Αγαπητέ κ ----------
Εκ μέρους του Καθ. Λέανδρου Σκαλτσούνη και της ομάδας ανάλυσης **πολυφαινολών ελαιολάδου** του **Φαρμακευτικού** Τμήματος του Πανεπιστημίου Αθηνών θα ήθελα να σας ενημερώσω σχετικά με τα αποτελέσματα της ανάλυσης. Στο συνημμένο αρχείο Θα βρείτε μια σύντομη περιγραφή των αποτελεσμάτων αυτών.

Θα θέλαμε να σας ευχαριστήσουμε για τη συμβολή σας στην Πανευρωπαϊκή αυτή μελέτη αποτύπωσης και **αξιολόγησης του Ελληνικού ελαιολάδου** που προσδοκούμε να επιφέρει σημαντικά επιστημονικά αποτελέσματα. Ελπίζουμε η μελέτη αυτή που ξεκινά από τον Έλληνα παραγωγό να βοηθήσει στη στήριξη του Εθνικού μας προϊόντος και να δώσει νέες προοπτικές και διεξόδους.

Θα είμαστε σε επικοινωνία για οποιαδήποτε μελλοντική εξέλιξη.

Με εκτίμηση
Maria Lalioti, MSc Biologist
University of Athens
School of Pharmacy
Laboratory of Pharmacognosy and Natural Products Chemistry
Athens 15771, Greece

ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΔΗΜΟΚΡΑΤΙΑ
Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών
ΤΜΗΜΑ ΦΑΡΜΑΚΕΥΤΙΚΗΣ
Τομέας Φαρμακογνωσίας & Χημείας Φυσικών Προϊόντων
Καθηγητής Α.Λ. Σκαλτσούνης

OLIVE CENTER

Εργαστηριακή Ανάλυση Πολυφαινολών Ελαιολάδου

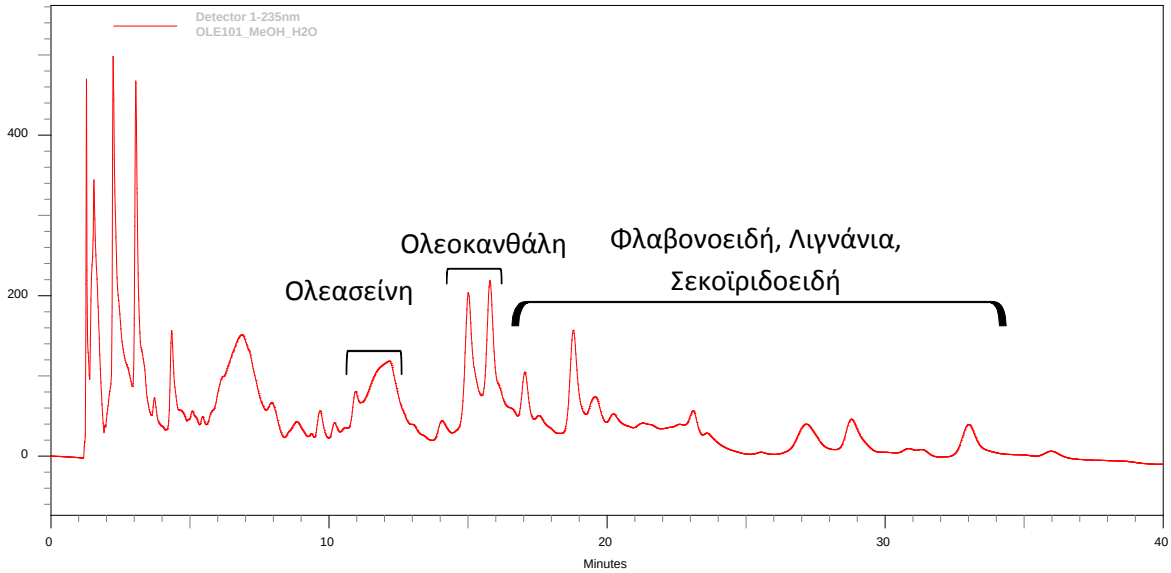
ΣΤΟΙΧΕΙΑ ΕΛΑΙΟΛΑΔΟΥ	
Κωδικός Δείγματος	**OLE101**
Όνομα & στοιχεία επικοινωνίας παραγωγού	
Τόπος προέλευσης	ΕΛΙΚΑ ΜΟΝΕΜΒΑΣΙΑΣ, ΛΑΚΩΝΙΑ
Ποικιλία ελαιόδεντρων	ΑΘΗΝΟΕΛΙΑ
Ημερομηνία συλλογής ελαιοκάρπου	12/2013
Τρόπος παραγωγής (διφασικό, τριφασικό, κλπ)	ΤΡΙΦΑΣΙΚΟ
Είδος καλλιέργειας (συμβατική, βιολογική κλπ)	ΒΙΟΛΟΓΙΚΗ
Έτος παραγωγής ελαιολάδου (ακριβής ημερομηνία όπου υπάρχει)	12/2013
Στοιχεία προηγούμενων αναλύσεων	
Παρατηρήσεις	

Η παρούσα μελέτη έχει ως στόχο την εφαρμογή εξειδικευμένων τεχνικών ανάλυσης (RP-HPLC-DAD) για την ανίχνευση των βιοδραστικών συστατικών του ελαιόλαδου που ευθύνονται σε μεγάλο βαθμό για τις ευεργετικές του ιδιότητες.

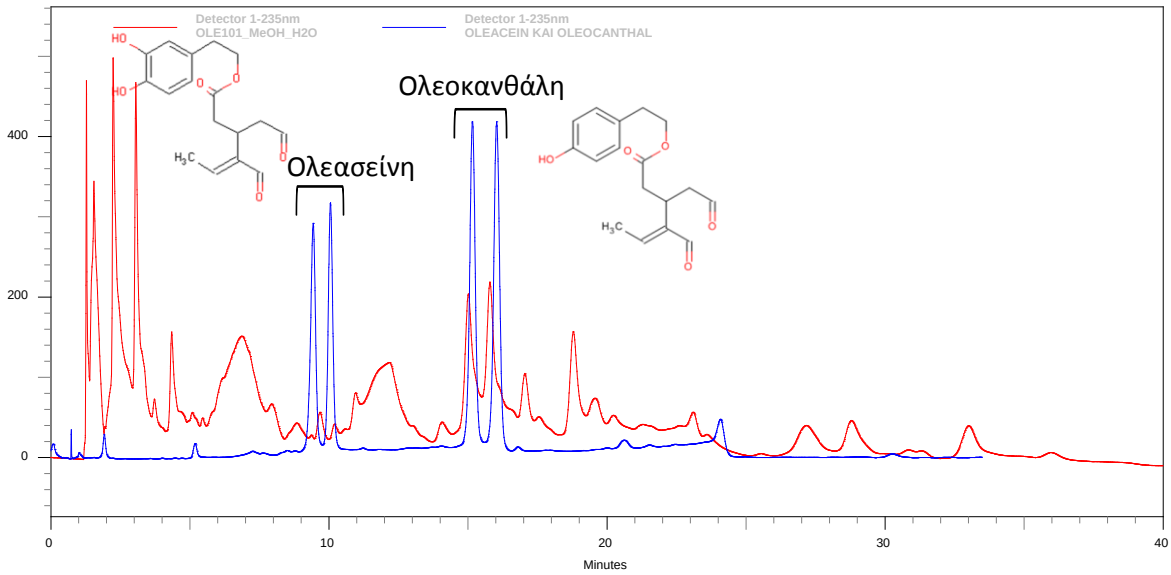
Ιδιαίτερο ενδιαφέρον παρουσιάζουν οι δευτερογενείς μεταβολίτες της κατηγορίας των φαινυλαλκοολών, όπως η υδροξυτυροσόλη (hydroxytyrosol) και η τυροσόλη (tyrosol), καθώς και των σεκοϊριδοειδών, όπως η ολεασείνη (oleacein) και η ολεοκανθάλη (oleocanthal), οι οποίες εμφανίζουν σημαντικές αντιοξειδωτικές, αντικαρκινικές και αντιφλεγμονώδεις ιδιότητες, ενώ φαίνεται να δρουν προστατευτικά κατά της νόσου Αλτσχάιμερ και της γήρανσης του δέρματος. Έτσι, η συγκεκριμένη μελέτη επικεντρώθηκε στην αποτύπωση χαρακτηριστικών αντιπροσώπων των παραπάνω κατηγοριών. Ωστόσο, μπορεί να επεκταθεί και στην ανίχνευση και τον ποσοτικό προσδιορισμό επιπλέον χημικών βιοδραστικών μορίων, όπως φαινολοξέα, φλαβονοειδή, λιγνάνια, τερπενοειδή.

Η συγκεκριμένη μεθοδολογία μπορεί να εφαρμοστεί για τον ποιοτικό έλεγχο του ελαιόλαδου και σε συνδυασμό με ήδη υπάρχουσες τεχνικές ελέγχου. Το παραγόμενο μεταβολικό προφίλ είναι συγκεκριμένο για κάθε τύπο ελαιόλαδου (ποικιλία, εποχή συλλογής, γραμμή παραγωγής κ.ά.) και μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως χημικό «αποτύπωμα».

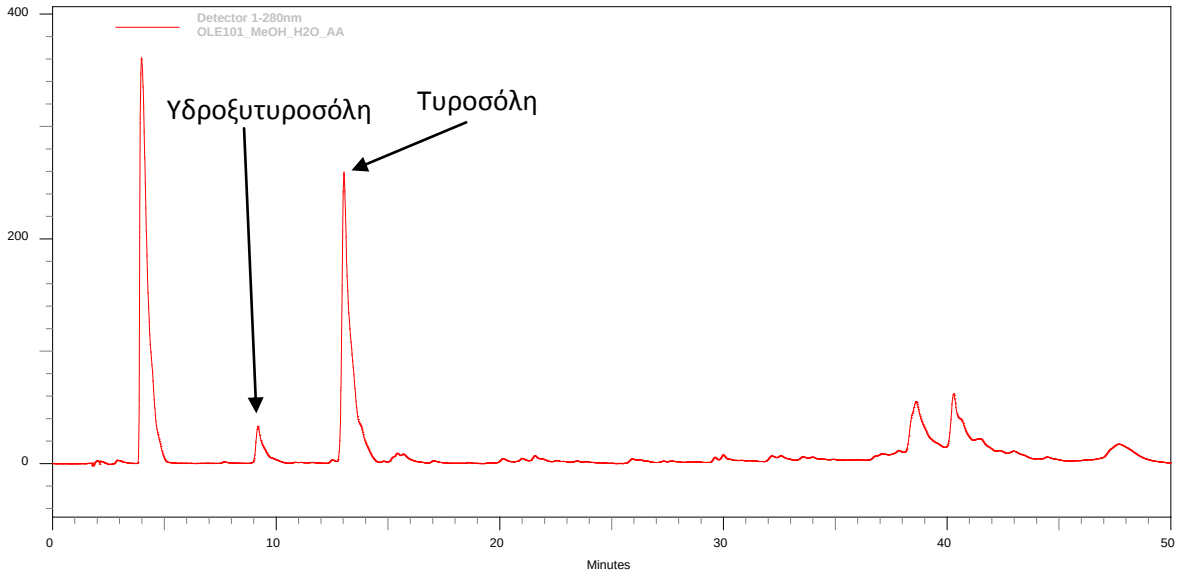
ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ



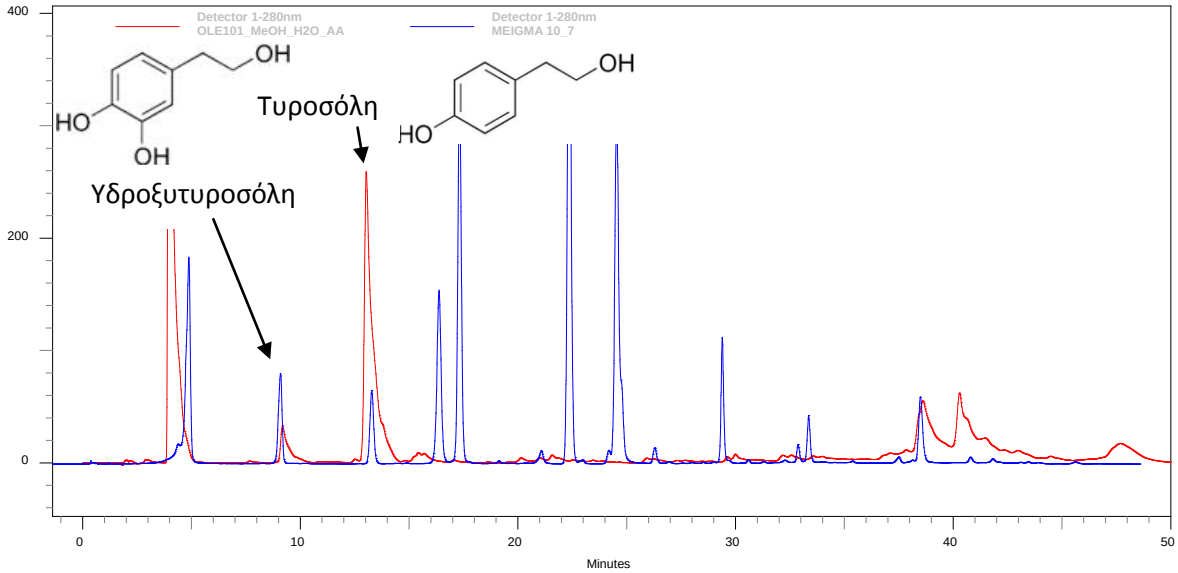
Εικόνα 1. Χρωματογράφημα RP-HPLC-DAD (235nm) του αναλυόμενου ελαιολάδου όπου επισημαίνονται οι κορυφές που αντιστοιχούν στην Ολεασείνη και την Ολεοκανθάλη. Επίσης, επισημαίνεται η περιοχή έκλουσης άλλων σημαντικών βιοδραστικών μορίων, όπως φλαβονοειδών, λιγνανίων και άλλων σεκοϊριδοειδών.



Εικόνα 2. Χρωματογράφημα RP-HPLC-DAD (235nm) του αναλυόμενου ελαιολάδου (κόκκινο χρώμα). Αντιπαραβάλλεται (μπλε χρώμα) το αντίστοιχο χρωματογράφημα διαλύματος προτύπων Ολεασείνης και Ολεοκανθάλης.



Εικόνα 3. Χρωματογράφημα RP-HPLC-DAD (280nm) του αναλυόμενου ελαιολάδου όπου επισημαίνονται οι κορυφές που αντιστοιχούν στην Υδροξυτυροσόλη και την Τυροσόλη.



Εικόνα 4. Χρωματογράφημα RP-HPLC-DAD (280 nm) του αναλυόμενου ελαιολάδου (κόκκινο χρώμα). Αντιπαραβάλλεται (μπλε χρώμα) το αντίστοιχο χρωματογράφημα διαλύματος προτύπων Υδροξυτυροσόλης και Τυροσόλης.

Πρώτο βήμα της ανάλυσης αποτέλεσε ο υπολογισμός **της απόδοσης** της εκχύλισης σε **ολικές πολυφαινόλες (βιοφαινόλες**). Συγκεκριμένα υπολογίστηκαν:

- **OLE101: ~** 1.4 g/Kg ελαιολάδου

Αυτό που υποδεικνύουν τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης είναι ότι το συγκεκριμένο ελαιόλαδο, το οποίο αναλύθηκε στο εργαστήριό μας ως προς την παρουσία πολυφαινολών, περιέχει σε **σημαντικές ποσότητες** ορισμένα **βιοενεργά συστατικά**. Συγκεκριμένα:

1. Στο πολυφαινολικό κλάσμα του ελαιολάδου παρατηρείται αυξημένη περιεκτικότητα στην φαινυλαλκοόλη Τυροσόλη (**Εικόνα 3**), ενώ σε χαμηλότερα επίπεδα εμφανίζεται το ανάλογό της, η Υδροξυτυροσόλη.

2. Από το χρωματογράφημα της **Εικόνας 1** διαπιστώνεται ότι περιέχει σε μικρότερο ποσοστό διαλδεϋδικά σεκοϊριδοειδή, όπως είναι η Ολεασείνη και η Ολεοκανθάλη.

3. Στο ίδιο χρωματογράφημα φαίνεται ότι η Ολεοκανθάλη υπερέχει ποσοτικά σε σχέση με το δομικά συγγενές της μόριο, την Ολεασείνη.

4. Τέλος, παρατηρούνται και άλλες κατηγορίες δραστικών φυσικών μορίων, όπως φλαβονοειδή (π.χ. κερσετίνη), λιγνάνια (π.χ. πινορεσινόλη) και άλλα σεκοϊριδοειδή.

ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΔΗΜΟΚΡΑΤΙΑ
Εθνικό και Καποδιστριακό
Πανεπιστήμιο Αθηνών
ΤΜΗΜΑ ΦΑΡΜΑΚΕΥΤΙΚΗΣ
Τομέας Φαρμακογνωσίας
& Χημείας Φυσικών Προϊόντων
Καθηγητής Α.Λ. Σκαλτσούνης

ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΗ ΑΝΑΦΟΡΑ

ΘΕΜΑ: Ποιοτική και ποσοτική ανάλυση πολυφαινολών σε δείγμα ελαιολάδου

ΗΜ/ΝΙΑ: 7/12/2015

ΔΕΙΓΜΑ	
ΚΩΔΙΚΟΣ ΔΕΙΓΜΑΤΟΣ	**ΠΕΡΙΓΡΑΦΗ**
OLE142	Δείγμα ελαιολάδου

ΑΝΑΛΥΣΗ

1. Εκχύλιση πολυφαινολών

2. Προσδιορισμός ολικού φαινολικού φορτίου

ΣΤΟΙΧΕΙΑ ΔΕΙΓΜΑΤΟΣ ΕΛΑΙΟΛΑΔΟΥ

ΚΩΔΙΚΟΣ ΔΕΙΓΜΑΤΟΣ	OLE142
Όνομα παραγωγού	
Τόπος προέλευσης	ΑΓ. ΑΠΟΣΤΟΛΟΙ, ΔΗΜΟΣ ΜΟΝΕΜΒΑΣΙΑΣ
Ποικιλία ελαιόδεντρων	ΑΘΗΝΟΕΛΙΑ/ΚΟΡΟΝΕΪΚΗ
Ημερομηνία συλλογής ελαιοκάρπου	10/11/2014
Τρόπος παραγωγής (διφασικό, τριφασικό, κλπ)	ΤΡΙΦΑΣΙΚΟ
Είδος καλλιέργειας (συμβατική, βιολογική κλπ)	ΒΙΟΛΟΓΙΚΗ
Ημερομηνία ελαιοποίησης καρπού	10/11/2014
Στοιχεία προηγούμενων αναλύσεων	-
Παρατηρήσεις	-

Η παρούσα μελέτη έχει ως στόχο την εφαρμογή εξειδικευμένων τεχνικών ανάλυσης (RP-HPLC-DAD) για την ανίχνευση των βιοδραστικών συστατικών του ελαιόλαδου, γνωστά και ως βιοφαινόλες, που ευθύνονται σε μεγάλο βαθμό για τις ευεργετικές του ιδιότητες.

Ιδιαίτερο ενδιαφέρον παρουσιάζουν οι δευτερογενείς μεταβολίτες της κατηγορίας των φαινυλαλκοολών, όπως η Υδροξυτυροσόλη (Hydroxytyrosol) και η Τυροσόλη (Tyrosol), καθώς και των σεκοϊριδοειδών, όπως η Ολεασείνη (Oleacein) και η Ολεοκανθάλη (Oleocanthal). Τα μόρια αυτά αποτελούν μέρος του πολικού φαινολικού κλάσματος του ελαιολάδου, και εμφανίζουν σημαντικές αντιοξειδωτικές, αντικαρκινικές και αντιφλεγμονώδεις ιδιότητες, ενώ φαίνεται να δρουν προστατευτικά κατά της νόσου Αλτσχάιμερ και της γήρανσης του δέρματος. Έτσι, η συγκεκριμένη μελέτη επικεντρώθηκε στην αποτύπωση χαρακτηριστικών αντιπροσώπων των παραπάνω κατηγοριών. Ωστόσο, μπορεί να επεκταθεί και στην ανίχνευση και τον ποσοτικό προσδιορισμό επιπλέον χημικών βιοδραστικών μορίων, όπως φαινολοξέα, φλαβονοειδή, λιγνάνια, τερπενοειδή.

Η συγκεκριμένη μεθοδολογία μπορεί να εφαρμοστεί για τον ποιοτικό έλεγχο του ελαιολάδου και σε συνδυασμό με ήδη υπάρχουσες τεχνικές ελέγχου. Το παραγόμενο μεταβολικό προφίλ είναι συγκεκριμένο για κάθε τύπο ελαιολάδου (ποικιλία, εποχή συλλογής, γραμμή παραγωγής κ.ά.) και μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως χημικό «αποτύπωμα».

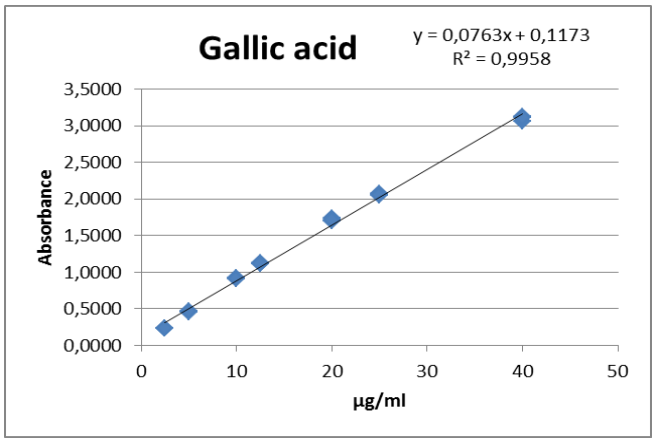
Α. ΕΚΧΥΛΙΣΗ / ΠΡΟΕΤΟΙΜΑΣΙΑ ΔΕΙΓΜΑΤΟΣ

Με σκοπό την απομόνωση των πολικών φαινολικών συστατικών του δείγματος ελαιολάδου **OLE142**, εφαρμόστηκε η μέθοδος της υγρής-υγρής εκχύλισης με χρήση φυγοκέντρου. Συγκεκριμένα, 1 g ελαιολάδου, αναμεμειγμένου με n-εξάνιο, εκχυλίστηκε τρεις φορές με μίγμα διαλυτών μεθανόλης/νερού 8:2. Μετά από ανάδευση και διαχωρισμό του λιπαρού (υποκείμενου) κλάσματος από το πολικό κλάσμα με φυγοκέντριση, τα υπερκείμενα εκχυλίσματα συλλέγονται, ενώνονται και ακολουθεί απολίπανση με n-εξάνιο. Το υδροαλκοολικό εκχύλισμα (πολυφαινολικό εκχύλισμα) που προκύπτει – από εδώ και στο εξής **TPF-OLE142** – εξατμίζεται υπό κενό στους 40°C μέχρι ξηρού, ζυγίζεται και οδηγείται προς ανάλυση.

Β. ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΟΛΙΚΟΥ ΦΑΙΝΟΛΙΚΟΥ ΦΟΡΤΙΟΥ (TPC)

Το περιεχόμενο του δείγματος ελαιολάδου **OLE142** σε ολικές φαινόλες (**TPC**) προσδιορίστηκε με τη χρωματομετρική μέθοδο Folin-Ciocalteu [ISO 14502-1:2005(E)] και το αποτέλεσμα (**Πίνακας 1**) εκφράστηκε σε mg ισοδυνάμων γαλλικού οξέος (GAE) ανά κιλό ελαιολάδου.

Για τον προσδιορισμό του ολικού φαινολικού φορτίου (**TPC**) στο δείγμα **TPF-OLE142** κατασκευάστηκε καμπύλη βαθμονόμησης του Γαλλικού οξέος (**Εικόνα 1**) και η μέτρηση πραγματοποιήθηκε στα 765 nm.



Εικόνα 1: Καμπύλη βαθμονόμησης Γαλλικού οξέος (2.5-40 µg/ml).

Πίνακας 1: Ολικό Φαινολικό Φορτίο (**TPC**) του αναλυόμενου δείγματος ελαιολάδου.

ΚΩΔΙΚΟΣ ΔΕΙΓΜΑΤΟΣ	TPC (mg GAE/Kg ελαιολάδου)
OLE142	146

ΣΧΟΛΙΑ - ΠΑΡΑΤΗΡΗΣΕΙΣ

1. Πρώτο βήμα της ανάλυσης αποτέλεσε ο υπολογισμός της απόδοσης της εκχύλισης σε **ολικές πολυφαινόλες** (**βιοφαινόλες**), εκφρασμένη σε g ξηρού εκχυλίσματος ανά κιλό ελαιολάδου. Συγκεκριμένα υπολογίστηκαν:
   - **OLE142: ~** 1.27 g/Kg ελαιολάδου

2. Από τον προσδιορισμό του ολικού φαινολικού φορτίου στο πολικό κλάσμα του ελαιολάδου, ο οποίος πραγματοποιήθηκε με τη φωτομετρική μέθοδο Folin-Ciocalteu, διαπιστώνεται ότι το αναλυόμενο δείγμα **OLE142** περιέχει ικανοποιητικά επίπεδα πολυφαινολών (**146 mg GAE/Kg ελαιολάδου**), σύμφωνα με βιβλιογραφικές αναφορές και σε σύγκριση με άλλα δείγματα Ελληνικού ελαιολάδου που έχουν αναλυθεί στο εργαστήριό μας.