ΕΘΝΙΚΟ ΚΑΙ ΚΑΠΟΔΙΣΤΡΙΑΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ
ΤΜΗΜΑ ΧΗΜΕΙΑΣ

ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

Φαινολικό αποτύπωμα Ελαιολάδων με βάση το γεωγραφικό υψόμετρο με χρήση LC-QTOF-MS

ΜΑΡΤΑΚΟΣ ΙΩΑΝΝΗΣ

ΛΑΖΑΡΟΥ ΚΩΝΣΤΑΝΤΙΝΑ

ΑΘΗΝΑ

ΙΟΥΝΙΟΣ 2017

Πρόλογος

Η πτυχιακή μελέτη με τίτλος «Φαινολικό Αποτύπωμα στο Ελαιόλαδο με βάση το Γεωγραφικό Υψόμετρο με LC-QTOF-MS», εκπονήθηκε κατά το ακαδημαϊκό έτος 2016-2017. Το πειραματικό κομμάτι της πτυχιακής εργασίας έλαβε χώρα στο Εργαστήριο Αναλυτικής του Τμήματος Χημείας, στο Εθνικό Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών, με επιβλέπον τον Αναπληρωτή Καθηγητή Νικόλαο Θωμαΐδη.

Εκφράζουμε την βαθύτατη ευγνωμοσύνη μας στον επιβλέποντα που μας έδωσε την ευκαιρία να εκπονήσουμε την πτυχιακή μας εργασία στο Εργαστήριο της Αναλυτικής του τμήματος Χημείας.

Ιδιαίτερα πολύτιμη και ουσιαστική υπήρξε η τεράστια βοήθεια της υποψήφιας διδάκτορα Νατάσας Καλογιούρη, που συνέβαλε στην εκπόνηση της εργασίας καθοδηγώντας και συμβουλεύοντας μας, όπως και προσφέροντας ψυχολογική υποστήριξη.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ:

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1: ΒΙΟΔΡΑΣΤΙΚΑ ΣΥΣΤΑΤΙΚΑ & ΕΛΑΙΟΛΑΔΟ

1.1 Βιοδραστικά Συστατικά

Βιοδραστικές ενώσεις ονομάζονται ενώσεις απαραίτητες (π.χ. βιταμίνες), αλλά και μη απαραίτητες (π.χ. πολυφαινόλες), για τη λειτουργία του ανθρώπινου οργανισμού, που απαντώνται στη φύση, αποτελούν κομμάτι της τροφικής αλυσίδας, και έχει αποδειχθεί ευεργετική επίδραση τους στην υγεία του ανθρώπου. Οι ενώσεις αυτές βρίσκονται ως φυσικά συστατικά σε διάφορα τρόφιμα, και παρέχουν οφέλη στην υγεία του ανθρώπου, πέραν της βασικής διατροφικής αξίας του τροφίμου. [1] Είναι δηλαδή επιπλέον θρεπτικά συστατικά και συνήθως υπάρχουν σε μικρές συγκεντρώσεις κυρίως σε φυτικής προέλευσης τρόφιμα. [2]

Με τον όρο βιοδραστικές ενώσεις κατατάσσονται οι ενώσεις για τις οποίες έχει γίνει εκτεταμένη έρευνα με κλινικές μελέτες τόσο σε ανθρώπους αλλά και ζώα για την εξακρίβωση επιθυμητής δράσης, δηλαδή ικανότητα μείωσης του κινδύνου εμφάνισης κάποιων ασθενειών, όπως καρκίνος, ή και καρδιοπάθεια. Η κυριότερη διαφορά τους με τα απαραίτητα θρεπτικά συστατικά είναι ότι δεν αποτρέπουν την ασθένεια ανεπάρκειας, αλλά μπορούν να επηρεάσουν την κυτταρική δραστηριότητα και να αποτρέψουν συγκεκριμένες ασθένειες, κυρίως στα πρώιμα στάδια ανάπτυξής τους, με επικρατέστερο παράδειγμα τον καρκίνο. [1] [2] [3] Μια άλλη διαφορά είναι ότι δεν υπάρχει διατροφική ημερήσια συνιστώμενη ποσότητα κατανάλωσης, με τα σημερινά δεδομένα. [11]

Υπάρχει ποικιλία τόσο στη χημική δομή των βιοενεργών συστατικών, αλλά και στη δράση τους, με αποτέλεσμα να γίνεται κατηγοριοποίησή τους βάσει αυτών. [2] Ο προσδιορισμός της δράσης τους αποτελεί κύρια πρόκληση εφόσον μπορεί να έχουν περισσότερες από μια δράσεις. Μπορεί να είναι αντιοξειδωτικά, επαγωγής ή αναστολείς ενζύμων, αναστολείς υποδοχέων, επαγωγής ή αναστολείς της γονιδιακής έκφρασης, κλπ. Η ποικιλία αυτή, αλλά και ο αριθμός των βιοδραστικών ενώσεων συνεισφέρει στην δυσκολία της κατανόησης της ευεργετικής δράσης τους. Επιπλέον, η δράση της ουσίας επηρεάζεται από πολλούς παράγοντες όπως την πηγή του, το τρόφιμο δηλαδή που το περιέχει, την ποσότητα κατανάλωσης, τον τρόπο κατανάλωσης, την επεξεργασία που μπορεί να προηγήθηκε, ακόμα και το περιβάλλον που αναπτύχθηκε το τρόφιμο που το περιέχει. Στη συνέχεια, σημαντικό ρόλο θα παίξει και ο καταναλωτής, εφόσον υπάρχει διαφορετική ανταπόκριση του ανθρώπινου οργανισμού σε συγκεκριμένες τροφές που βασίζεται στις διατροφικές του συνήθειες σύμφωνα με δημογραφικά δεδομένα αλλά και κλινικά χαρακτηριστικά. [3]

Η έρευνα και ταυτοποίηση βιοδραστικών συστατικών αποτελεί σημαντικό παράγοντα στην αειφόρο εξέλιξη και καταπολέμηση πολλών παθήσεων. Τα συστατικά αυτά έχουν την δυνατότητα να γίνουν οι νέας γενιάς διαιτητικοί παράγοντες, προσδίδοντας επωφελείς επιδράσεις στην υγεία του ανθρώπου, που τα παρούσα διατροφικά πρότυπα δεν προσφέρουν. [3]

1.2 Ελαιόλαδο

1.2.1. Ορισμός Ελαιόλαδου

Το ελαιόλαδο αποτελεί αναπόσπαστο κομμάτι της Μεσογειακής Διατροφής, αλλά η κατανάλωση του εξαπλώθηκε σε όλο τον κόσμο, τόσο για την μοναδική του γεύση, αλλά και για τις ευεργετικές του ιδιότητες, που οφείλονται στα συστατικά του, όπως φυσικά αντιοξειδωτικά και μονοακόρεστα λιπαρά οξέα. [13]

Ελαιόλαδο ονομάζεται το έλαιο που λαμβάνεται από τους καρπούς της ελαίας της Ευρωπαϊκής (Olea Europea) με μέσα αποκλειστικά μηχανικά και μεθόδους ή επεξεργασίες φυσικές σε κατάλληλες θερμοκρασίες που να μην προκαλούν αλλοίωση του ελαίου. [4] Το ελαιόλαδο διαχωρίζεται σε διάφορες κατηγορίες ανάλογα με την οξύτητα του.

1.2.2. Κατηγορίες Ελαιόλαδου

(Α) *Παρθένα ελαιόλαδα:*

Τα παρθένα ελαιόλαδα είναι έλαια που λαμβάνονται αποκλειστικά με μηχανικές ή άλλες φυσικές μεθόδους υπό συνθήκες θερμικές, οι οποίες δεν προκαλούν αλλοίωση του ελαίου. Τα έλαια αυτά, δεν έχουν υποστεί άλλη επεξεργασία, εκτός από την πλύση, την καθίζηση, τη φυγοκέντρηση και τη διήθηση. Τα έλαια που έχουν ληφθεί μετά από επεξεργασία με διαλύτη ή με μεθόδους επανεστεροποίησης και μίγματα ελαίων με έλαια άλλης φύσης εξαιρούνται. [4]

Τα Παρθένα ελαιόλαδα διαχωρίζονται περεταίρω στις παρακάτω κατηγορίες, σύμφωνα με τον Κώδικα Τροφίμων και Ποτών:

(α) Εξαιρετικό Παρθένο ελαιόλαδο: Παρθένο ελαιόλαδο όπου ο βαθμός οργανοληπτικής αξιολόγησης είναι μεγαλύτερος ή ίσος του 6.5 . Η ελεύθερη οξύτητα, εκφραζόμενη σε ελαικό οξύ, είναι μικρότερη ή ίση του 1g/100g ελαίου. Τα υπόλοιπα χαρακτηριστικά είναι σύμφωνα προς τα προβλεπόμενα για την κατηγορία αυτή. [4]

(β) Παρθένο ελαιόλαδο: Ονομάζεται επίσης και «εκλεκτό». Είναι παρθένο ελαιόλαδο όπου ο βαθμός οργανοληπτικής αξιολόγησης είναι μεγαλύτερος ή ίσος του 5.5, και η ελεύθερη οξύτητα του, εκφραζόμενη σε ελαικό οξύ, είναι μικρότερη ή ίση του 2g/100g ελαίου. Τα υπόλοιπα χαρακτηριστικά είναι σύμφωνα προς τα προβλεπόμενα για την κατηγορία αυτή. [4]

(γ) Κοινό παρθένο ελαιόλαδο: παρθένο ελαιόλαδο με βαθμό οργανοληπτικής αξιολόγησης μεγαλύτερο ή ίσο του 3.5, και ελεύθερη οξύτητα, εκφραζόμενη σε ελαικό οξύ, μικρότερη ή ίση του 3,3g/100g ελαίου. Τα υπόλοιπα χαρακτηριστικά είναι σύμφωνα προς τα προβλεπόμενα για την κατηγορία αυτή. [4]

(δ) Μειονεκτικό (LAMPANTE) παρθένο ελαιόλαδο: παρθένο ελαιόλαδο του οποίο ο βαθμός οργανοληπτικής αξιολόγησης είναι κατώτερος του 3.5 ή/και του οποίου η ελεύθερη οξύτητα, εκφραζόμενη σε ελαικό οξύ, είναι ανώτερη των 3,3g/100g ελαίου. Τα υπόλοιπα χαρακτηριστικά είναι σύμφωνα προς τα προβλεπόμενα για την κατηγορία αυτή. [4]

(Β) *Εξευγενισμένο (ραφινέ) ελαιόλαδο:*

Ελαιόλαδο που λαμβάνεται από τον εξευγενισμό παρθένου ελαιόλαδου. Η ελεύθερη του οξύτητα εκφράζεται σε ελαικό οξύ, και δεν πρέπει να υπερβαίνει τα 0,5g/100g ελαίου. Τα υπόλοιπα χαρακτηριστικά είναι σύμφωνα προς τα προβλεπόμενα για την κατηγορία αυτή. [4]

(Γ) Ελαιόλαδο:

Ελαιόλαδο που προέρχεται από ανάμιξη εξευγενισμένου ελαιόλαδου και παρθένου ελαιόλαδου, εξαιρούμενου του μειονεκτικού. Η ελεύθερη οξύτητα του, εκφραζόμενη σε ελαϊκό οξύ, δεν πρέπει να υπερβαίνει το 1,5g/100g ελαίου. Τα υπόλοιπα χαρακτηριστικά είναι σύμφωνα προς τα προβλεπόμενα για την κατηγορία αυτή. [4]

(Δ) Βιομηχανικό ελαιόλαδο:

Ελαιόλαδο που δεν είναι δυνατό με οποιαδήποτε επεξεργασία ή οποιοδήποτε τρόπο να χρησιμοποιηθεί ως πρώτη ύλη για την παρασκευή προϊόντων διατροφής. Σε αυτή την κατηγορία εντάσσονται τα έλαια που έχουν παλμιτικό οξύ σε θέση 2 των τριγλυκεριδίων ανώτερο του 2,2%, έχουν δηλαδή υποστεί αλλοίωση της μοριακής του σύστασης, χωματέλαια, μουργέλαια κλπ. Αυτά τα έλαια μπορούν να χρησιμοποιηθούν για την παραγωγή σαπουνιού και γλυκερίνης. [4]

Με τον όρο «Βιομηχανοποιήσιμο ελαιόλαδο» ονομάζονται τα ελαιόλαδα και τα εξευγενισμένα ελαιόλαδα με δυσάρεστα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά ή/και με οξύτητα μεγαλύτερη από τα καθορισμένα όρια, εκφραζόμενη πάντα σε ελαϊκό οξύ. [4]

Πίνακας 1.1: Χαρακτηριστικά ελαιόλαδου

Κατηγορία	Εξαιρετικά Παρθένο ελαιόλαδο	Παρθένο ελαιόλαδο	Κοινό Παρθένο ελαιόλαδο	Μειονεκτικό παρθένο ελαιόλαδο	Εξευγενισμένο ελαιόλαδο	Ελαιόλαδο
Οξύτητα (%)	≤ 1,0	≤ 2,0	≤ 3,3	>3,3	≤ 0,5	≤ 1,5
K270	≤ 0,20	≤ 0,25	≤ 0,25	>0,25	≤ 1,20	≤ 1,00
K270 υπεράνω αλουμίνας	≤ 0,10	≤ 0,10	≤ 0,10	≤ 0,11	-	-
ΔΚ	≤ 0,01	≤ 0,01	≤ 0,01	-	≤ 0,16	≤ 0,13
K232	≤ 2,50	≤ 2,60	≤ 2,60	≤ 3,70	≤ 3,40	≤ 3,30
Δείκτης υπεροξειδίων ($meqO_2$/kg)	≤ 20	≤ 20	≤ 20	>20	≤ 5	≤ 15
Οργανοληπτική αξιολόγηση	≥ 6,5	≥ 5,5	≥ 3,5	< 3,5	-	-
Αλογονωμένοι υδρογονάνθρακες (mg/kg)	≤ 0,20	≤ 0,20	≤ 0,20	> 0,20	≤ 0,20	≤ 0,20
Μυριστικό οξύ %	≤ 0,05	≤ 0,05	≤ 0,05	≤ 0,05	≤ 0,05	≤ 0,05
Λινολενικό οξύ %	≤ 0,9	≤ 0,9	≤ 0,9	≤ 0,9	≤ 0,9	≤ 0,9
Αραχιδικό οξύ %	≤ 0,6	≤ 0,6	≤ 0,6	≤ 0,6	≤ 0,6	≤ 0,6
Εικοσενοϊκό οξύ %	≤ 0,4	≤ 0,4	≤ 0,4	≤ 0,4	≤ 0,4	≤ 0,4
Βεχενικό οξύ %	≤ 0,2	≤ 0,2	≤ 0,2	≤ 0,2	≤ 0,2	≤ 0,2
Λιγνοκηρικό οξύ %	≤ 0,2	≤ 0,2	≤ 0,2	≤ 0,2	≤ 0,2	≤ 0,2
Σύνολο trans ισομερών του ελαϊκού οξέος %	≤ 0,05	≤ 0,05	≤ 0,05	≤ 0,10	≤ 0,20	≤ 0,20
Σύνολο trans ισομερών	≤ 0,05	≤ 0,05	≤ 0,05	≤ 0,10	≤ 0,30	≤ 0,30

του λινελαϊκού + του λινολενικού οξέος %						
Κεκορεσμένα λιπαρά οξέα στη θέση 2 των τριγλυκεριδίων %	≤ 1,3	≤ 1,3	≤ 1,3	≤ 1,3	≤ 1,5	≤ 1,5
Στιγμασταδιένια mg/kg	≤ 0,15	≤ 0,15	≤ 0,15	≤ 0,50	-	-
Κήροι (mg/kg)	≤ 250	≤ 250	≤ 250	≤ 350	≤ 350	≤ 350
Σύνολο Στερολών (mg/kg)	≥ 1000	≥ 1000	≥ 1000	≥ 1000	≥ 1000	≥ 1000
Χοληστερόλη %	≤ 0,5	≤ 0,5	≤ 0,5	≤ 0,5	≤ 0,5	≤ 0,5
Βρασσικαστερόλη %	≤ 0,1	≤ 0,1	≤ 0,1	≤ 0,1	≤ 0,1	≤ 0,1
Καμπεστερόλη %	≤ 4,0	≤ 4,0	≤ 4,0	≤ 4,0	≤ 4,0	≤ 4,0
Στιγμαστερόλη %	< Καμπεστερόλη	< Καμπεστερόλη	< Καμπεστερόλη	< Καμπεστερόλη	< Καμπεστερόλη	< Καμπεστερόλη
β-Σιτοστερόλη %	≥ 93,0	≥ 93,0	≥ 93,0	≥ 93,0	≥ 93,0	≥ 93,0
Δ7-Στιγμαστενόλη %	≤ 0,5	≤ 0,5	≤ 0,5	≤ 0,5	≤ 0,5	≤ 0,5
Ερυθροδιόλη + Ουβαόλη %	≤ 4,5	≤ 4,5	≤ 4,5	≤ 4,5	≤ 4,5	≤ 4,5
Υγρασία και πτητικές ουσίες %	≤ 0,2	≤ 0,2	≤ 0,2	≤ 0,3	≤ 0,1	≤ 0,1
Αδιάλυτες ύλες στον πετρελαϊκό αιθέρα %	≤ 0,1	≤ 0,1	≤ 0,1	≤ 0,2	≤ 0,05	≤ 0,05
Διαφορά ECN 42 – HPLC και ECN 42 θεωρητικός υπολογισμός	≤ 0,2	≤ 0,2	≤ 0,2	≤ 0,3	≤ 0,3	≤ 0,3

1.3 Συστατικά ελαιόλαδου

Το έλαιο που προέρχεται από τον καρπό της ελιάς Elea Europea, έχει συγκεκριμένη σύσταση, και αποτελείται από 2 κλάσματα, το σαπωνοποιήσιμο και το μη σαπωνοποιήσιμο. Το σαπωνοποιήσιμο κλάσμα καθιστά το 98,5-99,5% του ελαίου.[9] Το κύριο συστατικό του ελαιόλαδου είναι τα τριγλυκερίδια, τα οποία αποτελούν το 99% της σύστασης του. Αποτελείται επίσης από ελεύθερα λιπαρά οξέα, μονο- και διάκυλογλυκερίνες, υδρογονάνθρακες, τοκοφερόλες, αλειφατικές και αρωματικές αλκοόλες, στερόλες, τριτερπενικά οξέα και τέλος πτητικές και αρωματικές ενώσεις. Μια μεγάλη κατηγορία συστατικών του ελαιόλαδου είναι οι φαινολικές ενώσεις. Στις παρακάτω παραγράφους αναπτύσσεται η κάθε κατηγορία συστατικών του ελαιόλαδου που προαναφέρθηκε.

1.3.1 Λιπαρά οξέα

Στο ελαιόλαδο υπάρχουν λιπαρά οξέα κορεσμένα και ακόρεστα, και η περιεκτικότητα τους ορίζει το είδος του ελαιόλαδου, μέσω της ελεύθερης οξύτητας που εκφράζεται με το ελαϊκό οξύ, αλλά και την βρωσιμότητα του (trans- λιπαρά οξέα).

Κορεσμένα λιπαρά οξέα στο ελαιόλαδο είναι το Λαυρικό οξύ (C12:0), Μυριστικό οξύ (C14:0), Παλμιτικό οξύ (C16:0), Στεατικό οξύ (C18:0), Αραχιδικό οξύ (C20:0), Επταδεκανοϊκό οξύ (C17:0), Βεχενικό οξύ (C22:0), και Λιγνοκηρικό οξύ (C24:0). [5]

Ακόρεστα λιπαρά οξέα στο ελαιόλαδο είναι το Παλμιτελαϊκό οξύ (C16:1), Επταδεκενοϊκό οξύ (C17:1), Ελαϊκό οξύ (C18:1), Λινολεϊκό οξύ (C18:2), Λινολενικό οξύ (C18:3), Εικοσεναϊκό οξύ (C20:1), και Ερουκικό οξύ (C22:1).

Η περιεκτικότητα σε λιπαρά οξέα διαφέρει σε διαφορετικά δείγματα, αφού παίζει ρόλο ο γεωγραφικός παράγοντας, το κλίμα, η ποικιλία, αλλά και το στάδιο ωριμότητας του καρπού.[13] Τα κύρια λιπαρά οξέα, που βρίσκονται γενικά σε μεγαλύτερη περιεκτικότητα είναι το Ελαϊκό οξύ, το Παλμιτικό και το Λινελαϊκό οξύ. Βάση των περιεκτικοτήτων αυτών των λιπαρών οξέων, τα ελαιόλαδα κατατάσσονται σε 2 τύπους, στα ελαιόλαδα με υψηλή περιεκτικότητα σε ελαϊκό οξύ και χαμηλή περιεκτικότητα σε παλμιτικό και λινελαϊκό, και στα ελαιόλαδα με χαμηλή περιεκτικότητα σε ελαϊκό οξύ και ψηλή περιεκτικότητα σε παλμιτικό και λινελαϊκό οξύ. [5]

1.3.2 Τριγλυκερίδια

Τα κύρια τριγλυκερίδια που βρίσκονται σε σημαντικές ποσότητες στο ελαιόλαδο είναι τα OOO (40-59%), POO (12-20%), OOL (12,5-20%), POL (5-5,7%) και SOO(3-7%). Σε μικρότερο ποσοστό, υπάρχουν επίσης τα POP, POS, OLnL, LOL, OLnO, PLL, PLnO και LLL. [5]

1.3.3 Μονο- και διακυλογλυκερίνες

Η παρουσία των μερικών-γλυκερών οφείλεται σε ατελή τριακυλογλυκερολική βιοσύνθεση ή σε υδρολυτικές αντιδράσεις που έλαβαν χώρα. Γενικά στο παρθένο ελαιόλαδο, η συγκέντρωση των διακυλυλογλυκερολών κυμαίνεται στο 1-2,8%. [5]

1.3.4 Υδρογονάνθρακες

Στο ελαιόλαδο υπάρχουν κυρίως 2 υδρογονάνθρακες, το σκουαλένιο και το β-καροτένιο. Υπάρχουν επίσης σε μικρότερες περιεκτικότητες διτερπένια και τριτερπένια, πολυολεφίνες, n-παραφίνες και ισοπρενοειδή. [6]

Το σκουαλένιο αποτελεί το 90% του υδρογονανθρακικού κλάσματος του ελαιόλαδου, και είναι ο τελευταίος μεταβολίτης που προηγείται του σχηματισμού στερολικού δακτυλίου.[6] Πιστεύεται ότι η περιεκτικότητα του ελαιόλαδου σε σκουαλένιο είναι σημαντική για την παρουσία ευεργετικών ιδιοτήτων του ελαιόλαδου στη υγεία και τη δράση του ενάντιας ορισμένων μορφών καρκίνου.[7] Όπως και τα υπόλοιπα συστατικά, έτσι και στο σκουαλένιο, η συγκέντρωση του εξαρτάται από την ποικιλία της ελιάς και τον τρόπο εκχύλισης του ελαιόλαδου.

Το β-καροτένιο ανήκει στην κατηγορία των Χρωστικών ενώσεων. [5]

1.3.5 Τοκοφερόλες

Από τις 8 ομόλογες τοκοφερόλες, στο παρθένο ελαιόλαδο εμφανίζονται οι α-τοκοφερόλη, β-τοκοφερόλη, γ-τοκοφερόλη και δ-τοκοφερόλη. Το 90% της περιεκτικότητας του παρθένου ελαιόλαδου σε τοκοφερόλες όμως, καταλαμβάνει η α-τοκοφερόλη, στην ελεύθερη της μορφή. Η περιεκτικότητα της κυμαίνεται σε ευρύ φάσμα mg/kg ελαίου, αφού η περιεκτικότητα της εξαρτάται από την ποικιλία ελιάς, και την τεχνολογία εκχύλησης. Η α-τοκοφερόλη είναι γνωστό in vivo αντιοξειδωτικό, οπότε είναι επιθυμητό να διατηρείται. Έχει βρεθεί ότι κατά τις διαδικασίες εξευγενισμού και υδρογόνωσης του ελαίου η συγκέντρωση τοκοφερόλης μειώνεται.

1.3.6 Χρωστικές ουσίες

Οι χρωστικές ουσίες που υπάρχουν στο ελαιόλαδο είναι χλωροφύλλες και τα καρετονοειδή, τα οποία του δίνουν το χαρακτηριστικό του χρώμα. Αυτές οι ενώσεις μπορούν να υποστούν οξείδωση, κάτω από ορισμένες συνθήκες, σε άχρωμα προϊόντα. [8] Συνεπώς, η περιεκτικότητα των χρωστικών επηρεάζεται από την ποικιλία ελιάς, την γεωγραφική θέση παραγωγής, το στάδιο ωρίμανσης, τον τρόπο εκχύλησης και τις συνθήκες αποθήκευσης. Εάν και ακόμα δεν υπάρχει τυποποιημένη μέθοδος μέτρησης της περιεκτικότητας των χρωστικών, αποτελούν δείκτη ποιότητας του ελαιόλαδου. [5] Κυρίαρχη ένωση ανάμεσα στις χλωροφύλλες είναι η φαιοφυτίνη-α, ενώ κυρίαρχες ενώσεις καρετονοειδών είναι η λουτεΐνη και το β-καροτένιο. [5]

1.3.7 Αλειφατικές και αρωματικές αλκοόλες

Οι κυριότερες κατηγορίες αλειφατικών και αρωματικών αλκοολών είναι οι λιπαρές αλκοόλες και οι διτερπενοειδείς αλκοόλες, που μπορούν να συναντηθούν στην ελεύθερη αλλά και στην εστεροποιημένη μορφή τους. [5]

Λιπαρές αλκοόλες: Είναι ευθύγραμμες κορεσμένες αλκοόλες με περισσότερα από 16 άτομα άνθρακα, και βρίσκονται στην ελεύθερη αλλά και εστεροποιημένη μορφή. Οι κυριότερες λιπαρές αλκοόλες που βρίσκονται στο ελαιόλαδο είναι η εικοσιδυανόλη, η εικοσιτετρανόλη, η εικοσιεξανόλη και η εικοσιοκτανόλη. Οι περιεκτικότητες των εστεροποιημένων λιπαρών αλκοολών με λιπαρά οξέα είναι σημαντικές, αφού χρησιμοποιούνται για την διαφοροποίηση του ελαιόλαδου στις κατηγορίες του. [5]

Διτερπενοειδή αλκοόλες: Οι κυριότερες άκυκλες διτερπενοειδής αλκοόλες που βρίσκονται στο αλειφατικό κλάσμα αλκοολών του ελαιόλαδου είναι η φυτόλη και η γερανυλγερανιόλη. [5]

1.3.8 Στερόλες

Οι στερόλες είναι λιπίδια που χρησιμοποιούνται για τον έλεγχο γνησιότητας του ελαιόλαδου. Υπάρχουν 4 κατηγορίες στερολών στο ελαιόλαδο, οι κοινές στερόλες, οι 4α- μεθυλοστερόλες, οι τριτερπενοειδείς αλκοόλες και οι τριτερπενοειδείς διαλκοόλες. Οι περιεκτικότητα τους εξαρτάται από την ποικιλία ελιάς, αλλά και τις τεχνικές επεξεργασίας, που χρησιμοποιούνται κατά την εξαγωγή ελαιόλαδου. [5]

1.3.9 Τριτερπενοειδή οξέα

Τα υδροξυπεντακυκλικά τριτερπενοειδή οξέα βρίσκονται σε μικρές περιεκτικότητες στο ελαιόλαδο. Είναι ενώσεις βιοδραστικές, που έχουν ευεργετικές ιδιότητες στην υγεία του ανθρώπου. Το ολεανολικό οξύ και το μασλινικό οξύ είναι τα κύρια συστατικά ελαιόλαδου αυτής της κατηγορίας, και η περιεκτικότητα τους επηρεάζεται κατά την επεξεργασία ραφιναρίσματος. [5]

1.3.10 Πτητικές και αρωματικές ενώσεις

Στις πτητικές ενώσεις που προσδιορίστηκαν στο ελαιόλαδο περιέχονται υδρογονάνθρακες, αλκοόλες, αλδεΰδες και κετόνες, οξέα, εστέρες, αιθέρες, παράγωγα φουρανίου, παράγωγα θειοφαινίου, πυραζόνες, θειόλες, και πυραζίνες.

Αναγνωρίστηκαν περίπου διακόσιες ογδόντα πτητικές ενώσεις, όμως μόνο 67 από αυτές συμβάλλουν στο άρωμα του παρθένου ελαιόλαδου, λόγω των περιεκτικοτήτων τους. [5]

1.3.11 Άλλα δευτερεύοντα συστατικά

Σε αυτή την κατηγορία εμπεριέχονται τα φωσφολιπίδια και οι πρωτεΐνες. Τα δυο αυτά συστατικά βρίσκονται σε πολύ μικρές συγκεντρώσεις εφόσον οι ποσότητες τους μειώνονται έντονα κατά το φιλτράρισμα και το ραφινάρισμα του ελαιόλαδου. [5]

1.4 Βιοδραστικά συστατικά

Το ελαιόλαδο είναι ένα λειτουργικό τρόφιμο που περιέχει μεγάλες περιεκτικότητες μονοακόρεστων λιπαρών οξέων, που εκφράζονται σε ελαϊκό οξύ, άλλα, και συστατικά σε μικρότερη περιεκτικότητα, τα οποία έχουν βιολογική δράση. Οι συγκεντρώσεις των συστατικών αυτών στο ελαιόλαδο δεν είναι συγκεκριμένες, εφόσον κυμαίνονται ανάλογα με την ποικιλία, το κλίμα, την ωριμότητα των ελιών κατά την συγκομιδή, την επεξεργασία που υπέστησαν, και το είδος ελαιόλαδου. [10] Τα συστατικά αυτά δείχνουν να εμπλέκονται στις αντιοξειδωτικές ιδιότητες του ελαιόλαδου. Γνωστές βιοδραστικές ενώσεις του ελαιόλαδου είναι το σκουαλένιο, τα τριτερπένια, αλλά και οι φαινολικές ενώσεις που εμφανίζουν ισχυρή αντιοξειδωτική δράση στην οξείδωση λιπιδίων, του DNA, αλλά και της LDL.[10]

1.4.1 Φαινολικές ενώσεις

Γενικά, φαινολική ένωση ορίζεται κάθε ένωση η οποία περιέχει ένα αρωματικό δακτύλιο που φέρει έναν τουλάχιστο υδρόξυ-υποκαταστάτη, και τα παράγωγά τους. Οι ενώσεις αυτές, οι οποίες ονομάζονται και πολυφαινόλες, συνιστούν μια ποικιλία από δομές αλλά και λειτουργίες, και συναντώνται στα περισσότερα λαχανικά και φρούτα. [12] Έχουν ανακαλυφθεί περισσότερες από 8 000 διαφορετικές φαινολικές δομές, από απλά μόρια, μέχρι πολυμερισμένα μόρια (π.χ. ταννίνες). [2]

1.4.1.1 Φαινολικές ενώσεις στο ελαιόλαδο

Οι φαινολικές ενώσεις είναι δευτερεύοντα συστατικά του ελαιόλαδου, βρίσκονται στο πολικό κλάσμα του, που διαχωρίζεται κατά την εκχύλιση του ελαιόλαδου με μίγμα διαλυτών νερού-μεθανόλης. [5] [13] Η περιεκτικότητα τους στο παρθένο ελαιόλαδο, εξαρτάται από ποικίλους παράγοντες, όπως την ποικιλία του ελαιόδεντρου, την γεωγραφική περιοχή, το στάδιο ωρίμανσης του καρπού, και τις τεχνολογικές επεξεργασίες. [13] Οι πολυφαινόλες έχουν συσχετιστεί με τη σταθερότητα, αλλά και με τα βιολογικά χαρακτηριστικά του ελαιόλαδου. Καταβάλλεται προσπάθεια, με στόχο δημιουργίας σχέσης της πρόσληψης φαινολικών ενώσεων μέσα από τη διατροφή, με τη μείωση κινδύνου για παθήσεις, όπως καρδιαγγειακής νόσου και καρκίνου, ενώ έρευνες έχουν ήδη συσχετίσει τις φαινόλες με τον ευεργετικό ρόλο του ελαιόλαδου, στον ανθρώπινο οργανισμό. [5] Οι πολυφαινόλες, παίζουν καθοριστικό ρόλο στη διάρκεια ζωής του ελαιόλαδου, λόγω των αντιοξειδωτικών τους ιδιοτήτων. Επιπλέον, επηρεάζουν και τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά του ελαιόλαδου εφόσον προσδίδουν την πικρία και τη στυφή γεύση του ελαιόλαδου, αλλά και την δριμύ μυρωδιά του. [13]

1.4.1.2. Ευεργετικές ιδιότητες:

Οι «πολυφαινόλες» παρουσιάζουν αρκετές ευεργετικές ιδιότητες. Αυτές περιλαμβάνουν:

(α)Αντιοξειδωτική δράση
(β) Αντιφλεγμονώδης δράση
(γ) Αντιδιαβητική δράση
(δ) Αντικαρκινική δράση
(ε) Αντιμικροβιακή δράση
(στ) Αντιιική δράση
(ζ) Προστασία δέρματος
(η) Αντιγηραντική δράση

(α) Αντιοξειδωτική δράση: Τα αντιοξειδωτικά είναι ενώσεις που καθυστερούν ή αποτρέπουν τις οξειδωτικές διαδικασίες ενός υποστρώματος. Οι φαινολικές ενώσεις ανήκουν στην κατηγορία των καταστροφέων των ελεύθερων ριζών (free radical terminators). Ο τρόπος που αποτρέπουν την οξείδωση των λιπιδίων είναι με το να γίνονται δότες ενός ατόμου υδρογόνου στις ρίζες λιπιδίου, και έτσι να σταματούν τη διάδοση της αλυσίδας που παράχθηκε λόγω του ριζικού πολυμερισμού, όπως φαίνεται στις παρακάτω αντιδράσεις: [15][3]

$$ROO\cdot + AH \longrightarrow ROOH + A\cdot$$

$$RO\cdot + AH \longrightarrow ROH + A\cdot$$

$$ROO\cdot + A\cdot \longrightarrow ROOA$$

$$RO\cdot + A\cdot \longrightarrow ROA$$

Οι φαινολικές ενώσεις λοιπόν, είναι καλοί δότες υδρογόνου ή ηλεκτρονίου, αφού οι ενδιάμεσες ριζικές ενώσεις τους είναι σχετικά σταθερές λόγω συντονισμού, που απεντοπίζει το φορτίο, και λόγω της δομής τους, που αποτρέπει το μοριακό οξυγόνο να τους χτυπήσει, και να συνεχιστεί έτσι ο ριζικός πολυμερισμός. [15]

(β) Αντιφλεγμονώδης δράση: Η δράση των φαινολικών ενώσεων ως αντιφλεγμονωδών είναι αποτελεσματικότερη εάν γίνεται λήψη τους τοπικά. Η δράση τους επηρεάζεται από πολλούς παράγοντες, και κυρίως από τη δομή τους. Τέτοια δράση έχουν κυρίως τα φαινολικά οξέα, όπως το καφεϊκό, και p-κουμαρικό οξύ. [16]

(γ) Αντι-αθηροσκληρωτική δράση: Αποτρέποντας την υπεροξείδωση των λιπιδίων, που είναι ο βασικότερος παράγοντας στην παθογένεια της αθηροσκλήρωσης, οι φαινολικές ενώσεις έχουν αντι-αθηροσκληρωτική δράση. [17] Εφόσον αποτρέπεται η υπεροξείδωση των λιπιδίων, παρεμποδίζεται και η οξειδωτική μετατροπή της LDL, άρα ενισχύουν την άμυνα του οργανισμού έναντι των καρδιοπαθειών. [20]

(δ) Αντικαρκινική δράση: Πολλές από τις φαινολικές ενώσεις που περιέχονται στο ελαιόλαδο έχουν αντικαρκινική δράση, αφού έχει διαπιστευτεί ότι καθυστερούν την έναρξη και εξέλιξη της πολυσταδιακής καρκινογένεσης [17] Μέσω της αντιοξειδωτικής τους δράσης, μειώνουν το οξειδωτικό στρες, μέσω της αναστολής της λιπιδικής υπεροξειδάσης. Έτσι αναστέλλεται ο σχηματισμός προϊόντων προσθήκης του DNA, που είναι υπεύθυνα για την δημιουργία καρκίνου. [19] Συγκεκριμένα υποστηρίζεται, ότι έχουν ευεργετικές ιδιότητες έναντι του καρκίνου του μαστού, αλλά και του παχέος εντέρου. [20]

(ε) Αντιμικροβιακή δράση: Κάποιες φαινολικές ενώσεις έχουν ισχυρή αντιμικροβιακή δράση τόσο στα $Gram^+$, αλλά και στα $Gram^-$ βακτήρια. Δρουν καταστρέφοντας τη βακτηριακή μεμβράνη ή/και διασπώντας τις πεπτιδογλυκάνες του κυττάρου. Φαινολικές ενώσεις όπως η Ελαιοευρωπαΐνη και τα προϊόντα υδρόλυσης της, μπορούν ακόμη να αναστέλλουν την ανάπτυξη του Staphylococcus aureus, της Salmonella enteritidis, της Escherichia coli και B cereus. [17]

(στ) Αντιιική δράση: Έχει διαπιστωθεί, σύμφωνα με έρευνες, ότι ορισμένες φαινολικές ενώσεις έχουν αντιιική δράση έναντι συγκεκριμένων ιών, όπως Herpes mononucleosis, τον ιό της ηπατίτιδας, και άλλους διάφορους ιούς. [17]

(ζ) Προστασία του δέρματος: Αυτά τα συστατικά, έχουν άμεση αντιοξειδωτική δράση στο δέρμα, αφού απομακρύνουν τις ελεύθερες ρίζες στην επιφάνεια του δέρματος. Επίσης δρουν προστατεύοντας το δέρμα από την υπεριώδη ακτινοβολία, και αποτρέποντας την ανάπτυξη του όγκου. [17]

(η) Αντιγηραντική δράση: Στο ελαιόλαδο υπάρχουν κάποιες φαινολικές ενώσεις οι οποίες έχουν αντιγηραντική δράση, όπως η ελαιοευρωπαΐνη. [17]

1.4.1.4 Κατηγορίες φαινολικών ενώσεων

Οι φαινολικές ενώσεις χωρίζονται σε 7 κατηγορίες:

1) Φαινολικά οξέα:
2) Απλές φαινόλες
3) Φλαβονοειδή
4) Σεκοϊριδοειδή
5) Λιγνάνες

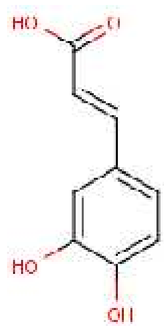
6) Υδροξυ-ισοχρωμάνες [18]

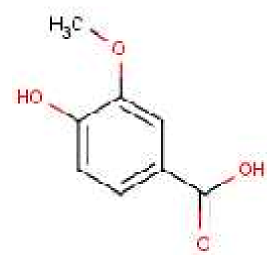
7) Ψευδοφαινόλες

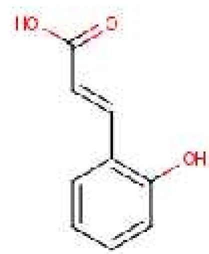
Πίνακας 2: Χαρακτηριστικές ενώσεις κάθε κατηγορίας

Κατηγορία	Χαρακτηριστικές Ενώσεις
Φαινολικά οξέα	Βανιλλικό οξύ, γαλλικό οξύ, p-κουμαρικό οξύ, o-κουμαρικό οξύ, καφεϊκό οξύ, φερουλικό οξύ, συριγγικό οξύ, p-υδροξυβενζοϊκό οξύ, συναπικό οξύ, ομοβανιλλικό οξύ, πρωτοκατεχικό οξύ, 4-υδροξυφαινυλο-αιθανικό οξύ, ελενολικό οξύ
Απλές φαινόλες	Υδροξυτυροσόλη, τυροσόλη, βανιλλίνη
Φλαβονοειδή	Λουτεολίνη, απιγενίνη,ρουτίνη, 7-γλυκοζίτης της λουτεολίνης, κερκετίνη
Σεκοϊροιδοειδή	Ελαιοευρωπαΐνη, άγλυκη ελαιοευρωπαΐνη, Λινγκσροσίνη, άγλυκη λινγκστροσίνη, ελαιοκανθάλη, ελαιασίνη
Λιγνάνες	Πινορεζινόλη, 1-ακετοξυ-πινορεζινόλη
Υδροξυ-ισοχρωμάνες	1-φαίνυλο-6,7-διυδροξυ ισοχρωμάνη, 1-(3- μεθόξυ-4-υδρόξυ)φαινυλο-6,7-διυδροξύ ισοχρωμάνη

<u>Φαινολικά οξέα</u>

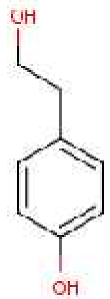


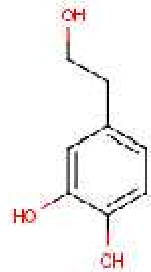




Καφεϊκό οξύ Βανιλλικό οξύ o-κουμαρικό οξύ

Απλές φαινόλες

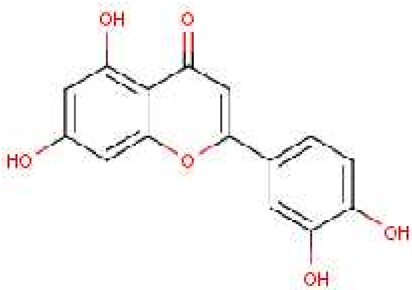




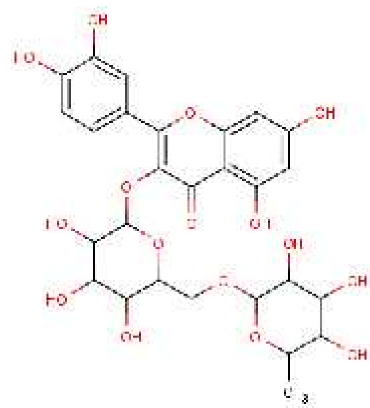
Τυροσόλη Υδροξυτυροσόλη Βανιλλίνη

Φλαβονοειδή

Λουτεολίνη

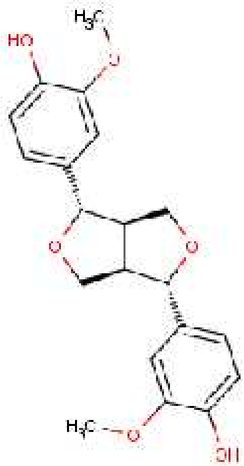


Ρουτίνη

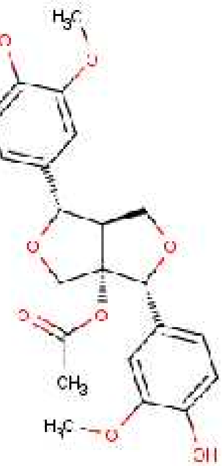


<u>Λιγνάνες</u>

Πινορεζινόλη

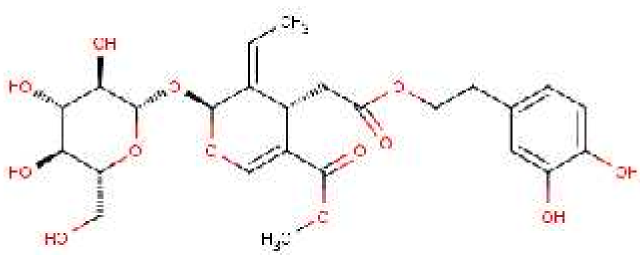


1-ακετοξυ-πινορεζινόλη

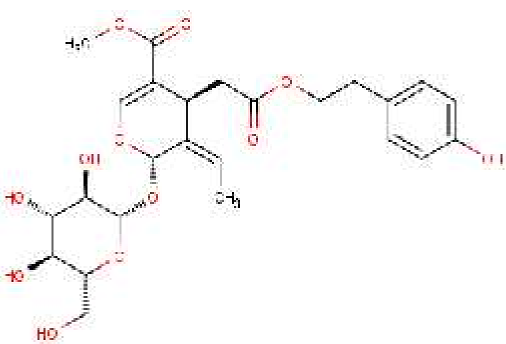


<u>Σεκοϊροιδοειδή</u>

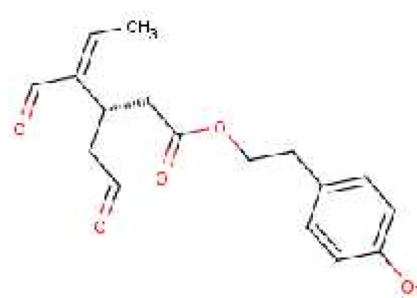
Ελαιωευρωπαΐνη



Λινγκστροσίνη



Ελαιοκανθάλη



ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2: ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΚΗ ΑΝΑΣΚΟΠΗΣΗ

Έχουν αναφερθεί πολλές αναλυτικές τεχνικές για την ανίχνευση και την ταυτοποίηση των φαινολικών ενώσεων. Η παραλαβή των φαινολικών ενώσεων γίνεται κατά κύριο λόγο με εκχύλιση υγρού-υγρού (LLE) και εκχύλιση στερεάς φάσης (SPE). Η υγροχρωματογραφία παραμένει η πιο δημοφιλής τεχνική για την ποιοτική και ποσοτική ανάλυση των φαινολικών ενώσεων σε συνδυασμό με διαφορετικούς ανιχνευτές, όπως UV-Vis, DAD ή MS. Οι πιο πρόσφατες εργασίες αναφέρονται στον πίνακα 2.1.

Πίνακας 2.1: Αναλυτικές μέθοδοι για την ανίχνευση φαινολικών ενώσεων σε ελαιόλαδο

Σκοπός Πειράματος	**Ένωση**	**Τρόπος εκχύλισης**	**Μέθοδος**	**Κινητή Φάση**	**Ποικιλίες Ελιάς/Λαδιού**	**Αριθμός Δειγμάτων**	**Αναφορά**
Ανάλυση φαινολικών ενώσεων σε ελαιόλαδο	Γαλλικό οξύ Υδροξυτυροσόλη Καφεϊκό οξύ Βανιλικό οξύ p-κουμαρικό οξύ Φερουλικό οξύ Ελαιοευρωπαΐνη Λουτεολίνη	SPE	UHPLC-MS/MS με χρήση Acquity UPLC system, και ο διαχωρισμός έγινε με χρήση Acquity UPLC BEH σε C18 στήλη. MS με χρήση Waters Acquity TQD φασματόμετρο μάζας με ESI αρνητικών ιόντων	Βαθμιδωτή έκλουση με MeOH-H2O και μεθανοϊκο οξύ 0,01%	Εξευγενισμένο ελαιόλαδο (MROO και IROO) Πυρηνέλαιο (POO) Εξτρα παρθένο ελαιόλαδο (EVOO) Ηλιέλαιο (SFO) Σογιέλαιο (SBO)	14	[22]
Σύγκριση έξτρα παρθένων ελαιολάδων διάφορων τοποθεσιών στην παράκτια περιοχή της Τουρκίας με το Αιγαίο, για τις φαινολικές τους περιεκτικότητες για 2 συνεχόμενα έτη, για την κατάταξη των δειγμάτων σε σχέση με το έτος συγκομιδής και τη γεωγραφική	Τυροσόλη Υδροξυτυροσόλη Βανιλίνη Λουτεολίνη Συριγγικό οξύ p-κουμαρικό οξύ m-κουμαρικό οξύ Κινναμωμικό οξύ Απιγενίνη Φερουλικό οξύ	Εκχύλιση με MeOH-H2O (80:20)	HPLC-DAD με Perkin Elmer (PE) series 200 αντλία, PE series 200 diode array detector, PE-Nelson 900 series interface	Βαθμιδωτή έκλουση με Νερό με οξικό οξύ 0,2% - Μεθανόλη 90:10	Έξτρα παρθένο ελαιόλαδο	47	[23]

θέση							
Οργανοληπτικά χαρακτηριστικά των φαινολών του παρθένου ελαιόλαδου	Υδροξυτυροσόλη Τυροσόλη Διακετόξυ – ελαιοευρωπαΐνη άγλυκη (διαλδεϋδική μορφή) διακετόξυ λιγκστροσίνη άγλυκη (διαλδεΰδική μορφή)	Liquid-liquid διάλυση σε εξάνιο και εκχύλιση με διάλυμα EtOH-H2O 60:40	HPLC με ανιχνευτή UV Waters Lambda Max 481 και συλλέκτη κλάσματος Pharmacia LKB-SuperFrac MS Agilent 1100 MSD με πηγή ESI αρνητικών ιόντων NMR Bruker DRX600 φασματόμετρο	Αντίστροφης φάσης Με κινητή φάση Αιθανόλη-H_2O με 2% οξικό οξύ, 30:70	Παρθένο Ελαιόλαδο Ισπανικό, Ιταλικό και Ελληνικό		[24]
Συσχέτιση της οσμής του παρθένου ελαιολάδου με τις πτητικές του ενώσεις μέσω της λιποξυγενάσης, και σεκοϊροιδοειδής ενώσεις			Οργανοληπτική ανάλυση Dynamic head-space GC με N_2 με τη χρήση Carlo Erba Mega Series 5160 χρωματογράφου GC-MS μοντέλο HP 5890A σε συνδιασμό με ανιχνευτή μάζας μοντέλου HP 5970B		Παρθένο ελαιόλαδο Ιταλικό, Ελληνικό και Ισπανικό	51	[25]
Φαινολικές ενώσεις και οι παράμετροι της ποιότητας της οικογενειακής	Υδροξυτυροσόλη (3,4-DHPEA) Τυροσόλη (p-HPEA)	Liquid-Liquid με διάλυμα MeOH-H_2O	HPLC με Agilent Technologies system Mod. 1100 που περιέχει	Αντίστροφης φάσης και βαθμιδωτής έκλουσης	Έξτρα παρθένα ελαιόλαδα PDO	284	[14]

γεωργίας σε σχέση με την προστατευόμενη ονομασία προέλευσης (ΠΟΠ) έξτρα παρθένου ελαιόλαδου	Διαλδεϋδική μορφή του δεκαρβοξυμεθυλ - ελαινολικού οξέος 3,4-(διυδροξυφαινυλ) -αιθανολ-ελαινολικό οξύ (3,4-DHPEA-EDA) p-(υδροξυφαινυλ)-αιθανολ-ελαινολικό οξύ (p-HPEA-EDA) (+)-1-ακετόξυπινορεζινόλη (+)-πινορεζινόλη	(80:20)	ανιχνευτή DAD (για τα σεκοϊροιδοειδή) και FLD (για λιγνάνες). Στήλη C18 Folin-Ciocalteu δοκιμασία συνολικών φαινολών	με H_2O με οξικό οξύ 0,2% - Μεθανόλη	Έξτρα παρθένα ελαιόλαδα από οικογενειακές φάρμες		
>Συμβολή για τη θέσπιση ΠΟΠ για το παρθένο ελαιόλαδο της περιοχής Μέκνες	Γαλλικό οξύ	Εκχύλιση με διάλυμα H_2O-MeOH (60:40)	Μέθοδος Folin Ciocalteu		Picholine marocaine Έξτρα παρθένο και Παρθένο Ελαιόλαδο	298	[26]

>Φαινολικό προφιλ του παρθένου ελαιολάδου της περιοχής Μεκνές στο Μαρόκο	Απιγενίνη Καφεϊκό οξύ Φερουλικό οξύ Υδροξυτυροσόλη Λουτεολίνη Ελαιοευρωπαΐνη p-κουμαρικό οξύ πινορεζινόλη Τυροσόλη Ελαιοευρωπαΐνη άγλυκη Λινγκστροσίδη άγλυκη Δεκαρβοξυμεθυλ-ελαιοευρωπαΐνη άγλυκη Διυδρο-ελαιοευρωπαΐνη άγλυκη Μεθυλ-ελαιοευρωπαΐνη άγλυκη Μεθυλ-δεκαρβοξυμεθυλ-ελαιοευρωπαΐνη άγλυκη Δεκαρβοξυμεθυλ-λινγκστροσίδη άγλυκη Διαλδεϋδική μορφή δεκαρβοξυμεθυλ-ελενολικού	Εκχύλιση με διάλυμα H_2O-MeOH (60:40)	HPLC με Waters LC Acquity system, και ανιχνευτή DAD. Ένα σύστημα Agilent 1260-LC με ανιχνευτή DAD Χρήση αναλυτικής στήλης Zorbax C18. Φασματοσκοπία μάζας MS ESI-Time of Flight ESI-Ion Trap MS ESI-TOFF.	Βαθμιδωτή έκλουση που αποτελείται από: Νερό με οξικό οξύ 0,5% - ακετονιτρίλιο	Picholine marocaine παρθένο ελαιόλαδο	142	[27]

	οξέος Desoxy elenolic acid Ελενολικό οξύ Ακετοξυπινορεζινόλη συριγγαρητινόλη						
Το φαινοικά χαρακτηριστιά και η γεωγραφική ταξινόμηση του εμπορικού Έξτρα παρθένου ελαιολάδου ποικιλίας Arbequina που παράγεται στην Νότια Καταλονία	Υδρόξυτυροσόλη Τυροσόλη Hydroxytyrosolacetate Ελενολικό οξύ Υδροξυ-ελενολικό οξύ Δεκαρβοξυμεθυλ-ελαιοευρωπαΐνη άγλυκη Υδροξυ-δεκαρβοξυμεθυλ-ελαιοευρωπαΐνη άγλυκη Συριγγαρεσινόλη Πινορεζινόλη Ακετόξυπινορεζινόλη Δεκαρβοξυμεθυλ-λινγκστροσίδη άγλυκη Υδροξυ-δεκαρβοξυμεθυλ- λινγκστροσίδη	Εκχύλιση στερεής φάσης (SPE)	HPLC με χρήση Agilent 1200 series rapid resolution LC system με ανιχνευτή DAD ESI-TOF/MS	Βαθμιδωτή έκλουση με διάλυμα νερού με 0,25% οξικό οξύ - Μεθανόλη	Έξτρα παρθένα ελαιόλαδα ποικιλίας Arbequina από την Καταλονία	32	[28]

	άγλυκη 10-ύδροξυ-ελαιοευρωπαΐνη άγλυκη Ελαιοευρωπαΐνη άγλυκη Λουτεολίνη Λινγκστροσίδη άγλυκη Απιγενίνη Μεθυλ-ελαιοευρωπαΐνη άγλυκη.						
Προφιλ φαινολικών ενώσεων των παρθένων ελαιολάδων της Βραζιλίας	Φαινολικές αλκοόλες: Υδροξυτυροσόλη Τυροσόλη Hydroxytyrosol acetate Λιγνάνες: (+)-Πινορεζινόλη Συρινγγαρεζινόλη Ακετόξυπινορεζινόλη Υδροξυπινορεζινόλη Σεκοϊροιδοειδή: Ελαιοευρωπαΐνη Ελενολικό οξύ Υδροξυ-	Liquid-liquid $MeOH-H_2O$ (60:40)	HPLC με χρήση Aligent 1200 series Rapid Resolution LC system με στήλη Zorbax Eclipse Plus C18. TOF-MS με ESI	Βαθμιδωτή έκλουση με Νερό που περιέχει 0,25% οξικό οξύ - Μεθανόλη	Παρθένο ελαιόλαδο ποικιλίας Manzanilla, Grappolo, Arbequina, Koroneik, Coratina, Frantoio, Arbosana, MGS Mariense.	25	[29]

	ελενολικό οξύ Δεκαρβοξυμεθυλ - ελαιοευρωπαΐνη άγλυκη Υδροξυ- δεκαρβοξυμεθυλ -ελαιοευρωπαΐνη άγλυκη Δεκαρβοξυμεθυλ - λινγκστροσίδη άγλυκη Υδροξυ- δεκαρβοξυμεθυλ -λινγκστροσίδη άγλυκη 10-ύδροξυ- ελαιοευρωπαΐνη άγλυκη Ελαιοευρωπαΐνη άγλυκη Λινγκστροσίδη άγλυκη Μεθυλ ελαιοευρωπαΐνη άγλυκη Φλαβονοειδή: Λουτεολίνη Απιγενίνη						

Αξιολόγηση χημικών και φαινοτυπικών μεταβολών στον ελαιοκαρπό κατά την ωρίμανση, σε 3 διαφορετικές ποικιλίες ελιάς	Κατεχίνη Γαλλικό οξύ	Σε δείγματα ελιάς προστέθηκε μίγμα MeOH:H_2O 50:50.	Αντιδραστήριο Folin–Ciocalteu Προσθήκη απεσταγμένου νερού σε ποσότητα δείγματος, προσθήκη NaNO2 5%, AlCl3 10%, και NaOH. Μέτρηση απορρόφησης στα 510nm		Blanqueta, Cobranc¸osa, Galega	3	[30]
Προσδιορισμός φαινολικών ενώσεων στο ελαιόλαδο μέσω liquid-liquid micro extraction	Γαλλικό οξύ p-κουμαρικό οξύ Πρωτοκατεχουικό οξύ Φερουλικό οξύ Υδροξυτυροσόλη m-κουμαρικό οξύ p-Υδροξυβενζοϊκό οξύ Τυροσόλη Σιναπικό οξύ p-υδροξυφαινυλοξικό οξύ Ρουτίνη Βανιλλικό οξύ o-κουμαρικό οξύ Καφεΐκό οξύ Ελαιοεωροπαΐνη Βανιλλίνη	Liquid-liquid micro extraction (LLME) με τη χρήση MeOH:H_2O (80:20)	UHPLC με ESI και MS/MS σε Agilent 1200 και 6410 Triple Quad LC/MS με αναλυτική στήλη Zorbax SB-C18	Βαθμιδωτή έκλουση με χρήση Νερού-Οξικού οξέος (0,2%) pH=3,10 και Ακετονιτρίλιο	Παρθένο Ελαιόλαδο		[31]

	Απιγενίνη Άγλυκη ελαιοευρωπαΐνη (3,4-DHPEA-EA) Δεκαρβοξυμεθυλ-ελαιοευρωπαΐνη άγλυκη (3,4-DHPEA-EDA) Κιναμονικό οξύ Λουτεολίνη Πινορεζινόλη 1-ακετόξυ-πινορεζινόλη Ομοβανιλλικό οξύ Μεθυλο-ελαιοευρωπαΐνη άγλυκη Λινγκστροσίδη άγλυκη (p-HPEA-EA) Δεκαρβοξυμεθυλ-λινγκστροσίδη άγλυκη (p-HPEA-EDA) Οξική υδροξυτυροσόλη (3,4-DHPEA-AC)							

Αξιολόγιση της πικρής γεύσης του παρθένου ελαιολάδου με ανάλυση του συνολικού φαινολικού περιεχομένου		Πάστα ελιάς: ζυμώθηκε στους 28 C, και φυγοκεντρήθηκε. Έτοιμο ελαιόλαδο από ελαιοτριβείο	Folin-Ciocalteu		Frantoio Hojiblanca Pictual Arbequina	360	[32]
Σύγκριση των μεθόδων εκχύλισης για την ταυτοποίηση και ποσοτικοποίηση των πολυφαινολών στο παρθένο ελαιόλαδο από φασματομετρία μάζας UHPLC-QTOF	Τυροσόλη Υδροξυτυροσόλη Βανιλλικό οξύ p-κουμαρικό οξύ Φερουλικό οξύ Λουτεολίνη Απιγενίνη	Liquid-liquid Οι πολυφαινόλες διαχωρίστηκαν με Μεθανόλη ή ακετονιτρίλιο με ή χωρίς 1 ποσοστό νερού Solid phase Μεθανόλη και εξάνιο. Οι πολυφαινόλες διαχωρίστηκαν με	HPLC-DAD Thermo Quest SpectraSystem LC, με αναλυτική στήλη Eclipse XDB-C18 LC-MS και MS/MS με Agilent 6550 QToF εξοπλισμένο με AgilentJetStream Technology Dual Spray ESI φασματομετρία μάζας Αντίστροφη UHPLC σε Agilent 1290 με στήλη Zorbax Eclipse Plus C18	Βαθμιδωτή έκλουση με Νερό-Ακετονιτρίλιο (και τα 2 περιήχαν 0,1% φορμικό οξύ)	Leccino Frantoio Carboncella		[33]

		Μεθανόλη ή ακετονιτρίλιο.					
Αξιολόγηση της αντιοξειδωτικής ικανότητας της κάθε φαινολικής ένωσης στο Παρθένο ελαιόλαδο	Υδροξυτυροσόλη Τυροσόλη Ελενολικό οξυ (+) – Πινορεζινόλη (+)-ακετόξυ-Πινορεζινόλη ελαιοευρωπαΐνη άγλυκη Λινγκστροσίδη άγλυκη δεακετόξυ-ελαιοευρωπαΐνη άγλυκη	Liquid-liquid, MeOH-H_2O (60:40)	HPLC σε HP 1100 series με ανιχνευτές DAD σε UV και MS. Στήλη για semi-preparative HPLC: Phenomenex Luna C18 Στήλη για διαχωρισμό στην HPLC Luna C18	Βαθμιδωτή έκλουση Νερό με οξικό οξύ (0,5%) - Ακετονιτρίλιο	Παρθένο ελαιόλαδο		[34]

>Ανίχνευση ελαιοευρωπαΐνης σε ελαιόλαδα με χρήση Φασματομετρίας Μάζας χημικού ιονισμού σε ατμοσφαιρική πίεση	Ελαιοευρωπαΐνη	Solid phase extraction: Δείγμα διαλύεται σε n-εξάνιο και διοχετεύεται στη στήλη. Έκπλυση με n-εξάνιο, και ανακτάται με Μεθανόλη.	HPLC-ESI: με Agilent Technologies 1100 εξοπλισμένο με UV ανιχνευτή. Στήλη Alltime C18. Φασματοσκοπία μάζας MDS Sciex API 2000 triple quadrupole	Βαθμιδωτή έκλουση: Νερό-Μεθανόλη			[35]
Αξιολόγηση έξτρα παρθένων ελαιολάδων που παράγονται από παραδοσιακές ιταλικές ποικιλίες, με βάση το φαινολικό τους προφιλ	Ελαιοευρωπαΐνη Τυροσόλη Υδροξυτυροσόλη p-κουμαρικό οξύ o-κουμαρικό οξύ Καφεΐκό οξύ πρωτοκατεχουικό οξύ	Liquid-liquid: Μεθανόλη με 1% υδατικό διάλυμα HCl (70:30).	Folin-Ciocalteu για ολικό φαινολικό ποσοστό RP-HPLC ανιχνευτή DAD 3000 , στήλη Luna C18	Βαθμιδωτή έκλουση Νερό με οξικό οξύ (0,1%) - ακετονιτρίλιο	Lavagnina Taggiasca Gentile di Larino Leccino Cerasuola Biancolilla	12	[36]
Επιλεκτική ενζυμική υδρόλυση της ελαιοευρωπαΐνης στην άγλυκη μορφή της σε εκχυλίσματα φύλλων ελιάς Olea europaea L.	Ελαιοευρωπαΐνη Ελαιοευρωπαΐνη άγλυκη Λινγστροσίδη άγλυκη Δεκαρβοξυμεθυλ-ελαιοευρωπαΐνη άγλυκη Δεκαρβοξυμεθυλ-λινγκστροσίδη	Φύλλα ελίας αναμίχθηκαν με μεθανόλη-νερό (4:1), σε Vibromatic rocking mixer.	LC με χρήση Agilent 1200 series Στήλη αντίστροφης φάσης C18 Φασματοσκοπία μάζας με χρήση Agilent 6460 triple quadrupole με Jetstream ESI για	Βαθμιδωτή έκλουση με 0,1% φολικό οξύ σε νερό – 0,1% φολικό οξύ σε Μεθανόλη			[37]

	άγλυκη Υδροξυτυροσόλη		ανιχνευτή				
Χαρακτηρισμός καινούργιων φαινολικών ενώσεων από φύλλα της Olea europea L. από high-resolution tandem Mass spectrometry	ελαιοευρωπαΐνη Γλυκοζίτη υδροξυτυροσόλης Ελαιοσίδη Ελαιοσίδη-11-μεθυλεστέρας Λινγκστροσίδη Βερμπασκοσίδη 2-μεθόξυ-υδροξυτυροσόλη Μεθυλιωμένη υδροξυτυροσόλη Διμεθυλ-ελαιοευρωπαΐνη	Σε σκόνη φύλλων ελιάς προστέθηκε Μεθανόλη: Νερό (1:1).	HPLC fractionlynx semi-preparative UV ανιχνευτής και ZDM φαμσατοσκοπία μάζας με ανιχνευτή ESI. Στήλη αντίστροφης φάσης C18 Luna Phenomenex. High Resolution tandem mass spectrometry με ESI	Βαθμιδωτή έκλουση με 5mM $NH_4^+CH_3COO^-$ σε νερό - ακετονιτρίλιο	Carolea Cassabese Coratina Nocellara del Belice Leccino		[38]

>Αξιολόγηση της πικρής και πικάντικης γεύσης του ελαιολάδου με βάση του προφιλ των φαινολικών ενώσεων του, με χρήση HPLC - MS	Υδροξυτυροσόλη Δεσόξυ-ελενολικό οξύ Ελενολικό οξύ Ελενολικός μεθυλεστέρας Απιγενίνη Λουτεολίνη Δεκαρβοξυμεθυλ-λινγκστροσίδη άγλυκη Δεκαρβοξυμεθυλ-ελαιοευρωπαΐνη άγλυκη Δεκαρβοξυμεθυλ-10-OH-ελαιοευρωπαΐνη άγλυκη πινορεζινόλη Διυδρο-λινγκστροσίδη άγλυκη Λινγκστροσίδη άγλυκη Διυδρο-ελαιοευρωπαΐνη άγλυκη ελαιοευρωπαΐνη άγλυκη μεθυλ-ελαιοευρωπαΐνη άγλυκη ακετόξυπινορεζιν	Εκχύλιση με MeOH-H2O (80:20	HPLC-MS σε Agilent series 1290 εξοπλισμένο με 6538 UHD Accurate Mass Q-TOF με ESI (Στήλη Luna PFP)	Βαθμιδωτή έκλουση 0,1% φορμικό οξύ – ακετονιτρίλιο με 0,1% φορμικό οξυ (90:10)		54	[39]

	όλη						
Αξιολόγηση της πικρής γεύσης του έξτρα παρθένου ελαιολάδου με οργανοληπτικές και χημικές αναλύσεις	Ελαιοευρωπαΐνη άγλυκη 3,4-διυδροξυφαινυλεθανολ-ελενολικό οξύ (3,4-DHPEA-EDA) 3,4-διυδροξυφαινυλεθανολη (3,4-DHPEA-EA)	Οι ελιές φυγοκεντρήθηκαν, εκχύλιση 2 φάσεων	Φασματοφωτομετρία στα 225nm με χρήση Cary 1E UV-Visible Spectrophotometer		Coratina Ogliarola Maiatica Leccino Μείγμα ποικιλίας	45	[40]
Ανάλυση μεταβολισμού και μεταβολίτων των φαινολικών ενώσεων του έξτρα παρθένου ελαιολάδου για θεραπευτική δράση έναντι καρκινικών κυττάρων του παχέος έντερου	Δεκαρβοξυμεθυλ-ελαιοευρωπαΐνη άγλυκη Βανιλλίνη Ελαιοευρωπαΐνη άγλυκη 4-υδροξυβενζοϊκό οξύ Βανιλλικό οξύ Οξική υδροξυτυροσόλη 10-H-	Διάλυση σε εξάνιο. Έκλουση μη πολικού κλάσματος με εξάνιο. Προσθήκη μεθανόλης . Ξήρανση υπό κενό, και διάλυση υπολείμματος σε	HPLC-ESI-TOF-MS Με χρήση EASY-nLC, στήλη C18. Φασματοσκοπία μάζας με χρήση Bruker Daltonik microTOF φασματογράφο με ESI	Βαθμιδωτή έκλουση Νερό με οξικό οξύ (0,25%) - Μεθανόλη		14	[41]

	ελαιοευρωπαΐνη άγλυκη Συριγκαρεζινόλ η Ακετόξυ-πινορεζινόλη Πινορεζινόλη Υδροξυτυροσόλη Ελενολικό οξύ Λουτεολίνη Μεθυλ-δεκαρβοξυμεθυλ - ελαιοεωρωπαΐνη άγλυκη Απιγενίνη Μεταβολίτες φαινολικών ενώσεων: Κερκετίνη Μεθυλ-υδροξυ-δεκαρβοξυμεθυλ -ελαιοευρωπαΐνη άγλυκη Μεθυλ-λουτεολίνη	μεθανόλη. Εξάτμιση διαλύτη και διάλυση σε Αιθανόλη					

Χαρακτηρισμός των ισομερών της άγλυκης ελαιοευρωπαΐνης σε ελαιόλαδα με χρήση υγρής χρωματογραφίας ταχείας ανάλυσης συζευγμένης με ESI-TOF και παγίδα ιόντων διαδοχικής φασματομετρίας μάζας	Ελαιοευρωπαΐνη άγλυκη	Εκχύλιση στερεής φάσης. 3 εκπλύσεις με εξάνιο. Ανάκτηση με μεθανόλη.	RRLC: Χρήση Agilent 1200 series RRLC, με στήλη C18 ZORBAX ESI-TOF-MS: χρήση microTOF Bruker, εξοπλισμένο με ESI	Βαθμιδωτή έκλουση: Νερό με Οξικό οξύ (0,5%) – Ακετονιτρίλιο	Holiblanca Picual Cornezuelo Manzanilla Gutamanta Agrosegura Mosteroli Arbequisur	14	[42]
Χαρακτηρισμός και ποσοτικός προσδιορισμός φαινολικών ενώσεων του έξτρα παρθένου ελαιολάδου με αντικαρκινικές ιδιότητες με χρήση RRLC-ESI-TOF MS	Υδροξυτυροσόλη Τυροσόλη Υδροξυ-ελενολικό οξύ Οξική υδροξυτυροσόλη Ελενολικό οξύ Υδροξυ-δεκαρβοξυμεθυλ-ελαιοευρωπαΐνη άγλυκη Δεκαρβοξυμεθυλ-ελαιοευρωπαΐνη άγλυκη Λουτεολίνη Συρινγκαρεζινόλη Υδροξυ-δεκαρβοξυμεθυλ-λινγκστροσίδη άγλυκη Πινορεζινόλη	SPE ανάκτηση φαινολών με μεθανόλη.	Folin-Ciocalteu RRLC με χρήση Agilent 1200-RRLC system, με ανιχνευτή UV-vis και DAD, χρήση στήλης Zorbax C18. MS με χρήση Bruker Daltonik microTOF εξοπλισμένο με ESI και TOF.	Βαθμιδωτή έκλουση: Νερό με οξικό οξύ (0,5%) - Ακετονιτρίλιο	Picual Hojiblanca Arbequina	8	[43]

	Ακετοξυ-πινορεζινόλη 10-υδροξυ-ελαιοευρωπαΐνη άγλυκη Δεκαρβοξυμεθυλ-λινγκστροσίδη άγλυκη Απιγενίνη Μεθυλ-δεκαρβοξυμεθυλ-ελαιοευρωπαΐνη άγλυκη Ελαιοευρωπαΐνη άγλυκη Μεθυλ-ελαιοευρωπαΐνη άγλυκη Μεθυλ-ελαιοευρωπαΐνη άγλυκη Λινγκστροσίδη άγλυκη						
Βιοδραστικά συστατικά από καλλιέργειες κάλους της ελιάς Olea europaea με LC-MS	Υδροξυτυροσόλη Τυροσόλη Ελαιοσίδη-11-μεθυλεστέρας Καφεϊκο οξύ Διμεθυλοελαιοευρωπαΐνη Βερμπασκοσίδη Διμεθυλ-λινγκστροσίδη	>Λυοφιλιμένα δείγματα ομογενοποιούνται σε μεθανόλη:ακετόνη 1:1, κορεσμένο με μεταδιθειώδες νάτριο. .	HPLC: με χρήση 1100 LC, με στήλη Luna C18 και ανιχνευτή UV/VIS ESI-MS	Βαθμιδωτή έκλουση Μεθανόλη – Νερό με 0,1% οξικό οξύ	Coratina		[44]

	Nuezhenide Ολεασίνη Ολεοκανθάλη Ελαιοευρωπαΐνδιόλη Ελαιοευρωπαΐνη Ελαιοροσίδη-10-καρβοξυλικό οξύ Ελαιοροσίδη Λινγκγστροσίδιόλη Λινγκγστροσίδη Hydroxytyrosilelenolate Tyrosilelenolate	Εκχύλιση με εξάνιο: νερό 1:1 5 φορές.					
Προσδιορισμών πολυφαινολών που βρίσκονται σε εμπορικό έξτρα παρθένο ελαιόλαδο από διάφορες περιοχές (Μεσόγειος και Νότια Αμερική) με χρήση LC-ESI-TOF	Καφεϊκό οξύ p-κουμαρικό οξύ Φερουλικό οξύ Γαλλικό οξύ Βανιλλικό οξύ Συρινγκικό οξύ Υδροξυτυροσόλη Τυροσόλη Ελαιοευρωπαΐνη Ελαιοευρωπαΐνη άγλυκη Λινγκστροσίδη άγλυκη Ελενολικό οξύ Απιγενίνη Λουτεολίνη Γιβερελικό οξύ Ρεσβερατόλη	Liquid-liquid με χρήση μεθανόλης: νερού Solid phase extraction: δείγμα αναμιγνίεται με n-εξάνιο, ανάκτηση φαινολικών ενώσεων με μεθανόλη	HPLC: με χρήση Agilent Series με στήλη C18 αντίστροφης φάσης Agilent Zorbax XDB-C18 TOF-MS: με χρήση Agilent TOF 6220 εξοπλισμένο με ESI	Βαθμιδωτή έκλουση Νερό με 0,1% φορμικό οξύ - ακετονιτρίλιο			[45]

Οι μεταβολίτεε που συμμετέχουν στη συσσώρευση και αποδόμιση της Ελαιοευρωπαΐνης στους καρπούς της Olea europaea ποικιλιών Hojublanca και Arbequina	p-υδροξυφαινυλοξικό οξύ Τυροσόλη Λινγκστροσίδη Ελαιοευρωπαΐνη Ελενολικό οξύ Ολεοσίδη-11-μεθυλεστέρας 7-κετολαγανίνη 7-β-1-D-glucopiranosyl 11-methyl oleoside 3,4-διυδροξυφαινυλεθανολ-ελενολικό οξύ (3,4-DHPEA-EDA) 3,4-διυδροξυφαινυλεθανολη (3,4-DHPEA-EA) Λινγκστροσίδη άγλυκη (p-HPEA-EA) Δεκαρβοξυμεθυλ-λινγκστροσίδη άγλυκη (p-HPEA-EDA)	Προσθήκη μείγματος ΕτΟΗ-H_2O 80:20 στο λυοφιλοποιημένο δείγμα.	HPLC: με χρήση Waters AcQuity, στήλη SunFire C18, με ανιχνευτή PDA MS/MS: έγιναν σε TQD εξοπλισμένο με ESI	Βαθμιδωτή και Ισοκρατική έκλουση Νερό με φορμικό οξύ 0,1% - Μεθανόλη	Hojiblanca Arbequina	5 δέντρα από κάθε ποικιλία	[46]

Κύριες πολυφαινόλες που συμβάλλουν στην πικρή γεύση του παρθένου ελαιολάδου. Επιβεβαίωση δομής με χρήση HPLC και ESI-MS	Υδροξυτυροσόλη Τυροσόλη p-υδροξυφαινυλοξικό Βανιλλικό οξύ Βανιλλίνη p-κουμαρικό οξύ Οξική υδροξυτυροσόλη Διαλδεϋδική μορφή δεκαρβοξυμεθυλ-ελαιοευρωπαΐνη άγλυκη Οξική τυροσόλη Ισομερές αλδεϋδικής μορφής άγλυκης ελαιοευρωπαΐνης Διαλδεϋδική μορφή δεκαρβοξυμεθυλ-λινγκστροσίνη άγλυκη Πινορεζινόλη κιναμομικό οξύ L-ακετόξυπινορεζινόλη Λουτεολίνη Αλδεϋδική μορφή της	Διαλύθηκε σε εξάνιο. Το στερεό υπόλειμμα εκλούθηκε με μεθανόλη, εξάτμιση διαλύτη, επαναδιάλυση με μίγμα MeOH-H_2O (1:1)	HPLC με χρήση Hewlett-Packard series 1100 LC system με ανιχνευτή diode array UV. Χρήση στήλης Lichrospher 100RP-18 MS με χρήση DAD ανιχνευτή και ESI	Βαθμιδωτή έκλουση Νερό με φωσφορικό οξύ 0,5% - Μεθανόλη με ακετονιτρίλιο (50:50)	Picual Hojublanca Cornicabra Commercial olive oils	20	[47]

	άγλυκης ελαιοευρωπαΐνης Απιγενίνη Αλδεϋδικη μορφή της άγλυκης λινγκστροσίνης						
>Άμεση μέτρηση επιπέδων Ολεασίνης και Ολεοκανθάλης σε Ελαιόλαδα με NMR. Δημιουργία ενός νέου δείκτη για τον χαρακτηρισμό των έξτρα παρθένων ελαιολάδων	Ολεασίνη Ολεοκανθάλη Άγλυκη Ελαιοευρωπαΐνη Άγλυκη λιγνκστροσίδη	>Το δείγμα ελαιολάδου αναμίχθηκε με κυκλοεξάνιο και ακετονιτρίλιο, ομογενοποιήθηκε, φυγοκεντρήθηκε. Η φάση του ακετονιτριλίου συλλέχθηκε, προστέθηκε διάλυμα συριγγαλδεΰδης.	NMR: με χρήση Bruker Avance 600. Μέτρηση ^1H στα 600MHz		Adramytini Athenolia Koroneiki Manaki Megaritiki Throuba Kolovi	175	[48]

>Ποσοτική μέτρηση των κύριων παραγώγων των σεκοϊροιδοειδών σε ελαιόλαδο με τη χρήση qNMR και απόδειξη τεχνητού σχηματισμού αλδεϋδικών ισομερών των ελαιοευρωπαΐνη άγλυκη και λινγκστροσίδη άγλυκη	Ολεασίνη Ολεοκανθάλη Άγλυκη Ελαιοευρωπαΐνη Άγλυκη λιγνκστροσίδη	>Το δείγμα ελαιολάδου αναμίχθηκε με κυκλοεξάνιο και ακετονιτρίλιο, ομογενοποιήθηκε, φυγοκεντρήθηκε. Η φάση του ακετονιτριλίου συλλέχθηκε, προστέθηκε διάλυμα συριγγαλδεΰδης.	NMR: με χρήση Bruker Avance 600. Μέτρηση ^{1}H στα 600MHz			340	[49]
>Φαινολικό προφιλ ελαιολάδου και προιόντων που προέρχονται από επεξεργασία ελαιολάδου με τη χρήση UPLC-DAD-ESI-QTOF-HRMS	Απλές φαινόλες: Γλυκοζίτης Υδροξυτυροσόλη Υδροξυτυροσόλη -1-β-γλυκοζίτης Υδροξυτυροσόλη Γλυκοζίτης τυροσόλης Τυροσόλη Οξική υδροξυτυροσόλη	Σε αποφλοιωμένα φρούτα, σπόρους, πάστα ελιάς, και λύματα. >Solid-liquid extraction με καθαρή	UPLC: με χρήση του συστήματος Waters UPLC εξοπλισμένο με DAD και HRMS-QTOF Synapt MS με ESI από την Waters. Η στήλη ήταν Kinetex PFP	Βαθμιδωτή έκλουση: Νερό με οξικό οξύ (95:5) - Μεθανόλη	Istrska belica		[50]

	Βενζοΐκά οξέα: Βανιλλικό οξύ Βανιλλίνη Κιναμομικά οξέα: p-κουμαρικό οξύ Βερμπασκοσίδη Φλαβονοειδή: Ρουτίνη Λουτεολίνη-4-O-διγλυκοζίτης Λουτεολίνη-7-O-γλυκοζίτης Λουτεολίνη-4-O-γλυκοζίτης Λουτεολίνη-3-O-γλυκοζίτης Λουτεολινη-ρουτινοσίδη Απιγενίνη-7-O-γλυκοζίτης Λουτελίνη Απιγενίνη Λιγνάνες: Πινορεζινόλη Ακετόξυ-πινορεζινόλη Σεκοϊροϊδοειδή: Ελαιοσίδη Secologanoside	μεθανόλη Σε ελαιόλαδο: >liquid-liquid extraction με καθαρή μεθανόλη					

	Γλυκοζίτης ελενολικού οξέος Διμεθυλ-ελαιοευρωπαΐνη Διυδρο-ελαιοευρωπαΐνη Δεκαρβοξυμεθυλ-ελαιοευρωπαΐνη άγλυκη Διγλυκοζίτης ελαιοευρωπαΐνης Nuzhenide Ελαιοευρωπαΐνη άγλυκη Ελαιοευρωπαΐνη Ελαιοροσίδη Καφεουλ-6-σεκολογανοσίδη p-(υδροξυφαινυλ)-αιθανολ-ελαινολικό οξύ Λινγκστροσίδη Comselogoside Ακετυλο-δεκαρβοξυμεθυλ-ελαιοευρωπαΐνη άγλυκη Άγλυκη λινγκστροσίδη Nuzhenide-11-methyl oleoside						

	Nuzhenide di-(11-methyl oleoside)						
>Παρακολούθηση των φαινολικών ενώσεων σε ελληνικά εξαιρετικά παρθένα ελαιόλαδα κατά την αποθήκευση	Υδροξυτυροσόλη Τυροσόλη p-υδροξυφαινυλ-οξικό οξύ Βανιλλικό οξύ Οξική υδροξυτυροσόλη DAFOA Συρινγκαρεζινόλη 1-ακετόξυ-πινορεζινόλη Λουτεολίνη Απιγενίνη Διαλδεϋδική μορφή ελαιοευρωπαΐνης άγλυκης Διαλδεϋδική μορφή λινγκστροσίδης άγλυκης	liquid-liquid extraction	HPLC-UV σε JASCO με ανιχνευτή UV 970, με χρήση στηλών: Lichrospher 100RP18 και Luna RP-C18. LC-DAD-MS: σε Agilent 1100 Series LC/MSD Trap, μοντέλο SL, εξοπλισμένο με DAD 1100.	Βαθμιδωτή έκλουση: Νερό με Οξικό οξύ (2%) – μίγμα ακετονιτρίλιου και μεθανόλης (1:1)	Koroneiki Lianolia Asprolia Thiaki	42	[51]

Σταθερότητα των φαινολικών ενώσεων στο παρθένο ελαιόλαδο κατά τη διάρκεια μακροχρόνιας αποθήκευσης (18 μηνών) σε θερμοκρασίες 5-50 ° C	p-(υδροξυφαινυλ)-αιθανολ-ελαινολικό οξύ Λινγκστροσίδη άγλυκη (p-HPEA-EA) Δεκαρβοξυμεθυλ-λινγκστροσίδη άγλυκη (p-HPEA-EDA) Άγλυκη ελαιοευρωπαΐνη	Το φαινολικό υπόλειμμα διαλύθηκε σε διάλυμμα MeOH-H_2O.	HPLC με χρήση Agilent Technologies series 1100 εξοπλισμένο με ανιχνευτή DAD-UV. Χρήση στήλης Spherisorb S3 ODS2	Βαθμιδωτή έκλουση: Νερό με οξικό οξύ (95:5) – Μεθανόλη - Ακετονιτρίλιο	Chetoui El Hor Oueslati Chemlali		[52]
Χαρακτηρισμός του φαινολικού προφιλ της ποικιλίας ελιάς Picholine	4-υδροξυλοβενζοϊκό οξύ Βανιλλικό οξύ Καφεϊκό οξύ Σαλικυλικό οξύ Ρουτίνη Ελαιοευρωπαΐνη Κιναμομικό οξύ Επικατεχίνη Κερκετίνη 6-υδροξυφλαβόνη Μεθόξυφλαβόνη Εσπεριτίνη Εσπεριδίνη-ναρινγήν	Αλεσμένα ξηρά φύλλα ελιάς, εκχύλιση 2 φορές με μίγμα απεσταγμένο νερό-ακετόνη (13:9).Εκχύλιση με διαιθυλαιθέρα.	LC/MS	Βαθμιδωτή έκλουση	Picholine		[53]

	Υδροξυτυροσόλη Τυροσόλη Βανιλλίνη p-κουμαρικό οξύ Οξική υδροξυτυροσόλη Ελενολικό οξύ Ύδροξυ-ελενολικό οξύ Δεκαρβοξυμεθυλ-ελαιοευρωπαΐνη άγλυκη Ύδροξυ-D-ελαιοευρωπαΐνη άγλυκη Συρινγκαρεζινόλη Πινορεζινόλη Δεκαρβοξυμεθυλ-λινγκστροσίδη άγλυκη Υδροξυ-D-λινγκστροσίδη άγλυκη 10-ύδροξυ-ελαιοευρωπαΐνη άγλυκη Ελαιοευρωπαΐνη άγλυκη Λουτεολίνη Μεθυλ-D-ελαιοευρωπαΐνη άγλυκη		RRLC-MS: με χρήση Agilent 1200-RRLC σύστημα εξοπλισμένο με ανιχνευτή UV. Η στήλη ήταν Zorbax Eclipse Plus C18		Hojiblanca Picual Cornezuelo Manzanilla Arbequina	14	[54]

	Λινγκστροσίδη άγλυκη Απιγενίνη Μεθυλ-ελαιοευρωπαΐνη άγλυκη						
Αξιολόγηση της πικρής γεύσης του παρθένου ελαιολάδου με ποσοτικοποίηση των παραγώγων των Σεκοϊροιδοειδών	Διαλδεϋδική μορφή της δεκαρβοξυμεθυλ-ελαιοευρωπαΐνης άγλυκης Διαλδεϋδική μορφή της δεκαρβοξυμεθυλ-λινγκστροσίδης άγλυκης Αλδεϋδική μορφή της άγλυκης ελαιοευρωπαΐνης Αλδεϋδική μορφή της άγλυκης λινκστροσίδης	Solid phase extraction	RP-HPLC με χρήση DAD-UV ανιχνευτή στα 280nm		Arbequina Cobrancosa Hojiblanca Manzanilla Picual Verdial	46	[55]

Εύρεση τυροσόλης και υδροξυτυροσόλη σε ελαιόλαδο με τη μέθοδο διαδοχικής φασματομετρίας μάζας	Υδροξυτυροσόλη Τυροσόλη	Το δείγμα διαλύεται σε μεθανόλη.Αραιώθηκε το υπερκείμενο υγρό με νερό.	MS: Χρήση φασματομέτρου LC 320 εξοπλισμένο με ESI. HPLC: με χρήση Prostar 210, με χρήση στήλης Hypersyl Gold C18	Βαθμιδωτή έκλουση: Νερό με 0,1% NH_4OH - Μεθανόλη		6	[56]
Μεταβολικό προφίλ διαφόρων οργάνων Olea europaea των ποικιλιών Koroneiki και Chetoui με χρήση UHPLC-DAD-FLD και UHPLC-HRMS/MS	Γλυκοζίτης υδροξυτυροσόλης Calceolarioside Aesculin Γαλλοκατεχίνη Διγλυκοζίτης της φλαβονόλης Ταξιφολήνη Ρουτίνη Γλυκοζίτης κερκετίνης Γλυκοζίτης λουτεολίνης Ρουτινοσίδη λουτεολίνης Απιγενίνη-7-O-γλυκοζίτης Απιγενίνη-7-O-ρουτινοσίδη Γλυκοζίτης Διοσμετίνης Διοσμίνη Κερκετίνη	Pressurised Liquid Extraction (PLE) με μεθανόλη και οξικό αιθυλεστέρα. Liquid liquid extraction για απολίπανση. Διάλυση σε Μεθανόλη	UHPLC-DAD-Fluorimetry: με χρήση Acquity UHPLC, η στήλη ήταν Acquiti UHPLC BEH C18 ανιχνευτής UV UHPLC-ESI-HRMS/MS: με χρήση Accela High Speed LC συνδεδεμέννο σε υβρίδιο LTQ Orbitrap XL φασματόμετρο μάζας εξοπλισμένο με ESI. Χρήση στήλης Ascentis Express Fused-Core C18	Βαθμιδωτή έκλουση Νερό με 0,1% φορμικό οξύ – ακετονιτρίλιο με 0,1% φορμικό οξύ Βαθμιδωτή έκλουση Νερό με 0,1% φορμικό οξύ - Ακετονιτρίλιο	Koroneiki Chetoui	2	[57]

	Απιγενίνη β-υδροξυβερμπασκοσίδη β-μεθόξυβερμπασκοσίδη Βερμπασκοσίδη Ισοβερμπασκοσίδη Ολεοσίδη Μεθυλεστέρας ολεοσίδης Λογανίνη 7-β-1-D-γλυκοπιναροζινόλη-11-μεθυλολεασίδη Σεκολογανοσίδη Μεθυλεστλερας ολεασίδης Διμεθυλ-ελαιοευρωπαΐνη 7-δεοξυλογανικό οξύ Υδροξυελαιοευρωπαΐνη Ολεακίνη Γλυκοζίτης Ελαιοευρωπαΐνης Υδρόξυ-Ο-δεκαρβοξυμεθυλ						

	-ελαιοευρωπαΐνη άγλυκη Μεθόξυελαιοευρωπαΐνη Ελαιοευρωπαΐνη p-κουμαρουλ-6-σεκολογανοσίδη Υδροξυολεοροσίδη Λινγκστροσίδη Διυδροελαιοευρωπαΐνη Άγλυκη υδροξυελαιοευρωπαΐνη Ολιβίλη (+)-1-υδροξυπινορεζινόλη-4-β-D-γλυκοζίτης (+)-1-ακετόξυπινορεζινόλη-4-β-D-γλυκοζίτης Μασλινικό οξύ Ολεανολικό οξύ Καφεϊκό οξύ διγλυκοζιλιωμένο						

Ποσοτικός προσδιορισμός και χαρακτηρισμός φαινολικών ενώσεων σε εξαιρετικά παρθένα ελαιόλαδα ανάλογα με τη γεωγραφική προέλευση τους με RRLC-ESI-TOF-MS	Κουινικό οξύ Υδροξυτυροσόλη Τυροσόλη Βανιλλικό οξύ ο-κουμαρικό οξύ Φερουλικό οξύ Οξική υδροξυτυροσόλη Ελενολικό οξύ Δεκαρβοξυμεθυλ-ελαιοευρωπαΐνη άγλυκη Υδροξυελενολικό οξύ Υδροξυ-δεκαρβοξυμεθυλ-ελαιοευρωπαΐνη άγλυκη Συρινγκαρεζινόλη Πινορεζινόλη Υδροξυ-δεκαρβοξυμεθυλ-λινγκστροσίδη άγλυκη Ακετόξυπινορεζινόλη Μεθυλ-δεκαρβοξυμεθυλ-ελαιοευρωπαΐνη άγλυκη Σιναπινικό οξύ 10-υδροξυ-	Εκχύλιση με εξάνιο και MeOH-H_2O (60:40)	Folin-Ciocalteau και απορρόφηση στα 725nm RRLC: με χρήση Agilent 1200-RRLC εξοπλισμένο με ανιχνευτή UV-Vis και DAD MS: με χρήση Bruker Daltonik microTOF φασματόμετρο μάζας εξοπλισμένο με ESI		Oueslati	7	[58]

	ελαιοευρωπαΐνη άγλυκη Ελαιοευρωπαΐνη άγλυκη Λουτεολίνη Λινγκστροσίδη άγλυκη Απιγενίνη						
Στατιστική ανάλυση των πολικών ενώσεων ισπανικών ελαιολάδων με χρήση LC/MS	Τυροσόλη Υδρόξυτυροσόλη Οξική υδροξυτυροσόλη Υδροξυ-δεκαρβοξυμεθυλ-ελενολικό οξύ Υδροξυ-δεκαρβοξυ-ελενολικό οξύ Δεσοξυ-ελενολικό οξύ Μυριστικό οξύ Ελενολικό οξύ Ελενολικός μεθυλεστέρας Υδροξυελενολικό οξύ Απιγενίνη Λουτεολίνη Ολεοκανθάλη Υδροξυτυροσόλη-4-Ο-γλυκοζίτης Ολεασίνη	Liquid-liquid extraction Εκχυλίστηκαν 3 φορές με DMF	LC/MS: αντίστροφης φάσης, με χρήση στήλης Brownlee SPP C18 με ανιχνευτή AxION 2 TOF MS εξοπλισμένο με Ultraspray 2 πηγή ιόντων	Βαθμιδωτή έκλουση: Νερό-Μεθανόλη	Manzanilla Cacerena Arbequina Picual Arbequina Empeltre Cornicabra Μείγμα από Hojiblanco, Picudo, Picual		[59]

	10-OH-δεκαρβοξυμεθυλ-ελαιοευρωπαΐνη άγλυκη Πινορεζινόλη Διυδρολινγκστροσίδη άγλυκη Λινγκστροσίδη άγλυκη (+)-1-Υδροξυπινορεζινόλη Διυδροελαιοευρωπαΐνη άγλυκη Ελαιοευρωπαΐνη άγλυκη Μεθυλ-ελαιοευρωπαιΐνη άγλυκη Υδροξυ-ελαιοευρωπαΐνη άγλυκη Ολεασίδη-11-μεθυλεστέρας (+)-1-ακετοξυπινορεζινόλη						

Γεωγραφικός χαρακτηρισμός Ελληνικών Παρθένων Ελαιολάδων με χρήση NMR και με βιοστατιστική μέθοδο	Συρινγκαρεζινόλη 1-ακετόξυπινορεζινόλη τ-υδροξυτυροσόλη τ-τυροσόλη p-κουμαρικό οξύ f-τυροσόλη f-υδροξυτυροσόλη ομοβανιλλική αλκόολη Λουτεολίνη Απιγενίνη Πινορεζινόλη	Εκχύλιση με χρήση μίγματος EtOH-H_2O (80:20)	NMR: χρήση Bruker AMX 500		Koroneiki	131	[60]
Σύγκριση διαφορετικών μεθόδων εκχύλισης για τον προσδιορισμό φαινολικών ενώσεων σε παρθένο ελαιόλαδο	Γαλλικό οξύ Υδροξυτυροσόλη Τυροσόλη Βανιλλικό οξύ Καφεϊκό οξύ Βανιλλίνη p-κουμαρικό οξύ Σιναπικό οξύ ο-κουμαρικό οξύ Ρουτίνη Ελαιοευρωπαΐνη Λουτεολίνη Απιγενίνη	Για συνολικές Φαινόλες Liquid-liquid extraction (LLE): Εκχύλιση φαινολικής φάσης με μεθανόλη 60% Liquid-liquid Micro extraction	Folin-Ciocalteau HPLC: με χρήση Agilent 1100 με ανιχνευτή DAD	Βαθμιδωτή έκλουση Νερό με μεθανόλη και οξικό οξύ (93:5:2) – Μεθανόλη-οξικό οξύ (98:2)		5	[61]

		(LLME): Δείγμα με μίγμα MeOH-H_2O (80:20), Ultrasound liquid-liquid extraction (USE): δείγμα με μίγμα MeOH-H_2O (80:20) και ακτινοβολείται με ανιχνευτή υπερήχων. Για διαφοροποίηση φαινολών: Solid phase extraction (SPE): δείγμα με n-εξάνιο, έκλουση με μεθανόλη. Liquid-liquid microextraction					

		(LLME): δείμα με μίγμα Μεθανόλης: Νερού (80:20), Ultrasound extraction (USE): δείγμα με μίγμα MeOH-H_2O (80:20)					
Χρήση HPLC-ESI-QTOF-MS για ανάλυση και χαρακτηρισμό των φαινολικών ενώσεων σε εκχυλίσματα ελιάς	Ολεασίδη Υδροξυτυροσόλη p-υδροξυβενζοϊκό οξύ Διγλυκοζίτης ελενολικού οξέος p-κουμαρικό οξύ Βανιλλίνη Ολεασίδη μεθυλεστέρας 7-επιλογάνινη Γλυκοζίτης ελενολικού οξέος Λουτεολίνη-7,4-O-διγλυκοζίτης Υδροξυελαιοευρωπαΐνη Λουτεολίνη-7-O-	Pressurised liquid extraction (PLE): αιθανόλη ή νερό ως διαλύτες εκχύλισης.	HPLC-ESI-QTOF-MS: χρήση Agilent 1100 LC με στήλη Phenomenex Gemini C18. Συνδεδεμένο με microTOF-Q-II φασματόμετρο μάζας με ESI.	Βαθμιδωτή έκλουση Νερό με 0,5% οξικό οξύ - Ακετονιτρίλιο			[62]

	ρουτινοσίδη Ρουτίνη Βερμπασκοσίδη Οξική υδροξυτυροσόλη Λουτεολίνη-7-O-γλυκοζίτης Διγλυκοζίτης ελαιοευρωπαΐνης Απιγενίνη-7-O-ρουτινοσίδη Απιγενίνη-7-O-γλυκοζίτης Λουτεολίνη-4-O-γλυκοζίτης Λουτεολίνη-3-O-γλυκοζίτης Ελαιοευρωπαΐνη Λινγκστροσίδη						
Ποιότητα των εξαιρετικά παρθένων ελαιολάδων που παράγονται στη βορειοδυτική Ισπανία	Υδροξυτυροσόλη Τυροσόλη Βανιλλικό οξύ p-κουμαρικό οξύ Λουτεολίνη Απιγενίνη Πινορεζινόλη	Ultrasound-assisted emulsification-microextraction (USAEME)	HPLC-DAD		Picual Morisca Manzanilla de Sevilla	3	[63]

Παρθένο ελαιόλαδο εμπλουτισμένο με δικές του φαινόλες ή συμπληρωμένο με φαινόλες θυμαριού φαινόλες θυμαριού βελτιώνει την προστασία του DNA από την οξείδωση και την αντιοξειδωτική δραστηριότητα του ενζύμου στα υπερλιπιδαιμικά άτομα	Υδροξυτυροσόλη Οξική υδροξυτυροσόλη Δεκαρβοξυμεθυλ 0ελαιοευρωπαΐν η άγλυκη Άγλυκη ελαιοευρωπαΐνη p-υδροξυβενζοϊκό οξύ Βανιλλικό οξύ Καφεϊκό οξύ Ροσμαρικό οξύ Λουτεολίνη Απιγενίνη Ναρινγενίνη Εριοδικτιόλη Πινορεζινόλη Ακετόξυπινορεζιν όλη		Folin-Ciocalteau HPLC-MS/MS			3	[64]
Χαρακτηρισμός συγκεκριμένων ποικιλιών παρθένων ελαιολάδων από το φαινολικό τους προφιλ	Υδροξυτυροσόλη Τυροσόλη Καφεϊκό οξύ p-κουμαρικό οξύ Φερουλικό οξύ Ελαιοευρωπαΐνη Λουτεολίνη Απιγενίνη Βανιλλικό οξύ Βανιλλίνη Διοσμετίνη Κερκετίνη	Δείγμα ελαιολάδου αναμιγνυετ αι με εξάνιο και μίγμα MeOH-H_2O (60:40) Εκχύληση απευθείας σε LC-QqQ.	LC-MS/MS: με χρήση στήλης Mediterranea C18 και χρήση ESI	Βαθμιδωτή έκλουση: Νερό με 0,1% φορμικό οξύ – Μεθανόλη με 0,1% φορμικό οξύ	Arbequina Arbosana Cornicabra Hojiblanca Picual Sikitita FS-17	7	[65]

	Απιγενίνη-7-Ο-γλυκοζίτης Λουτεολίνη-7-γλυκοζίτης Βερμπασκοσίδη						
Πικρή γεύση και φαινολικές ενώσεις στο εξαιρετικά παρθένο ελαιόλαδο: εμπειρική σχέση	Υδροξυτυροσόλη Τυροσόλη Διαλδεϋδική μορφή της δεκαρβοξυμεθυλ-ελαιοευρωπαΐνη άγλυκη Διαλδεϋδική μορφή της ελαιοευρωπαΐνης άγλυκης Διαλδεϋδική μορφή της δεκαρβοξυμεθυλ-λινγκστροσίδης Διαλδεϋδική μορφή της λινγκστροσίδης άγλυκης Ελαιοευρωπαΐνη άγλυκη Λινγκστροσίδη άγλυκη	Δείγμα διαλύεται σε εξάνιο	HPLC: με χρήση στήλης Spherisorb ODS-2 RP18 και εξοπλισμένη με DAD.	Βαθμιδωτή έκλουση: Νερό-Μεθανόλη-Ακετονιτρίλιο		41	[66]

Αλλαγές στα χαρακτηριστικά του παρθένου ελαιολάδου σε διαφορετικές συνθήκες αποθήκευσης	Τυροσόλη Υδροξυτυροσόλη Δεκαρβοξυμεθυλ-ελαιοευρωπαΐνη άγλυκη Άγλυκη ελαιοευρωπαΐνη	Εκχύλιση φαινολικών ενώσεων από ελαιόλαδο με τη χρήση MeOH-H_2O (80:20).	HPLC: με χρήση στήλης Lichrosphere 100 RP-18 με ανιχνευτή Jasco UV 970.		Koroneiki	1	[67]
Ταξινόμηση των ελιών “Chemlali” σύμφωνα με τη γεωγραφική περιοχή χρησιμοποιώντας χημειομετρικές μεθόδους για εύρεση του φαινολικού τους προφιλ μέσω HPLC-ESI-TOF-MS	Υδροξυτυροσόλη Τυροσόλη Ελενολικό οξύ Οξική υδροξυτυροσόλη Δεκαρβοξυμεθυλ-ελαιοευρωπαΐνη άγλυκη Ελαιοευρωπαΐνη άγλυκη 10-ύδροξυ-ελαιοευρωπαΐνη άγλυκη Δεκαρβοξυμεθυλ-λινγκστροσίδη άγλυκη Λινγκστροσίδη άγλυκη Πινορεζινόλη Λουτεολίνη ακετόξυ-πινορεζινόλη Απιγενίνη Υδροξυπινορεζιν	Δείγμα ελαίου διαλύεται σε εξάνιο. Προσθήκη μίγματος MeOH-H_2O (60:40), Προσθήκη MeOH-H_2O (50:50).	HPLC-MS: με τη χρήση Agilent 1200 RRLC εξοπλισμένου με DAD. Στήλη Zorbax Eclipse Plus C18. Σύνδεση με microTOF εξοπλισμένου με ESI	Βαθμιδωτή έκλουση: Νερό με 0,25% οξικό οξύ – Μεθανόλη	Chemlali	13	[68]

	όλη Βανιλλικό οξύ ο-κουμαρικό οξύ Φερουλικό οξύ Κουινικό οξύ Σιναπικό οξύ Υδροξυελενολικό οξύ Υδροξυ-δεκαρβοξυμεθυλ-ελαιοευρωπαΐνη άγλυκη Συρινγκαρεζινόλη						
Εκχύλιση, διαχωρισμός και ποιοτικός προσδιορισμός φαινολικών ενώσεων σε παρθένο ελαιόλαδο με HPLC-DAD και HPLC-MS	Υδροξυτυροσόλη Τυροσόλη p-υδροξυφαινυλοξικό οξύ Διαλδεϋδική μορφή άγλυκης ελαιοευρωπαΐνης Διαλδεϋδική μορφή άγλυκης λινγκστροσίδης 1-ακετοξυπινορεζινόλη Λουτεολίνη Αλδεϋδική μορφή ελαιοευρωπαΐνης	Liquid-liquid extraction: Διάλυση σε μεθανόλη 1)Διάλυση σε διάλυμα MeOH-H_2O 1:1. Έκπλυση με εξάνιο. 2)Διάλυση σε ακετονιτρίλιο. Έκπλυση με εξάνιο. Εξάτμιση	HPLC: με χρήση JACSO LG-980-02 και ανιχνευτή UV/vis UV-970. Χρήση στήλης RP-C18 Luna. LC-DAD-MS: με τη χρήση Trap SL 1100 εξοπλισμένο με DAD 1100	Βαθμιδωτή έκλουση: Νερό με οξικό οξύ (97.5:2.5) – μεθανόλη με ακετονιτρίλιο (1:1)	Lianolia Kolovi Adramytiani Koroneiki Native Thiaki Asprolia		[69]

	άγλυκης Αλδεϋδική μορφή άγλυκης λινγκστροσίδης Βανιλλικό οξύ p-κουμαρικό οξύ Φερουλικό οξύ Οξική υδροξυτυροσόλη Πινορεζινόλη Απιγενίνη	διαλύτη και επαναδιαλυτοποίηση σε μεθανόλη:νερό 1:1 3)Διάλυση σε Ν-Ν-διμεθυλοφορμαμίδιο. Έκπλυση με εξάνιο.					
Φαινολικά σεκοϊροιδοειδή σε παρθένο ελαιόλαδο. Εξαιρετικό παρθένο ελαιόλαδο ως πηγή νέων φυτοχημικών αντιγηραντικών	Υδροξυτυροσόλη Τυροσόλη Βανιλλίνη p-κουμαρικό οξύ Οξική υδροξυτυροσόλη Ελενολικό οξύ Υδρόξυ-ελενολικό οξύ Δεκαρβοξυμεθυλ-ελαιοευρωπαΐνη άγλυκη Υδροξυ-D-ελαιοευρωπαΐνη άγλυκη Συρινγκαρεζινόλη Πινορεζινόλη Δεκαρβοξυμεθυλ-λινγκστροσίδη	Solid phase extraction: δείγμα διαλύθηκε σε μεθανόλη, έκπλυση με εξάνιο.	RRLC: με χρήση Agilent 1200-RRLC εξοπλισμένο με ανιχνευτή UV/vis. Χρήση στήλης Zorbax Eclipse Plus C18. Αυτό συνδέθηκε με ESI-TOF-MS	Βαθμιδωτή έκλουση: Νερό με 0,25% οξικό οξύ – Μεθανόλη	Picual	1	[70]

	άγλυκη Υδροξυ-D-λινγκστροσίδη άγλυκη 10-υδροξυ-ελαιοευρωπαΐνη άγλυκη Ελαιοευρωπαΐνη άγλυκη Λουτεολίνη Μεθυλ-D-ελαιοευρωπαΐνη άγλυκη Λινγκστροσίδη άγλυκη Απιγενίνη Μεθυλ-ελαιοευρωπαΐνη άγλυκη						
Χαρακτηρισμός των σεκοϊροιδοειδών παρθένου ελαιολάδου μέσω HSMS και ακριβείς MS	Άγλυκη ελαιοευρωπαΐνη Άγλυκη λινγκστροσίδη Άγλυκο ελενολικό οξύ	Δείγμα διαλύεται σε εξάνιο και εκχυλίζεται με μίγμα MeOH-H_2O (60:40).	HPLC: με χρήση στήλης C18 Fused-Core MS: με χρήση Exactive HCD Orbitrap και Q-Exactive hybrid Orbitrap MS, και τα δυο εξοπλισμένα με ESI	Βαθμιδωτή έκλουση: Νερό με 0,1% φορμικό οξύ – μεθανόλη με 0,1% φορμικό οξύ	Picual Arbequina Frantoio Coratina	4	[71]

Επίδραση του έτους συγκομιδής, της ποικιλίας, και της γεωγραφικής προέλευσης στη σύνθεση του ελληνικού εξαιρετικού παρθένου ελαιολάδου: μελέτη με φασματοσκοπία NMR και βιομετρική ανάλυση	Συρινγαρεζινόλη 1-ακετόξυπινορεζινόλη τ-Υδροξυτυροσόλη τ-Τυροσόλη p-κουμαρικό οξύ f-Τυροσόλη f-Υδρόξυτυροσόλη Ομοβανιλλίνη Λουτεολίνη Απιγενίνη Πινορεζινόλη	Δείγμα ελαιολάδου αναμιγνύεται με μίγμα MeOH-H_2O (80:20) και εκχυλίζεται	NMR: με τη χρήση Bruker AMX500 φασματομέτρου		Koroneiki Tsounati Adramitini Throubolia	221	[72]
Αξιολόγηση του φαινολικού προφιλ ως χαρακτηριστικό μεταξύ εξαιρετικά παρθένων ελαιολάδων από ελεγχόμενες ονομασίες και προελέυσεις του Μαρόκου.	Απλές φαινόλες Υδροξυτυροσόλη Τυροσόλη Σεκοϊροιδοειδή: Δεκαρβοξυμεθυλ-ελενολικό οξύ Δεσοξυ-ελενολικό οξύ Υδροξυελενολικό οξύ Ελενολικό οξύ Δεκαρβοξυμεθυλ-ελαιοευρωπαΐνη άγλυκη Μεθυλ-δεκαρβόξυ-ελαιοευρωπαΐνη	Liquid-liquid extraction: Μεθανόλη: Νερό (60:40)	HPLC: με χρήση Agilent 1260-LC και στήλη Zorbax C18. Ο ανιχνευτής ήταν DAD MS: με χρήση Bruker Daltonik Esquire 2000 Ion Trap εξοπλισμένο με ESI. Χρήση ESI-QTOF φασματομέτρου	Βαθμιδωτή έκλουση: Νερό με 0,5% οξικό οξύ – Ακετονιτρίλιο	Picholine Marocaine	136	[73]

	άγλυκη Δεκαρβοξυμεθυλ-λινγκστροσίδη άγλυκη Διυδρο-ελαιοευρωπαΐνη άγλυκη Ελαιοευρωπαΐνη άγλυκη Μεθυλ-ελαιοευρωπαΐνη άγλυκη Λινγκστροσίδη άγλυκη Λιγνάνες: Συρινγκαρεζινόλη Πινορεζινόλη Ακετόξυπινορεζινόλη Φλαβονοειδή; Λουτεολίνη Απιγενίνη Φαινολικά οξέα: p-κουμαρικό οξύ Κουινικό οξύ						

Γεωγραφική ανιχνευσιμότητα του εξαιρετικά παρθένου ελαιολάδου της περιοχής Sabina με χρωματογραφική λήψη αποτυπωμάτων του φαινολικού κλάσματος	Βανιλλικό οξύ p-κουμαρικό οξύ Λουτεολίνη Πινορεζινόλη Ακετοξυπινορεζινόλη Απιγενίνη Μεθοξυλουτεολίνη	Rapid liquid-liquid extraction: MeOH-H_2O (80:20)	HPLC/DAD: με χρήση Thermo Quest Spectrasistem LC εξοπλισμένο με UV6000-vis DAD. Χρήση στήλης Eclipse XDB-C18 HPLC/ESI-MS: με χρήση Perkin-Elmer series 200 LC. Χρήση φασματομέτρου QTRAP quadrupoe linear ion trap. Χρήση στήλης Altima-C18	Βαθμιδωτή έκλουση: Νερό με 0,1% φορμικό οξύ – Μεθανόλη με 0,1% φορμικό οξύ		20	[77]
Σύγκριση LC και GC συνδεδεμένες με MS για ανάλυση φαινολικού προφιλ του εξαιρετικά παρθένου ελαιολάδου.	Υδροξυτυροσόλη Τυροσόλη Δεκαρβοξυμεθυλ-ελενολικό οξύ Δεσόξυ-ελενολικό οξύ Υδροξυ-ελενολικό οξύ Οξική υδροξυτυροσόλη Ελενολικό οξύ Υδροξυ-δεκαρβοξυμεθυλ-ελαιοευρωπαΐνη άγλυκη	SPE MeOH	LC-ESI-TOF MS: με χρήση Agilent 1200-RRLC εξοπλισμένο με DAD και στήλη Zorbax C18. Συνδεδεμένο με Bruker Daltonik microTOF και ESI. GC-MS: με χρήση Agilent 7890A με στήλη HP-5MS. Συνδεδεμένο με TOF-spectrometer	Βαθμιδωτή έκλουση: Νερό με 0,5% οξικό οξύ – Ακετονιτρίλιο Ήλιο	Arbequina Cornicabra Hojiblanca Picual Frantoio	25	[74]

	Δεκαρβοξυμεθυλ-ελαιοευρωπαΐνη άγλυκη Λουτεολίνη Συρινγκαρεζινόλη Υδροξυ-δεκαρβοξυμεθυλ-λινγκστροσίδη άγλυκη Πινορεζινόλη Ακετοξυπινορεζινόλη 10-υδροξυ-ελαιοευρωπαΐνη άγλυκη Δεκαρβοξυμεθυλ-λινγκστροσίδη άγλυκη Απιγενίνη Μεθυλ-δεκαρβοξυμεθυλ-ελαιοευρωπαΐνη άγλυκη Μεθυλ-ελαιοευρωπαΐνη άλγυκη Ελαιοευρωπαΐνη άγλυκη Λινγκστροσίδη άγλυκη		maXis.					

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3: ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΠΤΥΧΙΑΚΗΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ

Σκοπός της παρούσας πτυχιακής εργασίας είναι η ανίχνευση και η ταυτοποίηση φαινολικών ενώσεων σε δείγματα ελαιόλαδου από διάφορες περιοχές της Ελλάδας, η σύγκριση του φαινολικού προφίλ διαφορετικών ποικιλιών καθώς και η ομαδοποίηση τους ανάλογα με το υψόμετρο στο οποίο έχει καλλιεργηθεί η ελιά.

Για τις παραπάνω μελέτες θα χρησιμοποιηθούν οι τεχνικές της στοχευμένης και της «ύποπτης» σάρωσης με υγρή χρωματογραφία υψηλής πίεσης συζευγμένη με φασματομετρία μάζας υψηλής διακριτικής ικανότητας τύπου τετράπολο-χρόνου πτήσης ιόντων (LC/QTOF/MS).

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4: ΒΑΣΙΚΕΣ ΑΡΧΕΣ ΥΓΡΗΣ ΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΑΣ ΚΑΙ ΦΑΣΜΑΤΟΜΕΤΡΙΑΣ ΜΑΖΩΝ

4.1 ΥΓΡΟΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΑ

Με τον όρο «χρωματογραφία» αναφερόμαστε σε μια μεγάλη ποικιλία μεθόδων ανάλυσης, οι οποίες διευκολύνουν τον χημικό αναλυτή στο να διαχωρίσει ουσίες με παρόμοιες χημικές ιδιότητες από σύνθετα μίγματα. Ένα μεγάλο ποσοστό των διαχωρισμών αυτών δεν είναι δυνατό να πραγματοποιηθούν χρησιμοποιώντας άλλη μέθοδο ανάλυσης. Σε όλους τους χρωματογραφικούς διαχωρισμούς το δείγμα κινείται σε μία κινητή φάση (mobile phase), η οποία μπορεί να είναι ένα αέριο, ένα υγρό ή ένα υπερκρίσιμο ρευστό. Στην συνέχεια η κινητή φάση εξαναγκάζεται να διέλθει μέσα από μία στατική φάση (stationary phase), η οποία είναι ακίνητη σε μία στήλη ή σε μία στερεή επιφάνεια. Στην υγρή χρωματογραφία η κινητή φάση είναι υγρή. Οι δύο φάσεις επιλέγονται με τέτοιο τρόπο, ώστε τα συστατικά του δείγματος κατανέμονται μεταξύ της κινητής και της στατικής φάσης σε διαφορετικό βαθμό. Τα συστατικά τα οποία κατακρατούνται ισχυρότερα από τη στατική φάση κινούνται αργά κατά τη ροή της κινητής φάσης. Αντίθετα , τα συστατικά τα οποία κατακρατούνται ασθενέστερα από τη στατική φάση, κινούνται ταχύτερα. Ως αποτέλεσμα αυτών των διαφορών στην ευκινησία, τα συστατικά του δείγματος διαχωρίζονται καταλαμβάνοντας το καθένα ξεχωριστές ζώνες, όπου στην συνέχεια τα συστατικά αυτά μπορούν να προσδιορισθούν ποιοτικά ή/και ποσοτικά.[78]

4.1.1 ΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΑ ΚΑΤΑΝΟΜΗΣ

Στη χρωματογραφία κατανομής η στατική φάση είναι ένα δεύτερο υγρό που δεν αναμειγνύεται με την υγρή κινητή φάση. Στους πρώτους τύπους χρωματογραφίας κατανομής χρησιμοποιούνταν στήλες υγρού-υγρού, οι οποίες στα σύγχρονα συστήματα LC,αντικαταστάθηκαν με στήλες υγρής-συνδεδεμένης-φάσης (liquid-bonded-phase). Στη χρωματογραφία κατανομής υγρού-υγρού, η υγρή στατική φάση κατακρατείται στην επιφάνεια του υλικού πλήρωσης με φυσική προσρόφηση, ενώ στη χρωματογραφία συνδεδεμένης φάσης, η στατική φάση δεσμεύεται με χημικό δεσμό στην επιφάνεια του υλικού στήριξης. Τα υλικά στήριξης για την πλειονότητα των υλικών πλήρωσης στη χρωματογραφία κατανομής συνδεδεμένης φάσης παρασκευάζονται από άκαμπτη πυριτία ή σύνθεση που βασίζεται σε πυριτία. Αυτά τα στερεά σχηματίζονται ως ομοιόμορφα, πορώδη και μηχανικώς σκληρά σωματίδια με συνήθη διάμετρο 3-5 μm.

Ανάλογα με τη σχετική πολικότητα της κινητής και της στατικής φάσης διακρίνονται δύο τύποι
χρωματογραφίας κατανομής:

i. Χρωματογραφία κανονικής φάσης. Η στατική φάση είναι πολικότερη από την κινητή, η οποία αποτελείται από μη πολικούς διαλύτες, όπως εξάνιο, τετραχλωράνθρακας κ.ά.

ii. Χρωματογραφία αντίστροφης φάσης. Η κινητή φάση είναι κάποιος πολικός διαλύτης (μεθανόλη, ακετονιτρίλιο, ύδωρ κ.ά.), ενώ η στατική φάση είναι μη πολική (συνήθως ένας υδρογονάνθρακας C8 ή C18).

Στη χρωματογραφία αντίστροφης φάσης το πολικότερο συστατικό εμφανίζεται πρώτο. Αύξηση της πολικότητας της κινητής φάσης έχει ως αποτέλεσμα την αύξηση του χρόνου έκλουσης. Το αντίθετο συμβαίνει στη χρωματογραφία κανονικής φάσης.[78]

4.1.2 ΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΑ ΑΝΤΙΣΤΡΟΦΗΣ ΦΑΣΗΣ

Περιλαμβάνει μια πολική (συνήθως υδατική) ή μετρίως πολική μήτρα του δείγματος (κινητή φάση) και μία μη πολική στατική φάση. Ο αναλύτης που μας ενδιαφέρει είναι συνήθως μετρίως ή μη πολικός. Το πληρωτικό υλικό που χρησιμοποιείται στην χρωματογραφία αντίστροφης φάσης είναι συνήθως χημικώς τροποποιημένη silica με υδρόφοβες ομάδες όπως αλκυλομάδες και αρυλομάδες. Εδώ, οι υδρόφιλες ομάδες σιλανόλης στην επιφάνεια της ακατέργαστης σίλικας (συνήθως 60Α μέγεθος πόρων, των σωματιδίων 40μm μέγεθος) έχουν υποστεί χημική τροποποίηση με υδρόφοβες λειτουργικές ομάδες αλκυλίου ή αρυλίου από αντίδραση με τα αντίστοιχα σιλάνια.

Εικόνα 4.1 : Χημική τροποποίηση υδρόφιλων ομάδων σιλανόλης με τις υδρόφοβες ομάδες

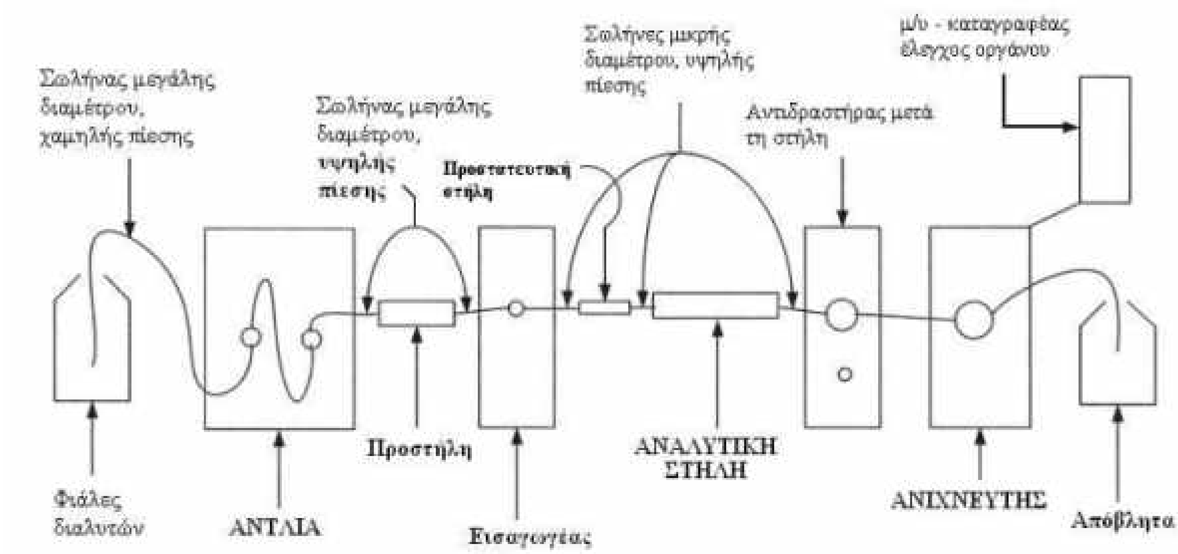
Η διατήρηση των οργανικών αναλυτών από τις πολικές ενώσεις (π.χ. νερό) επάνω σε αυτά τα υλικά SPE οφείλεται κατά κύριο λόγο στις ελκτικές δυνάμεις μεταξύ των δεσμών άνθρακα-υδρογόνου στον αναλύτη και στις λειτουργικές ομάδες στην επιφάνεια του πυριτίου. Αυτές οι μη πολικές-μη πολικές ελκτικές δυνάμεις συνήθως ονομάζονται δυνάμεις van der Waals, ή δυνάμεις διασποράς. Για να εκλουστεί μία προσροφημένη ένωση από έναν αντίστροφης φάσης SPE σωλήνα ή δίσκο, χρησιμοποιούμε ένα μη πολικό διαλύτη ώστε να διαταραχτούν οι δυνάμεις που δεσμεύουν την ένωση με το υλικό πλήρωσης. Όλες οι σιλικοποιημένες φάσεις έχουν κάποιο ποσοστό υπολειμματικών σιλανολών που δεν αντέδρασε και δρουν σαν δευτερογενείς θέσεις αλληλεπίδρασης. Αυτές οι δευτερεύουσες αλληλεπιδράσεις μπορεί να είναι χρήσιμες για την εκχύλιση ή κατακράτηση των αναλυτών υψηλής πολικότητας ή των προσμείξεων, αλλά μπορεί επίσης να δεσμεύσει μη αντιστρεπτά αναλύτες ενδιαφέροντος.

Οι σίλικες αντίστροφης φάσης και τα μέσα μη πολικής προσρόφησης συνήθως κατεργάζονται με έναν οργανικό διαλύτη διαλυτό στο νερό, όπως μεθανόλη, κι ακολούθως με νερό ή με ένα υδατικό ρυθμιστικό διάλυμα. Η μεθανόλη διαβρέχει την επιφάνεια του υλικού προσρόφησης και διεισδύει στις αλκυλο-συνδεδεμένες φάσεις επιτρέποντας στο νερό να βρέξει την επιφάνεια της σίλικας ικανοποιητικά. Μερικές φορές χρησιμοποιείται ένας διαλύτης προκατεργασίας πριν το στάδιο προσθήκης της μεθανόλης. Αυτός ο διαλύτης είναι συνήθως ίδιος με το διαλύτη έκλουσης και χρησιμοποιείται για να απομακρύνει τυχόν προσμίξεις από τη στήλη της SPE που θα μπορούσαν να παρεμποδίσουν την ανάλυση και μπορεί να είναι διαλυτές μόνο σε έναν ισχυρό διαλύτη έκλουσης. Τα διαλύματα που χρησιμοποιούνται στις διαδικασίες με SPE έχουν ένα πολύ μεγάλο εύρος pH. Τα υλικά πλήρωσης με βάση τη σίλικα, όπως αυτά που χρησιμοποιούνται στις στήλες της HPLC συνήθως έχουν ένα σταθερό εύρος pH από 2 έως 7,5. Σε επίπεδα pH πάνω και κάτω από αυτά τα όρια, η δεσμευμένη φάση μπορεί να υδρολυθεί και να απομακρυνθεί από την επιφάνεια της σίλικας, ή η ίδια η σίλικα μπορεί να διαλυτοποιηθεί. Αν η ένωση που μας ενδιαφέρει είναι όξινη ή βασική θα πρέπει, στις περισσότερες περιπτώσεις, να χρησιμοποιήσουμε ένα pH στο οποίο η ένωση να μην είναι φορτισμένη.[78]

4.1.3 ΟΡΓΑΝΟΛΟΓΙΑ ΥΓΡΟΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΑΣ

Ένα σύστημα υγρής χρωματογραφίας υψηλής απόδοσης (HPLC) αποτελείται από τα εξής:

α)φιάλες διαλυτών, β)απαερωτές, γ) αντλία, δ) βαλβίδα έγχυσης, ε) χρωματογραφική στήλη, στ) ανιχνευτή, ζ)καταγραφέα- σύστημα επεξεργασίας δεδομένων και η) δοχείο αποβλήτων.



Εικόνα 4.2 : Σύστημα υγρής χρωματογραφίας υψηλής απόδοσης

Παρακάτω παρουσιάζονται σύντομα οι λειτουργίες καθενός από τα προαναφερθέντα τμήματα του χρωματογράφου:

Οι φιάλες διαλυτών περιέχουν τους διαλύτες που χρησιμοποιούνται για τη μεταφορά του δείγματος μέσω του συστήματος της υγροχρωματογραφίας. Οι διαλύτες αρχικά πρέπει να φιλτράρονται για να απομακρύνονται σωματίδια που θα μπορούσαν δυνητικά να προκαλέσουν βλάβη στο σύστημα, όπως έμφραξη της στήλης. Οι αντλίες ωθούν τους διαλύτες μέσα στο χρωματογραφικό σύστημα μετά την απαέρωσή τους. Ακολουθεί η βαλβίδα έγχυσης η οποία εισάγει το δείγμα μέσω βρόγχου. Επειδή το δείγμα συχνά περιέχει σωματίδια, είναι σημαντικό να χρησιμοποιείται φίλτρο για την πρόληψη ζημιάς της βαλβίδας και της στήλης. Μετά την έγχυση του δείγματος, η αναλυτική στήλη το διαχωρίζει στα διάφορα συστατικά του. Αυτό βασίζεται στην διαφορική έλξη των συστατικών του δείγματος με το διαλύτη και το υλικό εντός της στήλης. Μια προστήλη συχνά προηγείται της αναλυτικής στήλης για την απομάκρυνση όχι μόνο αιωρούμενων σωματιδίων και προσμίξεων από το διαλύτη, αλλά και συστατικών του δείγματος που συνδέονται με τη στατική φάση κατά μη αντιστρεπτό τρόπο. Μετά την αναλυτική στήλη, τα διαχωρισμένα συστατικά διέρχονται στον ανιχνευτή, πριν περάσουν στη δεξαμενή αποβλήτων. Κοινοί τύποι ανιχνευτών είναι: απορρόφησης, φθορισμού ή φασματομετρίας μαζών. Μερικές φορές χρησιμοποιείται ένας συνδυασμός διαφορετικών τύπων ανιχνευτών. Εξελιγμένα συστήματα συλλογής και ανάλυσης δεδομένων είναι διαθέσιμα για όλους τους τύπους ανιχνευτών. Τέλος, συστήματα απαέρωσης διαλύτη και ρύθμισης οπισθοπίεσης συχνα εγκαθίστανται στο σύστημα της υγροχρωματογραφίας. Η απαέρωση του διαλύτη εμποδίζει το σχηματισμό φυσαλίδων όταν τα συστατικά της κινητής φάσης αναμιγνύονται στο σύστημα και η ρύθμιση της οπισθοπίεσης περιορίσει την πτώση της πίεσης κατά μήκος της διαδρομής που θα μπορούσε να συντελέσει σε περαιτέρω σχηματισμό φυσαλίδων.

Σχετικά με το σύστημα παροχής κινητής φάσης και το σύστημα έκλουσης διακρίνονται δύο κατηγορίες:

- Ισοκρατική έκλουση (Isocratic elusion): Για τον διαχωρισμό χρησιμοποιείται διαλύτης σταθερής σύστασης.

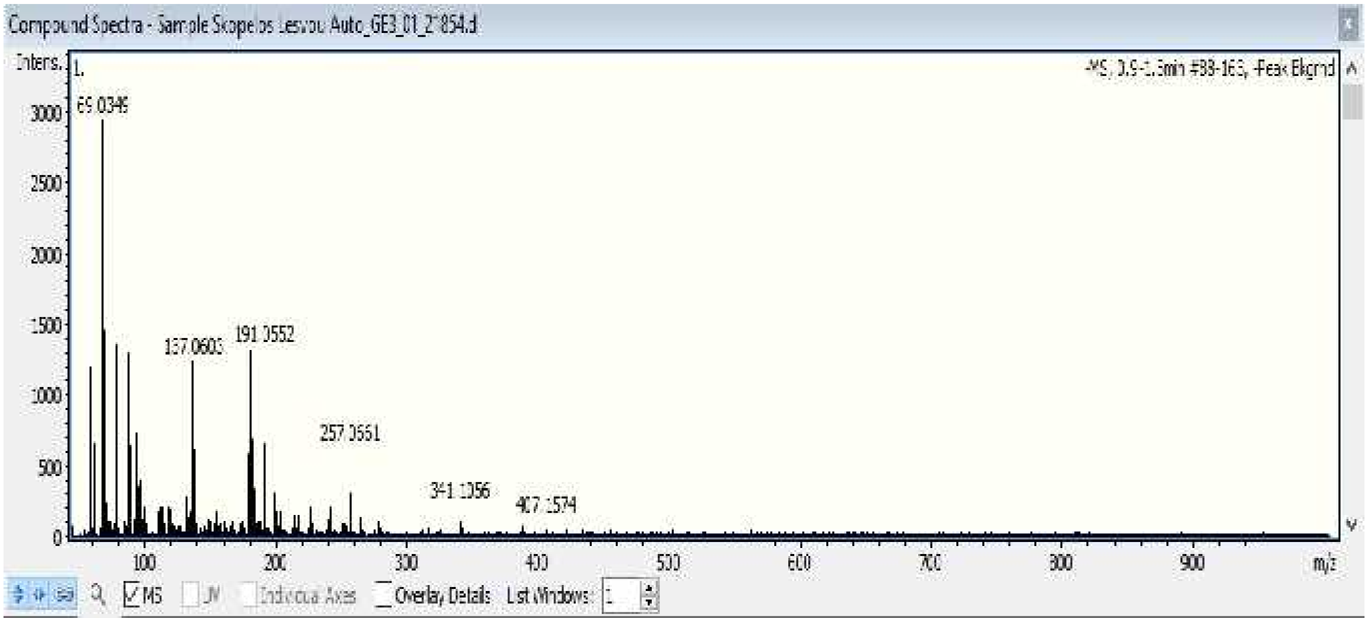
- Βαθμιδωτή έκλουση (Gradient elusion): Ο λόγος των διαλυτών μεταβάλλεται κατά τον διαχωρισμό με προγραμματισμένο τρόπο (συνεχώς ή με σειρά βημάτων).[78]

4.1.4 ΕΞΑΙΡΕΤΙΚΑ ΥΨΗΛΗΣ ΑΠΟΔΟΣΗΣ ΥΓΡΟΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΑ

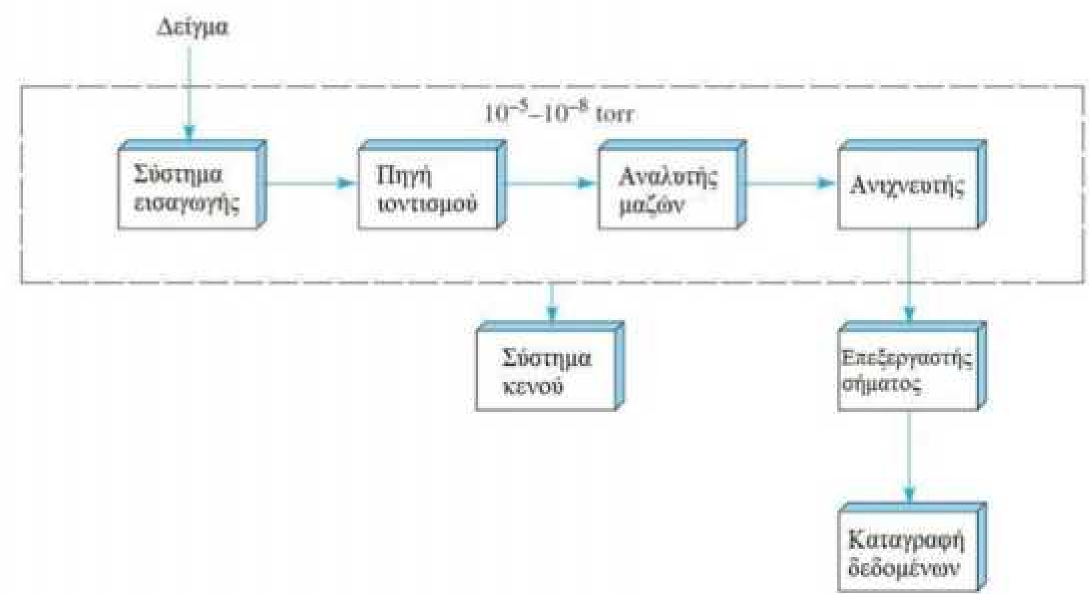
Η εξαιρετικά υψηλής απόδοσης υγροχρωματογραφία (Ultra-High Performance Liquid Chromatography, Ultra-HPLC) χρησιμοποιεί την ίδια μεθοδολογία διαχωρισμού, όπως η συμβατική HPLC, αλλά συνήθως χρησιμοποιεί στήλες, πληρωμένες με μικροσωματίδια διαμέτρου μικρότερης από 2 μm. Αυτού του μικρού μεγέθους τα σωματίδια αυξάνουν δραματικά την απόδοση της στήλης, την ευαισθησία ως προς τη μάζα του αναλύτη, τη διαχωριστική ικανότητα και τη ταχύτητα. Ενώ, η οργανολογία για Ultra-HPLC απαιτεί μονάδες παρόμοιες με της συμβατικής HPLC, το μικρότερο μέγεθος σωματιδίων πληρώσεως της στήλης δημιουργεί πολύ αυξημένες πιέσεις στα άκρα της στήλης, με αποτέλεσμα να απαιτούνται αντλίες πολύ υψηλών πιέσεων. Σημειώνεται ότι απαιτούνται πιέσεις 20.000 psi και πάνω, απ’ όπου πήρε και το όνομά της η τεχνική Ultra-HPLC (ή UHPLC ή UPLC).[78]

4.2 ΦΑΣΜΑΤΟΜΕΤΡΙΑ ΜΑΖΩΝ

Με τον όρο φασματομετρία μαζών ορίζεται μια οικογένεια προσδιορισμού δομής και ποσοτικού προσδιορισμού ενώσεων και στοιχείων, οι οποίες βασίζονται στον ιοντισμό ατόμων ή μορίων ή την παραγωγή ιοντικών θραυσμάτων μορίων και την καταγραφή της σχετικής έντασης του ιοντικού ρεύματος, που αντιστοιχεί σε κάθε λόγο μάζας προς φορτίο (m/z) (φάσμα μάζας). Στο φάσμα μάζας το λαμβανόμενο σήμα καλείται κορυφή και η θέση της κορυφής εκφράζει τον λόγο m/z του ιόντος. Η ένταση της κορυφής ενός ιόντος αντιστοιχεί στην αφθονία αυτού στο χώρο ανίχνευσης. Η κορυφή με τη μεγαλύτερη ένταση καλείται βασική κορυφή. Στη βασική κορυφή συνήθως αντιστοιχίζεται το 100% της έντασης, ενώ οι υπόλοιπες κορυφές εκφράζονται ως το % ποσοστό της έντασής της. Συχνά, η κορυφή που βρίσκεται στο μεγαλύτερο m/z προκύπτει από την ανίχνευση του μοριακού ιόντος και συνήθως ακολουθείται από αρκετές κορυφές σε μικρότερα m/z, οι οποίες αντιστοιχούν σε ιόντα-θραύσματα του μοριακού ιόντος.[80]



Εικόνα 4.3 : Φάσμα μάζας δείγματος από Σκόπελο, Λέσβου



Εικόνα 4.4 : Σχήμα λειτουργίας Φασματομέτρου Μάζας

4.2.1 ΟΡΓΑΝΟΛΟΓΙΑ ΦΑΣΜΑΤΟΜΕΤΡΟΥ ΜΑΖΩΝ

Το σύστημα εισαγωγής δείγματος επιτρέπει την εισαγωγή ενός αντιπροσωπευτικού δείγματος στην πηγή ιόντων. Συχνά περιλαμβάνει ένα σύστημα εξαέρωσης στερεών ή υγρών δειγμάτων. Οι πηγές ιόντων μετατρέπουν τα συστατικά του δείγματος σε ιόντα. Ο αναλυτής μαζών διαχωρίζει τα παραγόμενα ιόντα με βάση τον λόγο τους μάζα προς φορτίο (m/z). Ο ανιχνευτής (μεταλλάκτης) μετατρέπει τη δέσμη ιόντων σε ηλεκτρικό σήμα το οποίο μπορεί να υποβληθεί σε επεξεργασία, να αποθηκευτεί στη μνήμη του υπολογιστή και να παρουσιαστεί ή να καταγραφεί με ποικίλους τρόπους.

Στα φασματόμετρα μαζών θα πρέπει να υπάρχει ένα σύστημα κενού ώστε να διατηρείται χαμηλή πίεση (10^{-4} - 10^{-8} torr) σε όλα τα τμήματα του οργάνου εκτός από το τμήμα του επεξεργαστή του σήματος και του οργάνου παρουσίασης των ενδείξεων ώστε να μην γίνονται συγκρούσεις με ατμοσφαιρικά συστατικά και να είναι εφικτή η παραγωγή ελεύθερων ηλεκτρονίων και ιόντων.[78]

4.2.2 ΠΗΓΕΣ ΙΟΝΤΩΝ

Η μορφή του φάσματος μαζών μιας ένωσης εξαρτάται κατά πολύ από την τεχνική παραγωγής ιόντων. Οι πηγές ιόντων χωρίζονται σε δύο κατηγορίες:

- Πηγές αέριας φάσης: το δείγμα πρώτα εξαερώνεται και μετά ιοντίζεται για αυτό οι πηγές αυτές χρησιμοποιούνται για θερμικώς σταθερές ενώσεις.

- Πηγές εκρόφησης: το δείγμα σε στερεή ή υγρή κατάσταση μετατρέπεται απευθείας σε αεριώδη ιόντα. Μπορούν να εφαρμοστούν σε μη πτητικά ή θερμικώς ασταθή δείγματα.

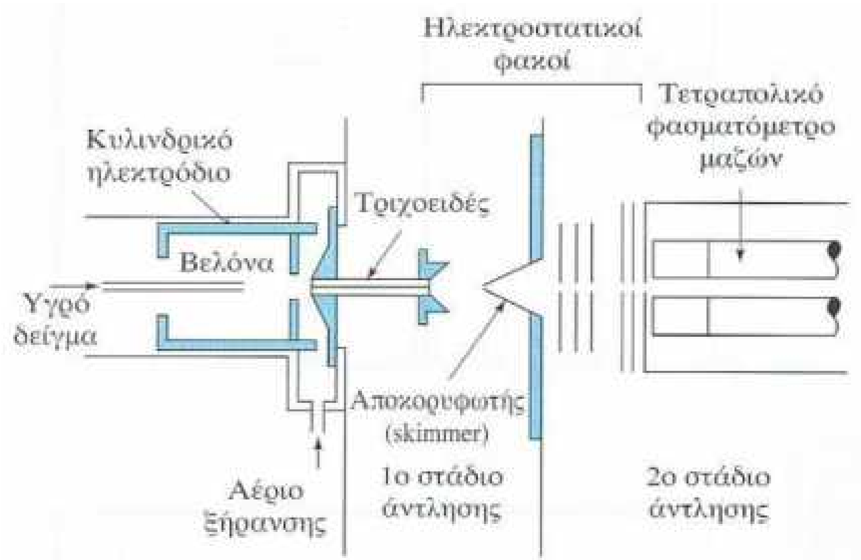
Ανάλογα με το βαθμό θραυσματοποίησης διακρίνονται σε:

- Σκληρές πηγές: Μεταδίδουν στα μόρια του αναλύτη αρκετή ενέργεια ώστε να παραμείνουν σε έντονα διεγερμένη ενεργειακή κατάσταση και έτσι κατά την αποδιέγερση έχουμε επιπλέον σπάσιμο δεσμών και σχηματισμό ιοντικών θραυσμάτων με λόγους m/z μικρότερους του μοριακού ιόντος. Στο φάσμα μαζών φαίνονται πολλές κορυφές και επομένως παρέχονται πληροφορίες για τη δομή των αναλυτών.

- Μαλακές πηγές: Υπάρχει περιορισμένη θραυσματοποίηση. Στο φάσμα μαζών φαίνεται η κορυφή του μοριακού ιόντος και λίγες επιπλέον κορυφές οπότε βρίσκεται με ακρίβεια το μοριακό βάρος των μορίων του αναλύτη.[78,80]

Ιοντισμός με ηλεκτροψεκασμό

Ο ιοντισμός με ηλεκτροψεκασμό (ESI) ανήκει στις μαλακές πηγές εκρόφησης. Πραγματοποιείται σε ατμοσφαιρική πίεση και θερμοκρασία. Το διάλυμα διέρχεται μέσω μιας τριχοειδούς βελόνας, με ταχύτητα της τάξης μερικών μL/min, η οποία βρίσκεται σε υψηλό δυναμικό μερικών kV ως προς ένα κυλινδρικό ηλεκτρόδιο, με αποτέλεσμα την δημιουργία φορτισμένων σταγονιδίων. Τα σταγονίδια διέρχονται στη συνέχεια μέσω δεύτερου τριχοειδούς, στο οποίο ο διαλύτης εξατμίζεται και φορτίζονται τα μόρια του αναλύτη. Η εξάτμιση των φορτισμένων σταγονιδίων συντελείται με τη βοήθεια ροής θερμού αζώτου. Με τη μείωση του μεγέθους των σταγονιδίων λόγω της εξαέρωσης του διαλύτη, η πυκνότητα φορτίου αυξάνει, τα ιόντα κινούνται στην επιφάνεια της σταγόνας και όταν οι απωστικές ηλεκτροστατικές δυνάμεις μεταξύ των ιόντων μέσα στη σταγόνα ξεπεράσουν την επιφανειακή τάση, η σταγόνα σπάζει και ελευθερώνονται ιόντα. Τα ιόντα ανάλογα με τον ιοντισμό που έχουν υποστεί μπορεί να έχουν φορτιστεί θετικά η αρνητικά. Στο θετικό ιοντισμό η σύγκρουση ιόντων και μορίων μεταφέρει ένα άτομο Η στο ιόν και σχηματίζεται το πρωτονιωμένο ψευδομοριακό ιόν [M+H]+, αλλά και κάποια ιόντα προσθήκης μετά από προσκόλληση κατιόντων, όπως τα [M+NH4]+, [M+Na]+, [M+K]+, ενώ στον αρνητικό ιοντισμό αποσπάται ένα άτομο H από το ιόν και σχηματίζεται το αποπρωτονιωμένο ψευδομοριακό ιόν [M-H]-. Από τον αποκορυφωτή θα περάσουν ιόντα θετικού η αρνητικού φορτίου και θα οδηγηθούν στον αναλυτή όπου επικρατούν συνθήκες κενού.[78,83]



Εικόνα 4.5 : Συσκευή Ιοντισμού με Ηλεκτροψεκασμό

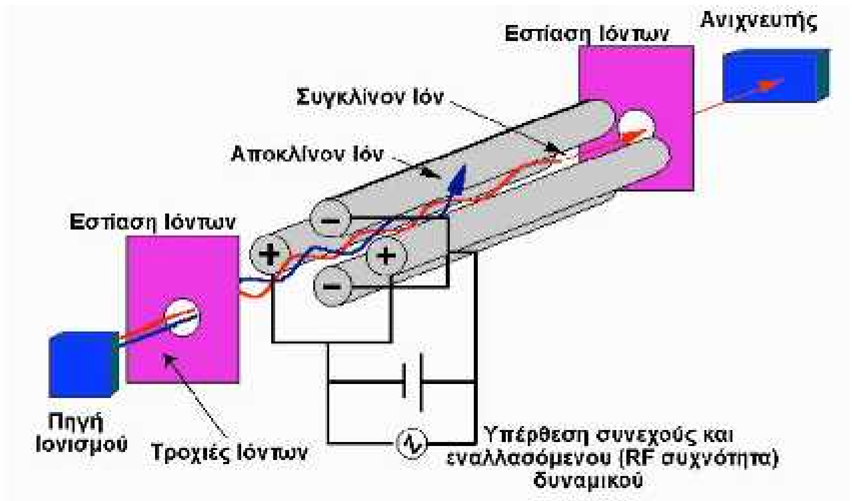
4.2.3 ΑΝΑΛΥΤΕΣ ΜΑΖΩΝ

Ένας ιδανικός αναλυτής μαζών πρέπει να διαχωρίζει μάζες που διαφέρουν ελάχιστα μεταξύ τους και να επιτρέπει τη διέλευση αρκετών ιόντων για να παράγεται ένα άμεσα μετρήσιμο ρεύμα ιόντων. Οι αναλυτές μαζών διακρίνονται σε:

- Συνεχείς αναλυτές μαζών: Αναλύουν το m/z που φτάνει κάθε φορά από την πηγή ιόντων (π.χ. τετράπολο, Q)

- Παλμικοί αναλυτές μαζών: Αναλύουν ομάδα ιόντων (παλμοί) που παράγονται στην πηγή ιόντων (π.χ. αναλυτές χρόνου πτήσης, TOF).[80][81]

ΤΕΤΡΑΠΟΛΙΚΟΣ ΑΝΑΛΥΤΗΣ ΜΑΖΩΝ (ΤΕΤΡΑΠΟΛΟ) QUADRUPLE MASS ANALYZER (Q)



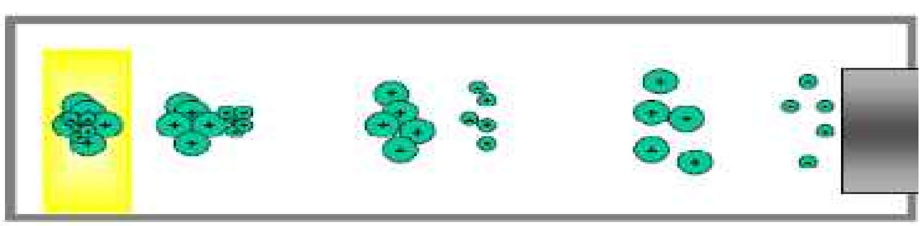
Εικόνα 4.6 : Λειτουργία τετραπολικού αναλυτή μαζών[ERG4]

Ο τετραπολικός αναλυτής μαζών αποτελείται από 4 παράλληλες κυλινδρικές ράβδους - ηλεκτρόδια τοποθετημένες ανά ζεύγη απέναντι σχηματίζοντας σταυρό. Σε κάθε ζεύγος εφαρμόζεται δυναμικό συνεχούς ρεύματος (dc) αντίθετης πολικότητας. Επιπλέον, σε κάθε ζεύγος εφαρμόζεται δυναμικό εναλλασσόμενου ρεύματος AC (με συχνότητα στην περιοχή των ραδιοκυμάτων) με διαφορά φάσης 180°. Τα ιόντα επιταχύνονται στο χώρο ανάμεσα στις ράβδους με δυναμικό 5-10V με το λόγο συνεχούς και μεταβλητού δυναμικού να παραμένει σταθερός. Σε κάποια χρονική στιγμή όλα τα ιόντα, εκτός από αυτά που έχουν μια συγκεκριμένη τιμή λόγου m/z, φθάνουν στις ράβδους, εξουδετερώνονται και μετατρέπονται σε ουδέτερα μόρια. Με αυτόν τον τρόπο φθάνουν στον μεταλλάκτη μόνο τα ιόντα των οποίων οι τιμές m/z βρίσκονται σε μια στενή περιοχή τιμών του λόγου m/z.[80,82]

4.2.4. Αναλυτής μαζών «χρόνου πτήσης» (Time of Flight-TOF)

Ο αναλυτής μαζών «χρόνου πτήσης» αποτελείται από έναν σωλήνα πορείας ή «πτήσης». Τα ιόντα που παράγονται στην πηγή ιοντισμού επιταχύνονται σε παλμικό ηλεκτρικό πεδίο 103-104 V ίδιας συχνότητας με τον παλμό που προκαλεί τον ιοντισμό. Τα επιταχυνόμενα σωματίδια διέρχονται μέσω ενός σωλήνα πορείας, ο οποίος είναι απαλλαγμένος από πεδία και έχει μήκος περίπου ένα μέτρο. Επειδή όλα τα ιόντα έχουν την ίδια κινητική ενέργεια τη στιγμή που εισέρχονται στο σωλήνα, οι ταχύτητές τους στο σωλήνα θα είναι αντιστρόφως ανάλογες με τις μάζες τους (K=1/2mu2). Τα ελαφρύτερα σωματίδια φθάνουν στον ανιχνευτή νωρίτερα σε σχέση με τα βαρύτερα. Οι τυπικοί χρόνοι πτήσης είναι 1-30 μs.[78]

Τα πιο σύγχρονα όργανα TOF στηρίζονται στην αντανάκλαση (Reflectron TOF-MS). Σε αυτά εφαρμόζεται ηλεκτρικός παλμός υψηλής τάσης, ώστε τα ιόντα να επιταχύνονται ορθογωνικά μέσα στον σωλήνα «πτήσης». Η λειτουργία της αντανάκλασης δεν αφορά μόνο το διπλασιασμό του μήκους της πορείας πτήσης, ώστε να επιτευχθούν μεγαλύτερης διάρκειας πτήσεις και έτσι υψηλότερη διακριτική ικανότητα, αλλά και τη βαθύτερη διείσδυση των ιόντων που έχουν μεγαλύτερη κινητική ενέργεια. Έτσι, η βαθύτερη διείσδυση έχει ως αποτέλεσμα μεγαλύτερες διαδρομές των ιόντων. Ο ανιχνευτής που βρίσκεται στο τέλος της πορείας πτήσης καταγράφει το χρόνο άφιξης και τον αριθμό των εισερχόμενων ιόντων. Το τετράγωνο του χρόνου πτήσης είναι ανάλογο με το m/z του ιόντος που ανιχνεύεται, άρα τα m/z μπορούν να υπολογιστούν μετά από μια διαδικασία βαθμονόμησης του οργάνου.[79]



Εικόνα 4.7 : Σωλήνας πορείας ή "πτήσης"

4.2.5. Διαδοχική Φασματομετρία Μαζών (Tandem Mass Spectrometry, MS/MS) με τεχνολογία QTOF

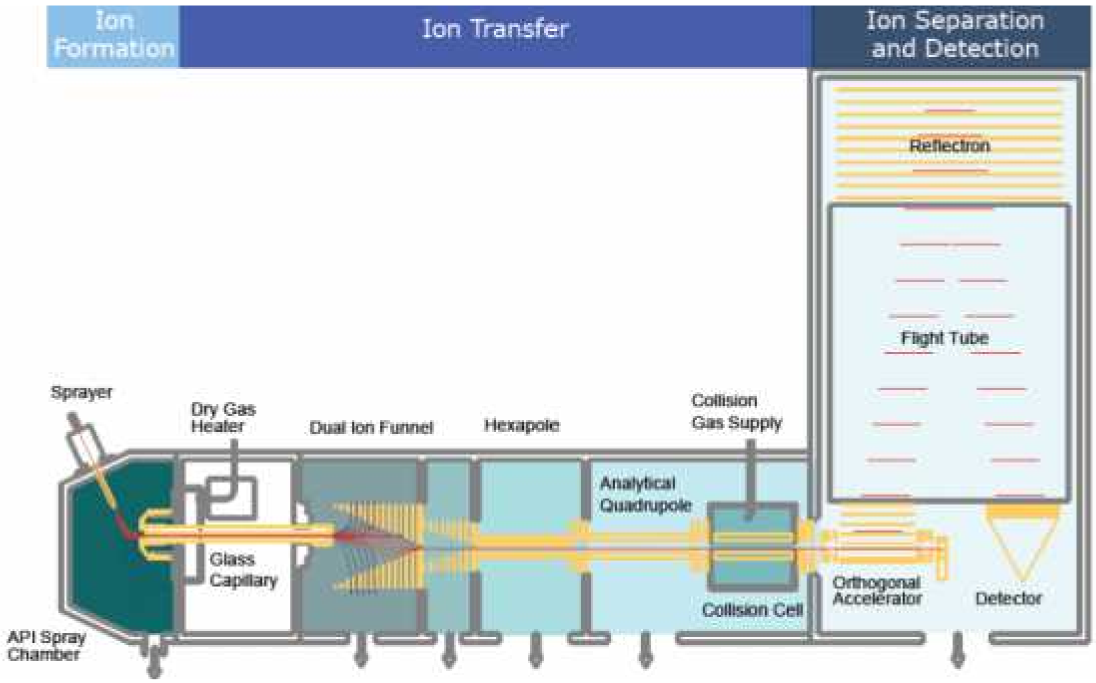
Παλαιότερα, οι αναλυτές μαζών που χρησιμοποιούνταν στις καθημερινές εφαρμογές των εργαστηρίων ήταν το τετράπολο, η τετραπολική παγίδα ιόντων και όργανα TOF παλαιότερης τεχνολογίας με χαμηλή διακριτική ικανότητα. Υψηλότερης διακριτικής ικανότητας όργανα, όπως ο αναλυτής μαγνητικού τομέα ή το FT-ICR, είχαν και έχουν υψηλό κόστος αγοράς και συντήρησης και πολύπλοκη λειτουργία. Έτσι, αναπτύχθηκε η διαδοχική φασματομετρία μαζών (MS/MS).[84]

Το QTOF (quadrupole–time-of-flight) είναι ένα υβριδικό όργανο που χρησιμοποιείται για διαδοχική φασματομετρία μαζών και έχει εξαιρετικές δυνατότητες ανίχνευσης και ταυτοποίησης για ενώσεις μεγάλου εύρους μαζών σε διάφορες μήτρες, εξαιτίας της υψηλής διακριτικής ικανότητας στη μέτρηση της ακριβούς μάζας του πρόδρομου και των παραγόμενων ιόντων.**[85]**

Το QTOF αποτελείται από τρία τμήματα σε σειρά: ένα τετράπολο (quadrupole, Q), μία κυψελίδα συγκρούσεων (collision cell) και έναν αναλυτή μαζών χρόνου πτήσης (time of flight, TOF).

Το τετράπολο είναι χαμηλής διακριτικής ικανότητας όργανο και χρησιμοποιείται σε ρουτίνα αναλύσεων.

Στην κυψελίδα συγκρούσεων υπάρχει περίσσεια ενός αδρανούς αερίου (Ar, He, N_2). Τα πρόδρομα ιόντα συγκρούονται με τα αέρια μόρια και παράγονται ιοντικά θραύσματα. Η διαδικασία αυτή ονομάζεται Collision Induced Dissociation (CID).



Εικόνα 4.8 : Πορεία ιόντων στα τμήματα του QTOF (maXis Impact, Brucker)

Μπορούμε να εφαρμόσουμε διάφορες λειτουργίες για τη λήψη φασμάτων MS και MS/MS. Μια από αυτές είναι η λειτουργία bbCID (broadband Collision Induced Dissociation). Στη λειτουργία αυτή το σύστημα του QTOF εφαρμόζει δύο διαφορετικές ενέργειες σύγκρουσης στην κυψελίδα συγκρούσεων και έτσι δημιουργούνται ταυτόχρονα τα δύο φάσματα μαζών.

Για τη δημιουργία του φάσματος MS χρησιμοποιείται χαμηλή ενέργεια, η οποία χρησιμοποιείται κυρίως για την επιτάχυνση των ιόντων, και έτσι δεν έχουμε ιδιαίτερη θραυσματοποίηση, αλλά πληροφορίες για τα πρόδρομα ιόντα, καθώς τα ιόντα διέρχονται από το τετράπολο και την κυψελίδα συγκρούσεων και διαχωρίζονται στο TOF. Η μικρή θραυσματοποίηση που ενδέχεται να βλέπουμε στο φάσμα MS προέρχεται από συγκρούσεις στην πηγή, διαδικασία που περιγράφεται ως in-source Collision Induced Dissociation (in-source CID).

Για τη δημιουργία του φάσματος MS/MS εφαρμόζεται υψηλή ενέργεια στην κυψελίδα συγκρούσεων και έτσι έχουμε θραυσματοποίηση του πρόδρομου ιόντος. Όλα τα πρόδρομα ιόντα θραυσματοποιούνται ταυτόχρονα, χωρίς να έχει προηγηθεί απομόνωση, μέσω συγκρούσεων με τα ουδέτερα αέρια μόρια της κυψελίδας συγκρούσεων (N_2) (Collision Induced Dissociation, CID) και τα παραγόμενα ιόντα διαχωρίζονται στο TOF. Έτσι, με το φάσμα MS/MS μπορούμε να ταυτοποιήσουμε ενώσεις που δεν δίνουν θραύσματα ή δίνουν χαμηλής έντασης θραύσματα όταν γίνεται θραυσματοποίηση στην πηγή.[80]

4.3 Σύζευξη Υγροχρωματογραφίας με Φασματομετρία Μαζών (HPLC/MS)

Συζευγμένη τεχνική ονομάζεται η τεχνική που προκύπτει όταν δύο ή περισσότερες τεχνικές ή όργανα διαχωρισμού συνδέονται για τη δημιουργία ενός νέου και αποτελεσματικότερου οργάνου.[78] Η σύζευξη υγροχρωματογραφίας με φασματομετρία μαζών συνδυάζει την ικανότητα της υγροχρωματογραφίας να διαχωρίζει τα συστατικά ενός μίγματος και της φασματομετρίας μαζών να τα ταυτοποιεί. Στην υγροχρωματογραφία γίνεται ταυτοποίηση των κορυφών ενός δείγματος συγκρίνοντας τους χρόνους ανάσχεσής τους με αυτούς από ανάλυση προτύπων. Όμως, πολλές ουσίες έχουν παρόμοιους χρόνους ανάσχεσης και δεν μπορούν να ταυτοποιηθούν ή δε διαχωρίζονται πλήρως και έτσι δεν μπορούν να προσδιοριστούν ποσοτικά. Με τη φασματομετρία μαζών ταυτοποιούνται ουσίες, καθώς διαθέτουν μοναδικά φάσματα μαζών. Όμως, αν οι ουσίες αυτές είναι συστατικά ενός μίγματος, τότε το φάσμα μαζών θα είναι πολύπλοκο, καθώς θα περιέχει ιόντα από όλα τα συστατικά και δε θα μπορεί να γίνει αξιόπιστη ταυτοποίηση, ιδιαίτερα αν η προσδιοριζόμενη ουσία βρίσκεται σε χαμηλή συγκέντρωση. Έτσι, με τη σύζευξη των δύο τεχνικών στο φασματόμετρο μαζών εισάγονται διαχωρισμένες ουσίες και η ταυτοποίηση είναι αξιόπιστη, ακόμα και αν ο διαχωρισμός δεν είναι ικανοποιητικός, διότι ενώσεις με κοντινούς χρόνους ανάσχεσης θα παρουσιάζουν διαφοροποίηση στο φάσμα μαζών.[78]

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5: ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

ΔΕΙΓΜΑΤΑ:

Τα δείγματα που αναλύθηκαν κατά την πτυχιακή αυτή εργασία είναι ελληνικά, εξαιρετικά παρθένα ελαιόλαδα τα οποία παράχθηκαν κατά την περίοδο Δεκεμβρίου 2016-Μαρτίου 2017 από ελαιόδεντρα των ποικιλιών Κολοβή και Αδραμυτινή από την Λέσβο. Ακολουθούν πίνακες με τα χαρακτηριστικα και την προέλευση του κάθε δείγματος.

Πίνακας 5.1: Λίστα δειγμάτων προς ανάλυση. Διακρίνονται οι ημερομηνίες παραγωγής, η περιοχή, η ποικιλία, το φυγοκεντρικό σύστημα, ο τρόπος άλεσης και ο χρόνος μάλαξης

ΔΕΙΓΜΑ	**ΗΜΕΡ. ΠΑΡΑΓ**	**ΒΙΟΛΟΓΙΚΉ-ΣΥΜΒΑΤΙΚΉ**	**ΠΕΡΙΟΧΗ**	**ΠΟΙΚΙΛΙΑ**	**ΦΥΓΟΚΕΝΤΡΙΚΟ ΣΥΣΤΗΜΑ**	**ΤΡΟΠΟΣ ΑΛΕΣΗΣ**	**ΧΡΟΝΟΣ ΜΑΛΑΞΗΣ**
ΜΕ1	10,12,16	Συμβατική	ΜΕΓΑΛΟΧΩΡΙ	ΚΟΛΟΒΗ	3-φασικό	Σφαιρόμυλοι	45-60 min
ΜΟ1	05,12,16	Βιολογική	ΜΟΡΙΑ	ΚΟΛ.80-ΑΔΡ.20	3-φασικό	Σφαιρόμυλοι	45-60 min
ΜΟ2	07,12,16	Βιολογική	ΜΟΡΙΑ	ΚΟΛ.80-ΑΔΡ.20	3-φασικό	Σφαιρόμυλοι	45-60 min
ΜΟ3	07,12,16	Βιολογική	ΜΟΡΙΑ	ΚΟΛ.80-ΑΔΡ.20	3-φασικό	Σφαιρόμυλοι	45-60 min
ΠΑ1	03,12,16	Συμβατική	ΠΑΛΑΙΟΚΗΠΟΣ	ΚΟΛΟΒΗ	2-φασικό	Σφαιρόμυλοι	45-60 min
ΠΛ1	10/11 - 10/12	Βιολογική	ΠΑΛΑΙΟΧΩΡΙ	ΚΟΛΟΒΗ	3-φασικό	Σφαιρόμυλοι	45-60 min
ΠΑ2	19,11,16	Συμβατική	ΠΑΛΑΙΟΚΗΠΟΣ	ΚΟΛΟΒΗ	2-φασικό	Σφαιρόμυλοι	45-60 min
ΑΓ1	15,12,16	Βιολογική	ΣΚΟΠΕΛΟΣ	ΚΟΛΟΒΗ	3-φασικό	Σφαιρόμυλοι	45-60 min
ΓΕ1	μέχρι 16,12,16	Βιολογική	ΓΕΡΑΣ	ΚΟΛΟΒΗ	3-φασικό	Σφαιρόμυλοι	45-60 min
ΜΕ2	16,12,16	Συμβατική	ΜΕΓΑΛΟΧΩΡΙ	ΚΟΛΟΒΗ	3-φασικό	Σφαιρόμυλοι	45-60 min
ΠΡ1	16,12,16	Συμβατική	ΠΑΡΑΚΟΙΛΑ	ΚΟΛΟΒΗ	3-φασικό	Σφαιρόμυλοι	45-60 min
ΠΑ3	20,12,16	Συμβατική	ΓΕΡΑΣ	ΚΟΛΟΒΗ	3-φασικό	Σφαιρόμυλοι	45-60 min
ΠΛ2	μέχρι 05,01,16	Συμβατική	ΠΑΛΑΙΟΧΩΡΙ	ΚΟΛΟΒΗ	3-φασικό	Σφαιρόμυλοι	45-60 min
ΠΛ3	μέχρι 05,01,16	Συμβατική	ΠΑΛΑΙΟΧΩΡΙ	ΚΟΛΟΒΗ	3-φασικό	Σφαιρόμυλοι	45-60 min
ΠΗ1	07,01,17	Συμβατική	ΠΗΓΗ	ΚΟΛ.80-	3-φασικό	Σφαιρόμυλοι	45-60 min

				ΑΔΡ.20			
ΑΚ1	29,12,16	Συμβατική	ΑΚΡΑΣΙΟΥ	ΚΟΛΟΒΗ	3-φασικό	Σφαιρόμυλοι	45-60 min
ΠΗ2	01/12-30/12	Συμβατική	ΠΗΓΗ	ΚΟΛΟΒΗ	3-φασικό	Σφαιρόμυλοι	45-60 min
ΠΗ3	15/11-25/12	Βιολογική	ΠΗΓΗ	ΚΟΛ.80-ΑΔΡ.20	3-φασικό	Σφαιρόμυλοι	45-60 min
ΓΕ2	10/11-15/01	Συμβατική	ΓΕΡΑΣ	ΚΟΛΟΒΗ	3-φασικό	Σφαιρόμυλοι	45-60 min
ΓΕ3	01/12-30/01	Συμβατική	ΓΕΡΑΣ	ΚΟΛΟΒΗ	2-φασικό	Σφαιρόμυλοι	45-60 min
ΣΚ1	17,01,17	Συμβατική	ΑΛΕΥΡΟΠΟΔΑΣ	ΚΟΛΟΒΗ	3-φασικό	Σφαιρόμυλοι	45-60 min
ΔΦ1	10,12,16	Συμβατική	ΛΟΥΤΡΑ	ΚΟΛ.80-ΑΔΡ.20	3-φασικό	Σφαιρόμυλοι	45-60 min
ΓΕ4Θ	20,01,17	Συμβατική	ΓΕΡΑ	ΚΟΛΟΒΗ	3-φασικό	Σφαιρόμυλοι	45-60 min
ΚΟ1	μέχρι 10/02	Συμβατική	ΜΟΡΙΑ	ΚΟΛ.80-ΑΔΡ.20	3-φασικό	Σφαιρόμυλοι	45-60 min
ΚΟ2	10-02-17	Συμβατική	ΜΟΡΙΑ	ΚΟΛ.80-ΑΔΡ.20	3-φασικό	Σφαιρόμυλοι	45-60 min
ΚΟ3	10-02-17	Συμβατική	ΜΟΡΙΑ	ΚΟΛ.80-ΑΔΡ.20	3-φασικό	Σφαιρόμυλοι	45-60 min
ΚΟ4	10-02-17	Συμβατική	ΜΟΡΙΑ	ΚΟΛ.80-ΑΔΡ.20	3-φασικό	Σφαιρόμυλοι	45-60 min
ΚΡ1	Dec-16	Συμβατική	ΠΑΛΑΙΟΧΩΡΙ	ΚΟΛ.80-ΑΔΡ.20	3-φασικό	Σφαιρόμυλοι	45-60 min
ΘΕ1	μέχρι 10/02	Συμβατική	ΘΕΡΜΗ	ΚΟΛ.50-ΑΔΡ.50	3-φασικό	Σφαιρόμυλοι	45-60 min
ΓΕ4	μέχρι 15/12	Συμβατική	ΓΕΡΑ	ΚΟΛΟΒΗ	3-φασικό	Σφαιρόμυλοι	45-60 min
ΓΕ5	μέχρι 15/12	Συμβατική	ΓΕΡΑ	ΚΟΛΟΒΗ	3-φασικό	Σφαιρόμυλοι	45-60 min
ΓΕ6	μέχρι 15/12	Συμβατική	ΓΕΡΑ	ΚΟΛΟΒΗ	3-φασικό	Σφαιρόμυλοι	45-60 min
ΑΚ1	μέχρι 10/02	Συμβατική	ΚΑΛΛΟΝΗ	ΑΔΡ80-ΚΟΛ20	3-φασικό	Σφαιρόμυλοι	45-60 min
ΠΛ4	ΜΕΧΡΙ 05,03,17	Βιολογική	ΠΑΛΑΙΟΧΩΡΙ	ΚΟΛΟΒΗ	3-φασικο	Σφαιρόμυλοι	45-60 min

M1	20/11-20/12	Βιολογική	ΠΕΔΙΝΑ-ΗΜΙΟΡΕΙΝΑ ΓΕΡΑ	ΚΟΛΟΒΗ	2-φασικό	Σφαιρόμυλοι	45-60 min
M2	20/11-20/12	Βιολογική	ΟΡΕΙΝΑ ΓΕΡΑ	ΚΟΛΟΒΗ	2-φασικό	Σφαιρόμυλοι	45-60 min
M3	15/12-5/1	Βιολογική	ΗΜΙΟΡΕΙΝΑ ΤΣΙΛΙΑ	ΚΟΛΟΒΗ	2-φασικό	Σφαιρόμυλοι	45-60 min
M4	15/12-5/1	Βιολογική	ΟΡΕΙΝΑ ΤΣΙΛΙΑ	ΚΟΛΟΒΗ	2-φασικό	Σφαιρόμυλοι	45-60 min
EE1	Dec-16	Βιολογική	ΣΚΟΠΕΛΟΣ-ΓΕΡΑ	ΚΟΛΟΒΗ	2-φασικό	Σφαιρόμυλοι	45-60 min

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 6: ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗ ΠΟΡΕΙΑ

6.1 Αντιδραστήρια και πρότυπες ουσίες

Όλα τα αντιδραστήρια και τα πρότυπα που χρησιμοποιήθηκαν κατά την πειραματική πορεία ήταν υψηλής καθαρότητας (>95%). Μεθανόλη (LC-MS) και υδροξείδιο του νατρίου (>99%) αγοράστηκαν από τη Merck (Darmstadt, Germany). Οξικό αμμώνιο (≥99.0%) για HPLC και μυρμηκικό οξύ (LC-MS Ultra) αγοράστηκαν από τη Fluka (Buchs, Switzerland). Ισοπροπανόλη αγοράστηκε από τη Fisher Scientific (Geel, Belgium). Ακόμη, απεσταγμένο νερό παρεχόταν από συσκευή καθαρισμού Milli-Q (Millipore Direct-Q UV, Bedford, MA, USA). Τα πρότυπα που αγοράστηκαν ήταν :συριγγικό οξύ 95% από Extrasynthèse (Genay, France), γαλλικό οξύ 98%, φερουλικό οξύ 98%, επικατεχίνη 97%, π-κουμαρικό 98%, ομοβανιλλικό οξύ 97%, κερκετίνη 98%, ελαιοευρωπαΐνη 98%, πινορεζινόλη 95% και συρινγγαλδεΰδη 98% από Sigma-Aldrich (Steinheim, Germany), υδροξυτυροσόλη 98% και λουτεολίνη 98% από Santa Cruz Biotechnologies, καφεϊκό οξύ 99%, βανιλλίνη 99%, αιθυλο-βανιλλίνη 98%, απιγενίνη 97% και τυροσόλη 98% από Alfa Aesar (Karlsruhe, Germany).

6.2 Προκατεργασία δειγμάτων

Παρακάτω παρουσιάζεται συνοπτικό διάγραμμα στο οποίο απεικονίζεται η διαδικασία προκατεργασίας του κάθε δείγματος.

Σχήμα 6.1 . : Συνοπτική παρουσίαση προκατεργασίας δειγμάτων.

6.3 Έλεγχος Ποιότητας

Παρασκευάστηκαν λευκά δείγματα (blanks) και εγχύθηκαν στο χρωματογραφικό σύστημα για την ανίχνευση πιθανής μόλυνσης. Επίσης, παρασκευάστηκαν δείγματα ελέγχου ποιότητας (quality control samples, QC). Παρασκευάστηκε ένα QC δείγμα λαμβάνοντας ίσες ποσότητες από όλα τα εκχυλίσματα, και εμβολιάστηκε με τους αναλύτες στοχευμένης σάρωσης, σε τελική συγκέντρωση 1mg/L. Κατά την ανάλυση ανά 10 δείγματα παρεμβαλλόταν ένα δείγμα QC ώστε να εξασφαλιστεί η εγκυρότητα των αποτελεσμάτων μέσω σύγκρισης του εμβαδού των κορυφών συγκεκριμένων ενώσεων (π.χ. ελαιοευρωπαΐνη, υδροξυτυροσόλη) στα δείγματα QC. Αν υπήρχε μεγάλη απόκλιση μεταξύ των τιμών, αυτό θα σήμαινε ότι συνέβη κάποιο λάθος κατά την ανάλυση και πρέπει να επαναληφθεί.

6.4 Πειραματικές συνθήκες

Η ανάλυση έγινε με σύστημα υγροχρωματογραφίας υπερ-υψηλής απόδοσης (UHPLC) (Dionex UltiMate 3000 RSLC, Thermo Fisher Scientific, Germany) συζευγμένο με φασματόμετρο μαζών QTOF (Maxis Impact, Bruker Daltonics, Bremen, Germany).

Εικόνα 6.1. UHPLC - QTOF/MS, Maxis Impact, Bruker Daltonics

Συνθήκες Υγρής Χρωματογραφίας

Χρησιμοποιήθηκε υγροχρωματογραφία αντίστροφης φάσης (Reversed Phase Liquid Chromatography):

- Αναλυτική Στήλη: Acclaim RSLC 120 C18 (2.2 μm, 120 Å, 2.1 × 100 mm), Dionex Bonded Silica Products, Thermo Scientific

- Προστήλη: ACQUITY UPLC BEH C18 1.7μm, VanGuard, Waters (Ireland), thermostated at 30 ˚C

- Κινητή φάση (Αρνητικός ιοντισμός):
  A:90% H2O, 10% CH3OH, 5 mM CH3COONH4 B:100% CH3OH, 5 mM CH3COONH4

Πρόγραμμα βαθμιδωτής έκλουσης:

Χρόνος έκλουσης (min)	**Ροή (mL/min)**	**%B**
0,0	0,200	1,0
0,0	0,200	1,0
0,1	-	1,0
1,0	0,200	-
3,0	-	39,0
14,0	0,400	99,9
16,0	0,480	99,9
16,1	0,480	1,0
19,0	0,480	-
19,1	0,200	-
20,0	0,200	1,0

Συνθήκες Φασματομετρίας Μαζών

Στο φασματόμετρο μαζών QTOF έγινε αρνητικός ιοντισμός των ενώσεων με ηλεκτροψεκασμό (ESI) σύμφωνα με τις παρακάτω παραμέτρους:

Δυναμικό στην άκρη του τριχοειδούς:	500 V
Δυναμικό:	3500 V
Αέριο εκνέφωσης (N2):	2,0 bar
Αέριο ξήρανσης (N2):	8,0 L/min
Θερμοκρασία ξήρανσης:	200 ^{O}C

Το QTOF ρυθμίστηκε σε λειτουργία AutoMS με την οποία γίνεται καταγραφή φάσματος με εύρος μαζών 50-1000 m/z και ρυθμό σάρωσης 2,00 Hz. Αρχικά, χρησιμοποιήθηκε η λειτουργία AutoMS 5 precursor η οποία βασίζεται στη θραυσματοποίηση των πέντε μεγαλύτερων σε αφθονία ιόντων. Σε δεύτερη φάση, στις περιπτώσεις που χρειάστηκαν πληροφορίες για συγκεκριμένες μάζες για τις οποίες οι εντάσεις των σημάτων ήταν χαμηλές, πραγματοποιήθηκε και δεύτερη ανάλυση, χρησιμοποιώντας τη λίστα των επιθυμητών μαζών με AutoMS. Η βαθμονόμηση του φασματομέτρου μαζών QTOF έγινε με διάλυμα βαθμονόμησης (calibrant) φορμικού νατρίου, το οποίο αποτελείται από συμπλέγματα φορμικού νατρίου συγκέντρωσης 10
mM σε μίγμα νερού:ισοπροπανόλης (1:1).

Η βαθμονόμηση έγινε σε δύο επίπεδα:

- εξωτερική βαθμονόμηση (external calibration), η οποία πραγματοποιείται πριν από κάθε ανάλυση.

- εσωτερική βαθμονόμηση (internal calibration), η οποία γίνεται στην αρχή κάθε χρωματογραφήματος.

6.5 Τεχνικές σάρωσης

Για την ταυτοποίηση των ενώσεων που περιέχονται στο ελαιόλαδο ακολουθήθηκαν δύο τεχνικές σάρωσης:

- **Σάρωση στοχευμένων ενώσεων (Target screening)**

Δημιουργήθηκε μια λίστα στοχευμένων ενώσεων (target list) η οποία αποτελείται από 14 φαινολικές ενώσεις που έχουν εντοπιστεί στο ελαιόλαδο ή/και σε άλλα τμήματα του δέντρου αλλα συγκεντρώνουν πιθανότητες να βρίσκονται και στο ελαιόλαδο.

Η λίστα **(Πίνακας 6.2)** περιλάμβανε φαινολικές ενώσεις και από τις πέντε βασικές κατηγορίες για τις οποίες υπήρχαν εμπορικά διαθέσιμα πρότυπα. Αρχικά, για την εύρεση του θεωρητικού m/z της κάθε ένωσης χρησιμοποιήθηκε το λογισμικό Isotope Pattern. Έπειτα, αφού έγινε ανάλυση των δειγμάτων με λειτουργία AutoMS, βρέθηκε ο χρόνος ανάσχεσης της κάθε ένωσης με τη βοήθεια των λογισμικών Target Analysis 1.3 (Bruker Daltonik GmbH) και Data Analysis 4.1 (Bruker Daltonik GmbH) και συγκρίθηκε με εκείνο των αντίστοιχων προτύπων. Κατόπιν, υπολογίστηκε το εμβαδόν των κορυφών που αντιστοιχεί σε κάθε ένωση. Τέλος, τα φάσματα MS/MS των δειγμάτων συγκρίθηκαν με τα αντίστοιχα MS/MS φάσματα των πρότυπων ουσιών **(Πίνακας 6.5)** και πραγματοποιήθηκε σύγκριση των MS/MS θραυσμάτων που βρέθηκαν με θραύσματα που αναφέρονται σε προηγούμενες εργασίες.

Πίνακας 6.2 : Λίστα στοχευμένων ενώσεων

Ενώσεις Στοχευμένης Σάρωσης	**Μοριακός Τύπος**	**$[M\text{-}H]^-$**	**t_R (min)**
Αιθυλο-Βανιλλίνη	$C_9H_{10}O_3$	165.0557	5.45
Απιγενίνη	$C_{15}H_{10}O_5$	269.0455	8.24
Βανιλλίνη	$C_8H_8O_3$	152.0473	4.71
Γαλλικό οξύ	$C_7H_6O_5$	169.0142	1.24
Ελαιοευρωπαΐνη	$C_{25}H_{32}O_{13}$	539.1722	5.96
Επικατεχίνη	$C_{15}H_{14}O_6$	289.0716	4.35
Καφεϊκό οξύ	$C_9H_8O_4$	179.0349	1.53
Ομοβανιλλικό οξύ	$C_9H_{10}O_4$	181.0491	1.48
Πινορεζινόλη	$C_{20}H_{22}O_6$	357.1334	6.48
π-Κουμαρικό οξύ	$C_9H_8O_3$	163.0403	1.34
Συριγγικό οξύ	$C_9H_{10}O_5$	197.0417	1.43
Τυροσόλη	$C_8H_{10}O_2$	137.0610	4.08
Υδροξυτυροσόλη	$C_8H_{10}O_3$	153.0551	3.52
Φερουλικό οξύ	$C_{10}H_{10}O_4$	193.0506	1.39

- **Σάρωση «ύποπτων» ενώσεων (Suspect Screening)**

Η λίστα με τις «ύποπτες» ενώσεις (suspect list) περιελάμβανε φαινολικές ενώσεις **(Πίνακας 6.3)** οι οποίες έχουν εντοπιστεί σε φύλλα και καρπούς αλλά και στο ελαιόλαδο ή σε άλλα όργανα του δένδρου της ελιάς και αναφέρονται στη βιβλιογραφία προκειμένου να ανιχνευθεί η ύπαρξή τους στα δείγματα της παρούσας εργασίας. Συγκεκριμένα, για την εύρεση του θεωρητικού m/z της κάθε ένωσης χρησιμοποιήθηκε το λογισμικό Isotope Pattern. Έπειτα, αφού έγινε ανάλυση των δειγμάτων χρησιμοποιώντας λειτουργία AutoMS, βρέθηκε ο χρόνος ανάσχεσης της κάθε ένωσης μέσω των λογισμικών Target Analysis 1.3 (Bruker Daltonik GmbH) και Data Analysis 4.1 (Bruker Daltonik GmbH) και συγκρίθηκε με εκείνο του μοντέλου πρόβλεψης χρόνου QSRR **(Πίνακας 7.2)**. Κατόπιν, υπολογίστηκε το εμβαδόν των κορυφών που αντιστοιχεί σε κάθε ένωση, καθώς επίσης και ο λόγος εμβαδόν προς ένταση κορυφής (peak score) που βρέθηκε μεγαλύτερος του 4 (ιδανικά πρέπει να είναι 4-38). Για την αξιολόγηση των φασμάτων χρησιμοποιήθηκαν online εργαλεία θραυσματοποίησης (MetFrag) και πραγματοποιήθηκε σύγκριση των φασμάτων με online βιβλιοθήκες (MassBank) και τη βιβλιογραφία, διασταυρώνοντας τα αποτελέσματα με προηγούμενες εργασίες.

Πίνακας 6.3 : Λίστα ενώσεων για ύποπτη σάρωση

Ενώσεις «Ύποπτης» Σάρωσης	**Μοριακός Τύπος**
Αζελαϊκό οξύ	$C_9H_{16}O_4$
Aesculin	$C_{15}H_{15}O_9$
Αμπσισικό οξύ	$C_{15}H_{20}O_4$
7-Γλυκοζίτης της Απιγενίνης	$C_{21}H_{20}O_{10}$
Βανιλλικό οξύ	$C_8H_8O_4$
Βενζοϊκό οξύ	$C_7H_6O_2$
2,5-διυδροξυ-Βενζοϊκό οξύ	$C_7H_6O_4$
Verbascoside	$C_{29}H_{36}O_{15}$
Verucosin	$C_{20}H_{24}O_5$
Βερχεμόλη	$C_{20}H_{24}O_7$
2-Vicenin	$C_{27}H_{30}O_{15}$
Γαλλοκατεχίνη	$C_{15}H_{14}O_7$
Γεντισικό οξύ	$C_7H_6O_4$
Διοσμετίνη	$C_{16}H_{12}O_6$
Διοσμίνη	$C_{28}H_{32}O_{15}$

Ελαιασίνη	$C_{17}H_{20}O_6$
Άγλυκο της Ελαιοευρωπαΐνης	$C_{19}H_{22}O_8$
Άγλυκο της μεθυλο-Ελαιοευρωπαΐνης	$C_{20}H_{24}O_8$
Διμεθυλο-Ελαιοευρωπαΐνη	$C_{24}H_{30}O_{13}$
2-Μεθοξυ-Ελαιοευρωπαΐνη	$C_{26}H_{34}O_{14}$
10-Υδροξυ άγλυκο της Ελαιοευρωπαΐνης	$C_{19}H_{22}O_9$
10-Υδροξυ-10-άγλυκο της μεθυλο-Ελαιοευρωπαΐνης	$C_{20}H_{24}O_9$
10-Υδροξυ δεκαρβοξυμέθυλο άγλυκο της Ελαιοευρωπαΐνης	$C_{17}H_{20}O_7$
Ελαιοκανθάλη	$C_{17}H_{20}O_5$
Ελενολικό οξύ	$C_{11}H_{14}O_6$
2-ο-Γλυκοζίτης του Ελενολικού οξέος	$C_{17}H_{24}O_{11}$
Μεθυλεστέρας του Ελενολικού οξέος	$C_{12}H_{16}O_6$
Υδροξυλιωμένο Ελενολικό οξύ	$C_{11}H_{14}O_7$
Hellicoside	$C_{29}H_{36}O_{17}$
Esculetin	$C_9H_6O_4$
Iso-Acteoside	$C_{29}H_{36}O_{15}$
1-(3΄-μεθοξυ-4΄-υδροξυ)-φαινυλ-6,7- διυδροξυ-ισοχρωμάνη	$C_{16}H_{16}O_5$
1-φαινυλ-6,7-διυδροξυ-ισοχρωμάνη	$C_{15}H_{14}O_3$
Calceolarioside	$C_{23}H_{26}O_{11}$
3-ο-γλυκοζίτης της Κερκετίνης	$C_{21}H_{20}O_{12}$
Cichoriin	$C_{15}H_{16}O_9$
π-μεθοξυ-Βενζοκινόνη	$C_7H_6O_3$
Λικοδιόνη	$C_{15}H_{12}O_5$
Λινγκστροσίδη	$C_{25}H_{32}O_{12}$
Άγλυκο Λινγστροσίδη	$C_{19}H_{22}O_7$
Λουτεολίνη	$C_{15}H_{10}O_6$

7-ο-Γλυκοζίτης της Λουτεολίνης	$C_{21}H_{20}O_{11}$
3,7-ο-Διγλυκοζίτης της Λουτεολίνης	$C_{27}H_{30}O_{16}$
Chrysoeriol (3-Μεθυλο-ο-Λουτεολίνη)	$C_{16}H_{12}O_6$
Μασλινικό οξύ	$C_{30}H_{48}O_4$
Ναρινγενίνη	$C_{15}H_{12}O_5$
Nuzhenide	$C_{31}H_{42}O_{17}$
Ολεανολικό οξύ	$C_{30}H_{48}O_3$
Oleoside	$C_{16}H_{22}O_{11}$
Olivil	$C_{20}H_{24}O_7$
Ομοβανιλλική αλκοόλη	$C_9H_{12}O_3$
1-Ακετοξυπινορεζινόλη	$C_{22}H_{24}O_8$
1-Υδροξυπινορεζινόλη	$C_{20}H_{22}O_7$
Πρωτοκατεχικό οξύ	$C_7H_6O_4$
Ροσμαρινικό οξύ	$C_{18}H_{16}O_8$
Ρουτίνη	$C_{27}H_{30}O_{16}$
Γλυκοζίτης της Τυροσόλης (Salidroside)	$C_{14}H_{20}O_7$
Secologanoside	$C_{16}H_{22}O_{11}$
Σκοπολετίνη	$C_{10}H_8O_4$
Suspensaside	$C_{29}H_{36}O_{16}$
Συρινγγαλδεΰδη	$C_9H_{10}O_4$
Συρινγγαρεσινόλη	$C_{22}H_{26}O_8$
Ταξιφολίνη	$C_{15}H_{12}O_7$
Γλυκοζίτης της Υδροξυτυροσόλης	$C_{14}H_{20}O_8$
Όξυ Υδροξυτυροσόλη	$C_{10}H_{12}O_4$
π-υδροξυ-Φαινυλοξικό οξύ	$C_8H_8O_3$
Fustin	$C_{15}H_{12}O_6$
Fraxamoside	$C_{25}H_{30}O_{13}$

Πίνακας 6.4 : Παράμετροι που χρησιμοποιήθηκαν σε κάθε τεχνική σάρωσης.

Στοχευμένη Σάρωση	**«Ύποπτη» Σάρωση**
Όρια έντασης και εμβαδού κορυφής: 500 & 2000	Όρια έντασης και εμβαδού κορυφής: 500 & 2000
Ακρίβεια μάζας: 5 ppm	Ακρίβεια μάζας: 5 ppm
Ισοτοπικό προφίλ: <50 mSigma	Ισοτοπικό προφίλ: <100 mSigma
Χρόνος ανάσχεσης: ± 0.2	

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 7: ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

7.1 Αποτελέσματα στοχευμένης σάρωσης

Από την λίστα την στοχευμένης σάρωσης ανιχνεύτηκαν όλες οι ενώσεις όπως φαίνεται και στον παρακάτω πίνακα (**ΠΙΝΑΚΑΣ 7.1**). Στον ίδιο πίνακα παρουσιάζονται για κάθε ένωση οι χρόνοι ανάσχεσης των προτύπων και των δειγμάτων, καθώς και η μεταξύ τους διαφορά η οποία δεν ξεπέρασε τα 0,10 min. Επίσης, καταγράφονται τα MS/MS θραύσματα που αντιστοιχούν στην κάθε ένωση.

Πίνακας 7.1 : Αποτελέσματα στοχευμένης σάρωσης

Ένωση	**Μοριακός Τύπος**	**$[M\text{-}H]^-$ *m/z* προτύπου**	**$[M\text{-}H]^-$ *m/z* πειραματικό**	**R_t (min)**	**ΔR_t (min)**	**Θραύσματα *m/z***	**Μοριακός τύπος θραύσματος**
Γαλλικό οξύ	$C_7H_6O_5$	169.0142	169.0141	1.25	+0.02	125.0245	$C_6H_5O_3$
π-κουμαρικό οξύ	$C_9H_8O_3$	163.0400	163.0401	1.33	-0.01	119.0506 93.0348	C_8H_7O C_6H_5O
Φερουλικό οξύ	$C_{10}H_{10}O_4$	193.0506	193.0505	1.39	0	134.0371 178.0271	$C_8H_6O_2$ $C_9H_6O_4$
Συριγγικό οξύ	$C_9H_{10}O_5$	197.0455	197.0456	1.42	-0.02	182.0219	$C_8H_6O_5$
Ομοβανιλλικό οξύ	$C_9H_{10}O_4$	181.0506	181.0506	1.48	0	59.0135 122.0371 137.0608 154.0268	$C_2H_3O_2$ $C_7H_6O_2$ $C_8H_9O_2$ $C_7H_6O_4$
Τυροσόλη	$C_8H_{10}O_2$	137.0608	137.0607	4.06	0	81.0264 93.0347 112.0531	C_5H_5O C_6H_5O $C_6H_8O_2$
Υδροξυτυροσόλη	$C_8H_{10}O_3$	153.0557	153.0557	3.54	0	123.0445	$C_7H_7O_2$
Πινορεσινόλη	$C_{20}H_{22}O_6$	357.1343	357.1342	6.47	-0.01	151.0397	$C_8H_7O_3$

Ένωση	**Μοριακός Τύπος**	**[M-H]⁻ *m/z* προτύπου**	**[M-H]⁻ *m/z* πειραματικό**	**R_t (min)**	**ΔR_t (min)**	**Θραύσματα *m/z***	**Μοριακός τύπος θραύσματος**
Απιγενίνη	$C_{15}H_{10}O_5$	269.0455	269.0454	8.23	-0.01	149.0246 151.0037	$C_8H_5O_3$ $C_7H_3O_4$
Ελαιοευρωπαίνη	$C_{25}H_{32}O_{13}$	539.1770	539.1771	5.94	-0.02	59.0137 89.0245 101.0243 111.0082 121.0295 307.0820 377.1240	$C_2H_3O_2$ $C_3H_5O_3$ $C_4H_5O_3$ $C_5H_3O_3$ $C_7H_5O_2$ $C_{15}H_{15}O_7$ $C_{19}H_{21}O_8$
Βανιλλίνη	$C_8H_8O_3$	151.0400	151.0400	4.72	+0.01	71.0141 95.0140 108.0215 136.0160	$C_3H_3O_2$ $C_5H_3O_2$ $C_6H_4O_2$ $C_7H_4O_3$
Αιθυλο-βανιλλίνη	$C_9H_{10}O_3$	165.0557	165.0557	5.45	0	67.0191 92.0265 108.0217 137.0244	C_4H_3O C_6H_4O $C_6H_4O_2$ $C_7H_5O_3$
Επικατεχίνη	$C_{15}H_{14}O_6$	289.0716	289.0715	4.36	+0.01	137.0245 151.0416	$C_7H_5O_3$ $C_8H_7O_3$
Λουτεολίνη	$C_{15}H_{10}O_6$	285.0404	285.0404	7.56	+0.01	133.0295 151.0036	$C_8H_5O_2$ $C_7H_3O_4$

7.2 Αποτελέσματα ‘ύποπτης’ σάρωσης

Από την αρχική λίστα των 68 ‘ύποπτων’ ενώσεων ταυτοποιήθηκαν οι 24, όπως φαίνεται στον παρακάτω πίνακα (**ΠΙΝΑΚΑΣ 7.2**). Στον ίδιο πίνακα επίσης παρουσιάζονται για κάθε ένωση οι χρόνοι ανάσχεσης (οι πειραματικοί και οι αναμενόμενοι), τα MS/MS θραύσματα που αντιστοιχούν σε κάθε ένωση, ο λόγος του εμβαδού κορυφής προς την ένταση αυτής (A/I) καθώς και το επίπεδο ανίχνευσης.

Πίνακας 7.2 : Αποτελέσματα ‘υποπτης’ σάρωσης

Ένωση	**Μοριακός Τύπος**	**[M-H]⁻** ***m/z*** **προτύπου**	**[M-H]⁻** ***m/z*** **πειραματικό**	**t_R (min) πειραματικόl**	**t_R (min) αναμενόμενο**	**Θραύσματα** ***m/z***	**Μοριακός τύπος θραύσματος**	**A/I***	**Level Ident.**	
10-Υδροξυ δεκαρβοξυμέθυλο άγλυκο της Ελαιοευρωπαΐνης	$C_{17}H_{20}O_7$	335.1150	335.1151	4.28	5.52	59.0139 85.0296 121.0292 151.0401 153.0557 155.0716 199.0613	$C_2H_3O_2$ $C_4H_5O_2$ $C_7H_5O_2$ $C_8H_7O_3$ $C_8H_9O_3$ $C_8H_{11}O_3$ $C_9H_{11}O_5$	10	2a	[75]
10-Υδροξυ άγλυκο της Ελαιοευρωπαΐνης	$C_{19}H_{22}O_9$	393.1193	393.1191	4.82	5.48	137.0244 181.0502	$C_7H_5O_3$ $C_9H_9O_4$	12	2b	[75]
10-Υδροξυ-10-άγλυκο της μεθυλο-Ελαιοευρωπαΐνης	$C_{20}H_{24}O_9$	407.1347	407.1347	6.71	6.75	99.0453 111.0087 121.0295 135.0453 137.0243 149.0245 163.0402	$C_5H_7O_2$ $C_5H_3O_3$ $C_7H_5O_2$ $C_8H_7O_2$ $C_7H_5O_3$ $C_8H_5O_3$ $C_9H_7O_3$	16	2b	[75]

Ένωση	**Μοριακός Τύπος**	**[M-H]⁻ *m/z* προτύπου**	**[M-H]⁻ *m/z* πειραματικό**	**t_R (min) πειραματικόl**	**t_R (min) αναμενόμενο**	**Θραύσματα *m/z***	**Μοριακός τύπος θραύσματος**	**A/I***	**Level Ident.**	
						179.0351 195.0665 241.0871	$C_9H_7O_4$ $C_{10}H_{11}O_4$ $C_{15}H_{13}O_3$			
1-Ακετοξυπινορεζινόλη	$C_{22}H_{24}O_8$	415.1398	415.1399	6.42	7.20	151.0402 280.0951 343.1188	$C_8H_7O_3$ $C_{14}H_{16}O_6$ $C_{19}H_{19}O_6$	12	2b	[75]
1-Υδροξυπινορεζινόλη	$C_{20}H_{22}O_7$	373.1292	373.1292	6.39	6.39	121.0294 151.0401 163.0402	$C_7H_5O_2$ $C_8H_7O_3$ $C_9H_7O_3$	14	2b	[75]
1-Υδροξυπινορεζινόλη Ισομερές	$C_{20}H_{22}O_7$	373.1292	373.1294	6.42	*	-	-	12	3	[75]
Δεκαρβόξυμεθυλο άγλυκο της λινγκστροσίδης	$C_{17}H_{20}O_5$	303.1237	303.1237	6.42	6.76	124.0532 137.0605 147.0450 165.0551 183.0662	$C_7H_8O_2$ $C_8H_{10}O_2$ $C_9H_7O_2$ $C_9H_9O_3$ $C_9H_{11}O_4$	16	2a	[75]
Δεκαρβοξυμέθυλο άγλυκο της Ελαιοευρωπαΐνης	$C_{17}H_{20}O_6$	319.1185	319.1185	5.61	6.14	69.0342 95.0501 123.0448 139.0602 165.0556 183.0660 195.0656	C_4H_5O C_6H_7O $C_7H_7O_2$ $C_8H_{11}O_2$ $C_9H_9O_3$ $C_9H_{11}O_4$ $C_{10}H_{11}O_4$	14	2a	[75]
Ελενολικό οξύ	$C_{11}H_{14}O_6$	241.0714	241.0714	4.51	4.26	59.0137 95.0496	$C_2H_3O_2$ C_6H_7O	12	2a	[75]

Ένωση	Μοριακός Τύπος	$[M-H]^-$ *m/z* προτύπου	$[M-H]^-$ *m/z* πειραματικό	t_R (min) πειραματικόl	t_R (min) αναμενόμενο	Θραύσματα *m/z*	Μοριακός τύπος θραύσματος	A/I*	Level Ident.	
						127.0400 151.0402 171.0300	$C_6H_7O_3$ $C_8H_7O_3$ $C_7H_7O_5$			
Υδροξυλιωμένο Ελενολικό οξύ	$C_{11}H_{14}O_7$	257.0667	257.0667	1.36	-	59.0104 137.0603 181.0535	$C_2H_3O_2$ $C_8H_9O_2$ $C_9H_9O_4$	14	2a	[75]
Υδροξυλιωμένο Ελενολικό οξύ Ισομερές	$C_{11}H_{14}O_7$	257.0667	257.0665	1.41	-	-	-	18	3	[75]
Αιθυλεστέρας της Υδροξυτυροσόλης	$C_{10}H_{12}O_4$	195.0660	195.0662	6.71	6.48	134.0373 149.0608 161.0246	$C_8H_6O_2$ $C_9H_9O_2$ $C_9H_5O_3$	16	2b	[75]
Αιθυλεστέρας της Υδροξυτυροσόλης Ισομερές	$C_{10}H_{12}O_4$	195.0660	195.0662	5.74	6.48	59.0135 134.0374 161.0245	$C_2H_3O_2$ $C_8H_6O_2$ $C_9H_5O_3$	14	3	[75]
Άγλυκο Λιγστροσίδη	$C_{19}H_{22}O_7$	361.1291	361.1293	6.65	6.83	259.0975 291.0875	$C_{15}H_{15}O_4$ $C_{15}H_{15}O_6$	16	2a	[75]
Άγλυκο Λιγστροσίδη μονοαλδευδική μορφή	$C_{19}H_{22}O_7$	361.1291	361.1293	7.81	7.62	137.0608 241.0718	$C_8H_9O_2$ $C_{11}H_{13}O_6$	18	3	
Άγλυκο Λιγστροσίδη διαλδευδική μορφή	$C_{19}H_{22}O_7$	361.1291	361.1293	8.13	8.39	69.0346 101.0244 259.0976	C_4H_5O $C_4H_5O_3$ $C_{15}H1_5O_4$	21	3	
Ελαιοκορονάλη	$C_{19}H_{22}O_7$	361.1291	361.1293	8.34	8.72	195.0663 291.0874	$C_{10}H_{11}O_4$ $C_{15}H_{15}O_6$	15	3	

Ένωση	Μοριακός Τύπος	[M-H]⁻ *m/z* προτύπου	[M-H]⁻ *m/z* πειραματικό	t_R (min) πειραματικόl	t_R (min) αναμενόμενο	Θραύσματα *m/z*	Μοριακός τύπος θραύσματος	A/I*	Level Ident.	
Άγλυκο της μεθυλο-Ελαιοευρωπαΐνης	$C_{20}H_{24}O_8$	391.1412	391.1418	7.51	7.37	59.0140 67.0192 99.0456 111.0086 137.0608 291.0875	$C_2H_3O_2$ C_4H_3O $C_5H_7O_2$ $C_5H_3O_3$ $C_8H_9O_2$ $C_{16}H_{15}O_6$	11	2b	[75]
Oleoside	$C_{16}H_{22}O_{11}$	389.1089	389.1087	7.91	-	113.0245 139.0032 149.0240 165.0553 183.0665	$C_5H_5O_3$ $C_6H_3O_4$ $C_8H_5O_3$ $C_9H_9O_3$ $C_9H_{11}O_4$	17	2a	[75]
Άγλυκο της Ελαιοευρωπαΐνης	$C_{19}H_{22}O_8$	377.1241	377.1247	7.29	6.88	111.0088 149.0244 195.0645 275.0918 307.0823	$C_5H_3O_3$ $C_8H_5O_3$ $C_{10}H_{11}O_4$ $C_{15}H_{15}O_5$ $C_{15}H_{15}O_7$	22	2a	[75]
Άγλυκο της Ελαιοευρωπαΐνης μονοαλδευδική μορφή	$C_{19}H_{22}O_8$	377.1241	377.1241	7.43	7.53	69.0345 99.0088 121.0294 127.0400 135.0453 151.0401 163.0400	C_4H_5O $C_4H_3O_3$ $C_7H_5O_2$ $C_6H_7O_3$ $C_8H_7O_2$ $C_8H_7O_3$ $C_9H_7O_3$	19	3	
Άγλυκο της Ελαιοευρωπαΐνης διαλδευδική μορφή	$C_{19}H_{22}O_8$	377.1241	377.1241	7.61	8.18	59.0139 67.0187 95.0138 123.0453 128.0478 153.0558	$C_2H_3O_2$ C_4H_3O $C_5H_3O_2$ $C_7H_7O_2$ $C_6H_8O_3$ $C_8H_9O_3$	18	3	

Ένωση	**Μοριακός Τύπος**	**[M-H]⁻ *m/z* προτύπου**	**[M-H]⁻ *m/z* πειραματικό**	**t_R (min) πειραματικόl**	**t_R (min) αναμενόμενο**	**Θραύσματα *m/z***	**Μοριακός τύπος θραύσματος**	**A/I***	**Level Ident.**	
						195.0662	$C_{10}H_{11}O_4$			
Oleomissional	$C_{19}H_{22}O_8$	377.1241	377.1241	7.75	8.46	101.0245 163.0400	$C_4H_5O_3$ $C_9H_7O_3$	16	3	
Συριγγαρεζινόλη	$C_{22}H_{26}O_8$	417.1554	417.1556	6.18	8.10	127.0406 181.0505	$C_6H_7O_3$ $C_9H_9O_4$	14	2b	[75]

A/I: λόγος εμβαδού/ένταση κορυφής

Level Ident.: identification level επίπεδο ανίχνευσης

7.3 Ποσοτικά αποτελέσματα

Η ποσοτικοποίηση των αποτελεσμάτων της στοχευμένης σάρωσης έγινε με βάση τις αντίστοιχες πρότυπες ενώσεις. Η ημι-ποσοτικοποίηση των ενώσεων 'ύποπτης' σάρωσης πραγματοποιήθηκε με βάση τις πρότυπες ενώσεις οι οποίες είχανε παρόμοια χημική δομή. Οι ενώσεις:10-Υδροξυ-10-άγλυκο της μεθυλο-Ελαιοευρωπαΐνης, Άγλυκο της μεθυλο-Ελαιοευρωπαΐνης ,10-Υδροξυ άγλυκο της Ελαιοευρωπαΐνης ,Oleoside, Άγλυκο της Ελαιοευρωπαΐνης, Άγλυκο Λινγστροσίδη και Ελαιοκορωνάλη ημι-ποσοτικοποιήθηκαν με βάση το πρότυπο της ελαιοευρωπαΐνης. Ενώ οι ενώσεις: Υδροξυλιωμένο Ελενολικό οξύ, Ελενολικό οξύ, 10-Υδροξυ δεκαρβοξυμέθυλο άγλυκο της Ελαιοευρωπαΐνης, δεκαρβοξυμέθυλο άγλυκο της ελαιοευρωπαΐης, δεκαρβοξυμέθυλο άγλυκο της λινγκστροσίδης, όξυ-υδροξυτυροσόλη ημι-ποσοτικοποιήθηκαν με βάση το πρότυπο της τυροσόλης. Οι πίνακες των ποσοτικών και ημι-ποσοτικών αποτελεσμάτων παρουσιάζονται παρακάτω.

Πίνακας 7.3 (I-III): Ποσοτικοποιημένα αποτελέσματα για στοχευμένη και μη στοχευμένη σάρωση

Παράμετρος (mg/Kg)	**ΠΛ1**	**ΑΓ1**	**ΜΕ1**	**ΜΟ1**	**ΜΟ3**	**ΠΑ1**	**ΠΑ2**	**ΠΡ1**	**ΓΕ1**	**ΜΕ2**	**ΠΑ3**	**ΠΗ1**	**ΠΛ3**	**ΠΗ2**
Υδρόξυ δεκαρβοξυμέθυλο ελαιοευρωπεΐνη*	14.4	12.6	12.6	12.7	13.8	12.3	12.5	12.3	13.6	12.2	13.4	13.1	0	11.1
Υδρόξυ ελαιοευρωπεΐνη*	6.61	6.7	7.78	9.3	7.38	7.03	6.89	26.6	27.4	33.3	25.6	25.9	26.2	8.3
Υδρόξυ μέθυλο ελαιοευρωπεΐνη*	7.98	24.4	15.1	10.7	16.2	7.85	8.27	14.3	11	14.5	9.18	13.8	7.27	12.1
Ολεασίνη*	34	21.2	31.7	14.9	19.2	42	26.8	32.4	25.1	16.1	31.7	28.6	25.8	41.4
Ελαιοκανθάλη*	23.6	19.3	27.5	20.9	23.8	24.7	27.1	24.2	30.6	22.8	33.6	27.8	29.1	28.6
Ελαιωευρωπεΐνη*	0.33	-	-	0.31	0.31	0	0	0.33	0	0.31	0.31	0	0	0.3
Ελενολικό Οξύ	11.6	11.5	11.6	11.6	11.7	11.8	11.5	35.8	23.3	11.5	34.6	11.8	11.9	12.5
Όξυ υδρόξυ τυροσόλη*	19.6	16	20.1	13.3	15.2	23.5	17	46.1	41.3	37.5	44.5	42.4	29.2	24.8
Άγλυκη λινγκστροσίδη (άθροισμα: άγλυκη λινγκστροσίδη. μονοαλδεϋδική. διαλδεϋδική και ολεοκορωνάλη)*	66.2	120	291	108	162	131	116	151	114	8.24	8.33	8.21	8.72	137
Μέθυλο άγλυκη ελαιοευρωπεΐνη*	7.92	10.4	11.4	10.5	8.7	9.5	10.9	16.1	17.7	13.7	15.2	28.1	15.7	7.44
Oleoside	7.99	7.13	8.02	8.09	7.36	8.25	9.02	6.84	13.6	13.2	13.1	13.5	13.2	7.84
Άγλυκη ελαιωευρωπεΐνη (άθροισμα: άγλυκη	165	229	360	137	192	274	161	299	196	127	202	236	252	291

ελαιωευρωπεΐνη. μονοαλδεϋδική. διαλδεϋδική και ολεομισσιονάλη)*														
Συρινγγαρεσινόλη	0.37	0.37	0.36	0.4	0.35	0.39	0.37	0.37	0.37	0.4	0.35	0.39	0	0.77
Τυροσόλη*	12	11.7	12.1	11.8	11.4	12	11.7	46.5	0	35.1	34.8	0	34.7	12.3
Υδροξυτυροσόλη*	11.6	11.5	11.7	0	11.6	11.7	11.6	58.6	0	35.2	35.3	0	59	12.6
Απιγενίνη	0.32	0.16	0.15	0.26	0.85	0.15	0.14	0.3	0.18	0.29	0.85	0.21	0	0.87
Λουτεολίνη	5.43	2.05	1.9	0.22	1.55	1.63	1.88	0.72	5.21	2.18	0.42	0.24	1.07	2.53
Βανιλλίνη	4.56	4.29	4.54	6.31	4.48	4.28	6.12	3.42	0	3.56	3.94	0	3.62	0
Ομοβανιλλικό οξύ	0.4	1.15	0.51	1.51	3.12	0.57	0.71	0.84	0	0.82	0.43	0	0.42	0.73
Γαλλικό οξύ	0.26	0.14	0.18	0	0.21	0.31	0.17	0	0	0	0	0	0	0
Π0Κουμαρικό οξύ	0.31	0.25	0.21	0.24	0	0.15	0.18	0.24	0	0.21	0	0	0	0
Φερουλικό οξύ	0.18	0.16	0	0	0	0	0	0.14	0	0.18	0	0	0	0
Συρινγγικό οξύ	0.18	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Πινορεζινόλη	0.62	0.65	0.78	0.52	0.6	0.57	0.5	1.11	0	1.19	1.61	0.75	1.37	0.99
Ακετοξυπινορεζινόλη	2.68	2.06	3.45	1.13	1.7	2.52	2.18	6.38	7.89	2.81	11.6	3.08	6.33	6.5
Υδροξυπινορεζινόλη	1.73	1.15	1.4	1.49	1.73	1.6	1.9	0	0.73	0.68	0.89	0.73	0.85	1.19
Σύνολο παραγώγων Υδροξυτυροσόλης, Τυροσόλης και παραγώγων	**369**	**482**	**801**	**349**	**482**	**556**	**410**	**770**	**514**	**381**	**502**	**450**	**513**	**587**

Ελαιοευρωπεΐνης*														
Συνολικό φαινολικό περιεχόμενο	**406**	**514**	**834**	**381**	**515**	**588**	**444**	**784**	**528**	**393**	**522**	**455**	**526**	**631**

Παράμετρος (mg/Kg)	ΠΗ3	ΣΚ1	ΑΚ1	ΓΕ2	ΓΕ3	Μ1	Μ2	Μ3	Μ4	ΚΡ1	ΔΦ1	ΓΕ4	ΓΕ4Θ	ΓΕ5
Υδρόξυ δεκαρβοξυμέθυλο ελαιοευρωπεΐνη*	10.9	13.2	13.6	8.1	10.1	10.4	12.2	16.3	12.7	12.4	11.8	12.3	11.9	13.5
Υδρόξυ ελαιοευρωπεΐνη*	8.02	16.7	9.8	8.9	7.8	8.66	8.9	10.7	9.2	7.87	7.56	11.5	8.17	7.79
Υδρόξυ μέθυλο ελαιοευρωπεΐνη*	15.6	32.1	31.4	18.4	20.7	18.9	20.6	14.3	16.8	8.37	7.32	12.7	8.69	10.8
Ολεασίνη*	44	20.1	28.5	20.5	37.6	37.1	46.9	20.8	24.9	32	14.7	16.8	19.4	47.6
Ελαιοκανθάλη*	27.7	25.1	28.1	26.4	24.5	24.8	30.4	34.3	32.2	28.5	22.6	28.6	20.6	37.1
Ελαιωευρωπεΐνη*	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.34	0.33	0	0.33	0	0	0	0	0
Ελενολικό Οξύ	12.1	12.1	11.9	11.6	11.9	12	12.4	11.8	11.9	11.7	11.6	11.6	11.6	11.7
Όξυ υδρόξυ τυροσόλη*	26.4	18	18.4	15.3	22.9	23.2	28.8	15.3	17	0	0	0	11.5	0
Άγλυκη λινγκστροσίδη (άθροισμα: άγλυκη λινγκστροσίδη. μονοαλδεϋδική. διαλδεϋδική και ολεοκορωνάλη)*	140	289	159	91.3	131	126	196	101	120	18.9	14.2	13.7	16.2	27
Μέθυλο άγλυκη ελαιοευρωπεΐνη*	8.46	22.6	7.81	10.9	7.96	9.34	11.7	12.7	10.2	173	67	148	113	105
Oleoside	8.06	11.3	7.93	8.05	8.07	8.61	8.31	8.36	7.8	6.89	8.96	11.6	11.7	10.3
Άγλυκη ελαιωευρωπεΐνη (άθροισμα: άγλυκη ελαιωευρωπεΐνη. μονοαλδεϋδική. διαλδεϋδική και ολεομισσιονάλη)*	335	248	236	124	274	222	327	108	166	7.58	7.18	6.94	6.49	8.1
Συριγγαρεσινόλη	0.63	0.52	0.41	0.51	0.53	0.56	0.6	0.5	0.62	289	103	136	124	194

Τυροσόλη*	12.1	12.4	11.9	12.4	12.1	12.4	12.4	12.4	12.2	0.44	0.47	0.57	0.52	0.7
Υδροξυτυροσόλη*	12.3	11.9	11.9	11.7	12.2	12.6	12.9	11.7	11.8	12.4	12.5	12.8	12.5	12.5
Απιγενίνη	0.91	0.82	0.76	0.89	0.82	0.85	0.92	0.71	0.74	11.9	-	11.9	11.9	11.8
Λουτεολίνη	1.56	1.24	0.63	2.14	1.9	4.58	4.75	4.53	4.61	0.85	1.14	0.92	0.91	0.85
Βανιλλίνη	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1.02	1.17	0.94	0.92	1.21
Ομοβανιλλικό οξύ	0.83	1.03	0.65	0.61	0.71	0.81	0.97	0.56	0.62	0	0	0	0	0
Γαλλικό οξύ	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Π-Κουμαρικό οξύ	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Φερουλικό οξύ	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Συριγγικό οξύ	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Πινορεζινόλη	0.86	1.21	0.76	0.82	0.82	0.91	1.07	0.82	0.87	0.78	0.82	0.91	0.77	0.64
Ακετοξυπινορεζινόλη	5.5	4.8	1.9	4.3	4.3	5.29	7.08	4.24	5.8	1.86	2.01	4.86	3.06	7.57
Υδροξυπινορεζινόλη	1.1	0.95	1.22	1.22	1.1	1.09	1.09	1.55	1.27	1.3	1.27	1.51	1.09	1.61
Σύνολο παραγώγων Υδροξυτυροσόλης. Τυροσόλης και παραγώγων Ελαιοευρωπεΐνης*	**640**	**709**	**556**	**348**	**561**	**506**	**708**	**356**	**433**	**601**	**270**	**416**	**358**	**477**
Συνολικό φαινολικό περιεχόμενο	**683**	**754**	**582**	**377**	**590**	**540**	**757**	**391**	**468**	**627**	**295**	**444**	**395**	**510**

Παράμετρος (mg/Kg)	**ΓΕ6**	**ΑΚ1**	**ΚΟ1**	**ΚΟ3**	**ΚΟ4**	**ΠΛ4**	**ΕΕ1**
Υδρόξυ δεκαρβοξυμέθυλο ελαιοευρωπεΐνη*	12.4	12.2	11.7	11.9	12.3	12	12.2
Υδρόξυ ελαιοευρωπεΐνη*	8.04	7.98	9.62	11	7.53	0	10.8
Υδρόξυ μέθυλο ελαιοευρωπεΐνη*	8.45	8.32	11.9	12.4	11.6	6.93	22.9
Ολεασίνη*	41.3	34.5	15.5	19.7	29.8	25.2	24.9
Ελαιοκανθάλη*	26.3	24.6	18.5	18.3	20.6	26	32.5
Ελαιωευρωπεΐνη*	0	0	0	0	0	0	0
Ελενολικό Οξύ	11.7	12.1	11.6	11.6	11.6	11.7	12.1
Όξυ υδρόξυ τυροσόλη*	0	11.5	11.6	11.7	0	0	20.6
Άγλυκη λινγκστροσίδη (άθροισμα: άγλυκη λινγκστροσίδη. μονοαλδεϋδική. διαλδεϋδική και ολεοκορωνάλη)*	22.4	21	16.7	20.5	20.7	18.4	210
Μέθυλο άγλυκη ελαιοευρωπεΐνη*	165	80.7	108	85.3	52.1	75.1	13.7
Oleoside	10.1	9.5	10.7	10.5	8.07	7.67	8.69
Άγλυκη ελαιωευρωπεΐνη (άθροισμα: άγλυκη ελαιωευρωπεΐνη. μονοαλδεϋδική. διαλδεϋδική και ολεομισσιονάλη)*	7.7	8.74	11	14.5	8.11	6.8	191
Συρινγγαρεσινόλη	269	160	142	134	158	122	0.88
Τυροσόλη*	0.47	0.5	0.5	0.48	0.45	0.41	12.7

Υδροξυτυροσόλη*	12.2	12.2	12.8	11.5	11.7	12.3	11.7
Απιγενίνη	11.7	12.2	12.4	13.9	11.8	12.2	0.94
Λουτεολίνη	1.21	0.75	0.84	1.11	0.77	0.82	4.63
Βανιλλίνη	1.15	0.87	1.06	1.18	0.96	3.47	0
Ομοβανιλλικό οξύ	0	0	0	0	0	0	1.16
Γαλλικό οξύ	0	0	0	0	0	0	0
π-Κουμαρικό οξύ	0	0	0	0	0	0	0
Φερουλικό οξύ	0	0	0	0	0	0	0
Συρινγγικό οξύ	0	0	0	0	0	0	0
Πινορεζινόλη	0.45	0.74	0.66	0.55	0.65	0.63	0.95
Ακετοξυπινορεζινόλη	3.21	1.55	3.28	2.13	2.15	2.68	6.09
Υδροξυπινορεζινόλη	1.24	1.23	1.4	1.21	1.18	0.73	1.23
Σύνολο παραγώγων Υδροξυτυροσόλης. Τυροσόλης και παραγώγων Ελαιοευρωπεΐνης*	**587**	**383**	**370**	**349**	**344**	**318**	**563**
Συνολικό φαινολικό περιεχόμενο	**614**	**421**	**412**	**394**	**370**	**345**	**611**

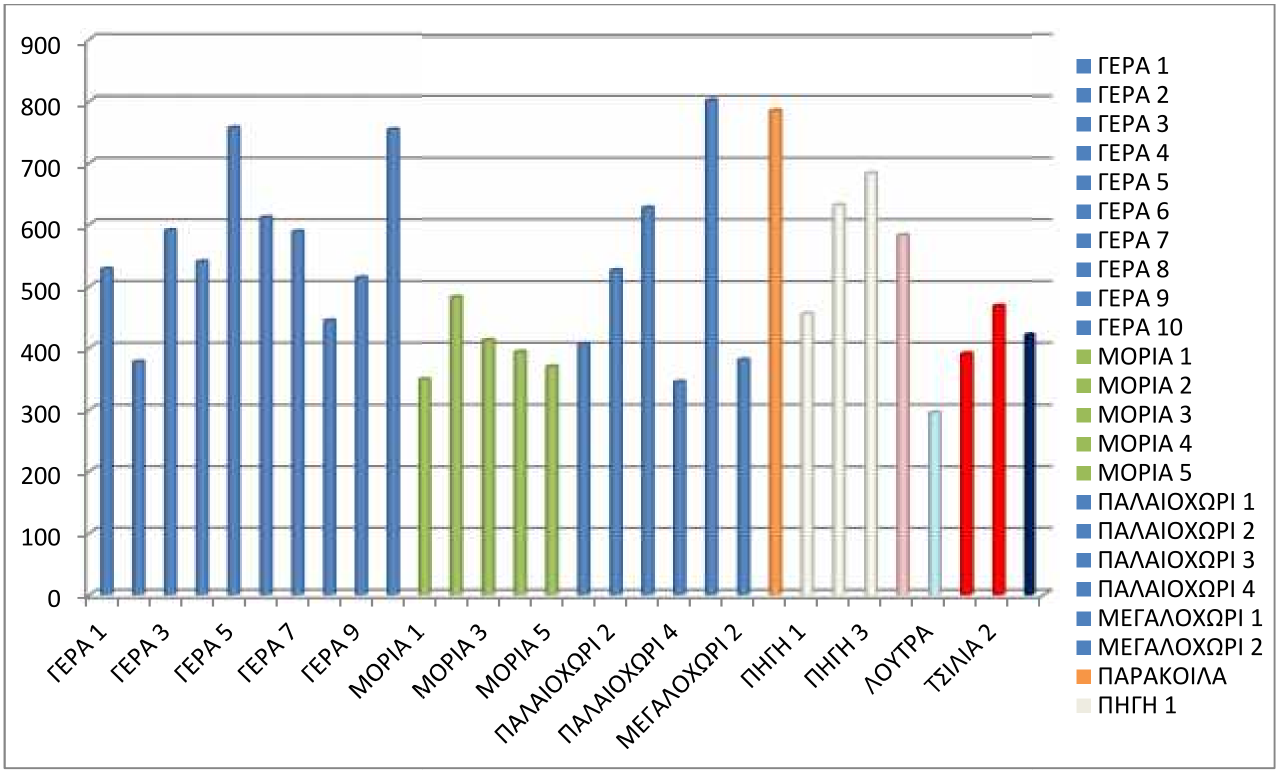
7.4 Συσχέτιση φαινολικού προφίλ με το υψόμετρο καλλιέργειας

Για τη εξαγωγή συμπερασμάτων διαχωρίσαμε τα δείγματα σε σχέση με το υψόμετρο στο οποίο καλλιεργήθηκαν τα ελαιόδεντρα στις περιοχές αυτές.

Πίνακας 7.4 : Περιοχές καλλιέργειας-υψόμετρο (κατά προσέγγιση)

Περιοχή	**Υψόμετρο (m)**
Μεγαλοχώρι	580
Ακράσι	340
Παλιοχώρι	300
Πηγή	160
Γέρα	150
Λουτρά	60
Παρακοίλα	50
Μόρια	20
Τσίλια	10
Καλλονή	0

Όπως φαίνεται και στο παρακάτω ραβδόγραμμα (**Σχήμα 7.1)** υπάρχουν σοβαρές ενδείξεις για την συσχέτιση του φαινολικού προφίλ με το υψόμετρο καλλιέργειας.



Σχήμα 7.1 : Ραβδόγραμμα συσχέτισης συνολικού φαινολικού προφίλ με το υψόμετρο καλλιέργειας

Από το διάγραμμα είναι φανερό ότι το δείγμα ΜΕ1 από το Μεγαλοχώρι έχει το μεγαλύτερο φαινολικό προφίλ ενώ ακολουθούν διάφορα δείγματα από περιοχές με υψόμετρο άνω των 100-120 μέτρων όπως είναι η Γέρα και η Πηγή. Χαμηλότερο φαινολικό προφίλ παρουσιάζουν δείγματα από περιοχές με χαμηλότερο υψόμετρο όπως η Τσίλια, η Καλλονή και η Μόρια.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 8: ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Αναλύθηκαν 39 δείγματα ελληνικών έξτρα παρθένων ελαιόλαδων από διάφορες περιοχές της Λέσβου. Σε αυτά ανιχνεύθηκαν 11 ενώσεις από τις 15 συνολικά που υπήρχαν στην λίστα στοχευμένης σάρωσης ενώ από τις 68 ενώσεις της λίστας ύποπτων ενώσεων ανιχνεύτηκαν οι 24.

Αφού αναλύσαμε και ποσοτικοποιήσαμε τα αποτελέσματα υπολογίσαμε το συνολικό φαινολικό προφίλ των δειγμάτων και στην συνέχεια τα συγκρίναμε μεταξύ τους και τα ομαδοποιήσαμε σε σχέση με το υψόμετρο καλλιέργειας.

Τα συμπεράσματα που εξάγαμε όσον αφορά το υψόμετρο σε σχέση με το φαινολικό προφίλ είναι ότι όσο υψηλότερο είναι το σημείο καλλιέργειας (ειδικότερα υψηλότερο από 100-120 μέτρα) τόσο υψηλότερο είναι το συνολικό φαινολικό προφίλ που υπολογίσαμε.

Φυσικά το φαινολικό προφίλ δεν εξαρτάται αποκλειστικά απο το υψόμετρο αλλά μπορούμε να βγάλουμε ασφαλή συμπεράσματα τα οποία μπορούν να αποτελέσουν έναυσμα για περαιτέρω έρευνα και σε υπόλοιπα πεδινά, ημιορεινά και ορεινά σημεία της χώρας μας η οποία βρίσκεται στην 3η θέση παγκοσμίως στην παραγωγή ελαιόλαδου και στην 1η θέση κατανάλωσης με 16 kg περίπου κατά κεφαλήν ετησίως.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 9: ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

[1] Biesalski, H., Dragsted, L., Elmadfa, I., Grossklaus, R., Müller, M., Schrenk, D., Walter, P. and Weber, P. (2009). Bioactive compounds: Definition and assessment of activity. Nutrition, 25(11-12), pp.1202-1205.

[2] Kris-Etherton, P., Hecker, K., Bonanome, A., Coval, S., Binkoski, A., Hilpert, K., Griel, A. and Etherton, T. (2002). Bioactive compounds in foods: their role in the prevention of cardiovascular disease and cancer. The American Journal of Medicine, 113(9), pp.71-88.

[3] Kris-Etherton, P., Lefevre, M., Beecher, G., Gross, M., Keen, C. and Etherton, T. (2004). Bioactive compounds in nutrition and health-research methodologies for establishing biological function: The Antioxidant and Anti-inflammatory Effects of Flavonoids on Atherosclerosis. Annual Review of Nutrition, 24(1), pp.511-538.

[4] Κώδικας Τροφίμων και Ποτών και Αντικειμένων Κοινής χρήσης, Εδώδιμα λίπη και έλαια, Άρθρο 71, έκδοση 18, Ιούλιος 2015.

[5] Boskou D, Olive Oil: Chemistry and Technology, Second Edition, AOCS Press, p. 63-80.

[6] Lanzón, A., Albi, T., Cert, A. and Gracián, J. (1994). The hydrocarbon fraction of virgin olive oil and changes resulting from refining. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 71(3), pp.285-291.

[7] Rao, C. (1998). Chemopreventive effect of squalene on colon cancer. Carcinogenesis, 19(2), pp.287-290.

[8] Minguez-Mosquera, M., Gandul-Rojas, B., Garrido-Fernandez, J. and Gallardo-Guerrero, L. (1990). Pigments present in virgin olive oil. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 67(3), pp.192-196.

[9] Lou-Bonafonte, J., Arnal, C., Navarro, M. and Osada, J. (2012). Efficacy of bioactive compounds from extra virgin olive oil to modulate atherosclerosis development. *Molecular Nutrition & Food Research*, 56(7), pp.1043-1057.

[10] Covas, M. (2008). Bioactive effects of olive oil phenolic compounds in humans: reduction of heart disease factors and oxidative damage. *Inflammopharmacology*, 16(5), pp.216-218.

[11] Covas, M., Ruiz-Gutiérrez, V., Torre, R., Kafatos, A., Lamuela-Raventós, R., Osada, J., Owen, R. and Visioli, F. (2006). Minor Components of Olive Oil: Evidence to Date of Health Benefits in Humans. *Nutrition Reviews*, 64, pp.S20-S30.

[12] Robards, K., Prenzler, P., Tucker, G., Swatsitang, P. and Glover, W. (1999). Phenolic compounds and their role in oxidative processes in fruits. *Food Chemistry*, 66(4), pp.401-436.

[13] Kelebek, H., Kesen, S. and Selli, S. (2015). Comparative Study of Bioactive Constituents in Turkish Olive Oils by LC-ESI/MS/MS. *International Journal of Food Properties*, 18(10), pp.2231-2245.

[14] Antonini, E., Farina, A., Leone, A., Mazzara, E., Urbani, S., Selvaggini, R., Servili, M. and Ninfali, P. (2015). Phenolic compounds and quality parameters of family farming versus protected designation of origin (PDO) extra-virgin olive oils. *Journal of Food Composition and Analysis*, 43, pp.75-81.

[15] Shahidi, F., Janitha, P. and Wanasundara, P. (1992). Phenolic antioxidants. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 32(1), pp.67-103.

[16] Fernandez, M., Saenz, M. and Garcia, M. (1998). Natural Products: Anti-inflammatory Activity in Rats and Mice of Phenolic Acids Isolated from Scrophularia frutescens. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 50(10), pp.1183-1186.

[17] Haris Omar, S. (2010). Oleuropein in Olive and its Pharmacological Effects. *Scientia Pharmaceutica*, 78(2), pp.133-154.

[18] Şahin, S., Bilgin, M. and Dramur, M. (2011). Investigation of Oleuropein Content in Olive Leaf Extract Obtained by Supercritical Fluid Extraction and Soxhlet Methods. *Separation Science and Technology*, 46(11), pp.1829-1837.

[19] Owen, R., Haubner, R., Würtele, G., Hull, W., Spiegelhalder, B. and Bartsch, H. (2004). Olives and olive oil in cancer prevention. *European Journal of Cancer Prevention*, 13(4), pp.319-326.

[20] Tripoli, E., Giammanco, M., Tabacchi, G., Di Majo, D., Giammanco, S. and La Guardia, M. (2005). The phenolic compounds of olive oil: structure, biological activity and beneficial effects on human health. Nutrition Research Reviews, 18(01), p.98.

[21] Visioli, F., Poli, A., Galli, C. (2002). Antioxidant and Other Biological Activities of Phenols from Olives and Olive Oil. Medicinal Research Reviews 22(01), p.65-75.

[22] Alarcón Flores, M., Romero-González, R., Garrido Frenich, A. and Martínez Vidal, J. (2012). Analysis of phenolic compounds in olive oil by solid-phase extraction and ultra

high performance liquid chromatography–tandem mass spectrometry. *Food Chemistry*, 134(4), pp.2465-2472.

[23] Alkan, D., Tokatli, F. and Ozen, B. (2011). Phenolic Characterization and Geographical Classification of Commercial Extra Virgin Olive Oils Produced in Turkey. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 89(2), pp.261-268.

[24] Andrewes, P., Busch, J., de Joode, T., Groenewegen, A. and Alexandre, H. (2003). Sensory Properties of Virgin Olive Oil Polyphenols: Identification of Deacetoxy-ligstroside Aglycon as a Key Contributor to Pungency. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(5), pp.1415-1420.

[25] Angerosa, F. (2000). Virgin olive oil odour notes: their relationships with volatile compounds from the lipoxygenase pathway and secoiridoid compounds. *Food Chemistry*, 68(3), pp.283-287.

[26] Bajoub, A., Carrasco-Pancorbo, A., Ajal, E., Beltrán Maza, G., Fernández-Gutiérrez, A. and Ouazzani, N. (2014). Contribution to the establishment of a protected designation of origin for Meknès virgin olive oil: A 4-years study of its typicality. *Food Research International*, 66, pp.332-343.

[27] Bajoub, A., Hurtado-Fernández, E., Ajal, E., Ouazzani, N., Fernández-Gutiérrez, A. and Carrasco-Pancorbo, A. (2015). Comprehensive 3-Year Study of the Phenolic Profile of Moroccan Monovarietal Virgin Olive Oils from the Meknès Region. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 63(17), pp.4376-4385.

[28] Bakhouche, A., Lozano-Sánchez, J., Beltrán-Debón, R., Joven, J., Segura-Carretero, A. and Fernández-Gutiérrez, A. (2013). Phenolic characterization and geographical classification of commercial Arbequina extra-virgin olive oils produced in southern Catalonia. *Food Research International*, 50(1), pp.401-408.

[29] Ballus, C., Quirantes-Piné, R., Bakhouche, A., da Silva, L., de Oliveira, A., Coutinho, E., da Croce, D., Segura-Carretero, A. and Godoy, H. (2015). Profile of phenolic compounds of Brazilian virgin olive oils by rapid resolution liquid chromatography coupled to electrospray ionisation time-of-flight mass spectrometry (RRLC–ESI-TOF-MS). *Food Chemistry*, 170, pp.366-377.

[30] Barros, A., Freire, I., Gonçalves, B., Bacelar, E., Gomes, S., Lopes, J., Guedes-Pinto, H. and Martins-Lopes, P. (2013). Evaluation of chemical and phenotypic changes in Blanqueta, Cobrançosa, and Galega during olive fruits ripening. *CyTA - Journal of Food*, 11(2), pp.136-141.

[31] Becerra-Herrera, M., Sánchez-Astudillo, M., Beltrán, R. and Sayago, A. (2014). Determination of phenolic compounds in olive oil: New method based on liquid–liquid

micro extraction and ultra high performance liquid chromatography-triple–quadrupole mass spectrometry. *LWT - Food Science and Technology*, 57(1), pp.49-57.

[32] Beltrán, G., Ruano, M., Jiménez, A., Uceda, M. and Aguilera, M. (2007). Evaluation of virgin olive oil bitterness by total phenol content analysis. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 109(3), pp.193-197.

[33] Capriotti, A., Cavaliere, C., Crescenzi, C., Foglia, P., Nescatelli, R., Samperi, R. and Laganà, A. (2014). Comparison of extraction methods for the identification and quantification of polyphenols in virgin olive oil by ultra-HPLC-QToF mass spectrometry. *Food Chemistry*, 158, pp.392-400.

[34] Carrasco-Pancorbo, A., Cerretani, L., Bendini, A., Segura-Carretero, A., Del Carlo, M., Gallina-Toschi, T., Lercker, G., Compagnone, D. and Fernández-Gutiérrez, A. (2005). Evaluation of the Antioxidant Capacity of Individual Phenolic Compounds in Virgin Olive Oil. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(23), pp.8918-8925.

[35] De Nino, A., Di Donna, L., Mazzotti, F., Muzzalupo, E., Perri, E., Sindona, G. and Tagarelli, A. (2005). Absolute Method for the Assay of Oleuropein in Olive Oils by Atmospheric Pressure Chemical Ionization Tandem Mass Spectrometry. *Analytical Chemistry*, 77(18), pp.5961-5964.

[36] del Monaco, G., Officioso, A., D’Angelo, S., La Cara, F., Ionata, E., Marcolongo, L., Squillaci, G., Maurelli, L. and Morana, A. (2015). Characterization of extra virgin olive oils produced with typical Italian varieties by their phenolic profile. *Food Chemistry*, 184, pp.220-228.

[37] Delgado-Povedano, M., Priego-Capote, F. and Luque de Castro, M. (2017). Selective ultrasound-enhanced enzymatic hydrolysis of oleuropein to its aglycon in olive (Olea europaea L.) leaf extracts. *Food Chemistry*, 220, pp.282-288.

[38] Di Donna, L., Mazzotti, F., Salerno, R., Tagarelli, A., Taverna, D. and Sindona, G. (2007). Characterization of new phenolic compounds from leaves ofOlea europaea L. by high-resolution tandem mass spectrometry. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, 21(22), pp.3653-3657.

[39] Dierkes, G., Krieger, S., Dück, R., Bongartz, A., Schmitz, O. and Hayen, H. (2012). High-Performance Liquid Chromatography–Mass Spectrometry Profiling of Phenolic Compounds for Evaluation of Olive Oil Bitterness and Pungency. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60(31), pp.7597-7606.

[40] Favati, F., Condelli, N., Galgano, F. and Caruso, M. (2013). Extra virgin olive oil bitterness evaluation by sensory and chemical analyses. *Food Chemistry*, 139(1-4), pp.949-954.

[41] Fernández-Arroyo, S., Gómez-Martínez, A., Rocamora-Reverte, L., Quirantes-Piné, R., Segura-Carretero, A., Fernández-Gutiérrez, A. and Ferragut, J. (2012). Application of nanoLC-ESI-TOF-MS for the metabolomic analysis of phenolic compounds from extra-virgin olive oil in treated colon-cancer cells. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 63, pp.128-134.

[42] Fu, S., Arráez-Román, D., Menéndez, J., Segura-Carretero, A. and Fernández-Gutiérrez, A. (2009). Characterization of isomers of oleuropein aglycon in olive oils by rapid-resolution liquid chromatography coupled to electrospray time-of-flight and ion trap tandem mass spectrometry. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, 23(1), pp.51-59.

[43] García-Villalba, R., Carrasco-Pancorbo, A., Oliveras-Ferraros, C., Vázquez-Martín, A., Menéndez, J., Segura-Carretero, A. and Fernández-Gutiérrez, A. (2010). Characterization and quantification of phenolic compounds of extra-virgin olive oils with anticancer properties by a rapid and resolutive LC-ESI-TOF MS method. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 51(2), pp.416-429.

[44] Gentile, L. and Uccella, N. (2014). Selected bioactives from callus cultures of olives (Olea europaea L. Var. Coratina) by LC-MS. *Food Research International*, 55, pp.128-136.

[45] Gilbert-López, B., Valencia-Reyes, Z., Yufra-Picardo, V., García-Reyes, J., Ramos-Martos, N. and Molina-Díaz, A. (2014). Determination of Polyphenols in Commercial Extra Virgin Olive Oils from Different Origins (Mediterranean and South American Countries) by Liquid Chromatography–Electrospray Time-of-Flight Mass Spectrometry. *Food Analytical Methods*, 7(9), pp.1824-1833.

[46] Gutierrez-Rosales, F., Romero, M., Casanovas, M., Motilva, M. and Mínguez-Mosquera, M. (2010). Metabolites Involved in Oleuropein Accumulation and Degradation in Fruits of Olea europaea L.: Hojiblanca and Arbequina Varieties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58(24), pp.12924-12933.

[47] Gutiérrez-Rosales, F., Ríos, J. and Gómez-Rey, M. (2003). Main Polyphenols in the Bitter Taste of Virgin Olive Oil. Structural Confirmation by On-Line High-Performance Liquid Chromatography Electrospray Ionization Mass Spectrometry. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(20), pp.6021-6025.

[48] Karkoula, E., Skantzari, A., Melliou, E. and Magiatis, P. (2012). Direct Measurement of Oleocanthal and Oleacein Levels in Olive Oil by Quantitative1H NMR. Establishment of a New Index for the Characterization of Extra Virgin Olive Oils. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60(47), pp.11696-11703.

[49] Karkoula, E., Skantzari, A., Melliou, E. and Magiatis, P. (2014). Quantitative Measurement of Major Secoiridoid Derivatives in Olive Oil Using qNMR. Proof of the Artificial Formation of Aldehydic Oleuropein and Ligstroside Aglycon Isomers. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 62(3), pp.600-607.

[50] Jerman Klen, T., Golc Wondra, A., Vrhovšek, U. and Mozetič Vodopivec, B. (2015). Phenolic Profiling of Olives and Olive Oil Process-Derived Matrices Using UPLC-DAD-ESI-QTOF-HRMS Analysis. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 63(15), pp.3859-3872.

[51] Kotsiou, K. and Tasioula-Margari, M. (2016). Monitoring the phenolic compounds of Greek extra-virgin olive oils during storage. *Food Chemistry*, 200, pp.255-262.

[52] Krichene, D., Salvador, M. and Fregapane, G. (2015). Stability of Virgin Olive Oil Phenolic Compounds during Long-Term Storage (18 Months) at Temperatures of 5–50 °C. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 63(30), pp.6779-6786.

[53] Lamzira, Z., Ghabbour, N., Rokni, Y., Thonart, P., Chihib, N., Berrabah, M., Asehraou, A. (2014). Characterization of phenolic profile of Moroccan Picholine olive variety. *Journal of Materials and Environmental Science*, 5(2), pp. 490-497.

[54] Lozano-Sánchez, J., Segura-Carretero, A., Menendez, J., Oliveras-Ferraros, C., Cerretani, L. and Fernández- Gutiérrez, A. (2010). Prediction of Extra Virgin Olive Oil Varieties through Their Phenolic Profile. Potential Cytotoxic Activity against Human Breast Cancer Cells. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58(18), pp.9942-9955.

[55] Mateos, R., Cert, A., Pérez-Camino, M. and García, J. (2004). Evaluation of virgin olive oil bitterness by quantification of secoiridoid derivatives. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 81(1), pp.71-75.

[56] Mazzotti, F., Benabdelkamel, H., Di Donna, L., Maiuolo, L., Napoli, A. and Sindona, G. (2012). Assay of tyrosol and hydroxytyrosol in olive oil by tandem mass spectrometry and isotope dilution method. *Food Chemistry*, 135(3), pp.1006-1010.

[57] Michel, T., Khlif, I., Kanakis, P., Termentzi, A., Allouche, N., Halabalaki, M. and Skaltsounis, A. (2015). UHPLC-DAD-FLD and UHPLC-HRMS/MS based metabolic profiling and characterization of different Olea europaea organs of Koroneiki and Chetoui varieties. *Phytochemistry Letters*, 11, pp.424-439.

[58] Ouni, Y., Taamalli, A., Gómez-Caravaca, A., Segura-Carretero, A., Fernández-Gutiérrez, A. and Zarrouk, M. (2011). Characterisation and quantification of phenolic compounds of extra-virgin olive oils according to their geographical origin by a rapid and resolutive LC–ESI-TOF MS method. *Food Chemistry*, 127(3), pp.1263-1267.

[59] Seward, R., Stacey, C., Markers for Spanish Olive Oil Cultivars – Statistical Analysis of Polar Compounds from LC/MS Results, PerkinElmer, Inc. Waltham, MA

[60] Petrakis, P., Agiomyrgianaki, A., Christophoridou, S., Spyros, A. and Dais, P. (2008). Geographical Characterization of Greek Virgin Olive Oils (Cv. Koroneiki) Using1H and31P NMR Fingerprinting with Canonical Discriminant Analysis and Classification Binary Trees. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56(9), pp.3200-3207.

[61] Pizarro, M., Becerra, M., Sayago, A., Beltrán, M. and Beltrán, R. (2012). Comparison of Different Extraction Methods to Determine Phenolic Compounds in Virgin Olive Oil. *Food Analytical Methods*, 6(1), pp.123-132.

[62] Quirantes-Piné, R., Lozano-Sánchez, J., Herrero, M., Ibáñez, E., Segura-Carretero, A. and Fernández-Gutiérrez, A. (2012). HPLC-ESI-QTOF-MS as a Powerful Analytical Tool for Characterising Phenolic Compounds in Olive-leaf Extracts. *Phytochemical Analysis*, 24(3), pp.213-223.

[63] Reboredo-Rodríguez, P., González-Barreiro, C., Cancho-Grande, B. and Simal-Gándara, J. (2014). Quality of extra virgin olive oils produced in an emerging olive growing area in north-western Spain. *Food Chemistry*, 164, pp.418-426.

[64] Romeu, M., Rubió, L., Sánchez-Martos, V., Castañer, O., de la Torre, R., Valls, R., Ras, R., Pedret, A., Catalán, Ú., López de las Hazas, M., Motilva, M., Fitó, M., Solà, R. and Giralt, M. (2016). Correction to Virgin Olive Oil Enriched with Its Own Phenolics or Complemented with Thyme Phenols Improves DNA Protection against Oxidation and Antioxidant Enzyme Activity in Hyperlipidemic Subjects. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 64(24), pp.5137-5137.

[65] Sánchez de Medina, V., Priego-Capote, F. and de Castro, M. (2015). Characterization of monovarietal virgin olive oils by phenols profiling. *Talanta*, 132, pp.424-432.

[66] Siliani, S., Mattei, A., Innocenti, L. and Zanoni, B. (2006). Bitter taste and phenolic compounds in extra virgin olive oil: an empirical relationship. *Journal of Food Quality*, 29(4), pp.431-441.

[67] Stefanoudaki, E., Williams, M. and Harwood, J. (2010). Changes in virgin olive oil characteristics during different storage conditions. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 112(8), pp.906-914.

[68] Taamalli, A., Arráez Román, D., Zarrouk, M., Segura-Carretero, A. and Fernández-Gutiérrez, A. (2012). Classification of 'Chemlali' accessions according to the geographical area using chemometric methods of phenolic profiles analysed by HPLC–ESI-TOF–MS. *Food Chemistry*, 132(1), pp.561-566.

[69] Tasioula-Margari, M. and Tsabolatidou, E. (2015). Extraction, Separation, and Identification of Phenolic Compounds in Virgin Olive Oil by HPLC-DAD and HPLC-MS. *Antioxidants*, 4(3), pp.548-562.

[70] Vazquez-Martin, A., Fernández-Arroyo, S., Cufí, S., Oliveras-Ferraros, C., Lozano-Sánchez, J., Vellón, L., Micol, V., Joven, J., Segura-Carretero, A. and Menendez, J. (2012). Phenolic Secoiridoids in Extra Virgin Olive Oil Impede Fibrogenic and Oncogenic Epithelial-to-Mesenchymal Transition: Extra Virgin Olive Oil As a Source of Novel Antiaging Phytochemicals. *Rejuvenation Research*, 15(1), pp.3-21.

[71] Vichi, S., Cortés-Francisco, N. and Caixach, J. (2013). Insight into virgin olive oil secoiridoids characterization by high-resolution mass spectrometry and accurate mass measurements. *Journal of Chromatography A*, 1301, pp.48-59.

[72] Agiomyrgianaki, A., Petrakis, P. and Dais, P. (2012). Influence of harvest year, cultivar and geographical origin on Greek extra virgin olive oils composition: A study by NMR spectroscopy and biometric analysis. *Food Chemistry*, 135(4), pp.2561-2568.

[73] Bajoub, A., Ajal, E., Fernández-Gutiérrez, A. and Carrasco-Pancorbo, A. (2016). Evaluating the potential of phenolic profiles as discriminant features among extra virgin olive oils from Moroccan controlled designations of origin. *Food Research International*, 84, pp.41-51.

[74] Bajoub, A., Pacchiarotta, T., Hurtado-Fernández, E., Olmo-García, L., García-Villalba, R., Fernández-Gutiérrez, A., Mayboroda, O. and Carrasco-Pancorbo, A. (2016). Comparing two metabolic profiling approaches (liquid chromatography and gas chromatography coupled to mass spectrometry) for extra-virgin olive oil phenolic compounds analysis: A botanical classification perspective. *Journal of Chromatography A*, 1428, pp.267-279.

[75] Kalogiouri, N., Aalizadeh, R. and Thomaidis, N. (2017). Investigating the organic and conventional production type of olive oil with target and suspect screening by LC-QTOF-MS, a novel semi-quantification method using chemical similarity and advanced chemometrics. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*.

[76] Kalogiouri, N., Alygizakis, N., Aalizadeh, R. and Thomaidis, N. (2016). Olive oil authenticity studies by target and nontarget LC–QTOF-MS combined with advanced chemometric techniques. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 408(28), pp.7955-7970.

[77] Nescatelli, R., Bonanni, R., Bucci, R., Magrì, A., Magrì, A. and Marini, F. (2014). Geographical traceability of extra virgin olive oils from Sabina PDO by chromatographic

fingerprinting of the phenolic fraction coupled to chemometrics. *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems*, 139, pp.175-180.

[78] Skoog D.A., Holler F.J., Crouch S. R., Αρχές Ενόργανης Ανάλυσης, 6η Έκδοση, Ελληνική Μετάφραση Καραγιάννη-Ευσταθίου-Χανιωτάκη, Εκδόσεις Κωσταράκη, σελ. 624-666, 935-960

[79] Pérez-Jiménez, J. and Torres, J. (2012). Analysis of proanthocyanidins in almond blanch water by HPLC–ESI–QqQ–MS/MS and MALDI–TOF/TOF MS. *Food Research International*, 49(2), pp.798-806.

[80]Θωμαΐδης Ν., Φασματομετρία Μαζών, Σημειώσεις μαθήματος "Σύγχρονες Αναλυτικές Τεχνικές", ΕΚΠΑ, 2015

[81]https://eclass.uoa.gr/modules/document/file.php/BIOL208/MASS%20SPECTROSCOPY.pdf [Accessed 24 Jun. 2017].

[82]https://eclass.uoa.gr/modules/document/file.php/PHARM189/%CE%91%CE%9D%CE%91%CE%9B_%CE%A6%CE%A5%CE%A3%20_%CE%A0%CE%A1%20%CE%99%CE%99%20-%203.pdf

[83]https://repository.kallipos.gr/bitstream/11419/3677/1/02_chapter_12.pdf

[84] Sarmento Silva T. M., Pereira dos Santos F., Evangelitsa-Rodrigues A., Sarmento da Silva E. M., Sarmento da Silva G., Santos de Novais J., Francisco de Assis Ribeiro dos Santos, Camara C. A., "Phenolic compounds,melissopalynological, physicochemical analysis and antioxidant activity of jandaira honey", *Journal of Food Composition and Analysis*, **(2013)**, 29, 10-18

[85] Lianda L. P. R., D’Oliveira Sant’Ana L., Echevarria A., Castro N. R., "Antioxidant Activity and Phenolic Composition of Brazilian Honeys and their Extracts", *J. Braz. Chem. Soc.*, **(2012)**, 23, 618-627