

ΧΑΡΟΚΟΠΕΙΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ
ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΔΙΑΙΤΟΛΟΓΙΑΣ-ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ

ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΜΕΛΕΤΗ

**Ποιοτικός έλεγχος (μικροβιολογικές παράμετροι και
οργανοληπτικές ιδιότητες) σε βρώσιμες ελιές μετά από
τροποποίηση της βιομηχανικής διαδικασίας παραγωγής.**



ΤΖΕΜΗ ΠΕΛΑΓΙΑ
A.M. 20137

ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

A. Κυριακού **Λέκτορας**
B. Καραθάνος **Αναπληρωτής Καθηγητής**
A. Λαζαρίδη **Επίκουρη Καθηγήτρια**

ΑΘΗΝΑ, ΙΟΥΝΙΟΣ 2005

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Η εκπόνηση της πτυχιακής μου μελέτης αποδείχθηκε μια πρόκληση και το σίγουρο είναι πως δεν θα είχα καταφέρει να την ολοκληρώσω χωρίς την πολύτιμη βοήθεια κάποιων ανθρώπων που ήταν κοντά μου καθ' όλη την διάρκεια της εργασίας μου.

Πρώτη απ' όλους οφείλω ένα μεγάλο ευχαριστώ στην επιβλέπουσα της πτυχιακής μου εργασίας, την Λέκτορα Αδαμαντίνη Κυριακού, γιατί μου πρότεινε το θέμα της εργασίας μου, με καθοδήγησε όσον αφορά την χρήση των μικροβιολογικών τεχνικών, με βοήθησε στην συγγραφή της πτυχιακής μου εργασίας και με στήριξε ψυχολογικά.

Θέλω ακόμη να ευχαριστήσω τα άλλα δύο μέλη της τριμελούς επιτροπής την Επίκουρη Καθηγήτρια Αικατερίνη Λαζαρίδη και τον Αναπληρωτή Καθηγητή Βάϊο Καραθάνο για την προθυμία τους να λύσουν τυχόν απορίες μου και να με βοηθήσουν.

Επίσης, η βοήθεια της Μαρίας Κώτσου όσον αφορά την στατιστική επεξεργασία και την ταυτοποίηση των στελεχών ήταν καταλυτική και γι αυτό την ευχαριστώ ολόψυχα.

Ευχαριστώ ακόμα, τον Αγροτικό Συνεταιρισμό Ροβιών που προσέφερε τις ελιές για την πραγματοποίηση της μελέτης και τον κ. Κοντοδαίμων για τις πολύτιμες συμβουλές του και την βοήθεια του.

Θερμές ευχαριστίες οφείλω στην Εύη Μήτσου που ποτέ δεν μου αρνήθηκε την βοήθεια της όταν την χρειαζόμουν και με το χαμόγελο της δημιουργούσε ευχάριστο κλίμα μέσα στο εργαστήριο. Πρέπει ακόμα να ευχαριστήσω όλα τα παιδιά του εργαστηρίου που δημιούργησαν μία τόσο ζεστή ατμόσφαιρα συνεργασίας που είχε ως αποτέλεσμα να περνούν πραγματικά ευχάριστα οι ώρες που δούλευα πάνω στην πτυχιακή μου εργασία.

Θεωρώ πως πρέπει να ευχαριστήσω όλα τα άτομα που συμμετείχαν εθελοντικά στον οργανοληπτικό έλεγχο γιατί χωρίς την συμμετοχή τους δεν θα μπορούσα να ολοκληρώσω την εργασία μου.

Τέλος, θέλω να ευχαριστήσω την οικογένεια μου και τους φίλους μου για την ηθική και ψυχολογική υποστήριξη που μου προσέφεραν καθώς επίσης και για την κατανόηση τους.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

A ΜΕΡΟΣ: ΕΙΣΑΓΩΓΗ

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1^ο : ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΤΟΥ ΕΛΑΙΟΚΑΡΠΟΥ

σελίδες

1.1 Ιστορική Αναδρομή	1
1.2 Βοτανικά Χαρακτηριστικά	2
1.3 Δομή και Χημική σύσταση του Ελαιοκάρπου	3

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2^ο : ΕΛΙΕΣ, ΔΙΑΤΡΟΦΗ ΚΑΙ ΥΓΕΙΑ.

2.1 Γενικά	5
2.2 Οργανοληπτικά Χαρακτηριστικά	6
2.3 Θερμιδική αξία της Ελιάς	6
2.4 Βιολογική Αξία της Επιτραπέζιας Ελιάς	8
2.5 ΕΛΙΕΣ ΚΑΙ ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΑ	
2.5.1 Γενικά	11
2.5.2 Τι είναι οι Πολυφαινόλες	12
2.5.3 Δράσεις Πολυφαινολών	14

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3^ο: ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ ΚΑΙ ΖΥΜΩΣΗ ΤΗΣ ΕΠΙΤΡΑΠΕΖΙΑΣ ΕΛΙΑΣ

3.1 ΖΥΜΩΣΕΙΣ	
3.1.1 Γενικά	16
3.1.2 Οι Ζυμώσεις στα Φυτικά Προϊόντα	19
3.2 Η επεξεργασία της Επιτραπέζιας ελιάς	21
3.3 Η Επεξεργασία του Ελαιοκάρπου με Καυστικό Νάτριο στην Ελλάδα	22
3.4 Η Ζύμωση της επιτραπέζιας Ελιάς	23
3.5 Γαλακτική Ζύμωση	25
3.6 Βακτήρια του Γαλακτικού Οξέος	26
3.6.1 Χαρακτηριστικά των Βακτηρίων του Γαλακτικού Οξέος που σχετίζονται με την Ζύμωση των Πράσινων Ελιών	28

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4^ο: ΑΛΛΟΙΩΣΕΙΣ ΚΑΙ ΑΣΘΕΝΕΙΕΣ

4.1 Γενικά	30
4.2 Αλλοιώσεις	30
4.3 Ασθένειες	32

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5^ο: ΠΟΙΟΤΗΤΑ ΤΗΣ ΕΠΙΤΡΑΠΕΖΙΑΣ ΕΛΙΑΣ

5.1 Γενικά	37
5.2 Προσδιοριστικοί Παράγοντες της Ποιότητας	37
5.3 Υποκειμενική και Αντικειμενική Αξιολόγηση	41

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 6^ο : ΟΡΓΑΝΟΛΗΠΤΙΚΟΣ ΕΛΕΓΧΟΣ

6.1 Γενικά	42
------------	----

Β ΜΕΡΟΣ: ΜΕΘΟΔΟΙ ΚΑΙ ΥΛΙΚΑ

B.1 Δείγματα – Επεξεργασία	44
B.2 Μικροβιολογική Ανάλυση	
B.2.1 Είδη μικροοργανισμών / Απαραίτητα υλικά και θρεπτικά μέσα	45
B.2.2 Εμβολιασμός/ Επώαση	46
B.2.3 Καταμέτρηση αποικιών	47
B.3 Στατιστική επεξεργασία	51
B.4 Οργανοληπτικός έλεγχος	52

Γ ΜΕΡΟΣ: ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Γ.1 Καταμέτρηση του pH στην άλμη	54
Γ.2 Καταμετρήσεις μικροβιακών πληθυσμών στην άλμη	54
Γ.2.2 Καταμέτρηση της ολικής μεσόφιλης μικροχλωρίδας στην άλμη	55
Γ.2.3 Καταμέτρηση των εντεροβακτηρίων στην άλμη	56
Γ.2.4 Καταμέτρηση των ζυμών στην άλμη	57
Γ.2.5 Καταμέτρηση των οξυγαλακτικών βακτηρίων στην άλμη	58
Γ.2.6 Διακύμανση των μικροβιακών πληθυσμών στο δείγμα 277	60
Γ.2.7 Διακύμανση των μικροβιακών πληθυσμών στο δείγμα 234	61
Γ.2.8 Διακύμανση των μικροβιακών πληθυσμών στο δείγμα 216	62
Γ.4 Απομόνωση και ταυτοποίηση στελεχών οξυγαλακτικών βακτηρίων	62

Γ.5 Αποτελέσματα Οργανοληπτικού ελέγχου	64
---	----

<u>Δ. ΜΕΡΟΣ: ΣΥΖΗΤΗΣΗ-ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ</u>	67
---	----

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	
---------------------	--

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ	
------------------	--

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Ο ελαιόκαρπος χρησιμοποιείται εδώ και αιώνες από τους λαούς της Μεσογείου ως τροφή και η επεξεργασία του είναι ο σημαντικότερος αγροτικό-βιομηχανικός τομέας στις Μεσογειακές χώρες.

Η επεξεργασία της επιτραπέζιας ελιάς είναι απαραίτητη ώστε να καταστεί ο ελαιόκαρπος βρώσιμος λόγω της παρουσίας της πικρής ουσίας ελευρωπαΐνης. Η διαδικασία της εκπίκρανσης προϋποθέτει την επεξεργασία με άλκαλι, στη συνέχεια οι ελιές ξεπλένονται με καθαρό νερό και τελικά τοποθετούνται σε άλμη για περίπου 6 μήνες ώστε να πραγματοποιηθεί η ζύμωση. Για την επιτυχία της ζύμωσης απαραίτητη προϋπόθεση είναι η ύπαρξη μεικτού μικροβιακού πληθυσμού στην άλμη στον οποίο θα επικρατήσουν προοδευτικά τα βακτήρια του γαλακτικού οξέος. Τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά του τελικού προϊόντος, και οι πιθανές αλλοιώσεις που μπορεί να εμφανιστούν σχετίζονται με τους μικροβιακούς πληθυσμούς που αναπτύσσονται στην άλμη.

Τα τρία δείγματα πράσινων ελιών που μελετήσαμε, παρασκευάστηκαν από τον Αγροτικό Συνεταιρισμό Ροβιών, Ευβοίας και έχουν επεξεργαστεί με διαφορετικό συνδυασμό αλκάλειας και άλμης: **216: KOH+KCl, 277: NaOH+NaCl, 234: KOH +NaCl**

Σύμφωνα με τα αποτελέσματα του μικροβιολογικού και του οργανοληπτικού ελέγχου, διαφορές εντοπίστηκαν στους πληθυσμούς των ζυμών που ήταν σε όλη την διάρκεια της ζύμωσης μεγαλύτεροι στο δείγμα 216 απ' ότι στα δείγματα 277 και 234 καθώς και στις τιμές του pH που ήταν πολύ χαμηλότερες στο δείγμα 277. Ο οργανοληπτικός έλεγχος συμφωνεί με τα μικροβιολογικά ευρήματα αφού οι δοκιμαστές εντόπισαν διαφορές ανάμεσα στο δείγμα 216 και τα δείγματα 234 και 277 ενώ δεν εντόπισαν διαφορά ανάμεσα στα δείγματα 234 και 277.

ΣΚΟΠΟΣ

Σκοπός της εργασίας αυτής είναι η μελέτη της ζυμωτικής διαδικασίας σε τρία δείγματα βρώσιμων ελιών ισπανικού τύπου, τα οποία επεξεργάστηκαν στα στάδια της εκπίκρασης και της προσθήκης άλατος. Τα δείγματα αυτά παρασκευάστηκαν από τον Αγροτικό Συνεταιρισμό Ροβιών και ήταν:

Δείγμα 277: εκπίκραση με δμ. NaOH και προσθήκη NaCl

Δείγμα 234: εκπίκραση με δμ. KOH και προσθήκη NaCl

Δείγμα 216: εκπίκραση με δμ. KOH και προσθήκη KCl

Οι παράμετροι που επιλέχθηκαν για την μελέτη της ζύμωσης και της καταγραφής πιθανών διαφορών στα τρία δείγματα, ήταν η διακύμανση των τιμών του pH της άλμης, τα επίπεδα κάποιων συγκεκριμένων μικροβιακών πληθυσμών και οι οργανοληπτικές ιδιότητες των τελικών προϊόντων. Η μελέτη των μικροβιακών πληθυσμών περιλαμβάνει την καταμέτρηση των πληθυσμών των βακτηρίων του γαλακτικού οξέος, των βακτηρίων της οικογένειας *Enterobacteriaceae*, της ολικής μεσόφιλης μικροχλωρίδας και των ζυμών κατά τη διάρκεια της ζύμωσης.

Στόχος του οργανοληπτικού ελέγχου στο τελικό προϊόν του κάθε δείγματος είναι να διαπιστωθούν τυχόν διαφορές στα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά των ελιών εξαιτίας της διαφορετικής επεξεργασίας τους και να συσχετισθούν οι διαφορές αυτές με τα μικροβιολογικά ευρήματα.

A. ΜΕΡΟΣ

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1^ο : ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΤΟΥ ΕΛΑΙΟΚΑΡΠΟΥ

1.1 Ιστορική Αναδρομή

Η καλλιέργεια του δέντρου της ελιάς χάνεται στα βάθη των αιώνων και ως δραστηριότητα σίγουρα προηγείται της καταγραφής της ιστορίας από τον άνθρωπο.

Τόπος προέλευσης θεωρείται η Εγγύς Ανατολή ή η Αίγυπτος, από όπου διαδόθηκε σε όλες τις χώρες γύρω από τη λεκάνη της Μεσογείου όπου η καλλιέργεια συνεχίζεται μέχρι σήμερα (Chammem N. και συν, 2004).

Δεν έχει εξακριβωθεί με βάση μυθολογικά και ιστορικά δεδομένα, αν ο καρπός του ελαιόδεντρου χρησιμοποιήθηκε πρώτα ως πρώτη ύλη για τον διαχωρισμό του λαδιού σε καθαρή μορφή (ελαιουργία) ή ολόκληρος ως τροφή μετά από κάποια υποτυπώδη επεξεργασία.

Έκτός από τη διατροφή υπάρχουν αποδείξεις και ιστορικά δεδομένα για την χρησιμοποίηση του ελαιολάδου από τον άνθρωπο για την επάλειψη του σώματος του και γενικά για τον καλλωπισμό του. Συγκεκριμένα αναφέρεται στα αρχαία κείμενα της εποχής του Ομήρου ότι το ελαιόλαδο κατά τους ιστορικούς χρόνους χρησιμοποιούνταν από τις γυναίκες και τους αθλητές ως καλλυντικό (Μπαλατσούρας Γ., 1995).

Η πικρή ουσία ελευρωπαΐνη που βρίσκεται σε όλους τους ιστούς του ελαιόδεντρου και κυρίως στο μεσοκάρπιο, στάθηκε εμπόδιο στη χρησιμοποίηση της ελιάς ως τροφής από τον άνθρωπο για μια μεγάλη περίοδο. Ο ελαιόκαρπος είναι η μόνη δρύπη του φυτικού βασιλείου που αντί να είναι γλυκιά, όπως όλες οι άλλες, είναι εκ φύσεως πικρή και γι αυτό το λόγο δεν μπορούσε να καταναλωθεί κατευθείαν από το δέντρο ακόμα και στο στάδιο της ωρίμανσης. Έπρεπε λοιπόν να αναπτυχθεί, έστω και υποτυπωδώς, η τεχνολογία για να υποδείξει τεχνικές με τις οποίες θα μπορούσε ο ελαιόκαρπος να απαλλαγεί μερικώς ή πλήρως από την πικρή του ουσία και να είναι αποδεκτός από τον καταναλωτή.

Σύμφωνα με όσα γνωρίζουμε σήμερα, ο ελαιόκαρπος της ήμερης ή της άγριας ελιάς χρησιμοποιήθηκε ως τροφή από τότε που ο πρωτόγονος άνθρωπος άρχισε να προσθέτει αλάτι στο φαγητό του. Το αλάτι το ανακάλυψε τυχαία στις παραλίες των θαλασσών κατά τη θερινή περίοδο και διαπίστωσε ότι με την προσθήκη του στο φαγητό, σε ορισμένες συγκεντρώσεις, βελτίωνε τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά και παρέτεινε τον χρόνο συντήρησης του.

Στην περίπτωση του ελαιοκάρπου το αλάτι δρούσε ως αφυδατικός παράγοντας εκχυλίζοντας από την σάρκα της ελιάς τα περισσότερα φυτικά υγρά τα οποία είναι πλούσια σε ελευρωπαΐνη.

Η εκπίκρυνση με χάραγμα του καρπού και η εμφάνιση στη συνέχεια μέσα σε πυκνή άλμη ή νερό φαίνεται πως είναι μια κατάκτηση της τεχνολογίας στο θέμα της επεξεργασίας της ελιάς που ήρθε πολύ αργότερα (Nychas J.E. και συν, 2001).

Τέλος η κατεργασία με άλκαλι για μερική ή πλήρη απαλλαγή του από τη πικρή ουσία είναι περισσότερο εξεζητημένη τεχνική των τελευταίων χρόνων (Duran Quintana M.C. και συν, 1999).

1.2 Βοτανικά Χαρακτηριστικά

Από πλευράς βοτανικής το ελιόδεντρο ανήκει στη οικογένεια Oleaceae και στο είδος *Olea europaea*. Έχουν αναγνωριστεί τρία υποείδη :

1. *Olea europaea* var. *sativa*
2. *Olea europaea* var. *olivaster*
3. *Olea europaea* var. *oleaster*

Το πρώτο υποείδος έχει συμπεριλάβει το σύνολο των καλλιεργούμενων ποικιλιών ελιάς οι οποίες από πλευράς τεχνολογικής χωρίζονται σε τρεις κατηγορίες ανάλογα με τον τρόπο που χρησιμοποιείται ο καρπός:

- ❑ Ποικιλίες επιτραπέζιες (ή βρώσιμες) που παράγουν καρπό για επιτραπέζια κατανάλωση.
- ❑ Ποικιλίες που παράγουν καρπό για την παραγωγή ελαιολάδου.
- ❑ Ποικιλίες διπλής χρήσης, δηλαδή που παράγουν καρπό και για τους δύο σκοπούς, για παραγωγή ελαιολάδου και για επιτραπέζια κατανάλωση.

Το δεύτερο υποείδος έχει συμπεριλάβει όλες τις άγριες ελιές που αυτοφύονται σε ορισμένες περιοχές της Μεσογείου.

Το τρίτο υποείδος συμπεριλαμβάνει όλα τα δέντρα που προέρχονται από κουκούτσια των ποικιλιών της ήμερης ελιάς που όμως έχουν κάποια από τα χαρακτηριστικά της άγριας ελιάς (Μπαλατσούρας Γ., 1995).

1.3 Δομή και Χημική σύσταση του Ελαιοκάρπου

Ο καρπός του ελαιοκάρπου είναι δρύπη, όμοια με τις κοινές δρύπες των πυρηνοκάρπων, δηλαδή το ροδάκινο, το κεράσι, το δαμάσκηνο κλπ

Ανατομικά δεν υπάρχει διαφορά ανάμεσα στον ελαιοκάρπο και στις άλλες δρύπες αφού και εδώ τα συστατικά μέρη του καρπού είναι τα ίδια :

- Το επικάρπιο ή επιδερμίδα
- Το μεσοκάρπιο ή σάρκα
- Το ενδοκάρπιο ή κουκούτσι

Το τελευταίο συγκροτείται από ξυλώδες περίβλημα το οποίο εγκλείει ένα και σπανίως δύο αμύγδαλα (Μπαλατσούρας Γ., 1995).

Ενώ ο ελαιοκάρπος δεν διαφέρει ανατομικά από τις δρύπες των πυρηνοκάρπων διαφέρει ως προς την χημική σύσταση και τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά. Αυτό οφείλεται κυρίως σε τρεις λόγους :

- Τη μικρή περιεκτικότητα της σάρκας σε σάκχαρα που κυμαίνεται μεταξύ του 2,5 και του 6% επί νωπής ελαιομάζας σε σχέση με το 12% ή και περισσότερο των άλλων δρύπων
- Την αυξημένη περιεκτικότητα της νωπής μάζας σε λάδι που κυμαίνεται μεταξύ του 17% και 30% ή και περισσότερο ανάλογα με την ποικιλία της ελιάς σε σχέση με το 1,55% των άλλων δρύπων. Μάλιστα το λάδι στη σάρκα της ελιάς βρίσκεται κατά κύριο λόγο στο χυμοτόπιο υπό την μορφή ευδιάκριτων σταγονιδίων και όχι υπό την μορφή λιποπρωτεϊνών, φωσφολιπιδίων, γαλακτολιπιδίων κλπ. Οι τελευταίες ενώσεις είναι στοιχεία δομικά κυρίως των κυτταρικών μεμβρανών και όχι αποθηκευμένη ουσία που είναι μια εύκολα διαθέσιμη πηγή ενέργειας.
- Την ύπαρξη στη σάρκα μιας πικρής ουσίας, της ελευρωπαΐνης, (Oleuropein) της οποίας η παρουσία της χαρακτηρίζει τον ελαιοκάρπο αφού δεν έχει βρεθεί σε κανέναν άλλο ιστό ή καρπό του φυτικού

βασιλείου (Federici F. και συν., 1983, Fleming H.P. και συν, 1973, Chammem N. και συν, 2004) .

Οι τρεις αυτές ιδιαιτερότητες του ελαιοκάρπου ευθύνονται για την ειδική επεξεργασία στην οποία θα πρέπει να υποβληθεί ώστε να καταστεί βρώσιμος. Όλες οι άλλες δρύπες είναι απευθείας βρώσιμες από το δέντρο στο στάδιο της πλήρους ωριμότητας (Μπαλατσούρας Γ.,1995).

Το επικάρπιο και το μεσοκάρπιο συγκροτούνται από παρεγχυματικά κύτταρα χωρίς ινώδεις ιστούς δηλαδή κολέγχυμα και σκληρέγχυμα. Τα παρεγχυματικά αυτά κύτταρα είναι μεγάλων διαστάσεων, ισοδιαμετρικά με διάμετρο 300-500 μm και μέχρι 1mm. Το καθένα περιβάλλεται από δύσκαμπτο κυτταρικό τοίχωμα με συστατικά τη κυτταρίνη, τη λιγνίνη, τη πηκτίνη, την ημικυτταρίνη κ.α., στο οποίο οφείλει και το καθορισμένο σχήμα του. Στο μέσο υπάρχει ευμεγέθες κενοτόπιο (χυμοτόπιο) γεμάτο με κυτταρικό χυμό στον οποίο είναι διαλυμένες όλες οι πολικές ουσίες, όπως είναι τα σάκχαρα, τα οξέα, οι ταννίνες, οι υδατοδιαλυτές χρωστικές, τα ανόργανα συστατικά κ.α. ενώ το λάδι βρίσκεται στο χυμοτόπιο σε μορφή διακριτών σταγονιδίων. Οι πολικές ουσίες ευθύνονται για την ωσμωτική πίεση που μπορεί να φτάσει και τις εννέα ατμόσφαιρες ορισμένες φορές και η οποία εξασκείται προς τα έξω για να εξουδετερωθεί με την προς τα έσω πίεση του δύσκαμπτου κυτταρικού τοιχώματος. Κάτω από αυτές τις συνθήκες τα κύτταρα, και κατ' επέκταση ο καρπός, βρίσκονται σε πλήρη σπαργή.

Μεταξύ του χυμοτοπίου και του κυτταρικού τοιχώματος παρεμβάλλεται το πρωτόπλασμα που είναι περίπλοκη, ενεργός ανάμειξη πρωτεΐνης, λιπαρών ουσιών και πολλών άλλων συστατικών ανόργανων και οργανικών. Είναι υδάτινο εναιώρημα που έχει παχύρρευστη σύσταση και βρίσκεται σε συνεχή κίνηση και βιοχημική δραστηριότητα και περιβάλλεται από την εκλεκτικά διαπερατή κυτταροπλασματική μεμβράνη. Στην σάρκα της ελιάς είναι ευδιάκριτα τα μεσοκυτταρικά διαστήματα.

Η επιδερμίδα αποτελείται από παρεγχυματικά κύτταρα τα οποία είναι τοποθετημένα κοντά το ένα στο άλλο ώστε να μην αφήνουν μεταξύ τους κενά. Η συνέχεια τους διακόπτεται από φακίδια διαμέσου των οποίων ο καρπός διαπνέει, αναπνέει και μολύνεται από κονίδια μυκήτων και άλλους παθογόνους μικροοργανισμούς (Μπαλατσούρας Γ.,1995).

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2^ο : ΕΛΙΕΣ, ΔΙΑΤΡΟΦΗ ΚΑΙ ΥΓΕΙΑ.

2.1 Γενικά

Ο άνθρωπος, όπως και κάθε ζωντανός οργανισμός, έχει ανάγκη από συνεχή κατανάλωση τροφής για να διατηρηθεί στη ζωή, να συνθέσει πρωτόπλασμα, και για να επιτελέσει το σύνολό των φυσιολογικών του λειτουργιών.

Είναι συνεπώς φανερό ότι η διατροφή του ανθρώπου είναι περισσότερο ανελαστική ανάγκη σε σύγκριση με διάφορες άλλες (Ζαμπέλας Α., 2003). Οι διατροφικές ανάγκες μπορούν να καλυφθούν με τρόφιμα τα οποία μπορούν να διαχωριστούν σε τρεις κατηγορίες ανάλογα με τη θρεπτική ύλη που βρίσκεται σε μεγαλύτερη αναλογία σε αυτά:

- Πρωτεϊνούχες τροφές που είναι πλούσιες σε πρωτεΐνη
- Σακχαρούχες τροφές που είναι πλούσιες σε σάκχαρα
- Λιπαρές τροφές που είναι πλούσιες σε λίπη

Οι επιτραπέζιες ελιές ανήκουν στη τελευταία κατηγορία γιατί περιέχουν λιπαρές ουσίες 20-30% κατά βάρος της σάρκας τους.

Το είδος της τροφής που χρησιμοποιεί ο άνθρωπος για την ικανοποίηση των διατροφικών του αναγκών διαφέρει ευρύτατα από την μία περιοχή στην άλλη και προσδιορίζεται από πολλούς παράγοντες. Μεταξύ των τελευταίων πρωτεύοντα ρόλο έχουν οι συνήθειες των λαών και η δυνατότητα παραγωγής μιας τροφής στον γεωγραφικό χώρο που αντίστοιχοι λαοί ζουν.

Η επιτραπέζια ελιά παραγόταν από την αρχαιότητα στις χώρες της Μεσογείου και ήταν φυσικό να αποτελέσει κύρια τροφή για τους λαούς της. Και σε αυτό δεν συντέλεσε μόνο η συνήθεια αλλά και η υψηλή διατροφική της αξία και τα πλούσια γευστικά και αρωματικά της συστατικά (Ματάλα Α.Λ., 2002).

2.2 Οργανοληπτικά Χαρακτηριστικά

Ο άνθρωπος γενικά είναι ένας δύστροπος καταναλωτής τροφίμων ο οποίος «τρώει» περισσότερο με τα μάτια και την αφή και λιγότερο με το στόμα. Μάλιστα οι απαιτήσεις του για τρόφιμα με καλό χρώμα, εμφάνιση και υφή

αυξάνονται με την άνοδο του βιοτικού του επιπέδου και την αύξηση των αποδοχών του.

Μια άλλη παράμετρος των τροφίμων σχετίζεται με τα οργανοληπτικά τους χαρακτηριστικά που φαίνεται να ενδιαφέρουν περισσότερο από την βιολογική και θρεπτική τους αξία και πολλές φορές οποιαδήποτε αλλαγή τους δεν γίνεται αποδεκτή από το μεγαλύτερο ποσοστό του καταναλωτικού κοινού (Ματάλα Α.Λ., 2002).

Από το σύνολο των συστατικών της σάρκας της ελιάς :

- Οι *πηκτίνες*, οι *κυτταρίνες*, οι *ημικυτταρίνες*, τα *κόμμεα* και άλλες πολυμερείς ουσίες προσδιορίζουν τη συνεκτικότητα της υφής
- Τα *οργανικά οξέα* που περιέχονται εγγενώς στη σάρκα ή σχηματίζονται κατά τη γαλακτική ζύμωση ή προστίθενται εσκεμμένα από την βιομηχανία μαζί με τις ταννίνες, τα υπολείμματα της ελευρωπαΐνης, το αλάτι και τα άλλα ανόργανα συστατικά ευθύνονται κυρίως για τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά της ελιάς ως τροφής.
- Οι *υδατάνθρακες* (γενικότερα τα διάφορα σάκχαρα) κυρίως και σε μικρότερο βαθμό οι πρωτεΐνες και τα λιπαρά με την ποσότητα και τον όγκο τους συμμετέχουν και στη διαμόρφωση των οργανοληπτικών χαρακτηριστικών, πέραν του ότι είναι οι κύριες πηγές θερμίδων .
- Το *χρώμα*, είτε είναι φυσικό (οφείλεται σε ανθοκυάνες) είτε είναι τεχνητό (οφείλεται στην οξειδωση των πολυφαινολών σε αλκαλικό περιβάλλον) είναι σπουδαίος προσδιοριστικός παράγοντας ποιότητας για την επιτραπέζια ελιά (Μπαλατσούρας Γ., 1995).

2.3 Θερμιδική αξία της Ελιάς

Γενικά η θερμιδική αξία της ελιάς εξαρτάται από δύο παράγοντες:

- 1)Τη σχέση της σάρκας προς τον πυρήνα
- 2)Την περιεκτικότητα της σάρκας σε λιπαρές ουσίες, υδατάνθρακες και πρωτεΐνες

Τόσο η σχέση της σάρκας προς τον πυρήνα που είναι μέτρο του εδώδιμου ποσοστού του ελαιοκάρπου όσο και η περιεκτικότητα σε θρεπτικές ύλες καθορίζονται από το στάδιο ωρίμανσης του καρπού την ώρα της συγκομιδής αλλά και από τον τρόπο επεξεργασίας του (Nergiz Cevdet και συν, 2000).

Τα συμπεράσματα από τις μελέτες που έχουν γίνει σχετικά με την θερμιδική αξία της επιτραπέζιας ελιάς είναι τα παρακάτω :

- Η θερμιδική αξία της επιτραπέζιας ελιάς αυξάνεται με την πρόοδο της ωρίμανσης και μάλιστα με τρόπο εντυπωσιακό αφού αυτή η αύξηση μπορεί να φτάσει το 160-165% της τιμής της αξίας του πράσινου καρπού. Έτσι δικαιολογημένα το καταναλωτικό κοινό χρησιμοποιεί τη πράσινη ελιά ως ορεκτικό και τη μαύρη φυσικώς ώριμη ως τροφή (Μπαλατσούρας Γ., 1995)).
- Η θερμιδική αξία αυξάνεται με την επεξεργασία του ελαιοκάρπου είτε πράσινου είτε ώριμου. Αυτή η αύξηση οφείλεται στην απώλεια υγρασίας και έτσι η φύρα που διαπιστώνεται είναι απλή απώλεια βάρους με οικονομικές επιπτώσεις για την βιομηχανία, όχι όμως για τον καταναλωτή, αφού σημειώνεται αναλογική αύξηση των θερμίδων στο τελικό προϊόν (Panagou E.Z. και συν, 2001).
- Η σάρκα της επιτραπέζιας ελιάς, της πράσινης και πολύ περισσότερο της ώριμης, είναι μια ελαιούχος τροφή συμπυκνωμένη σε ότι αφορά τις θερμίδες αφού περιέχει 20-30% λιπαρές ουσίες επί νωπής βάσης (Μπαλατσούρας Γ., 1995).
- Κατά γραμμάριο σάρκας επιτραπέζιων ελιών θα πρέπει να υπολογίζεται θερμιδική αξία ίση με 1,6-2,7 kcal, ανάλογα με τον εμπορικό τύπο.
- Η θερμιδική αξία ενός ελαιοκάρπου κυμαίνεται ανάλογα με το μέγεθος, τη σχέση σάρκας προς πυρήνα και άλλους παράγοντες. Για όσους όμως μετρούν σε θερμίδες το ημερήσιο διαιτολόγιο τους, για οποιονδήποτε λόγο, αξίζει να γνωρίζουν πως μια ελιά των ελληνικών επιτραπέζιων ποικιλιών εγκλείει 8,5-16 kcal !
- Η θρεπτική αξία υπολογιζόμενη εφ' ολοκλήρου του καρπού είναι υποδεέστερη εκείνης του μεσοκαρπίου κατά ποσοστό ίσο με εκείνο συμμετοχής του πυρήνα στο ολικό βάρος του καρπού . Έτσι οι εκπυρηνωμένες και παραγεμισμένες με πιπεριά, αμύγδαλο κλπ, ελιές έχουν κατά 12,5-30% μεγαλύτερη θερμιδική αξία από ότι οι αντίστοιχες ολόκληρες της ίδιας ποικιλίας και του ίδιου εμπορικού τύπου (Μπαλατσούρας Γ., 1995).

- Η επιτραπέζια ελιά είναι ίσως από τα λίγα τρόφιμα που κερδίζουν σε θερμιδική αξία με την επεξεργασία και αυτό οφείλεται στο ότι το κύριο συστατικό της, το ελαιόλαδο δεν υφίσταται απώλειες αλλά αυξάνει έστω και εικονικά (Μπαλατσούρας Γ.,1995).

2.4 Βιολογική Αξία της Επιτραπέζιας Ελιάς

Η βιολογική αξία σχετίζεται περισσότερο με την υγιεινή κατάσταση και πολύ λιγότερο με την πάχυνση του ανθρώπου. Προσδιορίζεται από ορισμένα συστατικά της τροφής με μικρή ή μηδαμινή θερμιδική αξία που είναι όμως απαραίτητα συστατικά μιας σωστής δίαιτας που παίζει βασικό ρόλο στην εξασφάλιση της υγείας.

Στην ειδική περίπτωση της επιτραπέζιας ελιάς η βιολογική της αξία προσδιορίζεται από την περιεκτικότητα της σε :

- Ορισμένα αμινοξέα, ελεύθερα ή συνδεδεμένα στο μόριο της πρωτεΐνης που είναι απαραίτητα για τον άνθρωπο
- Ορισμένα ακόρεστα λιπαρά οξέα που έχουν βιταμινική αξία για τον άνθρωπο (Ozay G. και συν, 1996).
- Ορισμένες βιταμίνες, λιποδιαλυτές και υδατοδιαλυτές
- Ορισμένα ανόργανα συστατικά (άλατα και ιόντα) που είναι απαραίτητα για την ομαλή λειτουργία του ανθρωπίνου οργανισμού (Μπαλατσούρας Γ.,1995)

Συγκεκριμένα:

1. Πρωτεΐνες

Η πρωτεΐνη που περιέχει η ελιά είναι υψηλής βιολογικής αξίας αφού περιέχει σε ικανοποιητικά ποσοστά τα απαραίτητα αμινοξέα.

Επίσης, η πρωτεΐνη της ελιάς που εκχυλίζεται στην άλμη υποστηρίζει την ανάπτυξη και των πλέον απαιτητικών σε αμινοξέα βακτηρίων του γαλακτικού οξέος (Μπαλατσούρας Γ.,1995).

2. Λιπαρές ουσίες

Στην υψηλή βιολογική αξία της ελιάς συμβάλλουν αναντίρρητα και οι περιεχόμενες στη σάρκα λιπαρές ουσίες με την εκλεκτή ποιότητά τους και τον μέτριο βαθμό κορεσμού τους.

Η σάρκα της επιτραπέζιας ελιάς είναι μια παρακαταθήκη ελαιολάδου αφού περιέχει 20-30 % κατά βάρος επί νωπής σάρκας. Η ελιά προσφέρει στο ελαιολάδο απεριόριστη προστασία, τόσο με τις αντιοξειδωτικές ουσίες που περιέχει όσο και με την δομή των ιστών της και κυρίως με την προστατευτική επιδερμίδα έτσι ώστε να αποκλείεται η άμεση επαφή του ελαιολάδου με τον ατμοσφαιρικό αέρα. Το κύριο ακόρεστο λιπαρό οξύ του ελαιολάδου είναι ως γνωστόν το ελαϊκό οξύ (Μπαλατσούρας Γ.,1995).

Ο συσχετισμός μεταξύ του βαθμού κορεσμού των λιπαρών οξέων της διατροφής και της τιμής της χοληστερόλης στο αίμα αλλά και της εξέλιξης καρδιαγγειακών νοσημάτων είναι πλέον επιστημονικά τεκμηριωμένος (Ζαμπέλας Α.,2003).

Για του τεχνολόγους τροφίμων εκείνο που παίζει τον σπουδαιότερο ρόλο είναι η αντοχή των λιπαρών ουσιών στο τάγγισμα. Και η αντοχή αυτή είναι αποδεδειγμένη για το ελαιολάδο και μειωμένη για τα άλλα σπορέλαια.

Για την εξέλιξη του ταγγίσματος είναι απαραίτητη η ύπαρξη μιας μεθυλενικής ομάδας που παρεμβάλλεται ανάμεσα σε δύο επάλληλους διπλούς δεσμούς και επί της οποίας σχηματίζονται ελεύθερες ρίζες ή μονήρη ηλεκτρόνια

Τέτοια μεθυλενική ομάδα δεν υπάρχει στο ελαϊκό οξύ γιατί είναι μονοακόρεστο. Οι ελεύθερες ρίζες και τα μονήρη ηλεκτρόνια είναι τα ίδια που σχηματίζονται με την ραδιοακτινοβόληση των τροφίμων. Εκτός από τη δυσοσμία και την ταγγή γεύση την οποία προσδίδουν στο τρόφιμο μετέχουν στον πολυμερισμό είτε μεταξύ μορίων ακόρεστων λιπαρών οξέων, είτε μεταξύ λιπαρών οξέων και πρωτεϊνών ή λιπαρών οξέων και άλλων συστατικών της τροφής ή των κυττάρων του ανθρώπινου οργανισμού. Αυτές οι πολυμερείς ενώσεις συσσωρεύονται στα κύτταρα και μπλοκάρουν τη λειτουργία των ενζύμων και καταλαμβάνουν και αχρηστεύουν ζωτικό χώρο μέσα στο κύτταρο. Κατά αυτό τον τρόπο φαίνεται η σπουδαιότητα της ελιάς ως τρόφιμο αφού εξασφαλίζει στον ανθρώπινο οργανισμό άφθονο και προστατευμένο από το οξειδωτικό τάγγισμα ελαιολάδο.

Τα πολυακόρεστα λιπαρά οξέα και κυρίως το λινελαϊκό έχουν βιταμινική αξία για τον ανθρώπινο οργανισμό και η παρουσία τους στο καθημερινό διαιτολόγιο είναι απαραίτητη (Μπαλατσούρας Γ.,1995).

3. Βιταμίνες

Οι επιτραπέζιες ελιές περιέχουν καροτένια, βιταμίνη C, θειαμίνη καθώς και τοκοφερόλη. Η παρουσία των παραπάνω βιταμινών προσθέτει στη βιολογική αξία της επιτραπέζιας ελιάς ως τροφής του ανθρώπου (Μπαλατσούρας Γ., 1995).

4. Ανόργανα συστατικά

Μεταξύ όλων δεσπόζει το κάλιο, όπως και σε όλους τους φυτικού ιστούς και ακολουθείται από το χλώριο, το ασβέστιο, τον φώσφορο, το μαγνήσιο και το νάτριο. Ιδιαίτερα υψηλή είναι η συγκέντρωση του μαγνησίου που είναι πολύτιμο για την ορθολογική διατροφή του ανθρώπου. Περιέχονται επίσης και απαραίτητα για τον άνθρωπο ιχνοστοιχεία όπως ο σίδηρος, ο ψευδάργυρος και το μαγγάνιο (Μπαλατσούρας Γ., 1995).

5. Ελευρωπαΐνη

Η επιτραπέζια ελιά είναι η μόνη τροφή του ανθρώπου που περιέχει την πικρή ουσία ελευρωπαΐνη. Πρόκειται για μια ουσία που απασχόλησε για πολλά χρόνια τους επιστήμονες και την έρευνα ως προς τον συντακτικό της τύπο και ως προς τον τρόπο της μερικής ή πλήρους απομάκρυνσής της από την σάρκα της επιτραπέζιας ελιάς.

Οι πικρές ουσίες που περιέχονται στα τρόφιμα είναι φλαβονοειδή με πικρή γεύση, τριτερπενικά σώματα, αλκαλοειδή κλπ (Owen R.W. και συν, 2003, Romani A. και συν, 2000)

Με εξαίρεση την ελευρωπαΐνη και τα φλαβονοειδή των εσπεριδοειδών όλες οι πικρές ουσίες είναι επικίνδυνες για τον άνθρωπο επειδή αλλοιώνουν τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά, προξενούν στομαχικές διαταραχές και κάποιες φορές τον θάνατο.

Αντίθετα, η ελευρωπαΐνη και τα φλαβονοειδή των εσπεριδοειδών επιζητούνται από το καταναλωτικό κοινό σε μικροποσότητες γιατί αποτελούν ποιοτικά χαρακτηριστικά για τα αντίστοιχα τρόφιμα. Εισαγόμενες στον οργανισμό αυξάνουν την έκκριση του γαστρικού οξέος και τονώνουν την όρεξη. Ειδικά οι υπόπικρες ελιές που παράγονται στη χώρα μας δρουν ευνοϊκά σε περιπτώσεις παθήσεων του στομάχου (Romani A. και συν, 2000).

2.5 ΕΛΙΕΣ ΚΑΙ ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΑ

2.5.1 Γενικά

Ο αριθμός των περιστατικών καρκίνου και καρδιαγγειακών νοσημάτων είναι σημαντικά χαμηλότερος στις μεσογειακές χώρες σε σύγκριση με την υπόλοιπη Ευρώπη. Συνεπώς, η Μεσόγειος αποτελεί ένα τμήμα του δυτικού πολιτισμού που απολαμβάνει έναν σχετικά υγιή τρόπο ζωής όπου αν εξαιρέσουμε τους πιθανούς γενετικούς παράγοντες που μπορεί να παίζουν έναν ρόλο, οφείλεται κυρίως σε συγκεκριμένες μεσογειακές διατροφικές συνήθειες. Για παράδειγμα οι ελιές, το ελαιόλαδο, τα ψάρια και τα φρέσκα φρούτα αποτελούν βασικά συστατικά της μεσογειακής διατροφής και σύμφωνα με πολυάριθμες επιδημιολογικές μελέτες έχει φανεί πως το ελαιόλαδο δρα προστατευτικά ενάντια στον καρκίνο του μαστού και του παχέος εντέρου.

Παρά το γεγονός ότι σε παγκόσμιο επίπεδο η υψηλή κατανάλωση λίπους συνδέεται θετικά με την ανάπτυξη διαφόρων τύπων καρκίνου, στην Ελλάδα τα περιστατικά αυτά είναι πολύ λίγα παρά το ότι ο μέσος όρος κατανάλωσης λίπους φτάνει τα 140 g (Owen R.W. και συν, 2003).

Όμως το 60% αυτού του λίπους αποτελεί το ελαϊκό οξύ, ένα μονοακόρεστο C18 λιπαρό οξύ και πολύ μικρότερα είναι τα ποσοστά των κορεσμένων λιπαρών οξέων και των πολυακόρεστων όπως είναι το λινολειακό οξύ. Τα ελαϊκό οξύ είναι λιγότερο επιρρεπές στην οξειδωση των λιπαρών οξέων από το λινολειακό και αποτελεί βασικό συστατικό των κυτταρικών μεμβρανών όταν καταναλώνεται σε μεγάλες ποσότητες (Μπαλατσούρας Γ., 1995).

Γι αυτό το λόγο η Μεσογειακή δίαιτα επειδή περιέχει την επιθυμητή σύνθεση λιπαρών οξέων και σχετικά υψηλά ποσοστά φαινολικών αντιοξειδωτικών παρέχει αποτελεσματική προστασία ενάντια στο οξειδωτικό στρες το οποίο έχει αποδειχθεί πως είναι βασικός αιτιολογικός παράγοντας για την ανάπτυξη καρκίνου και καρδιαγγειακών νοσημάτων (Owen R.W. και συν, 2003, Χίου Α.Π., 2003).

Το περιεχόμενο της ελιάς σε φαινολικά αντιοξειδωτικά είναι υπό έρευνα εδώ και πολλά χρόνια και πρόσφατες μελέτες έχουν καταφέρει την ταυτοποίηση αυτών των ουσιών καθώς και υπολογισμό των ποσοτήτων τους. Όμως ο

ελαιόκαρπος από τον οποίο προέρχεται το ελαιόλαδο δεν έχει αποτελέσει αντικείμενο μελέτης στον ίδιο βαθμό με το ελαιόλαδο. Προφανώς οι ελιές θα μπορούσαν να καταναλωθούν χωρίς επεξεργασία, κατευθείαν μετά τη συγκομιδή τους όμως έχουν πολύ πικρή γεύση. Γι αυτό το λόγο για να γίνουν πιο εύγευστες τοποθετούνται στην άλμη γι αρκετούς μήνες με σκοπό να αφαιρεθεί η πικράδα. Όμως με αυτή τη διαδικασία απομακρύνεται και ένα μεγάλο ποσοστό των φαινολικών αντιοξειδωτικών που περιέχουν (Owen R.W. και συν, 2003) .

Για να μπορέσουμε να έχουμε μια καλύτερη εικόνα για το πόσο μπορούν οι ελιές να συνεισφέρουν στην διαιτητική πρόσληψη αντιοξειδωτικών πρέπει να έχουμε ένα συγκεκριμένο προφίλ των σημαντικότερων φαινολικών συστατικών που υπάρχουν στον ελαιόκαρπο. Οι Owen et al. βρήκαν πως υπάρχουν σημαντικές διαφορές στα είδη και την ποσότητα των φαινολικών αντιοξειδωτικών με τις μαύρες ελιές να περιέχουν περίπου 4 φορές την ποσότητα φαινολικών που περιέχουν οι πράσινες ελιές (Owen R.W. και συν, 2003).

2.5.2 Τι είναι οι Πολυφαινόλες

Στη διεθνή βιβλιογραφία έχει επικρατήσει με τον όρο πολυφαινόλες (polyphenols, PP) να νοείται μια μεγάλη ομάδα ενώσεων με ένα ή περισσότερα υδροξύλια απ' ευθείας συνδεδεμένα σε έναν ή περισσότερους αρωματικούς ή και ετεροκυκλικούς δακτυλίους (Χίου Α.Π 2003).

Οι πολυφαινολικές ενώσεις αποτελούν μία από τις πιο πολυπληθείς και ποικιλόμορφες, από άποψη δομής, κατηγορίες ενώσεων του φυτικού βασιλείου. Σήμερα είναι γνωστές περισσότερες από 8000 πολυφαινόλες οι οποίες παράγονται ως προϊόντα του δευτερογενούς μεταβολισμού των φυτών (Romani A. και συν, 2000, Χίου Α.Π 2003).

Η δομή τους μπορεί να ποικίλει: από απλή δομή (π.χ φαινολικά οξέα) έως εξαιρετικά πολύπλοκη όπως αυτή των ταννινών. Συνήθως απαντώνται στη φύση συζευγμένες με υδατάνθρακες μέσω των υδροξυλίων τους. Τα συζευγμένα σάκχαρα μπορεί να είναι είτε μονοσακχαρίτες είτε δισακχαρίτες ακόμη και ολιγοσακχαρίτες. Το πιο κοινό σάκχαρο που απαντάται είναι η

γλυκόζη και άλλα σάκχαρα είναι η γαλακτόζη, η ξυλόζη, η ραμνόζη, η αραβινόζη, γλυκουρονικά, γαλακτουρονικά κ.λ.π.

Οι πολυφαινόλες είναι αρκετά διαδεδομένες στα φυτικά τρόφιμα (λαχανικά, όσπρια, ξηροί καρποί, φρούτα κλπ) και στα ποτά (κρασί, μπύρα, τσάι, κακάο, χυμός μήλου κλπ). Τα επίπεδα τους παρουσιάζουν σημαντικές διακυμάνσεις ακόμα και μεταξύ καλλιεργειών του ίδιου είδους, για παράδειγμα ο σχηματισμός γλυκοζιτών φλαβονών και φλαβονολών εξαρτάται πολύ από το φως, επομένως οι υψηλότερες συγκεντρώσεις αυτών των ενώσεων απαντώνται στα φύλλα και στα εξωτερικά μέρη των φυτών και μόνο ίχνη αυτών στα υπόγεια τμήματα αυτών. Η παρουσία των πολυφαινολών στα τρόφιμα επηρεάζεται πολύ από γενετικούς παράγοντες και τις περιβαλλοντικές συνθήκες. Άλλοι παράγοντες όπως ο βαθμός ωρίμανσης, η ποικιλία, η επεξεργασία και η αποθήκευσή επίσης επηρεάζουν το φαινολικό περιεχόμενο των παραγώγων των φυτών (Χίου Α.Π.,2003).

Οι πολυφαινόλες είναι εν μέρει υπεύθυνες για τις διατροφικές ιδιότητες των φυτικών τροφίμων. Η στιφή και πικρή γεύση των τροφίμων και των ποτών εξαρτάται από την περιεκτικότητά τους σε πολυφαινόλες (Μπαλατσούρας Γ.,1995). Η οξειδωση τους κατά τη διάρκεια της επεξεργασίας και της αποθήκευσης έχει ως αποτέλεσμα είτε ωφέλιμα είτε ανεπιθύμητα αποτελέσματα στα τρόφιμα. Για παράδειγμα οξειδωτικές μεταβολές όπως η καφέ χρώση του κακάο κατά την επεξεργασία ή ο οξειδωτικός πολυμερισμός των πολυφαινολών του τσαγιού κατά την παρασκευή του μαύρου τσαγιού έχει ως αποτέλεσμα την ανάπτυξη διακριτικών και επιθυμητών οργανοληπτικών ιδιοτήτων(Χίου Α.Π.,2003).

Τα βιβλιογραφικά δεδομένα για το περιεχόμενο των πολυφαινολών στα φυτικά τρόφιμα και τα ποτά είναι πάρα πολλά. Ωστόσο λόγω της πολυπλοκότητας αυτής της ευρείας ομάδας φυτικών μεταβολιτών πολλές πολυφαινόλες δεν έχουν ταυτοποιηθεί (Romani Α. και συν, 2000, Χίου Α.Π.,2003).

Επιπλέον είναι δύσκολο να συγκρίνει κανείς δεδομένα εντός της βιβλιογραφίας και αυτό οφείλεται στην έλλειψη συμφωνίας για μία κατάλληλη μέθοδο ανάλυσης των διαφορετικών τύπων ή κατηγοριών των πολυφαινολικών ενώσεων. Αυτό έχει σαν αποτέλεσμα οι πληροφορίες από τη βιβλιογραφία για την περιεκτικότητα και τη σύσταση των τροφίμων σε

πολυφαινόλες να είναι όχι μόνο ατελείς αλλά και μερικές φορές αντιφατικές και δύσκολο να συγκριθούν(Χίου Α.Π. ,2003).

2.5.3 Δράσεις Πολυφαινολών

Πειράματα in vitro και in vivo κυρίως σε πειραματόζωα, έχουν δείξει ότι αρκετά είδη πολυφαινολών των τροφίμων έχουν ευεργετική επίδραση στον οργανισμό. Η επωφελής για τον οργανισμό δράση τους εκδηλώνεται κυρίως με προστασία έναντι των καρδιοπαθειών και ορισμένων μορφών καρκίνου. Ενδεικτικά αναφέρεται ότι έχει δημοσιευτεί η άποψη ότι μια ημερήσια δόση 10-20 mg PP σε μακροχρόνια πολυετή βάση είναι κατάλληλη για την πρόληψη καρδιοπαθειών. Αυτό απόκτη ιδιαίτερη σημασία για την Ελλάδα όπου το 50 % του ορίου αυτού καλύπτεται από την κατανάλωση ελαιολάδου (Owen R.W. και συν, 2003, Χίου Α.Π. ,2003). Η προστατευτική δράση των πολυφαινολών, κυρίως όσων έχουν όρθο-διφαινολική κατεχολική σύνταξη στο μόριο τους αποδίδεται στην αντιοξειδωτική τους δράση ως « δεσμευτές» (scavengers) ελεύθερων ριζών ή ως αποδομητές αλυσιδωτών οξειδωτικών αντιδράσεων. Η αντιοξειδωτική τους δράση εκδηλώνεται με τη προστασία της LDL χοληστερόλης από την οξείδωση αλλά και με δράση έναντι οξειδωτικών παραγόντων του επιθηλιακού ιστού με αποτέλεσμα να μειώνονται οι πιθανότητες σχηματισμού αθηρωματικής πλάκας και έτσι να μειώνεται ο κίνδυνος των καρδιοπαθειών. Μερικές από τις προστατευτικές / φυσιολογικές δράσεις των πολυφαινολών είναι οι παρακάτω :

1. Αντιοξειδωτική δράση
2. Επίδραση στην πέψη των μακροθρεπτικών συστατικών: Καθυστερούν την απορρόφηση.
3. Επίδραση στην απορρόφηση μεταλλικών κατιόντων: Θετική είναι η παρεμπόδιση των ιόντων που συμβάλλουν στη δημιουργία ελεύθερων ριζών
4. Ταννίνες και πολυφαινόλες ελαιολάδου μειώνουν τα επίπεδα σακχάρου και χοληστερόλης στο αίμα.
5. Προστασία επιθηλιακών κυττάρων του αναπνευστικού συστήματος

6. Οι ταννίνες αυξάνουν τα επίπεδα της HDL χοληστερόλης και μειώνουν τα επίπεδα της LDL
7. Αντικαρκινική δράση (στο παχύ έντερο : απόπτωση των καρκινικών κυττάρων)
8. Αντιμικροβιακή και αντιβακτηριακή δράση
9. Αντιαλλεργικές ιδιότητες: Παρεμπόδιση συσσώρευσης αιμοπεταλίων
10. Αγγειοδιασταλτική δράση δια μέσου της παραγωγής ενδοκυτταρικού NO
11. Προστασία του DNA από ενδοκυτταρικές προσβολές(Χίου Α.Π.,2003)

Οι πολυφαινόλες παρεμβαίνουν και διακόπτουν / αναστέλλουν την οξειδωση των ελεύθερων ριζών με 3 τρόπους:

- I. Αντιδρούν με ελεύθερες ρίζες που παράγονται στον οργανισμό και τις εξουδετερώνουν. Μέσω αυτής της πορείας καθίστανται οι ίδιες ελεύθερες ρίζες οι οποίες όμως είναι πολύ σταθερές ακριβώς λόγω της πολυφαινολικής τους δομής η οποία μέσω συντονισμού σταθεροποιείται σημαντικά.
- II. Δρουν ως δεσμευτές μεταλλικών ιόντων τα οποία συχνά είναι απαραίτητα μιας οξειδωσης. Αυτό γίνεται μέσω της δημιουργίας ενός χηλικού συμπλόκου με το ιόν.
- III. Αναγεννούν ένα σημαντικό αντιοξειδωτικό του οργανισμού που είναι η βιταμίνη Ε (Χίου Α.Π.,2003).

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3^ο: ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ ΚΑΙ ΖΥΜΩΣΗ ΤΗΣ ΕΠΙΤΡΑΠΕΖΙΑΣ ΕΛΙΑΣ

3.1 ΖΥΜΩΣΕΙΣ

3.1.1 Γενικά

Το εύρος των τροφίμων που οφείλουν τις χαρακτηριστικές τους ιδιότητες στους μικροοργανισμούς είναι πολύ μεγάλο. Πολλά από αυτά τα τρόφιμα , όπως τα τυριά τα τουρσιά τα αλλαντικά οφείλουν την ικανότητα συντήρησής τους για μεγάλο χρονικά διάστημα στο ότι οι πρώτες ύλες από τις οποίες είναι παρασκευασμένα έχουν υποστεί επεξεργασία από μικροοργανισμούς (Κυριακού Α.,2002).

Οι ζυμώσεις μπορεί να είναι αποτέλεσμα της δράσης ζυμών, βακτηρίων, μυκήτων ή ακόμα και συνδυασμού αυτών των μικροοργανισμών.

Όσον αφορά τρόφιμα όπως είναι το ψωμί, το κρασί, μπύρα κ.α. η ζύμωση από ζύμες παίζει πάρα πολύ σημαντικό ρόλο .

Ζύμες και βακτήρια συμπεριλαμβάνονται στην παρασκευή του ξυδιού από ανθεκτικά στη ζάχαρη υλικά και τα βακτήρια πρωτοστατούν στη παρασκευή ζυμωμένων γαλακτοκομικών. Οι μύκητες έχουν πολύ σημαντικό ρόλο στην παρασκευή ορισμένων τυριών και κάποιων παραδοσιακών εδεσμάτων, όπως για παράδειγμα με βάση τη σόγια, που συνηθίζονται στους λαούς της Νότιας και Ανατολικής Ασίας (Fleming H.P., Frazier and Westhoff, 1995).

Μερικά παραδείγματα είναι:

Ψωμί : Οι μικροοργανισμοί είναι χρήσιμοι με δύο τρόπους στην παρασκευή του ψωμιού: 1) Μπορεί να παράγουν αέρια τα οποία μαλακώνουν ή ανυψώνουν τη μαγιά δίνοντας στο ψωμί αυτήν την χαλαρή και πορώδη υφή που είναι επιθυμητή 2) Μπορεί να παράγουν διάφορες ουσίες που εμπλουτίζουν τη γεύση του τελικού προϊόντος.

Κρασί: Τα κρασί παρουσιάζει ελαττώματα που είναι αποτέλεσμα μη μικροβιακών αιτίων και αλλοιώσεις που προκαλούνται από μικροοργανισμούς. Οι μικροοργανισμοί που προκαλούν αυτές τις αλλοιώσεις

είναι κυρίως ζύμες, μύκητες και βακτήρια που ανήκουν στα γένη *Acetobacter*, *Lactobacillus*, *Leuconostoc* και μερικές φορές *Micrococcus* και *Pediococcus* (Fleming H.P., Frazier and Westhoff, 1995).

Η μικροβιακή χλωρίδα αυτών των τροφίμων και η οικολογία των ζυμώσεων τους έχει μελετηθεί αρκετά τα τελευταία χρόνια. Η δράση και η επιβίωση των μικροοργανισμών που παίρνουν μέρος εξαρτάται από διάφορους εξωγενείς και ενδογενείς παράγοντες, για παράδειγμα όταν η πρώτη ύλη που θα υποστεί τη ζύμωση περιέχει ελεύθερα σάκχαρα και είναι όξινο τότε θα αναπτυχθούν ζύμες οι οποίες παράγουν αλκοόλη με αποτέλεσμα να παρεμποδίζεται η ανάπτυξη άλλων μικροοργανισμών. Αντίθετα, αν η οξύτητα είναι σε τέτοιο επίπεδο που να επιτρέπει τη βακτηριακή ανάπτυξη τότε αναπτύσσονται τα βακτήρια του γαλακτικού οξέος. Η παρουσία μάλιστα NaCl μικρής συγκέντρωσης θα δημιουργήσει εκλεκτικό περιβάλλον για την ανάπτυξη τους σε αντίθεση με τις ζύμες (Κυριακού Α., 2002).

Τα φυσικά προϊόντα που περιέχουν πολυσακχαρίτες κυρίως και όχι ελεύθερα σάκχαρα δεν είναι εύκολο να ζυμωθούν από ζύμες και βακτήρια του γαλακτικού οξέος γιατί αυτά δεν περιέχουν το αντίστοιχο ένζυμο που απαιτείται και για τον σκοπό αυτό προστίθενται εξωγενή ένζυμα. Τέτοιο παράδειγμα αποτελεί η χρήση της βύνης του κριθαριού στη βιομηχανία παραγωγής μπίρας: τα ένζυμα που διασπούν το άμυλο προέρχονται από τους βλαστημένους σπόρους κριθαριού και στη συνέχεια η ζύμωση γίνεται από τις ζύμες (Κυριακού Α., 2002, Frazier and Westhoff, 1995).

Οι μικροοργανισμοί που παίρνουν μέρος στις ζυμώσεις προστίθενται ως καθαρές ή μικτές καλλιέργειες ή μερικές φορές δεν χρειάζεται να προστεθούν γιατί εμπεριέχονται σε ικανή ποσότητα στην πρώτη ύλη που θα υποστεί τη ζύμωση.

Οι περισσότεροι μικροοργανισμοί που παίρνουν μέρος στις ζυμώσεις τροφίμων ανήκουν στα βακτήρια του γαλακτικού οξέος και στις ζύμες. Βακτήρια άλλα εκτός από αυτά του γαλακτικού οξέος τα οποία παίρνουν μέρος στις ζυμώσεις των τροφίμων ανήκουν στο γένος *Propionibacterium* (τυριά Ελβετίας) στο γένος *Brevibacterium* (τυριά που έχουν υποστεί ωρίμανση) και στα γένη *Gluconobacter* και *Acetobacter* για τη παραγωγή του ξυδιού.

Οι περισσότερες ζύμες που έχουν βιομηχανικό ενδιαφέρον και παίρνουν μέρος στη παραγωγή τροφίμων και ποτών ανήκουν στο γένος *Saccharomyces*. Οι πιο γνωστοί μυκηλιακοί μύκητες που παίρνουν μέρος στην επεξεργασία τροφίμων ανήκουν στο γένος *Penicillium* και στο γένος *Aspergillus* (Κυριακού Α., 2002).

Η επιλογή των μικροβιακών στελεχών για τις ζυμώσεις τροφίμων ή γενικότερα για την επεξεργασία των τροφίμων βασίζεται στην ικανότητα τους να παράγουν με σταθερό τρόπο συγκεκριμένα προϊόντα μέσα από τη μικροβιακή αύξηση, ή να διατηρούν σταθερή την ικανότητά τους να προκαλούν κάποια ενζυμική μεταβολή.

Οι μικροοργανισμοί αυτοί μπορεί να προέρχονται από ταυτοποιημένες καλλιέργειες άλλων εργαστηρίων ή να επιλέγονται μετά από έλεγχο πολλών στελεχών. Ένας από τους βασικούς παράγοντες που ελέγχονται είναι η σταθερότητα τους ενώ στη συνέχεια γίνεται προσπάθεια βελτίωσης των χαρακτηριστικών τους, ιδιαίτερα αν πρόκειται για νέα στελέχη που έχουν απομονωθεί από το περιβάλλον είτε μέσω συνεχών διασταυρώσεων είτε μέσω μεταλλαξογένεσης.

Τις τελευταίες δεκαετίες μετά την ανάπτυξη των μεθόδων της γενετικής μηχανικής και της μοριακής βιολογίας μελετήθηκαν τα συστήματα μεταφοράς γενετικού υλικού στα βακτήρια του γαλακτικού οξέος και έτσι πλέον είναι δυνατή η βελτίωση μικροβιακών στελεχών που παρουσιάζουν βιομηχανικό ενδιαφέρον μέσω αυτών των μεθόδων.

Η διατήρηση αυτών των ιδιοτήτων των στελεχών που επιλέγονται στα μικροβιολογικά εργαστήρια γίνεται με περιοδικές μεταφορές του μικροοργανισμού σε φρέσκο θρεπτικό υλικό μέχρι η καλλιέργεια να φτάσει στη φάση στασιμότητας και στη συνέχεια μεταφέρεται σε χαμηλή θερμοκρασία η οποία δεν επιτρέπει τη περαιτέρω αύξηση. Όμως η πολύ συχνή μεταφορά των μικροοργανισμών μπορεί να έχει ως αποτέλεσμα την αλλοίωση κάποιων χαρακτηριστικών τους. Και για τον λόγο αυτό προετοιμάζονται πάντα καλλιέργειες που αποθηκεύονται σε ειδικές συνθήκες για μεγάλο χρονικό διάστημα(stock cultures).

Συνεχής έλεγχος πρέπει να γίνεται για την καθαρότητα της καλλιέργειας και την αποφυγή μολύνσεων (Κυριακού Α., 2002).

Η προετοιμασία της αρχικής καλλιέργειας γίνεται συνήθως σε καθημερινή βάση, με εμβολιασμό από την προηγούμενη καλλιέργεια η οποία προέρχεται από την αποθηκευμένη καλλιέργεια. Στη συνέχεια η καλλιέργεια αυτή (η αρχική) χρησιμοποιείται για τον εμβολιασμό μεγαλύτερων ποσοτήτων θρεπτικού υλικού ώστε να δημιουργηθεί το εμβόλιο για τη ζύμωση ενώ σε ζυμώσεις μεγαλύτερης κλίμακας δημιουργούνται πολλές ενδιάμεσες καλλιέργειες με αυξανόμενο μέγεθος μέχρι τον τελικό εμβολιασμό.

Το τελικό εμβόλιο θα πρέπει να περιέχει μόνο τους μικροοργανισμούς που θα προκαλέσουν την ζύμωση, να έχει σταθερό μικροβιακό φορτίο και σταθερές αναλογίες μικροβιακών στελεχών στις μικτές καλλιέργειες, να μπορεί να παράγει συγκεκριμένα προϊόντα κατά τη ζύμωση και να παρουσιάζει ανθεκτικότητα σε ακραίες συνθήκες εάν χρειαστεί(π.χ. αύξηση της θερμοκρασίας). Το φυσιολογικό στάδιο του εμβολίου που θα χρησιμοποιηθεί εξαρτάται από τον στόχο για παράδειγμα , εάν χρειάζεται γρήγορη και μεγάλη αύξηση τότε το εμβόλιο θα πρέπει να βρίσκεται στη λογαριθμική φάση ενώ εάν απαιτείται ανθεκτικότητα σε δυσμενείς συνθήκες τότε θα πρέπει το εμβόλιο να έχει μόλις εισέλθει στη φάση στασιμότητας(Κυριακού Α., 2002).

3.1.2 Οι Ζυμώσεις στα Φυτικά Προϊόντα

Η επεξεργασία με ζύμωση των λαχανικών με σκοπό την διατήρησή τους για μεγαλύτερο χρονικό διάστημα είναι πολύ παλιά μέθοδος και στις μέρες μας υπάρχει μια συνεχώς αναπτυσσόμενη αγορά ζυμωμένων προϊόντων όπως είναι τα γιαούρτια, τα αλλαντικά, τα λαχανικά κ.α και ιδιαίτερα στην Ευρώπη (Fleming H.P.,,, Κυριακού Α., 2002). Είναι αξιοσημείωτο πως η απαίτηση των καταναλωτών για «φυσικά» και ζυμωμένα προϊόντα παρουσιάζει μια σταθερή αύξηση τα τελευταία χρόνια και αυτό σχετίζεται με την αναγνώριση πως ζυμώσεις που πραγματοποιούνται στα τρόφιμα παίζουν έναν σημαντικό και ευεργετικό ρόλο στην ανθρώπινη διατροφή και υγεία καθώς επίσης και στην ασφάλεια των τροφίμων. Πραγματικά έχει υπολογιστεί πως τουλάχιστον το 25% της δίαιτας που ακολουθούν οι ευρωπαίοι και το 60% της δίαιτας των πολιτών σε πολλές από τις αναπτυσσόμενες χώρες αποτελείται από ζυμωμένα τρόφιμα. Αν και ένας από τους βασικούς λόγους για τους οποίους τα συγκεκριμένα προϊόντα θεωρούνται ασφαλή είναι το χαμηλό pH που γίνονται οι ζυμώσεις, κάποιοι παθογόνοι μικροοργανισμοί καταφέρνουν να

επιζούν (Spygroulou K.E. και συν, 2001). Αυτό αποκτά ιδιαίτερη σημασία στη περίπτωση του *Escherichia coli* O157:H7 που είναι ένα παθογόνο βακτήριο το οποίο είναι υπεύθυνο για την πρόκληση αιμορραγικής κολίτιδας και αιμολυτικού ουραιμικού συνδρόμου και το οποίο εμφανίζει αντοχή σε όξινο περιβάλλον και έχει μελετηθεί σε περιπτώσεις ζυμωμένων τροφίμων από κρέας ή από λαχανικά καθώς και άλλα όξινα τρόφιμα, ενώ έχει απομονωθεί και σε ωμά λαχανικά και φρούτα. Για τις πράσινες ελιές έχουμε πολύ λίγες πληροφορίες. Οι ελιές θα μπορούσαν να μολυνθούν κατά τη διάρκεια της συγκομιδής των ελαιοκάρπων λόγω της επαφής με το έδαφος καθώς και αργότερα κατά τη διάρκεια του πλυσίματος.

Σε μελέτη που έγινε από τους Spygroulou και συν., σε βρώσιμες ελιές, κατά την οποία πραγματοποιήθηκε εμβολιασμός της άλμης με βακτήρια του γαλακτικού οξέος κατά τη διάρκεια της ζύμωσης, παρατηρήθηκε ότι ο ρυθμός θανάτου του *E. coli* επηρεάστηκε από το είδος της αρχικής καλλιέργειας που χρησιμοποιήθηκε για τον εμβολιασμό. Στη συγκεκριμένη μελέτη προστέθηκαν ζυμώσιμα υλικά όπως γλυκόζη και σουκρόζη, που αποτελούν υπόστρωμα για τα βακτήρια του γαλακτικού οξέος. Έτσι λοιπόν η αύξηση του ρυθμού θανάτου του *E. coli* οφείλεται στην παραγωγή οξέων όπως είναι το γαλακτικό οξύ και το οξικό οξύ. Στα δείγματα στα οποία δεν έγινε προσθήκη ζυμώσιμων υλικών το ποσοστό του οξικού οξέος ήταν πολύ μεγαλύτερο απ' ό,τι στα δείγματα που είχαν προστεθεί ζυμώσιμα υλικά. Αυτό οφείλεται στην μετατροπή του *L. plantarum* από ομοζυμωτικό σε ετεροζυμωτικό λόγω της έλλειψης υποστρώματος (σάκχαρα). Είναι γνωστό πως αυτά τα δύο οξέα μπορούν να επηρεάσουν την ανάπτυξη των διαφόρων παθογόνων μικροοργανισμών (Spygroulou K.E. και συν, 2001). Ακόμη το στέλεχος *L. plantarum* μπορεί και παράγει βακτηριοσίνες που είναι βακτηριακές πρωτεΐνες ή πεπτιδία που έχουν αντιμικροβιακή δράση ακόμη και εναντίον στελεχών του ίδιου είδους και προωθούν την επικράτηση του *L. plantarum* και των άλλων λακτοβακίλλων στην άλμη (Jimenez-Diaz R. και συν, 1993, Ruiz –Barba J.L και συν, 1994). Συμπεραίνουμε λοιπόν πως η ανάπτυξη του *L. plantarum* αλλά και γενικά των βακτηρίων του γαλακτικού οξέος κατά τη διάρκεια των ζυμώσεων των φυτικών προϊόντων έχει ως αποτέλεσμα να μην επιτρέπεται η ανάπτυξη άλλων ανεπιθύμητων μικροοργανισμών και να καθυστερείται ή να αποφεύγεται η εμφάνιση των συνήθων αλλοιώσεων. Επίσης εμφανίζονται

ιδιαίτερες γεύσεις και οσμές που παράγονται και οδηγούν σε ένα τελικό χαρακτηριστικό προϊόν (Κυριακού Α., 2002).

3.2 Η επεξεργασία της Επιτραπέζιας ελιάς

Ο καρπός της ελιάς συλλέγεται όταν έχει πλήρως αναπτυχθεί αλλά παραμένει ακόμα πράσινος και η επεξεργασία που γίνεται στο καρπό είναι σε γενικές γραμμές η ίδια για τις περισσότερες ποικιλίες.

- Στην αρχή οι ελιές επεξεργάζονται και διατηρούνται σε διάλυμα αλκάλειως 0,9-2,0% περίπου, στους 15-21° C μέχρις ότου το αλκαλικό διάλυμα να διαπεράσει το μισό έως τα $\frac{3}{4}$ του καρπού μέχρι το κουκούτσι.
- Στη συνέχεια ξεπλένονται αρκετές φορές με τέτοιο τρόπο που να αποφεύγεται η έκθεσή τους στον ατμοσφαιρικό αέρα, γεγονός που θα προκαλούσε μαύρισμα του καρπού.
- Στο επόμενο στάδιο μπαίνουν σε βαρέλια με άλμη που περιέχει αλάτι σε συγκέντρωση που διαφέρει ανάλογα με τη ποικιλία της ελιάς.

Η γαλακτική ζύμωση γίνεται μέσα στα βαρέλια και διαρκεί 6-10 μήνες, εξαρτάται δε από την θερμοκρασία της ατμόσφαιρας (Duran Quintana M.C., και συν, 1999, Nychas J.E και συν, 2001, Ozay G. και συν, 1996, Randazzo Cinzia L. και συν, 2003, Sanchez A.H και συν, 2000, Tsapatsaris S. και συν, 2004).

Οι διαδικασίες που ακολουθούνται για την επεξεργασία της πράσινης ελιάς είναι οι εξής:

1. Συγκομιδή του καρπού
2. Μεταφορά στο εργοστάσιο
3. Προκαταρκτική διαλογή και ταξινόμηση κατά μέγεθος
4. Επεξεργασία με καυστικό νάτριο
5. Πλύσιμο του καρπού μέχρι να απομακρυνθεί η υπολειφθείσα σόδα
6. Συσκευασία μέσα σε περιέκτες διαφορετικής χωρητικότητας
7. Απογέμισμα με άλμη διαφορετικής συγκέντρωσης σε αλάτι
8. Εξασφάλιση αναερόβιων συνθηκών στο χώρο συσκευασίας των ελιών

9. Γαλακτική ζύμωση
10. Οριστική διαλογή –Ταξινόμηση κατά μέγεθος
11. Συσκευασία σε γυάλινα βάζα ή λευκοσιδηρά δοχεία
12. Εμπορία (Μπαλατσούρας Γ., 1995)

3.3 Η Επεξεργασία του Ελαιοκάρπου με Καυστικό Νάτριο στην Ελλάδα

Το πρώτο στάδιο της επεξεργασίας της ελιάς αποτελεί η εκπίκρυνση με άλκαλι το οποίο συνήθως είναι NaOH (Duran Quintana M.C. και συν, 1999, Sanchez A.H. και συν, 2000).

Παλαιότερα, η συγκέντρωση της σόδας ήταν χαμηλή, 1,4-1,6%, η εκπίκρυνση διαρκούσε 12-16 ώρες και η διείσδυση του αλκάλειου δεν ήταν όσο έπρεπε ομοιόμορφη. Η έκπλυση παρατεινόταν για ένα ή δύο εικοσιτετράωρα με συχνές αλλαγές νερού έτσι ώστε στο τέλος παραλαμβάνονταν καρπός με πλήρως εξαντλημένη τη σάρκα του σε θρεπτικά συστατικά.

Υπό τις συνθήκες αυτές η ζύμωση ήταν αδύνατη και γι αυτό προσέθεταν γαλακτικό οξύ εμπορίου για να συντηρείται το προϊόν και η σύστασή του να είναι σύμφωνη με τις διεθνείς προδιαγραφές (Μπαλατσούρας Γ., 1995).

Πλέον, αφού έχει αποδειχθεί ότι η *Conservolea* συμπεριφέρεται όπως η *Manzanillo* θα πρέπει η συγκέντρωση της σόδας να είναι λίγο χαμηλότερη απ' ότι στην Ισπανία, δηλαδή 2-2,2%. Ακόμη, η έκπλυση θα πρέπει να είναι σύντομη, να ολοκληρώνεται μέσα σε 12-14 ώρες και να γίνεται με 2-3 φορτία νερού (αλλαγές). Υπό τις συνθήκες αυτές ένα μέρος των συστατικών της σάρκας, που είναι εγγενώς ελλειμματική, μεταφέρεται στην άλμη και υποστηρίζει την πραγματοποίηση μιας μερικής γαλακτικής ζύμωσης. Για την ολοκλήρωση της όμως θα πρέπει να προστεθεί σιρόπι στην άλμη την κατάλληλη στιγμή ή γαλακτικό οξύ του εμπορίου, λίγο στην αρχή και το υπόλοιπο στο τέλος μέχρι να εξασφαλισθεί μια συγκέντρωση πάνω από 0,8% (800 mg γαλακτικού οξέος ανά 100 κυβικά εκατοστά άλμης) (Μπαλατσούρας Γ., 1995).

3.4 Η Ζύμωση της επιτραπέζιας Ελιάς

Η επεξεργασία της βρώσιμης ελιάς είναι ο σημαντικότερος αγροτικό-βιομηχανικός τομέας στις Μεσογειακές χώρες όπως είναι η Ισπανία, η Ιταλία και η Ελλάδα (Nychas J.E και συν, 2001, 15, Tsapatsaris S. και συν, 2004). Οι διάφορες μέθοδοι επεξεργασίας που αποσκοπούν στην απομάκρυνσή της πικρότητας της ελιάς, η οποία οφείλεται στην ελευροπαίνη, ένα γλυκοζίδιο, σχετίζονται με το στάδιο ωριμότητας του ελαιοκάρπου. Η μετατροπή των βρώσιμων ελιών συμβαίνει κατά τη διάρκεια της ζύμωσης που γίνεται όταν οι καρποί βρίσκονται στην άλμη. Σύμφωνα με τον ελληνικό τρόπο επεξεργασίας οι ελιές που τοποθετούνται στην άλμη είναι ώριμες και η διαδικασία της ζύμωσης είναι αργή και συχνά μερική. Ένας μικτός πληθυσμός από Gram αρνητικά βακτήρια (κολίμορφα-αερόβια), βακτήρια του γαλακτικού οξέος και ζύμες αναπτύσσεται όταν η συγκέντρωσή του NaCl είναι <7% . Εάν η συγκέντρωση του NaCl στην άλμη παραμείνει στο 10% τότε υπερισχύουν οι ζύμες. Σε αυτή τη περίπτωση, τα οξέα που παράγονται από αυτές τις ανθεκτικές στην υψηλή αλατότητα ζύμες προκαλούν οξική ζύμωση και το τελικό προϊόν έχει pH που κυμαίνεται ανάμεσά στο 4.5 και 4.8. Παρόλο που η συνεισφορά των διαφορετικών ζυμών όσον αφορά τη ζύμωση δεν είναι ξεκάθαρη πιστεύεται ότι συνεισφέρουν στα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά του τελικού προϊόντος. Στις αυθόρμητες ζυμώσεις το μεγαλύτερο ποσοστό των μικροοργανισμών που αναπτύσσονται αποτελείται από ζύμες ενώ όταν η αλατότητα είναι μειωμένη τότε συγχρόνως συμβαίνει και ζύμωση του γαλακτικού οξέος. Ένας πιο ενεργός ρόλος των βακτηρίων του γαλακτικού οξέος είναι επιθυμητός διότι έτσι προστατεύεται ο καρπός από την δράση των ζυμών που προκαλεί διάφορες αλλοιώσεις.

Η επεξεργασία του ελαιοκάρπου παραμένει μια εμπειρική διαδικασία και απέχει αρκετά από το να είναι ελεγχόμενη. Παρόλα αυτά, το ενδιαφέρον για την ανάπτυξη καλλιεργειών εκκίνησης που θα χρησιμοποιούνται στη ζύμωση των βρώσιμων ελιών, αυξάνεται. Ο καθορισμός των συνθηκών που απαιτούνται για την ανάπτυξη των βακτηρίων στην άλμη έχει μεγάλη σημασία για την ανάπτυξη μιας νέας βιοτεχνολογικής διαδικασίας για την απομάκρυνση της πικρής ελευροπαίνης. Επίσης πολύ σημαντικό ρόλο στην

διαδικασία της εκπίκρασης παίζουν οι λακτοβάκιλλοι (Tsapatsaris S. και συν, 2004).

Μελέτες πάνω στις μικροβιακές και φυσικοχημικές μεταβολές κατά τη διάρκεια της ζύμωσης πράσινων ελιών έχουν οδηγήσει στην αναγνώριση τριών διαδοχικών φάσεων:

1. Κατά τη διάρκεια της πρώτης φάσης, η οποία σε γενικές γραμμές διαρκεί περίπου 7-14 ημέρες, η άλμη έχει υψηλό pH το οποίο σταδιακά μειώνεται και φτάνει κοντά στη τιμή 6. Οι μικροοργανισμοί που χαρακτηρίζουν με τη παρουσία τους αυτή τη φάση ανήκουν στα εντεροβακτήρια (Enterobacteriaceae).
2. Στη δεύτερη φάση, περίπου 3 εβδομάδες, οι γαλακτοβάκιλλοι και οι ζύμες αναπτύσσονται πολύ γρήγορα και τα εντεροβακτήρια μειώνονται μέχρις ότου εξαφανιστούν πλήρως όταν το pH φτάσει κοντά στο 4,5.
3. Κατά τη διάρκεια της τρίτης και τελευταίας φάσης, η οποία διαρκεί έως ότου εξαντληθεί κάθε ζυμώσιμο υλικό, αφθονούν οι γαλακτοβάκιλλοι και συνυπάρχουν και κάποιες ζύμες. Το τελικό pH φτάνει το 4,0 ή και λιγότερο και η τελική οξύτητα αναμένεται σε 0,7-1,0% γαλακτικό οξύ (Sanchez A.H., 2000, Μπαλατσούρας Γ., 1995).

Εάν η θερμοκρασία φθάσει τους 24°C τότε η ζύμωση γίνεται πιο γρήγορα και σε πολλές περιπτώσεις επεξεργασίας της βρώσιμης ελιάς σε βιομηχανική κλίμακα η θερμοκρασία διατηρείται σε υψηλά επίπεδα ώστε να ευνοηθεί η ζύμωση (Κυριακού Α., 2002). Η θέρμανση των ελαιοκάρπων βελτιώνει τη διαδικασία αφού έχουν απομονωθεί από τις ελιές θερμοευαίσθητες ουσίες που πιθανόν να παρουσιάζουν αντιβακτηριακή δράση (Balatsouras G. και συν, 1983, Federici F. και συν, 1983, Fleming H.P. και συν, 1973).

Επίσης, τα τελευταία χρόνια χρησιμοποιείται μία άλλη μέθοδος για την επεξεργασία των βρώσιμων ελιών: Οι ελιές επεξεργάζονται με άλμη (10% αλάτι) που έχει οξιניστεί με γαλακτικό οξύ (3%) για να μειωθεί το pH και να εξουδετερωθεί το άλκαλι που χρησιμοποιήθηκε στο προηγούμενο στάδιο (28). Αν εξαιρέσουμε την οξίνιση της άρμης, τις περισσότερες φορές δεν γίνεται καμία άλλη παρέμβαση με σκοπό τον έλεγχο της γαλακτικής ζύμωσης, η οποία συνήθως γίνεται ατελώς ή δεν υφίσταται καθόλου. Το παραπάνω

φαινόμενο είναι ιδιαίτερα έντονο στις ελιές της ποικιλίας Conservolea αλλά και στη ποικιλία Manzanillo διότι υστερούν ως προς την ύπαρξη ζυμώσιμων υλικών. Γι αυτό και συχνά κρίνεται αναγκαίος ο εμβολιασμός της άρμης με καλλιέργεια λακτοβακίλλων (starters) που θα ενισχύσουν τη διαδικασία της ζύμωσης. Ο Vaughn ήταν ο πρώτος που έκανε την υπόθεση ότι η ελευροπαίνη μπορεί να αποτελεί ανασταλτικό παράγοντα για την ανάπτυξη των βακτηρίων του γαλακτικού οξέος. Στη πορεία, το πικρό κομμάτι της ελιάς που άλλοτε αναφέρεται ως φαινολική γλυκοζίδη και άλλοτε ως διπλός εστέρας της γλυκόζης φάνηκε πως δεν δρα ως ανασταλτικός παράγοντας στην ανάπτυξη των βακτηρίων του γαλακτικού οξέος. Άλλα φαινολικά μίγματα που απομονώθηκαν από ιστό ελαιοκάρπου εμφάνισαν αντιμικροβιακές ιδιότητες. Επίσης δύο προϊόντα της υδρόλυσης της ελευροπαίνης τα αγλυκονικό και ενολικό οξύ παρουσιάζουν ανασταλτική δράση στα βακτήρια του γαλακτικού οξέος και άλλα βακτηριακά είδη (Balatsouras.G. και συν.,1983).

Θα πρέπει επίσης να αναφέρουμε πως το αυξανόμενο ενδιαφέρον για τα προβλήματα που σχετίζονται με την μόλυνση του περιβάλλοντος και προκύπτουν από την απόρριψη μεγάλων ποσοτήτων άλμης υψηλής αλατότητας καθώς επίσης και η αυξημένη συχνότητα εμφάνισης υπέρτασης στους ανθρώπου, η οποία σχετίζεται με τα καρδιαγγειακά νοσήματα, έχουν αναγκάσει την βιομηχανία τροφίμων να μελετάει τρόπους παραγωγής προϊόντων χαμηλής περιεκτικότητας σε νάτριο. Όλες οι αρνητικές επιπτώσεις της υψηλής συγκέντρωσης αλατιού (NaCl) μπορούν να μειωθούν με την αντικατάσταση του NaCl από μία ισοδύναμη ποσότητα άλλων αλατιών. Η πιο συχνή προσέγγιση είναι η αντικατάσταση του χλωριούχου νατρίου με άλατα καλίου ή ασβεστίου (Tsapatsaris S., και συν.,2004).

3.5 Γαλακτική Ζύμωση

Η γαλακτική ζύμωση είναι αναντίρρητα το κλειδί της επιτυχίας στην όλη τεχνική παραγωγής ελιών ισπανικού τύπου. Αν η γαλακτική ζύμωση εξελιχθεί ομαλά τότε και η ποιότητα του τελικού προϊόντος είναι εξασφαλισμένη αλλά και η συντήρηση και η εμπορία. Αντίθετα αν σημειωθεί εκτροπή στην πορεία της τότε το προϊόν υποβαθμίζεται ποιοτικά ή αχρηστεύεται πλήρως.

Οι προϋποθέσεις για την πραγματοποίηση της γαλακτικής ζύμωσης με επιτυχία είναι οι ακόλουθες :

- Αναεροβίωση στους περιέκτες, μέσα στους οποίους τοποθετούνται οι ελιές, μετά από την εκπίκραση και την έκπλυση και στη συνέχεια γεμίζονται με άλμη της κατάλληλης συγκέντρωσης σε αλάτι.
- Η σάρκα του ελαιοκάρπου θα πρέπει να περιέχει αρκετά ζυμώσιμα υλικά μετά την εκπίκραση και την έκπλυση γιατί αυτά σε μεγάλο ποσοστό θα μεταφερθούν στην άλμη και θα την μετατρέψουν σε θρεπτικό υπόστρωμα κατάλληλο για την ανάπτυξη των βακτηρίων του γαλακτικού οξέος.
- Το pH, η ενεργότητα του νερού, η θερμοκρασία, η συγκέντρωση του αλατος στην άλμη, η ποσότητα της ελεθρωπαΐνης.
- Ύπαρξη μεικτού μικροβιακού πληθυσμού στην άλμη στον οποίο θα επικρατήσουν προοδευτικά τα βακτήρια του γαλακτικού οξέος (Μπαλατσούρας Γ., 1994, Nychas J.E. και συν, 2001).

3.6 Βακτήρια του Γαλακτικού Οξέος

Με τον όρο βακτήρια του γαλακτικού οξέος περιγράφονται βακτηριακά στελέχη που ανήκουν στα εξής τέσσερα γένη : *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus*, *Streptococcus* (Κυριακού Α., 2002).

Οι μικροοργανισμοί αυτοί είναι πολύ διαδεδομένοι στη φύση και το ιδιαίτερο περιβάλλον για κάποιους από αυτούς δεν είναι απόλυτα ξεκαθαρισμένο.

Τα βακτήρια του *Leuconostoc* spp. ανιχνεύονται στα φυτά, οι λακτοβάκιλλοι είναι πιο διαδεδομένοι από τους στρεπτόκοκκους και το *Pediococcus* spp. περιορίζεται κυρίως στα φυτά. Είναι γνωστή η παρουσία στρεπτόκοκκων και λακτοβακίλλων στη φυσιολογική χλωρίδα της στοματικής κοιλότητας.

Εκτός από τα βακτήρια του γαλακτικού οξέος ως σχετικά με αυτά αναφέρονται αρκετά βακτηριακά στελέχη τα οποία ανήκουν στα γένη *Aerococcus*, *Microbacterium*, *Peptostreptococcus* και *Propionibacterium*. Τα στελέχη αυτά δεν παράγουν γαλακτικό οξύ από εξόζες και για τον λόγο αυτό δεν ανήκουν στην ομάδα των βακτηρίων του γαλακτικού οξέος (Κυριακού Α., 2002).

Τα βακτήρια του γαλακτικού οξέος χωρίζονται σε δύο ομάδες ανάλογα τα τελικά προϊόντα του μεταβολισμού τους :

- Εκείνα που παράγουν γαλακτικό οξύ ως κύριο και μοναδικό προϊόν από τη διαδικασία αυτή και ονομάζονται ομοζυμωτικά (homofermentative),
- Ενώ αντίθετα ετεροζυμωτικά (heterofermentative) ονομάζονται εκείνα που παράγουν σε ισομοριακές ποσότητες γαλακτικό οξύ, CO₂ και αιθανόλη από εξόζες.

Ο ομοζυμωτικός χαρακτήρας ορίζεται κατά τη ζύμωση της γλυκόζης (εξόζη) και όχι κατά τη ζύμωση των πεντοζών από τον μικροοργανισμό όπου τα προϊόντα μπορεί να είναι εντελώς διαφορετικά π.χ. οξικό οξύ. Επίσης κάποια στελέχη χάνουν αυτόν τους τον χαρακτήρα αν αλλάξουν οι συνθήκες (pH, συγκέντρωση της γλυκόζης, περιορισμός των θρεπτικών συστατικών.

Οι ομοζυμωτικοί οργανισμοί παράγουν διπλάσια ποσότητα ενέργειας από την ίδια ποσότητα γλυκόζης (Κυριακού Α., 2002).

Τα βακτηριακά στελέχη των γενών *Pediococcus* και *Stroptococcus* είναι ομοζυμωτικά όπως και κάποια από τα στελέχη του γένους *Lactobacillus* spp. Αντίθετα όλα τα στελέχη του γένους *Leuconostoc* και κάποια του *Lactobacillus* spp. είναι ετεροζυμωτικά.

Στους ετεροζυμωτικούς μικροοργανισμούς οφείλεται κυρίως η παραγωγή ενώσεων όπως η ακεταλδεΐδη και το ακετύλιο που ευθύνονται για την ιδιαίτερη γεύση και το άρωμα ορισμένων προϊόντων.

Οι διαφορές στα τελικά προϊόντα μεταξύ των δύο κατηγοριών των βακτηρίων του γαλακτικού οξέος οφείλονται στις διαφορές που παρουσιάζουν στη φυσιολογία και την γενετική τους:

- Τα ομοζυμωτικά διαθέτουν το ένζυμο αλδολάση και ισομεράση της εξόζης αλλά δεν έχουν το ένζυμο φωσφοκετολάση. Χρησιμοποιούν την βιοχημική οδό Embden-Meyerhof-Parnas (EMP) για την παραγωγή 2 μορίων γαλακτικού οξέος για κάθε μόριο της γλυκόζης που αποικοδομούν.

- Τα ετεροζυμωτικά βακτήρια διαθέτουν το ένζυμο φωσφοκετολάση αλλά δεν διαθέτουν τα άλλα δύο ένζυμα και γι αυτό ακολουθούν την οδό της μονοφωσφορικής γλυκόζης.

Τα βακτήρια του γαλακτικού οξέος έχουν κάποιες απαιτήσεις όσον αφορά κάποια αμινοξέα, βιταμίνες του συμπλέγματος Β και βάσεις πουρινών και πυριμιδινών. Είναι μεσόφιλα αλλά μπορούν να αναπτύσσονται από τους 5 μέχρι και τους 45 °C.

- Τα περισσότερα στελέχη αναπτύσσονται σε pH 4,0-4,5 αλλά αναφέρονται στελέχη που αναπτύσσονται και σε pH 3.2 και κάποια άλλα που αναπτύσσονται σε pH 9.6. Επίσης κάποια παρουσιάζουν σε μικρό βαθμό πρωτεολυτικότητα και λιπολυτικότητα.
- Η ταξινομική τους κατάταξη βασίζεται στη χρώση Gram, στη γενικότερη αδυναμία τους να συνθέτουν το ένζυμο καταλάση, την παραγωγή γαλακτικού οξέος D ή L μορφής όπως επίσης και στην ικανότητά τους να ζυμώνουν ή όχι κάποιους υδατάνθρακες.

Η ανάπτυξη των προσφάτων τεχνικών της Μοριακής βιολογίας όπως η ανεύρεση της αναλογίας των βάσεων του DNA στο γενετικό υλικό και η σύγκρισή της στα διάφορα είδη και στελέχη, αλλά και η ύπαρξη ομόλογων αλληλουχιών DNA επέτρεψε την δημιουργία διαφόρων υποομάδων ανάλογα με το ποσοστό συγγένειας που παρουσιάζουν. Σύγχρονες τεχνικές επίσης διευκόλυναν τον προσδιορισμό της διαφορετικής χημικής σύστασης του κυτταρικού τοιχώματος και της ειδίκευσης των ενζύμων που διαθέτει ο μικροοργανισμός με ανοσολογικές μεθόδους (Κυριακού Α., 2002).

3.6.1 Χαρακτηριστικά των Βακτηρίων του Γαλακτικού Οξέος που σχετίζονται με την Ζύμωση των Πράσινων Ελιών

Τα βακτήρια του γαλακτικού οξέος:

- Είναι προαιρετικά αερόβια ή προαιρετικά αναερόβια (facultative)
Είναι μια ιδιότητα με ιδιαίτερο ενδιαφέρον για τις βιομηχανικές ζυμώσεις γενικά και για τη γαλακτική ζύμωση των πράσινων ελιών ειδικότερα. Η βιομηχανία εκμεταλλεύεται την ιδιότητα τους αυτή και εξασφαλίζει στους χώρους ζυμώσεως αναερόβωση, όσο το δυνατόν πληρέστερη. Με τον τρόπο αυτό παρεμποδίζεται πλήρως η ανάπτυξη των οξειδωτικών οργανισμών στην επιφάνεια της άλμης, που μόνο

προβλήματα δημιουργεί στην βιομηχανία, γιατί μια τέτοια ανάπτυξη θα οδηγήσει προοδευτικά στην υποβάθμιση της ποιότητας του τελικού προϊόντος, αν όχι στην πλήρη ακρήστευσή του. Με την αναεροβίωση τα βακτήρια του γαλακτικού οξέος αναπτύσσονται και ολοκληρώνουν τη ζύμωση των ελιών, εφόσον έχουν στη διάθεση τους ζυμώσιμα συστατικά (Vaughn R.H. και συν ,1971, Μπαλατσούρας Γ.1995).

- ❑ Πολλαπλασιάζονται στην άλμη της ελιάς και ζυμώνουν τα σάκχαρα όταν η περιεκτικότητα σε αλάτι κυμαίνεται μεταξύ 0-8%. Η δραστηριότητά τους είναι τόσο μεγαλύτερη όσο χαμηλότερη είναι η περιεκτικότητα της άλμης σε αλάτι.
- ❑ Εγκαθίστανται στην άλμη και αναπτύσσουν δραστηριότητα όταν το pH της άλμης φτάσει στη τιμή 6,2-6,5 οπότε το περιβάλλον καθίσταται ελαφρώς όξινο.
- ❑ Η δράση τους παρεμποδίζεται όταν το pH κατέβει κάτω από 3,8-3,5 όταν το αλάτι αυξηθεί στην άλμη πάνω από 8% και όταν η οξύτητα της άλμης ανεβεί σε επίπεδα άνω το 1,20% σε γαλακτικό οξύ.
- ❑ Σε θερμοκρασία κάτω των 18°C δεν αναπτύσσονται, σε θερμοκρασία 15° –18° C αναπτύσσονται με βραδύ ρυθμό, σε θερμοκρασία 18°-23°C αναπτύσσονται ικανοποιητικά και σε θερμοκρασία 23°-27°C εμφανίζουν τη μέγιστη τιμή της δραστηριότητάς τους. Τέλος σε θερμοκρασία άνω των 30-32° C η δράση τους παρεμποδίζεται δραστικά αφού είναι καθαρά μεσόφιλα (Μπαλατσούρας Γ.,1995).
- ❑ Έρευνα απέδειξε ότι υπάρχουν στελέχη βακτηρίων του γαλακτικού οξέος που αναπτύσσονται σε pH άνω του 8,0 και έτσι εξηγείται γιατί η ζύμωση σε βαρέλια ακολουθεί την ομαλή της πορεία χωρίς να έχει προηγηθεί οξίνιση της άλμης. Όμως η σύγχρονη βιομηχανία που χρησιμοποιεί για την ζύμωση της πράσινης ελιάς πολυεστερικές σφαίρες μεγάλης χωρητικότητας δεν μπορεί να βασίζεται στην ύπαρξη τέτοιων στελεχών που με την δραστηριότητά τους θα κατεβάσουν το pH σε επίπεδα πρόσφορα για την ανάπτυξη του συνόλου των βακτηρίων του γαλακτικού οξέος(Μπαλατσούρας Γ., 1995).

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4^ο: ΑΛΛΟΙΩΣΕΙΣ ΚΑΙ ΑΣΘΕΝΕΙΕΣ

4.1 Γενικά

Οι ανώμαλες καταστάσεις στην επεξεργασμένη επιτραπέζια ελιά μπορούν να χωρισθούν σε δύο κατηγορίες, τις αλλοιώσεις και τις ασθένειες του προϊόντος, αν και δεν υπάρχει σαφής διαχωρισμός ανάμεσα στις δύο έννοιες.

Γενικά όμως στην πρώτη κατηγορία μπορούν να καταταχθούν οι ανώμαλες καταστάσεις σε ένα φορτίο ελαιοκάρπου που οφείλονται ή έχουν προκληθεί από φυσικούς ή χημικούς παράγοντες. Αντίθετα ως ασθένειες μπορούν να χαρακτηρισθούν όσες ανώμαλες καταστάσεις οφείλονται ή δημιουργούνται από μικροβιακή ανάπτυξη σε ένα φορτίο ελαιοκάρπου (Μπαλατσούρας Γ., 1995).

4.2 Αλλοιώσεις

Οι αλλοιώσεις αφορούν κυρίως την υποβάθμιση της υφής της ελιάς που εκδηλώνεται με συρρίκνωση, (ζάρωμα) από φυσικά ή χημικά αίτια και με μαλάκωμα των ιστών, που οφείλεται ομοίως σε χημικά αίτια και σε δράση των ενζύμων. Τα τελευταία ή είναι εγγενή του καρπού ή εκκρίνονται από πηκτινολυτικούς μικροοργανισμούς. Αλλοίωση εμφανίζεται πολλές φορές και στο χρώμα (Μπαλατσούρας Γ., 1995). Ειδικότερα:

1) Συρρίκνωση ή ζάρωμα :

Είναι σοβαρή αλλοίωση των ελιών και είναι δύο τύπων , αναστρέψιμη και μόνιμη. Η πρώτη μορφή είναι ήπια ενώ η δεύτερη είναι βαριά και με πολύ σοβαρές επιπτώσεις. Τα αίτια που μπορεί να οδηγήσουν σε συρρίκνωση είναι τα ακόλουθα:

- Χαμηλή θερμοκρασία (πρώϊμος παγετός)
- Παρατεταμένη ξηρασία
- Πυκνή άλμη (Μπαλατσούρας Γ., 1995)

2) Φλυκταίνωση και εκδορά (γδάρσιμο) της επιδερμίδας

Πρόκειται για αλλοίωση των πράσινων ελιών που συμβαίνει στο στάδιο της επεξεργασίας με άλκαλι. Η διάλυση του καυστικού νατρίου στο νερό είναι εξώθερμη αντίδραση και εάν η θερμοκρασία του διαλύματος δεν

ελεγχθεί και παραμείνει ανώτερη από 15,5-21,1° C τότε τα γδαρσίματα της επιδερμίδας και ο σχηματισμός φλυκταινών είναι καταστάσεις αναπόφευκτες. Μάλιστα, οι ανώμαλες αυτές καταστάσεις είναι σοβαρότερης μορφής σε καρπό που βρίσκεται σε στάδιο πλήρους σπαργής καθώς και σε καρπό ευαίσθητων στο ξεφλούδισμα καρπών (Μπαλατσούρας Γ., 1995).

3) Αεριοπάθηση (fish-eye ή alambrado)

Η ανώμαλη αυτή κατάσταση μπορεί να οφείλεται σε μικροβιακή δράση και τότε είναι ασθένεια, μπορεί όμως να οφείλεται και σε έκλυση διοξειδίου του άνθρακα από τους ίδιους τους ιστούς του ελαιοκάρπου όταν εμβαπτίζεται στην άλμη κατ' ευθείαν από το δέντρο. Στην περίπτωση αυτή σχηματίζονται φλύκταινες γεμάτες από διοξείδιο του άνθρακα κάτω από την επιδερμίδα , σχισμές και ραγάδες που αρχίζουν από τον πυρήνα και φτάνουν στην επιδερμίδα (Μπαλατσούρας Γ., 1995).

4)Μαλάκωμα της υφής (softening)

Πρόκειται για σοβαρή αλλοίωση που δεν υποβαθμίζει απλώς αλλά αχρηστεύει εντελώς το προϊόν. Τα αίτια στα οποία μπορεί να οφείλεται είναι τα ακόλουθα:

- Ζεστό ή πολύ πυκνό διάλυμα αλκαλίου
- Υψηλή θερμοκρασία
- Εγγενή πηκτινολυτικά και κυτταρινολυτικά ένζυμα του ελαιοκάρπου (Frazier and Westhoff, 1995, Μπαλατσούρας Γ.1995)

5) Γαλάζωμα ή κυάνωση

Είναι αλλοίωση με βαριές οικονομικές συνέπειες για την φυσικά ώριμη ελιά. Πρόκειται για μια ανώμαλη κατάσταση που εκδηλώνεται μια αλλαγή του χρώματος από εξασθενημένο μαύρο σε εξασθενημένο κυανό ή κυανόγκριζο και από βαθύ μαύρο σε βαθύ κυανό στις πιο βαριές καταστάσεις.

Οι μεταβολές στο χρώμα συνοδεύονται και με επιδείνωση της γεύσης και της υφής έτσι ώστε το προϊόν αποκτά γεύση αρχόμενης σήψης και είναι ακατάλληλο για το εμπόριο και την κατανάλωση. Το γαλάζιο χρώμα είναι πολύ σταθερό και παραμένει στον ελαιόκαρπο ακόμη και εάν γίνει δραστική επεξεργασία με νιτρικό οξύ ή με άλλους δραστικούς χημικούς παράγοντες. Σε

ακραίες καταστάσεις οι ελιές αποκτούν αποκρουστική δυσσομία (Μπαλατσούρας Γ., 1995, Κυριακού Α., 2002, 29).

4.3 Ασθένειες

1) Αεριοπάθηση (fish-eye ή alambrado)

Πρόκειται για μια συνηθισμένη αλλοίωση της επιτραπέζιας ελιάς όλων των εμπορικών τύπων. Οφείλεται σε φυσιολογική ανωμαλία της πρώτης ύλης αλλά και σε μικρόβια που παράγουν είτε μόνο CO₂ είτε μείγμα CO₂ και H₂. Τα κολίμορφα βακτήρια φαίνεται πως παίζουν πολύ σημαντικό ρόλο και αρχικά είχαν θεωρηθεί οι αποκλειστικοί πρόξενοι της αεριοπάθησης ενώ πλέον θεωρούνται ότι ευθύνονται μερικώς για την εμφάνιση και την εξέλιξη της ασθένειας και κυρίως στις φυσικά ώριμες ελιές (Μπαλατσούρας, Γ., 1995).

Οι προσβεβλημένες ελιές ανεβαίνουν στην επιφάνεια της άλμης και επιπλέουν. Στο εσωτερικό των ιστών και κάτω από την επιδερμίδα υπάρχουν σάκοι αερίων που ευθύνονται για το μικρότερο ειδικό βάρος που επιτρέπει στον καρπό να επιπλέει. Οι προσβεβλημένοι καρποί ενώ δεν είναι επικίνδυνοι από πλευράς υγείας είναι υποβαθμισμένοι ποιοτικά.

Τα υπεύθυνα για την ασθένεια κολίμορφα ανήκουν σε δύο γένη: 1) *Escherichia* και 2) *Enterobacter*. Και τα δύο είναι παράσιτα του πεπτικού σωλήνα του ανθρώπου και των ζώων και μεταφέρονται εύκολα με τα βρώμικα χέρια και γενικά αν δεν τηρούνται με σχολαστικότητα συνθήκες καθαριότητας στον χώρο που γίνεται η ζύμωση των ελιών (Κυριακού Α., 2002). Το γένος *Enterobacter* δεν είναι υποχρεωτικό παράσιτο του ανθρωπίνου σώματος γιατί έχει απομονωθεί και από οργανική ουσία σε σήψη στην επιφάνεια του εδάφους. Και τα δύο μαζί ζυμώνουν τις εξόζες και σχηματίζουν γαλακτικό οξύ μαζί με άλλα ανεπιθύμητα προϊόντα όπως το ηλεκτρικό οξύ, η αιθανόλη, το οξικό οξύ, το μυρμηγκικό οξύ, η ακετοΐνη και η 2,3 βουτανодиόλη. Το χειρότερο παράγωγο είναι το μυρμηγκικό οξύ που είναι δύσσομο και προσδίδει στις ελιές άσχημη γεύση (Μπαλατσούρας Γ., 1995).

Λόγω του ότι τα εντεροβακτήρια για να αναπτυχθούν θα πρέπει να έχουν στη διάθεση τους σάκχαρα, αναπτύσσονται μόλις οι ελιές τοποθετηθούν στην άλμη και ποτέ στα επόμενα στάδια που τα σάκχαρα έχουν μετατραπεί σε γαλακτικό οξύ και

έχουν εξαντληθεί από τους οξειδωτικούς οργανισμούς. Η ένταση της ασθένειας θα εξαρτηθεί από:

- ❑ Τον αριθμό των κολίμορφων βακτηρίων που θα φτάσουν στην άλμη
 - ❑ Τη θερμοκρασία που επικρατεί στα πρώτα στάδια της ζύμωσης
 - ❑ Την συγκέντρωση του αλατος στην άλμη που πρώτη θα καλύψει τις ελιές
- (Μπαλατσούρας Γ.,1995))

2)Ασθένεια της δυσοσμίας(Zapatera)

Είναι μια χαρακτηριστική ασθένεια των ελιών που γίνεται γνωστή με την επιδείνωση της γεύσης, της οσμής και της συνεκτικότητας της υφής συνοδεύεται μάλιστα, από χαμηλή οξύτητα στην άλμη. Ενώ σε καμία περίπτωση οι ελιές αυτές δεν είναι επικίνδυνες για την υγεία, η αλλοίωση μπορεί να οδηγήσει σε τεράστια οικονομική ζημιά για όσους ζυμώνουν πράσινες ελιές (Μπαλατσούρας Γ., 1995).

Χαρακτηριστικό της ασθένειας είναι μια ήπια αλλά πολύ διαπεραστική οσμή η οποία θυμίζει την δυσοσμία των παπουτσιών, δεν είναι οσμή βαριά και ταγγή όπως είναι η οσμή που αναδίδεται από ελιές βουτυρικής ζύμωσης και μάλιστα στα πρώτα στάδια δεν γίνεται αντιληπτή από τον καταναλωτή. Αυτή η μυρωδιά έχει περιγραφεί επίσης και ως απαλή τυρώδης έως έντονη κοπρανώδης(Κυριακού Α.,2002).

Η ασθένεια αυτή δεν είναι αυστηρά καθορισμένη όσον αφορά το παθογόνο αίτιο, αλλά είναι σύνδρομο αλλοιώσεων που οφείλεται σε ομάδες βακτηρίων που δρουν σε αλληλουχία έτσι ώστε να παρουσιάζεται με διάφορο βαθμό σοβαρότητας. Προκαλείται από είδη του γένους *Clostridium* βοηθούμενα από βακτήρια του προπιονικού οξέος. Η ασθένεια εμφανίζεται σχεδόν πάντα σε ελιές που είναι εμβαπτισμένες σε άλμη με χαμηλή περιεκτικότητα σε αλάτι και υψηλή τιμή του pH και πάντοτε εκδηλώνεται μετά την τυπική γαλακτική ζύμωση όταν αρχίζει να ανεβαίνει η τιμή της θερμοκρασίας του περιβάλλοντος (Μπαλατσούρας Γ.,1995).

3)Βουτυρική ζύμωση

Η βουτυρική ζύμωση δεν είναι τυπική ασθένεια των επιτραπέζιων ελιών κυρίως λόγω της υψηλής περιεκτικότητας σε αλάτι της άλμης. Διεξοδική μελέτη των πράσινων ελιών οδήγησε στις εξής διαπιστώσεις:

- ❑ Η ασθένεια οφείλεται στην ανάπτυξη σακχαρολυτικών κλωστριδίων που ανήκουν στο είδος *Clostridium butyricum*.
- ❑ Η οσμή των αλλοιωμένων ελιών είναι η τυπική και αποκρουστική του ταγγισμένου βουτύρου.
- ❑ Σε προχωρημένα στάδια η δυσοσμία εντείνεται περισσότερο και δεν διαφέρει από την κακοσμία των κοπράνων.

Η βουτυρική ζύμωση εμφανίζεται στα πρώτα στάδια της τοποθέτησης των πράσινων ελιών στην άλμη γιατί τα κλωστρίδια πρέπει να έχουν στη διάθεση τους αυξημένες συγκεντρώσεις εξοζών (Gililand J.R. και συν,1942, Μπαλατσούρας Γ.,1995). Η δράση τους παρεμποδίζεται από :

- ❑ Τη συγκέντρωση του αλατος όταν αυτή είναι μεγαλύτερη από 6,5%
- ❑ Τη θερμοκρασία όταν αυτή είναι χαμηλότερη από 20° C
- ❑ Το πολύ χαμηλό pH

Συνθήκες που ευνοούν την ανάπτυξή τους ισχύουν όταν η περιεκτικότητα του αλατος στην άλμη είναι κάτω από 6,5% και αυτό συμβαίνει σπάνια και μόνο κατά τη χειμερινή περίοδο. Κατά τη περίοδο αυτή όμως η θερμοκρασία είναι κάτω από την ελάχιστη που επιτρέπει την ανάπτυξη των κλωστριδίων, έστω και με πολύ βραδύ ρυθμό(Gililand J.R. και συν,1942, Μπαλατσούρας Γ.,1995).

Γενικά η βουτυρική ζύμωση, όταν συντρέξουν όλες οι προϋποθέσεις (χαμηλή συγκέντρωση αλατος, υψηλή θερμοκρασία στον χώρο της ζύμωσης και αυξημένες ζυμώσιμες ύλες στον χώρο της ζύμωσης) κάνει την εμφάνισή της αμέσως μόλις εμβαπτισθούν οι ελιές στην άλμη και γίνεται αντιληπτή με μια ταγκή και απαίσια οσμή βρώμικου και χαλασμένου βουτύρου.

Αντίθετα σε όσα συμβαίνουν στις ελιές που πάσχουν από αεριοπάθηση και zapatera, οι ελιές που έπαθαν βουτυρική ζύμωση είναι οργανοληπτικά απαράδεκτες και οποιαδήποτε προσπάθεια για τη διάθεσή τους στην αγορά είναι ανεφάρμοστη, ασύνητη και αντίθετη στις αρχές της υγιεινής (Gililand J.R. και συν,1942, Μπαλατσούρας Γ.,1995).

4)Προπιονική ζύμωση

Στις φρεσκοζυμωμένες ελιές δεν έχει ανιχνευτεί ποτέ προπιονικό οξύ. Είναι φαινόμενο που εμφανίζεται στο στάδιο της αποθήκευσης και της συντήρησης των πράσινων ελιών και ακολουθεί τα τρία επιθυμητά στάδια της ζύμωσης.

- ❑ Ο σχηματισμός προπιονικού οξέος στο στάδιο συντήρησης των πράσινων ελιών είναι καθεστώς γενικευμένο που όμως διαφέρει σε ένταση από την μια περίπτωση στην άλλη.
- ❑ Ο σχηματισμός του προπιονικού οξέος στην άλμη επηρεάζεται από τις χημικές σταθερές της άλμης (ελεύθερη οξύτητα, pH, περιεκτικότητα σε αλάτι). Τον σχηματισμό του προπιονικού οξέος ευνοεί και η υψηλή θερμοκρασία.
- ❑ Το ένα τρίτο των καθαρών καλλιεργειών μικροβίων που απομονώθηκαν από άλμη θετική σε προπιονικό οξύ αποδείχτηκαν ικανές να συνθέτουν προπιονικό σε βάρος του γαλακτικού οξέος (Μπαλατσούρας Γ.,1995).

5) Μαλάκωμα της σάρκας του καρπού της ελιάς .

Οφείλεται στη διάσπαση των πηκτινών και μπορεί να προκαλείται από διάφορους φυσικούς, χημικούς ή μικροβιολογικούς παράγοντες. Διάφοροι μικροοργανισμοί οι οποίοι διαθέτουν τα κατάλληλα ένζυμα προκαλούν αυτού του είδους την αλλοίωση π.χ στελέχη του γένους *Bacillus*, *Aeromonas*, *Achromobacter* ή ζύμες ή ακόμα και μύκητες. Οι αποθηκευμένες ελιές, για παράδειγμα εκείνες που βρίσκονται μέσα σε άλμη πριν να επεξεργαστούν, υφίστανται γαλακτική ζύμωση και όταν τελικά έρθουν σε επαφή με τον ατμοσφαιρικό αέρα μπορεί να προκληθεί μαλάκωμα της σάρκας τους λόγω της διάσπασης των πηκτινών από την αερόβια μικροχλωρίδα των ζυμών και των μυκήτων που αναπτύσσονται στην επιφάνεια της ελιάς (Tsapatsaris S. και συν, 2004, Vaughn R.H., 1971).

6)Στίγματα(yeast spots)

Ο ελαιόκαρπος, πράσινος ή μαύρος μετά το τέλος της επεξεργασίας παρουσιάζει σε πολλές περιπτώσεις στην επιφάνεια του υπόλευκα στίγματα τα οποία εμμένουν σε όλα τα στάδια επεξεργασίας. Επικρατούσε η άποψη ότι ήταν συσσωματώματα ζυμών και γι αυτό τους δόθηκε αυτή η ονομασία. Όμως η μικροβιακή εξέταση απέδειξε ότι οι λευκές κηλίδες που εμφανίζονται κάτω από την επιδερμίδα του καρπού οφείλονται σε αποικίες του *Lactobacillus plantarum* ή του *L. brevis*.

Τα στίγματα δεν είναι βλαβερά για τον άνθρωπο απλώς ζημιώνουν την καλή εμφάνιση του τελικού προϊόντος (Μπαλατσούρας Γ.,1995, Κυριακού Α., 2002).

Τέλος πρέπει να αναφερθεί ότι:

Η θολερότητα της άλμης που εμφανίζεται στα γυάλινα δοχεία πιθανόν να προκαλείται από διάφορους μικροοργανισμούς :

1. Βακτήρια του γαλακτικού οξέος, εάν συνεχίζεται η ζύμωση των σακχάρων
2. Αλόφιλα βακτήρια
3. Ζύμες ή μύκητες που αναπτύσσονται στην επιφάνεια εάν υπάρχει αέρας μέσα στο δοχείο (Μπαλατσούρας Γ., 1995, Κυριακού Α., 2002).

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5^ο: ΠΟΙΟΤΗΤΑ ΤΗΣ ΕΠΙΤΡΑΠΕΖΙΑΣ ΕΛΙΑΣ

5.1 Γενικά

Η ποιότητα οποιουδήποτε τροφίμου και άρα και της επιτραπέζιας ελιάς, είναι η συνισταμένη ορισμένων ιδιοτήτων και ποιοτικών χαρακτηριστικών μέσω των οποίων προσδιορίζεται ο βαθμός αποδοχής της από το καταναλωτικό κοινό(Meilgard, M και συν,1999).

Κατά αυτή την έννοια η επιτραπέζια ελιά υψηλής αποδοχής είναι και υψηλής ή άριστης ποιότητας, η μέσης αποδοχής είναι μέτριας ποιότητας ενώ η μικρής αποδοχής είναι κακής ποιότητας έως και απορριπτέα.

Τα χαρακτηριστικά τα οποία μετέχουν στη διαμόρφωση της ποιότητας είναι σε γενικές γραμμές τα ίδια για όλα τα τρόφιμα, η βαρύτητα όμως του κάθε χαρακτηριστικού μπορεί να είναι διαφορετική κατά περίπτωση.

Η εκτίμηση ή μέτρηση των ποιοτικών χαρακτηριστικών ενός τροφίμου γίνεται είτε υποκειμενικά από τον ίδιο τον καταναλωτή οπότε έχει να κάνει με το πώς ανταποκρίνονται οι αισθήσεις του στα συστατικά του τροφίμου, είτε αντικειμενικά όταν γίνεται χρήση εργαστηριακών οργάνων και συσκευών με την βοήθεια των οποίων πραγματοποιούνται διάφορες αναλύσεις στα συστατικά του τροφίμου.

Σχετικές με την ποιότητα του τροφίμου έννοιες είναι και ο ποιοτικός έλεγχος (quality control) και η διασφάλιση της ποιότητας (quality assurance)(Μπαλατσούρας Γ.,1995).

5.2 Προσδιοριστικοί Πράγοντες της Ποιότητας

Οι κυριότεροι προσδιοριστικοί παράγοντες της ποιότητας της ελιάς είναι:

- ❑ Το μέγεθος και σε μικρότερο βαθμό το σχήμα του καρπού .
- ❑ Το μέγεθος του πυρήνα.
- ❑ Η σχέση της σάρκας προς τον πυρήνα.
- ❑ Το χρώμα .
- ❑ Η υφή.
- ❑ Τα συστατικά που είναι υπεύθυνα για το άρωμα και την γεύση
- ❑ Η θρεπτική και η βιολογική αξία
- ❑ Τα ελαττώματα .

□ Η νοθεία.(Μπαλατσούρας Γ.,1995))

Αναλυτικά:

Α)Το μέγεθος και το σχήμα του ελαιοκάρπου.

Το μέγεθος του καρπού αξιολογείται με πολύ καλή προσέγγιση μακροσκοπικά, δηλαδή με τα μάτια (υποκειμενικά) και αντικειμενικά μέσω του ζυγίσματος ελιών αντιπροσωπευτικού δείγματος. Το μέγεθος του ελαιοκάρπου είναι ο κύριος προσδιοριστικός παράγοντας ποιότητας και κατά συνέπεια της τιμής της πώλησης , όταν βέβαια συνδυάζεται με υψηλή τιμή της σχέσης σάρκας προς τον πυρήνα που πρέπει να είναι ανώτερη του 5. Ο καταναλωτής θέλει να βλέπει στο τραπέζι του χοντρή επιτραπέζια ελιά και να διαχωρίζει από κάθε ελιά που μασάει πολλή σάρκα και μικρό αναλογικά κουκούτσι (Μπαλατσούρας Γ.,1995)).

Το μέγεθος του καρπού είναι διαφορετικό στις διάφορες ποικιλίες ελιάς με αποτέλεσμα να διαχωρίζονται οι ποικιλίες με βάση αυτό το κριτήριο σε τρεις κατηγορίες: μικρόκαρπες, μεσόκαρπες και μεγαλόκαρπες. Οι τελευταίες ονομάζονται και αδρόκαρπες και ο καρπός τους σχεδόν πάντα χρησιμοποιείται για επιτραπέζια κατανάλωση ανεξάρτητα από τα υπόλοιπα πλεονεκτήματά του λόγω της αδυναμίας του καταναλωτικού κοινού στα μεγάλα μεγέθη επιτραπέζιας ελιάς. Επιτραπέζιες όμως ποικιλίες είναι και πολλές μεσόκαρπες ενώ είναι ελάχιστες οι μικρόκαρπες(Μπαλατσούρας Γ., 1995).

Β)Το μέγεθος του πυρήνα.

Πρόκειται για ένα ποιοτικό χαρακτηριστικό με κριτική σημασία για την επιτραπέζια ελιά που διαχωρίζει τις ποικιλίες σε τρεις κατηγορίες, τις μακροπύρηνες, τις μεσοπύρηνες και τις μικροπύρηνες . Οι πρώτες είναι χωρίς σημασία για την βιομηχανία, ακόμη και αν είναι αδρόκαρπες, οι μεσαίες είναι αποδεκτές εάν είναι μεσόκαρπες ή αδρόκαρπες και οι τελευταίες είναι ιδεώδεις ειδικά αν είναι αδρόκαρπες. Ο πυρήνας θα πρέπει να είναι εξωτερικά λείος με ελάχιστες και αβαθείς γλυφές να αποχωρίζεται εύκολα από την σάρκα .

Ο πυρήνας του ελαιοκάρπου εκτιμάται κατά προσέγγιση μακροσκοπικά και ακριβώς με ζύγισμα σε ζυγό μέσης ακρίβειας (Μπαλατσούρας Γ.,1995).

Γ)Η σχέση σάρκας προς τον πυρήνα .

Είναι ποιοτικό χαρακτηριστικό με κριτική σημασία για τον χαρακτηρισμό μιας ποικιλίας ελιάς ως επιτραπέζιας. Όσο μεγαλύτερη είναι η σχέση τόσο καλύτερος είναι ο ελαιοκάρπος της ποικιλίας για επιτραπέζια κατανάλωση γιατί έτσι αυξάνει το ποσοστό της σάρκας σε βάρος του πυρήνα.

Δ)Η ποιότητα της επιδερμίδας.

Η δομή και η σύσταση της επιδερμίδας είναι χαρακτηριστικό με ιδιαίτερη σημασία για την ποιότητα της επιτραπέζιας ελιάς.

Η επιδερμίδα είναι εκλεκτή όταν είναι λεπτή και ανθεκτική στις αντιξοότητες του περιβάλλοντος όπως είναι οι πρώιμες χαμηλές θερμοκρασίες στο στάδιο της σοδειάς, το αλκαλικό διάλυμα όταν χρησιμοποιείται κατά την επεξεργασία, όταν η θερμοκρασία είναι άνω των 21° C, η άλμη περιέχει αλάτι άνω μιας ορισμένης στάθμης και άλλα. Ποικιλίες ελιάς με χοντρή επιδερμίδα είναι μειονεκτικές, πράγμα που διαπιστώνεται στο στάδιο της μάρησης. Η λεπτότητα και η ανθεκτικότητα της επιδερμίδας εκτιμάται και μακροσκοπικά αλλά και μετά από παρατήρηση στο μικροσκόπιο (Μπαλατσούρας Γ., 1995).

Ε)Το χρώμα

Το χρώμα είναι βασικής σημασίας παράγοντας για την ποιότητα της ελιάς. Στα πρώτα στάδια της επεξεργασίας του ελαιοκάρπου το χρώμα είναι βαθύ πράσινο και μεταπίπτει προοδευτικά σε ανοιχτό πράσινο, κίτρινο-πράσινο, κίτρινο με ρόδινα στίγματα, ρόδινο, ιώδες, μελανό-ιώδες και τελικά μελανό ελαιώδες. Το πράσινο και κίτρινο χρώμα οφείλονται σε λιποδιαλυτές χρωστικές όπως είναι οι χλωροφύλλες, τα καροτένια και άλλες συγγενείς ενώσεις. Ενώ το ρόδινο χρώμα, το ιώδες το μελανό κλπ οφείλονται στις υδατοδιαλυτές ανθοκυάνες(Romani A.και συν,2000).

Το χρώμα με το οποίο το καταναλωτικό κοινό επιζητεί τον κάθε εμπορικό τύπο ελιάς είναι:

- Το βαθύ πράσινο για ελιές πράσινου χρώματος που έχουν εκπικριστεί με άλκαλι αλλά δεν έχουν υποστεί γαλακτική ζύμωση (oliva dolcificata). Στις περιπτώσεις αυτές το χρώμα γίνεται πιο έντονο πράσινο εάν προστεθεί στην άλμη ασκορβικό οξύ (βιταμίνη C).
- Το πράσινο-κίτρινο ως χρυσό-κίτρινο για πράσινες ελιές που έχουν υποστεί πλήρη γαλακτική ζύμωση. Λόγω του όξινου pH αλλά και της δράσης του ενζύμου της χλωροφυλλάσης αποικοδομείται το μόριο της χλωροφύλλης και μετατρέπεται σε φαιοφυτίνη και φορφίβια.

Ταυτόχρονα αποκαλύπτονται τα καροτένια στα οποία οφείλεται το χρυσό-κίτρινο χρώμα το οποίο είναι επιθυμητό στις πράσινες ελιές γαλακτικής ζύμωσης και στις πράσινες ελιές ισπανικού τύπου.

- Το μελανό-ιώδες ή βαθύ μελανό είναι επιθυμητό για τις φυσικά ώριμες ελιές στην άλμη. Οφείλεται σε ανθοκυάνες που συνθέτει ο ελαιόκαρπος στα τελευταία στάδια της εξέλιξης του (Μπαλατσούρας Γ., 1995).

Στ) Η υφή

Η καλή υφή είναι το πρώτο σε σπουδαιότητα χαρακτηριστικό για την ποιότητα της επιτραπέζιας ελιάς αλλά και κάθε φυτικού τροφίμου.

Βρώσιμες ελιές αλλά και κάθε φυτικό τρόφιμο με υποβαθμισμένη (μαλακή) υφή δεν χάνει απλώς σε ποιότητα αλλά αχρηστεύεται τελείως. Συμβαίνει να είναι η ποιότητα της ελιάς τόσο καλύτερη και η τιμή πώλησης της τόσο υψηλότερη όσο μεγαλύτερη είναι η συνεκτικότητα της σάρκας της.

Η υφή των ελιών είναι εξαιρετική ή καλή όταν η συγκομιδή γίνει στο κατάλληλο στάδιο εξέλιξης του καρπού ανάλογα με τον εμπορικό τύπο που ο καρπός θα δώσει μετά την επεξεργασία του και όταν ο ίδιος προστατεύεται από φυσικούς και χημικούς παράγοντες που προκαλούν αποικοδόμηση των συστατικών του (χαμηλές θερμοκρασίες στο στάδιο της σοδειάς, ανάπτυξη οξειδωτικών μικροοργανισμών κλπ).

Η συνεκτική και τραγανή σάρκα προσδιορίζει κατά μεγάλο ποσοστό την ποιότητα όλων των τύπων επιτραπέζιας ελιάς με εξαίρεση τις ελιές ξηρού άλατος. Η συνεκτικότητα της σάρκας εκτιμάται υποκειμενικά μέσω της αφής κατά τη συμπίεση της κόντρα στον πυρήνα με τα δύο δάκτυλα, τον δείκτη και τον αντίχειρα. Αντικειμενικά η υφή στα διάφορα οπωρολαχανικά μετριέται με ειδικά όργανα επινόησης. Όπως είναι ο δοκιμαστής πίεσης Magness –Taylor (Μπαλατσούρας Γ., 1995).

Ζ) Τα γευστικά και οσφρητικά χαρακτηριστικά.

Η γεύση και το άρωμα της επιτραπέζιας ελιάς είναι η συνισταμένη των γεύσεων και των αρωμάτων πολλών συστατικών, ορισμένα από τα οποία προσδιορίζονται με τη χημική ανάλυση, άλλα με τη συσκευή της υγρής-αέριας χρωματογραφίας, της χρωματογραφίας λεπτής στιβάδας κλπ.

Τα σπουδαιότερα συστατικά της σάρκας υπεύθυνα για τη γεύση είναι τα οξέα, κυρίως το γαλακτικό και το οξικό, το αλάτι που περιέχει η σάρκα, η ελεωρωπαΐνη, (πικρή ουσία) ορισμένες πολυφαινόλες με στυφή γεύση και

άλλα συστατικά με λιγότερο ενδιαφέρον όμως. Το αλάτι θα πρέπει να περιέχεται στη σάρκα σε ποσοστό μικρότερο από 8% . Η γεύση της ελιάς είναι καλύτερη όταν το αλάτι κυμαίνεται μεταξύ του 5% και του 6,5%.

Με εξαίρεση τις τεχνικά μαύρες ελιές που πρακτικά στερούνται αρώματος , οι ελιές όλων των άλλων εμπορικών τύπων έχουν ειδικό άρωμα κατά περίπτωση. Ιδιαίτερα οι πράσινες ελιές ισπανικού τύπου συνηθίζεται να μένουν στην άλμη για δύο μήνες μετά την ολοκλήρωση της ζύμωσης γιατί έτσι αποκτούν καλύτερα γευστικά και οσφρητικά χαρακτηριστικά.

Η αξιολόγηση τους γίνεται υποκειμενικά με οργανοληπτικό έλεγχο από ομάδες γευσιγνωστών.

Η) Η θρεπτική και βιολογική αξία.

Θ) Αλλοιώσει και ασθένειες

Ι) Η νοθεία.

Η νοθεία στην επιτραπέζια ελιά δεν είναι εύκολη γιατί το μόνο που μπορεί να γίνει είναι ανάμειξη με ελαιόκαρπο κατώτερης ποικιλία και μια τέτοια νόθευση γίνεται εύκολα αντιληπτή μακροσκοπικά αφού οι διαφορές αφορούν μορφολογικά χαρακτηριστικά, γεύση, άρωμα κλπ (Μπαλατσούρας Γ., 1995).

5.3 Υποκειμενική και Αντικειμενική Αξιολόγηση

Η υποκειμενική μέτρηση ή αξιολόγηση γίνεται με βάση το γεγονός ότι ορισμένα συστατικά του ελαιοκάρπου ή ο ίδιος ο ελαιόκαρπος αποτελούν ερεθίσματα για ορισμένα αισθητήρια όργανα και τα «αισθήματα» έχουν την αρχή τους στις πέντε αισθήσεις, την όραση, την ακοή, την όσφρηση και τη γεύση και την αφή. Καθεμιά έχει το δικό της αισθητήριο όργανο στην περιφέρεια του νευρικού συστήματος το οποίο αντιδρά στο ίδιο κάθε φορά ερέθισμα. Τα ερεθίσματα που προκαλούνται από διάφορα αίτια εκδηλώνονται ως νευρικές διεγέρσεις και μεταβιβάζονται στη φλοιώδη ουσία του εγκεφάλου.

Η αντικειμενική μέτρηση των ποιοτικών χαρακτηριστικών της επιτραπέζιας ελιάς γίνεται με διάφορα όργανα όπως ο ζυγός, το χρωματόμετρο, το pH-μετρο, συσκευή υγρής-αέριας χρωματογραφίας για την μέτρηση των αρωματικών συστατικών, συσκευή υγρής χρωματογραφίας υψηλής

αποτελεσματικότητας για τη μέτρηση των συστατικών με βιολογική αξία και άλλες τεχνικές(Μπαλατσούρας Γ.,1995)

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 6^ο : ΟΡΓΑΝΟΛΗΠΤΙΚΟΣ ΕΛΕΓΧΟΣ

6.1 Γενικά

Η επιστήμη που ασχολείται με τη μελέτη των χαρακτηριστικών των τροφίμων είναι ουσιαστικά μια επιστημονική μέθοδος που χρησιμοποιείται για την μέτρηση, την ανάλυση και την ερμηνεία των ανθρώπινων αντιδράσεων απέναντι σε διάφορα προϊόντα και σχετίζεται με τις πέντε αισθήσεις.

Ο ρόλος της είναι η βελτίωση κάποιων ήδη υπαρχόντων προϊόντων αλλά και η σφυγμομέτρηση της ανταπόκρισης του αγοραστικού κοινού σε νέα προϊόντα που διαθέτουν κάποια καινούρια χαρακτηριστικά.

Φαίνεται λοιπόν πως η ανάλυση των οργανοληπτικών ιδιοτήτων των τροφίμων και ποτών με τη χρήση διαφόρων δοκιμασιών και τη βοήθεια μιας ομάδας δοκιμαστών, αποκτούν όλο και περισσότερο αναπόσπαστο ρόλο στη διαδικασία έρευνας και ανάπτυξης νέων προϊόντων.

Η παραπάνω ιδέα είναι πολύ απλή και στηρίζεται στο ότι οι καταναλωτές δεν πρόκειται να αγοράσουν ξανά ένα προϊόν το οποίο δεν είναι οπτικά ή γευστικά «καλό» , σύμφωνα με την δική τους αντίληψη.

Έτσι η διαφήμιση και το marketing είναι δυνατόν να επηρεάσουν τον καταναλωτή ώστε να αγοράσει για να δοκιμάσει ένα προϊόν, αλλά εάν εκείνο δεν διαθέτει τα απαραίτητα χαρακτηριστικά που ενεργοποιούν τις αισθήσεις μας και επηρεάζουν θετικά την αντίληψή μας όπως είναι η γεύση, η δομή, το χρώμα και διάφορα άλλα, τότε το προϊόν είναι καταδικασμένο να αποτύχει (Moskowitz H., και συν,2004, TRIANGLE SENSORY TEST WITH OREO COOKIES LESSON PLAN 32).

Για την ανάλυση είτε της διαφορετικότητας μεταξύ προϊόντων, είτε των επιμέρους οργανοληπτικών χαρακτηριστικών σε βάθος, είτε της αντίληψης των καταναλωτών υπάρχει μια σειρά από διαφορετικές κατηγορίες δοκιμασιών:

- Δοκιμές διαφορετικότητας
- Περιγραφικές δοκιμές (Descriptive test)

➤ Δοκιμές καταναλωτικής προτίμησης.

Μία από τις πλέον γνωστές δοκιμές διαφορετικότητας είναι η τριγωνική δοκιμή. Η τριγωνική δοκιμή είναι μία δοκιμή που καθορίζει εάν υπάρχει διαφοροποίηση γεύσης, χρώματος, αρώματος ή υφής (ένα χαρακτηριστικό κάθε φορά για κάθε δοκιμή). Πιο συγκεκριμένα, για την πραγματοποίηση της δοκιμής απαιτούνται τρία δείγματα εκ των οποίων τα τρία είναι από το ίδιο προϊόν και το τρίτο από άλλο προϊόν και τα οποία είναι αριθμημένα και από τα οποία ο δοκιμαστής καλείται να επιλέξει το δείγμα που διαφοροποιείται.

Ο αριθμός των δοκιμαστών θα πρέπει να είναι τουλάχιστον 10-15, ενώ θα πρέπει να εξασφαλίζονται οι κατάλληλες συνθήκες ώστε να μην επηρεάζεται ο κάθε δοκιμαστής (δοκιμή σε διαφορετικό χώρο για κάθε άτομο, σε περίπτωση που δοκιμάζεται η διαφοροποίηση ως προς τη γεύση και την υφή θα πρέπει ο φωτισμός να είναι κατάλληλος ώστε να μην παρεμβαίνει η παρατήρηση του χρώματος)

Έτσι μία τριγωνική δοκιμή περιλαμβάνει τα εξής στάδια:

1. Προετοιμασία των τριών δειγμάτων, δύο εκ των οποίων προέρχονται από το ίδιο προϊόν.
2. Τοποθέτηση των δειγμάτων σε ένα τρίγωνο.
3. Επιλογή του δοκιμαστή για το πιο από τα δείγματα είναι διαφορετικό και ποια είναι η διαφορά.
4. Καταγραφή και ανάλυση των αποτελεσμάτων

Σε περίπτωση που η τριγωνική δοκιμή αναδείξει την ύπαρξη διαφορετικότητας τότε θα μπορούσε να πραγματοποιηθεί μία περιγραφική δοκιμή που θα έδινε περισσότερες πληροφορίες για τα χαρακτηριστικά στα οποία το προϊόν διαφοροποιείται (Meilgard, M.και συν ,1999).

B. ΜΕΡΟΣ

ΜΕΘΟΔΟΙ ΚΑΙ ΥΛΙΚΑ

B.1 Δείγματα - Επεξεργασία

Τα δείγματα που χρησιμοποιήθηκαν σε αυτή τη μελέτη προέρχονται από το εργοστάσιο επεξεργασίας επιτραπέζιων ελιών «Αγροτικός Συνεταιρισμός Ροβιών» που βρίσκεται στις Ροβιές Ευβοίας.

Τα δείγματα είναι τρία :

1. Στο δείγμα **277** η διαδικασία της εκπίκρυνσης πραγματοποιήθηκε με διάλυμα **NaOH** (σόδα) και το άλας που χρησιμοποιήθηκε στην άλμη είναι **NaCl**.
2. Στο δείγμα **234** η διαδικασία της εκπίκρυνσης πραγματοποιήθηκε με διάλυμα **KOH** (ποτάσα) και το άλας που χρησιμοποιήθηκε είναι **NaCl**.
3. Στο δείγμα **216** η διαδικασία της εκπίκρυνσης πραγματοποιήθηκε με διάλυμα **KOH** (ποτάσα) και το άλας που χρησιμοποιήθηκε είναι **KCl**.

Η επεξεργασία των δειγμάτων που πραγματοποιήθηκε στο εργοστάσιο ήταν η εξής:

- Στις 12/10/2004 πραγματοποιήθηκε η εκπίκρυνση με το αλκαλι. Για το δείγμα 277 χρησιμοποιήθηκε διάλυμα NaOH με συγκέντρωση 1,5%κ.β. και για τα δείγματα 234 και 216 διάλυμα KOH με συγκέντρωση 2,2%κ.β. Η εκπίκρυνση διήρκεσε περίπου 12-14 ώρες έως ότου το αλκαλικό διάλυμα διαπεράσει περίπου τα $\frac{3}{4}$ της σάρκας του καρπού.
- Στις 13/10/2004 πραγματοποιήθηκε το πρώτο και το δεύτερο ξέπλυμα των δειγμάτων όπου το αλκαλι αντικαταστάθηκε από φρέσκο νερό. Το πρώτο ξέπλυμα διήρκεσε 6 έως 8 ώρες και το δεύτερο 16 έως 18 ώρες. Τα δύο ξεπλύματα διήρκεσαν συνολικά 24 ώρες.
- Στις 14/10/2004 τα δείγματα τοποθετήθηκαν στις άλμες στις οποίες προστέθηκε το αντίστοιχο στερεό άλας μέχρι να μετρηθούν 7,5 βαθμοί της κλίμακας Beaume που αντιστοιχούν σε συγκέντρωση άλατος 6,5%κ.β. για άλμη με NaCl και 7%κ.β. για άλμη με KCl
- Και στις τρεις άλμες προστέθηκε 2‰ γαλακτικό οξύ.

Στον πίνακα που ακολουθεί φαίνονται συνοπτικά τα τρία δείγματα, τα διαφορετικά χημικά μέσα επεξεργασίας τους και οι συγκεντρώσεις τους.

Πίνακας 4.1

α/α Δείγματος	Μέσο εκπίκρυνσης	Συγκέντρωση Άλατος %	Άλας
277	NaOH	6,5	NaCl
234	KOH	6,5	NaCl
216	KOH	7	KCl

B.2 Μικροβιολογική Ανάλυση

B.2 .1 Είδη μικροοργανισμών / Απαραίτητα υλικά και θρεπτικά μέσα

(α) Στα δείγματα άλμης που μελετήθηκαν, έγινε καταμέτρηση των πληθυσμών των ακόλουθων μικροοργανισμών :

- Ολική μεσόφιλη μικροχλωρίδα
- Βακτήρια της οικογένειας *Enterobacteriaceae*
- Βακτήρια του γαλακτικού οξέος
- Ζύμες

(β) Τα θρεπτικά υλικά που χρησιμοποιήθηκαν ως εκλεκτικά για την ανάπτυξη των μικροοργανισμών είναι:

Mac Conkey Agar. Αυτό το θρεπτικό υλικό επιλέγεται για την καταμέτρηση των εντεροβακτηρίων .

Παρασκευάζεται με απευθείας ανάμειξη της αντίστοιχης προτεινόμενης ποσότητας από την κατασκευάστρια εταιρία σε απιονισμένο νερό (50 g σκόνης προσθέτονται σε 1000 ml απιονισμένο νερό) και αποστειρώνεται μετά από ανάδευση στους 121° C για 15 λεπτά. Περιέχει: Χολικά άλατα , λακτόζη, Crystal violet και Neutral red που είναι δείκτης αλλαγής του pH που μας δείχνει εάν οι μικροοργανισμοί αποικοδομούν την λακτόζη και παράγουν οξέα

Plate count Agar. Αυτό το υλικό επιλέγεται για την ανάπτυξη του ολικού μεσόφιλου μικροβιακού φορτίου. Παρασκευάζεται με απευθείας ανάμειξη της αντίστοιχης προτεινόμενης ποσότητας από την κατασκευάστρια εταιρία σε

απιονισμένο νερό (23,5 g σκόνης προσθέτονται σε 1000 ml απιονισμένο νερό) και αποστειρώνεται μετά από ανάδευση στους 121° C για 15 λεπτά .

MRS σε μορφή άγαρ ή ζωμού. Επιλέγεται για την ανάπτυξη βακτηρίων του γαλακτικού οξέος. Αυτό το υλικό παρασκευάζεται με τη ανάμειξη της αντίστοιχης προτεινόμενης ποσότητας από την κατασκευάστρια εταιρία σε απιονισμένο νερό (70g σκόνης προσθέτονται σε 1000ml απιονισμένο νερό) και αποστειρώνεται μετά από ανάδευση στους 121° C για 15 λεπτά.

OGYE Agar. Επιλέγεται για την εκλεκτική ανάπτυξη ζυμών. Το OGYE χρησιμοποιεί την γλυκόζη ως πηγή ενέργειας και συνολικά περιλαμβάνει Yeast extract 5g, Γλυκόζη 10g, Agar 15g και Yeast supplement 2 φιαλίδια (Oxytetracycline 0.05g/10ml H₂O) σε 1000 ml απιονισμένου νερού. Αποστειρώνεται στους 121° C για 15 λεπτά.

Ως αρχικό μέσο για την παραλαβή των μικροοργανισμών από το δείγμα χρησιμοποιείται διάλυμα Ringer's ¼ που είναι ισοτονικό διάλυμα το οποίο παρασκευάζεται με την προσθήκη ενός δισκίου σε 500 ml απιονισμένο νερό και αποστείρωση στους 121° C για 15 λεπτά.

Οι αναερόβιες συνθήκες που είναι απαραίτητες για την ανάπτυξη των λακτοβακίλλων εξασφαλίζονται σε ειδικό θάλαμο αναερόβιων συνθηκών Bactron anaerobic chamber, model 1.5 με ατμόσφαιρα σύστασης : N₂, H₂ 5,2% ,CO₂ 5,0%

B.2.2 Εμβολιασμός/ Επώαση

Για την καταμέτρηση των μικροβιακών πληθυσμών της ολικής μεσόφιλης μικροχλωρίδας, των εντεροβακτηρίων, των βακτηρίων του γαλακτικού οξέος και των ζυμών, χρησιμοποιήθηκε η μέθοδος της επίστρωσης σε τρυβλία, μετά από διαδοχικές δεκαδικές αραιώσεις στο αρχικό δείγμα. Οι δεκαδικές αραιώσεις γίνονται σε διάλυμα Ringer's και για την πρώτη αραιώση (10^{-1}) μεταφέρεται 1ml δείγματος μετά από ομογενοποίηση με ανάδευση σε 9ml Ringer's. Οι επόμενες αραιώσεις πραγματοποιούνται επίσης σε φιαλίδια (MacCartney) με 9ml Ringer's το καθένα, (10^{-2} - 10^{-7}). Στη συνέχεια 0,1 ml από κάθε αραιώση επιστρώνεται με τη βοήθεια ειδικά διαμορφωμένης γυάλινης ράβδου στα τρυβλία με κατάλληλο θρεπτικό υπόστρωμα για την κάθε ομάδα των μικροοργανισμών των οποίων θα γίνει η καταμέτρηση (3 επαναλήψεις). Ακολουθεί επώαση των τρυβλίων στις κατάλληλες συνθήκες και τέλος γίνεται

η καταμέτρηση μεμονωμένων αποικιών και υπολογίζεται ο μικροβιακός πληθυσμός.

Στη συνέχεια τοποθετούμε τα τρυβλία στους θαλάμους επώασης :

- Τα τρυβλία με υπόστρωμα MacConkey Agar που χρησιμοποιούνται για την καταμέτρηση των εντεροβακτηρίων τοποθετούνται για επώαση στους 37° C για 48ώρες.
- Τα τρυβλία με υπόστρωμα Plate count Agar που είναι για τον ολικό μεσόφιλο πληθυσμό τοποθετούνται στους 30° C για 48 ώρες.
- Τα τρυβλία με υπόστρωμα Ogye Agar που είναι για τις ζύμες τοποθετούνται στους 30° C για 48 ώρες.
- Τα τρυβλία με υπόστρωμα MRS Agar που είναι για τα βακτήρια του γαλακτικού οξέος τοποθετούνται για 48 ώρες στους 37° C σε αναερόβιο επωαστικό θάλαμο.

B.2.3 Καταμέτρηση αποικιών

Μετά την πάροδο των 48 ωρών που διαρκεί η επώαση, γίνεται η καταμέτρηση των αποικιών που έχουν αναπτυχθεί. Η καταμέτρηση γίνεται στην αραιώση που παρατηρούνται 50-300 αποικίες σε κάθε τρυβλίο.

α Ολική μεσόφιλη μικροχλωρίδα

Για τον ολικό μεσόφιλο πληθυσμό κάνουμε καταμέτρηση όλων των τύπων των αποικιών που έχουν αναπτυχθεί στις συγκεκριμένες συνθήκες.

β Εντεροβακτήρια

Για τα εντεροβακτήρια καταμετρούμε στα τρυβλία με υλικό Mac Conkey Agar. Ελέγχουμε εάν γύρω από τις αποικίες που αναπτύχθηκαν άλλαξε το χρώμα από σκούρο κόκκινο σε κίτρινο που αποτελεί δείκτη αποικοδόμησης της λακτόζης που είναι ένδειξη ανάπτυξης εντεροβακτηρίων.

Για επιβεβαίωση επιλέγονται τυχαία 3-4 τυπικές αποικίες από κάθε τρυβλίο και ελέγχονται μικροσκοπικά μετά από χρώση Gram. Τα εντεροβακτήρια είναι βάκιλλοι Gram αρνητικοί.

γ Ζύμες

Η καταμέτρηση των ζυμών γίνεται στο Ogye Agar. Οι αποικίες περιγράφονται σύμφωνα με το χρώμα, το μέγεθος, την υφή, το σχήμα κλπ (σχήμα 1). Για την περιγραφή τους απαιτείται παρατήρηση στο στερεοσκόπιο. Για να τις ξεχωρίσουμε από τυχόν βακτήρια που μπορεί να αναπτυχθούν στο θρεπτικό υλικό, ακολουθεί μικροσκοπική παρατήρηση. Τα βακτηριακά κύτταρα είναι πολύ μικρότερα από τα κύτταρα των ζυμών τα οποία είναι ευκαρυωτικά.

δ Λακτοβάκιλλοι

Η καταμέτρηση των πληθυσμών των οξυγαλακτικών βακτηρίων και πιο συγκεκριμένα των λακτοβακίλλων που είναι γνωστό ότι παίρνουν μέρος στη ζύμωση των ελιών, γίνεται μετά από 48 ώρες επώασης των τρυβλίων MRS σε αναερόβιες συνθήκες. Οι αποικίες περιγράφονται σύμφωνα με το μέγεθος, την υφή, το σχήμα, το περίγραμμα της περιφέρειάς τους κλπ. Στη συνέχεια, πριν από την τελική καταμέτρηση των πληθυσμών οι τυπικές αποικίες ελέγχονται ως προς την δοκιμή της καταλάσης και γίνεται μικροσκοπική παρατήρηση μετά από χρώση Gram.

Δοκιμή καταλάσης

Η δοκιμή της παραγωγής καταλάσης είναι μια δοκιμή η οποία αποτελεί πολύ χρήσιμο κριτήριο για τον διαχωρισμό κάποιων ομάδων μικροοργανισμών. Αφού η καταλάση είναι ένα ένζυμο που παράγουν οι περισσότεροι αερόβιοι μικροοργανισμοί για να προστατεύονται από το τοξικό υπεροξείδιο του υδρογόνου. Η καταλάση μετατρέπει το υπεροξείδιο του υδρογόνου σε νερό και οξυγόνο με τη παρακάτω αντίδραση:



Η διαδικασία είναι η εξής:

1. Η αποικία που πρόκειται να εξεταστεί μεταφέρεται πάνω σε μία αντικειμενοφόρο πλάκα με τον βακτηριολογικό κρίκο με ασηπτική τεχνική.
2. Τοποθετούνται 1-2 σταγόνες του διαλύματος υπεροξειδίου του υδρογόνου επάνω στην αποικία
3. Η δοκιμή είναι θετική όταν παρατηρηθεί αφρισμός λόγω της προσθήκης του υπεροξειδίου του υδρογόνου λόγω της απελευθέρωσης του οξυγόνου

Τα βακτήρια του γαλακτικού οξέος και οι λακτοβάκιλλοι είναι αρνητικοί ως προς την καταλάση

Χρώση Gram

Η χρώση Gram είναι μια τεχνική χρώσης η οποία κατηγοριοποιεί τα βακτήρια σε δύο ομάδες, ως προς τον τύπο του κυτταρικού τοιχώματος που διαθέτουν: Τα Gram θετικά και τα Gram αρνητικά.

Η διαδικασία της χρώσης αυτής στηρίζεται στην ικανότητα των μικροοργανισμών να συγκρατούν το ιώδες χρώμα του κρυσταλλικού ιώδους κατά την έκπλυσή τους με αλκοόλη, δηλαδή ενώ τα Gram αρνητικά βακτήρια αποχρωματίζονται με την αλκοόλη τα Gram θετικά δεν αποχρωματίζονται και διατηρούν το ιώδες χρώμα τους. Μετά τον αποχρωματισμό τα κύτταρα υποβάλλονται σε νέα χρώση με σαφρανίνη, η οποία χρωματίζει τα αποχρωματισμένα κύτταρα κόκκινα.

Οι λακτοβάκιλλοι είναι Gram θετικοί βάκιλλοι και γι αυτό θα πρέπει να διατηρούν το ιώδες χρώμα τους μετά το τέλος της χρώσης . Η παρατήρηση τους γίνεται με ελαιοκαταδυτικό φακό.

δ1 Απομόνωση στελεχών του γένους *Lactobacillus*

Μετά από την καταμέτρηση των αποικιών των λακτοβακίλλων γίνεται η καταγραφή των διαφορετικών μορφολογικών χαρακτηριστικών των αποικιών τους και ο μικροσκοπικός έλεγχος για τον εντοπισμό διαφορετικών ειδών λακτοβακίλλων που πιθανά εμφανίζονται στα διαφορετικά στάδια της ζύμωσης.

Για τον σκοπό αυτό γίνεται απομόνωση μίας μεμονωμένης αποικίας από κάθε διαφορετικό τύπο και συνεχείς γραμμικές διασπορές μέχρι να είμαστε σίγουροι ότι πρόκειται για καθαρό στέλεχος. Οι γραμμικές διασπορές γίνονται σε τρυβλία με υπόστρωμα MRS Agar και ακολουθεί επώαση για 48 ώρες στους 37°C σε αναερόβιες συνθήκες. Στην συνέχεια γίνεται δοκιμή για την παρουσία της καταλάσης και μικροσκοπικός έλεγχος.

δ2 Ταυτοποίηση των στελεχών του γένους *Lactobacillus*

Η ταυτοποίηση γίνεται με την βοήθεια των μορφολογικών (σχήμα κυττάρων) και βιοχημικών χαρακτηριστικών του κάθε στελέχους.

Επίσης ελέγχεται ο ομοζυμωτικός και ετεροζυμωτικός χαρακτήρας των στελεχών μετά από καλλιέργειά τους σε υγρό υπόστρωμα MRS. Η δοκιμή αυτή γίνεται σε δοκιμαστικούς σωλήνες που περιέχουν εκτός από το υπόστρωμα και σωληνίσκους Durham. Εάν κάποιο στέλεχος είναι ομοζυμωτικό, τότε ζυμώνοντας την γλυκόζη παράγει κυρίως γαλακτικό οξύ ως προϊόν. Εάν είναι όμως ετεροζυμωτικό τότε παράγει CO₂ το οποίο δεσμεύεται στον σωληνίσκο Durham, υπό μορφή φουσαλίδων. Το γένος *Lactobacillus* διαθέτει τόσο ομοζυμωτικά όσο και ετεροζυμωτικά είδη. Επίσης το γένος *Leuconostoc*, το οποίο αναφέρεται βιβλιογραφικά ότι παίρνει μέρος στην ζύμωση των ελιών είναι αποκλειστικά ετεροζυμωτικό.

Η βιοχημική ταυτοποίηση των διαφορετικών στελεχών έγινε με τη μέθοδο Api 50CH (BIOMERIEUX) σύμφωνα με τις οδηγίες της κατασκευάστριας εταιρείας. Τα strips του Api περιέχουν 50 διαφορετικές δοκιμές, μετά από την ανάγνωση των οποίων διαμορφώνεται ένα συγκεκριμένο βιοχημικό προφίλ για κάθε στέλεχος.

Για τον έλεγχο API απαιτείται καλλιέργεια σε υπόστρωμα MRS agar, η οποία ελέγχεται πρώτα για την καθαρότητά της. Στην συνέχεια από τα κύτταρα της καλλιέργειας αυτής, παρασκευάζεται αιώρημα κυττάρων σε υλικό API 50CHL. Το αιώρημα αυτό απαιτείται να παρουσιάζει θολερότητα ίση με 2 της κλίμακας McFarland, έτσι ώστε να αντιστοιχεί πάντα σε συγκεκριμένο και σταθερό εμβόλιο ($6 \cdot 10^8$ cfu/ml).

Μετά τον εμβολιασμό των διαφορετικών κυπελλίων του συστήματος API ακολουθεί επώαση σε αναερόβιες συνθήκες στους 37° C για 48 ώρες.

Η επεξεργασία των αποτελεσμάτων γίνεται με την βοήθεια του αντίστοιχου λογισμικού ταυτοποίησης (APILAB PLUS v 3.3.3 REF 34 000 Biomerieux® SA, Marcy-l'Etoile/ France)

Το σύστημα API 50CH επιτρέπει τον χαρακτηρισμό των στελεχών με βάση τον μεταβολισμό τους σε ένα μεγάλο εύρος υποστρωμάτων και γι αυτό αποτελεί πολύ σημαντικό και εύχρηστο εργαλείο ταυτοποίησης και γενικά η μέθοδος θεωρείται πολύ αξιόπιστη.

Στους περιορισμούς της μεθόδου θα πρέπει να αναφερθεί ο περιορισμός που υπάρχει στην ταυτοποίηση των ειδών που περιλαμβάνονται στη βάση δεδομένων και συνεπώς δεν μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την ταυτοποίηση άλλους οργανισμούς ούτε για να αποκλείσει την παρουσία τους.

δ3 Φύλαξη των στελεχών του γένους *Lactobacillus*

Τα στελέχη των λακτοβακίλλων που απομονώνονται και ταυτοποιούνται, μεταφέρονται σε ειδικές συνθήκες στην υπερκατάψυξη (-80°C), έτσι ώστε να παραμείνουν σταθερά τα χαρακτηριστικά τους. Για τον σκοπό αυτό γίνονται υγρές καλλιέργειες σε υπόστρωμα MRS και μετά από επώαση στις κατάλληλες συνθήκες, δημιουργείται αιώρημα της καλλιέργειας σε γλυκερόλη 30%. Μεταφέρεται ποσότητα της καλλιέργειας (900μl) σε φιαλίδιο errendorf και προστίθεται αποστειρωμένη γλυκερόλη (400 μl). Γίνεται πολύ προσεκτική ανάδευση με αυτόματη πιπέτα και στην συνέχεια το φιαλίδιο φυλάσσεται στην υπερκατάψυξη, με τα κύτταρα προφυλαγμένα στο διάλυμα γλυκερόλης

B.3 Στατιστική επεξεργασία

Για την στατιστική επεξεργασία των αποτελεσμάτων έγινε μετασχηματισμός του πληθυσμού που καταμετρήθηκε με την μέθοδο των βιώσιμων αναπαραγωγικών μονάδων (colony forming units:cfu), σε $\log_{10}(\text{cfu})$. Στη συνέχεια έγινε έλεγχος της υπόθεσης $H_0: \mu_{277}=\mu_{234}=\mu_{216}$ έναντι της υπόθεσης $H_1: \mu_{277}\neq\mu_{234}\neq\mu_{216}$ για την κάθε ομάδα ή είδος μικροοργανισμών που μελετήθηκε, χρησιμοποιώντας το one way repeated measures analysis of variance (R-MANOVA) σε επίπεδο σημαντικότητας 0,05. Η στατιστική επεξεργασία πραγματοποιήθηκε στις μετρήσεις που πραγματοποιήθηκαν μετά την 3^η δειγματοληψία αφού οι 3 πρώτες τιμές θεωρήθηκαν ότι ανήκουν σε μια φάση προσαρμογής των μικροοργανισμών. Στις περιπτώσεις που παρατηρήθηκαν σημαντικές διαφορές ($p_{\text{value}} < 0,05$), οι ανά ζεύγη συγκρίσεις πραγματοποιήθηκαν με το Tukey's test. Χρησιμοποιήθηκαν τα πακέτα Microsoft Excel και Sigma Stat 2.03 for Windows.

B.4 Οργανοληπτικός έλεγχος

Ο έλεγχος των οργανοληπτικών χαρακτηριστικών του τελικού προϊόντος πραγματοποιήθηκε στις ελιές του 13^{ου} δείγματος, όπου θεωρήθηκε από τον Συνεταιρισμό ότι έχει φθάσει σε ωρίμανση η διαδικασία της ζύμωσης και ο ελιές είναι εμπορεύσιμες. Ο έλεγχος έγινε με τη χρήση ενός Τριγωνικού τεστ (Triangle Test).

Με δεδομένη την ύπαρξη τριών διαφορετικών δειγμάτων πραγματοποιήθηκαν τρία τριγωνικά τεστ όπου στο καθένα τοποθετήθηκαν μπροστά στους δοκιμαστές τρία πιάτα: τα δύο περιείχαν ελιές από το ίδιο δείγμα και το ένα πιάτο περιείχε ελιές από διαφορετικό δείγμα. Οι δοκιμαστές κλήθηκαν να δοκιμάσουν από τα τρία πιάτα ξεκινώντας από αριστερά προς τα δεξιά και να αναγνωρίσουν ποιο είναι το διαφορετικό δείγμα. Επίσης τους ζητήθηκε να περιγράψουν ποια χαρακτηριστικά του δείγματος το έκαναν να ξεχωρίσει. Ο οργανοληπτικός έλεγχος πραγματοποιήθηκε σε ειδικά διαμορφωμένο χώρο με περιορισμένο φωτισμό ώστε η κρίση των δοκιμαστών να μην επηρεάζεται από την εμφάνιση των ελιών και να επικεντρωθούν στη γεύση τους.

Στον παρακάτω πίνακα φαίνονται τα δείγματα του κάθε τριγωνικού τεστ με τη σειρά εμφάνισης τους στους δοκιμαστές και τον αριθμό των ατόμων που πήραν μέρος στη κάθε δοκιμασία.

<u>α/α Tringle</u> <u>Test</u>	<u>1^ο Δείγμα</u> A	<u>2^ο Δείγμα</u> B	<u>3^ο Δείγμα</u> Γ	<u>Αριθμός</u> <u>Δοκιμαστών</u>
1	277	234	277	15
2	216	277	277	15
3	234	216	234	18

Εφόσον στο τριγωνικό τεστ ο βασικός στόχος είναι να εξακριβωθεί εάν υπάρχει ανιχνεύσιμη διαφορά ανάμεσα σε δύο δείγματα, τη μεγαλύτερη σημασία για την στατιστική ανάλυση θεωρούμε πως την έχει το επίπεδο σημαντικότητας που συμβολίζεται με α , ονομάζεται σφάλμα Τύπου 1 και αντιστοιχεί στη μέγιστη πιθανότητα να συμπεράνουμε ότι ανάμεσα στα

δείγματα υπάρχει σημαντική διαφορά όταν στην πραγματικότητα δεν υπάρχει. Ο αριθμός των δοκιμαστών καθορίζεται από τον πίνακα του α και λαμβάνοντας υπόψη κάποιες παραμέτρους που αφορούν την ποσότητα των δειγμάτων και την διαθεσιμότητα δοκιμαστών κ.α. Η πιθανότητα να διαπράξουμε σφάλμα Τύπου 2, το οποίο συμβολίζεται με β και αντιστοιχεί στην πιθανότητα να συμπεράνουμε πως δεν υπάρχει σημαντική διαφορά ανάμεσα στα δείγματα ενώ υπάρχει. Στα τεστ διαφορετικότητας θεωρούμε πως το β καθώς και ο λόγος των δοκιμαστών θεωρείται ότι δεν έχουν ιδιαίτερη σημασία και γι αυτό επιλέγουμε μια μικρή τιμή για το α και αυθαίρετα αποδεχόμαστε μεγάλες τιμές για το β και το p_d ώστε να διατηρηθεί ο αριθμός των δοκιμαστών μέσα σε λογικά πλαίσια.

Για την ερμηνεία των αποτελεσμάτων χρησιμοποιήσαμε τον πίνακα 2 από το βιβλίο *Sensory evaluation techniques* (3rd ed.) (Meilgard, M. *et al.* CRC Press, New York, 1999) έχοντας ορίσει επίπεδο σημαντικότητας $\alpha=0,05$ που υποδηλώνει πως η διαφορά ανάμεσα στα δύο δείγματα είναι στατιστικά σημαντική.

Γ ΜΕΡΟΣ

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Γ.1 Καταμέτρηση του pH στην άλμη

Στον Πίνακα που ακολουθεί παρουσιάζεται η διακύμανση της τιμής του pH κατά την διάρκεια της ζυμωτικής διαδικασίας.

<i>t [ημέρες]</i>	<i>pH δείγματος 277</i>	<i>pH δείγματος 234</i>	<i>pH δείγματος 216</i>
8	6,71	4,65	5,99
13	4,43	4,32	5,22
20	4,9	4,9	6,14
27	4,67	4,80	5,12
33	4,17	4,48	4,58
41	4,09	4,45	4,58
50	4,08	4,29	4,36
61	4,06	4,39	4,41
93	3,93	4,30	4,31
105	3,95	4,25	4,24
119	4,01	4,29	4,40
142	4,11	4,21	4,30
173	3,96	4,16	4,29

Η πτώση του pH σε τιμές κοντά στο 4 είναι ένδειξη πως η ζύμωση ολοκληρώθηκε. Παρατηρούμε ότι για το δείγμα 277 η τιμή αυτή έχει ήδη επιτευχθεί από την 8^η-9^η δειγματοληψία, δηλαδή από την 61^η ημέρα της ζύμωσης. Αντίθετα στα υπόλοιπα δύο δείγματα μέχρι και την τελευταία δειγματοληψία δεν έφθασε σε τόσο χαμηλές τιμές, ενώ φαίνεται να σταθεροποιείται και εδώ ήδη από την 7^η περίπου δειγματοληψία (50^η ημέρα).

Γ.2 Καταμετρήσεις μικροβιακών πληθυσμών στην άλμη

Η πρώτη δειγματοληψία έγινε στις 22/10/2004, δηλαδή 8 ημέρες αφότου οι ελιές είχαν τοποθετηθεί στην άλμη. Αυτό σημαίνει πως η ζύμωση είχε ήδη ξεκινήσει και οι πληθυσμοί είχαν αρχίσει να αυξάνονται. Η τελευταία δειγματοληψία έγινε στις 04/04/2005. Αρχικά ήταν απαραίτητο να έχουμε δείγμα κάθε βδομάδα γιατί οι αλλαγές στους μικροβιακούς πληθυσμούς ήταν μεγάλες και η ζύμωση εξελισσόταν με ραγδαίο ρυθμό. Από την στιγμή που παρατηρήθηκε σταθεροποίηση των μικροβιακών πληθυσμών οι

δειγματοληψίες πραγματοποιούνταν σε πιο αραιά χρονικά διαστήματα, αρχικά κάθε δύο εβδομάδες και στη συνέχεια κάθε μήνα.

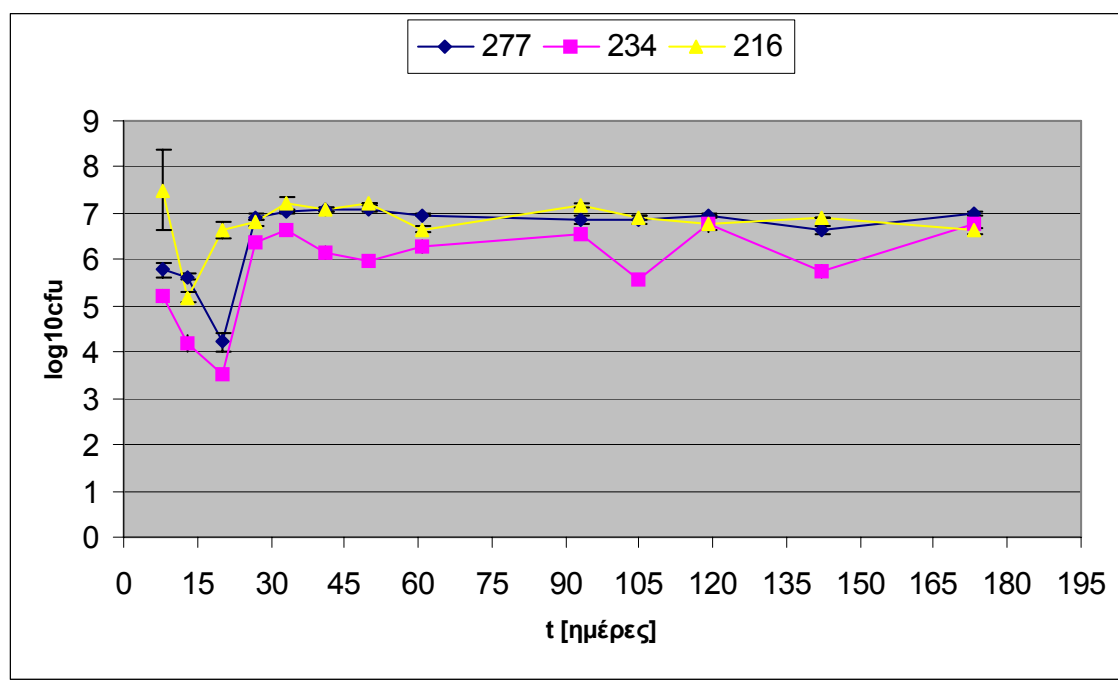
Γ.2.2 Καταμέτρηση της ολικής μεσόφιλης μικροχλωρίδας στην άλμη

Στο διάγραμμα που ακολουθεί παρουσιάζονται οι πληθυσμοί της μεσόφιλης μικροχλωρίδας στα τρία διαφορετικά δείγματα.

Παρατηρούμε ότι το δείγμα 277 (εμπορικό προϊόν, NaOH+NaCl) παρουσιάζει μείωση του πληθυσμού μεταξύ της 1^{ης} και της 4^{ης} δειγματοληψίας. Από την 4^η δειγματοληψία και μετά δηλαδή από την 27^η ημέρα της ζυμωτικής διαδικασίας παρατηρείται σταθεροποίηση του μεσόφιλου μικροβιακού φορτίου.

Το δείγμα 234 (NaOH+KCl) παρουσιάζει αντίστοιχη πορεία, φαίνεται όμως ότι το μεσόφιλο μικροβιακό φορτίο εμφανίζει μεγαλύτερες διακυμάνσεις.

Το δείγμα 216 (ΚΟΗ+ΚCl) διαθέτει από την αρχή των μετρήσεων υψηλότερες τιμές μεσόφιλου μικροβιακού πληθυσμού και φαίνεται ότι σταθεροποιείται ήδη από την 3^η δειγματοληψία, δηλαδή κατά την 20^η ημέρα της ζυμωτικής διαδικασίας.



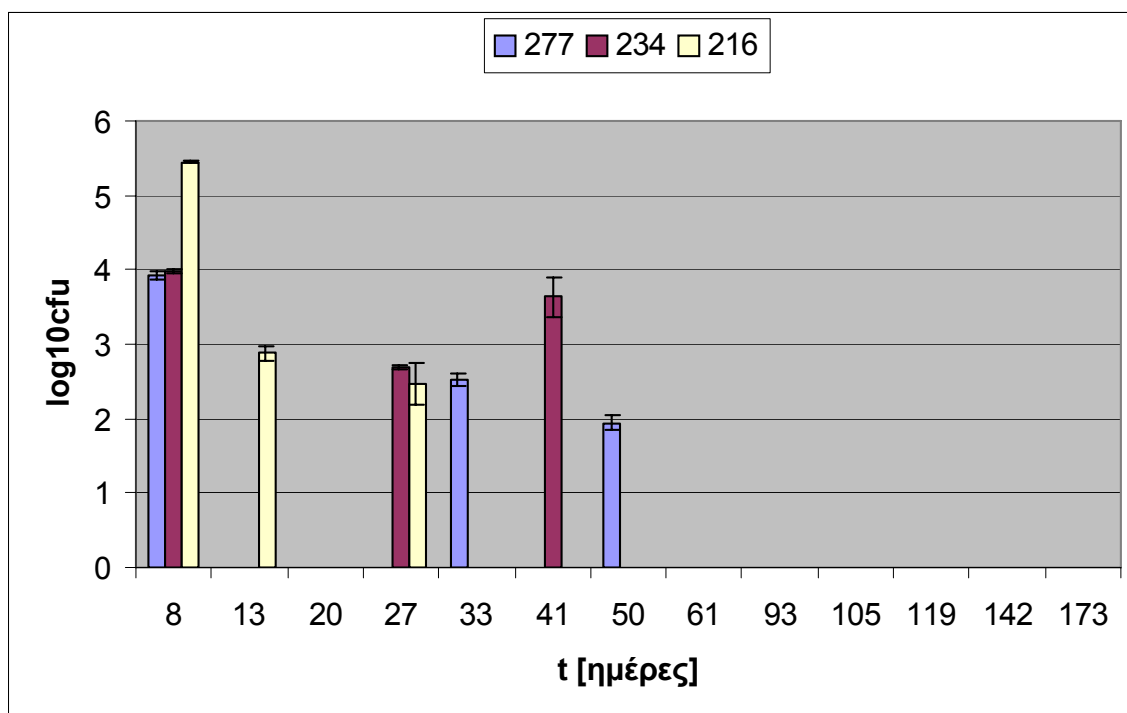
Παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές ($p_{\text{value}} < 0.001$) ανάμεσα στους μέσους όρους των πληθυσμών των τριών δειγμάτων. Οι ανά ζεύγη συγκρίσεις με το Tukey test έδωσαν τα εξής αποτελέσματα:

Δείγματα που συγκρίνονται	Υπαρξη διαφοράς
277, 216	ΟΧΙ $p_{value}=1,000$
234, 216	ΝΑΙ $p_{value}<0,001$
277, 234	ΝΑΙ $p_{value}<0,001$

Δηλαδή συγκρίνοντας τα τρία δείγματα μεταξύ τους βλέπουμε πως από την φάση σταθεροποίησης, δηλαδή μετά από την 20^η ημέρα της ζυμωτικής διαδικασίας, οι πληθυσμοί δεν παρουσίαζαν διαφορές ανάμεσα στα δείγματα 277 και 216 ενώ ο πληθυσμός των βακτηρίων στο δείγμα 234 ήταν σημαντικά μικρότερος από τον αντίστοιχο στο δείγμα 277 αλλά και από εκείνο του δείγματος 216.

Γ.2.3 Καταμέτρηση των εντεροβακτηρίων στην άλμη

Στο διάγραμμα που ακολουθεί παρουσιάζονται οι πληθυσμοί των ολικών εντεροβακτηρίων που καταμετρήθηκαν στα τρία δείγματα κατά την διάρκεια της διαδικασίας. Παρατηρούμε ότι η παρουσία τους δεν ήταν συνεχής στην πορεία του χρόνου, ενώ οι μεγαλύτερες τιμές παρατηρήθηκαν στην 1^η δειγματοληψία στο δείγμα 216.

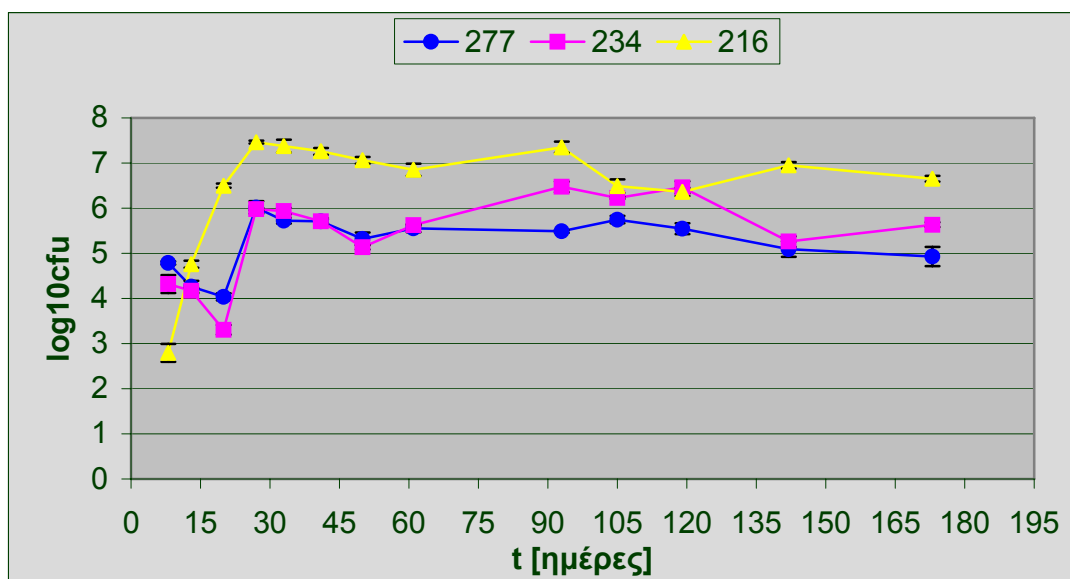


Δεν πραγματοποιήθηκε στατιστική ανάλυση για τα εντεροβακτήρια γιατί, όπως φαίνεται και από το διάγραμμα, εμφανίζονταν σποραδικά και στα τρία δείγματα.

Γ.2.4 Καταμέτρηση των ζυμών στην άλμη

Στο διάγραμμα που ακολουθεί παρουσιάζονται οι πληθυσμοί των ζυμών στα τρία δείγματα.

Παρατηρούμε ότι ενώ οι πληθυσμοί των δειγμάτων 277 και 234 ακολουθούν αντίστοιχη πορεία, δηλαδή το πρώτο διάστημα μέχρι την 20^η ημέρα παρουσιάζεται πτώση στον αρχικό πληθυσμό τους και μετά φαίνεται ότι σταθεροποιείται, το δείγμα 216 διαφοροποιείται. Ο πληθυσμός των ζυμών στο δείγμα αυτό, αυξάνεται μέχρι την 27^η ημέρα και στη συνέχεια εισέρχεται στη φάση της σταθεροποίησης



Παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές ($p_{\text{value}} < 0.001$) ανάμεσα στους μέσους όρους των πληθυσμών των τριών δειγμάτων. Οι ανά ζεύγη συγκρίσεις με το Tukey test έδωσαν τα εξής αποτελέσματα:

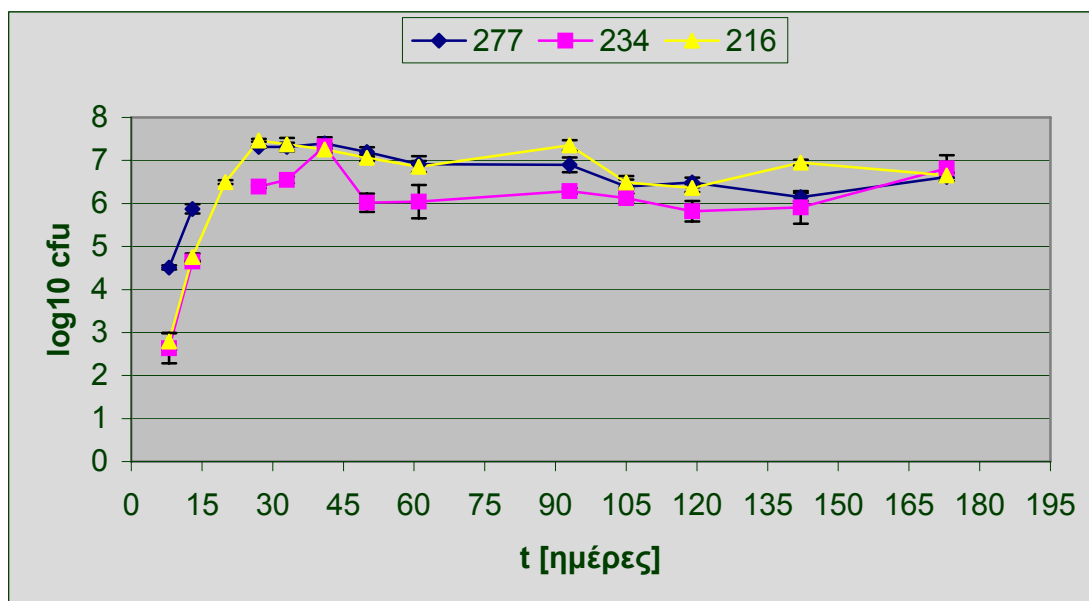
Δείγματα που συγκρίνονται	Υπαρξη διαφοράς
277, 216	ΝΑΙ $p_{\text{value}} = < 0,001$
234, 216	ΝΑΙ $p_{\text{value}} = < 0,001$
277, 234	ΟΧΙ $p_{\text{value}} = 0,117$

Δηλαδή συγκρίνοντας τα δείγματα μεταξύ τους βλέπουμε πως από την φάση σταθεροποίησης, δηλαδή μετά από την 20^η ημέρα της ζύμωσης, οι πληθυσμοί δεν παρουσίαζαν διαφορές ανάμεσα στα δείγματα 277 και 234 ενώ ο πληθυσμός των ζυμών στο δείγμα 216 ήταν σημαντικά μεγαλύτερος από τον αντίστοιχο στο δείγμα 277 αλλά και από εκείνο του δείγματος 234.

Γ.2.5 Καταμέτρηση των οξυγαλακτικών βακτηρίων στην άλμη

Στο διάγραμμα που ακολουθεί παρουσιάζονται οι πληθυσμοί των οξυγαλακτικών βακτηρίων στα τρία δείγματα.

Παρατηρούμε ότι οι πληθυσμοί όλων των δειγμάτων ακολουθούν αντίστοιχη πορεία, δηλαδή παρουσιάζουν συνεχή αύξηση μέχρι την 27^η ημέρα και μετά σταθεροποιούνται, σε διαφορετικά επίπεδα για το κάθε δείγμα.

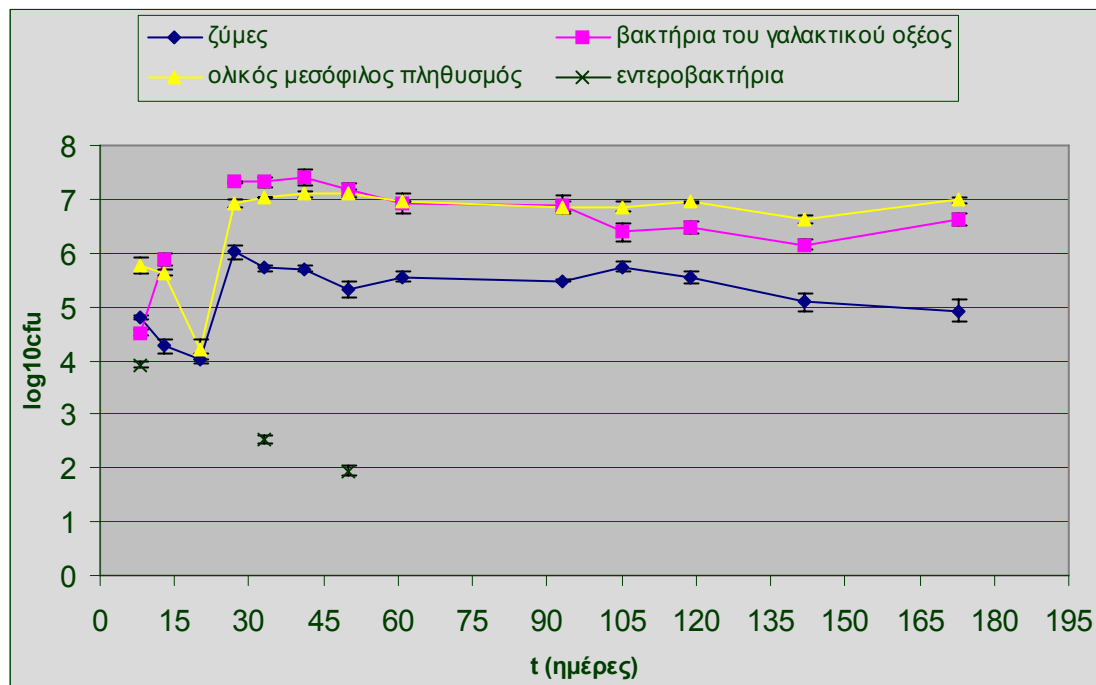


Παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές ($p_{\text{value}} < 0.001$) ανάμεσα στους μέσους όρους των πληθυσμών των τριών δειγμάτων. Οι ανά ζεύγη συγκρίσεις με το Tukey test έδωσαν τα εξής αποτελέσματα:

Δείγματα που συγκρίνονται	Υπαρξη διαφοράς
277, 216	ΟΧΙ $p_{\text{value}}=0,655$
234, 216	ΝΑΙ $p_{\text{value}}=<0,001$
277, 234	ΝΑΙ $p_{\text{value}}=0,002$

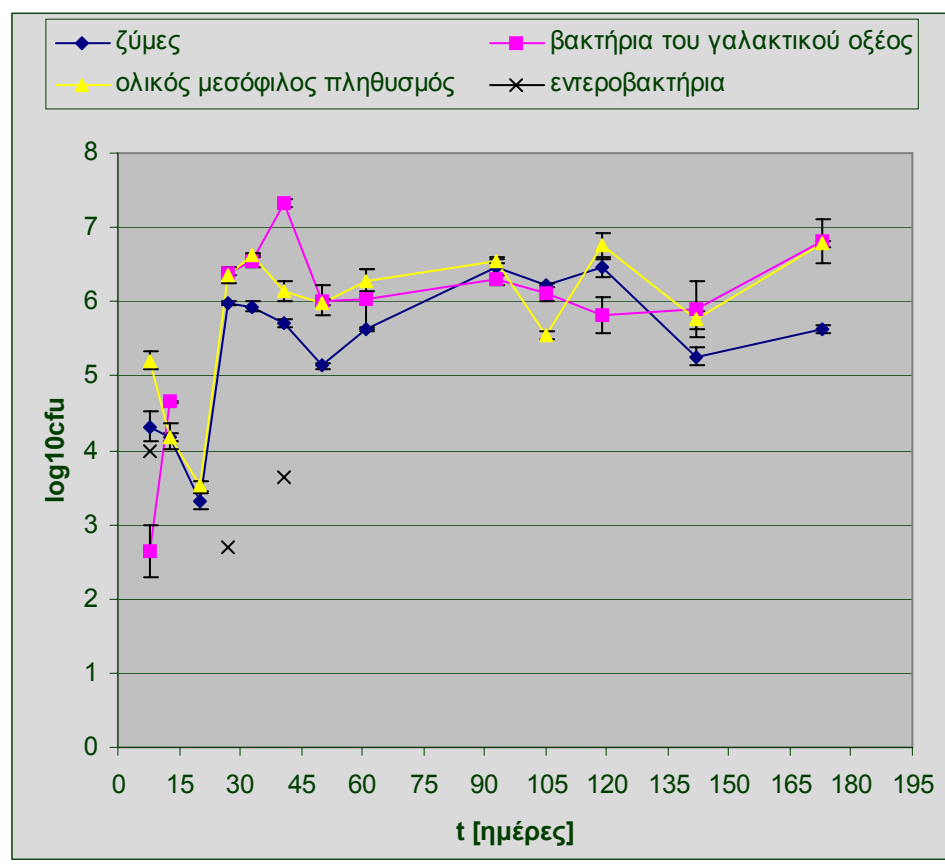
Συγκρίνοντας τα επίπεδα των πληθυσμών παρατηρούμε ότι στα δύο δείγματα 216 και 277, τα επίπεδα των οξυγαλακτικών βακτηρίων δεν εμφανίζουν διαφορές, παρά την διαφορετική επεξεργασία, ενώ στο δείγμα 234 (NaOH+KCl) ο πληθυσμός των οξυγαλακτικών βακτηρίων είναι στατιστικά σημαντικά μικρότερος.

Γ.2.6 Διακύμανση των μικροβιακών πληθυσμών στο δείγμα 277



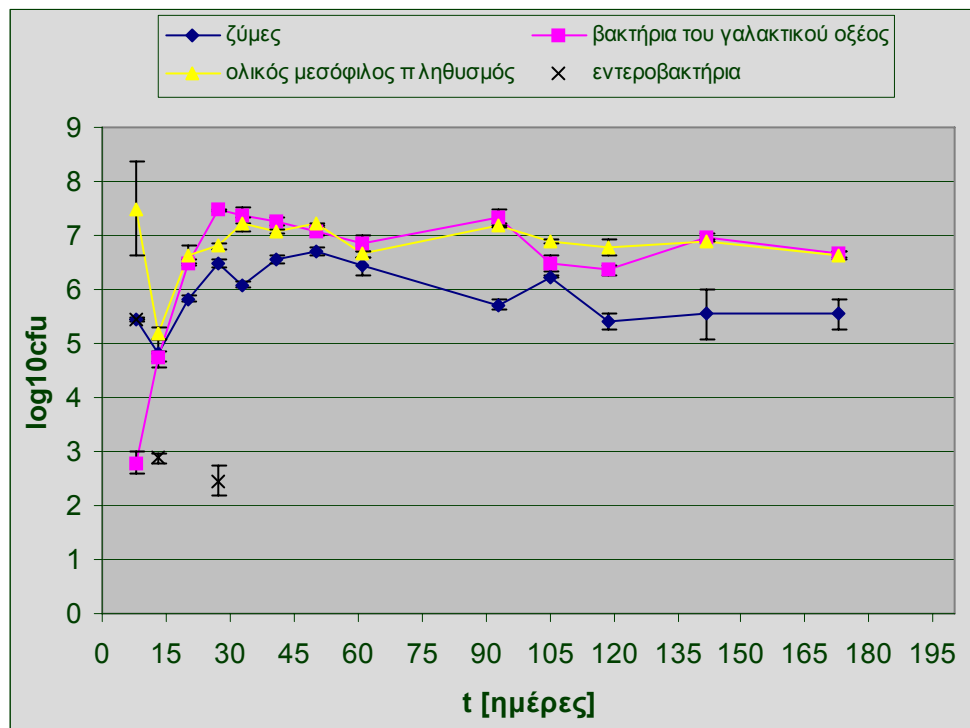
Παρατηρούμε ότι τα εντεροβακτήρια εμφανίζονται στην πρώτη δειγματοληψία και μετά μόνο σποραδικά. Οι ζύμες παρουσιάζουν πτωτική τάση μέχρι την 20^η ημέρα και μετά ανοδική τάση, γεγονός που φαίνεται ότι ακολουθείται και από την μεσόφιλη ολική μικροχλωρίδα. Τα οξυγαλακτικά βακτήρια αυξάνουν τον πληθυσμό τους μέχρι την 27^η ημέρα και στη συνέχεια παρατηρείται μικρή πτώση και διατήρηση των επιπέδων αυτών μέχρι την τελευταία δειγματοληψία. Πιθανότατα στην 3^η δειγματοληψία κάποιο πειραματικό σφάλμα συνέβη και δεν έγινε δυνατή η καταμέτρηση των οξυγαλακτικών βακτηρίων.

Γ.2.7 Διακύμανση των μικροβιακών πληθυσμών στο δείγμα 234



Παρατηρούμε ότι τα εντεροβακτήρια εμφανίζονται στην πρώτη δειγματοληψία και μετά μόνο σποραδικά. Οι ζύμες παρουσιάζουν πτωτική τάση μέχρι την 20^η ημέρα και μετά ανοδική τάση, γεγονός που φαίνεται ότι ακολουθείται και από την μεσόφιλη ολική μικροχλωρίδα. Τα οξυγαλακτικά βακτήρια αυξάνουν τον πληθυσμό τους μέχρι την 41^η ημέρα και στη συνέχεια παρατηρείται μικρή πτώση και διατήρηση των επιπέδων αυτών μέχρι την τελευταία δειγματοληψία. Πιθανότατα στην 3^η δειγματοληψία κάποιο πειραματικό σφάλμα συνέβη και δε έγινε δυνατή η καταμέτρηση των οξυγαλακτικών βακτηρίων.

Γ.2.8 Διακύμανση των μικροβιακών πληθυσμών στο δείγμα 216



Παρατηρούμε ότι τα εντεροβακτήρια εμφανίζονται στην πρώτη δειγματοληψία και μετά μόνο σποραδικά. Οι ζύμες, που στη πρώτη δειγματοληψία ο πληθυσμός τους έχει ακριβώς την ίδια τιμή με τα εντεροβακτήρια, παρουσιάζουν πτωτική τάση μέχρι την 13^η ημέρα και μετά ανοδική τάση, γεγονός που φαίνεται ότι ακολουθείται και από την μεσόφιλη ολική μικροχλωρίδα. Τα οξυγαλακτικά βακτήρια αυξάνουν τον πληθυσμό τους μέχρι την 27^η ημέρα και στη συνέχεια παρατηρείται μικρή πτώση και διατήρηση των επιπέδων αυτών μέχρι την τελευταία δειγματοληψία.

Γ.3 Απομόνωση και ταυτοποίηση στελεχών οξυγαλακτικών βακτηρίων

Σε κάθε δειγματοληψία μετά από την καταμέτρηση των οξυγαλακτικών βακτηρίων γινόταν καταγραφή και μορφολογική παρατήρηση των αποικιών τους. Οι διαφορετικού τύπου αποικίες απομονώθηκαν και έγινε ταυτοποίηση των στελεχών με βάση τα μορφολογικά χαρακτηριστικά τους (σχήμα και

μέγεθος κυττάρων), αλλά και το βιοχημικό τους προφίλ, το οποίο μελετήθηκε με το σύστημα API 50CH (BIOMERIEUX).

Από τη μελέτη των μορφολογικών τους χαρακτηριστικών προέκυψαν πέντε διαφορετικοί τύποι βακίλλων (L1, L2, L3, L4, L5):

- Τα αποτελέσματα σε σχέση με την μορφολογία των αποικιών και την αντίστοιχη των κυττάρων τους ακολουθούν:
- **L1:** Το χρώμα της αποικίας είναι υπόλευκο, έχει στρογγυλή επιφάνεια και λίγο ακανόνιστη αλλά σχεδόν στρογγυλή περιφέρεια.
- **L2:** Το χρώμα της αποικίας είναι μπεζ, έχει γλοιώδη υφή και είναι επίπεδη.
- **L3:** Το χρώμα της αποικίας είναι λευκό, έχει ακανόνιστα άκρα και είναι κυρτή.
- **L4:** Το χρώμα της αποικίας είναι λευκό, είναι στρογγυλή και λεία και έχει σχήμα σταγονιδίου
- **L5:** Το χρώμα είναι υπόλευκο και είναι διάστικτη.

Η μορφολογία των κυττάρων των διαφορετικών στελεχών είναι η εξής:

L1: Κανονικοί βάκιλλοι που σχηματίζουν γωνίες

L2: Συνδυασμός κοντών και κανονικών βακίλλων

L3: Κανονικοί και σχετικά λεπτοί βάκιλλοι

L4: Η πλειοψηφία είναι κανονικοί βάκιλλοι και υπάρχουν και κάποιοι πιο κοντοί βάκιλλοι που μοιάζουν με κόκκους

L5: Βάκιλλοι πολύ μακριοί και λεπτοί

Τα στελέχη αυτά στην συνέχεια ταυτοποιήθηκαν με το σύστημα API 50CH και τα αποτελέσματα ακολουθούν:

L1: *Lactobacillus pentosus* (Very good indentification)

L2: *Lactobacillus pentosus* (Excellent indentification)

L3: *Lactobacillus pentosus* (Excellent indentification) ή *Lactobacillus plantarum* (Good indentification)

L4: *Lactobacillus pentosus* (Doubtful profile) ή *Lactobacillus brevis* (Doubtful profile) *Lactobacillus plantarum* ή (Doubtful profile)

L5: *Leuconostoc lactis lactis* (Good indentification)

Από τα στελέχη αυτά, το L4 ανιχνεύτηκε και στα τρία δείγματα και σε όλες τις φάσεις της ζυμωτικής διαδικασίας. Μετά από την 8^η δειγματοληψία, ήταν ο μοναδικός τύπος οξυγαλακτικού βακτηρίου που ανιχνευόταν.

Το στέλεχος L5 ανιχνεύτηκε μόνο κατά την πρώτη δειγματοληψία και παρουσιάστηκε μόνο στο δείγμα 277.

Το στέλεχος L2 εμφανίστηκε μόνο στην 2^η δειγματοληψία και στα τρία δείγματα.

Το στέλεχος L3 ανιχνεύτηκε μόνο στο δείγμα 216 κατά την 1^η δειγματοληψία, στη συνέχεια δεν εντοπίστηκε και εμφανίστηκε ξανά στην 7^η δειγματοληψία.

Το στέλεχος L1 ανιχνεύτηκε μόνο στο δείγμα 216 κατά την 3^η, 5^η, 6^η και 7^η δειγματοληψία.

Γ.4 Αποτελέσματα Οργανοληπτικού ελέγχου

Ο έλεγχος των οργανοληπτικών χαρακτηριστικών του τελικού προϊόντος έγινε με την πραγματοποίηση μίας τριγωνικής δοκιμής ώστε να εξακριβωθεί εάν υπάρχει ανιχνεύσιμη διαφορά ανάμεσα στα δείγματα όσον αφορά στη γεύση.

Στους πίνακες που ακολουθούν παρουσιάζονται τα αποτελέσματα για κάθε δοκιμή, δηλαδή ο αριθμός των ατόμων που θεώρησαν ότι το Α ή το Β ή το Γ δείγμα ως διαφορετικό

Αποτελέσματα τριγωνικής δοκιμής με συνδυασμό (Α=277,Β=234,Γ=277)

<i>Triangle test</i>	Αριθμός ατόμων που απάντησαν A	Αριθμός ατόμων που απάντησαν B	Αριθμός ατόμων που απάντησαν Γ	Συνολικός αριθμός ατόμων
A=277 B=234 Γ=277	2	7	6	15

Σύμφωνα με τον πίνακα 2 που χρησιμοποιήσαμε για την ανάλυση των αποτελεσμάτων και με δεδομένο το επίπεδο σημαντικότητας $\alpha=0,05$ και τον

αριθμό των δοκιμαστών (15 άτομα) θα έπρεπε τουλάχιστον τα 9 άτομα από τα 15 να είχαν βρει το διαφορετικό δείγμα ώστε να υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά ανάμεσα στα δύο δείγματα. Άρα εφόσον 7 άτομα το βρήκαν, το δείγμα δεν ξεχώρισε σε επίπεδο σημαντικότητας 0,05.

Αποτελέσματα τριγωνικής δοκιμής με συνδυασμό (A=216,B=277,Γ=277)

Triangle test	Αριθμός ατόμων που απάντησαν A	Αριθμός ατόμων που απάντησαν B	Αριθμός ατόμων που απάντησαν Γ	Συνολικός αριθμός ατόμων
A=216 B=277 Γ=277	10	4	1	15

Σύμφωνα με τον πίνακα 2 που χρησιμοποιήσαμε για την ανάλυση των αποτελεσμάτων και με δεδομένο το επίπεδο σημαντικότητας $\alpha=0,05$ και τον αριθμό των δοκιμαστών (15 άτομα) θα έπρεπε τουλάχιστον τα 9 άτομα από τα 15 να είχαν βρει το διαφορετικό δείγμα ώστε να υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά ανάμεσα στα δύο δείγματα. Ο αριθμός των ατόμων που το βρήκαν είναι 10 και άρα το δείγμα ξεχώρισε σε επίπεδο σημαντικότητας 0,05

Αποτελέσματα τριγωνικής δοκιμής με συνδυασμό (A=234,B=216,Γ=234)

Triangle test	Αριθμός ατόμων που απάντησαν A	Αριθμός ατόμων που απάντησαν B	Αριθμός ατόμων που απάντησαν Γ	Συνολικός αριθμός ατόμων
A=234 B=216 Γ=234	1	17	0	18

Σύμφωνα με τον πίνακα 2 που χρησιμοποιήσαμε για την ανάλυση των αποτελεσμάτων και με δεδομένο το επίπεδο σημαντικότητας $\alpha=0,05$ και τον αριθμό των δοκιμαστών (18 άτομα) θα έπρεπε τουλάχιστον τα 10 άτομα από τα 18 να είχαν βρει το διαφορετικό δείγμα ώστε να υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά ανάμεσα στα δύο δείγματα. Ο αριθμός των ατόμων που το βρήκαν είναι 17 και άρα το δείγμα ξεχώρισε σε επίπεδο σημαντικότητας 0,05.

Δ ΜΕΡΟΣ

ΣΥΖΗΤΗΣΗ – ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Κατά την εργασία αυτή, μελετήθηκε η διαδικασία της ζύμωσης σε πράσινες ελιές ισπανικού τύπου, οι οποίες επεξεργάστηκαν με τρεις διαφορετικούς τρόπους στα στάδια της εκπίκρυνσης και της προσθήκης άλατος. Είναι γνωστό ότι η διαδικασία της εκπίκρυνσης απελευθερώνει σάκχαρα και γενικότερα χημικές ενώσεις που λειτουργούν ως υπόστρωμα για τους μικροοργανισμούς που παίρνουν μέρος στις ζυμωτικές διαδικασίες που ακολουθούν (Ozay G. και συν.,1996).

Η προσθήκη άλατος είναι μία τεχνική που κατευθύνει την ζυμωτική διαδικασία, διότι επιλέγονται οι μικροοργανισμοί οι οποίοι είναι ανθεκτικοί σε υψηλή συγκέντρωση άλατος (Duran Quintana M.C. και συν.,1999).

Οι παράμετροι που επιλέχθηκαν για την μελέτη της ζύμωσης και της καταγραφής πιθανών διαφορών στα τρία δείγματα, ήταν η διακύμανση των τιμών του pH της άλμης, τα επίπεδα κάποιων συγκεκριμένων μικροβιακών πληθυσμών και οι οργανοληπτικές ιδιότητες των τελικών προϊόντων.

Από τα αποτελέσματα της καταμέτρησης των τιμών του pH φαίνεται ότι η διαδικασία επεξεργασίας επηρέασε το pH των αρχικών δειγμάτων. Το δείγμα 277 ξεκίνησε με τιμές υψηλές (6,71) και μέσα από την διαδικασία της ζύμωσης, το pH έπεσε σε τιμές χαμηλότερες του 4. Φαίνεται ότι κατά την κλασική επεξεργασία (εκπίκρυνση με NaOH, προσθήκη NaCl), διατηρείται το κατάλληλο περιβάλλον για την ανάπτυξη εκείνων των μικροβιακών ομάδων που οδηγούν στο επιθυμητό και γνωστό στο καταναλωτικό κοινό, προϊόν (Chammem N. και συν.,2004).

Το δείγμα 234, το οποίο επεξεργάστηκε με KOH και NaCl παρουσίασε από την 1^η δειγματοληψία χαμηλές τιμές pH, οι οποίες δεν τροποποιήθηκαν δραματικά κατά την διάρκεια της ζύμωσης. Το γεγονός όμως αυτό δεν το εμπόδισε να επιτρέψει την ανάπτυξη εντεροβακτηρίων (τα οποία γενικά δεν αναπτύσσονται σε όξινο περιβάλλον). Επίσης το διαφορετικό μέσο εκπίκρυνσης δεν έφερε ως αποτέλεσμα διαφορετικότητα ως προς τα επίπεδα των ζυμών, αλλά μικρότερο πληθυσμό οξυγαλακτικών βακτηρίων. Σε επίπεδο

οργανοληπτικών ιδιοτήτων δεν παρατηρήθηκε διαφορά, γεγονός που σημαίνει ότι το KOH, μπορεί να αντικαταστήσει το NaOH. Η αντικατάσταση αυτή φαίνεται ότι είναι σημαντική και ως προς τις επιπτώσεις της επεξεργασίας της βρώσιμης ελιάς στο περιβάλλον. Το KOH θεωρείται ότι είναι πολύ πιο ήπιο για το έδαφος από το NaOH, δεδομένου ότι ο κύριος όγκος των αποβλήτων προέρχεται από τα ξεπλύματα της εκπίκρασης και διοχετεύεται είτε στο έδαφος, είτε σε υδάτινους αποδέκτες χωρίς έλεγχο (Tsapatsaris S. και συν, 2004).

Το δείγμα 216, το οποίο επεξεργάστηκε με KOH και KCl, παρουσίασε υψηλό pH κατά την 1^η δειγματοληψία, σχεδόν 6, αλλά η τελική τιμή δεν έφτασε στα επίπεδα του 4. Κατά την έναρξη της ζύμωσης παρατηρήθηκε υψηλότερος πληθυσμός εντεροβακτηρίων από τα υπόλοιπα δείγματα, αλλά στη συνέχεια εμφανίστηκαν σποραδικά. Διαφορά παρουσιάστηκε στα επίπεδα των ζυμών, όπου ο πληθυσμός τους ήταν σημαντικά μεγαλύτερος στο δείγμα αυτό. Πιθανόν η χρήση του διαλύματος KCl να ευνοεί την ανάπτυξη διαφορετικών ειδών ζυμών, γεγονός που δεν στάθηκε δυνατόν να μελετήσουμε, διότι μελετήσαμε μόνο τον συνολικό πληθυσμό τους. Αντίθετα τα επίπεδα των οξυγαλακτικών βακτηρίων δεν επηρεάζονται από την αλλαγή της επεξεργασίας. Σημαντικές όμως διαφορές υπήρχαν ως προς τις οργανοληπτικές ιδιότητες, όπου φάνηκε ότι η επεξεργασία μεταβάλλει σημαντικά την γεύση του δείγματος αυτού, γεγονός που παρατηρείται και από άλλους ερευνητές (Tsapatsaris S. και συν, 2004).

Είναι γνωστό από την βιβλιογραφία, ότι οι ζύμες ευθύνονται για διάφορες αλλοιώσεις που μπορεί να συμβούν στις ελιές κατά την διάρκεια της ζύμωσης και να καταστήσουν το τελικό προϊόν ακατάλληλο προς κατανάλωση λόγω υποβάθμισης της ποιότητάς του και σε κάποιες περιπτώσεις ακόμη και επικίνδυνο για την υγεία των καταναλωτών (Vaughn R.H. και συν, 1971, Μπαλατσούρας Γ., 1995). Το μεγαλύτερο ποσοστό των ατόμων που δοκίμασαν τις ελιές από το δείγμα 216 (τριγωνικό τεστ 2 και 3) τις ξεχώρισαν και τις χαρακτήρισαν ως: «άσχημες στη γεύση και στην υφή, πολύ μαλακίες και πιο πικρές από τις ελιές των άλλων δειγμάτων». Τέτοιο αποτέλεσμα έχει η δράση των ζυμών. Στην πλειοψηφία τους οι δοκιμαστές δήλωσαν πως δεν θα επέλεγαν να καταναλώσουν ελιές με αυτά τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά.

Η παρουσία των ζυμών μπορεί να προκαλέσει ακόμα και την μη ολοκλήρωση της γαλακτικής ζύμωσης εάν οι πληθυσμοί τους αυξηθούν υπερβολικά. Έχει παρατηρηθεί ανεπιθύμητη αύξηση του πληθυσμού των ζυμών σε περιπτώσεις που η συγκέντρωση του άλατος ήταν πολύ χαμηλότερη από 7% κ.β. και όταν οι ελιές τοποθετούνται σε καθαρό νερό για ζύμωση χωρίς την προσθήκη άλατος (Vaughn R.H. και συν, 1971). Στη συγκεκριμένη περίπτωση η συγκέντρωση του άλατος ήταν σχεδόν ίδια στα τρία δείγματα και η διαφορά ήταν ποιοτική.

Αξίζει να σημειωθεί ότι τα δείγματα παρουσίασαν ποικιλομορφία και ως προς τα στελέχη των οξυγαλακτικών βακτηρίων που εμφανίστηκαν κατά την πορεία της ζύμωσης. Το δείγμα 216 παρουσίασε την μεγαλύτερη ποικιλότητα. Παρατηρούμε ότι το στέλεχος L5 (*Leuconostoc lactis*) εντοπίζεται στην αρχή της ζυμωτικής διαδικασίας, γεγονός που συμβαδίζει με τα ευρήματα και άλλων ερευνητών (Frazier and Westhoff, 1995)

Αξιοσημείωτη είναι η παρουσία του *L. plantarum* (στέλεχος L3) του οποίου η δράση έχει αποδειχθεί πως ευνοεί την κυριαρχία των βακτηρίων του γαλακτικού οξέος στην άλμη και προστατεύει τον ελαιόκαρπο από βακτήρια των οποίων η δράση μπορεί να του προκαλέσει αλλοιώσεις όπως τα βακτήρια του προπιονικού οξέος και τα κλωστρίδια (Jimenez-Diaz R. και συν., 1993, Ruiz –Barba J.L και συν, 1994).

Συμπερασματικά, θα μπορούσαμε να ισχυριστούμε ότι από την μελέτη της ζυμωτικής διαδικασίας στα τρία διαφορετικά δείγματα, μέσω των παραμέτρων που επιλέγησαν (διακύμανση pH, μικροβιακοί πληθυσμοί, οργανοληπτικά χαρακτηριστικά) είναι δυνατή η αντικατάσταση του παραδοσιακού μέσου εκπίκρασης (δμ NaOH) με δμ KOH, διότι δεν μεταβάλλεται η γεύση. Παρατηρείται όμως μία μείωση του πληθυσμού των οξυγαλακτικών βακτηρίων, γεγονός το οποίο δυνητικά θα μπορούσε να οδηγήσει σε ταχύτερη αλλοίωση του προϊόντος.

BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Balatsouras.G , Tsibri A., Dalles T, Doutsias G.(1983). Effects of fermentation and its control on the sensory characteristics of Conservolea variety Green Olives. *Appied and Environmental Microbiology* (1983) 68-74
2. Chammem N., Kachouri M., Mejri M., Peres C., Boubados A., Hamdi M. (2004). Combined effect of alkali pretreatment and sodium chloride addition of the olive fermentation process. *Biosource Technology* 96 (2005) 1311-1316
3. Duran Quintana M.C., Garcia Garcia P., Garrido Fernadez A. (1999) Establishment of conditions for green olive fermentation at low temperature. *International Journal of food Microbiology* (1999) 51, 133-143
4. Etchells J.L., Borg A.F., Kittel I.D., Bell T.A., Fleming H.P.(1966) Pure Culture Fermentation of Green Olives. *Applied Microbiology*(1966) Vol.14, No 6
5. Federici Federico, Bonghi Guido (1983). Improved Method for Isolation of Bacterial Inhibitors from Oleuropein Hydrolysis. *Applied and Environmental Microbiology*, 1983, 509-510
6. Fleming H.P., McFeeters R.F., Daeschel M.A.Foods and their Safety and Quality..Chapter 50, 929-943
7. Fleming H.P, Walter Jr W.M., Etchells J.L (1973) Antimicrobial Properties of Oleuropein and products of its Hydrolysis from Green Olives. *Applied Microbiology* (1973) 777-782
8. Frazier and Westhoff.Food Microbiology. Chapter; Fermentations pg362-370
9. Gililand J.R., Vaughn R.H. (1942) Characteristics of Butyric Acid Bacteria from Olives. *University of California, Berkeley, Division Of Fruit Products*
10. Jimenez-Diaz R., Rios-Sanchez R.M., Desmazeaud M., Ruoz-Barba J.L., Piard J.C. (1993). Plantaricins S and T, Two new Bacteriocins produced by *Lactobacillus plantarum* LPCO10 Isolated from a Green

Olive Fermentation. *Applied and Environmental Microbiology* (1993) Vol 59, No 5, 1416-1424

11. Marsilio V., Campestre C., Lanza B., De Angelis M., Russi Acta Hort F.. Sensory Analysis of Green Table Olives Fermented in Different Saline Solutions. (ISHS) 586: 617-620.
12. Moskowitz H., Silcher M., Beckley H., Minkus-McKenna D., Mascuch T. Sensory Benefits, Emotions and usage patterns for olives: using Internet-based conjoint analysis and segmentation to understand patterns of response. *Food Quality and Preference* (2004)
13. Meilgard, M. *et al.* Sensory evaluation techniques (3rd ed.). CRC Press, New York, 1999.
14. Nergiz Cevdet, Engez Yesim. Compositional variation of olive fruit during ripening. *Food Chemistry* 69 (2000) 55-59
15. Nychas J.E, Panagou E.Z, Parker M.L, Waldron K.W., Tassou C.C. (2001). Microbial colonization of naturally black olives during fermentation and associated biochemical activities in the cover brine. *Letters in Applied Microbiology* 2002, 34, 173-177
16. Owen R.W., Haubner R., Mier W., Giacosa A., Hull W.E., Spiegelhalder B., Bartsch H. (2003). Isolation, structure elucidation and antioxidant potential of the major phenolic and flavonoid compounds in brined olive drupes. *Food and Chemical Toxicology* 41 (2003) 703-717
17. Ozay G., Borcakli M. (1996). Effect of brine replacement and salt concentration on the fermentation of naturally black olives. *Food Research International* (1996) vol.28, No 6, 553-559
18. Panagou E.Z., Tassou C.C., Katsaboxakis K.Z. (2001) Microbiological, physicochemical and organoleptic changes in dry salted olives of Thassos variety stored under different modified atmospheres at 4 and 20 °C. *International journal of Food Science and Technology* (2002), 37, 635-641
19. Randazzo Cinzia L., Restruccia Cristina, Romano A. Daniele, Caggia Cinzia. *Lactobacillus casei*, dominant species in naturally fermented Sicilian green olives (2003). *International journal of Food Microbiology* 90 (2004) 9-14

20. Romani A., Minunni M., Pinelli P., Vincieri F.F., De Carlo M., Manscini M.(2000). Comparison among Differential Pulse Voltametry, Amperometric Biosensor and HPLC/DAD Analysis for Polyphenol Determination. *J. Agric. Food Chem.*(2000)48,1197-1203.
21. Ruiz –Barba J.L, Cathcart D.P., Warner P.J., Jimenez-Diaz R. (1994). Use of *Lactobacillus plantarum* LPCO10, a Bacteriocin Producer , as a starter culture in spanish-style Green Olive fermentations. *Applied and Environmental Microbiology*,(1994),2059-2064
22. Sanchez A.H, De Castro A., Rejano L., Montano A. (2000). Comparative study on Chemical Changes in Olive juice and Brine dring Green Olive Fermentation. *J.Agric. Food Chem.*2000, 48, 5975-5980
23. Spyropoulou K.E., Chorianopoulos N.G., Skandamos P.N., Nychas J.E.(2001) Survival of *Escherichia coli* O157:H7 during the fermentation of Spanish-style green table olives (*conservolea* variety) Supplemented with different carbon sources. *International Journal of Food microbiology* 66 (2003) 3-11
24. Tsapatsaris S., Kotzekidou P. (2004). Application of central composite design and response surface methodology to the fermentation of olive juice by *Lactobacillus plantarum* and *Debaromyces Hansenii*. *International Journal of Food Microbiology* 95 (2004) 157-168
25. Vaughn R.H., K. Stevenson E., Dave B.A., Park. H.C. (1971) Fermenting Yeasts associated with softening and Gas-Pocket effect in Olives. *Applied Microbiology* (1972) 316-320
26. Ζαμπέλας Α. Η διατροφή στα Στάδια της Ζωής (2003)Κεφ 7 σελ282-283
27. Ματάλα Α.Λ. Ιστορία και Γεωγραφία της Διατροφής (2002).σελ 1-7,47-54
28. Μπαλατσούρας Γ. Η επιτραπέζια ελιά (1995)
29. Κυριακού Α. Σημειώσεις εφαρμοσμένης Μικροβιολογίας(2002) σελ.81-95
30. Χίου Α.Π. Φυτικοχημεία και Βιοχημεία Τροφίμων-Σημειώσεις Φροντιστηρίου.(2003)σελ 1-11
31. CODEX STANDARD FOR TABLE OLIVES
32. TRIANGLE SENSORY TEST WITH OREO COOKIES LESSON PLAN

Διαδικτυακοί Τόποι

- <http://www.nutrition.org.uk/education/pupilcentre/sensory/triangle.xls>
- <http://www.nutrition.org.uk/education/pupilcentre/sensory/triangle.htm>