικά συστατικά στα τρόφιμα έχουν οδηγήσει στην ευρεία χρήση αυτής της τεχνολογίας.

Συνήθως, αυτά τα συστατικά είναι περιβαλλοντικά ή/και ασταθή στην επεξεργασία και έτσι, η μικροενθυλάκωση προκύπτει ως τεχνολογική προσέγγιση για να ξεπεραστούν τα προαναφερθέντα προβλήματα και συνεπώς να επιτευχθεί αποτελεσματική προστασία αυτών των ασταθών συστατικών. Επιπλέον, αυτές οι ενώσεις μπορεί να είναι επιρρεπείς σε υποβάθμιση σε γαστρεντερικές συνθήκες και κατά συνέπεια μπορεί να είναι αποτελεσματική η προστασία των ουσιών αυτών.

Λειτουργικά συστατικά μπορούν να χρησιμοποιηθούν για τη ρύθμιση του χρώματος, της γεύσης ή της υφής του τελικού προϊόντος. Επιπλέον, μπορούν να

χρησιμοποιηθούν ως συντηρητικά, καθιστώντας δυνατή την παράταση της διάρκειας ζωής τους. Εκτός από τα λειτουργικά συστατικά, τα βιοδραστικά συστατικά έχουν ενθυλακωθεί για να διατηρήσουν τη σταθερότητά τους κατά τη διάρκεια της επεξεργασίας και αποθήκευσης τροφίμων και επιπλέον, για να αποφευχθούν ανεπιθύμητες αλληλεπιδράσεις μεταξύ άλλων συστατικών που υπάρχουν στη μήτρα τροφίμων που θα μπορούσαν να οδηγήσουν σε ταχύτερη υποβάθμιση του προϊόντος και απώλεια ορισμένων ιδιοτήτων. Έτσι, τα ασταθή βιοδραστικά μικροενθυλακωμένα συστατικά προστατεύονται και διατηρούνται εντελώς λειτουργικά. Επιπλέον, η μικροενθυλάκωση επιτρέπει την ενίσχυση συγκεκριμένων γεύσεων και αρωμάτων, την κάλυψη ανεπιθύμητων οσμών και γεύσεων ή ακόμη και την αύξηση των βιοενεργειών των συστατικών.

Ακόμα, η μικροενθυλάκωση μπορεί να ενισχύσει τις φυσικοχημικές ιδιότητες των συστατικών των τροφίμων, προκειμένου να διευκολύνει τον χειρισμό, να παρέχει την επιθυμητή και επαρκή συγκέντρωση του δραστικού συστατικού, να προωθήσει την ομοιόμορφη διασπορά του δραστικού συστατικού στη μήτρα των τροφίμων και να αποφύγει ανεπιθύμητες αντιδράσεις (Desai & Park, 2005).

Τα μικροενθυλακωμένα ενεργά συστατικά μπορεί να είναι βιοδραστικά μόρια (π.χ. αρωματικοί παράγοντες, γλυκαντικά, χρωστικές και βιταμίνες) ή ζωντανά κύτταρα ως προβιοτικά. Σαφώς, τα βιοδραστικά μόρια είναι οι πιο συχνά ενθυλακωμένες ενώσεις. Πολλά από τα μικροενθυλακωμένα βιοδραστικά μόρια παρουσιάζουν αντιοξειδωτική ικανότητα. Αυτά τα μόρια είναι ικανά να οξειδωθούν αντ' αυτού ή πριν από άλλα και κατά συνέπεια, να τα προστατεύσουν.

3.7 Προοπτικές και προβλήματα

Η μικροενθυλάκωση μελετάται και εφαρμόζεται ευρέως στη φαρμακευτική και έχει γίνει σημαντικό ενδιαφέρον στη βιομηχανία τροφίμων. Για τις εφαρμογές τροφίμων, υπάρχουν πολλές προκλήσεις στην ανάπτυξη αποτελεσματικών και κατάλληλων συστημάτων μικροενθυλάκωσης.

Πολλές από τις εγγενείς προκλήσεις της μικροενθυλάκωσης των συστατικών είναι οι ίδιες τόσο για τη φαρμακευτική βιομηχανία όσο και για τη βιομηχανία τροφίμων και έτσι είναι σημαντικό να αντιμετωπιστούν στις βιομηχανίες που χρησιμοποιούνται.

Πολλές δυσκολίες και μειονεκτήματα στη βιομηχανική εφαρμογή τεχνικών μικροενθυλάκωσης έχουν επισημανθεί και για τα δύο πεδία εφαρμογής όπως η κακή παγίδευση της δραστικής ένωσης, η αδυναμία κλιμάκωσης ορισμένων διαδικασιών, η απαίτηση πραγματοποίησης διαδικασιών σε πολλαπλά στάδια και η υπερβολική συγκέντρωση ανεπιθύμητων αποβλήτων ή υπολειμμάτων ή η μακροχρόνια απαίτηση ορισμένων διαδικασιών (χρονοβόρες διαδικασίες).

Η σημαντικότερη όμως πρόκληση στην ανάπτυξη αποτελεσματικών και κατάλληλων συστημάτων μικροενθυλάκωσης είναι να βρεθεί ένα κατάλληλο υλικό και μέθοδος για τη δημιουργία επικαλύψεων ικανών να επιβιώσουν σε επιθετικές διαδικασίες τροφίμων. Αν και πολλές νέες τεχνολογίες επεξεργασίας που είναι λιγότερο επιθετικές εμφανίζονται στη βιομηχανία τροφίμων, οι πιο συχνά χρησιμοποιούμενες τεχνολογίες εξακολουθούν να περιλαμβάνουν μεγάλη ποσότητα μηχανικής λειτουργίας και θερμικής επεξεργασίας σε υψηλή θερμοκρασία.

Πολλές παράμετροι μπορούν να επηρεάσουν τα μικροενθυλακωμένα προϊόντα και τα τελικά χαρακτηριστικά τους. Αυτές οι παράμετροι μπορούν να χωριστούν σε τρεις κατηγορίες: ιδιότητες υλικών, παράμετροι διαμόρφωσης και συνθήκες λειτουργίας. Οι κύριες ιδιότητες που επηρεάζονται είναι το μέσο μέγεθος των μικροσωματιδίων, η κατανομή του μεγέθους των σωματιδίων, η μορφολογία της επιφάνειας των μικροσωματιδίων, η απόδοση του προϊόντος και η αποτελεσματικότητα ενθυλάκωσης. Οι τελικές ιδιότητες των μικροσωματιδίων μπορεί να επηρεάσουν τον ρυθμό απελευθέρωσης της δραστικής ένωσης (Li et al., 2008).

Οι τεχνικές μικροενθυλάκωσης έχουν μελετηθεί για μεγάλο χρονικό διάστημα, αλλά οι διαδικασίες βελτιστοποίησης είναι σχετικά πρόσφατες. Η μικροενθυλάκωση για φαρμακευτικές και βιομηχανίες τροφίμων εξακολουθεί να αντιμετωπίζει τεχνολογικές προκλήσεις, ειδικά για τη μικροενθυλάκωση ευαίσθητων βιοδραστικών ενώσεων ως προβιοτικών. Ο σχεδιασμός πειραμάτων θα είναι ένα χρήσιμο εργαλείο για την αντιμετώπιση και την υπέρβαση των πραγματικών εμποδίων για βιομηχανική εφαρμογή μικροενθυλάκωσης.

Από την άλλη πλευρά μια μικροκάψουλα είναι χρήσιμη μόνο εάν μπορεί να απελευθερωθεί στον επιθυμητό χρόνο και θέση, η οποία βρίσκεται στο σύστημα πέψης του ανθρώπου για τις περισσότερες εφαρμογές τροφίμων. Επομένως, ο μηχανισμός απελευθέρωσης των μικροκαψουλών πρέπει να είναι αποτελεσματικός.

Για να προστεθεί η δυσκολία, η επιλογή των υλικών περιορίζεται για εφαρμογές τροφίμων καθώς πρέπει να είναι κατάλληλα για ανθρώπινη κατανάλωση και πρέπει να λαμβάνεται υπόψη η οικονομική σκοπιμότητα για παραγωγή μεγάλης κλίμακας. Παρά τις προκλήσεις αυτές, το υψηλό δυναμικό μικροενθυλάκωσης οδήγησε σε σημαντική αύξηση των επιστημονικών ενδιαφερόντων σε αυτόν τον τομέα.

Κεφάλαιο 4^ο : Εφαρμογή μικροενθυλάκωσης στο ελαιόλαδο

4.1 Μικροενθυλάκωση ελαιόλαδου

Η τεχνολογία της μικροενθυλάκωσης έχει αναπτυχθεί από μια απλή ακινητοποίηση ή παγίδευση σε εξελιγμένο και ακριβή σχηματισμό μικροθυλακίων. Με την μικροενθυλάκωση μπορούν να ενθυλακωθούν μόρια μικρού μεγέθους όπως για παράδειγμα κύτταρα μικροοργανισμών όπως τα προβιοτικά για παράδειγμα.

Υδατάνθρακες όπως άμυλα, μαλτοδεξτρίνες, σιρόπι καλαμποκιού και κόμμι ακακίας έχουν χρησιμοποιηθεί σαν παράγοντες ενθυλάκωσης στο ελαιόλαδο. Παρόλο που αυτά τα υλικά έχουν πολλές από τις ιδιότητες που είναι επιθυμητές σε έναν παράγοντα ενθυλάκωσης, όπως χαμηλό ιξώδες σε υψηλά περιεχόμενα στερεών και καλή διαλυτότητα περισσότερο στερούνται τη διεπιφανειακή λειτουργικότητα που σχετίζεται με τα υλικά ενθυλάκωσης όπως οι πρωτεΐνες γάλακτος.

Καθώς κανένα υλικό τοιχώματος δεν διαθέτει όλες τις ιδιότητες που απαιτούνται για έναν ιδανικό παράγοντα ενθυλάκωσης, οι προσεγγίσεις για τη βελτίωση των ιδιοτήτων ενθυλάκωσης επικεντρώθηκαν σε μείγματα υδατανθράκων και πρωτεϊνών (Hogan et al., 2001). . Το υψηλό κόστος των πρωτεϊνών γάλακτος σε σύγκριση με τους υδατάνθρακες είναι ωστόσο μειονεκτικό, επομένως άλλη δυνατότητα είναι η χρήση υδατανθράκων ως υλικών τοιχώματος παρουσία επιφανειακά ενεργού τοιχώματος.

Μελέτες όπου συνέκριναν τα χαρακτηριστικά του ενθυλακωμένου και μη ελαιόλαδου δείχνουν πως η υψηλότερη περιεκτικότητα σε παλμιτικό, εστεαρικό, λινολεϊκό οξύ, κορεσμένα και πολυακόρεστα λιπαρά οξέα εντοπίζεται στο μη ενθυλακωμένο έξτρα παρθένο ελαιόλαδο.

Ταυτόχρονα η οξειδωτική σταθερότητα του ελαιόλαδου επηρεάζεται από την ενθυλάκωσή του. Ο δείκτης οξειδωτικής σταθερότητας είναι αυξημένος σε ενθυλακωμένα ελαιόλαδα, φανερώνοντας πως τα τοιχώματα των μικροθυλακίων προστατεύουν το ενθυλακωμένο έλαιο από τις οξειδωτικές διαδικασίες, με τον δείκτη να παρουσιάζει ακόμα και διπλάσιες τιμές συγκριτικά με το μη ενθυλακωμένο ελαιόλαδο. Μεταξύ των διαφορετικών υλικών τοιχωμάτων, τα υλικά τοιχώματος που βασίζονται στις πρωτεΐνες οδηγούν σε καλύτερη προστασία του ελαιόλαδου από οξείδωση. Ταυτόχρονα η χρήση αντιοξειδωτικών παραγόντων οδηγεί σε ακόμα μεγαλύτερη προστασία του ελαιόλαδου από οξείδωση.

4.2 Μικροενθυλάκωση αντιοξειδωτικών συστατικών

Η μικροενθυλάκωση του ελαιόλαδου μπορεί να οδηγήσει σε προστασία των βιοδραστικών συστατικών του από οξείδωση. Αναλυτικότερα το μικροενθυλακωμένο ελαιόλαδο παρουσιάζει υψηλότερες συγκεντρώσεις σε τοκοφερόλες και τοκοτριενμόλς (όπου αποτελούν όλες μαζί την βιταμίνη E) με αποτέλεσμα το ενθυλακωμένο ελαιόλαδο να παρουσιάζει καλύτερη θρεπτική αξία. Ταυτόχρονα η μικροενθυλάκωση βοηθάει και στην προστασία άλλων αντιοξειδωτικών ουσιών του ελαιόλαδου όπως για παράδειγμα οι πολυφαινόλες (Calvo et al., 2012).

Η ενθυλάκωση και μικροενθυλάκωση φυσικών αντιοξειδωτικών είναι ευεργετική για :

- (i) μείωση της ποσότητας χρήσης των φυσικών αντιοξειδωτικών
- (ii) βελτίωση της *in vivo* και *in vitro* σταθερότητας, της βιοδραστικότητας, της διαλυτότητας, της βιοδιαθεσιμότητας (Mozafari et al., 2006) και της αντιδραστικότητας των φυσικών αντιοξειδωτικών
- (iii) τον έλεγχο του ρυθμού απελευθέρωσής τους
- (iv) την προστασία τους από οξειδωτική ή φωτολυτική αποδόμηση
- (v) κάλυψη της δυσάρεστης γεύσης, οσμής και χρώματος των φυσικών φαινολικών αντιοξειδωτικών
- (vi) μείωση των προ-οξειδωτικών δραστηριοτήτων και συνεπώς παράταση της διάρκειας ζωής και της σταθερότητας του ελαιόλαδου

Οι Taghvaei et al. (2014) αξιολόγησαν την επίδραση του μικροενθυλακωμένου εκχυλίσματος φύλλων ελιάς (OLE) στη θερμική και οξειδωτική σταθερότητα του

σογιέλαιου. Η μικροενθυλάκωση πραγματοποιήθηκε μέσω ξήρανσης με κατάψυξη χρησιμοποιώντας κόμμι Αραβικά και μαλτοδεξτρίνη ως υλικά φορέα. Το σογιέλαιο προστέθηκε με μικροενθυλακωμένο OLE (3 διαφορετικές μορφές) και μη ενθυλακωμένο OLE. Το ενθυλακωμένο OLE βρέθηκε πως παρουσιάζει καλύτερη θερμική σταθερότητα και προστασία απέναντι σε αντιοξειδωτικές ενώσεις σε υψηλή θερμοκρασία (110 °C).

Σε πειράματα τα καλύτερα αποτελέσματα επιτεύχθηκαν με την αύξηση του μεγέθους των τοιχωμάτων των μικροθυλακίων καθώς παρατηρήθηκε πως η ποσότητα αυτού του συστατικού αυξήθηκε στη σύνθεση της μικροκάψουλας, η ποσότητα του ενθυλακωμένου ελαίου ήταν υψηλότερη. Οι Minemoto et al., (2002) που χρησιμοποίησε διαλυτό πολυσακχαρίτη σόγιας (SSPS), κόμμι αραβικό και μείγμα και των δύο μαζί με μαλτοδεξτρίνη. Όταν αναμίχθηκε το SSPS με μαλτοδεξτρίνη, η αποτελεσματικότητα της κάψουλας αυξήθηκε καθώς το κλάσμα βάρους του SSPS στο μίγμα αυξήθηκε. Από την άλλη πλευρά, η εφαρμογή αραβικού κόμμιος ελάχιστα επηρέασε την αποτελεσματικότητα της ενθυλάκωσης.

4.3 Μικροενθυλάκωση προβιοτικών

Τα προβιοτικά αποτελούν βασικούς παράγοντες για την ομαλή λειτουργία του γαστρεντερικού σωλήνα. Τα προβιοτικά βοηθούν στην διατήρηση της υγείας της μικροχλωρίδας του εντέρου με αποτέλεσμα την καλή απορρόφηση θρεπτικών συστατικών και αφομοίωσή τους.

Τα προβιοτικά μπορούν να ενθυλακωθούν σε μία ποικιλία τροφίμων συμπεριλαμβανόμενου και του ελαιόλαδου. Με την μικροενθυλάκωση μπορούν να παρέχονται βιώσιμα στελέχη προβιοτικών βακτηρίων σε μεγάλους αριθμούς στους καταναλωτές προσφέροντας περισσότερα θρεπτικά οφέλη για αυτούς και βοηθώντας στην θεραπεία ασθενών με ιατρικά προβλήματα (Kailasapathy, 2002).

Ο πλήρης γαστρεντερικός σωλήνας ανθρώπων και ζώων αποικίζεται αμέσως μετά τη γέννηση από μεγάλο αριθμό μικροβιακών ειδών με χαρακτηριστική κατανομή ανάλογα με την τοποθεσία. Οι πληθυσμοί LAB και διφιδοβακτηρίων έχουν ανιχνευθεί ως μέρος του πολύπλοκου αυτού συστήματος. Τα γένη *Lactobacillus*, *Pediococcus*, *Leuconostoc* και *Lactococcus* ανήκουν στο LAB και αποτελούν μέρος της εντερικής χλωρίδας ανθρώπων και ζώων με τα στελέχη αυτών των γενών να

χρησιμοποιούνται συχνά σε μεγάλη κλίμακα. Τα πιο συνηθισμένα ανθρώπινα εντερικά στελέχη που ανήκουν στο γένος *Pediococcus*, είναι τα στελέχη *P. acidilactici* και *P. pentosaceus*.

Κατά την μικροενθυλάκωση προβιοτικών στο ελαιόλαδο ο λιπιδικός πυρήνας περικλείεται από βακτήρια που είναι επικαλυμμένα με ένα στρώμα που παράγεται από πεπετίδια και αμινοξέα που προέρχονται από πεπτόνη. Το υδρόφοβο συστατικό (ελαιόλαδο) γαλακτωματοποιείται στην υδατική φάση. Τα μικροθυλάκια μπορούν να σταθεροποιηθούν σε γαλακτώματα ελαίου σε νερό 10% με pH ρυθμισμένο στο 3,0. Πειράματα μικροενθυλάκωσης προβιοτικών δείχνουν πως τα συστήματα ελαιόλαδου-μικροθυλακίου είναι αρκετά σταθερά εξασφαλίζοντας την βιωσιμότητα των κυττάρων και η διαδικασία σταθεροποίησης μπορεί να γίνει με ξανθάνη σε γαλακτώματα ελαίου σε νερό (Paragianni & Anastasiadou, 2009).

4.4 Μικροενθυλάκωση υδροξυτορουσόλης

Η υδροξυτορουσόλη αποτελεί ένα από τα σημαντικότερα βιοδραστικά συστατικά του ελαιόλαδου με ισχυρή αντιοξειδωτική δράση, προσφέροντας σημαντικά οφέλη για την υγεία. Όμως όπως και όλα τα βιοδραστικά συστατικά του ελαιόλαδου έτσι και η υδροξυτορουσόλη επηρεάζεται από το οξυγόνο, φως και θερμότητα οδηγώντας το στην αποικοδόμηση. Ως εκ τούτου, είναι πιθανό να χάσουν τη βιολογική τους λειτουργικότητα και βιοδιαθεσιμότητα κατά την επεξεργασία, αποθήκευση ή κατανάλωση. Για την επίλυση αυτών των προβλημάτων, η ενθυλάκωση ή ακόμα και η μικροενθυλάκωση μπορεί να αποδειχτεί ιδιαίτερα αποτελεσματική.

Τα ανιονικά μεθακρυλικά συμπολυμερή (AMC) έχουν προταθεί για χρήση ως παράγοντα προστασίας της ουσίας. Με αυτό τον τρόπο, παρέχει ισχυρή κάλυψη γεύσης. Αυτό το πολυμερές δεν διαλύεται στο σάλιο κι όξινο περιβάλλον του στομάχου (Alfarsi et al., 2019).

Μέχρι στιγμής, έχουν αναπτυχθεί πολυάριθμες τεχνικές για τη μικροποίηση των βιοπολυμερών και την ενθυλάκωση των βιοδραστικών ενώσεων. Για τους σκοπούς αυτούς, οι τεχνικές υπερκρίσιμου ρευστού έχουν προταθεί πρόσφατα για μικροενθυλάκωση πολλών υλικών που είναι δύσκολο να μικροενθυλακωθούν με συμβατικές τεχνικές.

Το υπερκρίσιμο διοξείδιο του άνθρακα (sc-CO₂) είναι μακράν το πιο χρησιμοποιούμενο υπερκρίσιμο ρευστό για το σχηματισμό σωματιδίων λόγω της χαμηλής κρίσιμης θερμοκρασίας και πίεσης (304,13 K και 7,38 MPa, αντίστοιχα), καθώς είναι μη εύφλεκτο και μη τοξικό. Από την άλλη πλευρά, μεταξύ του συνόλου των πιθανών υπερκρίσιμων τεχνικών, η τεχνολογία υπερκρίσιμης εκχύλισης γαλακτωμάτων (SFEE) έχει αναγνωριστεί ως μια αποτελεσματική μέθοδος για την ενθυλάκωση βιοδραστικών ενώσεων.

Ο SFEE συγκεντρώνει τα πλεονεκτήματα που σχετίζονται με τα συμβατικά γαλακτώματα και τις εξαιρετικές ιδιότητες των υπερκρίσιμων υγρών για την παραγωγή προσαρμοσμένων μικρο- και νανοσωματιδίων. και να ενθυλακώνουν ενώσεις σε αυτούς τους φορείς. Επιπλέον, το SFEE είναι σε θέση να εγκλωβίσει είτε υδρόφιλες είτε λιπόφιλες ενώσεις αλλάζοντας την αρχική σύνθεση γαλακτώματος. Ένα γαλάκτωμα λάδι σε νερό (O/W) μπορεί να χρησιμοποιηθεί για να ενθυλακώσει λιπόφιλες ενώσεις, ενώ ένα γαλάκτωμα νερό σε λάδι σε νερό (W/O/W) μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την ενθυλάκωση υδρόφιλων ενώσεων (Shekunov et al., 2006).

Η βάση του SFEE βασίζεται στη χρήση sc-CO₂ για την ταχεία εξαγωγή της οργανικής φάσης από ένα γαλάκτωμα (συνηθέστερα O/W), στο οποίο ένα πολυμερές και μια δραστική ένωση έχουν διαλυθεί προηγουμένως. Με την απομάκρυνση της διασπαρμένης φάσης, το πολυμερές και το δραστικό συστατικό συν-καθιζάνουν, παραμένοντας στην υδατική φάση σταθεροποιημένη από το επιφανειοδραστικό, το οποίο δρα ως προστατευτικό στρώμα για να αποτρέψει την ανάπτυξη σωματιδίων με συσσωμάτωση (Shekunov et al., 2006).

Η τεχνική SFEE έχει πολλά πλεονεκτήματα: τα παραγόμενα σωματίδια έχουν ελεγχόμενο μέγεθος και μορφολογία. αποκτώνται μη συσσωματωμένα θυλάκια με μέγεθος που μπορεί να ρυθμιστεί τροποποιώντας το γαλάκτωμα του αρχικού σκευάσματος. Με αυτό τον τρόπο τα σωματίδια ελαιόλαδου παραμένουν αμετάβλητα για μεγάλες χρονικές περιόδους.

Η τεχνική υπερκρίσιμης εκχύλισης γαλακτωμάτων (SFEE) μπορεί να οδηγήσει στην λήψη θυλακίων υδροξυτυροσόλης μίας μεγάλης ποικιλίας μεγεθών σε υψηλές αποδόσεις οδηγώντας στην δημιουργία λειτουργικού ελαιόλαδου.

Τα κύρια μειονεκτήματα της τεχνολογίας είναι: i) τα σωματίδια λαμβάνονται σε υδατικά εναιωρήματα που πρέπει να ξηραίνονται εάν απαιτούνται σκευάσματα στερεάς κατάστασης. ii) η κατανάλωση CO₂ για την εξάντληση του οργανικού διαλύτη είναι υψηλή. Έτσι αυτή η μέθοδος μπορεί να χρησιμοποιηθεί σε εμπορική κλίμακα για την δημιουργία λειτουργικού ελαιόλαδου (Tirado et al., 2021).

4.5 Μικροενθυλάκωση πρωτεϊνών

Οι πρωτεΐνες είναι τα κύρια δομικά στοιχεία των ζωντανών οργανισμών, υπεύθυνες για πολλαπλές λειτουργίες και εμπλέκονται στη ρύθμιση πολυάριθμων κυτταρικών δραστηριοτήτων σε συνεχείς μεταβολικές οδούς ενώ συμμετέχουν στην δόμηση των κυτταρικών οργανιδίων και μεμβρανών του πλάσματος, ιστών και μυών. Ταυτόχρονα μπορούν να λειτουργήσουν δυνητικά σαν συνπαράγοντες όπως ένζυμα, ορμόνες και μεταφορείς οξυγόνου. Το ανθρώπινο σώμα απαιτεί επανειλημμένα την πρόσληψη πρωτεϊνών για να προμηθευτεί τα απαραίτητα αμινοξέα που απαιτούνται για τη σύνθεση ζωτικών πρωτεϊνών. Επομένως, μια ισορροπημένη διατροφή που παρέχει την απαραίτητη ποσότητα πρωτεΐνης υψηλής ποιότητας είναι ζωτικής σημασίας για την υγιή ανάπτυξη και διατήρηση του ανθρώπινου οργανισμού (van de Poll et al., 2004).

Με τη βελτίωση των νέων τεχνικών επεξεργασίας, πρόσφατα έγιναν διαθέσιμες πολλές διαφορετικές εξελίξεις στη χρήση πρωτεϊνών σε εφαρμογές τροφίμων. Μία από αυτές είναι και η τεχνολογία μικροενθυλάκωσης που χρησιμοποιείται και στο ελαιόλαδο για την παροχή τροφικής αξίας ή θρεπτικών συστατικών στους καταναλωτές και για την προστασία και παράταση της διάρκειας ζωής των τροφίμων.

Οι πρωτεΐνες έχουν διερευνηθεί και χρησιμοποιηθεί σαν υλικά τοιχώματος στα μικροθυλάκια. Η ζερλατίνη, καζεΐνη, πρωτεΐνη ορού γάλακτος και φυτικές πρωτεΐνες μπορούν να χρησιμοποιηθούν για την δημιουργία μικροθυλακίων παρέχοντας προστασία στα ευαίσθητα βιοδραστικά συστατικά του ελαιόλαδου και βελτιώνοντας την σταθερότητά του.

Στο έξρα παρθένο ελαιόλαδο οι απομονωμένες πρωτεΐνες μπορούν να χρησιμοποιηθούν σαν υλικά κάλυψης των μικροθυλακίων βελτιώνοντας τα θρεπτικά χαρακτηριστικά του ελαιόλαδου και βοηθώντας στην προστασία των βιοδραστικών συστατικών του που αλλοιώνονται με την πάροδο του χρόνου και όταν εκτίθεται σε

αντίξοες συνθήκες. Μερικά τέτοια ευαίσθητα συστατικά μπορούν να είναι οι φαινολικές ενώσεις, αντιοξειδωτικά, κατορενοειδή και ανθοκυάνες.

Μελέτες που έγιναν έδειξαν πως η αποθήκευση μικροενθλακωμένου ελαιόλαδου στο οποίο είχαν εφαρμοστεί πρωτεΐνες στα τοιχώματα των μικροθυλακίων στους 60 ° C για 7 ημέρες δεν επηρέασε την τιμή υπεροξειδίων του ελαιόλαδου η οποία ήταν σχεδόν σταθερή υποδηλώνοντας έτσι πως το ελαιόλαδο ήταν σχετικά σταθερό ως προς την σύστασή του (Basyigit et al., 2021).

4.6 Μικροενθλάκωση και πρόληψη νοθείας ελαιόλαδου

Έχουν εντοπιστεί αρκετές προσεγγίσεις στον εντοπισμό της νοθείας του ελαιόλαδου με τις κύριες προτάσεις να περιλαμβάνουν την προσθήκη ετικετών κατά της νοθείας που είναι προσαρτημένες ή ενσωματωμένες στα προϊόντα και μπορούν να αναγνωριστούν από συγκεκριμένα μέσα και διαδικασίες. Εκτός από το να είναι αόρατη μία ετικέτα θα πρέπει να είναι αδρανής, ανθεκτική και αβλαβής ενώ δεν θα πρέπει να επηρεάζει τις ιδιότητες του προϊόντος και θα πρέπει να ανιχνεύεται εύκολα.

Οι τεχνολογίες προσθήκης ετικετών περιλαμβάνουν την χρήση μαγνητικών ουσιών, φθορίζοντων ετικετών, φωτοχρωμικών και θερμοχρωμικών μελανιών, ισοτοπικών ιχνηθετών κι ενεργών συστατικών όπως τα πολυπεπτίδια και νουκλεϊκά οξέα. Όμως η πιο χρησιμοποιούμενη ουσία είναι το DNA. Τα νουκλεϊκά οξέα είναι η μέθοδος της Φύσης για την αποθήκευση και μετάδοση πληροφοριών. Η διαμόρφωση της διπλής έλικας και η σταθερότητά της επιτρέπει στο DNA να ολοκληρώσει την λειτουργία τις μετάδοσης πληροφοριών. Το αποτύπωμα DNA μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την απόδειξη της ταυτότητας και βιολογικής προέλευσης των τροφίμων. Αντί να χρησιμοποιηθούν φυσικές γονιδιωματικές αλληλουχίες το τεχνητό DNA μπορεί να εισαχθεί στο εμπόρευμα (Paddu et al., 2014).

Ωστόσο, απίστευτες δυνατότητες του DNA σαν δομή αποθήκευσης στη φύση προκύπτουν επίσης από την ικανότητα των οργανισμών να επιδιορθώνουν το DNA όταν εμφανίζονται βλάβες καθώς και να αποθηκεύει την γενετική πληροφορία. Η σταθερότητα του DNA αυτή καθεαυτή είναι περιορισμένη επειδή μπορεί να καταστραφεί λόγω μεταβολικών διεργασιών καθώς και από διάφορους περιβαλλοντικούς παράγοντες. Για να αποφευχθεί η αποικοδόμηση και καταστροφή του και να διατηρήσει την ακεραιότητά του πρέπει να προστατεύεται προληπτικά.

Η μικροενθυλάκωση αποτελεί μία μέθοδο που μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την προστασία του ελαιόλαδου από νοθεία. Η μικροενθυλάκωση μπορεί να προστατεύσει τα υλικά που εισάγονται στο ελαιόλαδο από αποικοδόμηση και μεταβολισμό τους με αποτέλεσμα να μπορούν να αναλυθούν για την ανίχνευση της νοθείας στο προϊόν (ελαιόλαδο στην περίπτωση μας).

Εναλλακτικές λύσεις, όπως η ενθυλάκωση του DNA σε πορώδη μήτρα πυριτίου (Karusuz & Durucan, 2013) ή εντός στρωματοποιημένου υδροξειδίου μετάλλου, (Choy et al., 2004) έχουν επίσης προταθεί. Σε προηγούμενες μελέτες (Paunescu et al., 2013) έχουν ενθυλακωθεί ssDNA και dsDNA διαφόρων μηκών σε πυρίτιο παράγουν ανθεκτικά μικροθυλάκια. Για την ανίχνευσή τους αυτά τα υλικά πυριτίου θα μπορούσαν να διαλυθούν με φθόριο που περιλαμβάνει ρυθμιστικά διαλύματα (δηλαδή, ρυθμισμένο οξείδιο χάραξης, BOE) για την ανάκτηση ανέπαφου DNA. Αυτή η προσέγγιση επιτρέπει την προστασία του DNA από χημική καταστροφή επειδή το υλικό κάλυψης των θυλακίων αποτελεί ένα φυσικό φράγμα που απομονώνει πλήρως το DNA από το εξωτερικό περιβάλλον, μια κατάσταση πολύ παρόμοια με αυτή που χρησιμοποιείται στα φυσικά απολιθώματα (Zelikin et al., 2007).

Τα ενθυλακωμένα σωματίδια DNA μπορεί να βοηθήσουν αποτροπή της νοθείας του DNA καθώς και στον εντοπισμό νοθευμένων προϊόντων όπως π.χ. το ελαιόλαδο (Puddu et al., 2014). Ερευνητές από το πανεπιστήμιο της Ζυρίχης χρησιμοποίησαν πυρίτιο για να ενθυλακώσει το DNA, το οποίο είναι χρησιμοποιείται ως μοναδικός κωδικός για να υποδείξει το τόπο καταγωγής και προσδιορίζουν συγκεκριμένα τα χαρακτηριστικά των ελαιόκαρπων από τους οποίους παράχθηκαν. Αυτή η ανθεκτική στη θερμότητα «ετικέτα» όπως η οι ερευνητές το ονόμασαν μπορεί να προστεθεί στο ελαιόλαδο σε εξαιρετικά μικρές ποσότητες και εξακολουθεί να εντοπίζεται έπειτα από μεγάλο χρονικό διάστημα. Κάτι τόσο μικροσκοπικό μπορεί να εξαχθεί από το ελαιόλαδο και να αναλυθεί σχετικά εύκολα χάρη στα νανοσωματίδια οξειδίου του σιδήρου που προστίθενται στο ενθυλακωμένο DNA, καθιστώντας το μαγνητικό (Sharma et al., 2012).

Οι ερευνητές δοκιμάζουν τις μαγνητικές ετικέτες και ανακάλυψαν ότι διασκορπίζονται καλά στο λάδι χωρίς να προκαλούν οπτικές αλλαγές και μπορούν να αφαιρεθούν χρησιμοποιώντας μαγνητικό. Ένα εκατομμυριοστό του γραμμαρίου ανά

λίτρο είναι το μόνο που χρειάζεται για να ελεγχθεί η γνησιότητα του ελαιόλαδου. Με αυτό τον τρόπο το ελαιόλαδο μπορεί να ελεγχθεί για νοθεία με μία φθηνή και ακριβής μέθοδο.

Συμπεράσματα

Το ελαιόλαδο αποτελεί ένα από τα αρχαιότερα καταναλισκόμενα τρόφιμα στην Ελλάδα και γενικότερα στον κόσμο. Η Ελλάδα αποτελεί μία από τις σημαντικότερες παραγωγικές χώρες του ελαιόλαδου καλύπτοντας ένα μεγάλο μέρος της παγκόσμιας ζήτησης, με το ελαιόλαδο να χαρακτηρίζεται από υψηλή ποιότητα καθώς το μεγαλύτερο μέρος του είναι έξτρα παρθένο ελαιόλαδο.

Το ελαιόλαδο αποτελεί ένα αρχαίο τρόφιμο που παράγεται στην Ελλάδα εδώ και αρκετές χιλιάδες χρόνια αποτελώντας από τότε βασικό συστατικό της διατροφής. Είναι συνδεδεμένο με την παράδοση των χωρών της Μεσογείου ενώ έχει συνδεθεί με αρκετά οφέλη για την υγεία λόγω των βιοδραστικών συστατικών που περιέχει.

Το ελαιόλαδο ανάλογα με την ποιότητά τους και τα χαρακτηριστικά του διακρίνεται σε ποιοτικές κατηγορίες εκ των οποίων η σημαντικότερη κατηγορία είναι το Έξτρα παρθένο ελαιόλαδο (EVOO). Το EVOO αποτελεί τον καλύτερο ποιοτικά τύπο ελαιόλαδου με το υψηλότερο κόστος παραγωγής λόγω της μη παρουσίας ελαττωμάτων και της παρουσίας βιοδραστικών ενώσεων με σημαντικά οφέλη για την υγεία.

Το EVOO χαρακτηρίζεται από μία μοναδική σύνθεση. Παρουσιάζει υψηλή περιεκτικότητα σε αντιοξειδωτικές ενώσεις όπως οι γλωροφύλλη, καροτενοειδή, ελευρωπαίνη, ολεοκανθάλη κ.α. ενώσεις οι οποίες παρουσιάζουν αντιοξειδωτική δράση και προστατεύουν τον οργανισμό από οξειδωτικές βλάβες. Αυτή η σύνθεση του EVOO σε συνδυασμό με τα μοναδικά οργανοληπτικά του χαρακτηριστικά το καθιστούν ένα μοναδικό είδος ελαιόλαδου και δικαιολογούν την σχετικά υψηλή του τιμή. Αυτό οφείλεται και στις ήπιες τεχνικές που χρησιμοποιούνται για την εξαγωγή του ελαιόλαδου από τους ελαιόκαρπους, με την παραγωγική διαδικασία να είναι προσανατολισμένη στην προστασία των παραπάνω ενώσεων από αποικοδόμηση λόγω κακής μεταχείρισης των ελαιόκαρπων και λόγω υψηλών θερμοκρασιών.

Λόγω του υψηλού κόστους του EVOO και γενικότερα του ελαιόλαδου σε αρκετές περιπτώσεις νοθεύεται με έλαια χαμηλότερης ποιότητας. Από αυτό το φαινόμενο δεν

ξεφεύγουν και οι υπόλοιποι τύποι ελαιόλαδου. Η νοθεία του ελαιόλαδου και των προϊόντων γενικότερα πραγματοποιείται για την αύξηση του περιθωρίου κέρδους λόγω μείωσης του κόστους χρήσης των πρώτων υλών. Στο ελαιόλαδο η νοθεία πραγματοποιείται είτε με άλλα φυτικά έλαια είτε με πρόσμιξη ελαιόλαδου υψηλότερης ποιοτικής κατηγορίας με ελαιόλαδα χαμηλότερης ποιοτικής κατηγορίας είτε με την προσθήκη τεχνητών ουσιών που μιμούνται τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά των ελαιόλαδων υψηλής ποιότητας.

Μία από τις τεχνικές που μπορεί να χρησιμοποιηθεί για προστασία αυτών των βιοδραστικών ενώσεων καθώς και για την προστασία από την νοθεία είναι η ενθυλάκωση. Κατά την ενθυλάκωση παράγονται θυλάκια δηλαδή σφαιρίδια στα οποία περικλείεται η δραστική ουσία και δεν έρχεται σε επαφή με παράγοντες που θα μεταβάλλουν τα χαρακτηριστικά της ενώ μπορεί να παραμείνει αναλλοίωτη για μεγάλο χρονικό διάστημα χωρίς την επίδραση εξωτερικών παραγόντων. Στην μικροενθυλάκωση τα θυλάκια είναι πολύ μικρού μεγέθους δίνοντας την δυνατότητα ενθυλάκωσης ενώσεων με μέγεθος θυλακίων ιδιαίτερα μικρό προσφέροντας επιπλέον προστασία στις ενώσεις και ταυτόχρονα επηρεάζοντας λιγότερο τη σύσταση του προϊόντος και τα οργανοληπτικά του χαρακτηριστικά.

Η τεχνική της ενθυλάκωσης και μικροενθυλάκωσης μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την παραγωγή ελαιόλαδου υψηλής βιολογικής αξίας και για την προστασία του από μεταβολές στα χαρακτηριστικά του. Με αυτό τον τρόπο το παραγόμενο ελαιόλαδο μπορεί να διατηρήσει για μεγαλύτερο χρονικό διάστημα τα χαρακτηριστικά του ενώ η σύστασή του μπορεί να διαμορφωθεί με τέτοιο τρόπο ώστε να αποτελέσει προϊόν υψηλής βιολογικής αξίας. Ταυτόχρονα η ενθυλάκωση και η μικροενθυλάκωση μπορούν να χρησιμοποιηθούν για την προστασία του ελαιόλαδου από νοθεία και διατήρηση της αυθεντικότητάς τους.

Η σύσταση του ελαιόλαδου διαφέρει τόσο ανάλογα με την περιοχή όσο και ανάλογα με την μονάδα παραγωγής του. Παράλληλα ανάλογα με την ποιοτική του κατηγορία το ελαιόλαδο διαφέρει ως προς την σύνθεσή του. Για παράδειγμα το ΕVOO παρουσιάζει μία πολύ υψηλή περιεκτικότητα σε βιοδραστικές ενώσεις όπως φαινολικές ενώσεις γεγονός στο οποίο οφείλονται τα θετικά οφέλη του για την υγεία καθώς και η υψηλότερη τιμή του στο εμπόριο. Σε αυτό συμβάλλει και η παραγωγική του διαδικασία που είναι σχετικά ήπια.

Η ενθυλάκωση μπορεί να εφαρμοστεί στο ελαιόλαδο για την προστασία από νοθεία καθώς και σαν ένδειξη αυθεντικότητάς του. Αυτό μπορεί να πραγματοποιηθεί με αρκετούς τρόπους.

Αρχικά μπορούν να ενθυλακωθούν οι βιοδραστικές ενώσεις του έξτρα παρθένου ελαιόλαδου. Ένα τέτοιο παράδειγμα είναι η ενθυλάκωση της υδροξυτυροσόλης του ελαιόλαδου καθώς και της ελευρωπείνης, στις οποίες το ελαιόλαδο οφείλει τις αντιοξειδωτικές του ιδιότητες. Οι ενώσεις αυτές μπορούν να οξειδωθούν κατά την διάρκεια της παραμονής στο δοχείο αποθήκευσης. Ταυτόχρονα μπορούν να αποικοδομηθούν φυσικά έπειτα από την παρουσία ενζύμων αποικοδόμησης κι επαφής με φώς και αέρα. Οι ενώσεις αυτές είναι παρόντες σε υψηλές συγκεντρώσεις στο EVOO κι έτσι με την ενθυλάκωσή τους μπορούν να διατηρηθούν ώστε να ποσοτικοποιηθούν μέσω εργαστηριακών αναλύσεων για τον προσδιορισμό της αυθεντικότητας του ελαιόλαδου. Έτσι ανάλογα με την περιεκτικότητά τους στο ελαιόλαδο μπορεί να ποσοτικοποιηθεί το κατά πόσον το ελαιόλαδο είναι όντως της ποιοτικής κατηγορίας που αναφέρεται από τους παραγωγούς.

Μία ακόμα εφαρμογή της μικροενθυλάκωσης για την ανίχνευση νοθείας είναι μέσω της ενθυλάκωσης πληροφορίας υπό την μορφή γενετικού υλικού (RNA ή DNA). Το DNA και RNA είναι μόρια μεταφοράς πληροφοριών στην φύση όπου έχουν την ικανότητα μεταφοράς πολύ μεγάλου αριθμού γενετικών πληροφοριών σε πολύ μικρό μέγεθος. Στο ελαιόλαδο κατά την παραγωγική του διαδικασία μπορεί να προστεθεί μία πολύ μικρή ποσότητα γενετικού υλικού με την απαιτούμενη πληροφορία ενθυλακωμένο ώστε να μην αποικοδομηθεί κατά την συσκευασία κι έκθεση του ελαιόλαδου σε μεταβαλλόμενες περιβαλλοντικές συνθήκες. Στη συνέχεια το γενετικό υλικό μπορεί να επεξεργαστεί κατάλληλα μέσω διαφόρων μεθόδων ώστε να ποσοτικοποιηθεί και να εκφραστεί η πληροφορία που μεταβιβάζει για να γνωστοποιηθεί η προέλευση και η παρουσία τυχών νοθείας του ελαιόλαδου.

Έτσι λοιπόν η μικροενθυλάκωση μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την διατήρηση των ουσιών εκείνων και συστατικών που εντοπίζονται σε ορισμένες περιοχές ώστε να εξασφαλιστεί η αυθεντικότητα του ελαιόλαδου με γρήγορο τρόπο και χωρίς ανάγκη για πραγματοποίηση ακριβών και χρονοβόρων μετρήσεων προσφέροντας παράλληλα κι άλλα πλεονεκτήματα όπως τα οφέλη για την υγεία και η αύξηση της διάρκειας ζωής του ελαιόλαδου.

Βιβλιογραφία

- Alcaide, E. M., & Nefzaoui, A. (1996). Recycling of olive oil by-products: possibilities of utilization in animal nutrition. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 38(3-4), 227-235.
- Alfarsi, A., O'Mahoney, N., Arndt, M., Kuntz, T., McSweeney, S., Krüse, J., ... & Fitzpatrick, D. (2019). A rapid in-process control (IPC) test to monitor the functionality of taste masking polymer coatings using Broadband Acoustic Resonance Dissolution Spectroscopy (BARDS). *International journal of pharmaceutics*, 568, 118559.
- Almoustafa, H. A., Alshawsh, M. A., & Chik, Z. (2017). Technical aspects of preparing PEG-PLGA nanoparticles as carrier for chemotherapeutic agents by nanoprecipitation method. *International journal of pharmaceutics*, 533(1), 275-284.
- Arslan-Tontul, S., & Erbas, M. (2017). Single and double layered microencapsulation of probiotics by spray drying and spray chilling. *Lwt-food science and technology*, 81, 160-169.
- Augustin, M. A., & Hemar, Y. (2009). Nano-and micro-structured assemblies for encapsulation of food ingredients. *Chemical society reviews*, 38(4), 902-912.
- Ayza, A., & Yilma, Z. (2014). Patterns of milk and milk products adulteration in Boditti town and its surrounding, South Ethiopia. *J Agric Sci*, 4(10), 512-6.
- Ayton, J., Mailer, R. J., & Graham, K. (2012). *The effect of storage conditions on extra virgin olive oil quality*. RIRDC.
- Aziz, S., Gill, J., Dutilleul, P., Neufeld, R., & Kermasha, S. (2014). Microencapsulation of krill oil using complex coacervation. *Journal of microencapsulation*, 31(8), 774-784.
- Aziz, F. R. A., Jai, J., Raslan, R., & Subuki, I. (2016). Microencapsulation of citronella oil by complex coacervation using chitosan-gelatin (b) system: operating design, preparation and characterization. In *MATEC Web of Conferences* (Vol. 69, p. 04002). EDP Sciences.
- Başıyigit, B., Yüceetepe, M., Karaaslan, A., & Karaaslan, M. (2021). High efficiency microencapsulation of extra virgin olive oil (EVOO) with novel carrier agents: Fruit proteins. *Materials Today Communications*, 28, 102618.
- Beltrán, G., Aguilera, M. P., Del Rio, C., Sanchez, S., & Martinez, L. (2005). Influence of fruit ripening process on the natural antioxidant content of Hojiblanca virgin olive oils. *Food Chemistry*, 89(2), 207-215.
- Bendini, A., Cerretani, L., Carrasco-Pancorbo, A., Gómez-Caravaca, A. M., 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 Alessandra. *Molecules*, 12(8), 1679-1719.

Boskou, D., Blekas, G., & Tsimidou, M. (1996). History and characteristics of the olive tree. *Olive Oil Chemistry and Technology*.

Botrel, D. A., de Barros Fernandes, R. V., Borges, S. V., & Yoshida, M. I. (2014). Influence of wall matrix systems on the properties of spray-dried microparticles containing fish oil. *Food Research International*, 62, 344-352.

Calvo, P., Remunan-Lopez, C., Vila-Jato, J. L., & Alonso, M. J. (1997). Novel hydrophilic chitosan-polyethylene oxide nanoparticles as protein carriers. *Journal of applied polymer science*, 63(1), 125-132.

Calvo, P., Castaño, Á. L., Lozano, M., & González-Gómez, D. (2012). Influence of the microencapsulation on the quality parameters and shelf-life of extra-virgin olive oil encapsulated in the presence of BHT and different capsule wall components. *Food Research International*, 45(1), 256-261.

Carlsson, D. J., Suprunchuk, T., & Wiles, D. M. (1976). Photooxidation of unsaturated oils: effects of singlet oxygen quenchers. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 53(10), 656-660.

Carvalho, A. G. S., Silva, V. M., & Hubinger, M. D. (2014). Microencapsulation by spray drying of emulsified green coffee oil with two-layered membranes. *Food Research International*, 61, 236-245.

Cayuela, J. A., Gómez-Coca, R. B., Moreda, W., & Pérez-Camino, M. D. C. (2015). Sensory defects of virgin olive oil from a microbiological perspective. *Trends in Food Science & Technology*, 43(2), 227-235.

Cicerale, S., Conlan, X. A., Sinclair, A. J., & Keast, R. S. (2008). Chemistry and health of olive oil phenolics. *Critical reviews in food science and nutrition*, 49(3), 218-236.

Choe, E., & Min, D. B. (2009). Mechanisms of antioxidants in the oxidation of foods. *Comprehensive reviews in food science and food safety*, 8(4), 345-358.

Choudhary, A., Gupta, N., Hameed, F., & Choton, S. (2020). An overview of food adulteration: Concept, sources, impact, challenges and detection. *International Journal of Chemical Studies*, 8(1), 2564-2573.

Choy, J. H., Oh, J. M., Park, M., Sohn, K. M., & Kim, J. W. (2004). Inorganic–biomolecular hybrid nanomaterials as a genetic molecular code system. *Advanced Materials*, 16(14), 1181-1184.

- Christopher, J. P., Pistorius, E. K., Regnier, F. E., & Axelrod, B. (1972). Factors influencing the positional specificity of soybean lipoxygenase. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Enzymology*, 289(1), 82-87.
- Conte, L., Bendini, A., Valli, E., Lucci, P., Moret, S., Maquet, A., ... & Toschi, T. G. (2020). Olive oil quality and authenticity: A review of current EU legislation, standards, relevant methods of analyses, their drawbacks and recommendations for the future. *Trends in Food Science & Technology*, 105, 483-493.
- de Barros Fernandes, R. V., Marques, G. R., Borges, S. V., & Botrel, D. A. (2014). Effect of solids content and oil load on the microencapsulation process of rosemary essential oil. *Industrial Crops and Products*, 58, 173-181.
- de Farias, S. S., Siqueira, S. M. C., Cunha, A. P., de Souza, C. A. G., dos Santos Fontenelle, R. O., de Araújo, T. G., ... & Ricardo, N. M. P. S. (2018). Microencapsulation of riboflavin with galactomannan biopolymer and F127: Physico-chemical characterization, antifungal activity and controlled release. *Industrial Crops and Products*, 118, 271-281.
- de Graaff, J., & Eppink, L. A. A. J. (1999). Olive oil production and soil conservation in southern Spain, in relation to EU subsidy policies. *Land use policy*, 16(4), 259-267.
- de Oliveira, E. F., Paula, H. C., & de Paula, R. C. (2014). Alginate/cashew gum nanoparticles for essential oil encapsulation. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 113, 146-151.
- Del Carlo, M., Cerretani, L., Bendini, A., Cichelli, A., & Compagnone, D. (2010). Changes of pigment composition of virgin olive during frying process.
- Desai, K. G. H., & Park, H. J. (2005). Encapsulation of vitamin C in tripolyphosphate cross-linked chitosan microspheres by spray drying. *Journal of microencapsulation*, 22(2), 179-192.
- Dhakal, S. P., & He, J. (2020). Microencapsulation of vitamins in food applications to prevent losses in processing and storage: A review. *Food Research International*, 137, 109326.
- Dong, Z. J., Toure, A., Jia, C. S., Zhang, X. M., & Xu, S. Y. (2007). Effect of processing parameters on the formation of spherical multinuclear microcapsules encapsulating peppermint oil by coacervation. *Journal of Microencapsulation*, 24(7), 634-646.
- Dong, Z., Ma, Y., Hayat, K., Jia, C., Xia, S., & Zhang, X. (2011). Morphology and release profile of microcapsules encapsulating peppermint oil by complex coacervation. *Journal of Food Engineering*, 104(3), 455-460.

- Duraipandian, S., Petersen, J. C., & Lassen, M. (2019). Authenticity and concentration analysis of extra virgin olive oil using spontaneous Raman spectroscopy and multivariate data analysis. *Applied Sciences*, 9(12), 2433.
- Endo, Y., Usuki, R., & Kaneda, T. (1984). Prooxidant activities of chlorophylls and their decomposition products on the photooxidation of methyl linoleate. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 61(4), 781-784.
- Esfandyari-Manesh, M., Ghaedi, Z., Asemi, M., Khanavi, M., Manayi, A., Jamalifar, H., ... & Dinarvand, R. (2013). Study of antimicrobial activity of anethole and carvone loaded PLGA nanoparticles. *Journal of pharmacy research*, 7(4), 290-295.
- Fadini, A. L., Alvim, I. D., Ribeiro, I. P., Ruzene, L. G., da Silva, L. B., Queiroz, M. B., ... & Rodrigues, R. A. F. (2018). Innovative strategy based on combined microencapsulation technologies for food application and the influence of wall material composition. *LWT*, 91, 345-352.
- Fakhri, N. A., & Qadir, H. K. (2011). Separation, identification and determination of triglycerides in vegetable oil samples. *Journal of Food Science and Engineering*, 1(3), 183.
- Frankel, E. N., Mailer, R. J., Wang, S. C., Shoemaker, C. F., Guinard, J. X., Flynn, J. D., & Sturzenberger, N. D. (2011). Evaluation of extra-virgin olive oil sold in California. *Final Report, University of California, Davis, Olive Center at the Robert Mondavi Institute, Davis, CA*.
- Fang, Z., & Bhandari, B. (2012). Encapsulation techniques for food ingredient systems. *Food materials science and engineering*, 320-348.
- Feussner, I., Kühn, H., & Wasternack, C. (2001). Lipoxygenase-dependent degradation of storage lipids. *Trends in plant science*, 6(6), 268-273.
- Franco, M. N., Galeano-Díaz, T., López, Ó., Fernández-Bolaños, J. G., Sánchez, J., De Miguel, C., ... & Martín-Vertedor, D. (2014). Phenolic compounds and antioxidant capacity of virgin olive oil. *Food chemistry*, 163, 289-298.
- Freiberger, E. B., Kaufmann, K. C., Bona, E., de Araújo, P. H. H., Sayer, C., Leimann, F. V., & Goncalves, O. H. (2015). Encapsulation of roasted coffee oil in biocompatible nanoparticles. *LWT-Food Science and Technology*, 64(1), 381-389.
- Gallina-Toschi, T., Cerretani, L., Bendini, A., Bonoli-Carbognin, M., & Lercker, G. (2005). Oxidative stability and phenolic content of virgin olive oil: an analytical approach by traditional and high resolution techniques. *Journal of Separation Science*, 28(9-10), 859-870.
- Gelpí, E., de la Paz, M. P., Terracini, B., Abaitua, I., de la Cámara, A. G., Kilbourne, E. M., ... & WHO/CISAT Scientific Committee for the Toxic Oil Syndrome. Centro de Investigación para el Síndrome del Aceite Tóxico. (2002). The Spanish toxic oil

syndrome 20 years after its onset: a multidisciplinary review of scientific knowledge. *Environmental health perspectives*, 110(5), 457-464.

Gandul-Rojas, B., Roca, M., & Gallardo-Guerrero, L. (2016). Chlorophylls and carotenoids in food products from olive tree. *Products from olive tree*, 67-98.

Gharsallaoui, A., Roudaut, G., Chambin, O., Voilley, A., & Saurel, R. (2007). Applications of spray-drying in microencapsulation of food ingredients: An overview. *Food research international*, 40(9), 1107-1121.

Ghosh, S. K. (2006). Functional coatings and microencapsulation: a general perspective. *Functional coatings*, 1-28.

Giuliani, A., Cerretani, L., & Cichelli, A. (2011). Chlorophylls in olive and in olive oil: chemistry and occurrences. *Critical reviews in food science and nutrition*, 51(7), 678-690.

Gomes, C., Moreira, R. G., & Castell-Perez, E. (2011). Poly (DL-lactide-co-glycolide)(PLGA) nanoparticles with entrapped trans-cinnamaldehyde and eugenol for antimicrobial delivery applications. *Journal of Food Science*, 76(2), N16-N24.

Gómez-Coca, R. B., Fernandes, G. D., del Carmen Pérez-Camino, M., & Moreda, W. (2016). Fatty acid ethyl esters (FAEE) in extra virgin olive oil: A case study of a quality parameter. *LWT-Food Science and Technology*, 66, 378-383.

Gouin, S. (2004). Microencapsulation: industrial appraisal of existing technologies and trends. *Trends in food science & technology*, 15(7-8), 330-347.

Goyal, A., Sharma, V., Sihag, M. K., Tomar, S. K., Arora, S., Sabikhi, L., & Singh, A. K. (2015). Development and physico-chemical characterization of microencapsulated flaxseed oil powder: A functional ingredient for omega-3 fortification. *Powder Technology*, 286, 527-537.

Granitto Y. Spain's civil guard seizes 120 tons of fake olive oil. *Olive Oil Times* [online]. 2016

Gunder, W., Lippold, B. H., & Lippold, B. C. (1995). Release of drugs from ethyl cellulose microcapsules (diffusion pellets) with pore formers and pore fusion. *European journal of pharmaceutical sciences*, 3(4), 203-214.

Harwood, J. (2000). *Handbook of olive oil: Analysis and properties* (p. 620). R. Aparicio (Ed.). Gaithersburg, MD: Aspen.

Heinzelmann, K., Franke, K., Jensen, B., & Haahr, A. M. (2000). Protection of fish oil from oxidation by microencapsulation using freeze-drying techniques. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 102(2), 114-121.

- Hogan, S. A., McNamee, B. F., O'riordan, E. D., & O'sullivan, M. (2001). Microencapsulating properties of whey protein concentrate 75. *Journal of food science*, 66(5), 675-680.
- Hooper J. Italy embarrassed by counterfeit olive oil scandal. The Guardian [online]. 2008
- Hoyos-Leyva, J. D., Bello-Perez, L. A., Agama-Acevedo, J. E., Alvarez-Ramirez, J., & Jaramillo-Echeverry, L. M. (2019). Characterization of spray drying microencapsulation of almond oil into taro starch spherical aggregates. *Lwt*, 101, 526-533.
- Huang, Q., Yu, H., & Ru, Q. (2010). Bioavailability and delivery of nutraceuticals using nanotechnology. *Journal of food science*, 75(1), R50-R57.
- Huynh, T. V., Caffin, N., Dykes, G. A., & Bhandari, B. (2008). Optimization of the microencapsulation of lemon myrtle oil using response surface methodology. *Drying Technology*, 26(3), 357-368.
- I Ré, M. (1998). Microencapsulation by spray drying. *Drying technology*, 16(6), 1195-1236.
- Iannitelli, A., Grande, R., Stefano, A. D., Giulio, M. D., Sozio, P., Bessa, L. J., ... & Cellini, L. (2011). Potential antibacterial activity of carvacrol-loaded poly (DL-lactide-co-glycolide)(PLGA) nanoparticles against microbial biofilm. *International Journal of Molecular Sciences*, 12(8), 5039-5051.
- Ingold, K. U. (1969). Peroxy radicals. *Accounts of Chemical Research*, 2(1), 1-9.
- Interesse, F. S., Ruggiero, P., & Vitagliano, M. (1971). Autoxidation of olive oil: influence of chlorophyll pigments. *Ind Agr*, 9, 318-323.
- Jafari, S. M., Assadpoor, E., He, Y., & Bhandari, B. (2008). Encapsulation efficiency of food flavours and oils during spray drying. *Drying technology*, 26(7), 816-835.
- Jamil, B., Abbasi, R., Abbasi, S., Imran, M., Khan, S. U., Ihsan, A., ... & Bokhari, H. (2016). Encapsulation of cardamom essential oil in chitosan nano-composites: In-vitro efficacy on antibiotic-resistant bacterial pathogens and cytotoxicity studies. *Frontiers in microbiology*, 7, 1580.
- Jimenez-Lopez, C., Carpena, M., Lourenço-Lopes, C., Gallardo-Gomez, M., Lorenzo, J. M., Barba, F. J., ... & Simal-Gandara, J. (2020). Bioactive compounds and quality of extra virgin olive oil. *Foods*, 9(8), 1014.
- Kagami, Y., Sugimura, S., Fujishima, N., Matsuda, K., Kometani, T., & Matsumura, Y. (2003). Oxidative stability, structure, and physical characteristics of microcapsules formed by spray drying of fish oil with protein and dextrin wall materials. *Journal of food science*, 68(7), 2248-2255.

- Kailasapathy, K. (2002). Microencapsulation of probiotic bacteria: technology and potential applications. *Current issues in intestinal microbiology*, 3(2), 39-48.
- Kapellakis, I. E., Tsagarakis, K. P., & Crowther, J. C. (2008). Olive oil history, production and by-product management. *Reviews in Environmental Science and Bio/Technology*, 7(1), 1-26.
- Kapusuz, D., & Durucan, C. (2013). Synthesis of DNA-encapsulated silica elaborated by sol-gel routes. *Journal of Materials Research*, 28(2), 175-184.
- Kelebek, H., Kesen, S., & Selli, S. (2015). Comparative study of bioactive constituents in Turkish olive oils by LC-ESI/MS/MS. *International Journal of Food Properties*, 18(10), 2231-2245.
- Khoobdel, M., Ahsaei, S. M., & Farzaneh, M. (2017). Insecticidal activity of polycaprolactone nanocapsules loaded with *Rosmarinus officinalis* essential oil in *Tribolium castaneum* (Herbst). *Entomological research*, 47(3), 175-184.
- Kim, H. J., Yang, B., Park, T. Y., Lim, S., & Cha, H. J. (2017). Complex coacervates based on recombinant mussel adhesive proteins: their characterization and applications. *Soft matter*, 13(42), 7704-7716.
- Knothe, G., Kenar, J. A., & Gunstone, F. D. (2007). Chemical properties. In *The Lipid Handbook with CD-ROM* (pp. 549-604). CRC Press.
- Koç, M., Güngör, Ö., Zungur, A., Yalçın, B., Selek, İ., Ertekin, F. K., & Ötles, S. (2015). Microencapsulation of extra virgin olive oil by spray drying: effect of wall materials composition, process conditions, and emulsification method. *Food and Bioprocess Technology*, 8(2), 301-318.
- Kralovec, J. A., Zhang, S., Zhang, W., & Barrow, C. J. (2012). A review of the progress in enzymatic concentration and microencapsulation of omega-3 rich oil from fish and microbial sources. *Food Chemistry*, 131(2), 639-644.
- Lazzerini, C., Cifelli, M., & Domenici, V. (2016). Pigments in extra-virgin olive oil: Authenticity and quality. *Products from Olive Tree; Boskou, D., Clodoveo, M., Eds*, 99-114.
- Lazzerini, C., & Domenici, V. (2017). Pigments in extra-virgin olive oils produced in Tuscany (Italy) in different years. *Foods*, 6(4), 25.
- Lee, Y. C., & Kim, D. H. (1992). Effects of β -carotene on the stability of soybean oil subject to autoxidation and photosensitized oxidation. *Food Science and Biotechnology*, 1(1), 1-7.
- Lemetter, C. Y. G., Meeuse, F. M., & Zuidam, N. J. (2009). Control of the morphology and the size of complex coacervate microcapsules during scale-up. *AIChE Journal*, 55(6), 1487-1496.

- Li, M., Rouaud, O., & Poncelet, D. (2008). Microencapsulation by solvent evaporation: State of the art for process engineering approaches. *International Journal of pharmaceutics*, 363(1-2), 26-39.
- Li, M., Du, C., Guo, N., Teng, Y., Meng, X., Sun, H., ... & Galons, H. (2019). Composition design and medical application of liposomes. *European journal of medicinal chemistry*, 164, 640-653.
- Liphschitz, N., Gophna, R., Hartman, M., & Biger, G. (1991). The beginning of olive (*Olea europaea*) cultivation in the Old World: a reassessment. *Journal of Archaeological Science*, 18(4), 441-453.
- Mailer, R. J. (2010). *Harvest timing, sensory analysis and shelf life for optimal olive oil quality*. Rural Industries Research and Development Corporation.
- Mariani, C. S., Venturini, P., & Fedeli, E. (1993). Determination of hydrocarbons and free and esterified minor components in olive oil of different classes. *Riv Ital Sost Grasse*, 70, 321-327.
- Mattea, F., Martín, Á., & Cocero, M. J. (2009). Carotenoid processing with supercritical fluids. *Journal of Food Engineering*, 93(3), 255-265.
- McClements, D. J., Decker, E. A., & Weiss, J. (2007). Emulsion-based delivery systems for lipophilic bioactive components. *Journal of food science*, 72(8), R109-R124.
- Mehmet, K. O. Ç., YILMAZER, M. S., & Kaymak-Ertekin, F. (2010). Use of Gelatin, Pullulan, Lactose and Sucrose as Coating Material for Microencapsulation of Fish Oil by Freeze Drying. *Akademik Gıda*, 8(4), 13-16.
- Minemoto, Y., Hakamata, K., Adachi, S., & Matsuno, R. (2002). Oxidation of linoleic acid encapsulated with gum arabic or maltodextrin by spray-drying. *Journal of Microencapsulation*, 19(2), 181-189.
- Mirafzali, Z., Thompson, C. S., & Tallua, K. (2014). Application of liposomes in the food industry. In *Microencapsulation in the food industry* (pp. 139-150). Academic Press.
- Montealegre, C., Marina Alegre, M. L., & García-Ruiz, C. (2010). Traceability markers to the botanical origin in olive oils. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58(1), 28-38.
- Mozafari, M. R., Flanagan, J., Matia-Merino, L., Awati, A., Omri, A., Suntres, Z. E., & Singh, H. (2006). Recent trends in the lipid-based nanoencapsulation of antioxidants and their role in foods. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 86(13), 2038-2045.

Na, H. S., Kim, J. N., Kim, J. M., & Lee, K. Y. (2011). Encapsulation of fish oil using cyclodextrin and whey protein concentrate. *Biotechnology and Bioprocess Engineering*, 16(6), 1077-1082.

Nazzaro, F., Orlando, P., Fratianni, F., & Coppola, R. (2012). Microencapsulation in food science and biotechnology. *Current opinion in biotechnology*, 23(2), 182-186.

Nedović, V., Kalušević, A., Manojlović, V., Petrović, T., & Bugarski, B. (2013). Encapsulation systems in the food industry. In *Advances in food process engineering research and applications* (pp. 229-253). Springer, Boston, MA.

Olio d'oliva – Attività del controllo ufficiale 2016. In: Salute Md, ed. Rome, Italy: Italian Ministry of Health; 2016.

Ottaway, P. B. (2010). Stability of vitamins during food processing and storage. In *Chemical deterioration and physical instability of food and beverages* (pp. 539-560). Woodhead Publishing.

Paddu, M., Paunescu, D., Stark, W. J., & Grass, R. N. (2014). Magnetically recoverable, thermostable, hydrophobic DNA/silica encapsulates and their application as invisible oil tags. *ACS nano*, 8(3), 2677-2685.

Panagiotopoulou, P. M., & Tsimidou, M. (2002). Solid phase extraction: Applications to the chromatographic analysis of vegetable oils and fats. *Grasas y Aceites*, 53(1), 84-95.

Papagianni, M., & Anastasiadou, S. (2009). Encapsulation of *Pediococcus acidilactici* cells in corn and olive oil microcapsules emulsified by peptides and stabilized with xanthan in oil-in-water emulsions: Studies on cell viability under gastro-intestinal simulating conditions. *Enzyme and Microbial Technology*, 45(6-7), 514-522.

Paunescu, D., Puddu, M., Soellner, J. O., Stoessel, P. R., & Grass, R. N. (2013). Reversible DNA encapsulation in silica to produce ROS-resistant and heat-resistant synthetic DNA 'fossils'. *Nature protocols*, 8(12), 2440-2448.

Pérez-Camino, M. D. C., Cert, A., Romero-Segura, A., Cert-Trujillo, R., & Moreda, W. (2008). Alkyl esters of fatty acids a useful tool to detect soft deodorized olive oils. *Journal of agricultural and food chemistry*, 56(15), 6740-6744.

Rahmanian, N., Jafari, S. M., & Wani, T. A. (2015). Bioactive profile, dehydration, extraction and application of the bioactive components of olive leaves. *Trends in Food Science & Technology*, 42(2), 150-172.

Rawls, H. R., & Van Santen, P. J. (1970). A possible role for singlet oxygen in the initiation of fatty acid autoxidation. *Journal of the American Oil Chemists Society*, 47(4), 121-125.

- Rodríguez, J., Martín, M. J., Ruiz, M. A., & Clares, B. (2016). Current encapsulation strategies for bioactive oils: From alimentary to pharmaceutical perspectives. *Food Research International*, *83*, 41-59.
- Rontani, J. F., Jameson, I., Christodoulou, S., & Volkman, J. K. (2007). Free radical oxidation (autoxidation) of alkenones and other lipids in cells of *Emiliana huxleyi*. *Phytochemistry*, *68*(6), 913-924.
- Rudzińska, M., Przybylski, R., & Wąsowicz, E. (2009). Products formed during thermo-oxidative degradation of phytosterols. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, *86*(7), 651-662.
- Ryan, D., Robards, K., & Lavee, S. (1999). Changes in phenolic content of olive during maturation. *International journal of food science & technology*, *34*(3), 265-274.
- Sahin-Nadeem, H., & Afşin Özen, M. (2014). Physical properties and fatty acid composition of pomegranate seed oil microcapsules prepared by using starch derivatives/whey protein blends. *European journal of lipid science and technology*, *116*(7), 847-856.
- Santana, A. A., Oliveira, R. A. D., Pinedo, A. A., Kurozawa, L. E., & Park, K. J. (2013). Microencapsulation of babassu coconut milk. *Food Science and Technology*, *33*(4), 737-744.
- Sayago, A., Marín, M. I., Aparicio, R., & Morales, M. T. (2007). Vitamin E and vegetable oils. *Grasas y Aceites*, *58*(1), 74-86.
- Sharma, A. N., Luo, D., & Walter, M. T. (2012). Hydrological tracers using nanobiotechnology: proof of concept. *Environmental science & technology*, *46*(16), 8928-8936.
- Schrooyen, P. M., van der Meer, R., & De Kruif, C. G. (2001). Microencapsulation: its application in nutrition. *Proceedings of the Nutrition Society*, *60*(4), 475-479.
- Schwingshackl, L., & Hoffmann, G. (2014). Monounsaturated fatty acids, olive oil and health status: a systematic review and meta-analysis of cohort studies. *Lipids in health and disease*, *13*(1), 1-15.
- Semyonov, D., Ramon, O., & Shimoni, E. (2011). Using ultrasonic vacuum spray dryer to produce highly viable dry probiotics. *LWT-Food Science and Technology*, *44*(9), 1844-1852.
- Shekunov, B. Y., Chattopadhyay, P., Seitzinger, J., & Huff, R. (2006). Nanoparticles of poorly water-soluble drugs prepared by supercritical fluid extraction of emulsions. *Pharmaceutical research*, *23*(1), 196-204.

Sicpa. Injury or Death from Fake Drugs, Expired Drugs, Adulterated Drugs, Mislabeled Drugs and Unauthorized Medicinal Products - NGP Pharmaceuticals; GDS Publishing, 2012.

Siepmann, J., & Siepmann, F. (2012). Modeling of diffusion controlled drug delivery. *Journal of controlled release*, 161(2), 351-362.

Singh, M. N., Hemant, K. S. Y., Ram, M., & Shivakumar, H. G. (2010). Microencapsulation: A promising technique for controlled drug delivery. *Research in pharmaceutical sciences*, 5(2), 65.

Sobel, R. (Ed.). (2014). *Microencapsulation in the Food Industry: A Practical Implementation Guide*. Elsevier.

Sobel, R., Versic, R., & Gaonkar, A. G. (2014). Introduction to microencapsulation and controlled delivery in foods. In *Microencapsulation in the food industry* (pp. 3-12). Academic Press.

Taghvaei, M., Jafari, S. M., Mahoonak, A. S., Nikoo, A. M., Rahmanian, N., Hajitabar, J., & Meshginfar, N. (2014). The effect of natural antioxidants extracted from plant and animal resources on the oxidative stability of soybean oil. *LWT-Food Science and Technology*, 56(1), 124-130.

Tirado, D. F., Latini, A., & Calvo, L. (2021). The encapsulation of hydroxytyrosol-rich olive oil in Eudraguard® protect via supercritical fluid extraction of emulsions. *Journal of Food Engineering*, 290, 110215.

Tonon, R. V., Grosso, C. R., & Hubinger, M. D. (2011). Influence of emulsion composition and inlet air temperature on the microencapsulation of flaxseed oil by spray drying. *Food Research International*, 44(1), 282-289.

Tontul, I., & Topuz, A. (2013). Mixture design approach in wall material selection and evaluation of ultrasonic emulsification in flaxseed oil microencapsulation. *Drying Technology*, 31(12), 1362-1373.

Turchiuli, C., Fuchs, M., Bohin, M., Cuvelier, M. E., Ordonnaud, C., Peyrat-Maillard, M. N., & Dumoulin, E. (2005). Oil encapsulation by spray drying and fluidised bed agglomeration. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 6(1), 29-35.

Vanderhoff, J. W., El-Aasser, M. S., & Ugelstad, J. (1979). *U.S. Patent No. 4,177,177*. Washington, DC: U.S. Patent and Trademark Office.

Velasco, J., & Dobarganes, C. (2002). Oxidative stability of virgin olive oil. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 104(9-10), 661-676.

Wang, X., Jiang, Y., & Huang, Q. (2007). Encapsulation technologies for preserving and controlling the release of enzymes and phytochemicals. *Encapsulation and Controlled Release Technologies in Food Systems*, 135-147.

Wang, B., Adhikari, B., & Barrow, C. J. (2014). Optimisation of the microencapsulation of tuna oil in gelatin–sodium hexametaphosphate using complex coacervation. *Food chemistry*, *158*, 358-365.

Warner, K., & Frankel, E. N. (1987). Effects of β -carotene on light stability of soybean oil. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, *64*(2), 213-218.

Weinbreck, F., Minor, M., & De Kruif, C. G. (2004). Microencapsulation of oils using whey protein/gum arabic coacervates. *Journal of microencapsulation*, *21*(6), 667-679.

White, S., Bennett, D. B., Cheu, S., Conley, P. W., Guzek, D. B., Gray, S., ... & Harper, N. J. (2005). EXUBERA®: pharmaceutical development of a novel product for pulmonary delivery of insulin. *Diabetes technology & therapeutics*, *7*(6), 896-906.

Yang, J., Han, S., Zheng, H., Dong, H., & Liu, J. (2015). Preparation and application of micro/nanoparticles based on natural polysaccharides. *Carbohydrate polymers*, *123*, 53-66.

Zelikin, A. N., Becker, A. L., Johnston, A. P., Wark, K. L., Turatti, F., & Caruso, F. (2007). A general approach for DNA encapsulation in degradable polymer microcapsules. *ACS nano*, *1*(1), 63-69.

Zambiazzi, R. C. (1997). The role of endogenous lipid components on vegetable oil stability.

Zuidam, N. J., & Shimoni, E. (2010). Overview of microencapsulates for use in food products or processes and methods to make them. In *Encapsulation technologies for active food ingredients and food processing* (pp. 3-29). Springer, New York, NY.

(PDF) *An overview of food adulteration: Concept, sources, impact, challenges and detection.* Available from:

https://www.researchgate.net/publication/339598102_An_overview_of_food_adulteration_Concept_sources_impact_challenges_and_detection [accessed Dec 12 2021].